HAL
open science

Etude de l'apprentissage et de la mémoire spatiale à long terme après une exposition postnatale du cerveau ou du gyrus denté dorsal, à des doses faibles à modérées de rayonnements ionisants : rôle de la neurogenèse hippocampique adulte.

Céline Serrano

To cite this version:

Céline Serrano. Etude de l'apprentissage et de la mémoire spatiale à long terme après une exposition postnatale du cerveau ou du gyrus denté dorsal, à des doses faibles à modérées de rayonnements ionisants : rôle de la neurogenèse hippocampique adulte.. Neurosciences [q-bio.NC]. Université Paris-Saclay, 2020. Français. NNT : 2020UPASQ008 . tel-03362702

HAL Id: tel-03362702

https://theses.hal.science/tel-03362702v1

Submitted on 2 Oct 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

université PARIS-SACLAY

Etude de l'apprentissage et de la mémoire spatiale à long-terme après une exposition postnatale du cerveau ou du gyrus denté dorsal à des doses faibles à modérées de rayonnements ionisants : rôle de la neurogenèse hippocampique adulte

Thèse de doctorat de l'université Paris-Saclay

École doctorale n° 569
Innovation thérapeutique : du fondamental à l'appliqué (ITFA)
Spécialité de doctorat : Physiologie - Physiopathologie
Unité de recherche : Laboratoire de Radiobiologie et de Radiotoxicologie Expérimentale (LRTOX) – Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire (IRSN)
Référent : Faculté de pharmacie

Thèse présentée et soutenue à Fontenay-aux-Roses, le 19 Octobre 2020, par

Céline Serrano

Composition du Jury

Denis DAVID Professeur des Universités - Université Paris-Saclay	Président
Christelle ADAM-GUILLERMIN Directrice de Recherche, IRSN -Cadarache	Rapporteur
Stéphanie DAUMAS Maîtresse de conférences, HDR - Sorbonne Université	Rapporteur
Damien RICARD Professeur des Universités -Praticien Hospitalier - Université Paris-Descartes	Examinateur
Philippe LESTAEVEL Chargé de Recherche, IRSN - Fontenay-aux-Roses	Directeur de thèse
Christelle DURAND Chercheuse, IRSN – Fontenay-aux-Roses	Co-Encadrante de thèse
Roseline POIRIER Maîtresse de conférences, Université Paris-Saclay	Co-Encadrante de thèse

Thèse de doctorat

NNT : 2020UPASQ008

Remerciements

Je tiens à remercier l'ensemble des membres du jury : le Professeur Denis David pour avoir accepté de présider ma soutenance de thèse, le Docteur Stéphanie Daumas et le Docteur Christelle Adam-Guillermin pour avoir accepté d'évaluer mon travail de thèse en tant que rapportrices et le Professeur Damien Ricard en tant qu'examinateur.

Je remercie mon directeur de thèse, le Docteur Philippe Lestaevel pour m'avoir permis de réaliser ce travail de recherche et de m'avoir toujours encouragée et soutenue pendant ce projet. Je remercie également le Docteur Christelle Durand pour m'avoir encadrée pendant ces trois ans.

Je remercie le Docteur Roseline Poirier du laboratoire Neuro-PSI pour sa grande disponibilité malgré un agenda très chargé, sa persévérance et son expertise apportée dans mon encadrement.

Je remercie le Docteur Dominique Laurier ainsi que le Docteur Sandrine Ongeri pour avoir contribué au bon déroulement de cette thèse.

Je remercie l'ensemble des membres du laboratoire Neuro-Psi, pour m'avoir accueillie lors de mes passages au laboratoire d'Orsay. Je remercie chaleureusement le Docteur Serge Laroche pour m'avoir soutenue dès mes premiers pas dans le master de neuroscience et dans mes démarches pour devenir chercheur. Je remercie également le Docteur Cyril Vaillend et Laurine Gonzalez pour m'avoir accueillie au sein de l'unité.

Je remercie le Docteur Karine Tack, le Docteur Laurence Roy et le Docteur Dmitry Klokov ainsi que tous les anciens et actuels membres de m'avoir accueillie au laboratoire de radiologie et radiotoxicologie expérimentales. Je tiens à remercier particulièrement Dimitri Kereselidze, Victor Magneron et Louison Beugnies pour leur aide et leurs expertises techniques ainsi que le Docteur Chrytelle Ibanez pour le prêt d'anticorps très précieux.

Je remercie le Docteur Morgane Dos Santos d'avoir effectué les irradiations pour les besoins du projet. Son professionnalisme et sa rigueur ont été très précieux et très appréciés.

Je tiens à remercier particulièrement le Docteur Mohamedamine Benadjaoud, le Docteur Audrey Legendre et Mme Aurélie Villard pour leur grande disponibilité, leurs conseils concernant les études statistiques à réaliser et de m'avoir appris un langage connu sous le nom de R.

Je remercie particulièrement Keltoum Mediana ainsi que Véronique Joffre pour leur gentillesse et leur réactivité dans les demandes diverses et variées que j'ai pu leur faire au cours de ma thèse.

Je remercie également l'ensemble de l'équipe du GSEA pour avoir pris soins des animaux ainsi que leur aide technique apporté à ce projet.

Je remercie chaleureusement Chloé, car grâce à toi, nous avons le luxe d'avoir des instruments qui brillent pour mener à bien nos projets.

Je remercie l'ensemble des membres de la DST/SP3In et plus particulièrement le Docteur Céline Dinocourt, le Docteur Joachim Miss, le Docteur Irène Sorokine Durm et Mme Brigitte Dubois avec qui j'ai eu l'occasion de travailler dans le cadre de la journée des thèses IRSN et avec qui j'ai pu partager des bons moments de convivialité.

Je remercie toutes les personnes qui ont contribué à mon épanouissement personnel pendant cette thèse Ségolène, Alexia, Mariam, Annaig, Sarah, Mohammed, Léo, Nicolas, Kossi, Alice, Valentin, Saloua, Yohann, Miray, Lydia et tant d'autres pour tous ces moments partagés dans le cadre de l'ADIN et en dehors.

Je remercie toutes les personnes qui m'ont permis de m'évader quelques minutes en dehors du monde des RX et des neurones. J'ai nommé Marine, Caroline, Noha, Claire, Laure B, Laure C, Laure M et Gero.

Je remercie le Docteur Hélène Fétizon pour son regard à la fois naïf et pertinent sur un sujet inconnu.

Enfin, je remercie tous mes proches, ma famille, ma compagne et mes parents pour leur confiance et leur soutien sans faille dans la réalisation de mes projets.

Aux souris, sans qui cette étude n'aurait jamais pu être réalisée.

Sommaire

Liste des abréviations 6
Liste des figures 7
Liste des tableaux 9
Avant-propos 11
Introduction 12
I. Les rayonnements ionisants et leurs effets sur le vivant 12
1. Généralités sur les RIs 12
1.1. Les rayonnements directement et indirectement ionisants 13
1.2. La génération artificielle des rayons X 16
2. Les effets biologiques des RIs 17
2.1. La radiolyse de l'eau et la création d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote…. 18
2.2. Les dommages à l'ADN 19
2.3. Les dommages aux protéines et aux lipides 20
2.4. L'impact sur le métabolisme cellulaire 21
2.5. Les effets biologiques des RIs sur l'organisme 21
3. Les relations dose-réponse et les mécanismes à la base de ces réponses 24
3.1. La relation linéaire sans seuil et les limites définies entre les doses faibles et fortes 24
3.2. Les réponses biologiques associées aux relations dose-réponse non linéaires à des dose faibles à modérées 25
3.2.1. La réponse adaptative et hormèse 25
3.2.2. L'hypersensibilité et la radiorésistance 26
3.2.3. L'effet *bystander* 27
II. La tomodensitométrie, une technique d'imagerie médicale d'intérêt à utiliser avec prudence… 28
1. Les techniques d'imagerie médicale utilisant des RX 28
2. La scanographie pédiatrique 31
3. Les effets comportementaux et cognitifs de l'adulte induits par une exposition aux RIs pendant l'enfance 33
3.1. Les effets des doses faibles à modérées 33
3.2. Les effets des doses fortes 34

III. L'hippocampe, la mémoire spatiale et la neurogenèse postnatale / adulte 36

1.L'anatomie de la formation hippocampique et le circuit tri-synaptique chez le rongeur… 36

2. La mémoire spatiale, une des mémoires hippocampe-dépendantes..... 38

2.1. Les tests comportementaux utilisés pour étudier la mémoire spatiale chez la souris.. 39

2.2. Les bases cellulaires de la carte mentale spatiale..... 42

3. L'axe septo-temporal / dorso-ventral de l'hippocampe 45

3.1. Les différences structurales 46

3.2. Les différences fonctionnelles..... 47

4. Les grandes étapes du développement postnatal du cerveau de rongeur : Focus sur l'hippocampe 48

5. La neurogenèse hippocampique adulte 50

5.1. L'histoire de la neurogenèse adulte..... 50

5.2. Les étapes de la neurogenèse adulte hippocampique 52

5.3. L'origine embryonnaire de la neurogenèse hippocampique adulte 55

5.4. Les différences entre le processus de neurogenèse postnatale et adulte 56

5.5. Le rôle de la neurogenèse hippocampique adulte dans la mémoire spatiale..... 57

6. Le microenvironnement hippocampique..... 63

6.1. Les astrocytes 63

6.2. La microglie 65

6.3. Les oligodendrocytes..... 66

6.4. Le réseau vasculaire 66

IV. Etat de l'art des études expérimentales 68

1. Les effets des RIs sur le comportement et la cognition..... 68

1.1. Les effets d'une exposition au stade postnatal 68

1.2. Les effets d'une exposition aux RIs à l'âge adulte..... 69

2. Les effets des RIs sur la neurogenèse postnatale/adulte et son microenvironnement..... 70

2.1. Les effets d'une exposition du rongeur juvénile 70

2.2. Les effets d'une exposition à l'âge adulte aux RIs..... 76

Objectifs de la thèse..... 80

Matériel et méthodes 82

1. Les animaux 82
2. Les deux modèles d'irradiation 83
2.1. Le « Small Animal Radiation Research Platform » 83
2.2. Le protocole d'irradiation 84
3. La préparation et les injections de la Bromodésoxyuridine 89
4. L'étude comportementale 90
4.1. La Piscine de Morris 90
4.2. Les étapes du test 91
5. La perfusion, prélèvements et fixation des tissus 93
6. Le protocole d'immunohistofluorescence 94
7. La quantification des cellules 95
8. Les analyses statistiques 95
8.1. L'analyse des données pour l'étude de l'apprentissage 95
8.2. L'analyse des données pour l'étude de la mémoire spatiale à long-terme 96
8.3. La quantification des cellules 96
Résultats 97
I. L'étude de l'apprentissage et de la mémoire spatiale à long-terme chez l'adulte dans nos deux modèles d'étude, irradiés au stade postnatal à des doses faibles à modérées de RX…… 97
1. L'exposition du CV ou du GDD n'altère pas l'apprentissage spatial chez l'adulte . 97
1.1. L'effet du modèle sur l'apprentissage spatial 98
1.2. L'effet de la dose sur l'apprentissage spatial 100
1.3. L'interaction du modèle et de la dose n'influence pas l'apprentissage spatial . 102
1.4. L'étude de la thigmotaxie 102
2. L'exposition localisée du GDD à la dose de 1 Gy altère la MSLT chez l'adulte ... 104
II. L'irradiation du GDD à la dose de 1 Gy modifie le processus de neurogenèse..... 109
1. L'irradiation modifie la prolifération cellulaire dans nos deux modèles d'exposition, 2 mois et 10 jours après l'exposition 109
2. L'irradiation du cerveau entier ou localisée du GDD ne modifie pas la densité en neurones immatures, 3 mois et 10 jours après l'exposition 110
3. L'irradiation du cerveau entier ou localisée du GDD ne modifie pas la densité en cellules BrdU+, 3 mois et 10 jours post-IR 111

4. Le pourcentage de nouveaux neurones matures est diminué à la suite d'une irradiation localisée du GDD, à la dose de 1 Gy 112
5. Le pourcentage des astrocytes nouvellement créés est diminué à la suite d'une irradiation localisée du GDD par rapport à l'irradiation du CV entier 113
III. Les effets de l'exposition du CV ou du GDD à la dose de 10 Gy sur l'apprentissage spatial…..... 115
1. L'exposition du CV ou du GGD ne semble pas affecter l'apprentissage spatial 115
2. L'exposition du CV entier ou du GDD ne semble pas altérer la restitution de la MSLT, à la dose de 10 Gy **118**
Discussion et perspectives 121
I. Les effets d'une exposition à des doses faibles à modérées de RX au stade postnatal 124
1. Les effets d'une exposition du CV ou localisée du GDD sur le comportement et la cognition 124
2. La comparaison d'une exposition du CV ou localisée du GGD à la dose de 1 Gy : étude de la neurogenèse hippocampique adulte 127
2.1. Les effets des doses faibles à modérées de RX sur la prolifération cellulaire .. 127
2.2. Les effets des doses faibles à modérées de RIs sur la différenciation..... 129
2.3. Les effets des RIs à des doses faibles à modérées sur la maturation neuronale et sur la fonctionnalité des nouveaux neurones matures 130
3. Les hypothèses émises pour expliquer les différences d'atteintes du processus de neurogenèse adulte entre une exposition du CV ou du GDD 133
3.1. Les effets des RIs sur le statut inflammatoire à long-terme du SNC 133
3.2. L'influence des RIs sur l'intégralité de la barrière hématoencéphalique..... 135
II. La relation dose-réponse non linéaire dans le cas d'une irradiation localisée du GDD…..... 138
III. Les effets d'une exposition du CV ou du GDD à la dose forte de 10Gy 141
1. Les effets d'une forte dose sur l'apprentissage et la mémoire spatiale 141
2. La comparaison des effets d'une exposition à l'âge juvénile et adulte à une dose forte de RIs..... 143
IV. Limites de l'étude..... 147
1. Le genre 147
2. Les agents anesthésiants et les RIs 148

3. L'influence du test de piscine de Morris sur la neurogenèse hippocampique adulte…… 149

Conclusion 152

Valorisation 153

1. Article 153

2. Communications orales 153

3.Communications affichées 153

Annexes 154

Listes des figures annexes 154

Listes des tableaux annexes 168

Références bibliographiques 177

Liste des abréviations

ADN : Acide DésoriboNucléique
ANOVA : Analyse de la Variance
ARN :Acide RiboNucléique
ASN : Autorité de Sureté Nucléaire
ATM : *Ataxia telangiectasia mutated*
BDNF : Brain derived neurotrophic factor
BHE : Barrière hématoencéphalique
BLBP : Brain-lipid-binding protein
BrdU : BromodésoxyUridine
CA1, 2, 3 ou 4 : Corne d'Ammon 1, 2, 3 ou 4 de l'hippocampe
CEA : Commissariat de l'Energie Atomique
CIPR : Commission Internationale de Protection Radiologique
CREB : C-AMP Response Element-binding protein
CTL : Contrôle
CV : Cerveau
DCX : Doublecortine lié au chromosome X
DGS : Direction Générale de la Santé
EEG : Equation d'Estimation Généralisée
EGC : Echantillon Généraliste de Bénéficiaires
EON : Espèces oxydes d'azotes
ERO : Espèces réactives de l'oxygène
GDD/GDV: Gyrus Denté Dorsal/Ventral
GFAP : Glial Fibrillary Acidic Protein
Gy : Gray
HPC : Hippocampe
IR : Irradiation
IRM : Image par Résonance Magnétique
IRSN : Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire
MSLT : Mémoire spatiale à long-terme
NeuN : Neuronal Nuclei
Neuro D1 : Neurogenic differentiation 1
PM : Piscine de Morris
PND : Postnatal day
Prox 1 : Prospero homeobox protein 1
PSA-NCAM : Polysialic Acid-Neural Cell Adhesion Molecule
RI : Rayonnement ionisant
RX : Rayons X
Rα, β, γ: Rayons alpha, beta, gamma
SHH : Sonic Hedgehog
SOX2 : Sex determining region Y-box 2
SOD : Superoxyde Dimutase
SNC : Système Nerveux Central
UNSCEAR : Comité Scientifique des Nations Unies pour l'étude des effets des rayonnements ionisants
VEGF : Vascular endothelial growth factor
WNT : Wingless Integration
ZSG : Zone Sous Granulaire

Liste des figures

Figure 1. Les origines de la dose efficace « moyenne » de radioactivité reçue annuellement en France. 10
Figure 2. L'effet photoélectrique. 14
Figure 3. L'effet Compton. 14
Figure 4. La création de paires 15
Figure 5. La photo et le schéma du tube de Coolidge 16
Figure 6. Les effets directs et indirects des RIs sur les macromolécules et les organites cellulaires 17
Figure 7. La radiolyse de l'eau. 18
Figure 8. Les effets déterministes et les effets stochastiques 22
Figure 9. La relation linéaire sans seuil et les relations non-linéaires. 24
Figure 10. La radiographie conventionnelle 29
Figure 11. La scanographie 30
Figure 12. La fréquence des actes et la dose efficace totale reçue en fonction des actes pratiqués en pédiatrie pour l'année 2010 et 2015 31
Figure 13. La fréquence des actes de scanographie par région anatomique explorée en fonction de l'âge de l'enfant en 2015 32
Figure 14. La structure anatomique de l'hippocampe 37
Figure 15. Le test de la Piscine de Morris 39
Figure 16. Les différents types de labyrinthes utilisés pour étudier la mémoire spatiale 41
Figure 17. Le test de reconnaissance spatiale d'objets. 42
Figure 18. La carte mentale de l'espace 43
Figure 19. L'axe dorso-ventral chez la souris 45
Figure 20. Les différences de connexions afférentes et efférentes entre la partie dorsale et la partie ventrale de l'hippocampe et les autres structures cérébrales 46
Figure 21. L'hétérogénéité fonctionnelle de l'hippocampe selon l'axe dorso-ventral ou septo-temporal chez la souris 47
Figure 22. Les grandes étapes du développement cérébral comparables chez le rongeur et chez l'Homme 49
Figure 23. Les deux grands lieux de la neurogenèse adulte 51
Figure 24. Les grandes étapes de la neurogenèse hippocampique adulte 52
Figure 25. La niche neurogénique hippocampe 63
Figure 26. La stratégie expérimentale 82
Figure 27. Le Small Animal Radiation Research Platform. 83
Figure 28. L'irradiation du cerveau entier 85
Figure 29. L'irradiation localisée du gyrus denté dorsal 87
Figure 30. L'image obtenue après le scanner du corps entier de la souris 88
Figure 31. Le schéma de la pièce de comportement 90
Figure 32. Le schéma du protocole utilisé et délimitation de la piscine de Morris 91
Figure 33. La description des séries 93
Figure 34. Les performances d'apprentissage spatial en protocole massé, testé 3 mois après l'exposition du CV ou du GDD à des doses faibles à modérées de RX 98
Figure 35. La vitesse de nage lors de l'apprentissage spatial en protocole massé, testé 3 mois après l'exposition du CV ou du GDD à des doses faibles à modérées de RX 99

Figure 36. L'étude de l'effet de la dose sur la distance parcourue pour aller à la plateforme lors de l'apprentissage 100
Figure 37. L'étude de l'effet de la dose sur la vitesse de nage lors de l'apprentissage..... 101
Figure 38. L'étude de la thigmotaxie lors de l'apprentissage spatial en protocole massé, 3 mois après l'exposition du CV ou du GDD à des doses faibles à modérées de RX 103
Figure 39. L'étude de la restitution de la mémoire spatiale, testée 10 jours après l'apprentissage, soit 3 mois et 10 jours après l'irradiation 104
Figure 40. L'étude du pourcentage de distance parcourue dans le disque cible (cercle noir) pour toutes nos conditions expérimentales. 106
Figure 41. L'étude du nombre de crossings lors de la rétention, testée 3 mois et 10 jours après l'exposition 107
Figure 42. L'étude de la prolifération cellulaire, 2 mois et 10 jours après l'exposition 109
Figure 43. L'étude de la densité en neurones immatures à la dose de 1 Gy, 3 mois et 10 jours après l'exposition 110
Figure 44. L'étude de la densité en cellules $BrdU^+$, 3 mois et 10 jours après l'exposition... 111
Figure 45. L'étude du pourcentage de nouveaux neurones créés, 3 mois et 10 jours après l'exposition 112
Figure 46. L'étude du pourcentage de nouveaux astrocytes créés, 3 mois et 10 jours après l'exposition 113
Figure 47. L'étude des performances d'apprentissage spatial en protocole massé, 3 mois après une exposition de nos modèles à la dose de 10 Gy 115
Figure 48. L'étude de la thigmotaxie lors du test l'apprentissage spatial en protocole massé, 3 mois après une exposition de nos modèles à la dose de 10 Gy 117
Figure 49. L'étude de la distance parcourue dans le quadrant cible, 3 mois et 10 jours après une exposition de nos modèles à la dose de 10 Gy. 118
Figure 50. L'étude du pourcentage de distance parcourue dans le disque cible lors du test de mémoire, 3 mois et 10 jours après une exposition de nos modèles à la dose de 10 Gy..... 119
Figure 51. L'étude du nombre de crossings, 3 mois et 10 jours après une irradiation à la dose de 10 Gy. 120
Figure 52. Schéma récapitulatif des résultats majeurs obtenus dans cette thèse……121
Figure 53. La régulation de la neurogenèse hippocampique adulte par différents paramètres. 150

Liste des tableaux

Tableau 1. Les effets du blocage de la neurogenèse sur le comportement et la cognition 58
Tableau 2. Les effets d'une exposition unique à des doses fortes de RIs au stade postnatale chez l'animal devenu adulte. 73
Tableau 3. Les effets d'une exposition unique à des doses faibles à modérées de RIs au stade postnatal chez l'animal devenu adulte. 75
Tableau 4. Les effets chez l'adulte d'une exposition unique à des doses fortes de RIs à l'âge adulte. 77
Tableau 5. Les effets chez l'adulte d'une exposition unique à des doses faibles à modérées de RIs à l'âge adulte. 79
Tableau 6. Liste des anticorps primaires et secondaires utilisés en immunohistochimie. 94
Tableau 7. Le tableau récapitulatif de l'ensemble des effets d'une exposition à la dose de 1 Gy sur le comportement et la neurogenèse, dans nos deux modèles 114
Tableau 8. Le tableau récapitulatif des résultats obtenus après une exposition du CV ou du GDD à la dose de 10Gy de souris âgées de 10 jours ou de 3 mois 144

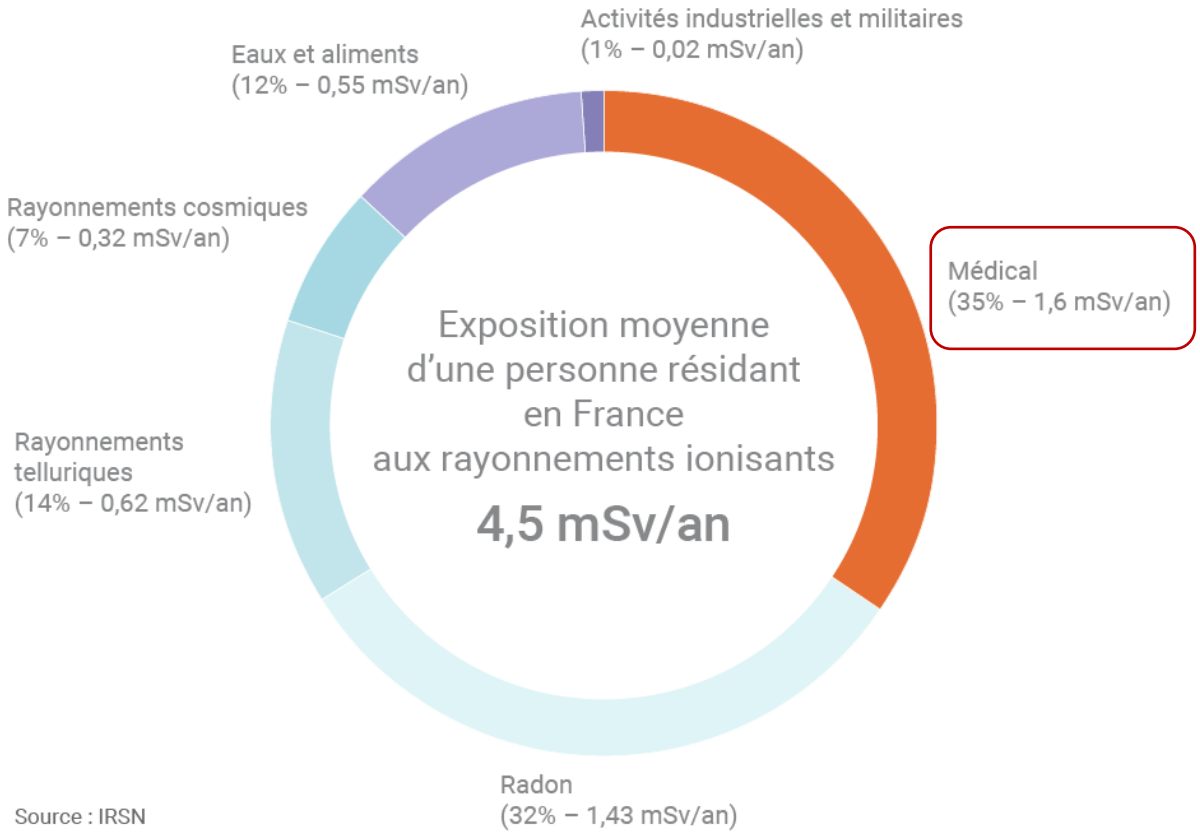


Figure 1. **Les origines de la dose efficace « moyenne » de radioactivité reçue annuellement en France** (©Connaissance des Énergies d'après IRSN).

Avant-propos

L'Homme est exposé quotidiennement à des rayonnements ionisants (RIs), rayons capables de déstabiliser la matière en transformant les atomes en ions (rayon α, β, γ et X). Cependant, nous ne sommes pas tous exposés de la même manière. En France métropolitaine, nous estimons que la dose totale reçue en moyenne par un habitant s'élève à 4.5mSv/an (figure 1). La première source d'exposition est d'origine naturelle. Elle provient majoritairement de la désintégration d'éléments radioactifs naturellement présents dans l'air ambiant (Radon^{222}) et dans la croute terrestre (Uranium^{238}). Ces isotopes se retrouvent dans l'alimentation et dans l'eau que nous ingérons. L'autre source d'exposition est d'origine artificielle ou anthropogénique, et est essentiellement d'origine médicale. Les traitements à visée thérapeutique tels que la radiothérapie, utilisent des doses fortes de rayons X (RX) (dizaines de Gray) pour éradiquer une tumeur. Dans le domaine de l'imagerie médicale, les doses de RX utilisées pour constituer une image du corps ou d'un organe permettant de faire des diagnostics sont très faibles par examen (de 1 à quelques dizaines de milliGray). Bien que les doses de rayons X utilisées soient très faibles, la dose totale reçue par un patient peut être élevée du fait de la répétition de l'acte. Parmi les techniques d'imagerie utilisées en France en 2015, la scanographie est très peu utilisée mais elle est à l'origine de 40% de la dose totale reçue (Rapport n° PSE-SANTE/SER/2018-00004).

En plus de ne pas être exposé de la même manière, chacun d'entre nous a une radiosensibilité qui lui est propre et qui évolue au cours de la vie. Certaines populations sont particulièrement sensibles aux RIs. C'est notamment le cas des enfants de moins de 15 ans qui sont en pleine croissance. Pour cette tranche d'âge, la scanographie de la région de la tête et du cou est l'examen le plus souvent réalisé (Rapport IRSN-PRP-HOM N°2013-3). Les conséquences de ce type d'exposition sur les processus cognitifs, une fois adulte, ne sont pas caractérisées et sont controversées (Pasqual et al., 2020, pour revue). Néanmoins, les effets des RIs sur ces sujets vulnérables, même à des doses très faibles, ne sont pas sous-estimés pour autant mais sont difficiles à évaluer par manque d'études épidémiologiques et expérimentales. Dans le cadre de ma thèse expérimentale, nous avons étudié deux modèles d'exposition cérébrale du souriceau développés récemment à l'Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire (IRSN) (Dos Santos et al., 2018), afin de mieux comprendre les potentiels troubles cognitifs à l'âge l'adulte induits par une exposition aux RX pendant l'enfance.

Introduction

I. Les rayonnements ionisants et leurs effets sur le vivant

Dans le domaine médical, les rayonnements ionisants (RIs) et plus particulièrement les rayons X (RX) sont communément utilisés à des fins thérapeutiques en radiothérapie, à forte dose, et à des fins de diagnostics dans le domaine de l'imagerie médicale, à faible dose. L'imagerie médicale regroupe l'ensemble des outils permettant de faire des images de l'intérieur du corps. Les outils d'imagerie utilisant des RX sont la radiographie et la scannographie. Ces techniques non invasives présentent un bénéfice majeur pour la réalisation de diagnostic et le suivi de patient. A l'inverse, le risque associé à ces techniques est l'utilisation de RX qui ionise la matière qu'il traverse. Une évaluation du risque sanitaire lié à leur utilisation en imagerie médicale est donc un objectif majeur en radioprotection. Dans cette première partie, nous aborderons les différents types de RIs, leurs effets physico-chimiques sur la cellule et leurs conséquences sur l'organisme.

1. Généralités sur les RIs

La matière est constituée d'atomes qui partagent des électrons pour former des liaisons plus ou moins fortes. Un RI est constitué soit de particules chargées, soit de photons (neutres) dont l'énergie est suffisante pour arracher ou donner un ou plusieurs électrons à un atome. L'interaction entre les RIs et la matière biologique va alors induire la création d'ions, ce qui a pour conséquence de la déséquilibrer.

La capacité d'un rayonnement à ioniser la matière dépend de son énergie : elle peut être ionisée à partir d'un seuil d'énergie contenu dans le rayonnement de l'ordre de 10 électronvolts. Deux types de rayonnements ont été définis selon leurs natures et leurs capacités à traverser la matière : les rayonnements directement ionisants et indirectement ionisants.

La dose absorbée est utilisée pour quantifier l'énergie déposée par un RI par unité de masse; elle est mesurée en Gray (Gy). Un Gray représente l'énergie d'un Joule apportée à une masse homogène de 1 kg, soit 1 Gy = 1 J/kg. Plusieurs types de doses peuvent être calculés à partir de la dose absorbée pour qualifier l'impact des RIs sur la matière biologique. Nous pouvons calculer la dose équivalente qui prend en compte le type de rayonnement et la dose efficace qui en plus de considérer le type de RIs utilisé, prend en compte la sensibilité des tissus. Cette dose efficace est standardisée, elle peut être utilisée pour comparer les différents actes et

l'évolution de la dose délivrée au cours du temps. Ces doses permettent d'évaluer les conséquences biologiques d'une exposition humaine aux RIs ; elles sont exprimées en Sievert (Sv), une unité homogène au Gray. Dans le contexte de cette thèse expérimentale, nous utiliserons la notion de dose absorbée en Gy. Le débit de dose se mesure en Gy ou Sv par unité de temps. Il correspond donc à l'énergie d'un Joule apportée à une masse homogène de 1 kg, par unité de temps.

1.1. Les rayonnements directement et indirectement ionisants

Les rayonnements ionisants α et β sont des faisceaux de particules chargées électriquement. Ils ont donc la capacité intrinsèque d'ioniser directement la matière qu'ils rencontrent. Le rayonnement α est un faisceau de noyaux d'hélium composé de deux protons et de deux neutrons. Un rayonnement β peut être soit un faisceau d'électrons (β^-) soit un faisceau de positons (β^+). Ces deux types de rayonnements sont émis lors de la désintégration d'un atome radioactif. Ils sont peu pénétrants et ils sont facilement arrêtés par la matière ; les rayonnements α et β sont respectivement stoppés par une feuille de papier ou par une feuille d'aluminium.

Les rayonnements gamma (Rγ) et les rayons X (RX) sont des ondes électromagnétiques constituées de particules neutres : les photons. Ils n'ont pas la capacité intrinsèque d'ioniser la matière, ils sont dits indirectement ionisants. L'ionisation de la matière résulte majoritairement de trois types d'interactions qui dépendent de l'énergie du photon incident : l'effet photoélectrique, l'effet Compton et la création de paires (figures 2, 3 et 4).

L'effet photoélectrique : Ce phénomène se produit lorsqu'un photon de faible énergie cède toute son énergie à l'électron d'un atome avec qui il est fortement lié (couche interne du cortège électronique). L'électron est arraché du cortège électronique de l'atome et ce dernier se retrouve alors dans un état excité. Lorsqu'un électron de la couche supérieure vient combler le manque laissé par l'électron arraché, un rayonnement de type X est émis (figure 2).

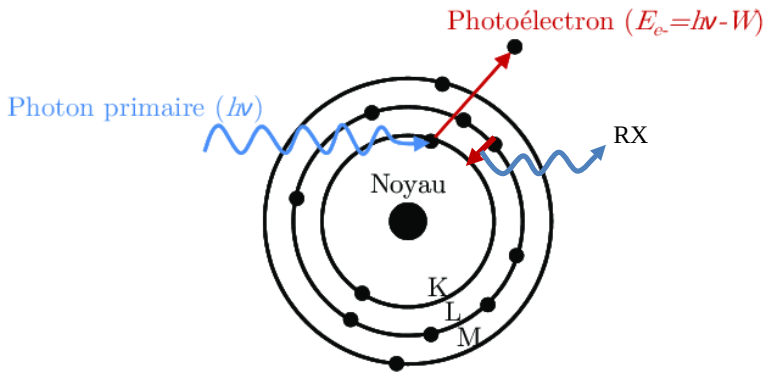


Figure 2. **L'effet photoélectrique.** Le noyau représenté par un gros cercle noir est entouré par différentes orbitales atomiques centrifuges K, L et M schématisées par le cercle dans lesquelles se trouvent les électrons représentés par les petits cercles noirs (Adapté de la Thèse F. Marsolat 2014).

L'effet Compton : L'effet Compton a lieu lorsque qu'un photon incident d'énergie intermédiaire entre en collision avec l'électron d'un atome avec qui il est faiblement lié (couche externe du cortège électronique). Cet électron, dit électron de recul, est éjecté du cortège électronique de l'atome et un photon, appelé « photon Compton », est émis (figure 3). L'effet Compton est l'effet prédominant dans le domaine de la radiothérapie et dans celui de l'imagerie médicale.

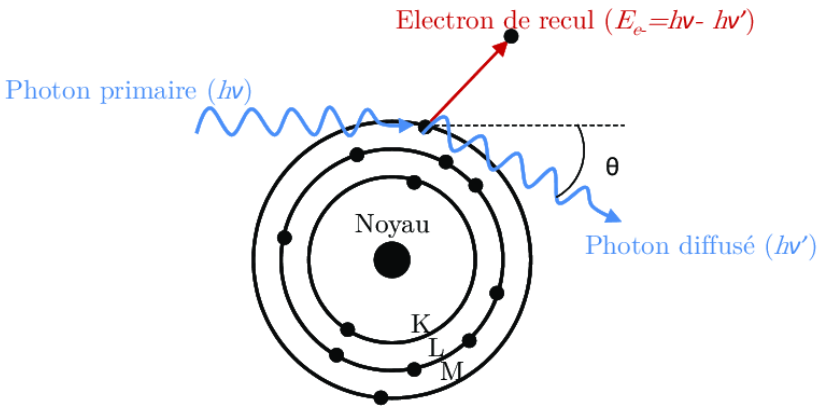


Figure 3. **L'effet Compton.** (Thèse F. Marsolat 2014)

La création de paires : Ce phénomène n'a lieu que si le photon a une énergie supérieure à 1.02MeV. Lorsque le photon entre en collision avec le noyau de l'atome, cela induit la création d'une paire électron – positon (ou positron). Cette paire peut ensuite ioniser directement la matière (figure 4).

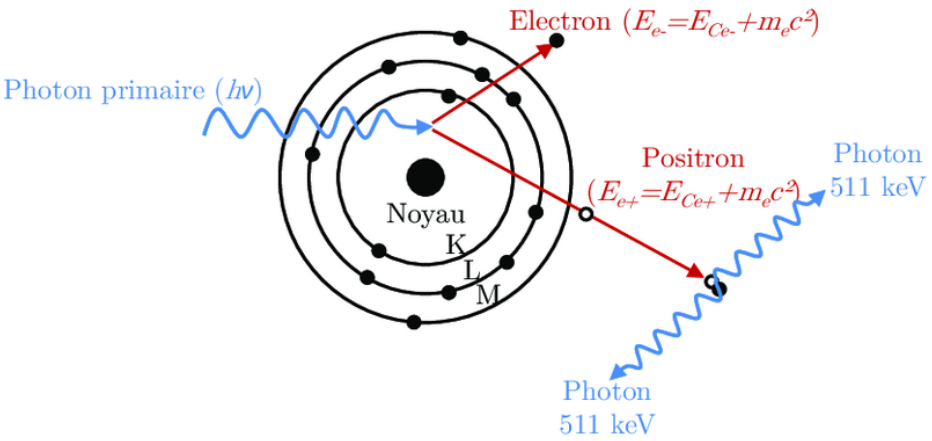
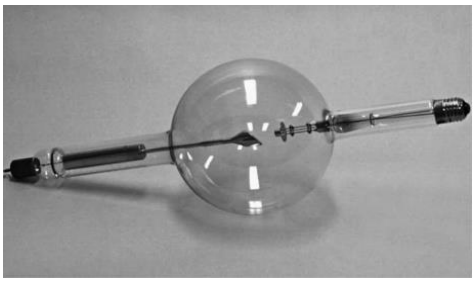


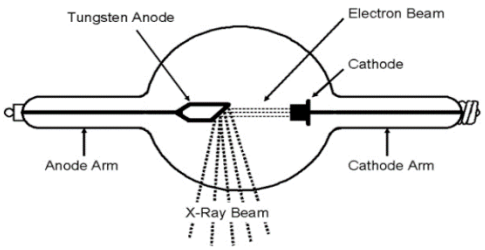
Figure 4. **La création de paires**. (Thèse F. Marsolat 2014)

Les Rγ et RX diffèrent par leurs fréquences, leurs énergies et la manière dont ils sont générés. La fréquence des Rγ est supérieure à 30.10^{18} Hz et ils ont une énergie allant du KeV au GeV. La fréquence des RX est inférieure aux Rγ, elle est comprise entre 30.10^{15} Hz et 30.10^{18} Hz. Leur énergie est de l'ordre du KeV. Les Rγ sont émis lors de la désintégration d'un atome radioactif pendant la transition nucléaire, tandis que les rayons X sont émis lors de la transition électronique provoquée par la collision entre un électron et un atome. Ces deux types de RIs sont fortement pénétrants. Il est possible de les arrêter grâce à un mur de plomb dont l'épaisseur varie en fonction de l'énergie du rayonnement émis.

1.2. La génération artificielle des rayons X

Les rayons X exploitables sont générés artificiellement par l'Homme dans des accélérateurs de particules ou dans un tube à rayons X, appelé tube de Coolidge (figure 5).





Coolidge X-ray Tube. Image Credit: *Oak Ridge Associated Universities*

Figure 5. **La photo et le schéma du tube de Coolidge**
(Photo issue de l'article de Busch et al., 2014 et l'image est issue du site : physicsabout.com)

Dans le cas de l'imagerie médicale, ce dernier est majoritairement utilisé pour générer des RX. Ce tube est constitué d'une anode et d'une cathode. La cathode est chauffée par un courant électrique, ce qui crée une haute tension entre ces deux éléments opposés. Les électrons générés à la cathode sont accélérés par cette haute tension et viennent percuter l'anode ce qui entraîne l'émission de RX.

2. Les effets biologiques des RIs

Les effets radio-induits sur la matière biologique dépendent, entre autres, de la nature du rayonnement, de la dose, du débit de dose mais aussi de la sensibilité du tissu exposé. Les RIs vont déstabiliser les interactions atomistiques, ce qui a pour conséquence d'endommager les macromolécules cellulaires comme l'ADN, les protéines et les lipides de deux manières concomitantes (figure 6) :

- Directement via leurs interactions avec des électrons d'ionisation et/ou d'excitation
- Indirectement par la création d'espèces réactives de l'oxygène lors de la radiolyse de l'eau.

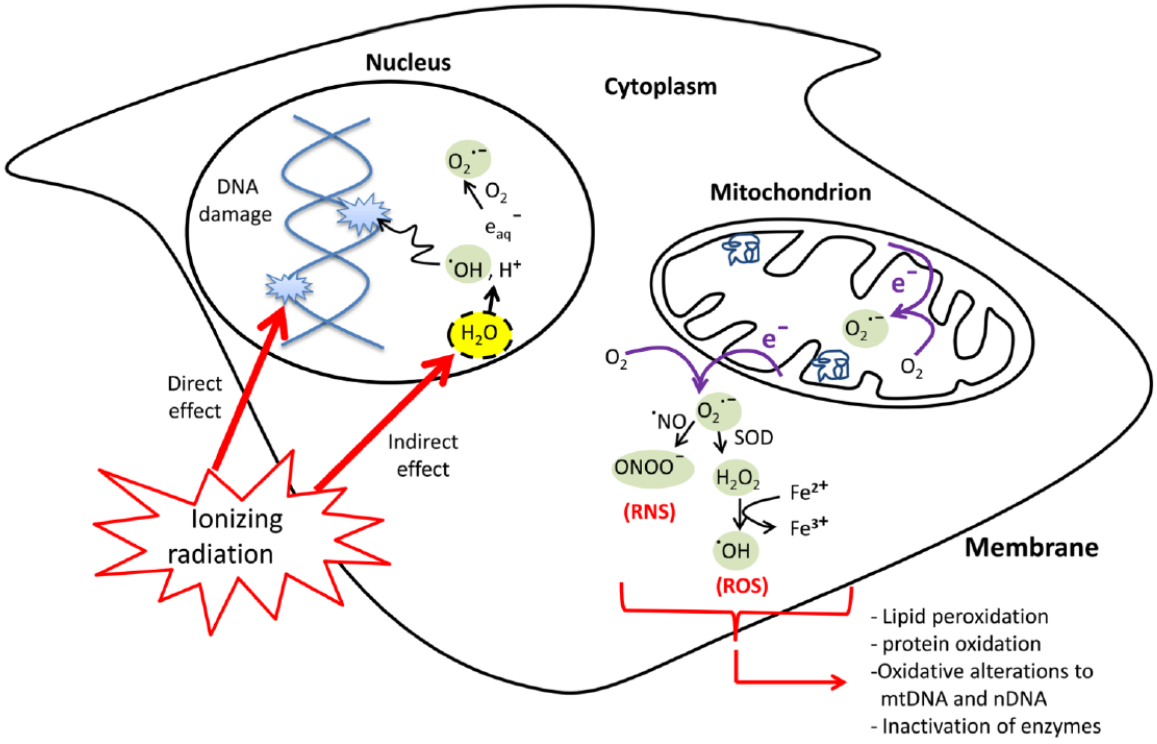


Figure 6. **Les effets directs et indirects des RIs sur les macromolécules et les organites cellulaires** (Azzam et al., 2012).

2.1. La radiolyse de l'eau et la création d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote

Comme illustré sur la figure 7 ci-dessous, la radiolyse de l'eau a lieu lorsque l'énergie absorbée par la molécule d'eau est suffisante pour induire son excitation ou sa ionisation. Contrairement à l'ionisantion de l'eau, l'excitation de la molécule d'eau est un processus mineur. L'ionisation de la molécule d'eau induit des réactions physico-chimiques multiples et rapides qui vont aboutir à la production d'électrons aqueux, des radicaux libres extrêmement réactifs comme l'hydrogène ($H^{\bullet}$) et des espèces réactives de l'oxygène comme le radicalaire hydroxyle ($HO^{\bullet}$) et hydroperoxyle ($HO_2^{\bullet}$), l'anion superoxyde ($O2^{\bullet-}$), ou encore le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). La cellule étant composée à 80% d'eau, les effets indirects de RIs médiés par la radiolyse de l'eau peuvent prédominer sur les effets directs des RIs sur les macromolécules cellulaires (Azzam et al., 2012).

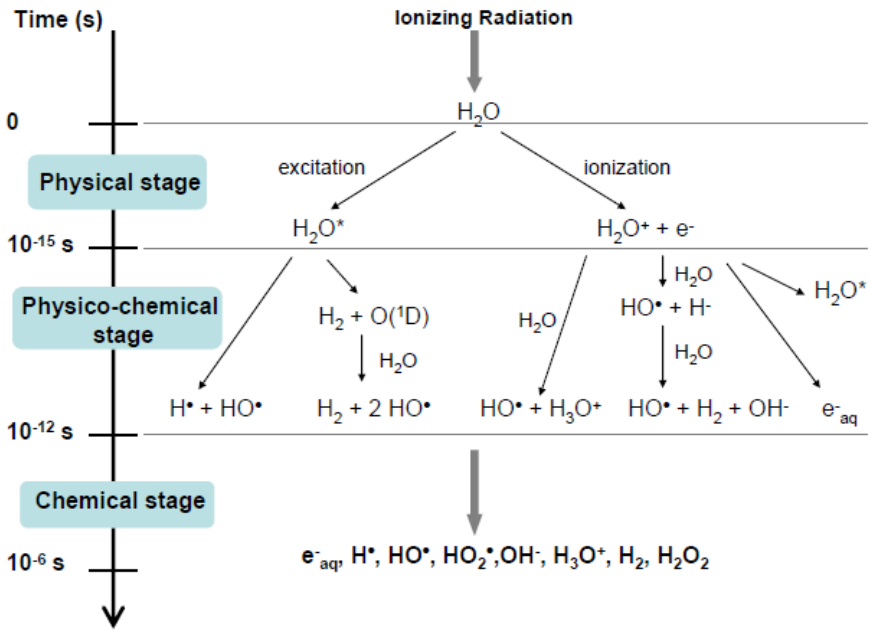


Figure 7. **La radiolyse de l'eau.** Ce schéma présente les premières réactions physico-chimiques lors de la radiolyse de l'eau (Le Caër, 2011).

Les RIs peuvent également créer des espèces d'oxydes d'azote ayant le pouvoir d'oxyder les macromolécules cellulaires tel que l'oxyde nitrique ($NO^{\bullet}$). En effet, ce radicalaire peut réagir avec l'anion radicalaire superoxyde ($O2^{\bullet-}$) pour former l'anion peroxonitrique (ONOO-).

De manière endogène, les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote, créées localement et transitoirement, participent à la signalisation cellulaire en phosphorylant ou déphosphorylant des protéines impliquées dans la transduction du signal et participent à la régulation de certains métabolites. Lorsque le taux d'espèces oxydantes est élevé et continu, nous sommes alors dans le cas d'un stress oxydatif, qui s'est révélé impliqué dans de nombreuses maladies (vasculaire, inflammatoire, diabète) (Siti et al., 2015, pour revue). Le taux et la dégradation des radicaux libres comme $O2^{\bullet-}$ sont contrôlés et régulés par des systèmes de défense anti-oxydants. Par exemple, dans le cytosol ou les mitochondries, l'anion O2•– est transformé par la métalloenzyme superoxyde dimutase (SOD) en péroxyde d'hydrogène (H2O2). Le peroxyde d'hydrogène est ensuite réduit par le glutathion-peroxydase pour former de l'eau. Dans le peroxysome, c'est la catalase qui catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau. Certaines vitamines comme les vitamines E et C ont un grand pouvoir antioxydant, réducteur et captent les radicaux libres en déstabilisant leurs électrons célibataires (Baudin et al., 2020, pour revue).

2.2. Les dommages à l'ADN

Parmi les dommages induits, directement ou indirectement, aux différentes macromolécules cellulaires, les lésions à l'ADN sont considérées comme les événements les plus délétères pour la cellule car l'intégrité et la pérennité du support de l'information génétique sont nécessaires à ses fonctions et à sa survie. Les dommages induits à l'ADN sont l'oxydation ou la désamination des bases azotées, des sucres, des lésions simples ou double-brins et la formation de pontage ADN-ADN et ADN-protéines (Lomax et al., 2002 ; Dedon et al., 2004, pour revue). Ces dommages peuvent avoir les conséquences suivantes sur la cellule :

1) Si les dommages à l'ADN sont correctement pris en charge par les systèmes de réparation à l'ADN spécifiques à chaque type de lésions, et que la réparation est fidèle, alors l'intégrité génétique est conservée et la cellule survit.
2) Si les dommages à l'ADN ne sont pas reconnus ou que la réplication est non-fidèle, la cellule peut entrer en apoptose et mourir. Ainsi la cellule ne pourra pas dériver en cellule cancéreuse, ce qui a pour conséquence de protéger le reste de l'organisme.
3) Si la cellule échappe à la mort programmée malgré les mutations radio-induites. L'intégrité de l'ADN est perdue ce qui peut favoriser un phénomène de cancérisation ; c'est notamment le cas lorsque des gènes suppresseurs de tumeurs sont mutés (Lomax et al., 2013, pour revue). Elle peut aussi entrer en sénescence c'est-à-dire perdre sa fonction physiologique et rester au sein du tissu jusqu'à son élimination par le système

immunitaire (Li et al., 2018). Ce phénomène permet de protéger l'organisme en induisant la latence de cellules précancéreuses. Cependant, il peut favoriser l'apparition de cancer si ces cellules ne sont pas éliminées (Chen et al., 2019, pour revue) ou favoriser des réactions tissulaires pathologiques (Hoenicke & Zender 2012, pour revue).

4) Enfin, si les cellules germinales sont atteintes, les mutations à l'ADN et les modifications épigénétiques peuvent être transmises aux générations futures.

Enfin, une exposition aux RIs peut induire directement la nécrose cellulaire créant ainsi un foyer inflammatoire, environnement favorable à l'apparition de cellules cancéreuses et des pathologies tissulaires.

Les cellules qui peuvent répliquer leurs ADN, comme les cellules souches, sont particulièrement vulnérables aux RIs. De plus, contrairement aux cellules différenciées, les cellules souches ou les progéniteurs transmettront leurs potentielles aberrations génétiques et épigénétiques aux lignées de cellules filles.

La réparation à l'ADN nécessite l'induction de plusieurs systèmes de réparations tels que la recombinaison homologue qui est un système de réparation fidèle, et la recombinaison non-homologue qui est moins fidèle. Lorsque la cellule est en cours de division, l'induction de l'une ou l'autre de ces voies semble dépendre de la phase du cycle dans laquelle elle se trouve. D'autres sytèmes existent comme la réparation des mésappariements, la réparation par excision de bases ou encore la réparation par incision de nucléotides (Iyama & Wilson 2013, pour revue).

2.3. Les dommages aux protéines et aux lipides

Les protéines (enzymes, histones, protéines membranaires, etc …) ont des fonctions variées qui reflètent leur importance pour le bon fonctionnement de la cellule. Le réarrangement structural radio-induit, directement ou indirectement, peut provoquer la perte des fonctions protéiques, délétère pour la cellule. Ces dommages sont la désamination ou la décarboxylation des acides aminés, la rupture de la chaîne polypeptidique, la dénaturation, la fragmentation ou la nitrosylation de la protéine, ou encore le pontage inter et/ou intra-protéines ou protéine-ADN/ARN (Houée-Levin & Sicard-Roselli 2001, Mikkelsen and Wardman, 2003).

En plus des réarrangements structuraux des lipides induits directement par les RIs, l'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène cause la peroxydation des lipides ou

l'oxydation des lipides insaturés. Ces modifications vont altérer l'intégrité de la membrane lipidique de la cellule ou des organites, pouvant entrainer une perte de l'activité enzymatique et des récepteurs membranaires (Gutteridge & Halliwell, 1990).

2.4. L'impact sur le métabolisme cellulaire

Outre les effets néfastes des RIs sur les macromolécules, de nombreux chercheurs se sont naturellement intéressés à l'impact des RIs sur la mitochondrie car cet organite ancestral est le siège énergétique de la cellule (Kim et al., 2006, pour revue). La chaine respiratoire mitochondriale est une chaine de réactions d'oxydo-réduction ou de transfert d'électrons qui produit des coenzymes et de l'énergie utilisable par la cellule à partir de l'oxygène. La mitochondrie est donc un lieu de production endogène d'anions superoxyde ($O2^{-}$). De plus, cette espèce est créée par le complexe NAD(P)-déshydrogénase localisé sur la membrane interne de la mitochondrie afin de désintoxifier la cellule d'agents xénobiotiques (Baudin et al., 2020).

En plus de la création d'espèces oxydantes induites par la radiolyse de l'eau lors d'une exposition à des RIs, les différentes interactions entre les RIs et la matière vont entrainer une augmentation d'électrons libres dans la cellule (figure 6). De plus, le surplus d'électrons peut enrayer la chaîne mitochondriale et augmenter la vitesse de la chaine respiratoire, ce qui a pour conséquence d'augmenter le taux d'espèces réactives de l'oxygène dont l'accumulation peut devenir délétère pour la cellule et se traduire par le déclenchement, entre autres, de la voie apoptotique (Simon & Levi-Schaffer et al., 2000 ; Redza-Dutordoir 2016, pour revues). Enfin, il a été démontré un effet de causalité entre un haut niveau de ces espèces oxydantes et l'instabilité génomique radio-induite de l'ADN mitochondriale sur l'apparition de certains types de cancers (Copeland et al., 2002 ; Limoli et al., 2003).

2.5. Les effets biologiques des RIs sur l'organisme

Les effets biologiques des RIs sur l'organisme sont classés selon deux types : déterministe ou stochastique (CIPR n°103) (figure 8).

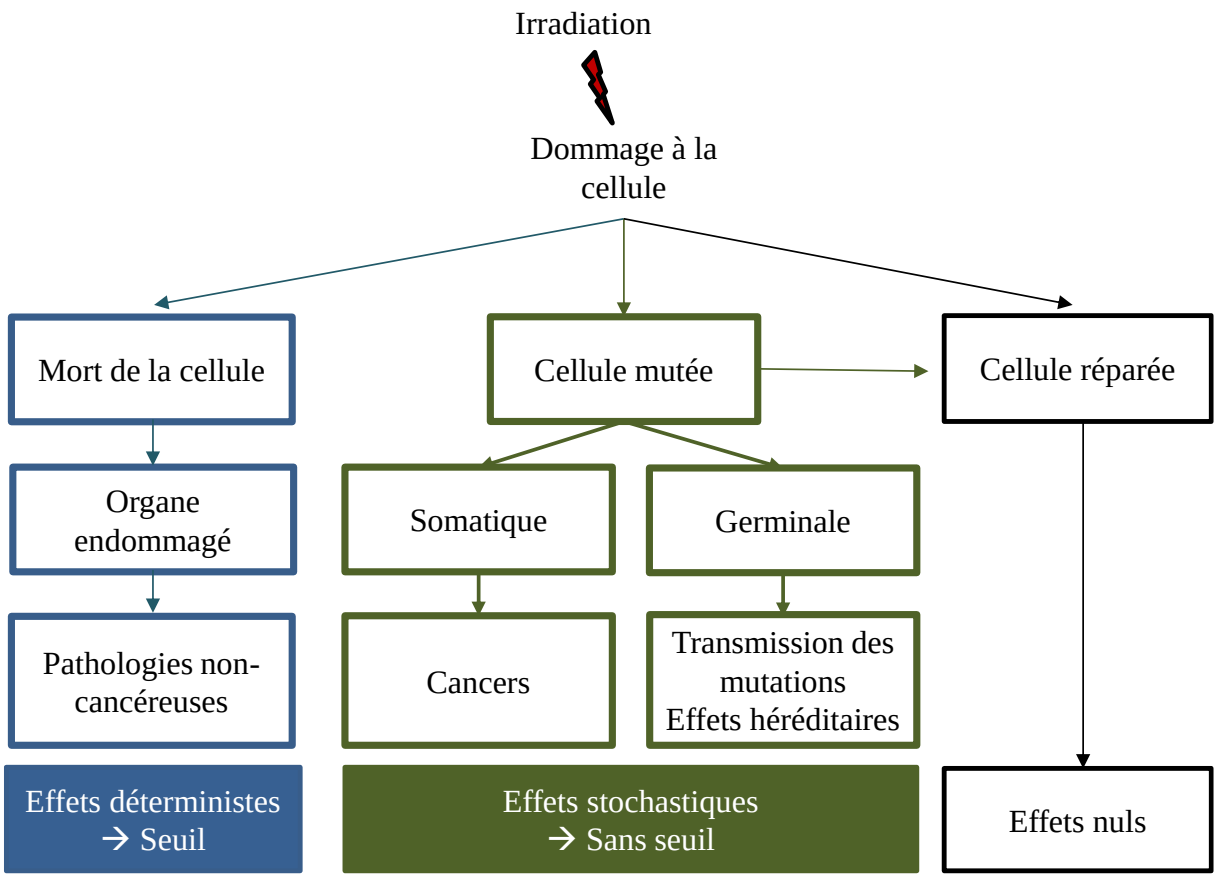


Figure 8. **Les effets déterministes et les effets stochastiques.**

Les effets déterministes ou « réactions tissulaires » sont des effets biologiques qui apparaissent systématiquement lorsque le seuil d'exposition est dépassé et sont potentiellement irréversibles. Le seuil dépend de la sensibilité de chaque tissu aux RIs. La sévérité des effets est proportionnelle à la dose (rougeur, nécrose, mort). Ces effets apparaissent à court/moyen terme. Par exemple, nous estimons qu'un individu dont l'intégralité du corps a été exposée à une dose ~4.5 Gy a une probabilité de décès de 50% dans les 60 jours post-exposition, sans soin médical adapté. L'irradiation de la peau avec une dose unique de 2-5 Gy induit un érythème transitoire, à 10-15 Gy un érythème prolongé, et au-delà de 15 Gy, une ulcération chronique ou permanente de la peau (Mettler 2012, pour revue).

Les effets stochastiques (cancers et effets héréditaires) n'ont pas de seuil caractérisé, et apparaissent de manière aléatoire au sein d'une population exposée. La sévérité des effets est indépendante de la dose : une irradiation peut entraîner l'apparition d'un cancer chez une

personne quelle que soit la dose. En revanche, la probabilité d'apparition de cancer augmente avec la dose. Ce type d'effet est tardif (quelques années à plusieurs décennies) et est à l'origine, en partie, d'une augmentation du taux de cancer.

3. Les relations dose-réponse et les mécanismes à la base de ces réponses

3.1. La relation linéaire sans seuil et les limites définies entre les doses faibles et fortes

Dans le domaine de la toxicologie, les réponses biologiques sont souvent décrites en fonction de la dose appliquée : c'est la relation dose-réponse (figure 9).

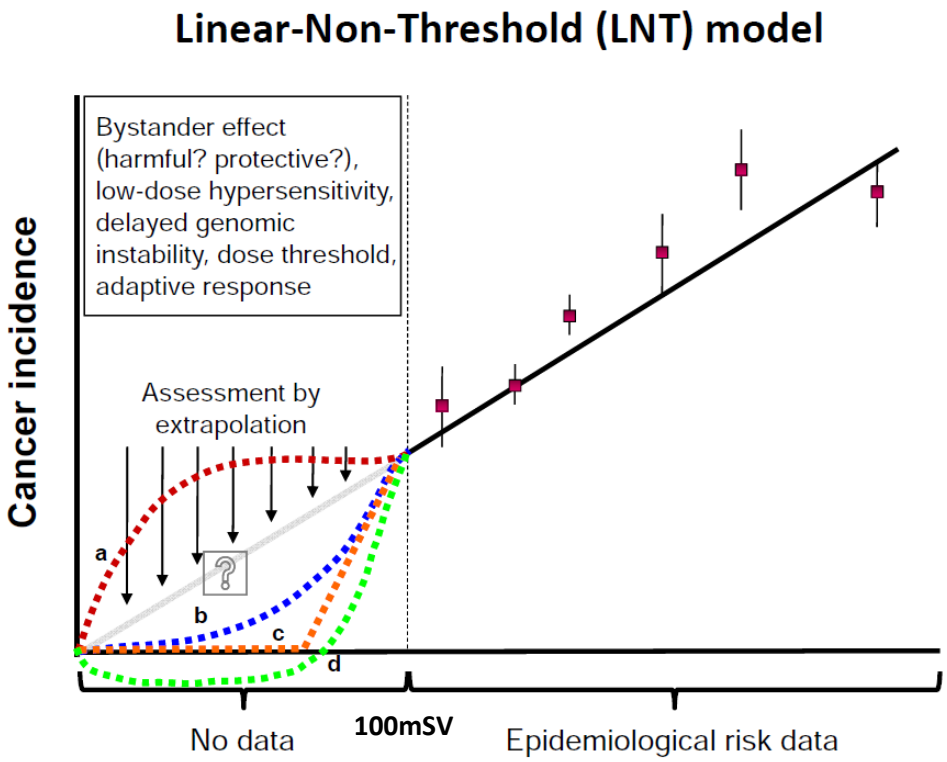


Figure 9. **La relation linéaire sans seuil et les relations non-linéaires.** La relation linéaire sans seuil est représentée par la ligne. L'extrapolation de cette relation à des faibles doses (< 100mSv) de RIs est remise en question dans la littérature. Plusieurs relations doses-réponses non linéaires ont été observées à faibles doses pour lesquelles le risque est supérieure comparé à ce qui serait attendu par la relation linéaire sans seuil : (a) hypersensibilité où le risque est supérieur comparé à ce qui serait attendu par la relation linéaire sans seuil et (b et c) : le risque est moindre comparé à la relation linéaire sans seuil. Au contraire, un effet bénéfique peut-être observé (hormèse) et (d) le risque est diminué après une exposition à une dose faible de RIs : réponse adaptative (Adapté de Mancuso et al., 2012).

Les études épidémiologiques menées notamment sur les populations survivantes des bombardements d'Hiroshima et de Nagasaki sont des études fondatrices du système de radioprotection actuel. Ces études ont démontré que la probabilité de développer un cancer solide était proportionnelle à la dose reçue au-delà de 100 mSv (UNSCEAR 2012). En dessous de 100 mSv, les résultats épidémiologiques obtenus sur les dernières décennies consolident la

persistance d'un risque de cancer proportionnel à la dose (Hauptmann et al., 2020) mais l'estimation de la relation dose-risque est associée à de larges incertitudes pour des gammes de dose de quelques mSV. C'est sur la base de ces études que la Commission Internationale de Protection Radiologique (CIPR) ont défini une relation linéaire sans seuil comme le modèle de référence utilisé en radioprotection pour les effets stochastiques (figure 9). C'est l'utilisation de ce modèle qui a permis de fixer des limites de doses pour la protection de l'Homme contre les effets stochastiques des RIs.

L'UNSCEAR a proposé une classification des niveaux de doses. Une dose faible est une dose qui n'induit pas d'effets déterministes aigus et pour laquelle la probabilité d'effets stochastiques est limitée. Une dose très faible est strictement inférieure 10 mGy ; une dose faible est comprise entre 10 et 100 mGy ; une dose modérée entre 100 mGy et 1 Gy et enfin, une dose forte est strictement supérieure 1 Gy (UNSCEAR, 2012, p30).

La relation dose-réponse dans le domaine des faibles doses étant associée à de larges incertitudes, la validité de la relation linéaire sans seuil reste controversée et est souvent remise en question dans la littérature.

3.2. Les réponses biologiques associées aux relations dose-réponse non linéaires à des dose faibles à modérées

Les réponses biologiques induites par une exposition à faibles doses semblent être très différentes de celles décrites à fortes doses (Tubiana et al., 2009, pour revue). A des doses faibles à modérées, la relation dose-réponse ne suit pas forcément une relation linéaire. Les relations doses-réponses peuvent être en forme de U, U-inversé ou J-inversé (figure 9). Plusieurs mécanismes ou réponses cellulaires spécifiques sont à l'origine de ces différentes relations dose-réponses.

3.2.1. La réponse adaptative et hormèse

La réponse adaptative correspond à des effets biologiques moindres comparés à ce qui serait attendu selon la modélisation linéaire sans seuil. Des recherches *in vitro* et *in vivo* ont démontré que l'irradiation à une dose faible de l'ordre du cGy, d'une cellule ou d'un organisme lui confère une protection contre une seconde irradiation à une dose plus forte ou dose challenge. La première irradiation induit l'activation de voies de signalisation qui permet à la cellule de faire face aux nombreux effets délétères radio-induits tels que le recrutement des molécules impliquées dans la réparation de l'ADN, le recrutement du système immunitaire,

l'induction de la réponse anti-oxydante, l'autophagie et l'apoptose. Ainsi, lors de la seconde irradiation, l'ensemble des processus protecteurs est déjà mis en place et permet à la cellule d'être protégée lors d'une seconde agression, lorsque la dose appliquée est plus élevée que lors de la première stimulation. Cette réponse adaptative dépend des doses appliquées, du débit de dose, du temps entre les deux irradiations et du type de rayonnements utilisé mais aussi du système étudié (Tang & Loke, 2015 ; Guéguen et al., 2019, pour revues). Ce type de réponse est caractérisé par une relation dose-réponse en forme de U (Calabrese et al., 2005 et 2017).

En toxicologie, l'hormèse décrit un effet stimulant/bénéfique d'une exposition à un agent considéré comme toxique, comme les RIs, lorsque la dose appliquée est faible, alors qu'à une dose plus forte, l'effet est délétère (Calabres et al., 2003, pour revue). Ce phénomène a été décrit à la suite d'une exposition aux RIs pour des doses de l'ordre du mGy (Feinendegen 2005). L'irradiation *in vitro* de cellules à la dose de 10 mGy a pour effet de diminuer le taux de transformation/mutation en dessous du seuil spontané de mutations. Cet effet a aussi été observé *in vivo* chez l'animal et chez l'humain (pour plus d'exemples, voir Calabres et al., 2003 ; Tang & Loke, 2015 ; Jin et al., 2020 pour revues). Les mécanismes à l'origine de cet effet sont l'induction de réponses cellulaires protectrices, décrites précédemment (Tang & Loke, 2015 ; Jin et al., 2020, pour revue). L'hormèse est caractérisée par une relation dose-réponse biphasique (courbes en U ou J inversé) (Calabres et al., 2003, pour revue).

3.2.2. L'hypersensibilité et la radiorésistance

L'hypersensibilité correspond à des effets biologiques plus délétères qu'attendu par la relation linéaire sans seuil, à une dose faible équivalente. A l'inverse, la radiorésistance correspond à des effets biologiques moindres qu'attendus selon la relation linéaire sans seuil. Ce phénomène découvert par Joiner et al., correspond aux effets observés dans une gamme de doses faibles (< 0.8 Gy) qui sont aussi retrouvés dans des gammes de doses plus fortes (Joiner et al., 1996 et 2001). Par exemple, la survie de nombreux types cellulaires est diminuée de 25% à la suite d'une exposition aux RIs entre les doses de 0.1 à 0.8 Gy. Ce même pourcentage de létalité a été observé pour des doses 10 à 20 fois plus élevées (Joiner et al., 1996). Pour les doses intermédiaires, le taux de survie cellulaire est ré-augmenté. Les mécanismes moléculaires mis en jeu dans ces deux réponses ont été proposés récemment par l'équipe de Devic et al., (2016). D'après leur hypothèse ces deux phénomènes étaient intimement liés à la vitesse de transit de la protéine « *Ataxia Telangiectasia Mutated* » (ATM) impliquée dans la reconnaissance des cassures doubles brins de l'ADN. Comme les doses faibles ne provoquent

pas assez de cassures doubles brins pour induire une réquisition rapide de la protéine ATM dans le noyau, elles ne sont donc pas reconnues et par conséquent, elles ne sont pas réparées. A l'inverse, la multitude de cassures doubles brins radio-induites à des doses plus fortes, induit une réquisition rapide d'ATM dans le noyau, elles sont reconnues et peuvent-être réparées (Granzotto et al., 2016 ; Devic et al., 2016, pour revue). Ces phénomènes sont caractérisés par une relation dose-réponse en forme de U inversé.

3.2.3. L'effet *bystander*

L'effet bystander décrit les effets induits par les RIs sur des cellules non-irradiées au voisinage, proche physiquement, des cellules irradiées (Djordjevic, 2000). Cet effet semble être médié par la communication intercellulaire via les jonctions *gap* ou par l'intermédiaire du milieu extracellulaire contenant des molécules médiatrices (ROS, NOS, et cytokines) sécrétées par les cellules irradiées. L'effet *bystander* est observé quelle que soit la dose. Néanmoins il peut prédominer sur les effets directs des RIs lorsque la dose appliquée est faible (< 0.5 Gy) (Seymour & Mothersill 2000). Des études ont mis en évidence que l'effet *bystander* pouvait également participer à la réponse adaptative (Ojima et al., 2011 ; Kadhim et al., 2004). Cependant, il semblerait que certains types cellulaires exposés qui présentent une relation dose-réponse caractéristique d'une hypersensibilité, ne présentent pas d'effet *bystander*. La réciproque a également été démontrée (Mothersill & Seymour 2002). L'effet *bystander* donne lieu à une réponse de type supra-linéaire où les effets sont encore plus délétères que ce qui serait attendu selon le modèle linéaire sans seuil.

L'effet *bystander* à longue distance, loin physiquement de la zone irradiée, a été décrit et défini sous le terme *d'effet abscopal* par RH Mole (Mole et al., 1953). Les effets moléculaires et cellulaires observés à distance de la zone d'irradiation sont identiques aux effets indirects induits par les RIs, décrits précédemment. Cet effet semble être médié par le système immunitaire circulant (Rodríguez-Ruiz et al., 2018).

II. La tomodensitométrie, une technique d'imagerie médicale d'intérêt à utiliser avec prudence

Dans la première partie de l'introduction nous avons souligné le fait que l'exposition à des RIs pouvait être délétère à toutes les échelles de l'organisme. Néanmoins comme nous allons le décrire dans cette deuxième partie, leurs utilisations dans le domaine médical offrent la possibilité aux patients d'effectuer des examens nécessaires à la réalisation d'un diagnostic.

1. Les techniques d'imagerie médicale utilisant des RX

L'imagerie médicale regroupe l'ensemble des outils permettant d'acquérir des images du corps d'un individu grâce à différents phénomènes physiques comme la résonnance magnétique nucléaire (en Imagerie par Résonnance Magnétique : IRM) ou la réflexion d'ondes (en échographie). La radiographie et la scanographie sont des techniques d'imagerie basées sur l'absorption des RX, ce qui permet d'explorer l'intérieur du corps humain sans aucune intervention physique invasive. Lors de l'acquisition des images, la source de RX est située à l'extérieur de l'organisme. Ce type d'exposition cesse lorsque l'organisme n'est plus sur la trajectoire des RX ou par la mise en place d'un système de protection adapté. A l'inverse, l'ingestion, l'inhalation ou encore l'injection d'isotopes radioactifs sont des types d'expositions internes. Ce mode d'exposition cesse une fois que le(s) élément(s) radioactif(s) sont éliminés de l'organisme par excrétion. En fonction du type d'examen réalisé, un agent de contraste radioactif (dérivés iodés) peut être utilisé pour améliorer la qualité de l'image réalisée par scanographie ou radiographie. On parle alors de co-expositions.

Le premier service de radiologie a vu le jour un an après la découverte des RX par Röntgen en 1895. La radiographie conventionnelle permet de faire des images en 2D d'une zone d'intérêt. Pour cela, le patient est placé entre une source de RX et un film argentique sur lequel se fera l'impression de l'image (figure 10). Plus le tissu est dense comme l'os, plus l'image résultante sera claire. A l'inverse, plus un tissu est mou comme un organe, plus l'image sera sombre.

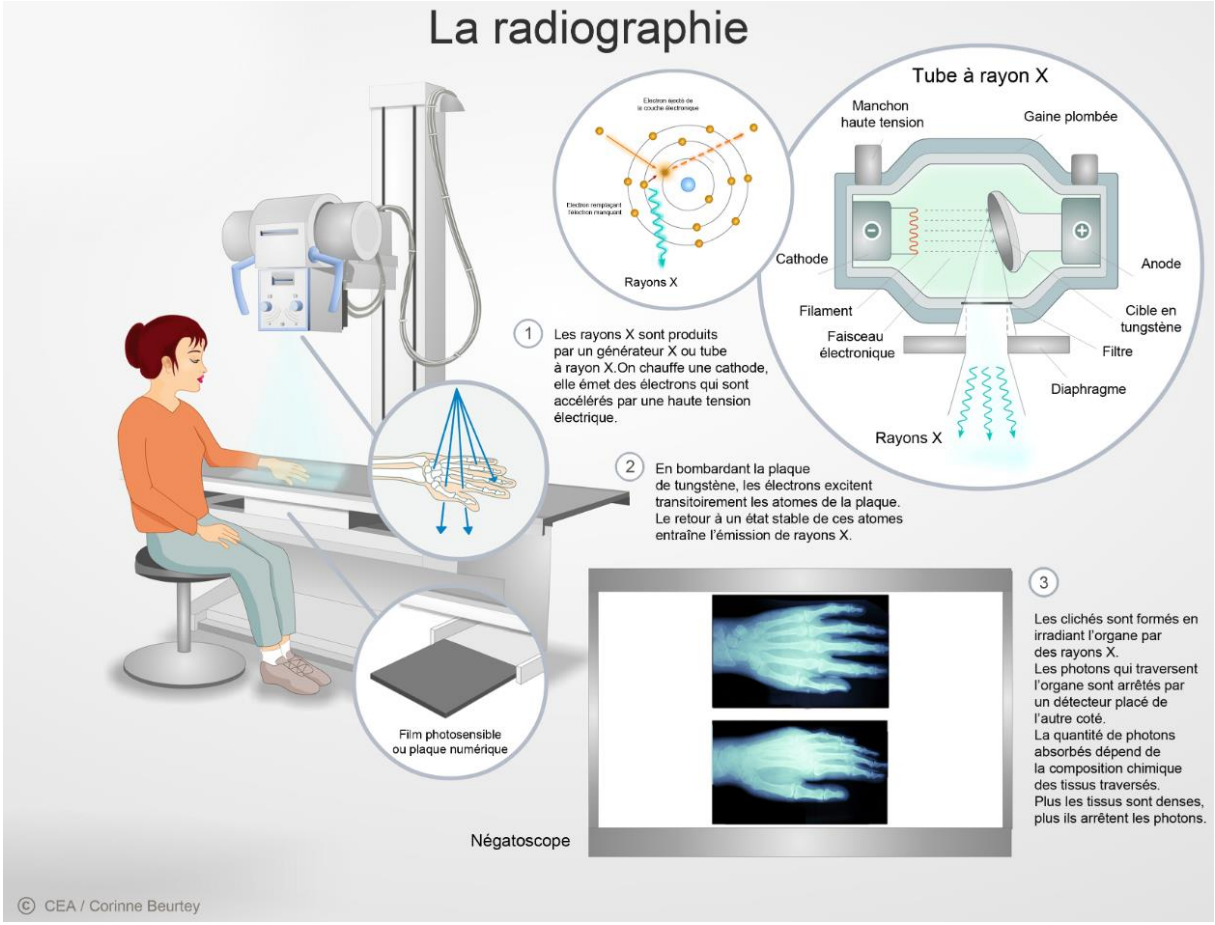


Figure 10. **La radiographie conventionnelle (Auteur Corinne Beurtey, CEA)**

En 1972, les travaux respectifs d'AM.Cormar et G.Newbold Housfields ont abouti à la création du tout premier tomodensitomètre ou scanner médical. Le tomodensitomètre est une technologie de pointe basée sur le même principe que les appareils de radiographie, à la différence près qu'il est possible d'obtenir des images en 3D. L'obtention de plusieurs images en 2D est possible grâce à la rotation simultanée de la source et du détecteur. Elles seront ensuite traitées par des logiciels de numérisation pour obtenir une seule image en 3D (figure 11). Un autre avantage de cette technique est que la scanographie permet de déceler des détails non visibles en radiologie conventionnelle. Les images obtenues sur des tissus mous comme le cerveau sont plus nettes. Cependant, pour obtenir des images de meilleure qualité, la dose appliquée est plus élevée, ce qui est l'inconvénient majeur de la scanographie. Bien que les doses de RX utilisées dans ces deux techniques soient très faibles, de l'ordre du mGy, les doses utilisées en scanographie sont bien supérieures à celles utilisées en radiographie conventionnelle. Par exemple, la dose délivrée lors de la scanographie du poumon est 100 fois supérieure à celle utilisée en radiographie conventionnelle. Pour le sein, elle est 400 fois

supérieure. La dose délivrée au cerveau lors d'une scanographie de la boite crânienne est de 50 mGy chez un adulte de 60 à 80kg ; elle n'est que de 0.7 mGy lors d'une radiographie conventionnelle pour un adulte de même poids.

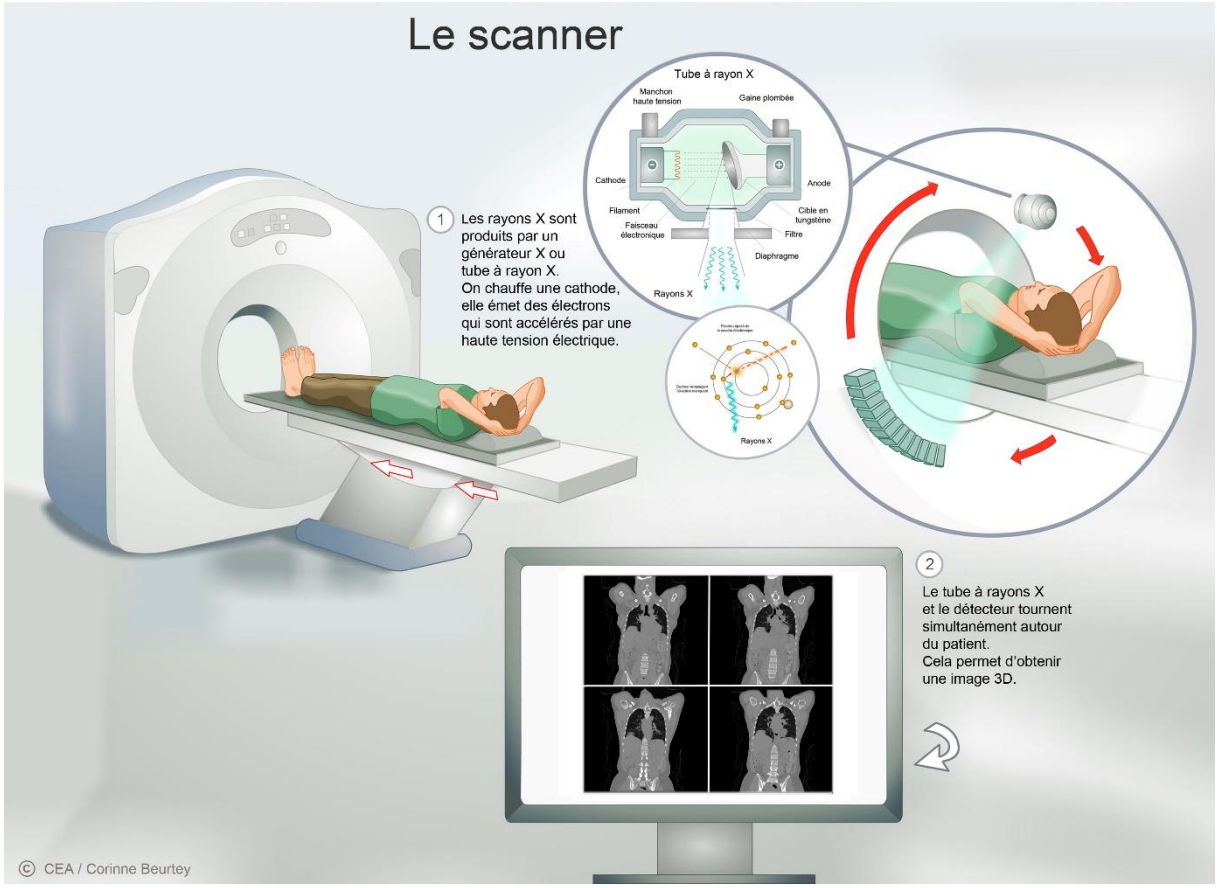


Figure 11. **La scanographie (Auteur Corinne Beurtey, CEA)**

La majorité de l'exposition artificielle aux RIs est d'origine médicale (figure 1). En conséquence, les autorités publiques comme la Direction Générale de la Santé (DGS) ou encore l'Autorité de Sûreté Nucléaire (ASN) demandent régulièrement des rapports d'expertise détaillés à l'IRSN et au CEA pour mieux évaluer les risques des RIs sur la santé. Des études de suivi de patients sont donc réalisées afin de pallier le manque de connaissance sur la répartition des actes de diagnostic médical (radiographie, scanographie et médecine nucléaire) et la dose délivrée à l'organe. Des chercheurs de l'IRSN ont étudié ces paramètres, sur l'échantillon généraliste de bénéficiaires (EGB) de l'assurance maladie pour l'année 2012, à tout âge confondu (rapport IRSN DRPH/SER N°2010-12). Une attention particulière a été portée sur les enfants de moins de 15 ans car ils sont en croissance, ce qui les rend plus vulnérables que les

adultes à certains agents toxiques tels que les RIs. De plus, l'exposition aux RIs de cette population, dont l'espérance de vie est élevée, peut potentiellement avoir des conséquences sur leur santé tout au long de leur vie.

2. La scanographie pédiatrique

Deux études réalisées sur cette cohorte (< 15 ans) de l'EGB en 2010 et 2015 ont permis d'estimer l'évolution des actes de diagnostics médicaux sur 5 ans (Rapport IRSN-PRP-HOM N°2013-3 ; Rapport n° PSE-SANTE/SER/2018-00004). L'acte majeur est la radiographie conventionnelle mais la dose efficace totale reçue a diminué d'environ 20% en 5 ans. La fréquence des actes de scanographie n'a pas changé ; elle représente environ 2% des actes totaux, mais la dose efficace totale a augmenté d'environ 13% entre 2010 et 2015 (figure 12).

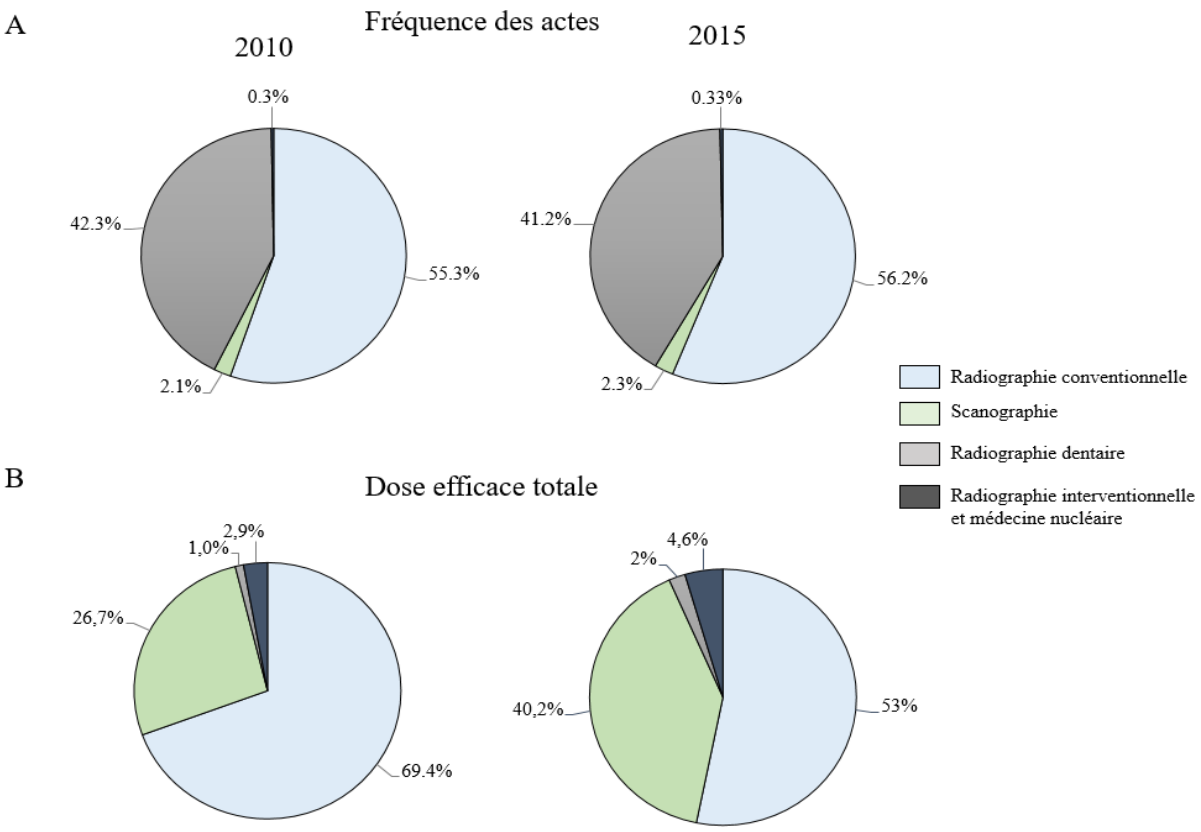


Figure 12. **(A) La fréquence des actes et (B) la dose efficace totale reçue en fonction des actes pratiqués en pédiatrie pour l'année 2010 et 2015** (Adapté des rapports IRSN : IRSN-PRP-HOM N°2013-3 et n° PSE-SANTE/SER/2018-00004).

La région de la tête et du cou reste la zone la plus explorée par scannographie (50 à 70% des actes totaux), quel que soit l'âge de l'enfant (figure 13).

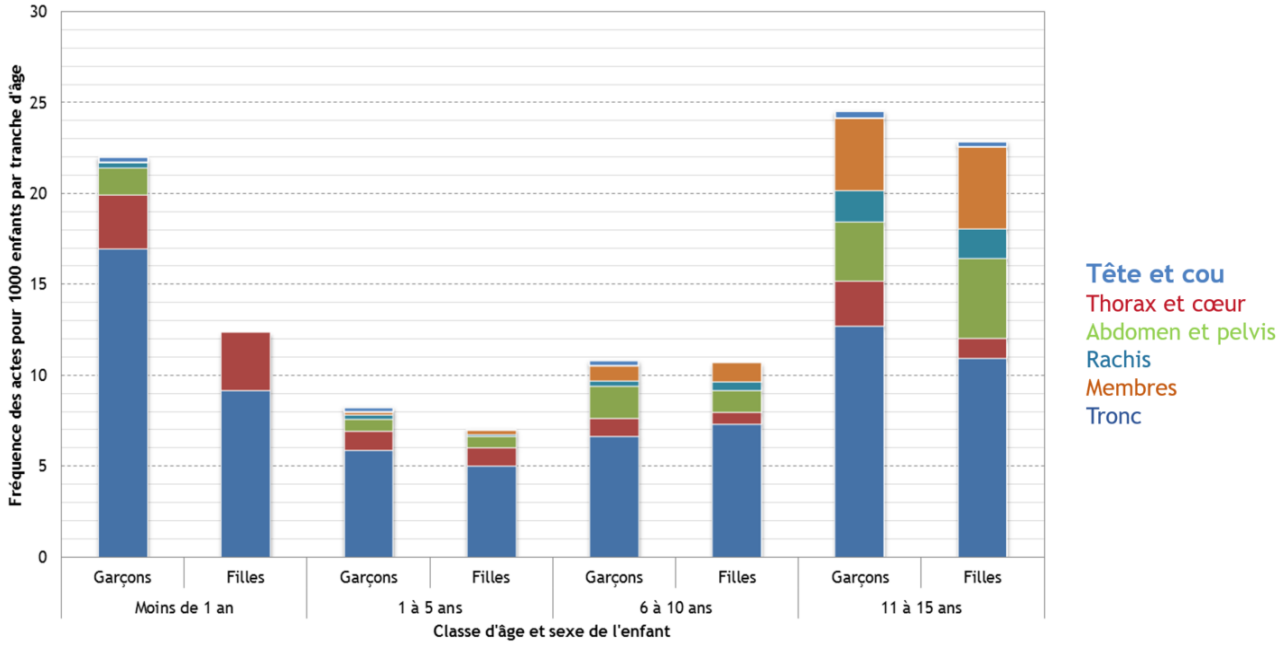


Figure 13. **La fréquence des actes de scanographie par région anatomique explorée en fonction de l'âge de l'enfant en 2015**. (Adapté du rapport IRSN n° PSE-SANTE/SER/2018-00004).

Pour ces deux années (2010 et 2015), la tranche d'âge la plus souvent exposée correspond aux enfants de moins de 1 an. Enfin, la proportion d'actes réalisés chez les garçons et les filles est similaire. Néanmoins, en 2015, parmi les enfants de moins de 1 an qui ont bénéficié d'au moins un scanner de la région de la tête et du cou, les garçons sont exposés en moyenne deux fois plus que les filles (figure 13).

Il est important de noter que ces enfants de l'EGB qui ont bénéficié d'un scanner, quelle que soit la zone anatomique explorée, sont généralement atteints par une pathologie complexe nécessitant l'utilisation de différents actes de diagnostic et/ou la répétition de ces actes. La répétition de ces actes peut aboutir à une dose cumulée élevée, de l'ordre de la centaine de mGy, dont les conséquences peuvent être non-négligeables sur la qualité de vie et la santé de ces jeunes patients. Enfin, notons également que l'échantillon utilisé dans cette étude ne représente qu'une infime partie de la population française, soit ~0.01%.

L'exposition du cerveau de l'enfant à des doses faibles à modérées de RIs soulève de nombreuses questions concernant leurs effets potentiels sur les processus cognitifs de ces enfants une fois adultes.

3. Les effets comportementaux et cognitifs de l'adulte induits par une exposition aux RIs pendant l'enfance

3.1. Les effets des doses faibles à modérées

Les études comportementales et cognitives effectuées suite à des expositions à des doses faibles de RIs sont ponctuelles et controversées (Betlazar et al., 2016, pour revue). Hall et al., (2004) se sont intéressés à une cohorte de jeunes adultes traités pour des hémangiomes cutanés à l'âge de 18 mois par RX à des doses comprises entre 0 et 250 mGy. Les auteurs ont mis en évidence un lien entre les capacités scolaires des patients et la dose reçue lors du traitement. Ainsi, la probabilité d'être admis à l'université est diminuée de 50% quand les patients ont reçu une dose de RX supérieure à 100 mGy. Pour la dose < 100 mGy, aucun effet n'a été démontré. Enfin, les auteurs ont établi une relation négative entre la dose et les capacités d'apprentissage ou de raisonnement logique mais pas pour la capacité de reconnaissance spatiale (Hall et al., 2004). Cependant, malgré les efforts de cette équipe pour limiter les biais éventuels, cette étude fait encore l'objet de nombreuses critiques : les choix d'inclusion des patients, l'éventail de doses ou encore les différents types de RIs (Brisse et al., 2004). Une équipe de chercheurs a récemment analysé les données de cette même cohorte et n'a pas retrouvé les mêmes résultats (Blomstrand et al., 2014). Les auteurs ont démontré que le niveau d'éducation des patients n'était pas affecté par l'irradiation cérébrale pour des doses inférieures ou supérieures à 250 mGy, tout comme les scores obtenus lors des tests de logique, de reconnaissance spatiale et technique. Seul le score du test verbal semble être diminué lorsque la dose reçue au niveau de l'hippocampe, structure impliquée dans les fonctions cognitives dont la mémoire, est de l'ordre de ~ 680 mGy. Enfin, leur conclusion principale est que la dose reçue au niveau de l'hippocampe parait être un meilleur indicateur prédictif de troubles cognitifs comparée à la dose reçue dans la partie antérieure ou postérieure du cerveau (Blomstrand et al., 2014). Une étude récente a démontré que la scanographie de la tête réalisée chez des enfants âgés de 6 à 16 ans n'affectait pas leur cognition à l'âge adulte lorsque la dose appliquée à l'hippocampe était comprise entre 23.4 et 146.2 mGy (Salonen et al., 2018). Enfin, une étude qui a sélectionné les articles les plus pertinents à ce sujet, accorde un lien de causalité entre une diminution du quotient intellectuel de 4 à 5 points et une irradiation du cerveau à la dose de 250 mGy au stade

prénatal et/ou pendant l'enfance. Cependant, les auteurs restent prudents sur ce lien de causalité (Pasqual et al., 2020, pour revue). Finalement, le nombre de données disponibles à ce sujet n'est pas suffisant pour conclure sur d'éventuels effets des RIs à faibles doses sur la cognition (Pasqual et al., 2020, pour revue). Par conséquent, l'ensemble de la communauté médicale et scientifique s'accorde sur le fait qu'il est nécessaire de continuer à investiguer dans ce domaine.

Les études menées à fortes doses, notamment sur les effets secondaires induits par la radiothérapie, sont nombreuses et nous permettent de mieux comprendre les effets potentiellement induits à faibles doses.

3.2. Les effets des doses fortes

Alors que les effets des RIs à des doses faibles sont trop peu documentées, de nombreuses études s'intéressent aux effets secondaires d'une radiothérapie cérébrale, car malgré la nécessité de cet acte pour éradiquer la tumeur, les conséquences à long terme sur les capacités cognitives peuvent être importantes chez l'enfant et l'adulte (Surma-aho et al. 2001 ; Padovani et al., 2012 et Jacob et al., 2018, pour revues).

La tumeur cérébrale et l'arsenal thérapeutique (radiothérapie/chimiothérapie/chirurgie) déployés pour l'éradiquer ont tous deux un impact sur la cognition. Il est donc difficile de discriminer les altérations neurocognitives induites par la tumeur et/ou par les différents traitements. Cependant, plusieurs études démontrent l'importance des RIs dans l'apparition de troubles cognitifs qui peuvent éclipser les atteintes neurocognitives induites par la tumeur (Laack et al., 2004, pour revue). L'irradiation de la tumeur se fait généralement par fractionnement et la dose totale délivrée à la tumeur est de l'ordre de la dizaine de Gray. Par exemple, pour éradiquer une tumeur cérébrale chez l'enfant, les doses utilisées habituellement sont comprises entre 45 et 60 Gy, en fonction du stade de la tumeur, à raison de 1.8 à 2 Gy par séance (5 par semaine). La Société Française de Radioprotection Oncologique estime qu'en pédiatrie, l'exposition du cerveau entre les doses de 35 et 40 Gy peut induire des troubles cognitifs et une exposition à la dose de 55 Gy peut induire la nécrose du tissu cérébral (Guide de procédures de radiothérapie externe 2007).

Les enfants traités pour des cancers du cerveau présentent un déclin du quotient intellectuel qui est d'autant plus prononcé que le patient est jeune (< 7ans) et que les doses reçues sont élevées (> 30 Gy) (Mulhern et al., 1998 ; Butler et al., 2005, Fouladi et al., 2005).

Les fonctions intellectuelles, la mémoire, l'attention ou encore la vitesse de traitement de l'information sont diminuées chez ces enfants, dans les années suivant la radiothérapie (Palmer et al., 2007, pour revue). Des altérations similaires ont été observées chez des patients traités à l'âge adulte (Taillia et al., 2013, pour revue). Outre l'âge et la dose appliquée, la région cérébrale irradiée est un facteur important à prendre en compte pour comprendre les altérations neurocognitives observées. Plusieurs études suggèrent que l'irradiation de l'hippocampe, structure localisée dans le lobe temporal, accentuerait les altérations mnésiques (Nagel et al., 2004 ; Kazda et al., 2015, pour revue). Par exemple, l'irradiation de la région frontale semble être associée à des capacités physiques réduites alors que l'irradiation de la région temporale serait associée à des troubles de la mémoire, d'organisation et d'efficacité (Jalali et al., 2010 ; Armstrong et al., 2010). Chez l'adulte, comme chez l'enfant, les techniques de radiothérapie permettant désormais d'éviter l'intégralité de l'hippocampe, semblent diminuer la sévérité des altérations neurocognitives (Gondi et al., 2014 ; Kazda et al., 2014 ; Posposil et al., 2017 ; Acharya et al., 2019). L'évitement de l'hippocampe comme stratégie permettant de limiter les atteintes neurocognitives radio-induites a aussi été démontré expérimentalement chez le modèle de rongeur adulte (Tomé et al., 2015). Assurément, l'hippocampe, une structure nécessaire à de nombreux processus mnésiques, est une structure sensible aux RIs et ce, à tous les moments de la vie.

Dans le cadre de cette thèse, nous avons étudié les effets des RIs à des doses ≤ 2 Gy, gamme de doses que nous appellerons doses faibles à modérées, sur le cerveau et plus particulièrement sur l'hippocampe à partir de modèles rongeurs développés à l'IRSN. Nous avons étudié les conséquences d'une telle exposition sur un processus mnésique dépendant de l'hippocampe : la mémoire spatiale. L'atteinte de ce type de mémoire peut avoir de lourdes répercussions sur la qualité de vie d'un individu car la capacité d'un organisme à mémoriser des lieux et de se déplacer de manière optimale dans son environnement repose sur la mémoire spatiale (Poucet et al., 2010).

III. L'hippocampe, la mémoire spatiale et la neurogenèse postnatale / adulte

L'hippocampe est une structure cérébrale appartenant à l'allocortex, dont les fonctions sont hautement conservées chez les mammifères. D'une manière générale, l'hippocampe est impliqué dans la mémoire, la navigation spatiale, l'inhibition du comportement ou encore dans la séparation de deux constextes proches ou séparation de patterns. Chez l'Homme, l'hippocampe fait partie du système limbique. Il est situé dans le lobe temporal médian du cerveau, sous la surface corticale. Bien qu'il existe des différences structurales et de connectivités avec les autres structures cérébrales, une homologie de fonction a été démontrée chez tous les mammifères (figure 14 A).

1. L'anatomie de la formation hippocampique et le circuit tri-synaptique chez le rongeur

Le rongeur possède une formation hippocampique située dans le lobe temporal médian, constituée de l'hippocampe proprement dit, du subiculum, du pré et para subiculum et du cortex enthorinal.

L'hippocampe proprement dit, est constitué de deux grandes sous-structures (figure 14 C) (Amaral et al., 2007) :

- La corne d'Ammon qui est divisée en quatres grands champs : CA1, CA2, CA3 et CA4, qui sont constituées en majorité, de cellules pyramidales et de quelques interneurones.

- Le gyrus denté qui est constitué de trois couches (centripète) : moléculaire, granulaire et polymorphe ou hile. La couche moléculaire est principalement composée des dendrites des cellules de la couche granulaire et polymorphe, ainsi que des fibres perforantes (axones) provenant du cortex entorhinal. La couche granulaire est composée des corps cellulaires des neurones excitateurs nommés cellules granulaires ainsi que de quelques interneurones inhibiteurs GABAergiques nommés *pyramidal basket cells,* dont le rôle est de réguler le signal. Ces cellules sont activées par les fibres perforantes du cortex entorhinal. Enfin, le hile est une couche hétérogène qui s'étend de la couche granulaire jusqu'à la couche dendritique des cellules du champ CA3. Le hile est majoritairement formé par les cellules moussues glutamatergiques excitatrices caractérisées par leurs épines dendritiques denses ainsi que par leurs nombreuses excroissances épineuses présentes sur leurs corps cellulaires et sur leurs dendrites proximales. Quelques interneurones GABAergiques comme les interneurones

exprimant la somatostatine sont présents dans cette couche. Finalement, les cellules granulaires établissent des contacts synaptiques avec toutes les cellules mentionnées dans les différentes couches à l'exception des autres cellules granulaires (Traves et al., 2008 ; Khalaf-Nazzal & Francis 2013 ; Hainmueller & Bartos 2020, pour revues).

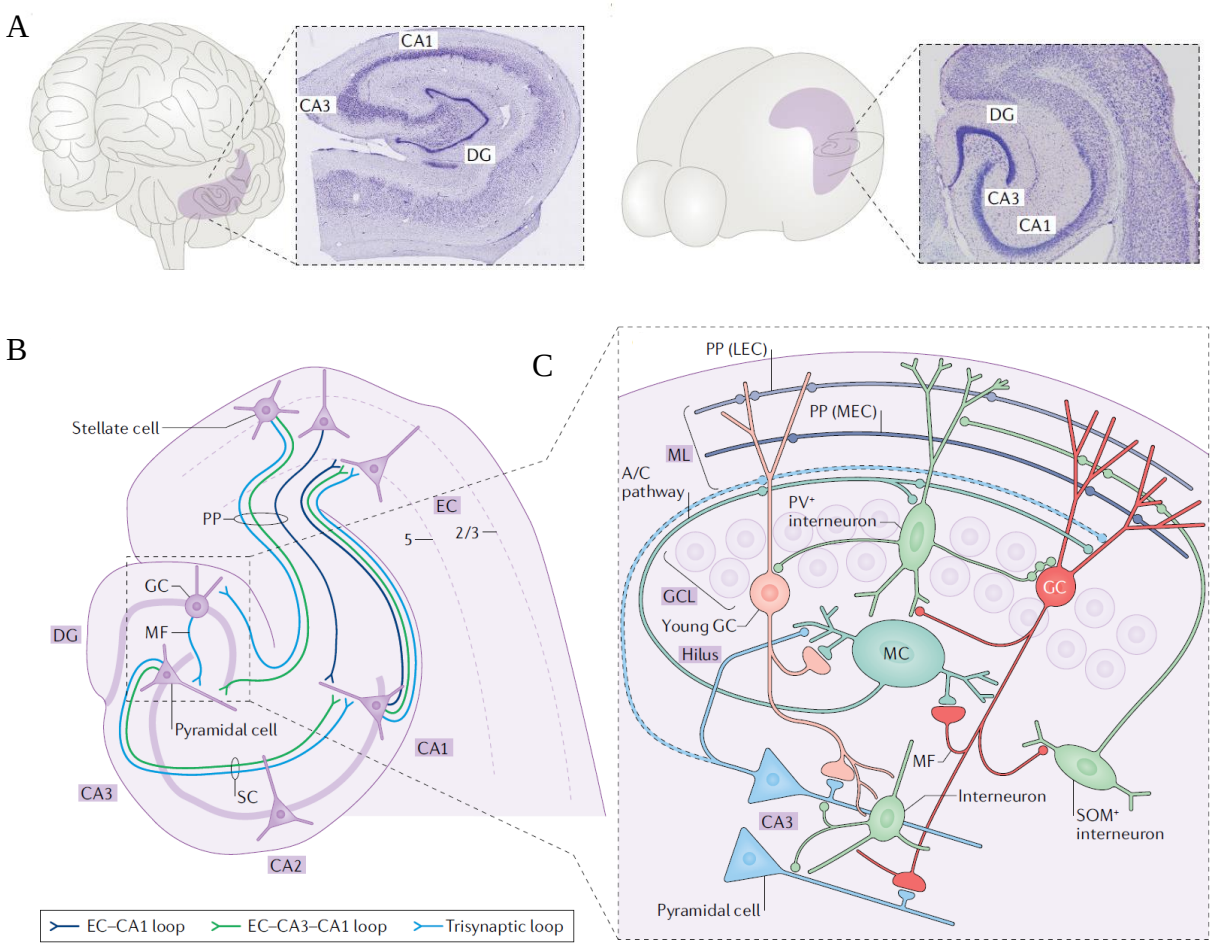


Figure 14. **La structure anatomique de l'hippocampe.** (A) L'homologie structurale de l'hippocampe chez l'Homme et le rongeur. (B) Le circuit tri-synaptique et les autres boucles unidirectionnelles. (C) Les différents types cellulaires qui composent le gyrus denté. ML : couche moléculaire, GCL : couche granulaire, CG : cellules granulaires, Hilus : Hile, PP : Entrée des voies perforantes, MC : Cellules moussues glutamatergiques, MF : fibres moussues, SOM^+ : interneurones GABAergiques exprimant la somatostatine, PV^+ : cellules en panier exprimant de la parvalbumine, LEC : cortex entorhinal latéral, MEC : cortex entorhinal médian, A/C : voies associatives /commissurales (Adapté de la revue de Hainmueller & Bartos 2020).

Le transfert de l'information entre l'hippocampe et les autres structures de la formation hippocampique se fait par des connexions majoritairement unidirectionnelles qui forment le circuit tri-synaptique (figure 14 B). L'information provenant du cortex entorhinal entre dans la

boucle unidirectionnelle par les fibres perforantes en traversant le subiculum. Ces axones sont directement connectés aux cellules granulaires du gyrus denté. Les axones des cellules granulaires appelés fibres moussues projettent sur les cellules pyramidales de l'aire CA3. Les prolongements axonaux de neurones de CA3 ou collatérales de Schaffer se projettent sur les cellules pyramidales de l'aire CA1. Les prolongements de ces axones ont la particularité de ne pas être myélinisés, contrairement à ceux qui projettent hors de l'hippocampe. Enfin, l'information sort de l'hippocampe via les prolongements axonaux des cellules de l'aire CA1 vers les neurones du subiculum et du cortex entorhinal puis vers les aires sensorielles d'où l'information est partie (Neves et al., 2008).

Cependant, ce réseau d'informations est plus complexe que cette boucle unidirectionnelle. Par exemple, il existe des projections directes entre le cortex enthorinal et les cellules CA3, CA1 et le subiculum (Chao et al., 2020, pour revue). Les neurones présents dans la partie dorsale de la CA2 sont connectés aux noyaux septaux médians et latéraux ou encore à l'aire de Broca ainsi qu'à la partie ventrale de l'aire de la CA1 (Cui et al., 2012 ; Meira et al., 2018).

2. La mémoire spatiale, une des mémoires hippocampe-dépendantes

L'une des histoires les plus célèbres dans le domaine des sciences cognitives qui nous a renseignés sur l'implication de l'hippocampe dans la mémoire, est celle du patient HM (Henri Molaison, 1926 - 2008). Ce patient, qui souffrait d'une épilepsie sévère depuis son enfance, a notamment subi, une ablation bilatérale des deux tiers de l'hippocampe où étaient localisés les foyers épileptiques. Après cette opération, le patient HM a souffert d'une amnésie rétrograde, soit la perte de ses 12 dernières années de vie, et antérograde, c'est-à-dire l'impossibilité de créer de nouveaux souvenirs et des difficultés à retenir des nouveaux lieux et itinéraires (Corkin 2002, pour revue). Il est important de noter que toutes ces altérations mnésiques ne sont pas directement causées par l'ablation de l'hippocampe qui ne fût pas la seule structure cérébrale retirée (l'amygdale, par exemple). Des lésions de connexions neuronales lors de l'opération sont aussi à prendre en compte. L'étude de ce patient a permis de montrer le rôle de l'hippocampe en tant que structure majeure impliquée dans les mémoires déclaratives telles que la mémoire épisodique et la mémoire spatiale (Hainmueller & Bartos 2020, pour revue). Plus tard, il sera démontré que cette structure est aussi impliquée dans la discrimination de deux contextes proches ou séparation de patterns (Berron et al., 2016) et semble être impliquée dans l'inhibition du comportement (Chan et al., 2001, pour revue). Les études menées chez le

rongeur ont démontré que l'hippocampe était aussi impliqué dans ces fonctions cognitives (Lazarov & Hollands 2016 et Chao et al., 2020, pour revues).

La mémoire spatiale est la mémoire qui nous permet de se souvenir d'un espace. Elle est codée par de nombreux réseaux neuronaux qui constituent une carte mentale de l'espace permettant à un organisme de s'orienter dans celui-ci. C'est un véritable système de géolocalisation.

2.1. Les tests comportementaux utilisés pour étudier la mémoire spatiale chez la souris

Plusieurs tests peuvent être utilisés pour étudier l'apprentissage et la mémoire spatiale :

La Piscine de Morris (PM) : Une piscine est placée dans une pièce avec différents indices visuels sur les murs. Cette piscine est remplie d'eau colorée et est divisée en 4 quadrants identiques virtuels. Dans l'un des quadrants, une plateforme placée à quelques millimètres sous le niveau de l'eau colorée, permet à l'animal de s'échapper (figure 15).

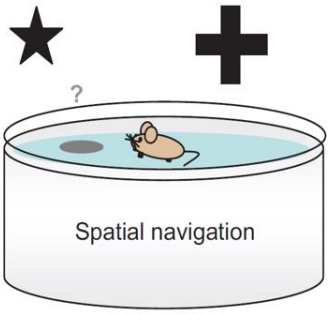


Figure 15. **Le test de la Piscine de Morris.** (Castilla-Ortega et al., 2011)

Succinctement, ce test ce découpe en deux parties :

- L'apprentissage : les rongeurs apprennent, lors de différents essais, à retrouver la plateforme immergée en s'aidant des indices environnementaux. Le quadrant où se trouve la plateforme est appelé quadrant cible, les autres quadrants servent de point de départ. Un protocole distribué signifie que les souris ont effectué quelques essais par jour pendant plusieurs jours ; un protocole massé signifie que les essais sont concentrés sur une courte période.

- La rétention ou test de mémoire : la plateforme est enlevée de la piscine de Morris pour étudier le comportement de recherche du rongeur (temps ou distance passé dans le quadrant cible) pendant un seul essai d'une minute.

Des versions de protocoles plus ou moins complexes du test de la piscine de Morris sont utilisées pour étudier plus spécifiquement certaines stratégies d'apprentissage (Ekstrom et al., 2014, pour revue). Par exemple, si le quadrant de départ est modifié à chaque essai ou si la plateforme est invisible (sous la surface de l'eau), les souris utiliseront une stratégie basée sur leur environnement (indices). Cette stratégie, dite allocentrique, est hippocampe-dépendante. Elle impliquerait la région occipo-temporale, et plus particulièrement l'hippocampe et le cervelet (Rondi-Reig et al., 2006, Bullens et al., 2010) mais pas la région pariétale (Neggers et al., 2006). Si le quadrant de départ est fixe ou si la plateforme est visible (au dessus de la surface de l'eau), la souris peut utiliser une stratégie basée sur son corps, cette stratégie est dite égocentrique et elle est hippocampe-indépendante. Chez le rongeur, cette stratégie impliquerait la région fronto-pariétale (le striatum dorsal, le cortex pariétal inférieur et médian).

Le labyrinthe de Barnes : Une plateforme ronde est placée dans une pièce où se trouvent des indices visuels pour que le rongeur puisse se repérer. Plusieurs trous sont présents tout au long de la bordure. Sous l'un des trous, il est possible de placer une boite permettant au rongeur de s'échapper du labyrinthe. Ce test permet d'étudier plusieurs stratégies : hasardeuse (le rongeur explore tous les trous), systématique (il explore tous les trous selon le même chemin) ou spatiale (le rongeur effectue une ligne droite jusqu'au trou d'intérêt) (figure 16 A).

Le labyrinthe radial : Le labyrinthe radial est constitué d'une plateforme autour de laquelle rayonne huit bras équidistants. A la fin de chaque bras, il est possible de disposer de la nourriture que l'animal devra retrouver en s'aidant des indices de l'environnement (figure 16 B).

A

B

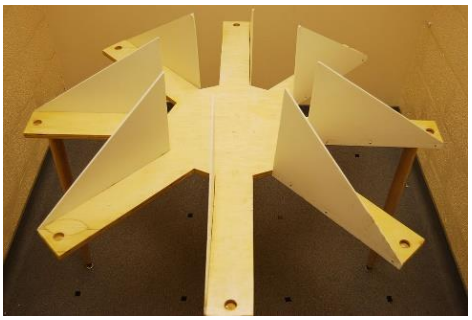


Figure 16. **Les différents types de labyrinthes utilisés pour étudier la mémoire spatiale.** (A) Le labyrinthe de Barnes et (B) Le labyrinthe radial.

Tests de reconnaissance d'objets en version spatiale : Ce test est basé sur la curiosité naturelle des rongeurs qui sont attirés par la nouveauté. Lors d'une phase d'acquisition, au moins deux objets sont placés dans une arène, à un endroit bien défini de l'espace et l'animal est libre de les explorer (figure 17 A). Lors d'un test de rétention, l'un des 2 objets est déplacé (figure 17 B). Si le rongeur se souvient de l'emplacement initial des objets, alors il explorera de façon préférentielle l'objet qui a été déplacé.

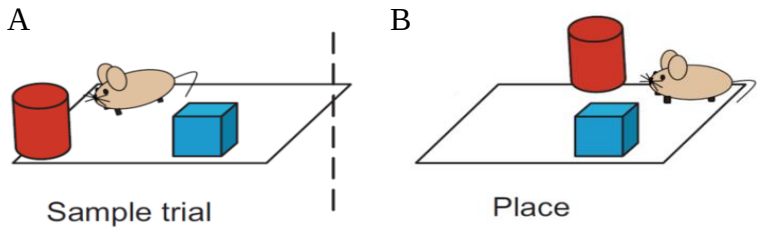


Figure 17. **Le test de reconnaissance spatiale d'objets** (Adapté de Castilla-Ortega et al., 2011).

2.2. Les bases cellulaires de la carte mentale spatiale

Les études de John O'Keefe et John Dostrovsky ont été pionnières dans la compréhension des mécanismes cellulaires à la base de la navigation spatiale. Ils ont ainsi démontré que les cellules pyramidales des champs CA1 de l'hippocampe dorsal, déchargeaient (émission d'un potentiel d'action) uniquement lorsque que l'animal se trouvait dans un point bien précis de l'espace. A chaque fois que l'animal retournait dans cet espace, les mêmes neurones déchargeaient. Ces neurones très spécialisés sont appelés « cellules de lieux » et elles sont présentes dans l'intégralité de l'hippocampe (CA1/CA3/GD) (O'Keefe & Dostrovsky, 1971 ; O'Keefe & Nadel 1979). Les fréquences de décharge de certaines cellules granulaires sont faibles et elles sont peu spécifiques comparées à celles des cellules de lieux présentes dans CA3 (Pavlides et al., 2019, pour revue).

Outre les cellules de lieux, d'autres types cellulaires participent également au codage de l'espace (figure 19) (Grieves et al., 2017 ; Poulter et al., 2018 pour revues). Ce sont :

- Les cellules d'orientation de la tête, qui contrairement aux cellules de lieux, déchargent en fonction de l'orientation de la tête et non de l'environnement. Ces neurones sont situés dans plusieurs régions cérébrales : subiculum et post-subiculum, dans le cortex enthorinal médian et dans le thalamus antérieur (Muller et al., 1996 ; Taube 1990, 2007 et 2009).

- Les cellules de grille quadrillent l'espace, elles sont nécessaires à la création d'un chemin dans un espace donné. Elles sont majoritairement situées dans le cortex entorhinal (Fyhn et al., 2004 ; Hafting et al., 2005) et dans le pré/parasubiculum (Boccara et al., 2010).
- Les cellules de bordure codent pour les limites de l'espace et sont présentes dans le cortex entothinal médian et dans le parasubiculum (Solstad et al., 2008 ; Savelli et al. , 2008).

Enfin, des cellules similaires aux cellules de lieux présentes dans l'hippocampe ont été trouvées dans le cortex enthorinal médian. Cependant, des recherches se poursuivent pour savoir si ces cellules ont les mêmes propriétés que celles de l'hippocampe ou si elles participent au codage des cellules de grilles (Bechtel et al., 2016 et Grieves et al., 2017, pour revues).

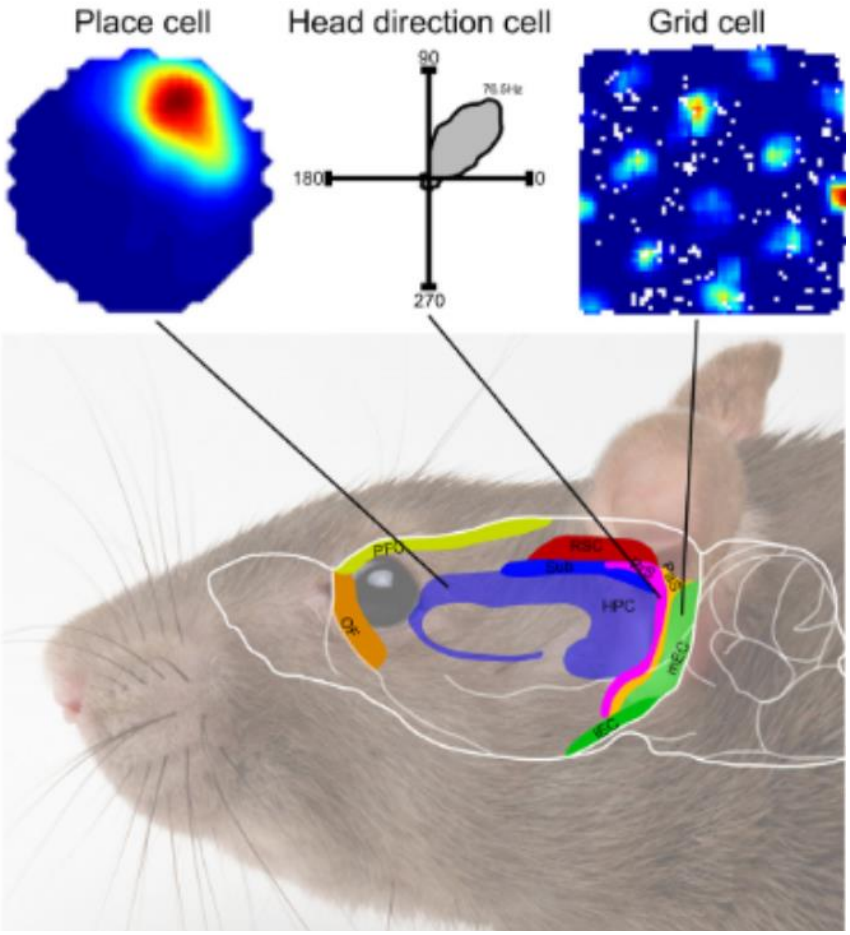


Figure 18. **La carte mentale de l'espace.** Représentation schématique de l'emplacement des cellules permettant de coder l'information spatiale dans le cerveau du rat. Les cellules de lieux (*place cell*) sont présentes dans l'hippocampe (HPC) : la carte thermique montre l'émission d'un potentiel d'action par une cellule de lieu qui code pour un emplacement spécifique de l'espace dans une arène circulaire. Les cellules d'orientation de la tête (*head direction cell*) sont localisées dans le subiculum, pré et para-subiculum (Sub, PrS, PaS). Exemple de cellule

d'orientation qui émet des potentiels d'actions dans une direction préférentielle de l'espace, ici Nord-Est ; et les cellules de grilles (*grid cell*) dans le cortex enthorinal médian (mEC). Exemple de carte des cellules de grilles. OF : orbitofrontale ; RSC : cortex retrosplenial ; IEC : cortex entorhinal latéral. (Grieves et al., 2017).

L'ensemble de ces cellules permet d'établir la formation d'une véritable carte spatiale (figure 18) qui renseigne l'animal sur sa position et le chemin à suivre dans l'environnement où il se trouve (Moser et al., 2008 ; Sanders et al., 2015, pour revue). Cette carte cognitive est modulable en fonction des modifications de l'environnement (Poucet et al., 2000). De plus, la stabilité de cette carte dans le temps (semaines, mois) est corrélée à la capacité d'attention de l'animal vis-à-vis de son environnement et des performances acquises lors d'une tâche d'apprentissage spatial (Kentros et al., 2004). En 2014, John O'Keefe, May-Britt et Edvard Moser ont reçu le prix Nobel de médecine pour la découverte de ces cellules qui codent l'espace.

Des cellules similaires aux cellules de lieux localisées dans l'HPC (Ekstrom et al., 2003) et aux cellules de grilles localisées dans le cortex enthorinal (Jacobs et al., 2013) ont été trouvées chez l'Homme. Ces études suggèrent qu'il existe une similarité dans le traitement de l'information spatiale entre l'Homme et le rongeur. D'autres vertébrés comme les oiseaux, les reptiles ou encore des poissons téléostéens ont une structure homologue à l'hippocampe qui participe au système de géolocalisation dans l'espace (Broglio et al., 2003). La navigation spatiale est donc un système ancestral qui a été hautement conservée au cours de l'évolution.

3. L'axe septo-temporal / dorso-ventral de l'hippocampe

Des études neuro-anatomiques et électrophysiologiques ont démontré une hétérogénéité structurale et fonctionnelle au sein même de l'hippocampe selon l'axe septo-temporal ou dorso-ventral (figure 19) (Jung et al., 1994 ; Fanselow & Dong., 2010, pour revue).

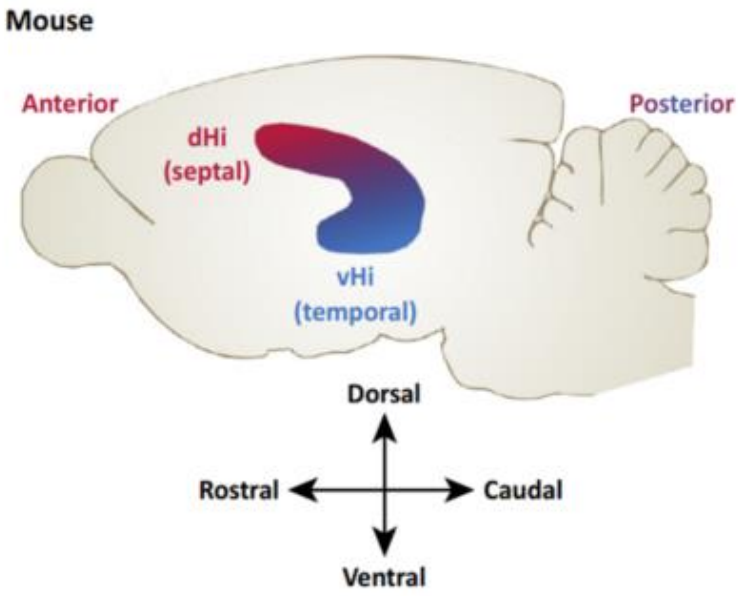


Figure 19. **Emplacement de l'hippocampe selon l'axe dorso-ventral au sein du cerveau de souris.** (Adapté de O'Leary et al., 2014).

3.1. Les différences structurales

Les connexions afférentes et efférentes de la partie dorsale et ventrale de l'hippocampe avec d'autres structures cérébrales sont différentes (figure 20).

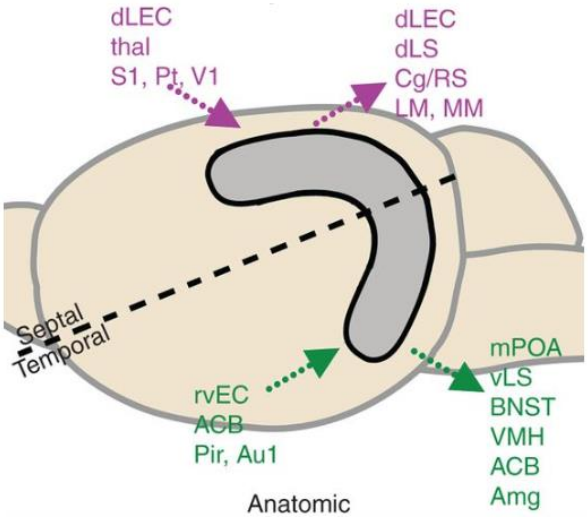


Figure 20. **Les différences de connexions afférentes et efférentes entre la partie dorsale et la partie ventrale de l'hippocampe et les autres structures cérébrales.** ACB : noyaux accumbens ; Amg : amygdale ; Au1 : cortex auditif ; BNST : noyau de la strie terminale; Cg / RS : cortex cingulaire / rétrosplénial ; dLEC : cortex entorhinal dorsolatéral ; dLS : septum dorsolatéral ; LM : noyau mammillaire latéral ; MM : noyau mammillaire médian ; mPOA : zone préoptique médiale ; Pir : cortex piriforme ; Pt : cortex pariétal ; rvEC : cortex entorhinal rostroventral ; S1 : cortex somatosensoriel ; thal : thalamus ; V1 : cortex visuel ; vLS : septum ventrolatéral ; VMH : hypothalamus ventromédial (Adapté de Wu et al., 2015).

Les informations sensorielles-visuelles, auditives et somatiques qui sont traitées par le cortex entorhinal sont majoritairement projetées sur la partie dorsale de l'HPC. A l'inverse, les structures impliquées dans la gestion du stress et dans la régulation de l'humeur, telles que le système limbique et le cortex préfrontal, sont projetées sur la partie ventrale de l'HPC. Les projections du subiculum en connexion avec l'hippocampe dorsal et intermédiaire projettent vers le complexe mamillaire alors que les connexions avec l'hypothalamus rostral, l'amygdale et le noyau accubens proviennent de l'hippocampe ventral (Wu et al., 2015, pour revue). Enfin, il existe des connexions directes entre les cellules de la zone CA1, du gyrus denté ventral et l'amygdale (Van Groen and Wyss, 1990). De plus, des différences d'expression génique et de neurotransmissions ont été démontrées entre ces deux parties de l'hippocampe (Leonardo et al., 2006 ; Thompson et al., 2008).

3.2. Les différences fonctionnelles

Toutes ces différences structurales et de connectivité entre la partie dorsale et ventrale de l'hippocampe et les autres régions cérébrales avec lesquelles elles sont connectées, ont été pionnières pour comprendre et mettre en évidence les différences fonctionnelles entre les deux parties de l'hippocampe (figure 21).

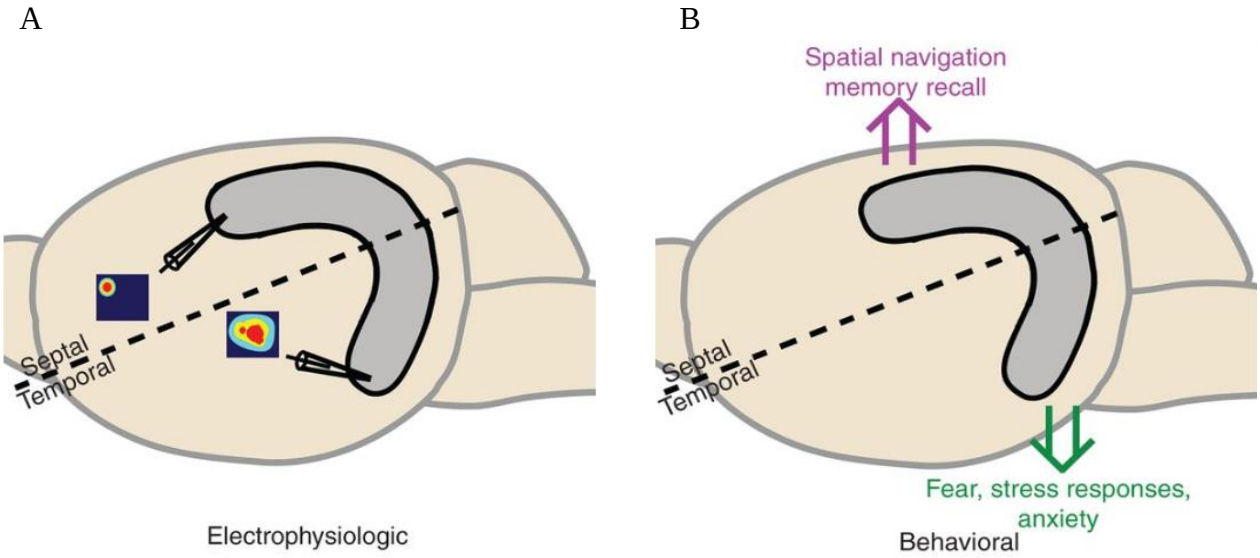


Figure 21. **L'hétérogénéité fonctionnelle de l'hippocampe selon l'axe dorso-ventral ou septo-temporal chez la souris.** (A) Représentation schématique des cartes de décharge des cellules de lieux dans la partie dorsale et ventrale de l'HPC et (B) les processus cognitifs qui sont plus supportés par la partie dorsale ou ventrale de l'HPC (Adapté de Wu et al., 2015).

Des lésions de la partie dorsale ou ventrale de l'hippocampe ont démontré que la partie dorsale de l'hippocampe serait davantage sollicitée dans les processus mnésiques comme la mémoire spatiale tandis que la partie ventrale serait plus impliquée dans les processus émotionnels ou la valeur émotionnelle du souvenir (Moser et al., 1995 ; Moser & Moser 1998 ; Bannerman et al., 2004 ; Fanselow & Dong 2010, pour revues). Par exemple, des lésions de la partie dorsale de l'hippocampe diminuent les performances spatiales dans le test de piscine de Morris alors que ces processus ne sont pas altérés lorsque la partie ventrale est invalidée (Kjelstrup et al., 2002 ; Bannerman et al., 2002). Les cellules de lieux qui codent pour un point précis de l'espace ne sont pas homogènes dans leurs nombres et dans leurs fonctions selon l'axe dorso-ventral. Les cellules de lieu présentes dans la partie dorsale sont plus nombreuses et plus précises que leurs homologues ventrales (figure 21 A ; Jung et al., 1994) mais semblent

néanmoins participer à ce processus mnésique. En revanche, des altérations de l'hippocampe ventral au stade postnatal ou adulte induisent des déficits de la mémoire de travail (Lipska et al., 2002 ; Angst et al., 2007 ; Hauser et al., 2020), une altération de la réponse émotionnelle conditionnée et une diminution de l'état d'anxiété/ dépression (Kjelstrup et al., 2002 ; Bannerman et al., 2004, pour revue).

4. Les grandes étapes du développement postnatal du cerveau de rongeur : focus sur l'hippocampe

Certaines grandes étapes du développement du cerveau de rongeur (notamment chez le rat) sont comparables à celles du développement cérébral chez l'Homme (figure 22). La neurogenèse débute au moment de la gestation dans les deux espèces. Cependant, une des différences majeures entre ces deux espèces est le degré de maturité de l'hippocampe au moment de la naissance. Chez le rongeur, un pic de neurogenèse est décrit entre le 14ème et le 17ème jour de gestation. A cette même période, dans l'hippocampe, environ 15% des cellules granulaires du GD ont été créées. Les cellules pramidales de CA3 étendent leurs axones et se synchonisent avec celles de CA1. La maturation synaptique des cellules pyramidales de CA3 se poursuit pendant de la période postnatale notamment par la formation d'épines dendritiques. Ces épines formeront des connexions avec les fibres moussues des cellules granulaires du GD (Lagali et al., 2010). Chez l'Homme, un pic de création de neurones est décrit autour du 60 ^{ème} jour de gestation et environ 80% des cellules granulaires du futur réseau sont déjà présentes avant la naissance (Semple et al., 2013, pour revue).

A la naissance du rongeur, les régions corticales et sous–corticales sont créées. Le système immunitaire du système nerveux central se développe dans les trois premiers jours suivant la naissance (Semple et al., 2013). Dans les trois premiers jours de vie, les précurseurs des oligodendrocytes se multiplient activement. Le pic de croissance du cerveau au stade postnatal est décrit entre le 7ème et le 10ème jour après la naissance du rongeur, incluant un pic de la gliogenèse ainsi que de la densité axonale et dendritique. Le cerveau atteint 90 à 95% du poids de l'adulte, lorsque le rongeur est âgé de 20-21 jours. A cette période, la densité synaptique est à son apogée, elle est deux fois plus importante qu'à l'âge adulte. Un pic de myélinisation des axones est aussi décrit à cette période. Passé l'âge de 60 jours, le cerveau de rongeur est considéré comme « adulte » (Semple et al., 2013, pour revue).

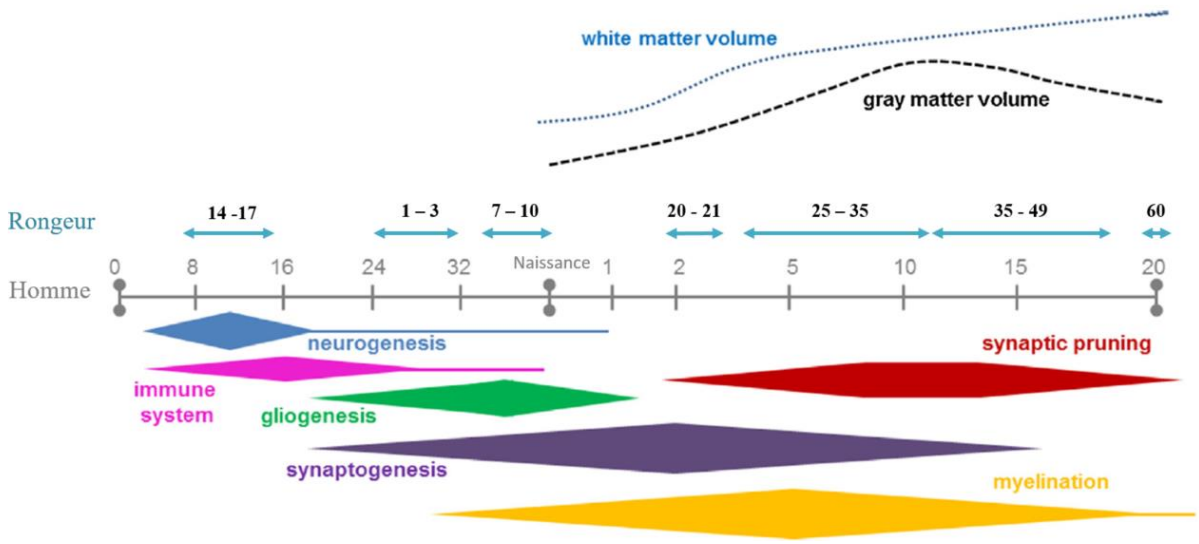


Figure 22. **Les grandes étapes du développement cérébral comparables chez le rongeur et chez l'Homme.** Pour le rongeur l'axe du temps est en jours. Pour l'Homme, l'axe du temps est exprimé en semaine avant la naissance et en année après la naissance (Adapté de Semple et al., 2013).

Au stade postnatal, le cerveau de rongeur et plus particulièrement l'hippocampe est encore dans une phase développementale importante ce qui lui confère une sensibilité accrue vis-à-vis d'agents toxiques tels que la nicotine ou les RIs (Per Eriksson et al., 1984, 2000 et 2010). Par exemple, l'administration de nicotine à l'âge de 10-14 jours induit des modifications permanentes du cerveau de rongeur à l'âge adulte qui se répercute sur le comportement spontané de l'adulte âgé de 2 et 4 mois. Ces altérations ne sont pas retrouvées lorsque l'administration a lieu avant (3-7 jours) et après (19-23 jours) l'âge de 10 jours (Per Eriksson et al., 2000). Les mêmes conclusions ont été émises lorsque des souris ont été exposées en corps entier à une dose de 0.5 Gy ou 1 Gy de Rγ, à l'exception près que les RIs affectent aussi le comportement spontané des souris âgées de 3 jours (Per Eriksson et al., 2010 et 2016). Chez le rongeur, nous pouvons estimer que l'âge de 10-14 jours est une période de sensibilité à une exposition à des agents toxiques.

5. La neurogenèse hippocampique adulte

5.1. L'histoire de la neurogenèse adulte

L'un des plus grands dogmes de l'histoire des neurosciences concerne l'existence d'une neurogenèse chez l'Homme à l'âge adulte (Gross et al., 2000 ; Oppenheim 2019, pour revue). Ramon y Cajal, chercheur en neurosciences et prix Nobel de médecine en 1906 a formulé le dogme de la fixité neuronale. En d'autres termes, le cerveau serait incapable de se renouveler en créant de nouvelles cellules à l'âge adulte. Ce dogme a été remis en question au milieu du XXième siècle grâce aux nouvelles connaissances acquises par la communauté scientifique sur l'ADN et sa réplication, mais aussi grâce aux nouvelles techniques de biologie moléculaire. Altman a été le premier à montrer l'existence d'un renouvellement cellulaire au sein du cerveau lésé et sain par l'utilisation de la thymidine tritiée (Altman et Das, 1962 ; Kumar et al., 2019). Dans les années 1990, la co-localisation de marqueurs neuronaux exprimés uniquement par les neurones matures (NeuN pour *Neuronal Nuclei*) et d'un marqueur de division cellulaire 5-Bromo-2-deoxyUridine (BrdU), a apporté la preuve formelle que la création de nouveaux neurones, à l'âge adulte, existe dans le cerveau du rongeur (Gage et al., 1995, Cameron & McKay 2001 ; Christie & Cameron 2006, pour revue) et chez le primate non humain (Gould et al., 1999).

Bien que de nombreuses études ont confirmé l'existence de la neurogenèse adulte chez l'Homme dans l'hippocampe et dans d'autres structures cérébrales comme le striatum (Eriksson et al., 1998 ; Ernst et al., 2014, Farzanehfar et al., 2020, pour revue), elle reste encore très controversée dans la littérature en ce début du XXIième siècle (Boldrini et al., 2018 ; Sorrells et al., 2018 ; Moreno-Jiménez et al., 2019).

Chez les rongeurs, la communauté scientifique s'accorde à dire qu'il existe deux grandes régions où a lieu la neurogenèse adulte : la neurogenèse hippocampique localisée dans la zone sous-granulaire (ZSG) du GD et la neurogenèse olfactive dont la prolifération cellulaire est localisée dans la paroi des ventricules latéraux, la zone sous-ventriculaire (ZSV) (figure 23). Cependant, de plus en plus d'études démontrent l'existence d'autres foyers neurogéniques au niveau du cervelet du souriceau (Carletti et al., 2008) et dans le striatum (Inta et al., 2015, pour revue) ou encore de l'hypothalamus (Kokoeva et al., 2005 ; Lee et al., 2012, pour revue) chez l'adulte.

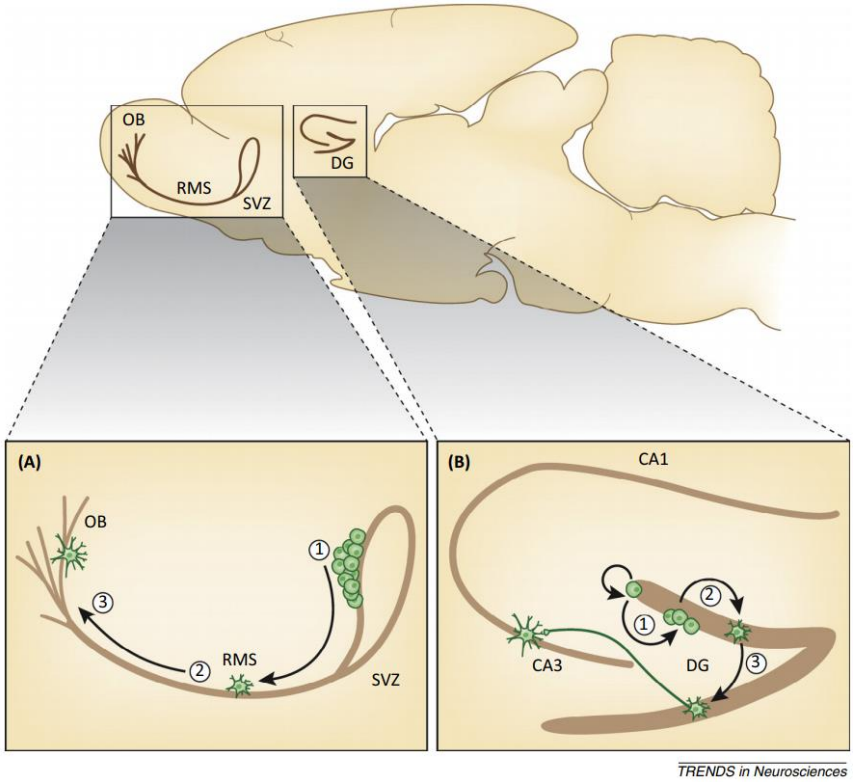


Figure 23. **Les deux grands lieux de la neurogenèse adulte.** Coupe sagittale de cerveau de rongeur présentant les deux grands lieux où se déroule la neurogenèse adulte. (1) Prolifération, (2) Migration et (3) Intégration au réseau. OB : bulbe olfactif, RMS : flux de migration rostrale, SVZ : zone sous ventriculaire, CA1 et 3 : champs 1 et 3, DG : gyrus denté (Borsini et al., 2015).

5.2. Les étapes de la neurogenèse adulte hippocampique

La neurogenèse peut être caractérisée par une cinétique en quatre grandes étapes : la prolifération des progéniteurs neuronaux, la différenciation, la migration/survie et l'intégration fonctionnelle de nouveaux neurones au réseau préexistant (Zhao et al., 2008 ; Deng et al., 2010 ; Kempermann et al., 2018 et Abbott et al., 2020, pour revue). A quelques exceptions près que nous décrirons plus tard, il semblerait que le processus de neurogenèse au stade postnatal et adulte soit très similaire et ait une origine commune (Hochgerner et al., 2018 ; Berg et al., 2019). L'ensemble du processus de neurogenèse ainsi que l'ensemble des différents marqueurs de chaque sous-population cellulaire sont présentés en figure 24. Chez la souris, ce processus se déroule en 6 à 8 semaines.

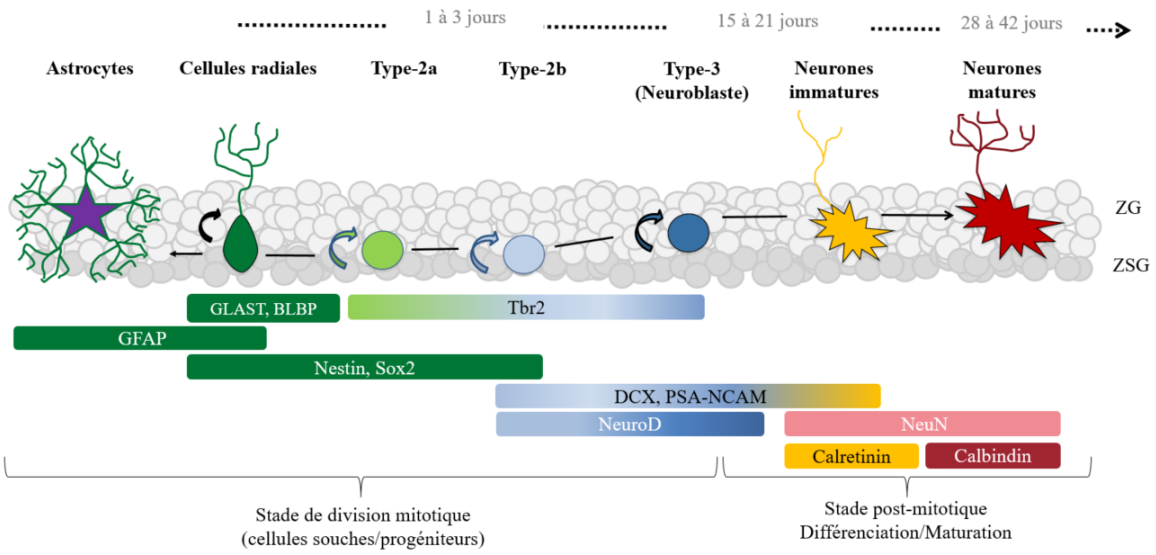


Figure 24. **Les grandes étapes de la neurogenèse hippocampique adulte.** GLAST : Transporteurs membranaires glutamate-aspartate ; GFAP : *Glial fibrillary acidic protein* ; Sox2 : *SRY (sex determining region Y)-box 2, Doublecortine lié au chromosome X* : DCX ; *Neurogenic Differienciation* : NeuroD (Adapté de Nicola et al., 2015).

Les premiers jours (environ 3 jours) : Des cellules gliales radiales ou cellules souches neurales aussi appelées cellules de type 1, sont des cellules multipotentes présentes dans la zone sous granulaire (ZSG) du GD. Ces cellules sont reconnaissables par leurs corps cellulaires triangulaires et leurs longs prolongements cytoplasmiques (Llorens-Martín, et al., 2015). Ces cellules expriment les marqueurs *Glial fibrillary acidic protein* (GFAP), *SRY (sex determining region Y)-box 2* (Sox2) et Nestin. Elles vont se diviser de manière asymétrique pour donner des progéniteurs neuronaux de type 2 ou des progéniteurs astrocytaires qui réprimeront l'expression

de certains gènes neuronaux et exprimeront la GFAP même à maturité (Kanski et al., 2013). Il y aurait plus de cellules souches neurales en division dans le gyrus denté dorsal que dans le gyrus denté ventral (Jinno et al., 2010). Néanmoins, ces progéniteurs ont le même potentiel neurogènique (Bekiari et al., 2015). Les progéniteurs de types 2a obtenus, présentent des noyaux souvent irréguliers et de petits prolongements axonaux. Ils ont un haut potentiel de division et expriment les marqueurs Nestin, Sox2 et BLBP. Ces cellules vont se diviser symétriquement pour donner un pool de progéniteurs de type 2b. Les cellules de types 2b se divisent peu et continuent à exprimer la protéine Nestin ; elles commencent également à exprimer des marqueurs de maturité neuronale tels que la *Doublecortine lié au chromosome X* (DCX) et *Neurogenic Differienciation* 1 (NeuroD1) pour devenir des cellules de type 3 aussi appelées neuroblastes. Ces cellules de type 3 exprimeront à leur tour ces marqueurs de maturité ainsi que le *Polysialic Acid-Neural Cell Adhesion Molecule* (PSA-NCAM) (Gonçalves et al., 2016, pour revue). Ces nouveaux neurones entrent alors dans un processus de maturation post-mitotique.

1ère semaine : Les cellules de type 3 se différencient et migrent un peu dans la couche interne de la CG du GD. Ces neurones sont caractérisés par des petits prolongements axonaux non fonctionnels. Ils sont néanmoins sollicités par une « activation tonique » induit par le GABA de l'environnement, c'est-à-dire par les neurones adjacents (Jin et al., 2016).

Entre la 2ème et la 4ème semaine : La maturation se poursuit. Les dendrites s'étendent vers la couche moléculaire et les fibres moussues projettent vers le hile dans le champ CA3. L'une des différences majeures entre les neurones immatures et matures est leur résistance membranaire. Les neurones immatures ont une très grande résistance membranaire, ce qui implique une dépolarisation membranaire plus importante pour la diffusion du potentiel d'action (il faut plus d'ions pour passer le seuil de dépolarisation). A ce stade, les épines dendritiques commencent à apparaître. Elles sont peu nombreuses mais elles sont néanmoins capables de capter le GABA provenant des interneurones environnants (Deng et al., 2010 ; Song et al., 2005, pour revues). La formation des connexions afférentes et efférentes se poursuit. Vers 16 jours, des épines dendritiques forment des connexions avec les synapses des axones afférents provenant du cortex entorhinal. Les filopodes sont très nombreux et viennent former des boutons synaptiques avec les épines préexistantes des cellules granulaires du GD. Lors de ce processus de différenciation, l'activité GABAergique des nouveaux neurones qui était excitatrice est devenue inhibitrice (Zhao et al., 2008 ; Kempermann et al., 2015, pour revue). C'est à cette

période critique d'intégration au réseau, que les nouveaux neurones commencent à exprimer les gènes immédiats précoces tels que *c-Fos* ou *zif 268*. L'expression de ces facteurs de transcription est le reflet d'une intégration au réseau car ils sont induits en réponse à l'activité synaptique des neurones environnants (Gros et al., 2015, pour revue).

4ème à la 6/8ème semaine : Le processus de maturation, structurel et fonctionnel, continue. Les neurones encore immatures présentent une plasticité synaptique plus forte que les neurones matures. Ils ont un seuil d'induction de potentialisation à long-terme inférieur aux neurones matures ainsi qu'une amplitude plus élevée. La modification structurale des épines dendritiques et des boutons axonaux se poursuit. Les neurones immatures qui expriment encore la calbindine et DCX, expriment une fois matures, la calrétine et le marqueur NeuN (Deng et al., 2010 ; Kempermann et al., 2015, pour revues). Enfin, un nouveau neurone ne peut s'intégrer au réseau et participer au codage uniquement s'il est sollicité par son environnement et qu'il est capable d'y répondre. Si le neurone n'est pas sollicité ou ne peut pas répondre, il meurt.

Entre le début et la fin de ce processus, une majorité des cellules nouvellement formées meurt par apoptose, cependant la survie cellulaire peut être modulée par plusieurs facteurs. Certains facteurs vont être bénéfiques comme certains neurotransmetteurs tels que le GABA et la dopamine, un environnement enrichi, de l'exercice volontaire, l'apprentissage, les œstrogènes et les antidépresseurs. Les facteurs délétères sont : l'âge, le stress, la restriction de sommeil, certaines hormones glucocorticoïdes et l'abus de drogue (Shohayeb et al., 2018 ; Abbott et al., 2020, pour revue). Finalement, seulement 30% des nouveaux neurones formés s'intégreront au réseau et participeront au codage de l'information (Zhao et al., 2008). Enfin, le processus de neurogenèse est hautement régulé par le microenvironnement hippocampique ou niche neurogénique notamment par des voies de signalisation telles que *Sonic Hedgehog* (SHH) *Wingless Integration site* (WNT) qui sont impliquées dans la prolifération des cellules souches et des progéniteurs ainsi qu'au processus de différenciation (Urbán et al., 2014 ; Gonçalves et al., 2016, pour revues).

5.3. L'origine embryonnaire de la neurogenèse hippocampique adulte

La découverte de la neurogenèse adulte ayant lieu majoritairement dans deux régions du cerveau -la zone sous granulaire du GD et la zone sous ventriculaire- a suscité de nombreuses recherches comparées à celles qui se sont intéressées à l'origine embryonnaire des cellules souches neurales présentes dans le cerveau à l'âge adulte.

Le gyrus denté est une structure créée à partir des cellules neuro-épithéliales dentées entre le 13.5 et le 17.5 jours de développement embryonnaire, pour former la fissure hippocampique. Ensuite, les précurseurs migrent et forment la structure primitive de la zone sous-granulaire du gyrus denté. Seki et al., (2014) ont émis l'hypothèse que les cellules souches neurales hippocampiques étaient directement générées par les cellules neuro-épithéliales dentées dès le début de l'embryogenèse (Seki et al., 2014). Cependant, des études plus récentes suggèrent que les précurseurs ou cellules souches neurales situées dans la partie ventrale de l'hippocampe au stade embryonnaire E17.5 migreraient pour donner naissance aux cellules radiales présentes dans la partie dorsale du GD chez l'adulte (Li et al., 2013 ; Berg et al., 2019). Enfin, la majorité des cellules granulaires du gyrus denté est produite au cours de la première semaine de vie du rongeur et la structure adulte de gyrus denté serait établie vers le 14ème jour après la naissance (Nicola et al., 2015).

La découverte récente d'un marqueur spécifique de la glie radiale de la ZSG (Hopx) a permis d'affiner l'origine des cellules souches neurales adultes (Shin et al., 2015 ; Li et al., 2015). L'utilisation de souris transgéniques pour suivre ce marqueur spécifique a permis de mettre en évidence que les précurseurs neuronaux seraient présents dès le début de l'embryogenèse et participeraient tout au long de la vie embryonnaire, postnatale et adulte, à la création de nouveaux neurones. Berg et al (2019) ont mis en évidence que les précurseurs présents dans le neuro-épithélium du gyrus denté au stade E11.5 se divisent pour former un pool de progéniteurs neuronaux qui migrera le long de la voie migratoire du GD pendant l'embryogenèse puis adoptent un phénotype de types « cellules radiales » dans la ZSG lors de la première semaine de vie. De plus, les progéniteurs neuronaux dentés au stade embryonnaire, postnatal et adulte, présentent une signature moléculaire et épigénétique commune (Berg et al., 2019) ainsi qu'un transcriptome similaire (Hochgerner et al., 2018). Finalement, ces cellules gliales radiales donneraient naissance aux futurs neurones et astrocytes uniquement dans le GD chez l'adulte (Bonaguidi et al., 2011).

En conclusion, la neurogenèse hippocampique adulte semble être la continuité de la neurogenèse embryonnaire et postnatale et non des processus distincts (Kozareva et al., 2019, pour revue).

5.4. Les différences entre le processus de neurogenèse postnatale et adulte

Bien que la neurogenèse postnatale et la neurogenèse adulte soient quasi-similaires, des différences existent en fonction de l'âge de l'individu et certaines étapes évoluent différemment.

Chez le rongeur, la neurogenèse au sein de la CG commence environ 1 semaine avant la naissance de l'individu et est à son apogée entre le 7ème et le 14ème jour après la naissance. Ensuite, la quantité de cellules capables de proliférer dans cette zone diminue avec l'âge chez le rongeur (Kuhn et al., 1996 ; Rao et al., 2006). Chez la souris, le nombre de cellules prolifératives est diminué de 40% entre le 1er et le 2ème mois de vie et stagne à partir du 7ème mois (Nada et al. 2010).

De plus, il existe des différences dans les étapes du processus de neurogenèse postnatale et adulte. Dans le cas de la neurogenèse adulte, environ 70% des nouveaux neurones meurent entre l'âge de 1 et 4 semaines (Mandyam et al. ,2007). Les nouveaux neurones restants survivent jusqu'à 11 semaines chez la souris (Kempermann et al., 2003) et peuvent potentiellement persister toute la vie. Une des premières différences serait que les neurones créés à l'âge de 6 jours auraient un taux de survie élevé entre l'âge de 1 et 8 semaines, comparé à ceux qui sont nés à l'âge adulte. Cependant, un taux important de nouveaux neurones meurent après le processus de maturité, dans les 2 à 4 mois suivant leur naissance (Cahill et al., 2017).

Une autre différence entre la neurogenèse postnatale et adulte serait la durée nécessaire à l'étape de maturation. Les nouveaux neurones qui naissent à l'âge adulte mûrissent plus lentement que ceux nés dans le cerveau du souriceau (Overstreet-Wadiche., 2006 a, b et c). Chez l'adulte, l'expression des gènes précoces d'activation neuronale comme *c-Fos* est à son apogée trois semaines après la naissance des nouveaux neurones. Chez le souriceau, ce pic apparait une semaine plus tôt (Cahill et al., 2017).

5.5. Le rôle de la neurogenèse hippocampique adulte dans la mémoire spatiale

Depuis la découverte de l'existence de la neurogenèse adulte au sein de l'hippocampe, de nombreuses études se sont orientées sur son rôle potentiel dans les fonctions cognitives et en particulier dans la mémoire spatiale. Par exemple, l'utilisation de rongeurs âgés dont la neurogenèse est moindre comparée à celle des jeunes sujets, ou de souches présentant une diminution de la neurogenèse, ont permis de démontrer l'existence d'une corrélation entre le nombre de nouveaux neurones créés et les performances d'apprentissage spatial en PM (Kempermann et al., 2002 ; Drapeau et al., 2003 ; Gil-Mohapel et al., 2013). Outre les nombreuses études corrélatives, pour étudier l'implication de la neurogenèse dans les processus cognitifs, celle-ci peut être plus ou moins abolie en utilisant des agents chimiques, par lésions physiques, des modèles de souris transgéniques, ou encore par de fortes doses de RIs (Deng et al., 2010 ; Butti et al., 2014, Kozareva et al., 2019, pour revues). Un tableau résumé de certaines études pertinentes menées chez les rongeurs est présenté ci-dessous (tableau 1).

Tableau 1. ***Les effets du blocage de la neurogenèse sur le comportement et la cognition*** *(d'après Marìn-Burgin & Schinder, 2012 et mis à jour)*

Agent bloquant la neurogenèse	Espèces	Age au moment du blocage Age au moment des tests	Effets sur la neurogenèse	Altération du comportement	Aucune modification du comportement	Auteurs
Chimique	Rat Sprague Dawley (M) MAM	Adulte	Diminution des cellules BrdU+	Mémoire de peur conditionnée (trace)	**Apprentissage et mémoire spatiale en PM** Mémoire de peur conditionnée (contexte)	Shors et al., 2002
	Rat Long-Evans (M/F?) Lésion bilatérale du GDD par colchicine	Adulte 10-14 jours	Lésion du GDD mais pas de la CA3	Mémoire de reconnaissance d'objets testée 24h après l'acquisition	Mémoire de reconnaissance d'objets testée 10min après l'acquisition	Dees et al., 2013
Irradiation	Rat Long-Evans (M) Rγ 10Gy / 10min Tête entière	10 semaines 13 semaines	Diminution des cellules totales dans le GD	**Mémoire spatiale à long-terme** (temps : 2 ou 4 semaines) Apprentissage et mémoire à long-terme par indice en PM	**Apprentissage et mémoire spatiale à long-terme en PM (avant ou après l'irradiation)** **(temps : 1 semaine)**	Snyder et al., 2005
	Souris C57Bl/6J (M) RX 10Gy (1 fois) Cerveau entier	28 jours ~ 16 ou 20 semaines	Diminution des cellules Ki67+ et DCX+	Mémoire spatiale en labyrinthe de Barnes	**Apprentissage et mémoire spatiale testée 1h après l'acquisition en PM (allocentrique et égocentrique)** Anxiété	Raber et al., 2004
	Souris 129Sv/Ev (M) RX 15Gy Fenêtre du cerveau contenant l'hippocampe (hors ZSV et cervelet)	10 semaines 22 semaines	Ablation d'environ 85% de cellules BrdU+ dans la ZSG	Mémoire de peur conditionnée (48h) (contexte)	**Apprentissage et mémoire spatiale testées 2 ou 4 semaines après l'apprentissage, en PM** Mémoire de peur conditionnée (indicée)	Saxe et al., 2006
	Souris 129Sv/Ev (M) RX 15Gy Fenêtre du cerveau contenant l'hippocampe (hors ZSV et cervelet)	10 semaines 22 semaines	Ablation d'environ 85% de cellules BrdU+ dans la ZSG	Mémoire de travail (informations répétées sur une seule journée)	-	Saxe et al., 2007
	Rat Long-Evans (M) Rγ 10Gy ou 7.5Gy / 10min Tête entière	~ 16 semaines ~ 20 semaines	Perte de 80% de cellules Brdu+ Cellules NeuN+ similaires	Mémoire de peur conditionnée (contextuelle ou indicée) 24h et 28jours après l'acquisition	-	Winocur et al., 2006
	Rat Long-Evans (M) Rγ -8Gy/11min Corps entier	~ 16 semaines ~ 21 semaines	Diminution des cellules BrdU+, Ki67+ et PSA-NCAM+	Mémoire de peur conditionnée (contexte ; légère corrélation entre le temps à l'arret (*freezing*) et le nombre de cellules PSA-NCAM+) Apprentissage (plateforme visible) PM lors d'une deuxième session	**Apprentissage version (plateforme visible et immergé)** en **PM lors d'une première session** **Mémoire (24h)**	Wojtowicz et al., 2008
	Rat Long-Evans (M) RX – 7.5Gy /3.5min sur 2 jours Cerveau entier et focalisé dans la région de l'hippocampe	9-11 semaines 11—13 / 17-19 semaines	Diminution des cellules DCX+ (cerveau entier : 68% ; focale : 43%).	Mémoire de peur conditionnée (contexte) testées aux temps 2h, 24h et 48h.	Mémoire de travail spatiale	Hernandez-Rabaza et al., 2009
	Souris C57Bl/6 (F) RX 5Gy Exposition focale répétée 3 fois (jours 1, 5 et 9)	8 semaines 16 semaines	Perte quasi totale des cellules DCX+	**Séparation de patterns de motifs spatiaux**		Clelland et al., 2009

Agent bloquant la neurogenèse	Espèces	Age au moment de blocage Age au moment des tests	Effets sur la neurogenèse	Altération du comportement	Aucune modification du comportement	Auteurs
Trangénique	Souris (M) GFAP-TK	12-20 semaines 18-26 semaines	Ablation de la prolifération des cellules GFAP+	Mémoire de peur conditionnée à court-terme (48h) (contexte)	Apprentissage et mémoire spatiale testées à la fin, 2 ou 4 semaines après l'apprentissage, en PM Mémoire de peur conditionnée (indicée)	Saxe et al., 2006
	Souris (M) GFAP-TK	12-20 semaines 18-26 semaines	Ablation de la prolifération des cellules GFAP+	Mémoire de travail (informations répétées sur une seule journée)		Saxe et al., 2007
	Souris (M) GFAP-TK	12 semaines 12 semaines	Augmente la vitesse de différenciation des CSN et diminue l'arborisation dendritique	Mémoire de peur conditionnée (contexte)	-	Farioli-Vecchioli et al., 2008
	Souris (M) NSE-DTA	8 semaines 14-18 semaines	Ablation des cellules Nestin+	**Apprentissage et mémoire spatiale à long-terme en labyrinthe de Barnes**	Mémoire de peur conditionnée (contexte)	Imayoshi et al., 2008
	Souris (M/F) Tlxf/f ; CreER	4 semaines 8 - 14 semaines	Ablation d'un gène régulateur de la proliférations des CSN	**Moins bonnes performances d'apprentissages dans les derniers essais en PM** **Mémoire spatiale testée 12h après la fin de l'apprentissage**	Mémoire de peur conditionnée (contexte)	Zhang et al., 2008
	Souris (M) Nestin-rTA, TET-Bax	8 semaines 14 semaines	Induction de l'apoptose des cellules Nestin+	**Moins bonnes performances d'apprentissage dans les derniers essais en PM (statégie allocentrique)** **Altération de la capacité à se répérer dans un nouvel environnement**	Mémoire de peur conditionnée (contexte) Apprentissage (Stratégie égocentrique) et mémoire spatiale indépendante de l'hippocampe	Dupret et al., 2008
	Souris (M) Lentivirus : blocage faible ou fort de la voie WNT : dnWNT	8 semaines 16 semaines	Perte modérée des cellules DCX+	**Séparation de patterns de motifs spatiaux**		Clelland et al., 2009

Agent bloquant la neurogenèse	Espèces	Age au moment de blocage Age au moment des tests	Effets sur la neurogenèse	Altération du comportement	Aucune modification du comportement	Auteurs
Trangénique	Souris (M/F) KO cycline D2	Adulte	Altération du cycle cellulaire	Capacité olfactive	**Apprentissage (plateforme immergée) et mémoire spatiale en PM (24h)** Mémoire de peur conditionnée (contextuelle et indicée) Mémoire de reconnaissance d'objets	Jaholkowski et al., 2009
	Souris (M) Nestin-rTA, TET-Bax	8 semaines 3 semaines	Induction de l'apoptose des cellules Nestin+	Diminution de la capacité de lever l'ambiguïté entre deux contextes lors d'un apprentissage approfondi Discrimination des odeurs et nociception	-	Tronel et al., 2012
	Souris (M) NestinCreERT2 ; NR2B$^{f/f}$	8- 10 semaines 14-16 semaines	Modulation des synapses des cellules de la CG	Mémoire de reconnaissance d'objet Séparation de patterns Mémoire de peur conditionnée (contexte) testés 48h après l'acquisition	Mémoire de peur conditionnée (contexte) testés 24h après l'acquisition	Kheirbek et al., 2012
	Rat (M/F?) GFAP-TK	8 semaines 16 semaines	Ablation de la prolifération des cellules exprimant GFAP+	Diminution de l'anxiété	**Apprentissage et mémoire spatiale à long-terme en PM** **Mémoire de travail spatiale** Mémoire de peur conditionnée (contexte et trace)	Groves et al., 2013
	Rat (M) GFAP-TK	8 semaines 16 semaines?	Ablation de la prolifération des cellules GFAP+	**Apprentissage** (Plateforme : motif alterné) **Diminution de la précision spatiale** **Stratégie moins performante**	**Apprentissage** (Plateforme : motif répété)	Yu et al., 2019
	Rat (M) Lentivirus : blocage faible ou fort de la voie WNT : dnWNT	7-8 semaines 13-17 semaines	Perte quasi totale des cellules DCX+	**Mémoire spatiale à long-terme testée 2 ou 8 semaines après l'apprentissage en PM lors d'un fort blocage** Mémoire de reconnaissance d'objet lors d'une faible blocage 3h mais pas 1h ou 4 semaines après l'acquisition	**Apprentissage en PM** Mémoire de reconnaissance d'objet lors d'un fort blocage aux trois temps testés (1h, 3h et 4 semaines) Préférence alimentaire	Jessberger et al., 2019
	Souris (M/F) KO cycline D2	Naissance 6 semaines	Altération du cycle cellulaire (diminution des cellules KI67+/DCX+)	**Diminution des performances d'apprentissage** **Diminution des performances de la mémoire spatiale à long-terme testée 24h, 1, 2 et 4 semaines après l'acquisition en PM**	Mémoire spatiale testée 3h après l'acquisition Séparation de patterns Activité locomotrice	Petkova et al., 2020

Concernant plus spécifiquement la mémoire spatiale, l'une des premières études réalisées par Shors et al (2002) a montré que les rats dont la neurogenèse adulte a été bloquée par l'injection d'un agent antimitotique (MAM) ne présentent pas d'altération de l'apprentissage spatial en utilisant un protocole distribué et de la mémoire spatiale à long-terme testée le lendemain de l'apprentissage (Shors et al., 2002). Ce résultat a été conforté chez la souris dont l'ablation de la neurogenèse induite par irradiation n'a pas affecté l'apprentissage et la mémoire spatiale (Meshi et al., 2006). Le modèle de souris KO pour la cycline D2, qui présente une dimininution significative de cellules capable de proliférer dans le GD, sont capables d'apprendre en protocole distribué (6 ou 4 essais par jour pendant 5 ou 11 jours) (Jaholkowski et al., 2009 ; Garthe et al., 2014) et de se souvenir de l'emplacement de la plateforme le lendemain de l'apprentissage (Jaholkowski et al., 2009). Cependant, en condition « reversal », lorque la plateforme est placée dans le quadrant opposé à sa position de départ et que les souris doivent apprendre une nouvelle position de plateforme, les performances de ces souris sont diminuées, ce qui suggère l'implication de la neurogenèse dans ce nouveau contexte (Garthe et al., 2009 et 2014). L'utilisation de rats transgéniques adultes, dans lesquels une ablation drastique (98%) de nouveaux progéniteurs neuronaux peut être induite, ne présentent pas non plus d'altération de l'apprentissage après un protocole distribué (total de 8 essais / 3 jours) et de la mémoire spatiale à long-terme testée 24h après l'apprentissage (Groves et al., 2013).

Cependant, d'autres études plus récentes menées sur des rongeurs dont la neurogenèse hippocampique adulte a été bloquée, ont démontré que de la neurogenèse est impliquée dans l'apprentissage de tâches spatiales complexes et la mémoire à long-terme (≥ 4h) mais pas dans la mémoire à court-terme (<4h). Par exemple, une étude récente a mis en évidence que les souris KO D2 étaient capables d'appprendre un protocole distribué (4 essais / jour sur 7 jours). Néanmoins, la mémoire à long-terme testée 24h, 1, 2 ou 4 semaines après la fin de la tâche d'apprentissage, est altérée ; ce qui n'est pas le cas de la mémoire à plus court-terme testée 3 heures après l'apprentissage (Petkova et al., 2020). Nous pouvons noter que l'altération de la MSLT testée au temps 24h est en contradiction avec les résulats obtenus par Jaholkowski et al., 2009. Le blocage relatif de la neurogenèse chez le rat adulte par injection de lentivirus, permettant d'inhiber une voie de signalisation nécessaire à la génération de nouveaux neurones (voie Wnt), n'induit pas d'altération de l'apprentissage en protocole distribué (5 essais / jours sur 7 jours). La MSLT est altérée 2 à 8 semaines après l'apprentissage, mais uniquement lorsque le blocage de la voie de WNT est fortement induit (Jessberger et al., 2009). Des résultats similaires ont été obtenus lorsque la neurogenèse était bloquée par l'irradiation. Par exemple, l'irradiation en « tête entiere » à la dose de 10 Gy du jeune rat adulte permettant de bloquer la

neurogenèse de neurones âgés de 4 à 28 jours, n'a pas de conséquences sur le processus d'apprentissage testé lorsqu'un protocole semi-massé (2 sessions de 4 essais / jours pendant 6 jours) a été réalisé. La MSLT, quant à elle, est altérée 2 et 4 semaines, mais pas 1 semaine après l'apprentissage (Snyder et al., 2005). Cependant, l'irradiation à la dose de 10 Gy du cerveau de souris adulte affecte légèrement (non significatif) les performances d'apprentissage après un protocole distribué ainsi que la mémoire spatiale à court-terme, testée 1h après la fin du dernier essai (Raber et al., 2004). Enfin, des souris transgéniques dans lesquelles les progéniteurs neuronaux de la ZSG ont été sélectivement tués par induction de la voie apoptotique, présentent une perte de la stratégie allocentrique lorsqu'un protocole distribué (3 essais / jour sur 9 jours) a été utilisé et elles n'ont pas été en mesure de se souvenir de l'emplacement de la plateforme (Dupret et al., 2008 ; Garthe et al., 2009). Une étude récente a permis de mettre en évidence que la formation de nouveaux neurones favorise l'adoption de stratégies spatiales non spécifiques, précises et efficaces, lorsque l'emplacement de la plateforme était modifié mais prévisible (deux choix possibles) (Yu et al., 2019). L'ensemble de ces études montrent que les nouveaux neurones formés à l'âge adulte semblent jouer un rôle dans la MSLT mais selon les protocoles utilisés, ils ne seraient pas forcément indispensables.

La neurogenèse hippocampique adulte est aussi impliquée dans d'autres formes de mémoire comme la mémoire de reconnaissance d'objets, de position spatiale de l'objet (contexte) (Bruel-Jungerman et al., 2005 ; Dees & Kesner 2013 ; Tuscher et al., 2018) mais aussi dans la séparation de patterns (Clelland et al., 2009 ; Sahay et al., 2011 ; Redell et al., 2020, pour revue), dans la régulation de l'humeur (Snyder et al., 2011) et dans la mémoire de peur contextuelle (Saxe et al., 2006). Cependant, l'implication de la neurogenèse dans la mémoire de peur conditionnée continue à être débattue (Snyder et al., 2020).

6. Le microenvironnement hippocampique

La neurogenèse est hautement maintenue et régulée dans certaines régions grâce à un microenvironnement spécialisé constitué d'astrocytes, de la microglie et de cellules endothéliales qui sécrètent de nombreux facteurs (figure 25) (Bátiz et al., 2016, pour revue).

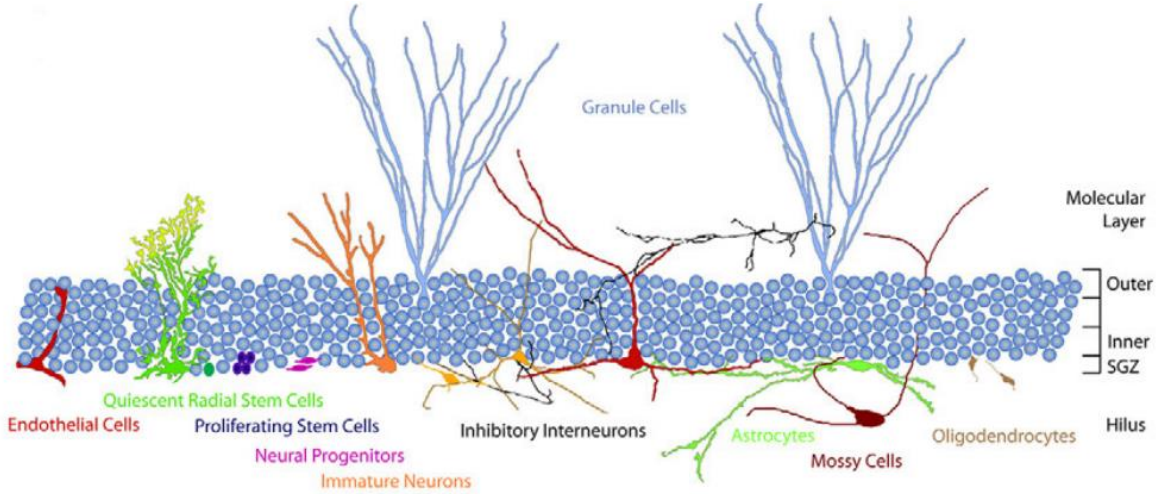


Figure 25. **La niche neurogénique hippocampe.** Le microenvironnement constitué des astrocytes, de la microglie, des oligodendrocytes et des cellules endothéliales. Ces cellules sécrètent des facteurs solubles tels que des molécules de signalisation cellulaire, des facteurs trophiques ou encore des molécules du système immunitaire. Ces facteurs influencent la physiologie des autres cellules ainsi que la progression du processus de neurogenèse hippocampique (Adapté de Miller et al., 2013).

6.1. Les astrocytes

Les astrocytes sont les cellules gliales en forme d'étoile, constituant majoritaire du système nerveux central. Les astrocytes ne sont plus uniquement des cellules qui permettent de nourrir et de soutenir les neurones. Ils ont des fonctions très variées :

- recaptures des neurotransmetteurs nommés glio-transmetteurs comme le glutamate et cela sans induction préalable d'un potentiel d'action,
- sécrétion de facteurs neutrophiques,
- rôle énergétique,
- maintien de l'homéostasie extracellulaire.

Les astrocytes sont des types cellulaires riches en jonctions communicantes qui permettent une communication rapide entre eux, en fonction des informations reçues par les autres astrocytes et les neurones avec lesquels ils sont connectés (Giaume et al., 2005). En effet, un astrocyte

peut être en interaction avec une centaine de synapses (Volterra et al., 2005). De plus, ils participent à la création de la barrière hématoencéphalique grâce à leurs filopodes en contact direct avec le réseau vasculaire. De nombreuses études ont mis évidence l'importance des astrocytes dans la régulation du processus de neurogenèse adulte à chacune de ces étapes (Cope & Gould 2019 et Schneider 2019, pour revues). Par exemple, les facteurs trophiques émis par les astrocytes induisent la prolifération des progéniteurs neuronaux, *in vitro* et *in vivo* (Song et al., 2002a et b). De plus, les cellules ayant proliféré dans le GD sont intimement liées aux astrocytes. Tout d'abord, la densité des prolongements astrocytaires est bien plus élevée près des cellules qui ont proliféré que dans des régions exemptées de cellules souches neurales (Gebara et al., 2016). De plus, le blocage de la libération vésiculaire des astrocytes a pour conséquence de diminuer la survie des neurones et de diminuer les ramifications dendritiques ainsi que le nombre d'épines (Sultan et al., 2015), ce qui suggère une régulation du processus de survie et de maturation des nouveaux neurones par les astrocytes de cette niche. Enfin, les astrocytes jouent un rôle dans la maturation des synapses, par exemple, en modulant leur taille. D'ailleurs, lors de la période de développement du cerveau du rongeur, le pic de synaptogenèse coïncide avec le pic de différenciation et de maturation des astrocytes (Semple et al.,2013 et Chung et al., 2015, pour revues). Certains astrocytes ont la capacité de phagocyter directement les synapses ou indirectement, en libérant des marqueurs de la phagocytose reconnus par la microglie. Ils participent également à la réaction inflammatoire en sécrétant des cytokines et ils peuvent ainsi avoir un impact sur la neurogenèse. Dans certains contextes pathologiques, une neuro-inflammation chronique peut nuire à la neurogenèse (Zhou et al., 2020, pour revue). De plus, lors d'un dommage cérébral à l'âge adulte (blessure physique/stress intense), il semblerait que les astrocytes présents dans cette niche peuvent se dédifférencier, grâce à des remaniements épigénétiques induits par l'environnment, pour redevenir des cellules souches neurales et ainsi produire plus d'astrocytes ou de nouveaux neurones au niveau du site lésé (Griffiths et al., 2020, pour revue).

6.2. La microglie

Les cellules microgliales sont des petites cellules extrêmement mobiles spécifiques du système nerveux central (SNC) et représentent environ 10% du cerveau de souris. Elles phagocytent les débris cellulaires et elles peuvent être activées par l'inflammation (aigue ou chronique). Les cellules microgliales sont alors nécessaires à la survie des neurones. Toutefois, si la sécrétion de molécules pro-inflammatoires par ces cellules persiste dans le temps, cela peut aboutir à une inflammation du tissu cérébrale qui peut être extrêmement délétère au processus de neurogenèse et par conséquent, aux mémoires hippocampe-dépendantes. (Kohman & Rhodes 2013 ; Ryan & Nolan 2016, pour revue). Les cellules microgliales apparaissent très tôt au cours du développement enbryonnaire. Elles sont produites à partir de progéniteurs présents dans le sac vitellin extra-embryonnaire et colonisent l'ensemble du cerveau et persisteront à l'âge adulte. Cependant, en cas d'atteinte cérébrale ou en l'absence complète de microglie, les macrophages circulant dans le sang, qui sont d'origine hématopoétique, semble s'infilter dans le SNC et adopter un phénotype proche de celui les microglies résidentes (Ginhoux 2013 et al., pour revue). Ainsi, tout comme les astrocytes, la microglie participe à la régulation de la neurogenèse. La sécrétion des facteurs anti-inflammatoires participe au bon déroulement de la prolifération et à la survie cellulaire. A contrario, dans un contexte pathologique, la microglie sécrète des molécules pro-inflammatoires qui sont délétères pour les neurones et leurs créations mais aussi pour les autres constituants cellulaires. De plus, les cellules microgliales jouent eux aussi sur la morphologie des synapses soit en les rendant plus performantes grâce à la sécrétion de facteurs de croissance et de cytokines dans le milieu ou par contact, soit, en élaguant les synapses altérées par phagocytose. Enfin, la sécrétion d'un facteur anti-inflammatoire (IL-10) par la microglie induirait une augmentation du nombre de synapses, *in vitro* (Borsini et al., 2015 ; Cope & Gould 2019, pour revues).

6.3. Les oligodendrocytes

Les oligodendrocytes sont des cellules larges qui présentent des excroissances longues et ramifiées. Leur rôle primaire est de myéliniser les axones des neurones du SNC. La myéline est une gaine isolante qui permet la diffusion du courant électrique de petits neurones. Les oligodendrocytes dans le cerveau de l'adulte sont produits à partir des précurseurs cellulaires qui proviennent uniquement de la différenciation des cellules souches neurales qui a eu lieu sur une courte durée : du stade embryonnaire E16 à PND (*postnatal day*) 10, chez la souris (Naruse et al., 2017).

Dans un contexte physiologique, la production de nouveaux oligodendrocytes est régulée par l'activité neurale (Mitew et al., 2018). Dans un contexte pathologique où la démyélinisation est observée, les cellules souches neurales sont capables de donner des précurseurs d'oligodendrocytes qui, une fois matures, pourront venir participer à la re-myélinisation dans toutes les structures cérébrales (Hayashi & Suzuki 2019, pour revue).

6.4. Le réseau vasculaire

Le réseau vasculaire est le seul tissu qui communique avec tous les organes. Les fonctions principales et générales du réseau vasculaire sont d'apporter les nutriments, l'oxygène, des hormones et les molécules de régulation comme les facteurs trophiques *vascular endothelial growth factor* (VEGF) et *Brain-derived neurotrophic factor* (BDNF). Plus localement, le réseau vasculaire semble avoir des fonctions adaptées à l'organe / tissus qu'il irrigue. Au sein du GD, dans la zone granulaire, se trouve un réseau vasculaire très riche autour des clusters des progéniteurs neuronaux (Palmer et al., 2000).

L'endothélium sécrète du BDNF qui est la neutrophine la plus abondante du SNC. Les récepteurs à la BDNF appartiennent à la famille des récepteurs *tropomyosin receptor kinase B* (TrkB) (ou au récepteur p75NTR). La liaison BDNF/TrkB promeut la prolifération, la survie, la différentiation et migration cellulaire des nouveaux neurones ainsi que la potentialisation à long-terme[1] (Ghitza et al., 2010, pour revue). Dans le cas d'un contexte d'environnement enrichi, la stimulation du BDNF pourrait expliquer en partie les bénéfices observés sur la neurogenèse (Rossi et al., 2006 ; Zhang et al., 2016).

[1] La potentialisation à long-terme est un renforcement persistant des synapses induit par une stimulation haute fréquence.

Le VEGF est une protéine majeure de l'angiogenèse et le l'hématopoïèse qui a plusieurs fonctions. Il serait neuro-protecteur en contrant la toxicité du glutamate et semble stimuler directement la neurogenèse (Matsuzaki et al., 2001). En effet, les récepteurs de VEGF sont présents à la surface des progéniteurs neuronaux. L'inhibition de ce facteur grâce à un ARN interférant bloque la neurogenèse induite par un environnement enrichi. Le VEGF est donc nécessaire pour l'optimisation du circuit neuronal. Inversement, l'augmentation artificielle de VEGF au niveau de la ZSG « boosterait » la neurogenèse en augmentant de 30% le nombre de cellules prolifératives (Jin et al., 2002 ; Cao et al., 2004 ; Schänzer et al., 2004 ; Sun et al., 2006). Enfin, il aurait un rôle de chemio-attractant en guidant les progéniteurs neuronaux en migration par l'intermédiaire du récepteur VEGFR2 exprimé à la surface des progéniteurs (Zhang et al., 2003).

Comme nous venons de le décrire, l'hippocampe est un lieu de neurogenèse qui se produit tout au long de la vie et participe à de nombreuses formes des mémoires hippocampe dépendantes, dont la mémoire spatiale à long-terme. Ce processus est hautement régulé par son environnement contitué d'astrocytes, d'oligodendrocytes, de la microglie et du réseau vasculaire présents dans la niche hippocampique.

IV. Etat de l'art des études expérimentales

1. Les effets des RIs sur le comportement et la cognition

1.1. Les effets d'une exposition au stade postnatal

Selon les études expérimentales menées chez le rongeur, l'âge du sujet dans sa période postnatale (< 21 jours) au moment de l'irradiation semble être un facteur déterminant dans l'apparition de troubles comportementaux et cognitifs à l'âge adulte.

Avec de fortes doses d'irradiation, plusieurs études ont démontré qu'une exposition cérébrale avec une dose unique de RX (5-9 Gy) dans les premiers jours de vie (<10jours) serait à l'origine d'altérations cognitives et comportementales. Elles ont mis en évidence une diminution du temps d'exploration dans un nouvel environnement et du niveau d'anxiété des rongeurs, ainsi, qu'une altération de la mémoire de reconnaissance d'objet et des performances d'apprentissage et de mémoire spatiale (tableau 2 ; Barlind et al., 2010, Caceres et al., 2009). En revanche, si l'irradiation (5 Gy) a lieu à l'âge de 21 jours, seule une perte de la performance de la mémoire spatiale a été mise en évidence (Rola et al. 2004). L'ensemble de ces études suggère qu'une exposition dans les deux premières semaines de vie soit plus critique qu'une exposition dans la troisième semaine de vie.

En ce qui concerne les études menées à des doses faibles à modérées (tableau 3), elles sont moins nombreuses que celles effectuées à fortes doses. De plus, les stratégies expérimentales (dose / exposition du corps / cerveau) sont très différentes et peu d'études ont réalisé des tests de comportement pour étudier les conséquences d'une exposition des RIs sur le comportement et la cognition. La majorité des études a utilisé un protocole d'exposition « du corps entier » de jeune rongeur et a mis en évidence que ce type d'exposition pouvait altérer le comportement et la cognition des rongeurs une fois adultes (Tang et al., 2017 a et b, pour revues). Par exemple, l'exposition à des Rγ en corps entier à la dose de 0.5 ou 1 Gy à l'âge de 10 jours modifie le comportement spontané (locomotion/exploration, redressements) de l'adulte 2 et 4 mois après l'exposition (Kempf et al., 2014a). De plus, Per Eriksson et al., (2016) ont montré qu'une exposition en corps entier à la dose de 0.5 Gy à l'âge de 3 jours ou 10 jours diminuait l'activité totale de l'adulte. Néanmoins, si l'exposition à lieu à l'âge de 19 jours, les animaux ne présentent pas d'altération comportementale (Per Eriksson et al., 2016). Ces études mettent en évidence que l'irradiation du corps entier au début de la période postnatale, provoque des altérations cognitives qui perdurent dans le temps. Cependant, ces études ne permettent pas d'étudier les effets cognitifs qui seraient seulement liés à l'irradiation plus ciblée du cerveau

uniquement. En ce qui concerne plus particulièrement la mémoire spatiale, actuellement, seule l'équipe de Casciati et al., (2016), a étudié l'apprentissage et la mémoire spatiale après l'exposition du cerveau entier de souris âgées de 10 jours. Ils ont montré que l'irradiation à une dose de 2 Gy de RX n'impactait pas ces processus mnésiques, 6 mois après l'exposition. Cependant, le protocole utilisé (piscine de Morris) dans cette étude est discutable car il semble induire de mauvaises performances de rétention y compris chez leurs animaux contrôles, ce qui, selon nous, biaise complètement l'interprétation des performances mnésiques des animaux irradiés (Casciati et al., 2016 ; figure annexe 3). Pour étudier l'impact direct des RI sur le cerveau ou sur une structure cérébrale, mon équipe en collaboration avec le Docteur Dos Santos, a développé trois modèles d'exposition du cerveau consistant à irradier soit le cerveau entier (CV), soit uniquement le gyrus denté dorsal (GDD) ou bien le gyrus denté ventral (GDV). Ces trois modèles ont permis de démontrer que l'irradiation du CV entier ou seulement du GDV de souriceau à l'âge de 10 jours peut augmenter le niveau d'anxiété/dépression, aux doses de 0.25, 0.5 et 1 Gy, 3 mois après l'irradiation. Ce niveau d'anxiété / dépression n'a pas été retrouvé après l'irradiation de la partie dorsale du GD par rapport au animaux irradiés au niveau du GDV (Dos Santos et al., 2018). Ces résultats sont la preuve que l'irradiation du cerveau dans son ensemble ou juste d'une sous-structure n'entraîne pas les mêmes conséquences sur la cognition et le comportement de l'adulte et que ces effets dépendent de la région cérébrale irradiée.

1.2. Les effets d'une exposition aux RIs à l'âge adulte

L'exposition à une seule dose de RIs, à l'âge adulte, semble être moins délétère aux processus mnésiques qu'une irradiation à l'âge juvénile, à toutes les doses, fortes ou faibles. Actuellement, peu d'altération de la mémoire de reconnaissance à un nouvel environnement ou objet, de l'apprentissage et la mémoire spatiale ont été démontré après une exposition unique à une dose forte (Raber et al., 2004 ; Ji et al., 2014) ou faible (Kim et al., 2008 ; Bellone et al., 2015) par les études expérimentales (tableaux 4 et 5). Néanmoins, l'exposition à l'âge adulte semble altérer les processus émotionnels. L'irradiation à des doses fortes induirait un comportement dépressif plus prononcé (Son et al., 2014). A contrario, l'exposition à des doses faibles de RIs induirait une suppression du comportement dépressif et une hyper-locomotion mais augmenterait le niveau d'anxiété des animaux (Kokhan et al.,2019).

2. Les effets des RIs sur la neurogenèse postnatale/adulte et son microenvironnement

2.1. Les effets d'une exposition du rongeur juvénile

Des recherches expérimentales ont établi que l'exposition aux RIs à des doses fortes (> 2 Gy) dans les premières semaines de vie entraine la mort cellulaire dans l'ensemble des structures cérébrales comme par exemple le bulbe olfactif, l'hippocampe, le cortex enthorinal ou encore l'amygdale (Ferrer & Borras 1994 ; Fukuda et al., 2004). Quels que soient les modes d'exposition (corps entier, crâne ou cerveau) et les types de RIs (γ et X), ou encore le moment de l'irradiation au stade postnatal, des altérations du processus de neurogenèse hippocampique adulte ont été démontrées à la suite d'une irradiation à des doses fortes (tableau 2 ; Tang et al., 2015, pour revue). En effet, l'exposition au stade postnatal à des doses comprises entre 2 et 10 Gy diminue la prolifération cellulaire à des temps précoces (quelques heures) et tardifs (quelques mois) dans l'hippocampe (Rola et al., 2004, Naylor et al., 2008, Barlind et al., 2010 ; Huo et al., 2012 ; Peng et al., 2019). L'utilisation d'une gamme de dose de 0.3, 3 et 10 Gy a permis de mettre en évidence que la diminution de la prolifération était dose-dépendante (Achanta et al., 2009). L'exposition du CV des souris âgées de 21 jours diminue le nombre de neurones immatures 48h après une exposition à la dose de 2 ou 10 Gy (Rola et al., 2004) et au temps plus tardif de 69 jours, après une exposition à une dose de 2 Gy (Peng et al., 2019). La survie des nouvelles cellules est également moindre 6 semaines après une exposition du souriceau à la dose de 4 Gy (Allen et al., 2014). Enfin, le nombre des neurones matures est lui aussi diminué dans l'hippocampe des souris une fois adulte (Rola et al., 2004, Caceres et al., 2010 ; Allen et al., 2014). Finalement, malgré la différence de conditions expérimentales entre ces études, elles suggèrent toutes une diminution de tous les types cellulaires appartenant au processus de neurogenèse adulte. Enfin, la fonctionnalité des neurones dans le CV de la souris qui a été irradiée à l'âge de 21 jours est, elle aussi, impactée 3 mois après l'exposition. En effet, Alexander et al., 2018, ont démontré une altération significative de la morphologie des dendrites des neurones du GD et de la CA1 : une diminution de la complexité de l'arborisation, du nombre de points d'embranchements, et de la longueur des dendrites. Cependant, le pourcentage de boutons synaptiques n'est pas modifié après une exposition à la dose de 10 Gy (Alexander et al., 2018). En ce qui concerne le microenvironnement, une augmentation du nombre de cellules microgliales a été démontrée de manière précoce, 6h après l'exposition du l'hémisphère gauche à la dose de 8 Gy de souris âgées de 11 jours (Huo et al., 2012). De plus, une augmentation du pourcentage de nouvelles cellules microgliales a été démontrée à des

temps tardifs : 1 et 3 mois post-IR, contrairement aux nouveaux astrocytes qui sont quantitativement augmentés uniquement au temps 3 mois. Enfin, une activation microgliale, signe d'une neuro-inflammation est toujours détectée, 3 mois post-IR (Rola et al., 2004).

En ce qui concerne l'impact d'une irradiation à des doses faibles ou modérées sur la neurogenèse hippocampique et son microenvironnement, très peu d'études sont disponibles (tableau 3). Ces quelques études ont mis en évidence de nombreux effets sur le processus de neurogenèse hippocampique adulte des mois après une exposition du corps ou du CV de souris âgées de 10 jours. Par exemple, une diminution de la densité de cellules capables de proliférer a été démontrée après une exposition du corps entier aux doses de 0.1, 0.5 et 1 Gy (Kempf et al., 2014a) ou du cerveau entier à la dose de 2 Gy (Casciati et al., 2016), 6 / 7 mois après l'exposition. Toutefois, l'étude de la prolifération conduite à différents temps précoces et tardifs après l'exposition, a révélé une diminution provisoire, voire fluctuante, de la densité des cellules en prolifération. En effet, l'exposition du CV à la dose de 2 Gy provoque la diminution de ces cellules, 1 jour après l'irradiation, alors que la densité de ces cellules est drastiquement augmentée dans le GD, 6 jours plus tard. Un mois plus tard, la densité des cellules en prolifération est similaire à celle des témoins alors que 6 mois après l'exposition cette densité est de nouveau diminuée par rapport aux témoins (Casciati et al., 2016). De manière intéressante, aucune modification du nombre de neurones immatures n'a été décrite par l'exposition du CV à 2 Gy aux temps précoces et tardifs ou après une exposition du corps aux doses de 0.1, 0.5 et 1 Gy, 6 / 7 mois plus tard (Kempf et al., 2014a ; Casciati et al., 2016). En revanche, la densité en neurones matures est diminuée uniquement à la dose de 2 Gy et non à la dose de 0.1 Gy dans le cas d'une exposition cérébrale alors que l'exposition du corps entier induit une diminution de la densité de ces neurones matures dès la dose de 0.1 Gy (tableau 2). Ces études démontrent que la densité des cellules aux différentes étapes de la neurogenèse est impactée par l'irradiation mais elles ne permettent pas d'accéder à la fonctionnalité des neurones matures. Les études génomiques et épigénétiques réalisées par Kempf et al., (2014a et 2015) suggèrent une perte de la fonctionnalité des nouveaux neurones. Ils ont démontré qu'une irradiation du corps entier à des Rγ induit une dérégulation des gènes immédiats précoces et tardifs d'activation neurale, mais aussi des récepteurs neuronaux et des protéines impliquées dans la potentialisation à long-terme. Par exemple, l'expression des gènes immédiats précoces tels que C-Fos, Arc et Creb, qui pour rappel, reflète l'intégration fonctionnelle d'un nouveau neurone au réseau, est diminuée dans le cortex et dans l'hippocampe, 6 mois après l'exposition à la dose de 1 Gy (Kempf et al., 2014a) et uniquement

dans le cortex à la dose de 0.5 Gy (Kempf et al., 2015). En parallèle, une augmentation des microARNs impliqués dans la création des épines dendritiques et la plasticité synaptique (PSD-50 et MAP-2) a été démontrée dans l'hippocampe, pour la dose de 0.5 Gy (Kempf et al., 2015). A cette même dose d'exposition, une augmentation de la protéine Tau, connue pour son implication dans le maladie neurodégénérative (Ballatore et al., 2007, pour revue) a été décrite dans l'ensemble du cortex, 24h et 6 mois après l'exposition (Buratovic et al., 2014). Finalement, malgré le peu d'études disponibles à ce sujet, elles décrivent toutes une altération du processus de neurogenèse hippocampique adulte, des mois après une exposition au stade postnatal. Les altérations de ce processus ont souvent été détectées en parallèle d'une modification précoce et tardive du microenvironnement induit par les RIs. Un profil pro-inflammatoire a été suggéré par une augmentation de la microglie, 1 jour après l'exposition du CV entier à la dose de 2 Gy et 6 mois après l'exposition du corps entier dès la dose de 0.1 Gy (Kempf et al., 2014a ; Casciati et al., 2016). L'augmentation de la densité en astrocytes dans le GD, après ces différents types d'exposition, va dans le sens d'une neuro-inflammation persistance 6 / 7 mois après l'exposition. En outre, une dérégulation précoce de l'activité mitochondriale est suggérée par l'augmentation de cellules exprimant la caspase 3, protéine impliquée dans l'induction de la voie apoptotique, après une exposition du CV à la dose de 2 Gy. De plus, des altérations des voies de signalisation impliquées dans la phosphorylation oxydative et dans la dégradation des radicaux superoxydes ou encore une altération des complexes de la chaîne mitochondriale ont été démontrées 6 mois après l'exposition, par des analyses protéomiques et validées par immunohistochimie (Casciati et al., 2016). Des résultats similaires ont été obtenus par Kempf et al., (2014a), qui ont démontré que l'exposition du corps entier à la dose de 1 Gy induit une diminution de l'expression des microARN impliqués dans les voies de signalisation mitochondriales, au même temps post exposition. L'ensemble des altérations de cet organite, au centre des fonctions métaboliques à l'échelle cellulaire, pourrait causer l'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène ou un stress oxydatif chronique. L'accumulation de ces espèces pourrait participer voire maintenir une neuro-inflammation persistante du tissu cérébral, des mois après une exposition à des RIs (Zhao & Robbins 2009, pour revue). Cette inflammation chronique pourrait favoriser une dérégulation du processus de neurogenèse adulte. Enfin, en ce qui concerne les autres atteintes au microenvironnement, nous pouvons noter que les cellules endothéliales de la barrière hématoencéphalique sont quantitativement augmentées, 6 mois après l'irradiation. Cependant, le nombre de micro-vaisseaux n'a pas été modifié par l'irradiation (Casciati et al., 2016).

Tableau 2. **Les effets d'une exposition unique à des doses fortes de RIs au stade postnatale chez l'animal devenu adulte.**

	Irradiation	Localisation	Dose Débit de dose	Age IR Temps post-IR	Effets sur le comportement	Effets sur la neurogenèse adulte	Effets sur les cellules gliales et autres effets	Auteur
Doses ≥ 2Gy	Rayons X	Souris C57BL/6J (M) Crâne	2 - 10Gy ~ 1.75Gy/min	21 jours 48 heures	-	Diminution de la prolifération (Ki67) et des neurones immatures (DCX).	-	
	Rayons X	Souris C57BL/6J (M) Crâne	5Gy ~ 1.75Gy/min	21 jours Etude cellulaire : 1 ou 3 mois Comportement : 3 mois	**Piscine de Morris** : pas d'altération de l'apprentissage. Perte de la performance de la mémoire spatiale. **Reconnaissance objets, labyrinthe en croix surélévé, rotarod, évitement passif** : aucune altération de la mémoire de reconnaissance d'objets, du niveau d'anxiété/stress et du comportement spontané.	Diminution des neurones matures (NeuN).	Augmentation des nouveaux oligodendrocytes (NG2),1 mois post-IR. Augmentation des nouveaux astrocytes (GFAP), 3 mois post-IR. Activation microgliale, 1 et 3 mois post-IR. Infiltration des monocytes, 1 mois post-IR.	Rola et al., 2004
	Rayons X	Souris C57BL/6 (M) Crâne	6Gy	9 jours 3 mois	**Open field** : modification du comportement (redressements et inactivité augmentés) - peut être compensée par la course volontaire.	Perte de 85% des progéniteurs neuronaux (SOX/GFAP), 36h post-IR.	-	Naylor et al., 2008
	Rayons X	Rat Wistar (M) Crâne	5Gy 1Gy/min	entre 1 et 2 jours 1 ou 3 mois	**Labyrinthe radial** : altération de la mémoire spatiale de l'adulte (erreur, premier choix, angle choisi, stratégie, persévérance). **Open field** : diminution de l'état d'anxiété.	-	Désorganisation des cellules de purkinje (cervelet).	Caceres et al., 2009
	Rayons X	Rat Sprague Dawley (M) Hippocampe	3 et 10Gy	21 - 50 - 70 jours 3 mois	**Test du conditionnement à la peur** : Acune altération du conditionnement de peur (trace et contexte).	**≥ 3Gy** : Diminution dose dépendante de la prolifération dans l'HPC (Ki67 et BrdU).	-	Achanta et al., 2009
	Rayons X	Souris C57BL/6 (M) Cerveau	6Gy 2.3 Gy/min	10 jours 7 semaines	**Intellicage :** altération de l'apprentissage spatial.	Diminution du nombre de cellules capables de proliférer (BrdU) dans la CG.	-	Barlind et al., 2010

	Irradiation	Localisation	Dose Débit de dose	Age IR Temps post-IR	Effets sur le comportement	Effets sur la neurogenèse adulte	Effets sur les cellules gliales et autres effets	Auteur
Doses ≥ 2Gy	Rayons X	Rat Wistar (M) Crâne	5Gy 1Gy/min	entre 1 et 2 jours 1 mois	**Reconnaissance objets et tâche d'évitement** : Altération de la reconnaissance d'objets à court et long-terme. Amélioration de la mémoire associative à court-terme.	Diminution du nombre total de cellules. Augmentation du nombre de cellules présentant un noyau picnotique et condensé dans la région CA1 mais pas dans le GD, dont la majorité des cellules correspondent à des cellules exprimant NeuN.	Augmentation des ROS/activité PKC. Pas de différence pour SOD et catalase (CAT).	Caceres et al., 2010
	Photons 4 MV	Souris C57BL/6 (M) Hémisphère gauche uniquement	8Gy 1Gy/min	11 jours 6h - 7 semaines	-	Diminution du nombre de cellules capables de proliférer (BrdU), 6h et 7 semaines post-IR et du nombre de cellules picnotiques, dans le GD, 6h post-IR. Diminution de la prolifération (Phospho-Histone H3) et des cellules de type 1 (BLBP) dans le GD, 7 semaines post-IR.	Augmentation quantitative de la microglie (Iba1) dans le GD, 6h post-IR	Huo et al., 2012
	Rayons γ (Cs137)	Souris C57BL/6J (M) Corps entier	4Gy -	21 jours 6 semaines	**Piscine de Morris :** Pas d'altération de l'apprentissage (après 2 jours avec la plateforme visible) au jours 3, 4 et 5 (semi-massé) et de la mémoire spatiale testé 1h après le jour 3, 4 ou 5.	Diminution non significative de la survie (BrdU) et de la densité en nouveaux neurones matures âgées de 30 jours (BrdU/NeuN).	Pas de modification de densité en cellules microgliales activées (CD68) et augmentation non significative de la microglie ayant proliféré 30 jours avant l'analyse (BrdU/CD68).	Allen et al. ,2014
	Rayons X (SARRP)	Souris C57BL/6J (M) Crâne	10Gy -	21 jours comportement : 5 semaines Analyses morphologiques : 9 semaines	**Piscine de Morris :** pas d'altération de l'apprentissage aux jours 3, 4 et 5 (après 2 jours avec la plateforme visible). Mémoire spatiale altérée si l'apprentissage n'est pas suffisant (testés 1h après l'apprentissage du jour 3 ou 4). **Labyrinthe en Y** : perte de la "nouveauté spatiale", le souris passent autant de temps dans l'ancienne branche que dans la nouvelle branche	-	Diminution de l'arborisation dendritique : de la complexité, longueur des dendrites, nombre de points d'embranchements,nombre de pointes dendritiques. Pas de différence de pourcentage de boutons synaptiques.	Alexander et al., 2018
	Rayons X	Souris BALB/c (M) Corps entier	2Gy 1.2Gy:/min	21 jours Comportement : 69 jours Immunohistochimie : 169 jours	**Piscine de Morris : p**as d'altération de l'apprentissage et de la mémoire spatiale à long-terme (24h). **Open field** : pas de modification de la distance parcourue en 5 min. **Reconnaissance objets** : pas d'altération. **Test de conditionnement à la peur** : Pas d'altération.	Diminution du nombre de cellule en prolifération (Ki67), du nombre de neurones immatures (DCX) et des interneurones (parvalbumin).	-	Peng et al;, 2019

Tableau 3. **Les effets d'une exposition unique à des doses faibles à modérées de RIs au stade postnatal chez l'animal devenu adulte.**

	Irradiation	Localisation	Dose Débit de dose	Age IR Temps post-IR	Effets sur le comportement	Effets sur la neurogenèse adulte	Effets sur les cellules gliales et autres effets	Auteur
Doses ≤ 2Gy	Rayons γ (Co60)	Souris NMRI (M) Corps entier	0.02 - 0.1 - 0.5 - 1Gy 0.025Gy/min	10 jours Comportement : 2- 4 mois Etude cellulaire et transcriptomique : 6/7 mois	**≥ 0.5Gy, Open field :** Modification du comportement spontané : 0 et 20 min: hypoactivité ; 40 et 60 : hyperactivité	**1Gy** : Modification de l' expression génique des protéines pré et post-synaptiques (PSD-95 et MAP-2). Diminution des gènes précoces d'activation neuronale (Creb, c-FOS et Arc). **≥ 0.1Gy** : Diminution de la prolifération (Ki67 et PCNA dès la dose de 0.5Gy) et du nombre de neurones matures (NeuN). **≥ 0.02Gy** : Nombre de neurones immatures similaire aux CTL.	**1Gy** : Neuroinflammation (ramification microgliale) et diminution de la peroxydation des lipides. **≥ 0.1Gy** : Augmentation du nombre d'astrocytes (GFAP).	Kempf et al., 2014
	Rayons γ (Co60)	Souris NMRI (M/F) Corps entier	0.35 - 0.5Gy 0.02Gy/min	10 jours Comportement : 2 - 4 mois Protéique : 24h -6mois	**≥ 0.35Gy, Open field** : Modification de la réponse spontanée : 0 et 20 min: hypoactivité ; 40 et 60 : hyperactivité, levée de la tête constante alors que ce mouvement diminue chez les CTL). Effets dose-dépendante et sexe-indépendant	-	**0.5Gy** : Augmentation de la protéine Tau (cortex et HPC) et de la synaptophysine (cortex), 24h post-IR. Augmentation de Tau, 6 mois post-IR (cortex).	Buratovic et al., 2014
	Rayons γ (Co60)	Souris C57BL/6 (F) Crâne	0.1 - 0.5Gy	10 jours 24h	-	**0.5Gy** : Augmentation des miARN (création des épines dendritiques, la plasticité synaptique, développement et maturité du SNC). Diminution de CREB dans l'HPC mais pas dans le cortex. **≥ 0.1Gy** : Augmentation de l'expression de CREB phosphorylé uniquement dans le cortex.	-	Kempf et al., 2015
	Rayons γ (Co60)	Souris NMRI (M/F) Corps entier	0.02 - 0.1- 0.5 -1 Gy 0.02Gy/min	3 - 10 -19 jours 2 - 4 mois	**Open field** : Diminution de l'activité totale après une exposition à la dose de **0.5Gy** à P3 et 10 mais pas à P19, chez le mâle. P10 : Diminution de l'activité totale après une exposition **dès la dose de 0.5Gy**, chez les deux sexes.	-	-	Per Eriksson et al., 2016
	Rayons X	Souris C57BL/6 (M) Crâne	0.1 - 2Gy	10 jours Précoces: 1 -7 jours Tardifs :1 - 6 mois	**2Gy, Piscine de Morris** : Pas d'altération de la mémoire spatiale	**≥ 0.1Gy** : Pas d'effet quantitatif sur les neurones immatures (DCX). **2Gy** : Prolifération diminuée 1 jour post IR, puis augmentée 7 jours post-IR, puis retour au niveau des CTL 1 mois pst-IR. Diminution quantitative des neurones matures aux temps tardifs (NeuN).	**≥ 0.1Gy** : Diminution de l'activité des complexes de la chaine mitochondriale, marquée 6 mois post-IR. **2Gy** : Neuro-inflammation (Iba1 et GFAP). Augmentation du nombre de cellules endothéliales, 6 mois post-IR.	Casciati et al., 2016

2.2. Les effets d'une exposition à l'âge adulte aux RIs

Comme mentionnée précédemment (partie III.5.6 de l'introduction, tableau 1), la technique d'irradiation du cerveau est parfois choisie pour étudier les effets de l'abolition/diminution de la neurogenèse hippocampique adulte sur les fonctions cognitives. De façon plus précise, une diminution du nombre de cellules capables de proliférer, des neurones immatures et matures a été démontrée à fortes doses (Tada et al., 2000 ; Ben Abdallah et al., 2007 ; Ford et al., 2011 ; Jin et al., 2018) et faibles doses (Mizumatsu et al., 2003 ; Kim et al., 2008 ; Bellone et al., 2015). En ce qui concerne les effets sur les autres cellules neurales, dans certains cas un profil pro-inflammatoire a été suggéré à la suite d'une irradiation à fortes doses (Monje et al., 2002 ; Mizumatsu et al., 2003 ; Son et al., 2014), et dans d'autres cas, ce profil n'a pas été mis en évidence (Ben Abdallah 2007 , Son et al., 2014). L'ensemble des effets d'une exposition à l'âge adulte sur la neurogenèse adulte et sur son microenvironnement sont disponibles dans les tableaux 4 et 5.

Tableau 4. **Les effets chez l'adulte d'une exposition unique à des doses fortes de RIs à l'âge adulte.**

	Irradiation	Localisation	Dose Débit de dose	Age IR Temps post-IR	Effets sur le comportement	Effets sur la neurogenèse adulte	Effets sur les cellules gliales	Auteur
Doses ≥ 2Gy	Rayon X	Rat Fisher 444 (M) Crâne	1 - 2 - 5 - 10 - 15Gy 1.75Gy/min	10 semaines Etude cinétique: 1 - 7 - 14 - 30 - 60 - 120 jours	-	**≥ 2Gy** : relation dose-dépendante pour le nombre de cellules apoptotiques. Diminution significativede la prolifération (BrdU) dans la ZSG, 120 jours post-IR. **15Gy** : pic apoptotique entre 0 et 24h post-IR.	-	Tada et al., 2000
	Rayon X	Rat Fisher 344 (?) Crâne	2 - 10Gy	Adulte 1 mois	-	*In vivo :* **10Gy** : diminution des nouvelles cellules dans l'HPC. **≥ 2Gy** : Nombre de progéniteurs similaire au CTL. Diminution des nouveaux neurones (BrdU), 2 mois post-IR. *In vitro :* **≥ 2Gy** *:* pas d'altération de la neurogenèse lorsque des progéniteurs irradiés sont placés dans un environnment non irradié.	*In vivo :* nombre de nouveaux astrocytes, des cellules endothéliales et des oligodendrocytes similaires aux CTL. Légère augmentation des oligodendrocytes immatures Augmentation de la microglie.	Monje et al., 2002
	Rayons X	Souris C57BL/6J (M) Cerveau	1 - 2 - 5 - 10Gy ~ 1.75Gy/min	2 mois 48h - ~2 mois	-	**≥ 1Gy** : augmentation de la réponse apoptotique dose-dépendant **≥ 2Gy** : diminution de la prolifération (Ki-67). Diminution dose-dépendante des neurones immatures (DCX), 48 post-IR et matures (NeuN), 2 mois post-IR.	**≥ 2Gy** : aucune modification des nouveaux d'astrocytes (GFAP). Augmentation des nouveaux oligodendocytes (NG2) particulièrement marqués et augmentation des nouvelles cellules microgliales de manière dose-dépendante, 2 mois post-IR.	Mizumatsu et al., 2003
	Rayons X	Souris C57BL/6J (M) Hippocampe/Cortex	10Gy 1.75Gy/min	2 mois 3 mois	**Openfield, labyrinthe en croix surélevé, test du rotarod** : pas d'altération du comportement : locomotion / anxiété. **Pisicne de Morris** : pas d'altération de l'apprentissage ni de la mémoire spatiale Pas d'altération locomotrice et visuelle **Labyrinthe de Barnes** : plus de distance parcourue jusqu'à la cible et plus d'erreurs	Diminution de 90% du nombre de cellules en prolifération (Ki67) et des neurones immatures (DCX) avant et après les tests comportementaux.	-	Raber et al., 2004
	Rayons X	Souris C57Bl/6J (M/F) Cerveau	4Gy 0.275Gy/min	3 mois 16h - 48h - 1 semaine - 1 mois	-	Perte transitoire de 80% des cellules proliferatives (Ki67), puis similaire aux CTL 1 semaine post-IR.	Pas d'activation microgliale ou de déploiement astrocytaire. Augmentation du nombre de cellules pinoctiques 16 post-IR puis diminution 48h et 1 semaine post-IR. Retour au nivau basal 1 mois post-IR.	Ben Abdallah et al., 2007

	Irradiation	Localisation	Dose Débit de dose	Age IR Temps post-IR	Effets sur le comportement	Effets sur la neurogenèse adulte	Effets sur les cellules gliales et autres effets	Auteurs
Doses ≥ 2Gy	Rayons X	Rat Sprague Dawley (M) Hippocampe	0.3 - 3 - 10 Gy -	21 - 50 - 70 jours 3 mois	**Test de conditionnement à la peur : a**ltération du conditionnement à la peur (trace) : P21 : ≥ 3Gy ; P50 et P70 : 10Gy. Acune altération du conditionnement de peur (contexte).	**≥ 0.3Gy** : diminution dose dépendante de la prolifération dans l'HPC (Ki67 et BrdU).	-	Achanta et al., 2009
	Rayons X	Souris C57BL/6J (M) Localisé de l'HPC droit (SARRP)	10Gy ~ 1Gy/min	6-8 semaines 4 et 8 semaines	-	Diminution des cellules proliératives (Ki67), 24 post-IR. Diminution de la prolifération (EdU) et des neurones matures (EdU/NeuN), 4 semaines post-IR. Pas de différence dans l'hémisphère non-irradié	-	Ford et al., 2011
	Rayons X	Souris C57BL/6 (M) Cerveau	1 ou 10Gy 3.8Gy/min	8 semaines Précoces : 1, 2 et 8 jours Tardifs : 1 ou 3 mois	**10Gy, test de suspension par le queue** : comportement dépressif, testé aux temps tardifs.	**1Gy** : diminution des neurones immatures (DCX), 1, 2 et 8 jours post-IR. Aucune différence du nombre de neurones immatures, 1 et 3 mois post-IR. **10Gy** : diminution des neurones immatures (DCX) à tous les temps. Régulation négative de l'expression ARN de BDNF, 8 jours, 1 et 3 mois post-IR et GDNF, 3 mois post-IR.	**1 et 10Gy** : pas de différence d'expression des ARN de cytokine (TNF, IL6 et 1β,IFN-gamma). **10Gy :** induction de iNOS à tous les temps. Diminution de Iba1 aux temps tardifs. Pas de différence pour le nombre d'astrocytes (GFAP+)	Son et al., 2014
	Rayons X	Rat Sprague Dawley (M) Cerveau	20Gy -	Adulte ~ 2 - 3 mois	**Open field** : pas d'altération de la locomotion ou de l'anxiété. **Piscine de Morris** : pas d'altération mnésique mais augmentation du temps de latence d'entrée dans la zone	Diminution de 82% des neurones matures (BrdU+/NeuN+). Diminution de 62% de l'expression protéique de BDNF. Diminution de 46% du récepteur TrkB	-	Ji et al., 2014
	Rayons γ (Cs137)	Souris C57BL/6J (M) Corps entier	4Gy -	8 semaines 6 semaines	**Piscine de Morris :** pas d'altération de l'apprentissage aux jours 3, 4 et 5 (après 2 jours avec la plateforme visible) et de la mémoire spatiale testé 1h après le jours 3, 4 et 5.	Diminution non significative de la survie (BrdU) Diminution significative des nouveaux neurones matures dans la partie contralatérale et non ipsilatérale	Augmentation non significative de la densité en cellules microgliales activées (CD68) et de la microglie ayant proliféré 30 jours avant l'analyse (BrdU/CD68)	Allen et al. ,2014
	Rayons X	Rat Sprague Dawley (M) Crâne	10Gy -	Adulte 7 jours	-	Diminution du pourcentage de nouveaux neurones matures (BrdU/NeuN). Diminution de la longueur des dendrites des nouveaux neurones (DCX)	Modification des protéines impliquées dans la méthylation de l'ADN (DNMT1 et 3A)	Ji et al., 2018

Tableau 5. **Les effets chez l'adulte d'une exposition unique à des doses faibles à modérées de RIs à l'âge adulte.**

	Irradiation	Localisation	Dose Débit de dose	Age IR Temps post-IR	Effets sur le comportement	Effets sur la neurogenèse adulte	Effets sur les cellules gliales et autres effets	Auteurs
Doses ≤ 2Gy	Rayons γ (Cs 137)	Souris B6C3F1/HSD (M) Corps entier	0.1 - 2Gy 0.64Gy/min	8-10 semaines 30min ou 4h	-	-	Modulation de l'expression génique de plus de 1500 gènes : 30% sont dose-dépendant et 60% temps dépendant. Modification précoce : transduction du signal, régulation ionique et signalisation synaptique. Modification tardive : fonction métabolique, synthèse protéique en général et de la myéline	Yin et al., 2004
	Rayons γ (Co60)	Souris ICR (M) Corps entier	0.5 - 2 - 4Gy 8.2Gy/min	8 semaines Etude cellulaire : 6 - 12 - 24 heures Comportement : 3 - 7 - 14 jours	**2Gy, Open field** : pas d'altération de l'activité locomotrice et du niveau d'anxiété dans un nouvel environnement. Perte transitoire de l'évitement passif (1 jour) ; Perte transitoire de la reconnaissance d'objet (1jour).	**≥ 0.5Gy** : augmentation de cellules apoptotiques dans le DG, entre 0 et 12h post-IR puis retour au niveau basal au temps 24h. Effet dose-dépendant sur la diminution du nombre de cellules Ki67+ et DCX+, 24 post-IR, puis remonté progessivement à la normale après 14 jours.	-	Kim et al., 2008
	Rayons X	Rat Sprague Dawley (M) Hippocampe	0.3 -	21 - 50 - 70 jours 3 mois	**Open field** : aucune altération du conditionnement de peur (contexte et trace).	**0.3Gy** : diminution dose dépendante de la prolifération dans l'HPC (Ki67 et BrdU).	-	Achanta et al., 2009
	Photon (150MeV)	Souris B6C3F1/J (M) Corps entier	0.5Gy 1.5 - 2.5Gy/min	3 mois Comportement : 3 - 6 mois Electrophysiologie in vitro : ~ 9 mois	**Piscine de Morris et layrinthe radial** : pas d'altération de l'apprentissage ou de la mémoire spatiale. Pas d'atération des capacités locomotrices et visuelles, 3 mois post-IR. Légère diminution des performances d'apprentissage, 6 mois post-IR.	-	Pas de modification de l'excitabilité présynaptique des neurones CA1. Augmentation de l'excitabilité post-synaptique (augmentation de la fréquence des EPSPs) des cellules pyramidales de CA1	Bellone et al., 2015
	Rayons X	Souris C57BL/6 (M) Crâne	0.1 - 2Gy	10 mois Précoces: 1 -7 jours Tardifs :1 - 6 mois	**2Gy, Piscine de Morris** : pas d'altération de la mémoire spatiale	**2Gy** : diminution quantitative des neurones immatures (DCX), 7 jours et 6 mois post-IR. **0.1Gy** : pas d'effet sur le nombre de neurones immatures (DCX). Augmentation des neurones matures (NeuN), 6 mois post-IR.	**≥ 0.1Gy** : diminution de l'activité des complexes de la chaine mitochondriale, marqué et du nombre de microvaisseaux, 6 mois post-IR. **2Gy** : pas de neuroinflammation (Iba1 et GFAP). Nombre de cellules endothéliales similaires aux CTL.	Casciati et al., 2016

Objectifs de la thèse

Bien que les RIs puissent induire des dommages à toutes les échelles du vivant, leur utilisation dans le domaine médical peut s'avérer nécessaire à la survie des patients : des doses fortes sont utilisées pour éradiquer les tumeurs et des doses faibles sont utilisées pour réaliser des diagnostics par scanographie. Les enfants sont particulièrement vulnérables aux RIs car ils sont en pleine croissance. En pédiatrie, la région de la tête et du cou est la zone la plus explorée par scanographie, ce qui soulève de nombreuses questions sur les potentiels effets des RIs, à long-terme, sur leur cognition et leur qualité de vie.

Les études épidémiologiques et expérimentales à fortes doses ont démontré que plus l'enfant est jeune au moment de l'exposition, plus les altérations cognitives, et notamment mnésiques, sont sévères (Jacob et al., 2018, pour revue ; les tableaux 2 et 4). En revanche, à des doses faibles à modérées, les études épidémiologiques sont ponctuelles et controversées (Pasqual et al., 2020). Toutefois, l'ensemble de ces études s'accorde sur le fait que les altérations cognitives observées à l'âge adulte semblent être plus sévères lorsque l'exposition à lieu tôt au cours de la vie, et que l'hippocampe est une structure cérébrale particulièrement sensible à l'irradiation (Blomstrand et al., 2014 ; Gondi et al., 2014). Cette sensibilité accrue pourrait être en partie expliquée par le fait qu'au sein de cette structure sont générés des nouveaux neurones. Les études expérimentales visant à évaluer les effets d'une exposition postnatale à des doses ≤ 2 Gy sur la cognition et le comportement, à l'âge adulte, sont peu nombreuses et très différentes dans leurs stratégies expérimentales utilisées. De plus, la majorité de ces études est réalisée après une exposition dite « corps entier », ce qui ne permet pas d'évaluer les effets directs des RIs sur le cerveau ou sur une sous-structure de l'hippocampe. Ainsi, notre équipe a développé deux modèles d'exposition chez le souriceau âgé de 10 jours afin d'évaluer, notamment, les effets de ces deux types d'exposition sur la mémoire spatiale à long-terme de l'adulte (Dos Santos et al., 2018). Le premier modèle est l'exposition du cerveau entier (CV) pour étudier les effets directs des RIs sur le tissu cérébral. Le deuxième modèle développé est l'exposition localisée du gyrus denté dorsal (GDD). Nous avons choisi d'irradier spécifiquement le GD car c'est le lieu où se déroule la neurogenèse hippocampique adulte, un processus cellulaire impliqué dans les processus mnésiques et émotionnels (Hainmueller et al., 2020, pour revue). De plus, nous avons irradié uniquement la partie dorsale parce qu'elle est plus impliquée dans la mémoire spatiale à long-terme que la partie ventrale. Enfin, nous avons choisi d'exposer le CV ou le GDD de souris âgées de 10 jours car le cerveau n'est pas encore

mature au stade postnatal et, à cet âge, le cerveau est particulièrement sensible aux agents toxiques tels que les RIs (Per Eriksson 1984, 2000, 2010, et 2016). Les deux modèles, CV et GDD, utilisés au cours de cette thèse, nous permettent de mieux comprendre comment les RX impactent le CV et une sous structure cérébrale : le GDD.

Le premier objectif de la thèse a été d'évaluer les potentiels troubles de l'apprentissage et de la mémoire spatiale en piscine de Morris, dans nos deux modèles, 3 mois après l'exposition. Chaque modèle a été irradié avec une gamme de doses allant de 0.25 à 2 Gy afin de remplir un second objectif : étudier les relations dose-réponses, qui comme nous l'avons décrit, sont diverses dans le domaine des faibles doses. Pour réaliser ces deux objectifs, nous avons utilisé un protocole particulièrement difficile dit « massé » qui implique la réquisition de nouveaux neurones (Goodman et al., 2010) ainsi que leur activation (Veyrac et al., 2013 ; Castillon et al., 2020).

Les résultats de cette étude, nous ont amené au troisième objectif : étudier dans le cas d'une altération mnésique radio-induite, la neurogenèse adulte qui est impliquée dans cette forme de mémoire (Hainmueller & Bartos 2020, pour revue). Pour cela, nous avons étudié le devenir des cellules capables de proliférer dans le GDD en analysant différents stades de la neurogenèse adulte et le devenir astrocytaire.

Au vu des résultats obtenus pour des doses ≤ 2 Gy sur la mémoire spatiale à long-terme, nous avons complété l'étude de la relation dose-réponse en exposant nos deux modèles à une dose forte de 10 Gy qui semble altérer le processus de neurogenèse hippocampique adulte (Rola et al., 2004, Raber et al., 2004 ; Achanta et al., 2009 ; Monje et al., 2002, Ford et al., 2001, Ji et al., 2018).

Matériel et méthodes

L'ensemble de la stratégie expérimentale adoptée pour répondre aux objectifs de la thèse est présenté en figure 26.

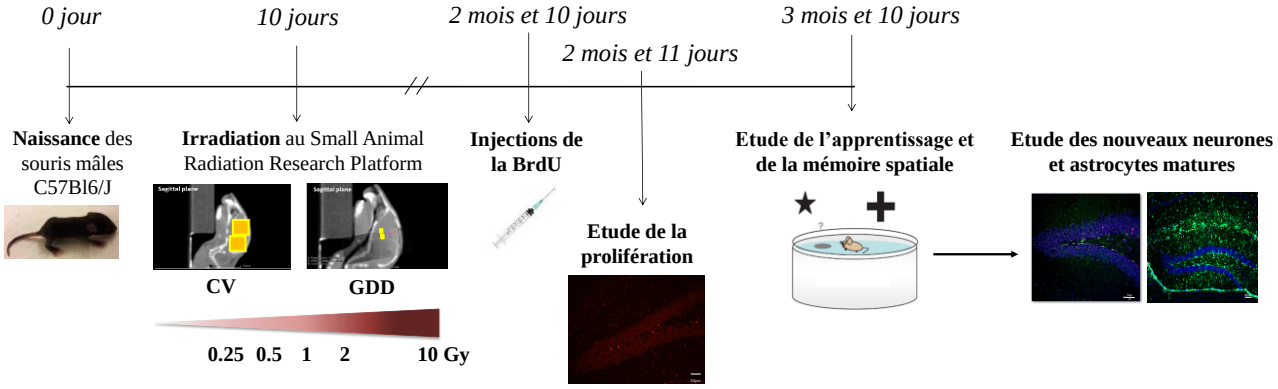


Figure 26. **La stratégie expérimentale.** Les souches C57Bl/6J ont été irradiées à la dose de 0.25, 0.5, 1 ou 2 Gy à l'âge de 10 jours. Nous avons irradié soit le cerveau entier (CV) soit uniquement le gyrus denté dorsal (GDD). Pour étudier la neurogenèse hippocampique adulte après une exposition à la dose de 1 Gy, nous avons injecté de la Bromodésoxyuridine (BrdU), analogue de la thymidine, afin de marquer les cellules capables de proliférer, 2 mois et 10 jours après l'exposition. Nous avons réalisé un test de piscine de Morris pour d'étudier l'apprentissage et la mémoire spatiale à long-terme, environ 3 mois après l'exposition. A la suite de ce test, l'étude de différentes étapes de la neurogenèse adulte a été conduite, 3 mois et 10 jours après l'exposition.

1. Les animaux

Des souris C57Bl/6J ont été utilisées pour réaliser l'intégralité de cette l'étude. Toutes les expériences ont été effectuées en accord avec les lois européennes ainsi que la réglementation et les directives éthiques pour l'expérimentation animale (R.214–87 à R.214-126). Ce projet a été approuvé par le comité éthique de l'IRSN (D9203201 ; N° APAFIS : #12999-2018011118241671). Toutes les mesures permettant de limiter la souffrance animale et la réduction du nombre d'animaux ont été prises.

Des femelles gestantes (entre le 14ème et 17ème jour de gestation) ont été commandées chez Charles Rivers (L'Arbresle, France) et placées dans des cages individuelles, dans lesquelles du coton et du papier graphite ont été mis à leur disposition pour la création du nid. Seuls les souriceaux mâles ont été sélectionnés pour participer à l'étude afin de s'affranchir d'un éventuel effet sexe. Tous les animaux sont restés dans un environnement dont les conditions étaient contrôlées (12 : 12 jour-nuit ; 21°C). L'eau et la nourriture ont été fournies *ad libitum*.

2. Les deux modèles d'irradiation

2.1. Le « Small Animal Radiation Research Platform »

Avant le début de cette thèse, deux modèles d'irradiation cérébrale de la souris âgée de 10 jours (PND 10) ont été développés et validés au sein de l'équipe (Dos Santos et al., 2018) :

(1) un modèle d'irradiation du cerveau entier (CV) et

(2) un modèle d'irradiation du gyrus denté dorsal (GDD).

La conception de ces modèles a été effectuée à la plateforme du « Small Animal Radiation Research Platform » (SARRP), en collaboration avec le Docteur Morgane Dos Santos (figure 27).

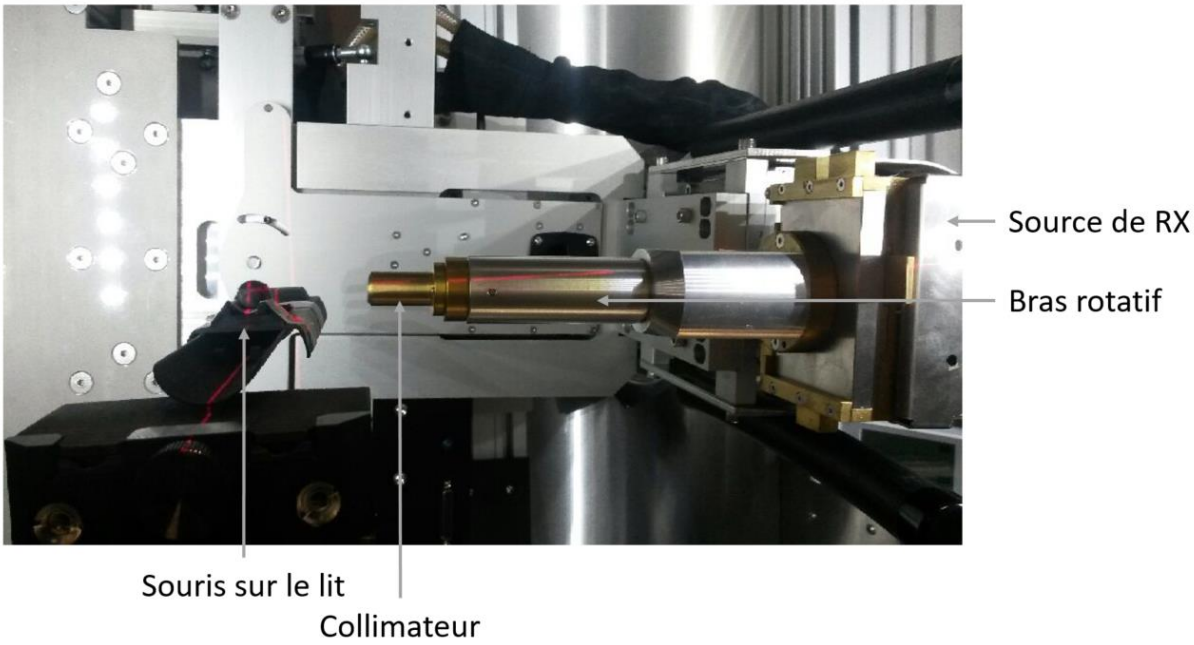


Figure 27. **Le Small Animal Radiation Research Platform (SARRP).** Photo de l'intérieur du système permettant d'irradier le petit animal.

Le SARRP est un système de micro-irradiation du petit animal permettant de faire des irradiations localisées de petites dimensions (0,5 à 10 mm) en faisceau unique, multi-faisceaux ou en arc thérapie. Ce système est guidé par l'image et utilise une source de rayonnements X classique (tube à rayons X), montée sur un bras iso-centrique capable de pivoter de -180° à +180°. Celui-ci peut être employé pour faire des images scanners et des irradiations. Le système

d'imagerie embarquée (images scanners) associé à un système de planification de traitement dédié (Muriplan) permet de faire des irradiations de haute précision.

Avant chaque utilisation du SARRP, un contrôle de surveillance de la dose a été réalisé afin d'assurer la stabilité du faisceau et de vérifier que le débit de dose est bien à sa valeur moyenne ± 1%.

2.2. Le protocole d'irradiation

Avant de commencer les irradiations, les souriceaux mâles âgés de10 jours et issus de portées différentes ont été sélectionnés et placés dans les différents groupes, afin de s'affranchir d'un éventuel « effet portée ». Ils ont ensuite été anesthésiés par voie intra-péritonéale avec un mélange de kétamine (40mg/Kg ; Imagen 1000) / xylasine (0.8mg/kg ; Rampun 2%) / NaCl 0.9% pour être placés sur le lit de l'irradiateur. Le temps maximal de l'anesthésie est d'environ 30min.

Les images scanner réalisées au SARRP sont suffisantes afin de définir un plan de traitement permettant d'irradier le cerveau (figure 28) mais pas une structure cérébrale spécifiquement. Le manque de contraste au niveau des tissus mous sur les images obtenues ne permet pas de faire des irradiations localisées d'une structure cérébrale. Pour pallier ce manque, des images IRM de cerveau du même âge ont été préalablement acquises à la plateforme IRM (4.7 Tesla) de l'Université Paris Descartes (INSERM U 970) (figure 29). La superposition des images scanner et IRM a été effectuée manuellement grâce au logiciel de plan de traitement (Muriplan). Pour des raisons de faisabilité, les souriceaux utilisés pour acquérir les images IRM sont des souris distinctes de celles utilisées pour l'étude. Néanmoins, une étude comparative de la taille et de la morphologie du cerveau de souriceaux à PND 10 a été réalisée et n'a pas montré de différences significatives pour des souriceaux de même âge et de même masse.

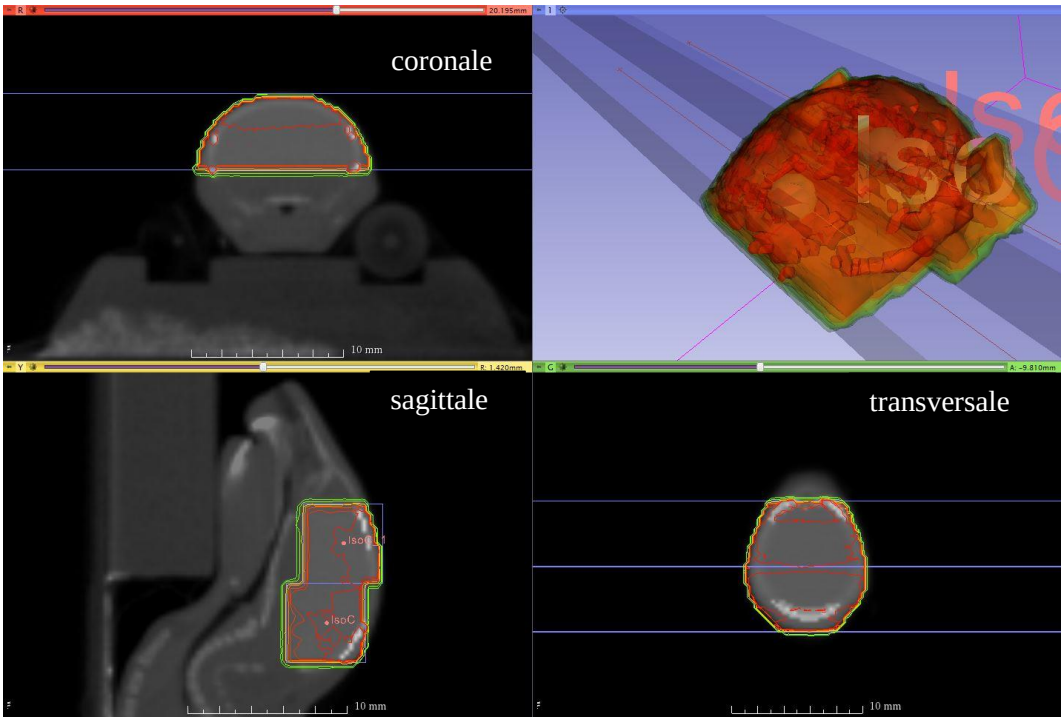


Figure 28. **L'irradiation du cerveau entier.** Plan de traitement et ses isodoses pour l'irradiation du cerveau entier. ISO : Isocentre

A

Image scanner

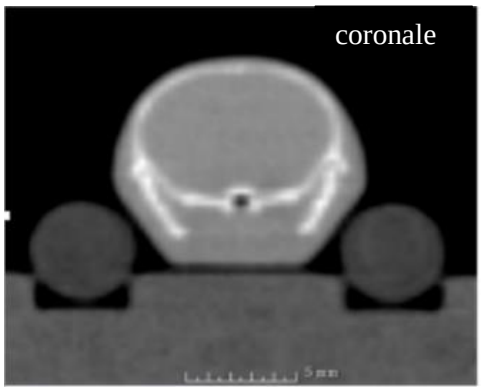
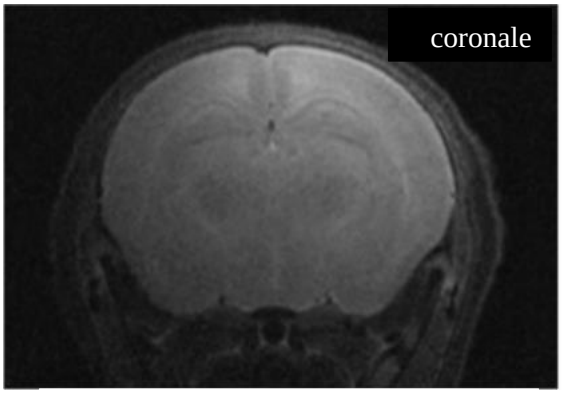
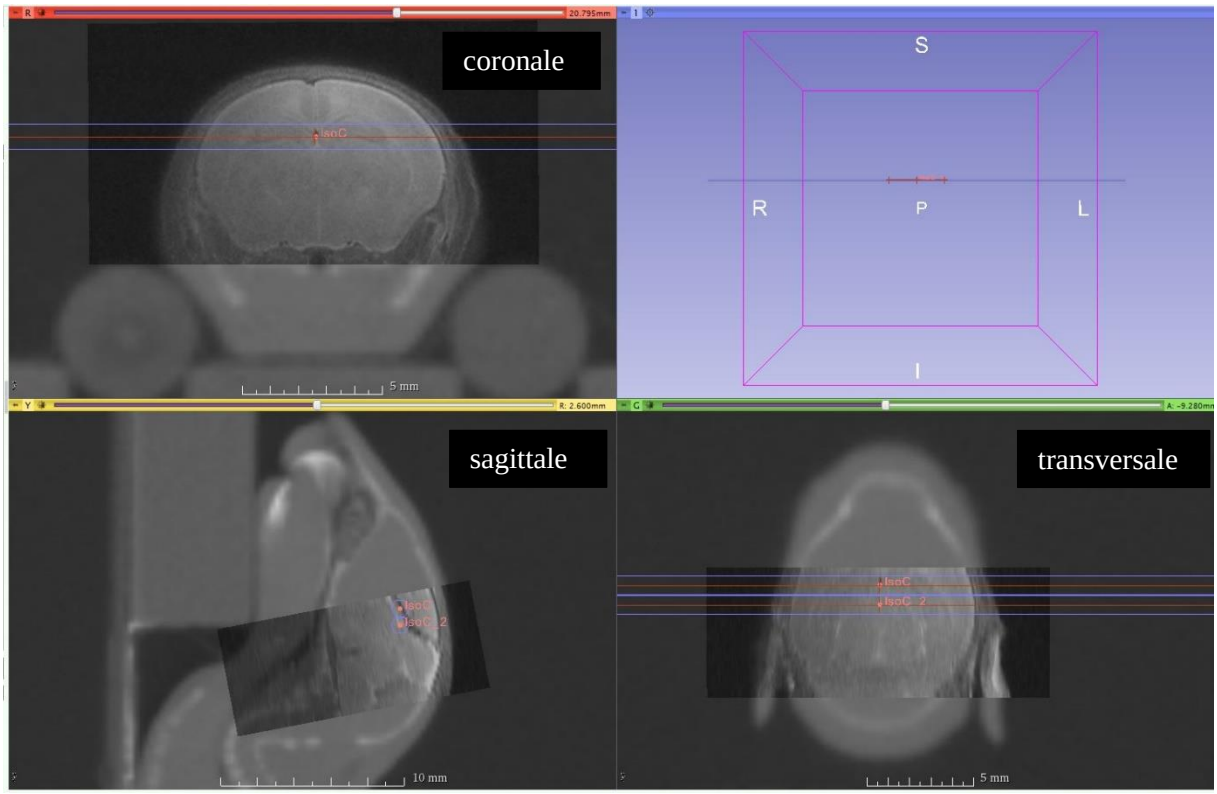


Image IRM



Plateforme IRM – INSERM U 970
Université Paris Descartes



B

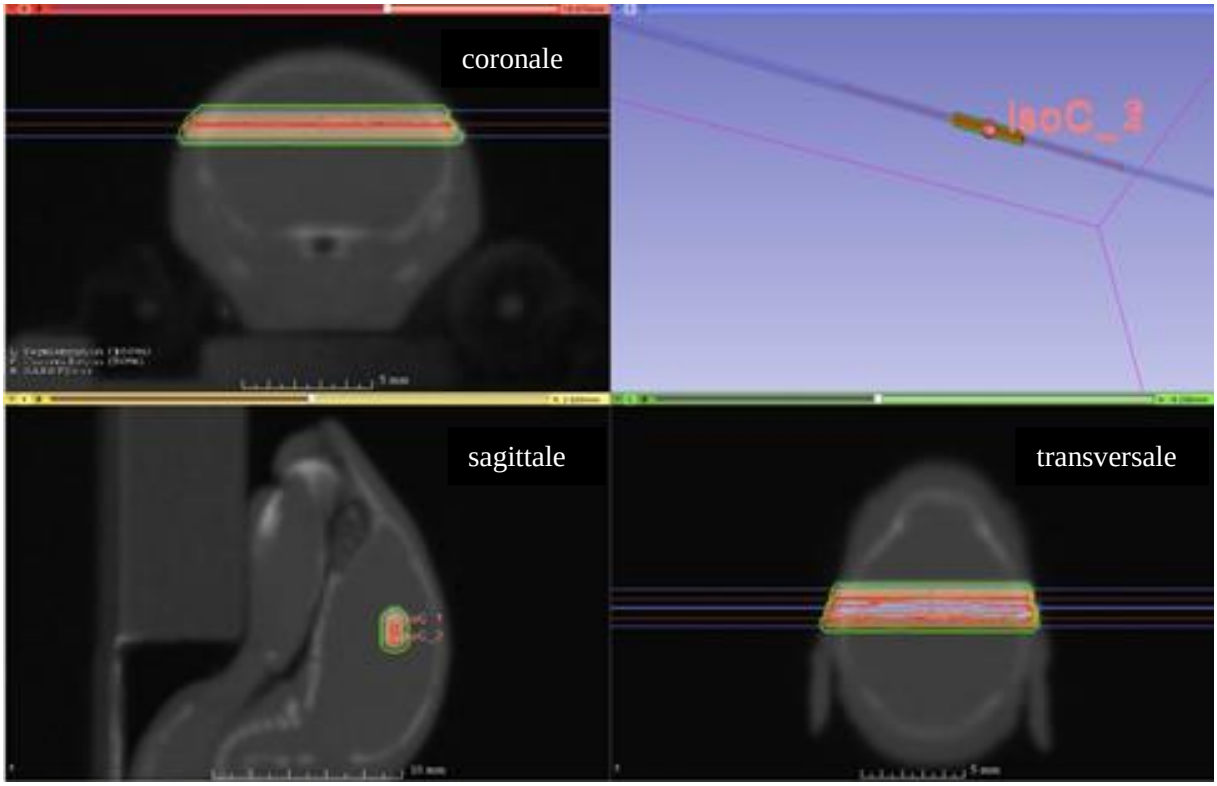


Figure 29. **L'irradiation localisée du gyrus denté dorsal**. (A) Stratégie utilisée et plan de traitement utilisé pour l'irradiation localisée du GDD et (B) ses isodoses pour l'irradiation du GDD. ISO : Isocentre.

La stratégie adoptée pour irradier le CV ou le GDD a été de positionner l'un derrière l'autre, deux iso-centres sur la structure d'intérêt. Pour irradier de manière homogène le cerveau entier ou uniquement le GDD, deux faisceaux à 180°C par rapport au plan sagittal ont été délivrés par iso-centre. Un collimateur avec un champ carré de 5 mm² a été choisi pour irradier le cerveau entier. Un collimateur avec un champ circulaire de 1 mm de diamètre a été sélectionné pour l'irradiation localisée.

Pour irradier nos modèles avec une dose unique de 0.25, 0.5, 1 ou 2 Gy, la tension était de 220 kV, l'intensité de 3 mA et l'énergie effective de 69 keV. Le débit de dose était de 0.49 Gy/min en dose dans l'eau. Pour irradier à la dose de 10 Gy, nous n'avons pas pu utiliser ces mêmes paramètres car le temps d'irradiation était trop long pour que les animaux restent dans un état de sommeil suffisant tout au long de la procédure. Pour réduire le temps d'irradiation, l'intensité a donc été augmentée à 13 mA et le débit de dose était d'environ 2.1 Gy/min en dose dans l'eau. Les animaux contrôles ont été soumis au même protocole d'anesthésie et d'acquisition des images scanners que les animaux irradiés. Tous les animaux de l'étude, irradiés et CTL, ont donc reçu une dose très faible de 4.8 cGy lors de l'acquisition de ces images scanners du corps entier (figure 30).

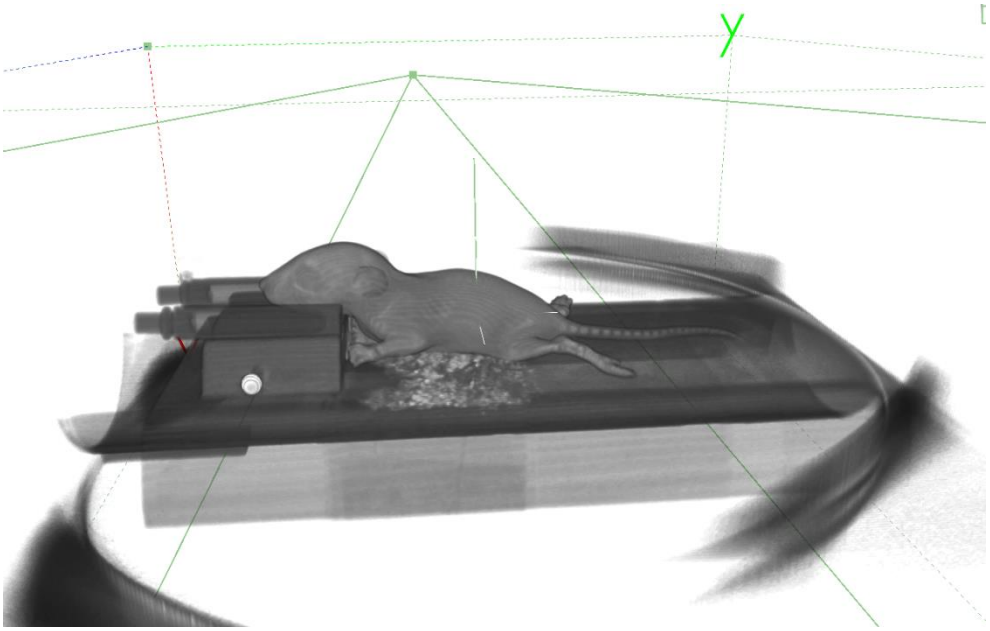


Figure 30. **L'image obtenue après le scanner du corps entier de la souris.**

Une fois l'irradiation terminée, les animaux ont été tatoués avant d'être remis dans leurs nids respectifs. A l'âge de 21 jours, les souris ont été sevrées et placées dans des cages de 3 à 5 individus en fonction de leurs conditions d'irradiation. Nous avons choisi de réunir les souris de cette manière car au début de l'étude, nous ne savions pas si certaines conditions d'exposition pouvaient impacter sur le comportement et notamment le comportement émotionel des souris, ce qui pourrait potentiellement influencer le comportement des congénères d'une même cage.

3. La préparation et les injections de la Bromodésoxyuridine

La Bromodésoxyuridine (BrdU) est couramment utilisée pour étudier la division cellulaire. Ce nucléoside est un analogue structurel de la thymidine qui s'intègre au génome lors de la réplication. Le temps d'injection de la BrdU permet de faire une étude cinétique des cellules capables de proliférer et de leur devenir.

Dans une première série d'expériences, des souris âgées de 2 mois et 10 jours (CTL, CV et GDD n = 6) ont reçu deux injections de BrdU à 150 mg/kg espacé de 4 heures (Mandyam et al., 2007) afin d'étudier la prolifération des nouvelles cellules. Ces souris ont été perfusées 24h après la dernière injection de BrdU. Ces souris n'ont pas effectué de tâche de comportement (figure 26).

Dans la seconde série d'expériences, nous avons étudié la survie et le phénotype des nouvelles cellules au sein du GD des animaux contrôles (n = 15) et irradiés (CV n = 7 à 9 et GDD n = 7 à 11) âgés de 2 mois et 10 jours. Pour cela, les souris ont été injectées en intrapéritonéal (0.25ml) durant 5 jours consécutifs, avec une dose non-toxique de 50mg/kg (Taupin 2007, pour revue). Les souris de cette étude ont effectué la tâche de comportement et ont donc été perfusées à la fin de cette tâche comportementale (figure 26).

Quel que soit le temps d'injection, les animaux ont tous été injectés aux mêmes heures de la journée. La poudre de BrdU a été pesée grâce à une balance de haute précision sous une hotte de pesée sécurisée pour les produits « Cancérigène, Mutagène, et Reprotoxique » puis elle a été ensuite dissoute dans du PBS1X en ajustant le pH à 8,4.

4. L'étude comportementale

4.1. La piscine de Morris

Le test de piscine de Morris est un test comportemental permettant d'étudier la navigation spatiale et la mémoire spatiale des rongeurs.

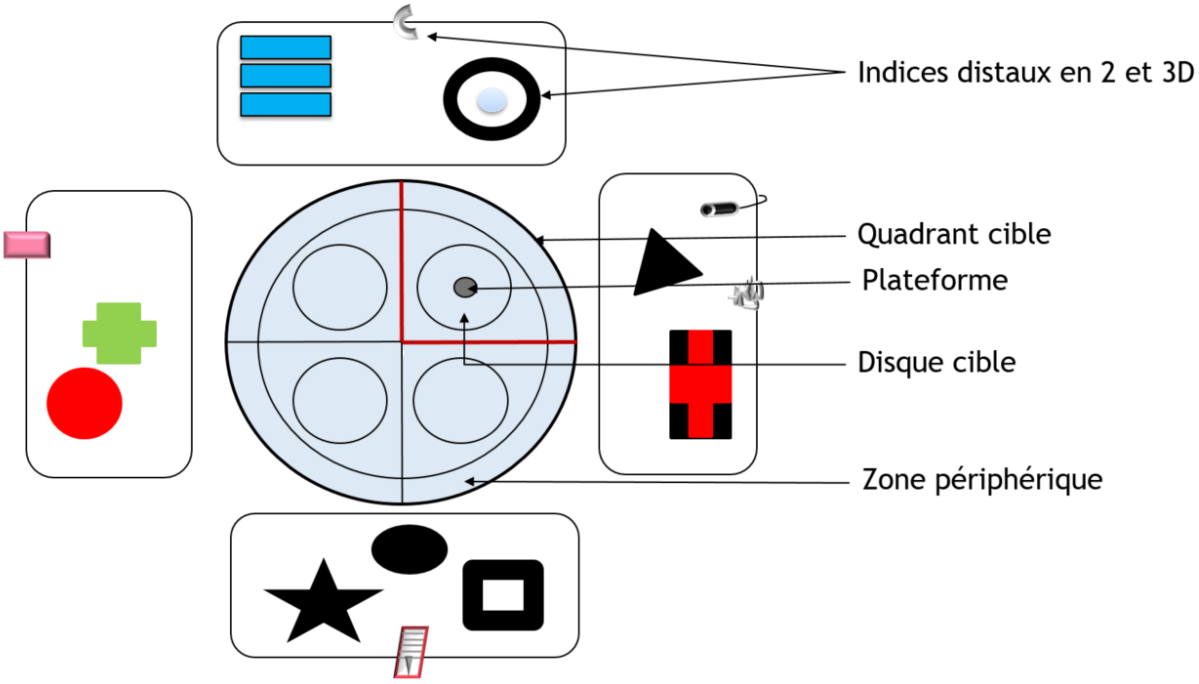


Figure 31. **Le schéma de la pièce de comportement.**

Comme montré par la figure 31, pour réaliser ce test, nous avons utilisé une piscine circulaire (diamètre = 150 cm) dont l'eau a été opacifiée avec de la poudre non-toxique appelée blanc ou craie de Meudon. Quatre panneaux présentant des indices visuels distaux en 2 et 3 dimensions ont été placés tout autour de la piscine. Ces indices n'ont pas été modifiés ni déplacés jusqu'à la fin des tests. La piscine a été divisée virtuellement en quatre quadrants identiques et au sein de chaque quadrant une zone appelée disque (diamètre = 38 cm) a été délimitée. Une plateforme (diamètre = 10 cm) a été placée au centre d'un de ces quadrants et est appelé « quadrant cible ». Les trois autres quadrants ont servi de points de départ. La configuration des quadrants (cible ou départ) a été pseudo-randomisée et toutes les combinaisons ont été testées à chaque étape du test (habituation, apprentissage et rétention). Lorsque le quadrant cible a été fixé pour une souris, son emplacement n'a pas été modifié pour

toute la durée du test. Enfin, la température de la salle (19/20°C) et de la piscine (20/21°C) ont été contrôlées avant chaque expérimentation. Toujours dans le but d'être reproductible dans nos expériences, chaque étape du test a commencé et fini au même moment de la journée.

L'ensemble des tests a été filmé à l'aide d'une caméra placée au-dessus de la piscine et connectée au logiciel Anymaze (ANY-maze™, Stoelting).

4.2. Les étapes du test

Les différentes étapes du test sont présentées en figure 32.

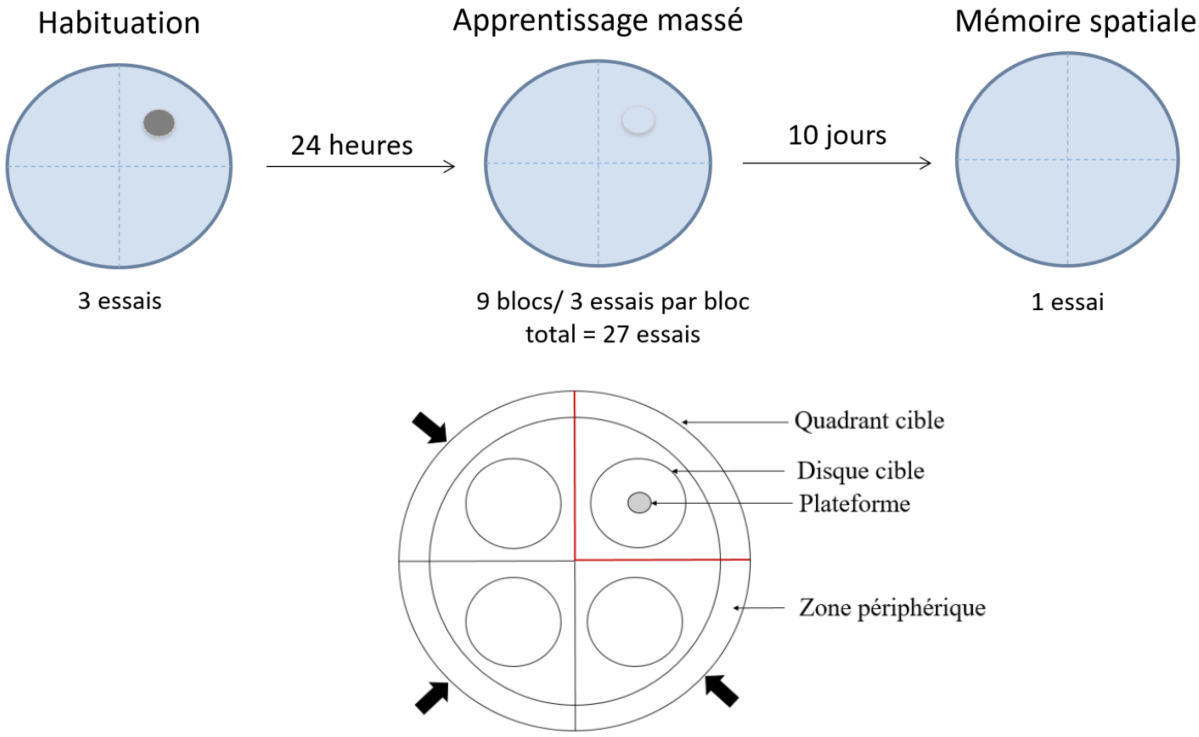


Figure 32. **Le schéma du protocole utilisé et délimitation de la piscine de Morris.** La piscine de Morris est divisée virtuellement en quatre quadrants identiques. Le quadrant cible, délimité en rouge, est le quadrant où est placée la plateforme. Les flèches noires sont les trois points de départs possibles dans cette configuration.

Habituation : Le premier jour, afin de limiter le stress généré par la manipulation ou un nouvel environnement, les animaux ont été placés dans la salle de comportement 2 heures avant le début du test. Pour cette première étape, la plateforme est visible afin de faciliter l'exercice. Chaque souris a effectué 1 bloc, constitué de 3 essais consécutifs de 60sec de recherche. Si une

souris n'a pas rejoint la plateforme après 60s, elle est gentiment guidée vers celle-ci en suivant le doigt de l'expérimentateur.

Apprentissage massé : Le jour suivant, la plateforme est immergée de 0.5cm sous l'eau colorée, et devient alors invisible. Pour une souris donnée, la position dans le quadrant cible est identique à celle de la veille. Pour l'apprentissage, un protocole dit « massé » a été choisi. Chaque souris a effectué 9 blocs de 3 essais consécutifs, soit 27 essais au total. Les 3 essais sont entrecoupés de 60sec de repos sur la plateforme afin que la souris puisse analyser son environnement et utiliser les indices à sa disposition pour s'orienter dans l'espace. Chaque bloc de 3 essais est séparé d'environ 30 minutes et tous les 3 blocs, les souris étaient amenées à se reposer dans leurs cages pendant deux heures. Les données récoltées sont le temps passé et la distance parcourue pour aller à la plateforme, la vitesse de nage, ainsi que le temps et la distance parcourue en périphérie.

Rétention : 10 jours après la tâche d'apprentissage, chaque souris a effectué 1 essai unique de 60s. Pour cet essai, la plateforme a été retirée de la piscine afin d'étudier le comportement de recherche des souris. Les souris ont été sacrifiées 90 min après leur essai. Les données récoltées sont le temps passé et la distance parcourue pour retrouver l'emplacement initial de la plateforme, la vitesse de nage, le nombre de crossings sur l'emplacement initial de la plateforme, ainsi que le temps passé et la distance parcourue en périphérie.

5. La perfusion, prélèvements et fixation des tissus

Les animaux ont été anesthésiés grâce à un mélange kétamine (40mg/kg : Imagen 1000) / xylasine (4 mg/kg : Rampun 0.2%) / NaCl (0.9%). Les souris ont été perfusées par voie intracardiaque avec 20mL de solution saline suivi de 20mL de paraformaldéhyde (PFA) 4%. Les cerveaux ont été collectés et placés dans des bains successifs de PFA 4% pendant 24h à 4°C puis dans un mélange de sucrose 30% / PBS1X à 4°C pendant 24 à 48h, avant d'être inclus et congelés dans du tissus technologique (optimal cutting temperature compound). Les échantillons ont été stockés à -80°C jusqu'à leur utilisation. Des coupes transversales du gyrus denté dorsal (-1.06 mm to -1.82mm bregma, figure 33), d'une épaisseur de 10µm, ont été effectuées au cryostat (Microm HMSSO).

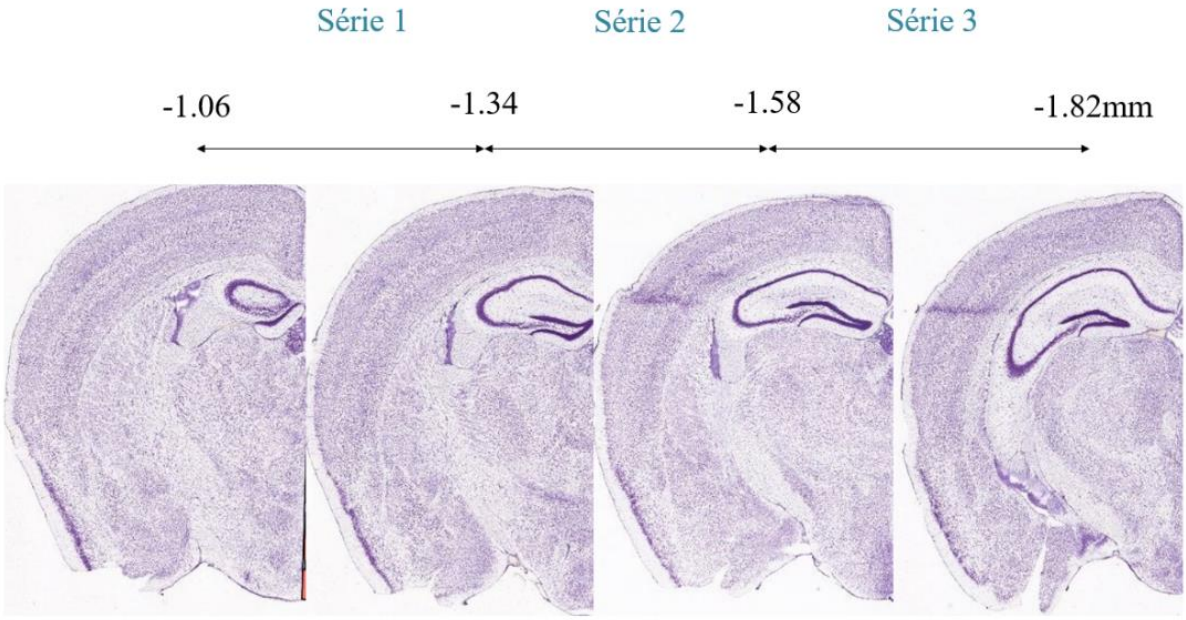


Figure 33. **La description des séries.** Régions anatomiques du cerveau de souris sélectionnées pour réaliser la Série 1 : -1.06mm à -1.34 mm ; Série 2 : -1.34mm à -1.58mm, Série 3 : -1.58mm à -1.82mm d'après l'atlas mouse Brain, Bregma. Les images utilisées pour illustrer les coupes coronales du cerveau de souris âgée de 56 jours colorée par la méthode de coloration de Nissl, proviennent du site en ligne http://atlas.brain-map.org/.

6. Le protocole d'immunohistofluorescence

Pour chaque condition, 12 coupes transversales de 10µm espacées de 50µm ont été utilisées pour étudier la densité ou le pourcentage en cellules DCX^+, $BrdU^+/NeuN^+$, $BrdU^+/NeuN^-$, $BrdU^+/GFAP^+$ et $BrdU^+/GFAP^-$ au sein de la CG du GDD.

Les coupes ont été réhydratées dans un bain de TBS 0.1M pendant 10 min, puis elles ont été incubées dans une solution de formamide (Sigma Aldrich 47670) / 50% SSC2X (Gibco 15557) pendant 2h30 à 69°C. Les coupes ont ensuite été plongées dans un bain d'acide chlorhydrique 1N pendant 45 min à 37°C. Après trois bains de 10 min dans du Triton 0.1%/ PBS 1X, une solution de saturation (BBI Labs E17-100) a été appliquée sur chaque coupe pendant 30 min. Elles ont ensuite été incubées dans un mélange d'anticorps primaires adaptés (tableau 6) dilués dans un mélange Triton 0.1%/ PBS 1X, toute la nuit à 4°C. Le lendemain, les lames sont rincées trois fois pendant 10 min avec du PBS 1X/Triton 0.1%, avant d'être incubées avec les anticorps secondaires adaptés (tableau 6) dilués dans un mélange Triton 0.1%/ PBS 1X, pendant 2h à température ambiante. Les tissus ont été rincés trois fois 10 min dans du Triton 0.1%/ PBS 1X puis deux fois 5 min dans du PBS 1X. Le montage des lames a été réalisé avec du Vectashield contenant du DAPI (Vector, H-1200).

Anticorps primaires				Anticorps secondaires			
Espèce	Cible	Concentration	Référence	Espèce	Alexa fluor	Concentration	Référence
Mouton	BrdU	1/50	pb9791; Abnova VWR	Singe anti-mouton	594	1/200	A11016; Millipore
Lapin	DCX	1/1000	ab18723; Abcam	Chèvre anti-lapin	488	1/200	A11034; Millipore
Souris	NeuN	1/1000	MAB377; Millipore	Chèvre anti-souris	647	1/200	A21236; Millipore
Lapin	GFAP	1/500	ZO334; Millipore	Chèvre anti-lapin	488	1/200	A11034; Millipore

Tableau 6. **Liste des anticorps primaires et secondaires utilisés en immunohistochimie.**

7. La quantification des cellules

Dans chaque étude, le nombre de cellules marquées a été quantifié manuellement au sein de la couche granulaire du gyrus denté dorsal des deux hémisphères sur 12 coupes de 10µm par animal, espacées de 50µm entre -1.06mm to -1.82mm (Bregma). Les cellules $BrdU^+$, DCX^+, $NeuN^+$ et $GFAP^+$ ont été comptées manuellement (X40) à l'aide d'un microscope à fluorescence (BX60) couplé à un logiciel d'analyse d'images (Mercator Pro; Explora Nova). Pour quantifier les cellules $NeuN^+$ (fluorochrome ʎ = 647), nous avons eu recours à la microscopie confocale à balayage laser (LSM 780 NLO, Carl Zeiss MicroImaging).

Pour obtenir une densité cellulaire, la surface de la couche granulaire ainsi que la surface totale du gyrus denté dorsal ont été délimitées manuellement en utilisant le logiciel d'analyse d'images (X10 ; Mercator Pro; Explora Nova). La quantification des cellules $BrdU^+$, DCX^+ et $NeuN^+$ a été réalisée sur des lames différentes que celles utilisées pour la quantification des cellules $BrdU^+/GFAP^+$. La densité a été calculée en rapportant le nombre de cellules positives aux marqueurs d'intérêt à la surface du champ étudié. Pour les études du pourcentage en cellules $BrdU^+/NeuN^+$ et $BrdU^+/GFAP^+$, environ 400 cellules ont été comptées pour chaque groupe.

8. Les analyses statistiques

8.1. L'analyse des données pour l'étude de l'apprentissage

La normalité des données a été vérifiée par la méthode du Quantile-Quantile plot (Q-Q plot) avant d'appliquer les différentes ANOVA (figures annexes 4 à 8). Une ANOVA à un facteur (dose ou modèle) ou à deux facteurs (dose, modèle et interaction entre les deux) à mesures répétées (bloc) a été effectuée sur les données récoltées lors de l'apprentissage pour faire des comparaisons intra et intergroupes. Lorsque l'ANOVA était significative, un test de Student a été appliqué pour effectuer des comparaisons intergroupes. Pour ce test, la p value ajustée par la méthode « FDR » pour False Discovery Right a été choisie comme référence. Cet ajustement permet de rejeter les p-values significatives ($p < 0.05$) induits lorsque des tests de comparaison multiples sont utilisés. En d'autres termes, plus le nombre de test est important, plus la probabilité d'avoir des fausses p-values significatives augmente. Ces analyses ont été réalisées avec le logiciel R (version 3.4.4, R Core Team, Boston, MA, USA).

8.2. L'analyse des données pour l'étude de la mémoire spatiale à long-terme

Pour étudier la mémoire spatiale à long-terme, la donnée obtenue par l'essai de chaque souris lors de la rétention a été moyennée par condition d'exposition. Un « One simple t-test » (paramètre : 25%) a été appliqué pour comparer les données de chaque groupe au niveau de chance. En effet, la valeur fixée à 25% correspond au « niveau de chance / hasard » : la piscine étant divisée en quatre quadrants identiques, la probabilité pour que la souris se trouve dans un des quadrants à un instant t, si elle n'a pas appris l'emplacement de la plateforme ou si elle ne se souvient pas de l'emplacement de celle-ci, est de 25%. Les résultats obtenus par les CTL et les autres groupes expérimentaux ont été comparés en utilisant un t-test lorsque les données étaient distribuées selon la loi normale, sinon un Mann-Whitney a été appliqué. L'ensemble de ces tests a été réalisé sur Sigma Plot® (version 11, Systat Software, Inc.,Erkrath, Germany).

8.3. La quantification des cellules

L'ensemble des données récoltées en immunohistochimie a été soumis à un test appelé « équation d'estimation généralisée ». Ce test est basé sur l'hypothèse que les données provenant d'un même sujet sont dépendantes entre elles mais que les données entre des animaux différents sont indépendantes. Il prend donc en compte la dépendance des données existantes au sein d'une même coupe ou des lames provenant d'un même animal. Pour comparer les différences de pourcentage de cellules $BrdU^+/NeuN^+$ et $BrdU^+/GFAP^+$ entre nos groupes, un Two-proportion Z-test a été effectué. Ces tests statistiques ont été réalisés avec le logiciel R (version 3.4.4, R Core Team, Boston, MA, USA).

L'ensemble de résultats est présenté sous la forme de moyennes ± écart type de la moyenne (SEM). Le seuil de significativité a été fixé à 0.05 pour l'ensemble des tests statistiques.

Résultats

I. L'étude de l'apprentissage et de la mémoire spatiale à long-terme chez l'adulte dans nos deux modèles d'étude, irradiés au stade postnatal à des doses faibles à modérées de RX

Pour étudier les effets de l'exposition du cerveau entier (CV) ou localisée du gyrus denté dorsal (GDD) à différentes doses de RX, sur l'apprentissage spatial, trois mois post-IR, nous avons utilisé un protocole massé en piscine de Morris. L'apprentissage s'est déroulé sur une seule journée où chaque souris a effectué 9 blocs de 3 essais consécutifs. Pour rappel, les paramètres choisis pour étudier l'apprentissage sont :

- La distance totale parcourue à la recherche de la plateforme
- Le temps passé à la recherche de la plateforme (figures annexes 1 et 2)
- La vitesse de nage
- La distance et le temps passés en périphérie

Par souci de clarté, seuls les résultats nécessaires à la compréhension seront signifiés dans le texte. Les résultats complets des analyses statistiques seront présentés dans différents tableaux présents en annexes (tableaux annexes 1 à 8).

1. L'exposition du CV ou du GDD n'altère pas l'apprentissage spatial chez l'adulte

Pour tous les groupes étudiés individuellement, la distance parcourue et le temps pour atteindre la plateforme diminuent significativement au cours des différents essais. La vitesse de nage de tous nos groupes diminue significativement au cours des essais, sauf pour les animaux irradiés en cerveau entier à la dose de 2 Gy où celle-ci semble être constante au cours des blocs (CV 2 Gy : $p = 0.07$, ns). Le détail des analyses statistiques réalisées pour chaque condition expérimentale est disponible dans le tableau annexe 1. Cette première analyse démontre que les animaux de chaque groupe expérimental ont bien appris l'emplacement de la plateforme.

1.1. L'effet du modèle sur l'apprentissage spatial

Pour étudier l'effet du modèle, nous avons comparé les performances d'apprentissage des trois groupes expérimentaux (CTL / CV / GDD) pour une dose donnée (figures 34 et 35).

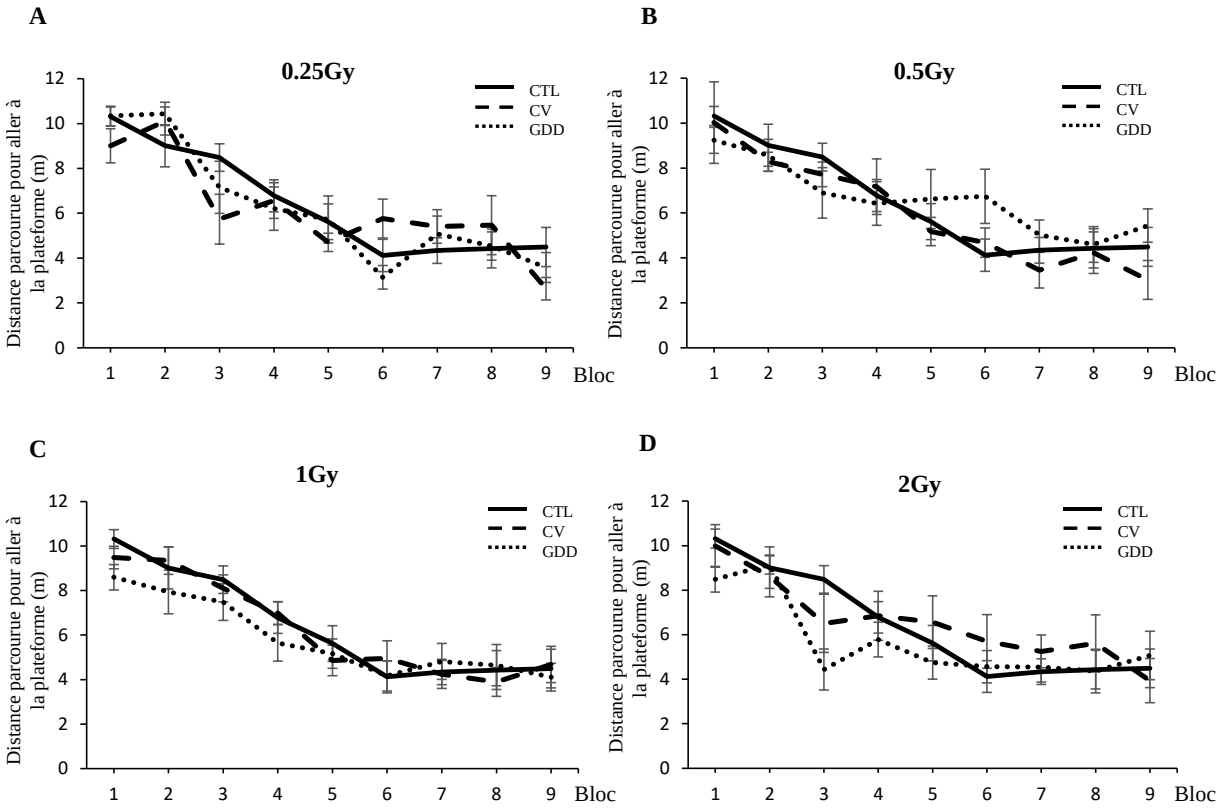


Figure 34. **Les performances d'apprentissage spatial en protocole massé, testé 3 mois après l'exposition du CV ou du GDD à des doses faibles à modérées de RX**. Ces graphiques présentent la distance parcourue pour aller à la plateforme en fonction des différents blocs réalisés sur une même journée (1 bloc = 3 essais consécutifs) pour les doses respectives de (A) 0.25, (B) de 0.5, (C) de 1 et (D) de 2 Gy. Les résultats sont présentés en moyenne ± SEM, CTL n = 16, CV n = 8 à 12 et GDD n = 8 à 11.

Cette analyse nous permet de savoir si l'exposition à une même dose, du CV ou du GDD seulement, influence de la même manière l'apprentissage en Piscine de Morris. La comparaison de nos modèles par une ANOVA à mesures répétées à un facteur (modèle) pour chaque dose utilisée n'a révélé aucun effet du modèle sur la distance parcourue et le temps passé à la recherche de la plateforme (tableau annexe 2). Ainsi, pour une dose donnée testée ici, que le cerveau soit irradié en entier ou juste localement au niveau du GDD, n'a pas d'influence sur l'apprentissage des souris.

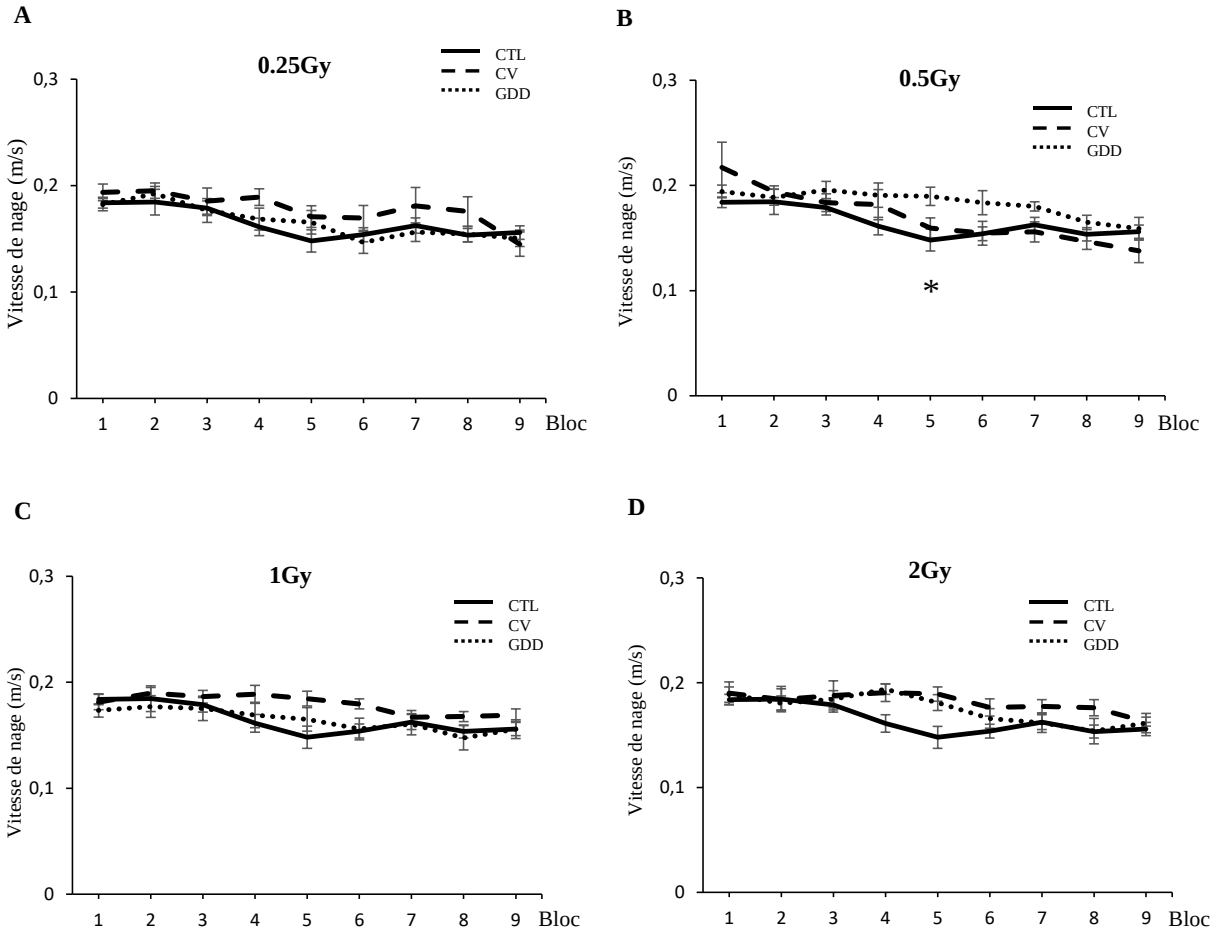


Figure 35. **La vitesse de nage lors de l'apprentissage spatial en protocole massé, testé 3 mois après l'exposition du CV ou du GDD à des doses faibles à modérées de RX.** Ces graphiques présentent la vitesse de nage des animaux au cours des différents blocs réalisés sur une même journée (1 bloc = 3 essais consécutifs) pour les doses respectives de 0.25, 0.5, 1 et 2 Gy. Les résultats sont présentés en moyenne ± SEM, CTL n = 16, CV n = 8 à 12 et GDD n = 8 à 11.

Dans mes analyses, il est intéressant de noter que pour la vitesse de nage, un effet significatif du modèle est observé pour la dose de 0.5 Gy ($p = 0.030$). Le test de Student a mis en évidence une différence significative de la vitesse de nage des souris GDD 0.5 Gy au bloc 5 montrant que ces dernières nagent significativement plus vite à ce bloc que les animaux CTL. Cette différence de vitesse de nage étant mesurée à un seul bloc, nous pouvons conclure que globalement, les GDD 0.5 Gy ont un profil de vitesse de nage similaire à celui des CTL. Pour tous les autres groupes, l'évolution globale de la vitesse de nage des animaux irradiés est similaire à celle des animaux CTL. Nous pouvons conclure que l'irradiation n'a aucun effet sur les performances motrices des souris observées dans nos conditions expérimentales.

1.2. L'effet de la dose sur l'apprentissage spatial

Afin d'étudier l'effet de la dose chez nos deux modèles, nous avons comparé de manière distincte, la courbe d'apprentissage des contrôles et les courbes d'apprentissage des animaux irradié en CV entier à toutes les doses testées. La même démarche a été appliquée pour étudier l'effet de la dose sur l'apprentissage spatial après une irradiation localisée du GDD. L'ANOVA à mesures répétées à un facteur (dose) n'a révélé aucun effet de la dose sur le modèle d'irradiation du CV entier ou localisé du GDD pour les paramètres : distance parcourue et temps passé à la recherche de la plateforme (tableau annexe 3). Les performances d'apprentissage ne sont pas influencées par la dose de 0.25, 0.5, 1 ou 2 Gy, quel que soit le modèle d'irradiation. Toutefois, nous pouvons noter les excellentes performances obtenues par les souris irradiées localement à la dose de 2 Gy au cours des 3 premiers blocs qui ne sont pas retrouvées aux autres doses plus faibles testées (figure 36).

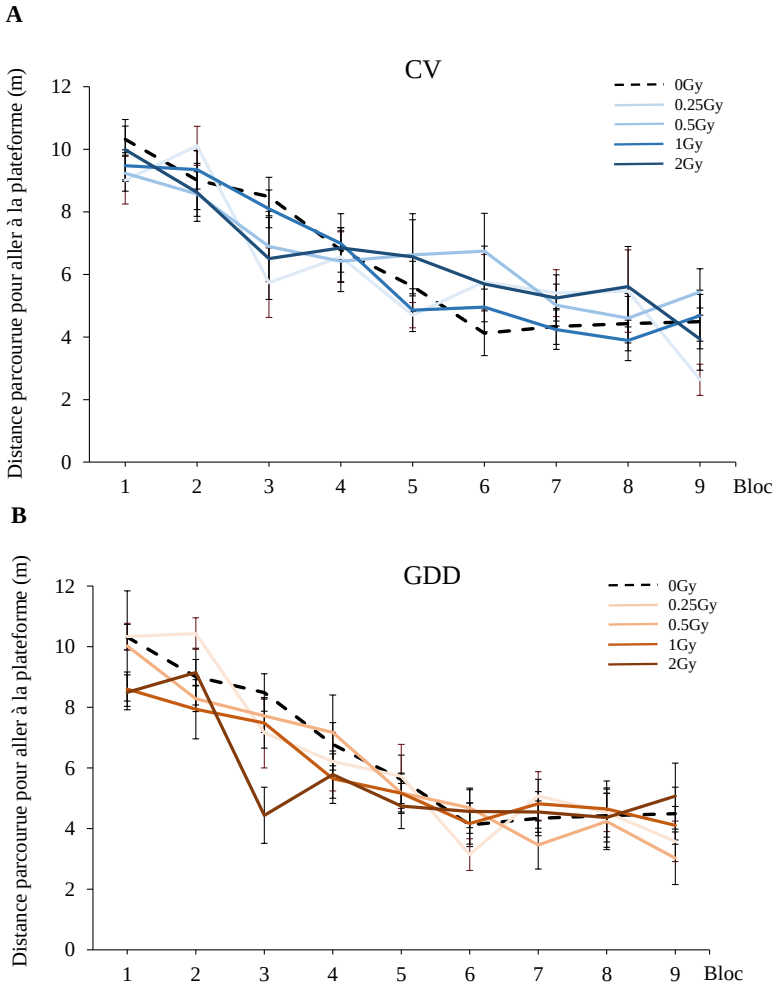


Figure 36. **L'étude de l'effet de la dose sur la distance parcourue pour aller à la plateforme lors de l'apprentissage.** Ces représentations permettent de visualiser la distance parcourue

pour aller à la plateforme en fonction des blocs, à différentes doses d'irradiation appliquées sur (A) le CV et (B) le GDD.

Dans le modèle d'exposition en CV entier, la dose reçue influence significativement la vitesse de nage ($p = 0.006$). Cet effet est ponctuellement observé entre la dose de 0 et 1 Gy ($p = 0.032$) et 0 et 2 Gy ($p = 0.032$) au bloc 5 (Test du Student, figure 37). Pour ces cas cités, les souris irradiées nagent significativement plus vite que les CTL. Pour le modèle d'irradiation localisée, aucun effet significatif de la dose n'a été mis en évidence pour ce paramètre. L'ensemble des résultats statistiques est présenté dans le tableau annexe 3.

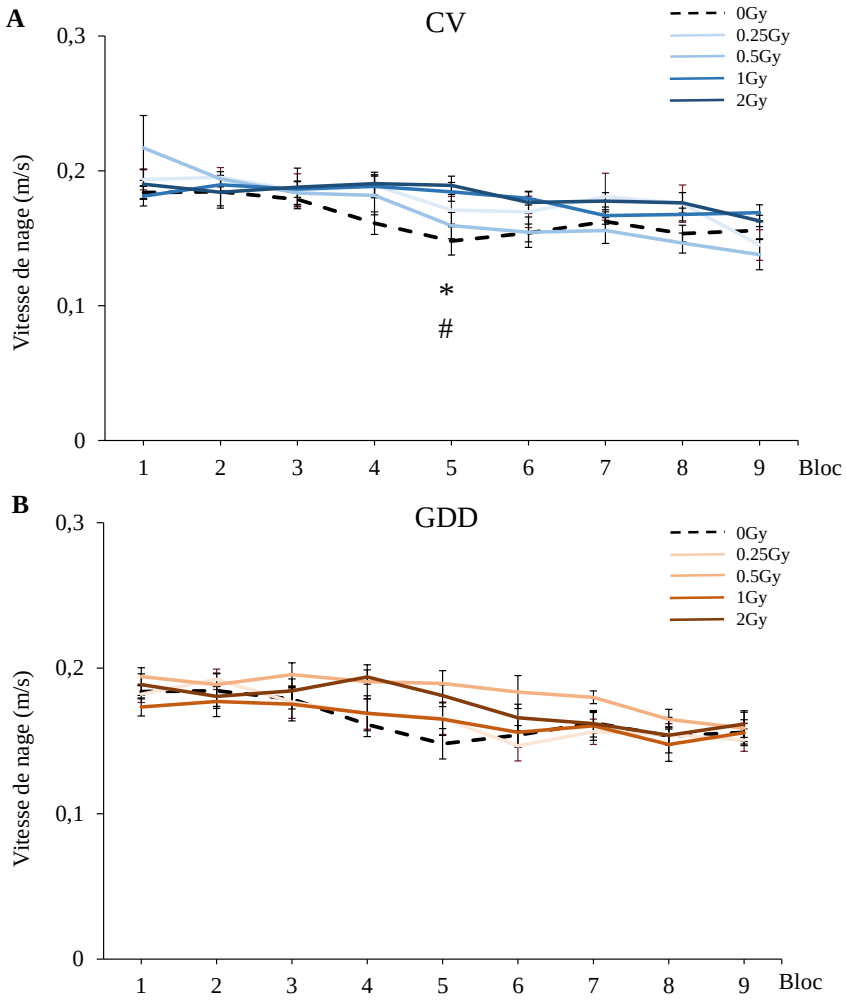


Figure 37. **L'étude de l'effet de la dose sur la vitesse de nage lors de l'apprentissage**. Ces représentations permettent de visualiser la vitesse de nage pour aller à la plateforme en fonction de la dose appliquée sur (A) le CV et (B) le GDD. * CTL vs 1 Gy et # CTL vs 2 Gy, Student t-test.

1.3. L'interaction du modèle et de la dose n'influence pas l'apprentissage spatial

Afin d'étudier l'interaction ou l'influence simultanée du modèle et de la dose sur nos différents paramètres, nous avons fait le choix de sélectionner aléatoirement, parmi les 16 animaux CTL, 8 animaux pour devenir les contrôles du modèle CV et les 8 autres comme CTL du modèle localisé. L'effet de la dose et du modèle a été réévalué avec ce nouveau jeu de données. Pour éviter les biais, nous avons vérifié que la variabilité interindividuelle n'était pas trop importante et nous avons réalisé le test statistique trois fois en sélectionnant aléatoirement un nouveau jeu de données pour les contrôles des modèles. Le test utilisé est une ANOVA à mesures répétées à deux facteurs (dose, modèle). Cette analyse a révélé un effet significatif de la dose sur le temps et la vitesse ($p < 0.05$) mais pas sur la distance parcourue. Ce résultat signifie que lorsqu'on prend en compte tous les groupes ensemble, la dose utilisée a un effet sur ces deux paramètres. Aucun effet significatif du modèle n'a été mis en évidence, ce qui signifie que l'apprentissage n'est pas influencé par le fait d'irradier soit entièrement soit localement le cerveau. Enfin, il n'y a aucun effet significatif de l'interaction modèle*dose sur les trois paramètres (tableau annexe 4).

1.4. L'étude de la thigmotaxie

La distance parcourue ou le temps passé en périphérie de la piscine par les animaux CTL et irradiés diminuent significativement au cours de l'apprentissage (figure 38, tableau annexe 1). Aucun effet significatif du modèle ou de la dose ou de l'interaction modèle*dose, n'a été mis en évidence pour les deux paramètres permettant d'étudier la thigmotaxie (tableau annexe 2, 3 et 4).

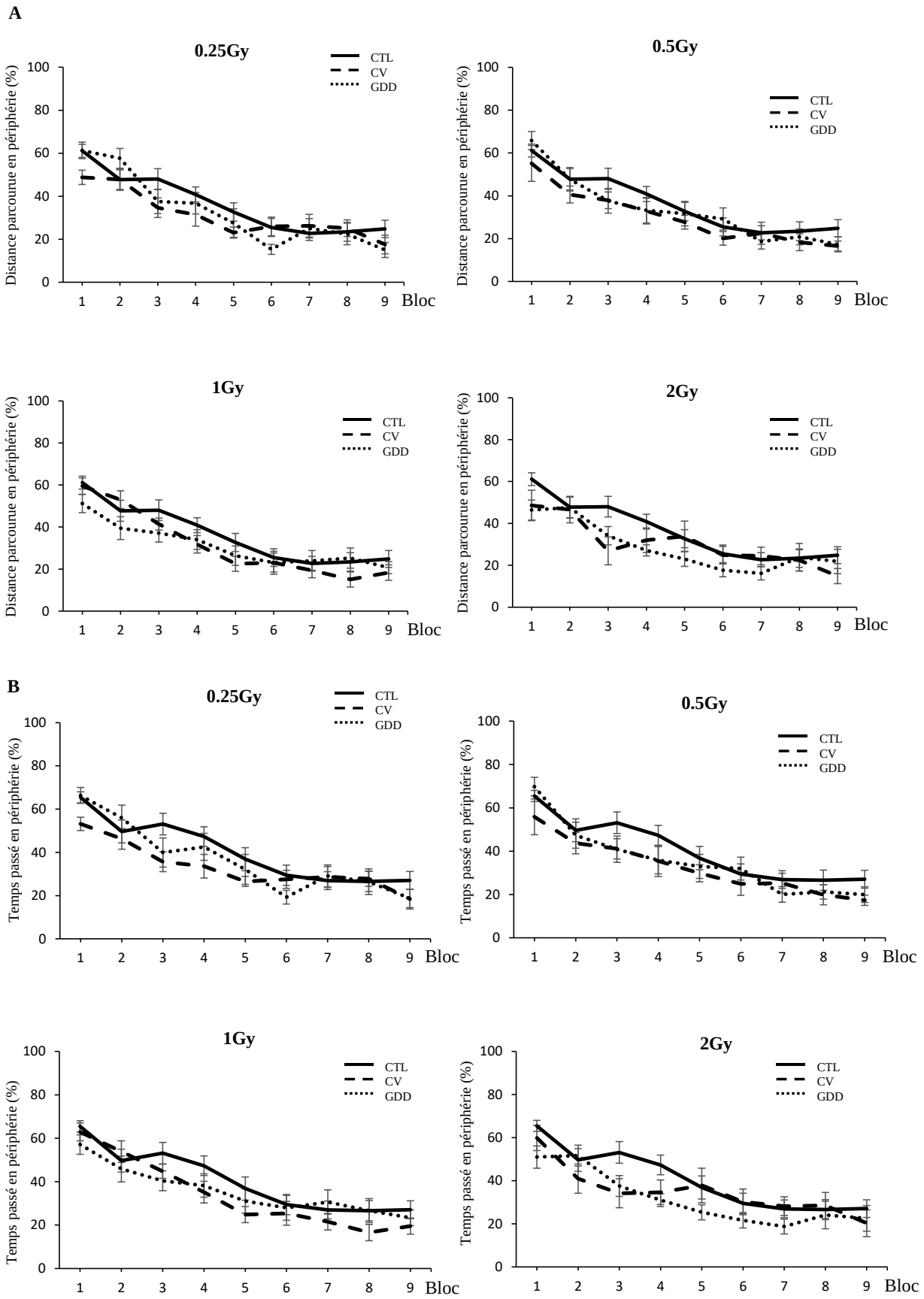


Figure 38. **L'étude de la thigmotaxie lors de l'apprentissage spatial en protocole massé, 3 mois après l'exposition du CV ou du GDD à des doses faibles à modérées de RX.** Ces

graphiques présentent (A) le pourcentage de distance parcourue et (B) le pourcentage de temps passé en périphérie en fonction des différents blocs, par nos deux modèles irradiés, pour chaque dose. Les résultats sont présentés en moyenne ± SEM, CTL : n = 16, CV : n = 8 à 12 et GDD : n = 8 à 11.

2. L'exposition localisée du GDD à la dose de 1 Gy altère la MSLT chez l'adulte

Pour chacun des groupes expérimentaux, la mémoire spatiale à long-terme a été testée10 jours après la tâche d'apprentissage. Pour rappel, la plateforme a été retirée de la piscine pour étudier le comportement de recherche des souris pendant la durée totale de l'essai (60 sec). Pour nos analyses, nous avons exprimé les résultats en% de distance parcourue dans les différents quadrants. Pour rappel, le niveau de chance correspond à un quart de la distance totale parcourue en moyenne dans le quadrant cible, soit 25%.

Dans nos conditions de test, les animaux contrôles ont parcouru une distance dans le quadrant cible significativement supérieure au niveau de chance (figure 39). Ce résultat démontre que, dans nos conditions particulièrement difficiles d'apprentissage, les contrôles ont bien retenu l'emplacement de la plateforme (moyenne : 42.62% ; $p < 0.001$).

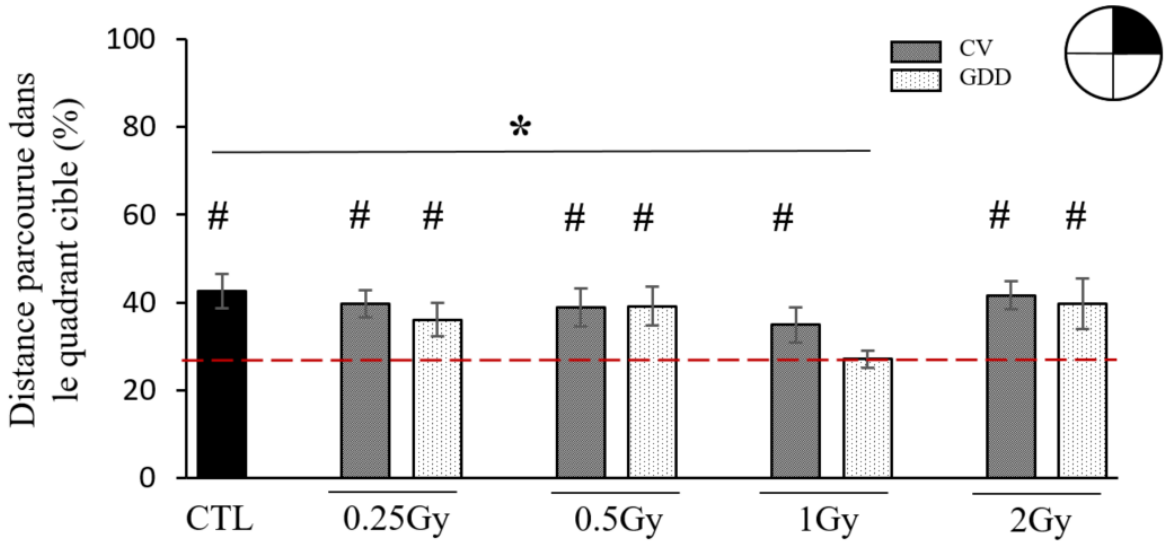


Figure 39. **L'étude de la restitution de la mémoire spatiale, testée 10 jours après l'apprentissage, soit 3 mois et 10 jours après l'irradiation**. Pourcentage de distance parcourue dans le quadrant cible pour toutes nos conditions expérimentales. Les résultats sont présentés en moyenne ± SEM, CTL n = 16, CV n = 8 à 12 et GDD n = 8 à 11. Le niveau de chance est matérialisé par la ligne rouge. # $p < 0.05$, One simple t-test (25%) ; * $p < 0.05$, Mann-Whitney.

Les animaux irradiés CV et GDD aux doses de 0.25 Gy et 0.5 Gy, ont eux aussi, parcouru une distance dans le quadrant cible significativement supérieure au niveau de chance. De plus, il n'y a aucune différence significative entre le groupe CTL et chaque groupe, en comparaison 2 à 2 (tableau annexe 5 A). Ainsi, l'exposition du CV ou juste du GDD aux doses de 0.25 et 0.5 Gy ne révèle pas d'altération de la mémoire spatiale à long-terme (MSLT) dans nos conditions. Par contre, les animaux exposés localement à la dose de 1 Gy ont parcouru une distance dans le quadrant cible qui est similaire à une population qui n'aurait pas appris ou ne se souviendrait plus de l'emplacement de la plateforme. En effet, les GGD 1 Gy n'ont pas parcouru une distance significativement supérieure au niveau de chance, ils n'ont pas retenu l'emplacement de la plateforme (moyenne = 27.10% ; p = 0.345, ns). De plus, les résultats obtenus en moyenne par les GDD 1 Gy sont significativement différents de ceux obtenus par les CTL (p = 0.005). Cependant, ils ne sont pas significativement différents de ceux obtenus par les CV 1 Gy (p = 0.118, ns). Les souris irradiées en CV entier à la dose de 1 Gy ont, quant à elles, bien retenu l'emplacement de la plateforme (moyenne = 34.93% ; p = 0.036) et ont des résultats similaires à ceux des souris CTL (p = 0.275). Ces résultats mettent en lumière un effet du modèle sur la restitution de la mémoire spatiale à long-terme : c'est seulement l'irradiation du GDD à la dose de 1 Gy qui altère cette fonction mnésique. Enfin, les animaux irradiés à la dose la plus forte de 2 Gy ont parcouru une distance significativement supérieure au niveau de chance (CV 2 Gy p = 0.001 et GDD 2 Gy p = 0.047) et leurs résultats respectifs ne sont pas significativement différents de ceux obtenus par les CTL (CV 2 Gy p=0.997, ns ; GDD 2 Gy p=0.687, ns). Ces deux groupes ont bien retenu la position de la plateforme. En effet, en moyenne les animaux ont de très bonnes performances, ils parcourent presque 41% de la distance totale dans le quadrant cible. Cependant, il est important de noter que le seuil de significativité tout juste passé par GDD 2 Gy peut être dû à une forte variabilité interindividuelle. En effet, l'écart type sur la moyenne (SEM) de ce groupe est quasiment deux fois plus grand que celui de tous les autres groupes. L'ensemble des résultats statistiques est disponible dans le tableau annexe 5 A. Finalement, au sein du modèle GDD, la dose de 1 Gy altère la mémoire spatiale à long-terme ce qui n'est pas le cas d'une dose plus forte de 2 Gy et des doses plus faibles testées. Ces résultats soulignent un effet de la dose sur la mémoire spatiale à long-terme dans le modèle d'irradiation localisée du GDD. Nous avons ainsi mis en évidence que la relation dose (0-2 Gy) - réponse (MSLT) dans ce modèle n'est pas linéaire.

Afin d'affiner cette étude, nous avons analysé la distance parcourue en pourcentage dans le disque cible, pour chacun des groupes expérimentaux (figure 40 et tableau annexe 5 B). Le disque cible correspond à une zone plus restreinte que le quadrant cible et cette surface est comparée à la distance parcourue dans les autres disques.

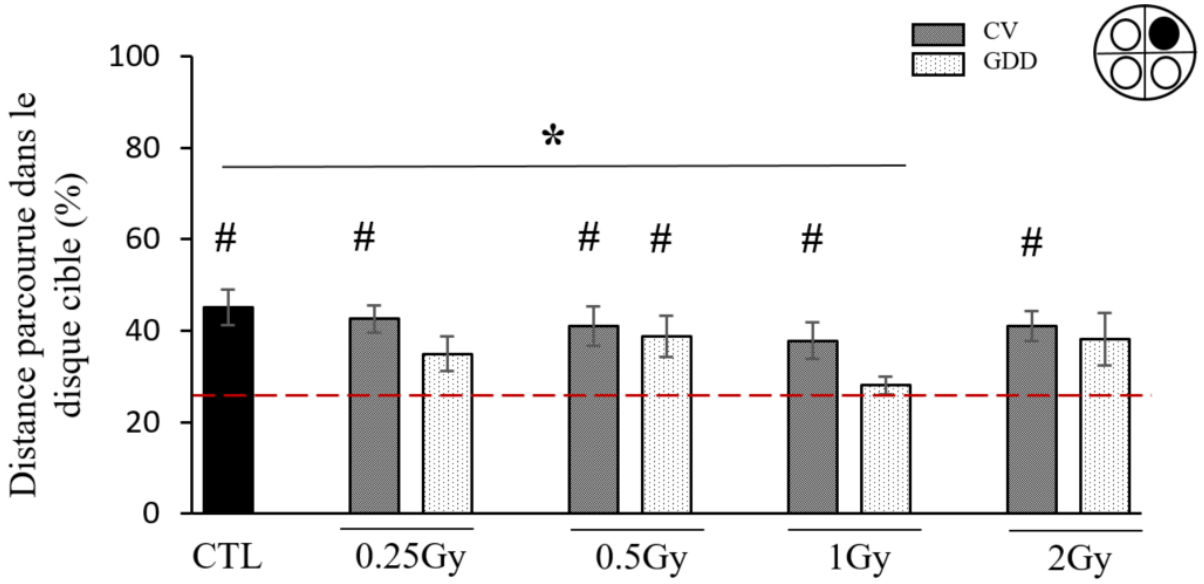


Figure 40. **L'étude du pourcentage de distance parcourue dans le disque cible (cercle noir) pour toutes nos conditions expérimentales.** Pourcentage de distance parcourue dans le disque cible pour toutes nos conditions expérimentales. Les résultats sont présentés en moyenne ± SEM, CTL n =16, CV n = 8 à 12 et GDD n = 8 à 11. Le niveau de chance est matérialisé par la ligne rouge. # $p < 0.05$, One simple t-test (25%) ; # $p < 0.05$, Mann-Whitney.

Seuls les groupes appartenant au modèle d'exposition localisée du GDD à la dose de 0.25 Gy ($p = 0.150$, ns), 1 Gy ($p = 0.294$, ns) et 2 Gy ($p = 0.122$, ns) ont parcouru une distance dans le disque cible inférieure à 25%. Cependant, les GDD 0.25 Gy et GDD 2 Gy ont de bonnes performances en moyenne (respectivement, 34.95% et 39.06%), contrairement au GGD 1 Gy dont les performances moyennes sont proches du niveau de chance (moyenne = 28.01%) et leurs résultats ne sont pas significativement différents de ceux obtenus par les CTL ($p_{CTL/GDD0.25\,Gy} = 0.251$, ns et $p_{CTL/GDD2Gy} = 0.456$, ns) ou par le modèle CV irradié à la même dose (0.25 Gy : $p_{CV/GDD} = 0.301$, ns ; 2 Gy : $p_{CV/GDD} = 0.767$, ns). De plus, seuls les résultats obtenus par les GDD 1 Gy sont significativement différents de ceux obtenus par les CTL ($p = 0.022$). Enfin, les résultats obtenus par les CV 1 Gy ne sont pas significativement différents de ceux obtenus par les GDD 1 Gy ($p = 0.125$, ns). Ces deux comparaisons révèlent un effet du modèle sur la mémoire spatiale à long-terme. Toutefois, il n'y pas de différence significative entre nos deux

modèles irradiés à 1 Gy. Ce résultat peut être expliqué par le résultat obtenu par les animaux irradiés en CV entier : bien qu'ils aient en moyenne une bonne performance (37.74%), elle reste moins bonne que celle obtenue par les CTL (45.17%).

Finalement, cette seconde analyse de la restitution mnésique, bien qu'elle confirme évidemment l'altération de la mémoire spatiale des GDD 1 Gy, suggère également une diminution de la performance mnésique des GDD 0.25 Gy et GDD 2 Gy à géo-localiser plus finement la plateforme ou qu'ils ont une stratégie de recherche différente. Pour tous les autres groupes, la distance parcourue dans le disque cible est significativement supérieure au niveau de chance. De plus, la distance parcourue dans le disque cible n'est pas significativement différente de celle parcourue par les animaux CTL. En outre, la comparaison des deux modèles irradiés à la même dose n'a révélé aucune différence significative. L'exposition du CV aux doses de 0.25, 0.5, 1 et 2 Gy n'altère pas la précision spatiale.

Enfin, dans une dernière analyse de ce test de restitution de la mémoire, nous avons également analysé le nombre de fois où les souris sont passées sur l'emplacement de la plateforme.

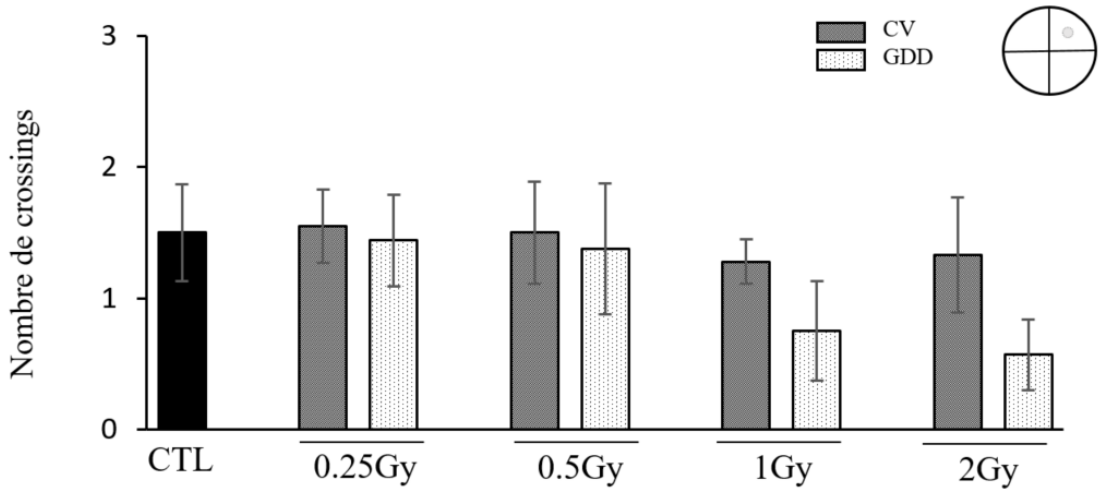


Figure 41. **L'étude du nombre de crossings lors de la rétention, testée 3 mois et 10 jours après l'exposition**. Ce graphique présente le nombre moyen de fois où les souris sont passées sur la position spatiale de la plateforme, pour toutes nos conditions expérimentales. Les résultats sont présentés en moyenne ± SEM, CTL n = 16, CV n = 8 à 12 et GDD n = 8 à 11. # $p<0.05$, Mann-Whitney.

Pendant les 60sec du test, les animaux CTL sont passés en moyenne 1.5 fois sur la plateforme (figure 41 et tableau annexe 5 C). Le nombre de passages réalisé par les groupes irradiés n'est pas significativement différent de celui réalisé par les CTL. Tous les groupes sont passés au moins une fois sur l'emplacement de la plateforme sauf les GDD 1 Gy (moyenne = 0.82 ; p = 0.128) et les GDD 2 Gy (moyenne = 0.50 ; p = 0.055). Bien que non significative, cette très faible moyenne en comparaison des CTL, pourrait suggérer que l'exposition localisée du GDD à 2 Gy impacte la capacité des souris à géo-localiser avec précision l'emplacement de la plateforme. Ceci reste à confirmer. Les comparaisons entre modèles n'ont pas révélé de différences significatives, et les résultats sont disponibles dans le tableau annexe 5.

En conclusion, nous avons démontré que :

- L'irradiation postnatale du CV entier et localisée du GDD à toutes les doses testées, n'induit pas d'altération de l'apprentissage.
- La restitution de la mémoire spatiale à long-terme (MSLT) n'est pas altérée chez les animaux irradiés aux de doses de 0.25, 0.5 et 2 Gy, quel que soit le modèle.
- Seule l'irradiation localisée du GGD à la dose de 1 Gy altère la MSLT chez l'adulte. L'altération de ce type de mémoire n'est pas retrouvée à la suite de l'irradiation du cerveau entier à la même dose.
- La capacité à géo-localiser la plateforme avec précision semble être altérée chez les GGD 2 Gy.
- D'après nos résultats, dans le cas d'une exposition localisée la relation dose (≤ 2 Gy) – réponse (MSLT) n'est pas linéaire.

Dans la suite de mon travail, afin de comprendre la différence de mémoire spatiale entre nos modèles pourtant exposés à la même dose de 1 Gy au niveau du GDD, **nous avons choisi d'étudier pour cette dose, un des processus cellulaires impliqués dans mémoire spatiale à long-terme (MSLT) : la neurogenèse hippocampique adulte.**

II. L'irradiation du GDD à la dose de 1 Gy modifie le processus de neurogenèse

1. L'irradiation modifie la prolifération cellulaire dans nos deux modèles d'exposition, 2 mois et 10 jours après l'exposition

La prolifération cellulaire a été étudiée chez les animaux qui ont reçu les injections de BrdU 24h avant le sacrifice, 2 mois et 10 jours post-IR. La densité en cellules ayant incorporé la BrdU est calculée en comptant manuellement le nombre de cellules $BrdU^+$ au sein de la CG du GDD, dans nos deux conditions expérimentales. Comme présenté en figure 42, la densité en cellules $BrdU^+$ est significativement diminuée chez les animaux exposés en cerveau entier comparé à celle des animaux contrôles ($p_{CTL/CV} = 0.0292$). Par contre, elle est significativement augmentée à la suite d'une irradiation localisée du GDD comparée à celle des contrôles ($p_{CTL/GDD} = 0.0034$). Enfin, la densité en $BrdU^+$ est significativement différente entre nos deux modèles d'exposition ($p_{CV/GDD} < 0.0001$).

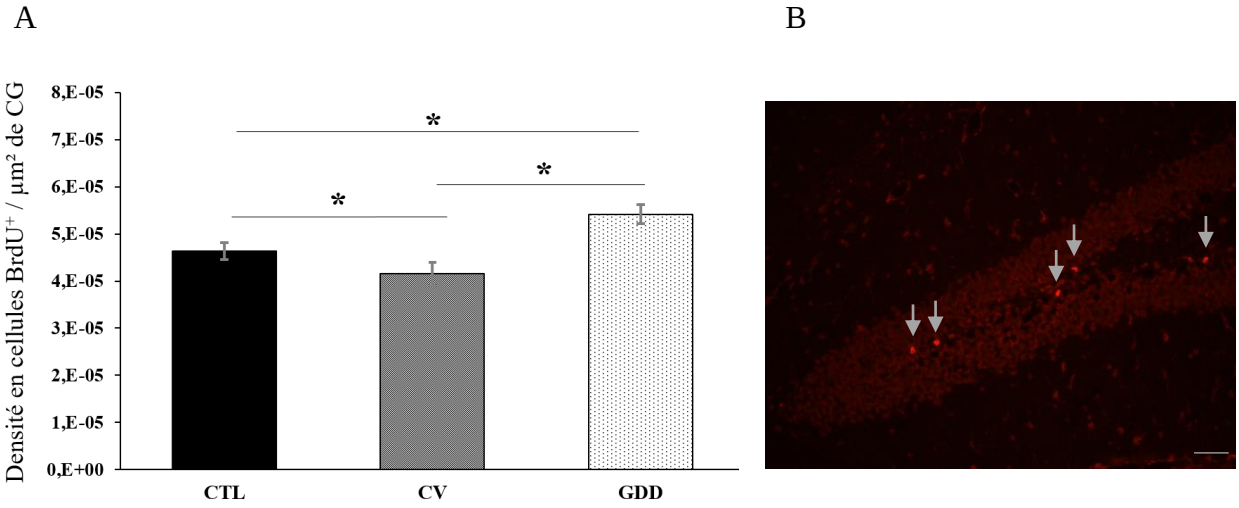


Figure 42. **L'étude de la prolifération cellulaire, 2 mois et 10 jours après l'exposition.** (A) Ce graphique représente le nombre de cellules $BrdU^+$ par µm² de couche granulaire pour les CTL : n = 6, les animaux exposés en CV entier : n = 6 et exposés localement sur le GDD : n = 6 à la dose de 1 Gy, 24h post-injection. Les résultats sont présentés en moyenne ± SEM. *p<0.05, équation d'estimation généralisée (eeg). (B) Photo représentative du marquage $BrdU^+$.

Les résultats obtenus démontrent qu'une exposition postnatale à la dose de 1 Gy induit des modifications du pool de cellules capables de proliférer environ deux mois après l'irradiation. Finalement, l'exposition localisée du GDD induit une augmentation de la densité

en cellules capables de proliférer en 24h, alors que l'exposition du cerveau dans son ensemble induit, quant à elle, une diminution de ces cellules au sein de la CG du GDD.

2. L'irradiation du cerveau entier ou localisée du GDD ne modifie pas la densité en neurones immatures, 3 mois et 10 jours après l'exposition

Nous avons ensuite étudié l'effet de l'irradiation pour la dose de 1 Gy sur la densité en neurones immatures au sein de la CG du GDD, 3 mois et 10 jours post-IR.

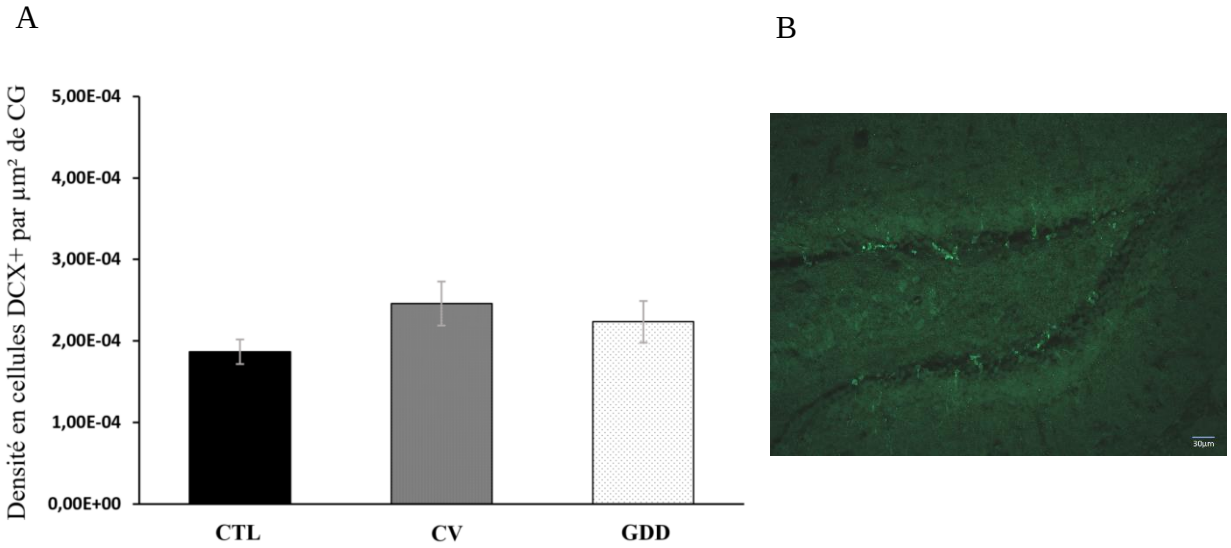


Figure 43. **L'étude de la densité en neurones immatures à la dose de 1 Gy, 3 mois et 10 jours après l'exposition.** (A) Ce graphique représente le nombre de cellules DCX^+ par µm² de couche granulaire pour les CTL : n = 6, les animaux exposés en CV entier : n = 6 et exposés localement sur le GDD : n = 6 à la dose de 1 Gy. Les résultats sont présentés en moyenne ± SEM. eeg (B) Photo représentative du marquage DCX^+.

Comme le montre la figure 43, la densité en cellules DCX^+ au sein de la couche granulaire n'est significativement pas différente entre les groupes contrôles et nos deux modèles d'irradiation ($p_{CTL/CV} = 0.12$, ns ; $p_{CTL/GDD} = 0.25$, ns). La comparaison de la densité en cellules DCX^+ entre nos deux modèles n'est pas significativement différente ($p_{CV/GDD} = 0.77$, ns). Ainsi, l'exposition postnatale à la dose de 1 Gy ne modifie pas la densité en neurones immatures au sein de la CG du DDG des animaux adultes.

3. L'irradiation du cerveau entier ou localisée du GDD ne modifie pas la densité en cellules BrdU+, 3 mois et 10 jours post-IR

Nous avons étudié l'effet de l'irradiation pour la dose de 1 Gy sur la densité en cellules $BrdU^+$ au sein de la CG du GDD, 3 mois et 10 jours post-IR. Le devenir cellulaire a été étudié chez les animaux ayant été injectés avec de la BrdU 4h semaines avant le sacrifice (figure 44) Nos analyses ne montrent aucune différence significative entre les densités en cellules $BrdU^+$ âgées de 4 semaines, obtenus dans nos deux modèles respectifs et les contrôles ($p_{CTL/CV} = 0.5$, ns ; $p_{CTL/GDD} = 0.53$, ns ; $p_{CV/GDD} = 0.22$, ns).

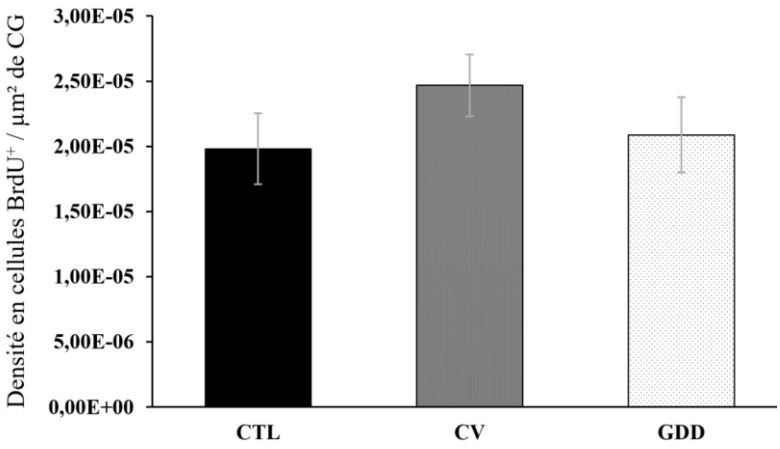


Figure 44. **L'étude de la densité en cellules $BrdU^+$, 3 mois et 10 jours après l'exposition**. Ce graphique représente le nombre de cellules $BrdU^+$ par µm² de couche granulaire pour les CTL : n = 6, les animaux exposés en CV entier : n = 6 et exposés localement sur le GDD : n = 6 à la dose de 1 Gy. Les résultats sont présentés en moyenne ± SEM, eeg.

4. Le pourcentage de nouveaux neurones matures est diminué à la suite d'une irradiation localisée du GDD, à la dose de 1 Gy

Nous avons étudié quantitativement l'effet de l'irradiation pour la dose de 1 Gy sur la proportion de nouveaux neurones créés au sein de la CG du GDD, dans nos deux modèles d'exposition, 3 mois et 10 jours post-IR. Pour cela, nous avons compté le nombre de cellules qui co-expriment le marqueur de maturité neuronal NeuN et le marqueur BrdU qui s'est intégré à la molécule d'ADN lors de la réplication, 4 semaines avant le sacrifice (figure 45).

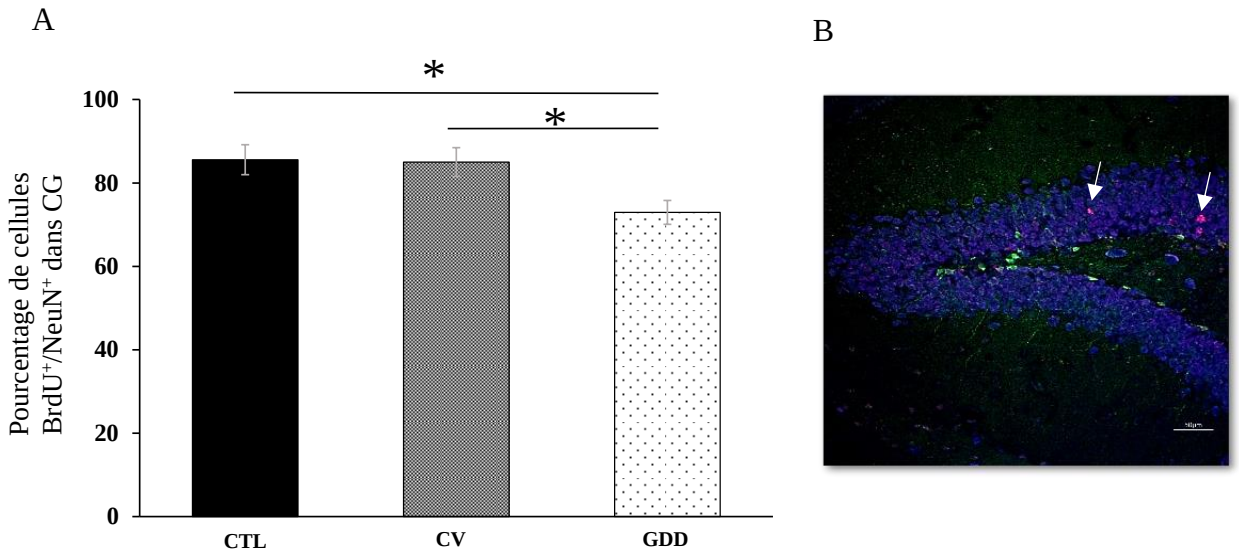


Figure 45. **L'étude du pourcentage de nouveaux neurones créés, 3 mois et 10 jours après l'exposition.** (A) Ce graphique représente le nombre de cellules $BrdU^+/NeuN^+$ par rapport aux cellules $BrdU^+$ au sein de la CG du GDD obtenu chez les animaux contrôles (CTL n = 6), les animaux exposés en cerveau entier (CV n = 6) ou exposés localement (GDD n = 6) à la dose de 1 Gy. Les résultats sont présentés en moyenne ± SEM. * $p<0.05$, Two-proportions Z-test. (B) Photo représentative du marquage $Brdu^+/NeuN^+$ en rose/violet-bleu (DCX en vert).

Le pourcentage de nouveaux neurones obtenus chez les animaux exposés en cerveau entier (moyenne $_{CV}$ = 85.01%) n'est pas significativement différent de celui obtenu chez les contrôles (moyenne $_{CTL}$ = 85.58%, $p_{CTL/CV} = 0.8242$, ns). En revanche, nous avons démontré que le pourcentage de nouveaux neurones matures est significativement diminué de 12.64% chez les animaux irradiés localement (moyenne $_{DGG}$ = 72.94%) comparé aux contrôles ($p_{CTL/GDD} = 0.0003$) et de 12.08% au modèle irradié en cerveau entier ($p_{CV/GDD} < 0.0001$).

5. Le pourcentage des astrocytes nouvellement créés est diminué à la suite d'une irradiation localisée du GDD par rapport à l'irradiation du CV entier

Selon la même démarche décrite précédemment, nous avons compté le nombre de cellules qui co-expriment le marqueur glial GFAP et le marqueur BrdU qui s'est intégré à la molécule d'ADN lors de la réplication, 4 semaines avant le sacrifice (figure 46).

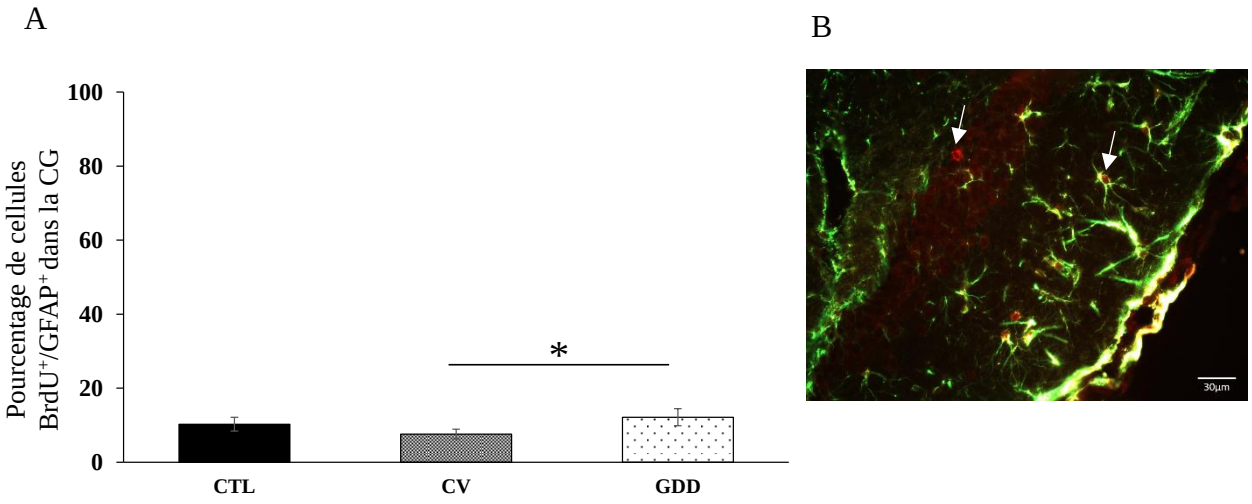


Figure 46. **L'étude du pourcentage de nouveaux astrocytes créés, 3 mois et 10 jours après l'exposition.** Ce graphique représente le nombre de cellules $BrdU^+/GFAP^+$ par rapport aux cellules $BrdU^+$ au sein de la CG du GDD obtenu chez les animaux contrôles (CTL n = 7), les animaux exposés en cerveau entier (CV n = 7) ou exposés localement (GDD n = 6) à la dose de 1 Gy. Les résultats sont présentés en moyenne ± SEM. * $p<0.05$, Two-proportions Z-test. (B) Photo représentative du marquage $Brdu^+/GFAP^+$.

Parmi la population de cellules $BrdU^+$, le pourcentage de nouveaux astrocytes au sein de la CG des souris CTL est de 10.30%. Nous avons démontré que le pourcentage de néo-astrocytes chez les animaux irradiés localement est similaire à celui des contrôles (moyenne = 12.20% ; $p_{CTL/GDD} = 0.1784$, ns) et au modèle irradié en cerveau entier (moyenne = 7.60% ; $p_{CTL/CV} = 0.3267$, ns). Cependant, le pourcentage de nouveaux astrocytes est significativement augmenté de 4.6% dans le modèle d'exposition localisé comparé au modèle d'exposition du cerveau entier ($p_{CV/GDD} = 0.0028$).

L'ensemble des résultats obtenus dans cette étude démontre que (tableau 7) :

- **L'exposition du CV entier** modifie uniquement le pool de cellules capables de proliférer. Aucun autre stade de la neurogenèse étudié ici n'est impacté par cette irradiation. Ce résultat est particulièrement surprenant car chez nos deux modèles, le GDD a été exposé à la même dose de 1Gy, et pourtant, les conséquences de l'irradiation sur la neurogenèse-hippocampique adulte sont différentes voire parfois opposées.

- **L'exposition postnatale localisée du GDD** à 1Gy altère certains processus de la neurogenèse hippocampique adulte. Ce type d'irradiation augmente notamment le pool de cellules capables de proliférer en 24h, environ deux mois après l'exposition. Par contre, lorsque nous étudions la densité des cellules exprimant la BrdU, 1 mois plus tard, elle est similaire à celle des contrôles. Concernant la différenciation neuronale, la densité en neurones immatures n'est pas altérée par l'irradiation. Cependant, le pourcentage de nouveaux neurones matures est significativement diminué. Ces deux derniers résultats suggèrent une altération du processus de maturation. Enfin, l'exposition localisée ne semble pas impacter le pourcentage d'astrocytes créés à l'âge adulte par rapport au CTL mais ce pourcentage est significativement augmenté par rapport aux animaux irradiés en CV entier.

		1Gy	
		CV	GDD
Comportement	Apprentissage	-	-
	Mémoire spatiale	-	✗
Neurogenèse adulte	Prolifération (densité)	↘	↗
	Survie (densité)	-	-
	Nouveaux neurones immatures (densité)	-	-
	Nouveaux neurones matures (%)	-	↘
	Astrocytes matures (%)	⇢	⇢

Tableau 7. **Le tableau récapitulatif de l'ensemble des effets d'une exposition à la dose de 1 Gy sur le comportement et la neurogenèse, dans nos deux modèles.** Flèches continues : CTL *vs* CV ou GDD, Flèches discontinues : CV *vs* GDD, en vert : augmentation et en rouge : diminution.

III. Les effets de l'exposition du CV ou du GDD à la dose de 10 Gy sur l'apprentissage spatial

1. L'exposition du CV ou du GGD ne semble pas affecter l'apprentissage spatial

Nous avons choisi d'étudier l'impact d'une dose plus forte de 10 Gy dans nos deux modèles sur l'apprentissage spatial.

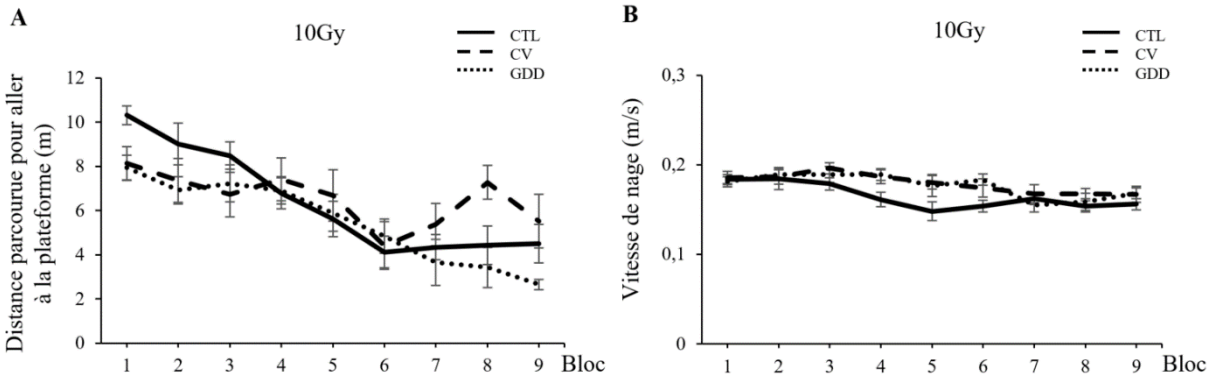


Figure 47. **L'étude des performances d'apprentissage spatial en protocole massé, 3 mois après une exposition de nos modèles à la dose de 10 Gy.** Ces graphiques présentent (A) la distance parcourue et (B) la vitesse de nage en fonction des différents blocs par les CTL (n = 16) et nos deux modèles irradiés à la dose de 10 Gy (CV : n = 9 et GDD : n = 8). Les résultats sont présentés en moyenne ± SEM.

Comme montré sur la figure 47 A, les animaux irradiés localement apprennent à rejoindre la plateforme, au fur et à mesure des différents essais. La distance parcourue et le temps passé pour y aller (figure annexe 2 et tableau annexe 6) diminuent significativement pour les animaux irradiés localement au niveau du GDD au cours des différents blocs (ANOVA à mesures répétées à un facteur : modèle, tableau 6). En ce qui concerne le groupe exposé en CV entier, la distance parcourue ou le temps passé ne diminuent pas significativement au fur des différents blocs bien qu'ils soient proches du seuil de significativité (distance : p = 0.081, ns ; temps : p = 0.063, ns). Ces résultats peuvent être expliqués par l'absence complète de progression des performances à partir du bloc 6, comme le montre la figure 47 A, ainsi qu'à la forte variabilité-interindividuelle au sein de ce groupe. Dans les deux groupes, la vitesse de nage des souris diminue significativement au cours des blocs (figure 47 B ; CV : p = 0.002 ; GDD : p = 0.028). Notons qu'au cours des blocs 7, 8 et 9, les vitesses de nage sont similaires entre les 3 groupes, témoignant d'un niveau de fatigue similaire en fin d'apprentissage.

La comparaison des 3 groupes n'a pas mis en évidence un effet du modèle sur le temps passé à la recherche de la plateforme ou sur la vitesse de nage. Une tendance est observée sur la distance parcourue pour aller à la plateforme au cours des blocs ($p = 0.07$, ns ; tableau 7).

Finalement, les souris exposées localement au niveau du GDD présentent d'excellentes performances lors de l'acquisition, elles apprennent à chaque bloc d'essais. A l'inverse, les souris exposées en cerveau entier ne semblent pas avoir appris car les performances ne diminuent pas significativement au cours des blocs. Cependant, comme la courbe d'apprentissage des CV n'est pas significativement différente de celle des CTL, il est difficile de conclure sur une éventuelle altération de l'apprentissage et nécessite de rajouter des animaux supplémentaires.

L'analyse de la thigmotaxie montre que les animaux irradiés localement ont parcouru une distance ou passé un temps dans la zone périphérique qui diminue significativement au cours de l'apprentissage (figure 48 A et B). Les animaux irradiés en CV entier ont parcouru une distance dans la zone périphérique similaire à tous les blocs, la différence entre les blocs n'est pas assez grande pour passer le seuil de significativité (p = 0.091, ns ; tableau 6).

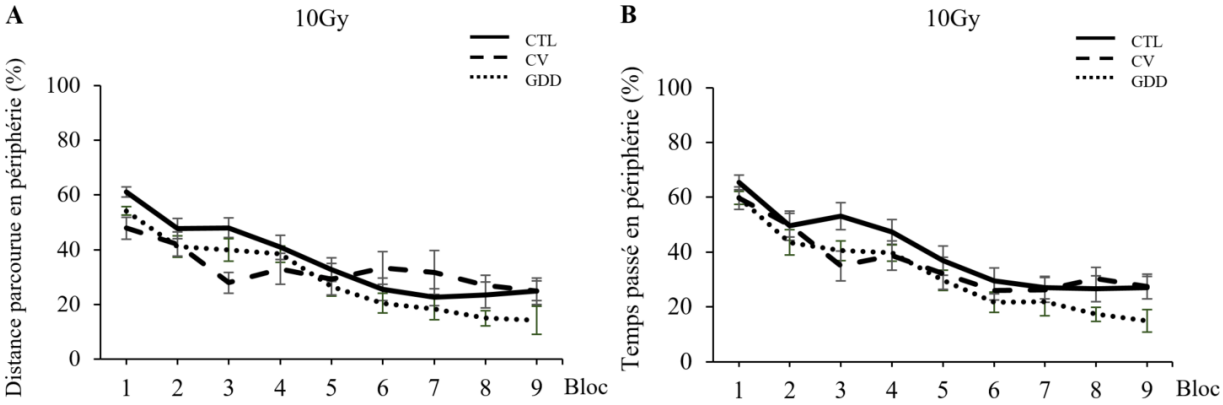


Figure 48. **L'étude de la thigmotaxie lors du test l'apprentissage spatial en protocole massé, 3 mois après une exposition de nos modèles à la dose de 10 Gy**. Ces graphiques présentent (A) le pourcentage de distance parcourue et (B) le pourcentage de temps passé en périphérie en fonction des différents blocs, par nos deux modèles irradiés à la dose de 10 Gy. Les résultats sont présentés en moyenne ± SEM, CTL : n =16, CV : n = 9 et GDD : n = 8.

Cependant, ces animaux passent significativement moins de temps dans la zone périphérique au cours des blocs. Lorsque nous étudions l'ensemble des groupes, aucun effet significatif du modèle n'a été mis en évidence pour la distance parcourue (p = 0.082, ns ; tableau annexe 7) et le temps passé dans la zone périphérique (figure 47 B et tableau annexe 7 ; p = 0.761, ns). Pour la dose de 10 Gy, la thigmotaxie est influencée de la même manière que les animaux soient irradiés en CV entier ou localement au niveau du GDD.

2. L'exposition du CV entier ou du GDD ne semble pas altérer la restitution de la MSLT, à la dose de 10 Gy

Lors du test de mémoire, les animaux contrôles ont parcouru significativement plus de distance dans le quadrant cible (moyenne = 42.62%, $p < 0.001$), ils ont retenu l'emplacement de la plateforme (figure 49 et tableau annexe 8 A). Il en est de même pour les animaux irradiés cerveau entier à la dose de 10 Gy qui ont parcouru significativement plus de distance dans le quadrant cible (moyenne = 34.30%, $p = 0.013$). Concernant les animaux irradiés localement, ils ont parcouru, en moyenne, 33.70% de la distance totale parcourue, dans le quadrant cible (moyenne = 33.70% ; $p = 0.053$, ns). Ce dernier résultat proche du seuil de significativité, ne diffère pas de celui d'une population qui n'aurait pas retenu l'emplacement de la plateforme. Néanmoins, les résultats obtenus par les CV 10 Gy ou les GDD 10 Gy ne sont pas significativement différents de ceux des CTL ($p_{CTL/CV} = 0.295$, ns ; $p_{CTL/GDD} = 0.209$, ns) et deux à deux ($p_{CV/GDD} = 0.654$, ns). Il semblerait donc que les deux modèles aient bien appris, retenu et restituer l'emplacement de la plateforme. L'ensemble des résultats statistiques est disponible dans le tableau annexe 8 A.

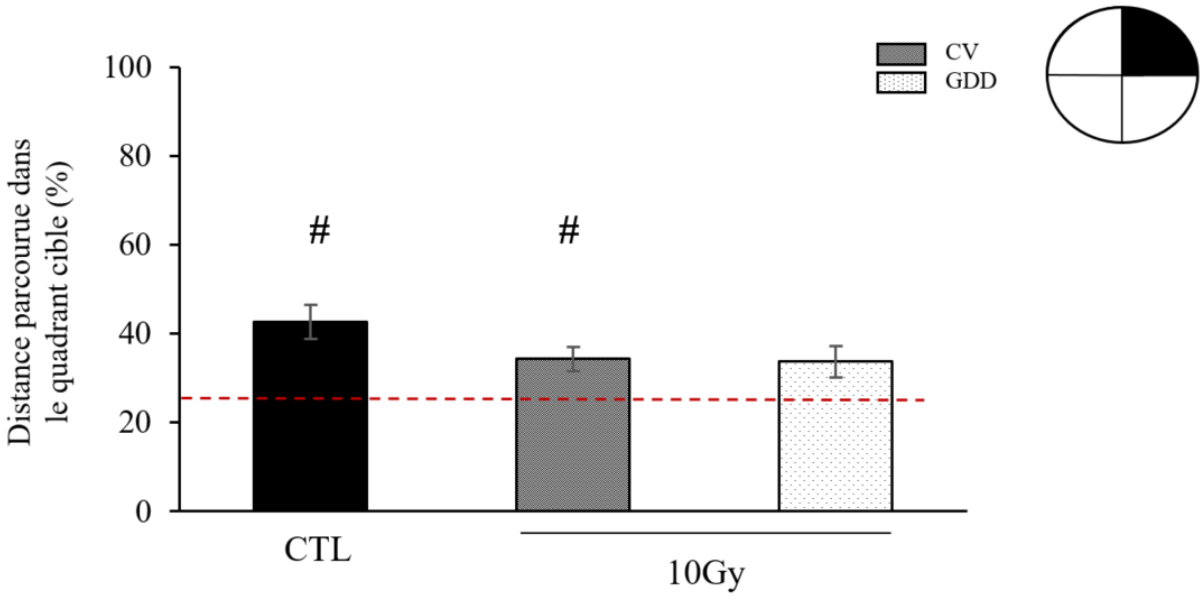


Figure 49. **L'étude de la distance parcourue dans le quadrant cible, 3 mois et 10 jours après une exposition de nos modèles à la dose de 10 Gy.** Pourcentage de distance parcourue dans le quadrant cible par les CTL (n = 16), les CV (n = 9) et les GDD (n = 8). Les résultats sont présentés en moyenne ± SEM. Le niveau de chance est matérialisé par la ligne rouge. # $p < 0.05$, One-simple t-test (25%).

Pour approfondir notre analyse, nous avons étudié la distance parcourue dans le disque cible ainsi que le nombre de crossings. Comme montré sur la figure 49, les souris CTL ont parcouru 45.17% de la distance totale, dans le disque cible ; soit presque la moitié de la distance totale parcourue pendant l'essai ($p = 0.002$). La distance parcourue dans le disque cible par les deux groupes irradiés est similaire au niveau de chance (figure 50 ; CV : 23.10% ; $p = 0.771$, ns / GDD : 21.51% ; $p = 0.576$, ns). De plus, les résultats obtenus par les CV 10 Gy et les GDD 10 Gy sont significativement différents de ceux obtenus par les CTL (CV : $p = 0.019$ et GDD : $p = 0.014$) et ne sont pas significativement différent entre eux ($p_{CV/GDD} = 0.858$, ns). Ces résultats suggèrent que l'irradiation diminue la précision des souris à géo-localiser finement la plateforme ou que les stratégies utilisées par les souris irradiées sont différentes. En effet, une souris qui aurait appris à localiser la plateforme à une certaine distance de la paroi de la piscine va nager en cercle et passer autant de temps dans chacun des disques cibles. L'ensemble des résultats statistiques est disponible dans le tableau annexe 8 B.

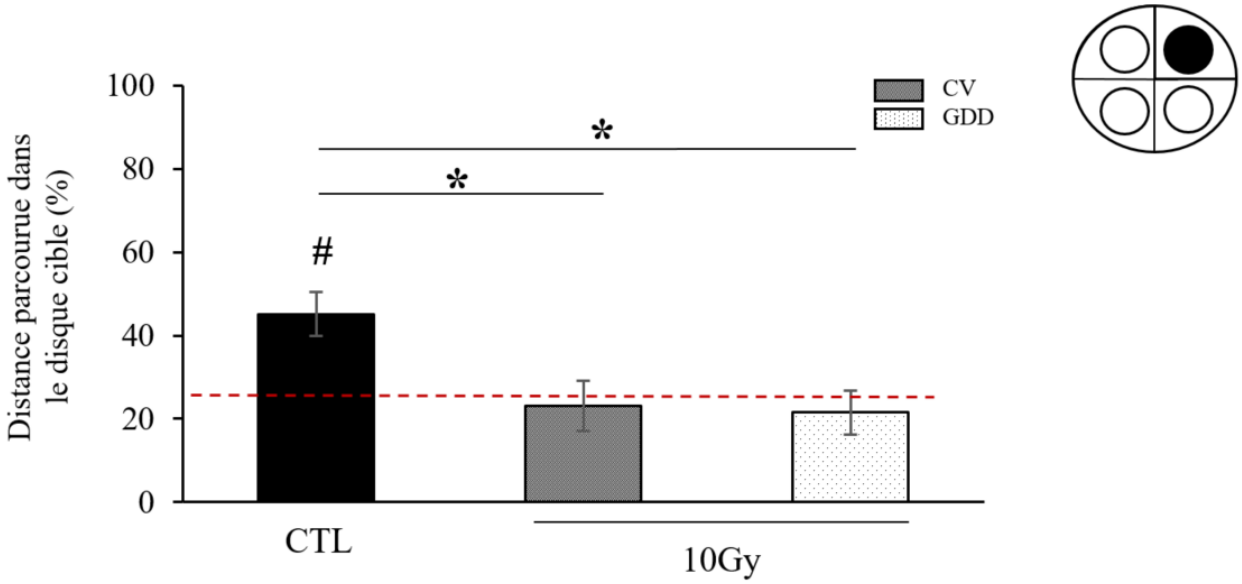


Figure 50. **L'étude du pourcentage de distance parcourue dans le disque cible lors du test de mémoire, 3 mois et 10 jours après une exposition de nos modèles à la dose de 10 Gy**. Pourcentage de distance parcourue dans le disque cible par les CTL (n = 16), les CV (n = 9) et les GDD (n = 8). Les résultats sont présentés en moyenne ± SEM. Le niveau de chance est matérialisé par la ligne rouge. # $p<0.05$, One-simple t-test (25%) et * $p < 0.05$, Mann-Whitney.

Enfin, le nombre de crossings réalisés en moyenne par les deux modèles ne sont pas significativement différents de ceux des contrôles (figure 51 ; CV : p = 0.682, ns / GDD : p = 0.799, ns). Les animaux irradiés à la dose de 10 Gy passent au moins une fois sur l'emplacement initial de la plateforme. L'ensemble des résultats statistiques est présenté dans le tableau annexe 8 C.

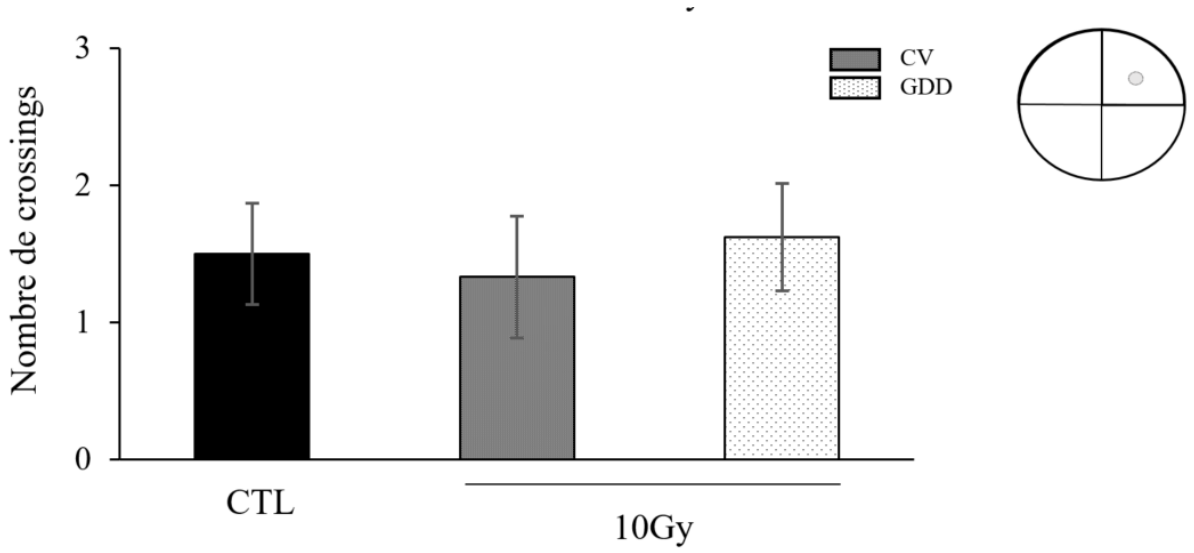


Figure 51. **L'étude du nombre de crossings, 3 mois et 10 jours après une irradiation à la dose de 10 Gy.** Etude du nombre de crossings effectué sur l'emplacement où été située la plateforme le jour de l'apprentissage, par les CTL (n = 16), les CV (n = 9) et les GDD (n = 8). Les résultats sont présentés en moyenne ± SEM.

Pour les animaux irradiés au stade postnatal en CV entier à la dose de 10 Gy :

- L'apprentissage ne semble pas être altéré, mais les performances en fin d'apprentissage sont amoindries.
- La MSTL de ces animaux ne semble pas être globalement altérée. Néanmoins, les souris présentent une diminution de la performance à géolocaliser la plateforme lorsque la zone de recherche est restreinte au disque cible. Ce résultat peut aussi mettre en évidence une différence de stratégie adoptée par ces animaux pour localiser la plateforme.

Pour les animaux irradiés localement :

- L'apprentissage n'est pas altéré.
- La MSLT ne semble pas être altérée, cependant tout comme dans le modèle d'irradiation en CV entier, l'irradiation localisée du GDD semble induire une diminution de la précision spatiale à géo-localiser la plateforme.

Cette étude devra être complétée pour confirmer ou non les résultats obtenus.

Discussion et perspectives

Le premier objectif de ma thèse a été d'évaluer et de comparer les effets d'une exposition postnatale (à l'âge de 10 jours), du cerveau entier ou localisée du GDD, à des doses faibles à modérées de RX, sur la MSLT à l'âge adulte. Pour répondre au deuxième objectif de cette thèse c'est-à-dire étudier la relation dose-réponse après une exposition, dans chacun des deux modèles, nous avons exposé nos souris avec une dose unique de 0.25, 0.5, 1 ou 2 Gy. Afin d'étudier les effets d'une telle exposition sur les capacités de mémoire spatiale des souris âgées de 3 mois, nous avons utilisé le test de piscine de Morris. Nous avons choisi d'utiliser un protocole complexe dit « massé » (Goodman et al., 2010 ; Veyrac et al., 2013 ; Castillon et al., 2020), avec un test de restitution de la mémoire 10 jours plus tard. La neurogenèse hippocampique adulte étant un processus impliqué dans la mémoire spatiale, le troisième objectif de la thèse a été d'étudier ce processus dans le cas d'une différence d'atteinte de la MSLT, à savoir lorsque le CV ou le GDD ont été exposés à la même dose de 1 Gy.

Enfin, au vu des résultats obtenus après une exposition de nos modèles à des doses faibles à modérées de RIs, nous avons exposé nos deux modèles à une dose élevée de 10 Gy. Cette dose a été choisie car elle est décrite dans la littérature comme étant délétère au processus de neurogenèse hippocampique adulte (Rola et al., 2004, Raber et al., 2014, Monje et al., 2002, Ji et al., 2018).

L'un des principaux résultats obtenus au cours de cette thèse est que l'irradiation à des doses faibles à modérées, à l'âge de 10 jours, n'impacte pas l'apprentissage spatial à l'âge adulte, quelle que soit la dose utilisée ou bien le volume cérébral exposé. En revanche, la restitution de la mémoire testée 10 jours après l'acquisition, est altérée uniquement par l'irradiation localisée du GDD à la dose de 1 Gy, alors que celle-ci n'est pas impactée par une exposition du CV entier à toutes les doses testées. De plus, les souris irradiées localement aux doses plus faibles de 0.25 et 0.5 Gy, et à la dose la plus forte de 2 Gy, ne présentent pas d'altération de la MSLT. Néanmoins, l'irradiation localisée à la dose de 2 Gy semble induire une perte de la précision spatiale et/ou une modification de la stratégie de recherche utilisée à l'âge adulte. L'ensemble des résultats obtenus, démontre que dans le cas d'une exposition localisée du GDD, la relation dose-réponse n'est pas linéaire. Dans le cas d'une exposition du CV entier, les doses faibles à modérées qui ont été appliquées dans cette étude ne sont

vraisemblablement pas suffisantes pour induire une altération de la MSLT selon nos conditions expérimentales.

Le processus de la neurogenèse hippocampique adulte a été étudié, 3 mois et 10 jours après l'irradiation, dans le cas d'une atteinte différente à la MSLT, entre nos deux modèles exposés à la dose de 1 Gy. Nos résultats démontrent que l'irradiation du CV ou du GDD à la même dose de 1 Gy altère différemment ce processus (figure 52). L'un des résultats majeurs obtenus dans cette étude est que l'exposition du GDD impacte la prolifération et la différenciation des jeunes cellules, ce qui ne semble pas être le cas lorsque le CV entier est irradié à la même dose de RX, où seule la prolifération a été diminuée.

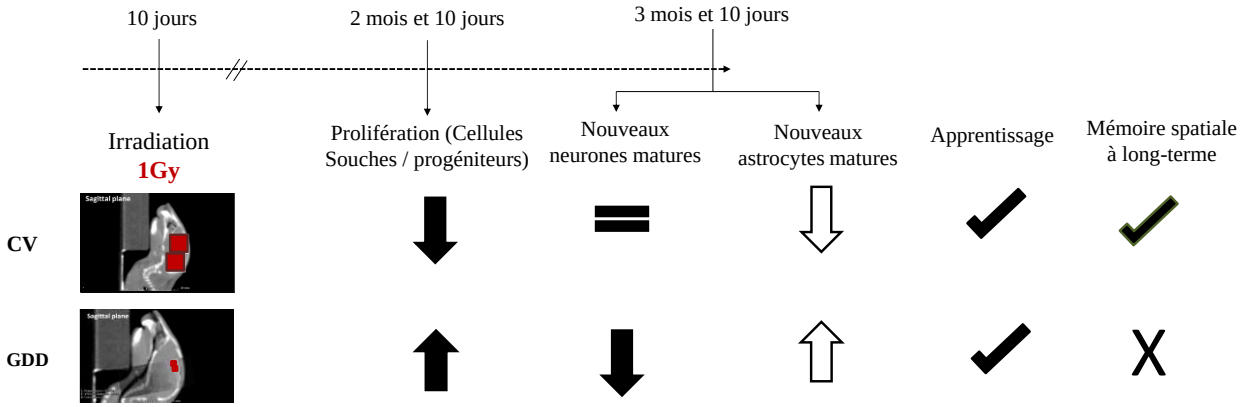


Figure 52. **Schéma récapitulatif des résultats majeurs obtenus dans cette thèse.** Comparaison des effets d'une exposition du CV entier ou localisée du GDD à la dose de 1 Gy sur la neurogenèse hippocampique adulte, l'apprentissage et la mémoire spatiale à long-terme. Les flèches pleines : CTL *vs* CV ou GDD, les flèches non colorées : CV *vs* GDD.

Enfin, pour aller plus loin dans l'étude de la relation dose-réponse, nous avons étudié l'apprentissage et la mémoire spatiale de souriceaux irradiés à une dose plus forte de 10 Gy. Nous avons démontré que l'exposition du CV à l'âge de 10 jours à cette dose forte semble diminuer les performances d'apprentissage chez ces souris une fois adulte, ce qui a pu diminuer les performances de la MSLT. Les souris irradiées localement à cette dose ont de bonnes performances d'apprentissage et semblent se souvenir de l'emplacement de la plateforme 10 jours plus tard. Toutefois, l'exposition du CV ou du GDD à une dose forte de 10 Gy semble diminuer la précision spatiale des souris adultes et/ou la stratégie de recherche utilisée par ces souris. Ces résultats restent encore à confirmer / compléter et seront discutés ultérieurement.

Au cours de cette discussion générale, après ce résumé succinct des principaux résultats, nous aborderons plus précisément différents points nous permettant de confronter nos résultats à la littérature existante et d'élaborer diverses hypothèses.

Dans un premier temps, nous discuterons des altérations cognitives induites par l'exposition à des doses faibles à modérées de RIs. Dans un second temps, nous aborderons la différence d'atteinte de la MSLT et du processus de neurogenèse adulte démontré entre nos deux modèles exposés à la dose de 1 Gy, puis nous suggèrerons des hypothèses permettant d'expliquer ces différences. Dans un troisième temps, nous discuterons de la relation dose-réponse obtenue au sein du modèle d'exposition localisée. Enfin, nous discuterons des effets d'une exposition juvénile à une dose forte de 10 Gy sur le comportement spatiale de souris adulte puis nous comparerons les effets d'une exposition à un âge juvénile ou à l'âge adulte avec une dose forte de RIs. Cette discussion sera aussi l'occasion de mentionner quelques points limites à notre étude.

I. Les effets d'une exposition à des doses faibles à modérées de RX au stade postnatal

1. Les effets d'une exposition du CV ou localisée du GDD sur le comportement et la cognition

Plusieurs études ont démontré que l'irradiation du corps entier de souris âgées de 10 jours modifie leur comportement exploratoire à l'âge adulte (locomotion, redressement), aux doses de 0.35, 0.5 et 1 Gy (Kempf et al., 2014a, Butatovic et al., 2014 ; Per Erikssson et al., 2016 ; tableau 3). Dans ces tests d'observations menés en openfield pendant une heure, les animaux irradiés présentent une phase d'hypoactivité lors des 20 premières minutes puis une phase d'hyperactivité est décrite pendant les 20 dernières minutes du test (Kempf et al., 2014a).

Au laboratoire, dans une étude préliminaire menée sur nos 2 modèles CV entier ou GDD irradiés à 10 jours, à la dose de 1 Gy, le comportement exploratoire des souris adulte a été analysé succinctement au cours de plusieurs phases d'habituation à l'openfield pendant 10 minutes. Dans ces conditions, la distance parcourue et le nombre de redressements en openfield des animaux irradiés, étaient similaires au groupe CTL. Ces quelques données montrent une absence d'effet de l'irradiation postnatale du CV ou du GDD sur la mobilité et le comportement exploratoire des souris à l'âge adulte (Rapport Master 2, M. Ben Sidhoum, 2019). En accord avec ces données, lors du test en piscine de Morris, aucune altération de la motricité n'a été observée, quel que soit le modèle ou les doses d'irradiation. D'autres tests de comportement ont été réalisés au laboratoire, pour étudier le niveau d'anxiété des animaux irradiés à la dose de 0.25, 0.5 et 1 Gy selon nos deux modèles d'exposition mais aussi en utilisant un modèle d'exposition du gyrus denté ventral (GDV) (Dos Santos et al., 2018). L'exposition de la partie ventrale de l'hippocampe a été réalisée pour étudier les conséquences de cette irradiation sur l'anxiété car cette partie est plus impliquée dans les processus émotionnels que la partie dorsale. Le profil d'anxiété des animaux irradiés a été évalué en utilisant le test du labyrinthe en croix surélevé et le test d'enfouissement des billes, 3 mois après l'exposition. Dans ces tests, les souris irradiées en CV entier ou localement au niveau du GDV sont plus anxieuses que les CTL ou que les animaux irradiés localement au niveau du GDD, et ce, dès la dose de 0.25 ou 0.5 Gy. Dans nos tests en piscine de Morris, une hyper-anxiété chez l'un de nos modèles d'exposition, notamment les CV entier, aurait pu compromettre notre expérience, mais selon notre étude de la thigmotaxie, aucune anxiété n'a été mise en évidence chez nos souris exposées en CV entier

ou en GDD et n'a donc pas influencé négativement les performances d'apprentissage dans notre test de piscine de Morris.

Concernant les processus mnésiques, peu d'études dans la littérature portent sur les effets de l'exposition de souris au stade postnatal à des faibles doses à modérées de RX sur leurs capacités mnésiques une fois adulte. Toutefois, Sienkiewicz et al., (1992) ont démontré que l'irradiation du corps entier de souris âgées de 10 jours, à la dose de 1 Gy, ne semble pas impacter les performances de mémoire de travail spatiale, testées en labyrinthe radial, à l'âge adulte (Sienkiewicz et al., 1992). Lorsque l'irradiation a été réalisée seulement au niveau du cerveau (gamme de dose : 0.25 - 2 Gy), nous avons démontré que cette exposition du CV entier n'affecte pas l'apprentissage et la MSLT dans nos conditions expérimentales (apprentissage massé en piscine de Morris et test de mémoire réalisé 10 jours plus tard). Pour la dose de 2 Gy, nos résultats semblent être en accord avec ceux de Casciati et al., (2016), qui ont aussi montré l'absence d'effet d'une exposition à l'âge de 10 jours sur l'apprentissage et la MSLT, mais 6 mois après l'exposition (Casciati et al., 2016). Toutefois, les résultats présentés dans cette étude nous semblent critiquables (voir figure annexe 3). En effet, bien que les performances d'apprentissage soient similaires entre les groupes irradiés et CTL, cet apprentissage réparti sur 3 jours (5 essais par jour) ne nous semble pas suffisant pour atteindre des performances stables dans le temps pour les animaux CTL. De plus, les performances mnésiques des animaux irradiés testées 48h plus tard ne diffèrent pas des CTL, sachant que ces derniers montrent une mauvaise restitution mnésique (temps passé dans le quadrant cible d'environ 10 sec sur un probe test de 60 sec) (Casciati et al., 2016 ; figure annexe 3).

Concernant l'exposition localisée du GDD, outre le fait que ce type d'étude sur une irradiation postnatale ciblée uniquement sur le gyrus denté dorsal n'existe pas dans la littérature, nous avons démontré ici et pour la première fois que cette exposition du GDD à la dose de 1 Gy induit une altération de la MSLT. De façon intéressante, alors que l'exposition à des doses plus faibles de 0.25 ou 0.5 Gy s'est révélée sans effet sur la MSLT, l'exposition du GDD à la dose de 2 Gy semble provoquer, non pas une perte drastique de la mémoire spatiale, mais une diminution, tout de même, de la capacité à géo-localiser avec précision l'emplacement de la plateforme. Ce dernier point nécessite cependant d'être confirmé en ajoutant des animaux car cette différence entre les performances des CTL et des GDD 2 Gy n'est pas suffisante pour passer le seuil statistique de significativité (pour rappel, $p=0.055$). Ainsi, dans nos conditions expérimentales, l'irradiation localisée du GDD à la dose de 1 ou 2 Gy, semble être plus délétère que celle du CV dans son intégralité.

D'un point de vue neurobiologique, la capacité à géo-localiser avec précision un point de l'espace est permise par la création d'une carte mentale cognitive. Cette carte spatiale est notamment codée par les cellules de grille présentes dans le cortex enthorinal, les cellules de lieux dans les CA1/CA3 et le GD de l'hippocampe, et les cellules d'orientation de la tête dans le subiculum (Grieves et al., 2017 ; Pavlides et al., 2019, pour revue). L'exposition du CV entier aurait pu potentiellement altérer l'ensemble de ces structures et par conséquent impacter la création de la carte mentale. Or, la MSLT des souris exposées en CV entier n'est pas altérée dans nos conditions expérimentales. De plus, l'étude de la distance parcourue dans le disque cible et le nombre de passages réalisés par les souris exposées en CV entier sur l'emplacement spatial de la plateforme démontrent que la capacité de ces souris à se géo-localiser avec précision n'est pas altérée, quelle que soit la dose. Ainsi, à partir de ces résultats, nous pouvons supposer que les doses d'irradiation du CV entier n'ont pas été suffisantes pour impacter ces réseaux. Cependant, cette hypothèse contredit le fait que l'exposition du GDD à la dose de 1 Gy ait été suffisante pour induire des altérations de la MSLT. Une explication succincte sur laquelle nous reviendrons plus en détail ultérieurement (partie I.3 de la discussion) serait que l'exposition à des RX induit de la neuro-inflammation et du stress oxydatif dans nos deux modèles, ce qui a pu altérer la BHE en plus des effets des RX sur celle-ci. La différence de volume irradié pourrait être à l'origine d'une différence d'entrée du système immunitaire périphérique dans le CV pour atténuer l'inflammation. Dans le cas d'une exposition totale du CV, ce phénomène a pu être suffisant pour atténuer une neuro-inflammation et atténuer un potentiel effet délétère de celui-ci sur les fonctions hippocampiques et notamment sur le processus de neurogenèse, contrairement à l'exposition localisée du GDD.

Lors de l'exposition du GDD, nous avons pu également irradier les cellules environnant le GDD telles que les cellules pyramidales de la CA et du subiculum. Ce type d'exposition a pu altérer plus ou moins la physiologie des cellules qui codent la carte mentale spatiale. Si ces structures n'ont pas été directement irradiées, nous sommes peut-être en présence d'un effet à distance comme l'effet *bystander*. En effet, les cellules à proximité des cellules irradiées ont pu être impactées, notamment par l'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote, et/ou par des molécules pro-inflammatoires, induites au moment de l'irradiation. Le cortex enthorinal a pu, lui aussi, être indirectement impacté par l'irradiation, notamment *via* des effets à distance du type *abscopal* potentiellement médiés par la circulation sanguine et le liquide céphalorachidien. Ainsi, l'hypothèse que nous pouvons émettre à ce stade est que, l'exposition du CV ou du GDD à l'âge de 10 jours induit des réponses cellulaires et moléculaires différentes, impactant plus ou moins les fonctions hippocampiques.

2. La comparaison d'une exposition du CV ou localisée du GGD à la dose de 1 Gy : étude de la neurogenèse hippocampique adulte

Comme la neurogenèse hippocampique adulte est impliquée dans la mémoire spatiale (Lazarov & Hollands 2015 ; Chao et al., 2020, pour revues), nous avons choisi d'étudier plus en détail certaines étapes de ce processus dans nos deux groupes irradiés à 1 Gy où l'atteinte de la MSLT est différente. Cependant, l'étude du pourcentage de nouveaux neurones créés dans le GD, pour l'ensemble des autres doses dans les deux modèles d'exposition, est actuellement en cours d'analyse au laboratoire.

2.1. Les effets des doses faibles à modérées de RX sur la prolifération cellulaire

Lors de notre étude, nous avons choisi d'analyser la prolifération des nouvelles cellules présentes dans la couche granulaire du GD (partie dorsale uniquement) dans nos deux modèles d'exposition, 2 mois et 10 jours post-exposition. Ce choix repose sur le fait que ces nouvelles cellules ont potentiellement été impliquées dans la tâche spatiale réalisée environ 3 mois après exposition, où à ce moment-là, elles sont âgées d'au moins 4 semaines. Dans notre étude, nous pouvons supposer que la majorité des cellules qui ont incorporé de la BrdU sont des cellules souches / des progéniteurs neuronaux. Toutefois, les cellules que nous avons quantifiées 24h post injection, peuvent aussi être des futurs astrocytes, des précurseurs d'oligodendrocytes, des cellules endothéliales qui prolifèrent dans des conditions physiologiques normales ou des cellules microgliales dont la prolifération peut être augmentée dans le cas d'atteinte cérébrale (Xiong et al., 2010, pour revue ; Lalancette-Hébert et al., 2007, Ladeby et al., 2005).

Selon nos résultats, dans le cas d'une exposition du CV entier, nous avons démontré que la densité des cellules capables d'incorporer de la BrdU en 24h est diminuée 2 mois et 10 jours post-exposition. Les données disponibles dans la littérature qui concernent l'impact des RIs pour des doses ≤ 2 Gy sur le processus de prolifération au niveau du GD sont peu nombreuses. Cependant, nous savons que l'exposition du corps entier ou du CV entier de souriceau à la dose de 0.5, 1 ou 2 Gy a pour effet de diminuer la densité des cellules en prolifération ($PCNA^+$: des cellules souches/progéniteurs de types 1, 2 et 3) dans l'hippocampe, 5-6 mois après une exposition qui a eu lieu à l'âge de 10 jours (Kempf et al., 2014a ; Casciati et al., 2016). Nos données concernant l'exposition du CV entier sont donc en accord avec ces études. Cependant, quand les analyses de la prolifération totale sont effectuées à des temps plus courts post-exposition, les effets des irradiations sont parfois différents. Par exemple, l'exposition du CV

entier à la dose de 2 Gy, au même âge que dans notre étude, induit aussi une diminution de la densité de ces mêmes cellules ($PCNA^+$) 1 jour après l'exposition alors qu'elle est augmentée 7 jours après l'exposition. Ensuite, la densité en cellules en prolifération n'est pas modifiée lorsque l'étude a été réalisée 1 mois après l'exposition (Casciati et al., 2016) mais elle est de nouveau diminuée 5 mois plus tard. Cette étude soulève une discontinuité du processus de prolifération dans les jours/semaines qui suivent l'irradiation à une dose modérée. Dans nos expériences, l'étude de prolifération a été faite uniquement 2 mois post-exposition, et il est probable que ce processus soit différemment affecté avant ou après ce point temporel.

En ce qui concerne plus spécifiquement l'influence des RIs sur les différents sous types cellulaires capables de proliférer, il a été démontré que les cellules radiales sont augmentées et seules les cellules progéniteurs sont diminuées, 1 jour après l'exposition à la dose de 2 Gy. Les progéniteurs de type 2 et 3 sont, quant à eux, augmentés uniquement au temps 7 jours après une exposition à la dose 0.1 et 2 Gy. La densité de neurones immatures n'est pas modifiée. Cette étude suggère que le lendemain de l'irradiation, l'augmentation de la prolifération des cellules souches pourrait être concomitant à une diminution des progéniteurs de type 3 uniquement (Casciati et al., 2016). Le degré de maturité de ces cellules qui perdent leurs pouvoirs prolifératifs pour entrer en différenciation peut expliquer leur sensibilité plus accrue que les cellules de types 2 dont la densité n'est pas diminuée le lendemain de l'exposition. Pour aller plus loin dans nos résultats, des analyses ultérieures seront réalisées au laboratoire afin d'étudier le phénotype des cellules ayant proliféré au bout d'une semaine. Pour cela, nous avons réalisé des injections de BrdU, toujours 2 mois et 10 jours après l'irradiation. Les animaux ont été sacrifiés 7 jours après la dernière injection dans l'objectif de faire, par exemple, un double marquage BrdU/DCX qui nous renseignerait sur la proportion de nouvelles cellules de type 2b/3.

Concernant l'exposition localisée du GDD, de manière intéressante, nous avons démontré pour la première fois que cette exposition à un âge juvénile induit une réponse sur le processus de prolifération à l'opposé de ce qui a été démontré après une exposition du CV dans son ensemble. Nous ne disposons pas de littérature ciblée spécifiquement sur le GDD, cependant, l'origine de cette réponse opposée sur la prolifération cellulaire pourrait reposer sur une dérégulation de nombreux processus tels que l'intégrité de la barrière hématoencéphalique (BHE) et le statut pro- ou anti-inflammatoire de la niche neurogène qui pourrait influencer de manière différente la prolifération et la différenciation des cellules souches/progéniteurs. Ces hypothèses seront développées ultérieurement (partie I.3 de la discussion).

2.2. Les effets des doses faibles à modérées de RIs sur la différenciation

Nous avons démontré que la densité en neurones immatures (DCX^+) dans la couche granulaire du GD n'était pas modifiée à la suite de l'irradiation dans nos deux modèles. Ces résultats sont en accord avec la littérature. En effet, lorsque l'exposition a lieu au stade postnatal et que la dose utilisée est faible à modérée, il semblerait qu'il n'y ait pas de modification de la densité de cellules exprimant DCX à plusieurs mois post-irradiation (post-IR) (Kempf et al., 2014a ; Casciati et al., 2016 ; tableau 3).

Dans la suite de nos expériences, nous nous sommes ensuite intéressés aux cellules neuronales matures. Pour cela, de la BrdU a été injectée avant les expériences comportementales afin de cibler une population de cellules âgées de 3, 4 semaines au moment de la tâche comportementale. Après le test de restitution de la mémoire, donc 3 mois et 10 jours après l'irradiation, ces cellules BrdU sont âgées de 37 à 43 jours. Leurs analyses nous informent à la fois sur les effets de l'irradiation sur la survie des nouvelles cellules qui ont proliféré au sein de la couche granulaire du GD, 2 mois post-exposition, mais aussi sur leur phénotype, notamment neuronal ou glial.

Dans la littérature, l'exposition du corps entier à la dose de 0.5 ou 1 Gy ou du cerveau du souriceau à l'âge de 10 jours, à la dose de 2 Gy, provoque la diminution du nombre total de nouveaux neurones dans le cerveau de souris adulte, 1 et 6/7 mois après l'exposition (Kempf et al., 2014a ; Casciati et al., 2016). Dans cette thèse, nous avons démontré que l'irradiation à la dose de 1 Gy du CV de souris âgées de 10 jours ne modifiait pas le pourcentage de nouveaux neurones matures âgés de 37 à 43 jours, 3 mois et 10 jours après l'exposition. Nos résultats suggèrent que l'exposition du CV entier n'affecte pas la différenciation neuronale des cellules qui ont proliféré 2 mois post-IR. Pour compléter notre étude, il serait important d'étudier la densité totale en neurones matures à différents temps car il est envisageable que la différenciation neuronale ait été impactée avant ces 2 mois post-exposition.

En ce qui concerne l'exposition localisée du GDD, nous avons démontré pour la première fois que le pourcentage de nouveaux neurones matures âgés de 37 à 43 jours ($BrdU^+/NeuN^+$) est diminué d'environ 12% chez les animaux irradiés localement par rapport aux groupes CTL et CV, malgré le fait que la prolifération était augmentée dans le modèle GDD, 2 mois après l'exposition. Ainsi, contrairement à l'exposition du CV, nous avons mis en évidence que la différenciation des cellules ayant proliféré 2 mois après l'exposition du GDD est altérée. Il a été démontré que l'irradiation de l'hippocampe de rat adulte avec une gamme

de dose de 0.5 à 10 Gy induit une déplétion des jeunes neurones (progéniteurs 2b, neuroblastes, neurones immatures) de manière exponentielle avec la dose. Pour les effets d'une exposition du GDD de souriceau à une dose faible de RIs, nous ne disposons pas d'études qui permettent d'attester que la différenciation des neurones nés 2 mois après l'exposition présente des altérations du processus de neurogenèse. Ainsi, nous avons démontré que la différenciation est altérée après une exposition localisée du GDD à la dose de 1 Gy mais pas par l'exposition du CV à cette dose.

En parallèle de la diminution d'une population de nouveaux neurones matures, nous avons démontré que le pourcentage de nouveaux astrocytes âgés de 37 à 43 jours est augmenté d'environ 5% dans le modèle d'irradiation localisée comparé au modèle d'exposition du CV entier. Cette différence de ratio neurones/astrocytes peut être due à une différence du devenir, glial ou neuronal, emprunté par les cellules de types 2a. Ce résultat nous permet d'envisager une augmentation totale de la population d'astrocytes qu'il nous faudra vérifier, ce qui a été démontré après une exposition du CV à la dose de 2 Gy (Casciati et al., 2016). Une augmentation de nouveaux astrocytes toujours 3 mois après l'exposition a aussi été démontré après l'exposition du CV à la dose de 5 Gy (Rola et al., 2004).

2.3. Les effets des RIs à des doses faibles à modérées sur la maturation neuronale et sur la fonctionnalité des nouveaux neurones matures

Comme nous l'avons vu dans la partie III.5.6 de l'introduction, les études menées à partir d'ablation de la neurogenèse adulte (tableau 1) ont permis de démontrer l'importance de ce processus dans l'acquisition de tâches spatiales complexes et dans la rétention de l'information spatiale à long-terme. De plus, le recrutement de nouveaux neurones ne peut se produire avant qu'ils atteignent l'âge de 2 semaines, et les nouveaux neurones âgés de 4 à 8 semaines sont préférentiellement recrutés dans le circuit qui supporte la mémoire spatiale (Kee et al., 2007). Nous pouvons alors émettre l'hypothèse que la diminution du pourcentage de neurones âgés de 37 à 43 jours, si elle est extrapolée à une population de nouveaux neurones plus importante, pourrait, en partie, expliquer l'altération de la mémoire spatiale à long-terme des souris irradiées localement à la dose de 1 Gy. De plus, il est probable que non seulement le nombre de nouveaux neurones aient été impacté, mais également la fonctionnalité de ceux qui ont réussi à survivre. Toutefois, l'étude que nous avons réalisée ne permet pas d'accéder à la fonctionnalité de ces nouveaux neurones créés.

Dans la littérature des effets des irradiations faibles doses, nous disposons de l'étude de Kempf et al., (2014a) qui suggère que la fonctionnalité des neurones est altérée par une irradiation (Rγ) du corps entier au stade postnatal à la dose de 0.1, 0.5 et 1 Gy, 7 mois après l'exposition. En effet, l'expression des gènes immédiats précoces d'activation neuronale comme ARC, c-FOS et CREB est significativement diminuée dans l'hippocampe et dans les cortex des animaux adultes irradiés à l'âge de 10 jours à la dose de 1 Gy (Kempf et al., 2014a). L'expression de ces protéines est le résultat de la cascade de signalisation de la voie des MAP kinases qui joue un rôle dans la prolifération, la survie, la différenciation des nouveaux neurones et la potentialisation à long-terme (Mazzucchelli & Brambilla 2000, pour revue). Nous pouvons aussi noter une altération du complexe I de la chaine mitochondriale dans le cortex après une exposition aux doses de 0.1 ou 0.5 Gy (Kempf et al., 2015). Des dérégulations de miARN impliquées dans des maladies neuro-développementales ou dans des cas de maladies neurodégénératives ont aussi été mises en évidence après une exposition du corps entier à la dose de 0.1 Gy et 0.5 Gy, dans le cortex et l'hippocampe (Kempf et al., 2015). Enfin, la voie Rac1-Cofilin qui est impliquée dans la modulation de la formation des filaments d'actine au niveau de synapse est aussi dérégulée dans l'hippocampe et le cortex, 24h après une exposition du corps entier de souris à la dose de 1 Gy mais pas à la dose de 0.5 Gy (Kempf et al., 2014b). Or, cette voie est impliquée dans la formation des épines dendritiques et des synapses, ce qui est nécessaire aux processus d'apprentissage et de mémoire. D'autres études suggèrent une altération de la morphologie des neurones par l'exposition à des RIs. Par exemple, l'exposition du corps de souris adultes à une dose de protons de 1 Gy diminue le nombre total de points d'embranchements et diminue la longueur des dendrites, 30 jours après l'exposition. Le pourcentage et la densité en épines dendritiques sont diminués par une exposition du corps à la dose de 0.1 Gy, 30 jours après l'exposition et à la dose de1 Gy, 10 et 30 jours après l'exposition (Parihar & Limoli 2013 ; Parihar et al., 2015). De plus, une augmentation de protéines post-synaptiques (PSD-95) dans le GD a été démontrée à la fois par une exposition du corps entier à des protons (Parihar & Limoli 2013 ; Parihar et al., 2015) et par des Rγ, à la dose de 1 Gy (Kempf et al., 2014a). Enfin les gènes codant les récepteurs AMPA et NMDA, récepteurs post-synaptiques essentiels à la mémoire et à la plasticité synaptique (Malinow, et al., 2002 ; Nakazawa et al., 2004, pour revue), sont aussi sous-exprimés dans l'hippocampe et le cortex après une exposition du corps entier à la dose de 0.5 et 1 Gy (Kempf et al., 2014a).

Finalement, l'exposition à des doses faibles de RIs semble impacter la fonctionnalité des nouveaux neurones créés dans l'hippocampe, des mois après l'exposition, ce qui peut altérer les capacités mnésiques. Toutes ces études suggèrent que la fonctionnalité des nouveaux

neurones est altérée par une exposition du CV ou du corps entier. Dans nos modèles d'exposition, il est alors fort probable que l'irradiation ait altéré la fonctionnalité des neurones mais que ces atteintes ne sont suffisantes pour avoir un effet sur le comportement.

Pour étudier la fonctionnalité des nouveaux neurones dans nos deux modèles exposés à 1 Gy, nous pourrions dans un premier temps, faire une étude semi-quantitative des gènes immédiats d'activation neuronale comme zif268. En effet, il a été démontré que zif268 est nécessaire au recrutement/à la sélection des nouveaux neurones âgés de 2/3 semaines (Veyrac et al., 2013). De plus, ce facteur de transcription est rapidement synthétisé lorsque les neurones fonctionnels s'intègrent au réseau (Gros et al., 2015, pour revue) et sa concentration dans le noyau est à son apogée environ 60 à 90 minutes après leur activation (Viñuela & Larsen 2001).

La différence d'atteinte de la mémoire spatiale à long-terme entre nos deux modèles d'exposition ainsi que l'altération différente du processus de neurogenèse adulte, suggèrent qu'un ou plusieurs mécanismes cyto-protecteurs suffisants pour garder une bonne mémoire spatiale, aient été mis en place à la suite d'une exposition du CV entier mais pas à la suite d'une irradiation localisée du GDD. Les mécanismes qui pourraient avoir des conséquences à long-terme sur la cognition et qui sont induits par une exposition aux RIs sont l'inflammation et le stress oxydatif.

3. Les hypothèses émises pour expliquer les différences d'atteintes du processus de neurogenèse adulte entre une exposition du CV ou du GDD

3.1. Les effets des RIs sur le statut inflammatoire à long-terme du SNC

Outre la microglie, les astrocytes jouent aussi un rôle important dans la réponse inflammatoire. Ils sécrètent des chimiokines et des cytokines de manière physiologique dans le tissu sain et de manière exagérée dans le cas de pathologies neurodégénératives telles que les maladies d'Alzheimer et de Parkinson, (Xie et al., 2014, pour revue), ou après une atteinte cérébrale (Chen et al., 2003, pour revue). La sécrétion persistante de ces molécules pro-inflammatoires peut avoir de lourdes répercussions sur le processus de neurogenèse hippocampique adulte. Par exemple, l'interleukine IL-6 diminue la prolifération, la survie et la différenciation des nouveaux neurones. L'interleukine IL-1β et TNFα diminue la prolifération et la différenciation neuronale et augmente la différenciation astrocytaire. Enfin, les prostaglandines semblent diminuer uniquement la survie des cellules (Kohman & Rhodes 2013 ; Ryan & Nolan 2016, pour revues).

En ce qui concernent les RIs, l'exposition du CV, à la dose de 2 ou 5 Gy, ou l'exposition du corps entier, à la dose de 0.1, 0.5 ou 1 Gy, du souriceau se traduit par une augmentation de la densité astrocytaire dans l'hippocampe, 1 jour après l'irradiation (Casciati et al., 2016), mais également 3 à 6 mois plus tard (Rola et al., 2004 ; Kempf et al., 2014a ; Casciati et al., 2016). De plus, deux mois après l'exposition du CV (gamme de dose 0 et 10 Gy), le pourcentage de nouvelle cellules microgliales augmente proportionnellement avec la dose (Mizumatsu et al., 2003). Enfin, l'exposition aux RIs peut induire également un stress oxydatif chronique qui participe à la réaction inflammatoire. Par exemple, l'exposition du CV entier à la dose de 2 Gy semble induire une dérégulation de la chaîne mitochondriale ainsi qu'une accumulation des espèces réactives de l'oxygène, 6 mois après l'exposition (Casciati et al., 2016). Ces résultats démontrent que la neuro-inflammation peut perdurer plusieurs mois après irradiation.

De plus, l'exposition du corps ou du cerveau entier du souriceau, à une dose de 1 ou 2 Gy, induit une activation microgliale, démontrée grâce à des analyses morphologiques et par l'étude semi-quantitative de ce type cellulaire. Or, l'activation microgliale induit également la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, telles que la protéine *Tumor Necrosis* Factor alpha (TNFα), et les interleukines IL-6 et IL-1β qui sont délétères à toutes les étapes du processus de neurogenèse (Kohman & Rhodes 2013, pour revue). Dans notre étude, nous avons démontré que le pourcentage d'astrocytes matures âgés de 37 à 43 jours est augmenté après une exposition

du GDD par rapport au CV, ce qui pourrait suggérer une neuro-inflammation différente dans nos 2 modèles. La neuro-inflammation étant médiée entre autres par les astrocytes (Cope & Gould 2019 et Schneider 2019, pour revues), ce résultat pourrait être un indice concernant le profil inflammatoire des modèles d'exposition. La balance pro/anti-inflammatoire semble être en faveur d'un profil pro-inflammatoire, plus de 3 mois après l'exposition dans le modèle d'exposition localisée du GDD, alors que la neuro-inflammation semble avoir été atténuée dans le modèle d'exposition du CV entier. L'une des hypothèses que nous pouvons émettre est que l'irradiation a induit une neuro-inflammation et un stress oxydatif qui ont pu évoluer différemment au cours du temps dans nos deux modèles et ainsi impacter différemment la neurogenèse hippocampique adulte. Il serait ainsi intéressant d'étudier dans nos deux modèles à plusieurs temps, précoces et tardifs post-exposition, les acteurs cellulaires et moléculaires de cette réponse inflammatoire. A l'heure actuelle, un test Elisa en multiplex est réalisé afin de doser plusieurs analytes impliqués dans la réponse inflammatoire, dans l'hippocampe dorsal ainsi que dans le reste du cortex, au temps 3 mois après l'exposition.

Dans la suite de cette partie, nous tenterons d'apporter des hypothèses permettant d'expliquer que dans le cas d'une exposition localisée, la neuro-inflammation semble avoir persisté alors que dans le cas d'une exposition du CV entier, ce processus semble avoir été atténué.

3.2. L'influence des RIs sur l'intégralité de la barrière hématoencéphalique

La barrière hématoencéphalique (BHE) est nécessaire à l'homéostasie et à l'apport d'éléments trophiques nécessaires au fonctionnement des cellules du cortex. Elle est constituée des péricycles, de cellules endothéliales, d'astrocytes et de cellules microgliales (Zhao et al., 2015, pour review). Son dysfonctionnement contribue à de nombreuses pathologies du SNC (Abbott & Friedman 2012, pour revue). Chez la souris, la maturation fonctionnelle de la BHE a lieu dans les deux premières semaines de vie et semble être établie au 14ème jour de vie (Vorbrot et al., 2001). Au moment de l'irradiation, la BHE n'était pas encore mature ce qui suggère une fragilité de cette structure essentielle pour le cerveau.

A fortes doses, l'irradiation a des répercussions sur l'intégrité de la BHE en diminuant le nombre de cellules endothéliales de manière précoce (quelques heures/jours) et tardive (dizaines de semaines) (Hladik & Tapio 2016, pour revue). Une neuro-inflammation et un stress oxydatif générés par les RIs peuvent, entre autres, participer au dysfonctionnement des cellules endothéliales et perturber la BHE (Petty & Lo 2002 ; Sándor et al., 2014 ; Wong & Van der Kogel 2004 et Greene-Schloesser et al., 2013 pour revues). Des études menées, *in vitro,* ont mis en évidence une augmentation de la perméabilité de la BHE, 72h et 8 jours après une exposition à une dose forte de 25 Gy (Fauquette et al., 2012). Il a également été démontré, *in vitro*, une augmentation transitoire de la perméabilité de la BHE après une exposition à la dose de 4.5 Gy entre 3 et 7 heures après l'exposition mais pas 33h ou 47h après l'exposition (Diserbo et al., 2002).

A faibles doses, une perte d'intégrité et une augmentation de la perméabilité de la BHE ont été démontrées 9 mois après l'exposition prolongée du corps de souris femelles adultes à une dose totale faible de 0.04 Gy (Bellone et al., 2016). Toutefois, lorsque l'irradiation a eu lieu à l'âge de 10 jours, à une dose unique de 0.1, 2 ou 10 Gy, l'altération de la BHE semble être transitoire. En effet, l'augmentation de la perméabilité de la BHE décrite 1 et 4 semaines après l'exposition n'est plus visible 6 mois plus tard, même à la dose plus délétère de 10 Gy (Sándor et al.,2014).

Dans notre étude, nous pouvons supposer que l'irradiation à faibles doses, a conduit à une perte de l'intégrité de la BHE ce qui a pu augmenter provisoirement sa perméabilité/son intégrité, dans nos deux modèles dans les heures/jours/semaines suivant l'irradiation. Ainsi, une augmentation de la perméabilité et/ou une perte de son intégrité de la BHE aurait pu

favoriser/faciliter l'infiltration des cellules myéloïdes tel que les macrophages. Ce phénomène a été démontré 48h après une exposition du CV de souriceau à la dose de 5 Gy (Rola et al., 2004) ou 1, 6 et 9 jours suivant l'induction de l'inflammation par l'injection rabique (Kuang et al., 2009). Notre hypothèse est qu'une exposition à la dose de 1 Gy a été suffisante pour altérer la perméabilité/intégrité de la BHE et a pu favoriser une entrée du système immunitaire. Ainsi, dans le cas du modèle d'exposition du CV entier, l'intégralité et/ou la physiologie de la BHE a pu être altérée, ce qui a pu favoriser une plus grande infiltration ou faciliter l'entrée des cellules impliquées dans l'immunité périphérique tels que les macrophages circulants et les leucocytes, que dans le modèle d'exposition du GDD. Le soutien du système immunitaire périphérique à la microglie résidente et aux astrocytes, a pu permettre de retrouver dans le temps, un statut inflammatoire moins délétère au processus de neurogenèse hippocampique adulte que dans le cas d'une exposition localisée. En effet, dans ce cas, seule une petite partie de la BHE a été exposée et a potentiellement été altérée. Le recrutement du système immunitaire circulant n'aurait potentiellement pas été aussi important que dans le modèle d'exposition du CV entier et pas suffisant pour retrouver un profil inflammatoire moins délétère au processus de neurogenèse adulte.

Ce phénomène d'entrée du système immunitaire périphérique doit être un processus **transitoire** pour calmer la neuro-inflammation car une entrée **chronique** des macrophages/leucocytes dans le SNC peut au contraire maintenir la neuro-inflammation. Ce phénomène est notamment décrit dans des cas multiples de sclérose. Cette maladie auto-immune se distingue, entre autres, par une ouverture pathologique de la BHE facilitant l'infiltration des leucocytes T dans le SNC. Cette infiltration déclenche une cascade neuro-inflammatoire qui conduit au recrutement des cellules immunitaires circulantes (Pinheiro et al., 2016, pour revue). Finalement, la perte de l'homéostasie conduit à une boucle neuro-inflammatoire autosuffisante empêchant toute atténuation du phénomène.

Nous pouvons alors supposer que dans le cas d'une exposition du GGD, l'infiltration n'a pas été suffisante pour atténuer le processus inflammatoire. La neuro-inflammation a pu s'installer et perdurer 3 mois après l'exposition à cause de l'installation d'une boucle neuro-inflammatoire. Dans le cas d'une exposition du CV, l'infiltration a été potentiellement transitoire, ce qui a permis d'atténuer la neuro-inflammation. Ainsi, une boucle neuro-inflammatoire n'a pas pu s'installer durablement, dans ce modèle.

Toutefois, une perte de l'intégrité de la BHE ne semble pas être nécessaire pour que les macrophages s'infiltrent dans le SNC lors d'une neuro-inflammation. Un profil pro-inflammatoire induit par une exposition du CV à la dose de 10 Gy peut être suffisante pour induire une entrée de macrophage circulant dans le SNC (Morganti et al., 2016). Ainsi, si la BHE n'a pas été altérée dans nos modèles d'exposition, nous pouvons alors supposer que la neuro-inflammation induite dans les heures/jours après l'exposition a été plus importante après une exposition du CV entier. Ainsi, la sécrétion de molécules impliquées dans l'infiltration des cellules immunitaires, par la microglie et les astrocytes a été plus importante, ce qui a permis un recrutement plus important des cellules immunitaires périphériques en soutien au SNC. Dans le cas d'une exposition localisée, la neuro-inflammation a été potentiellement plus légère qu'après une exposition du CV entier, ce qui (1) n'a pas permis une infiltration suffisante des cellules périphériques pour atténuer la neuro-inflammation ou (2) n'a pas permis le recrutement des cellules périphériques permettant d'atténuer la neuro-inflammation.

Afin de valider ou non nos hypothèses, dans un premier temps, nous pourrions étudier l'intégrité de la BHE en étudiant les acteurs moléculaires des jonctions serrées telles que l'occludine ou ZO-1 ainsi que les péricycles dont la perte d'intégrité augmente la perméabilité de la BHE (Armulik et al., 2010) et dans différentes zones : irradiées, non-irradiées et au voisinage de l'irradiation. En parallèle de l'étude du statut inflammatoire, nous pourrions étudier l'infiltration des macrophages circulants dans le SNC, à des temps précoces et tardifs après l'exposition. Les macrophages infiltrés et la microglie résidente sont difficiles à discriminer de par la similitude des marqueurs qu'ils expriment et des facteurs qu'ils sécrètent. Nous pourrions utiliser le marqueur TMEM119 qui permet de distinguer la microglie résidente des macrophages infiltrés (Bennett et al., 2016 ; Bohnert et al., 2020).

II. La relation dose-réponse non linéaire dans le cas d'une irradiation localisée du GDD

Les résultats obtenus dans le test de rétention par les animaux irradiés localement ont mis en évidence que la relation dose-réponse n'est pas linéaire. Plusieurs mécanismes peuvent être à l'origine des différences d'atteintes à la MSLT entre nos modèles exposés localement aux différentes doses testées. Nous tenterons d'apporter des hypothèses permettant d'expliquer que dans le cas d'une exposition localisée du GDD, l'irradiation à la dose de 2 Gy peut s'avérer sans effet sur la MSLT, comparé à une dose plus faible de 1 Gy.

Les atteintes radio-induites à l'ADN sont considérées comme les événements les plus délétères pour la cellule. Il a été démontré *in vitro* que le nombre de cassures double brin croît avec la dose appliquée dès la dose de 1 mGy (Wang et al., 2013 ; Rothkamn & Löbrich 2003). Ainsi, nous pouvons supposer qu'une irradiation à la dose de 2 Gy induit davantage de cassures double brin à l'ADN qu'une irradiation à une dose plus faible de 1 Gy dans notre modèle d'irradiation localisée. Cette hypothèse est confortée par les résultats obtenus par l'analyse du marqueur γH_2AX (marqueur indirect des cassures double-brin à l'ADN) dans le GD, qui croît avec les doses testées de 0.25, 0.5 et 1 Gy, et ce, de la même manière dans nos deux modèles d'exposition (Dos Santos et al., 2018). Une des hypothèses que l'on peut alors émettre est que l'irradiation à la dose de 1 Gy altère moins l'ADN que l'irradiation à la dose de 2 Gy.

Nous pouvons alors supposer que l'exposition à la dose 2 Gy induirait de manière précoce des dommages à l'ADN tellement importants que le nombre de progéniteurs seraient drastiquement diminué, ce qui aurait pour effet d'induire une nouvelle vague de prolifération afin de pallier à cette perte. Ce phénomène de vague de prolifération a été décrit à la suite d'une irradiation du CV entier, de souris âgées de 10 jours, à la dose de 2 Gy (Casciati et al., 2016). En effet, Casciati et ses collègues ont démontré que le lendemain de l'irradiation, la prolifération des cellules souches est concomitant à une diminution des progéniteurs de type 3 (Casciati et al., 2016). L'étude de l'évolution d'une population de cellules souches et de leurs descendants démontre que le pic de prolifération est atteint à 7 jours après la première division chez le rat (McDonald and Wojtowicz, 2005), ce qui semble correspondre au pic de la vague observée par Casciati et al., (2016). Nous pouvons supposer que l'augmentation de la prolifération des cellules souches est un mécanisme de défense, en réponse à la mort des progéniteurs induite par les RX. Nous pouvons alors supposer que dans le cas d'une exposition à la dose de 1 Gy :

Hypothèse 1 : l'exposition a été suffisante pour induire une vague de prolifération. Ainsi, le nouveau pool de progéniteurs généré n'a pas été directement impacté par les RIs.

Hypothèse 2 : l'exposition n'a pas été suffisante pour altérer le pool de progéniteurs et induire leur mort. Par conséquent, la prolifération des cellules souches à l'origine de cette vague de prolifération en réponse à l'agression, n'a pas été induite. Nous pouvons supposer que l'agression n'a pas été suffisante pour induire une réponse cellulaire visant apparemment à protéger l'organisme. Les cellules souches n'ont potentiellement pas reçu le signal de proliférer, induit éventuellement par la mort des progéniteurs (neuroblastes ?), car le statut pro-inflammatoire n'était pas insuffisant pour induire une réponse notable. Selon cette hypothèse, le pool de progéniteurs a directement été impacté par les RX ce qui a pu affecter leur fonction.

Tan et ses collègues, qui ont exposé l'hippocampe de rat (adulte) avec une gamme de dose de 0.5 à 10 Gy ont étudié la prolifération cellulaire 7 jours après l'exposition, au moment du pic de prolifération. Ils ont démontré que la prolifération était augmentée après l'exposition de l'hippocampe médian de rat aux doses de 2, 3 et 4 Gy mais pas aux doses plus faibles de 0.5 ou 1 Gy (similaire aux témoins) ou aux doses plus fortes de 6 et 10 Gy (Tan et al., 2011). Cette étude suggère l'existence d'une vague de prolifération en réponse à une exposition à la dose de 2 Gy mais pas à la dose de 1 Gy. Finalement, l'hypothèse 2 semble être la plus probable après une exposition localisée du GDD à la dose de 1 Gy alors que l'hypothèse 1 semble être la plus probable après une exposition du GDD à la dose de 2 Gy. En concluion, cette étude suggère que la dose de 2 Gy provoque la mort d'un nombre suffisant de cellules constituants le pool de progéniteurs, ce qui a pour conséquence d'induire une vague de prolifération pour pallier à cette perte. La dose de 1 Gy est quant-à elle insuffisante pour induire une vague de prolifération car le pool de progénteurs n'a pas été suffisament atteints par l'exposition. Le pool de progéniteurs a été directement irraidé et n'a pas été remplacé. Les cellules progénitrices ont donc potentiellement perdu leur intégrité génétique / cellualire / physiologique.

Toutefois, l'induction de cette vague après l'exposition du GDD à la dose de 2 Gy et non à la dose de 1 Gy, ne semble pas être suffisante pour expliquer que le processus de neurogenèse adulte soit altéré, 2-3 mois après l'exposition. Dans cette thèse, nous avons mis en évidence qu'une exposition du GDD à la dose de 2 Gy peut s'avérer moins délétère à la MSLT qu'une exposition du GDD à la dose de 1 Gy. Ces résultats suggèrent que les pools de progéniteurs qui ont été créés entre le moment de l'irradiation et 3 mois après l'irradiation ont

été impactés par le microenvironnement hippocampique ou la niche neurogénique. L'élégante étude de Monje et al., (2002) a été fondatrice pour comprendre l'importance d'une altération de la niche neurogénique par des RIs sur le processus de neurogenèse adulte. Ils ont démontré que l'exposition du CV de rat adulte à la dose de 10 Gy diminuait de 97% les nouveaux neurones matures, 2 mois après l'exposition. Pour comprendre si cette diminution drastique venait d'une altération intrinsèque des progéniteurs ou du microenvironnement, les auteurs ont isolé des progéniteurs récoltés dans l'hippocampe de rat exposé à une dose de 2 ou 10 Gy et les ont placés, *in vitro*, dans un environnement qui n'a pas été irradié. Finalement, les progéniteurs irradiés placés dans cet environnement ont poursuivi leur processus de différenciation en neurones ou en cellules gliales de la même manière que des cellules non-irradiées. Ils ont également transplantés des cellules souches/progéniteurs irradiés *in vitro*, un mois après leur exposition, dans le GD de rats non-irradiés ou irradiés. Seuls les progéniteurs qui se sont retrouvés dans un microenvironnement non-irradiés ont poursuivi normalement leur différenciation (Monje et al., 2002). Ainsi, il est probable que le microenvironnement ait été plus altéré après une exposition du GDD à la dose de 1 Gy, qu'à la dose de 2 Gy. Nous avons déjà émis l'hypothèse que cette vague pourrait être induite par la mort des progéniteurs mais il peut être aussi médié par le microenvironnement. Ainsi, la non-réponse (vague) après une exposition à la dose de 1 Gy suggère que l'atteinte au microenvironnement n'était pas assez importante pour provoquer une réponse cellulaire mais suffisante pour altérer à long-terme la neurogenèse adulte.

Cette hypothèse conforte notre autre l'hypothèse selon laquelle l'exposition du GDD à la dose de 1 Gy n'a pas été suffisante pour induire le recrutement transitoire, ou faciliter le recrutement du système immunitaire périphérique alors que la dose de 2 Gy a été suffisante (cf. partie I.3.2 de la discussion), alors nous pouvons supposer que le microenvironnement est moins affecté dans ce second cas. Ainsi, le pool de progéniteurs qui viendrait pallier la perte initiale après une exposition à la dose de 2 Gy, mais aussi les autres pools créés au cours des mois suivant l'exposition, se sont retrouvés dans un environnement moins délétère au processus de neurogenèse adulte que celui exposé à la dose de 1 Gy. Dans ce dernier cas, l'impact sur le processus de neurogenèse adulte serait suffisant pour abolir la MSLT des souris.

Dans le cas d'une exposition localisée à la dose de 2 Gy, l'altération de la neurogenèse adulte ne serait pas suffisante pour affecter la MSLT mais elle serait suffisante pour diminuer la performance de la MSLT. Finalement, ces hypothèses pourront être affirmées ou infirmées par l'étude de la neurogenèse adulte, en parallèle, de l'étude du statut inflammatoire, dans toutes nos conditions expérimentales.

III. Les effets d'une exposition du CV ou du GDD à la dose forte de 10Gy

1. Les effets d'une forte dose sur l'apprentissage et la mémoire spatiale

Afin d'approfondir l'étude de la relation dose-réponse, nous avons soumis nos deux modèles juvéniles à une irradiation forte dose de 10 Gy avant d'étudier leurs performances mnésiques 3 mois plus tard.

Selon la littérature, l'exposition du cerveau de jeune rongeur à une dose forte de RIs peut altérer certains comportements et processus cognitifs de l'adulte. Par exemple, l'exposition du cerveau de ratons âgés de quelques jours à la dose de 5 Gy altère fortement leurs capacités à se souvenir d'un objet lorsqu'ils sont âgés de 1 mois (Caceres et al., 2010). Une autre étude montre toutefois que la mémoire de reconnaissance d'objets de souris adulte n'a pas été endommagée après une exposition du CV à l'âge de 21 jours (Rola et al., 2004). Concernant la mémoire spatiale, les études sont parfois contradictoires. De plus, l'âge au moment de l'irradiation ou les tests comportementaux utilisés sont différents. Ainsi, l'exposition du CV à l'âge de 21 jours à la dose de 2 Gy n'affecte pas le processus d'apprentissage en piscine de Morris de souris adultes, et les souris se souviennent de l'emplacement de la plateforme, 1h ou 24h après l'apprentissage. Cependant, les performances spatiales sont légèrement diminuées par rapport aux CTL lorsque les rétentions du souvenir sont demandées 1h après les 4ème ou 5ème jour d'apprentissage (Rola et al., 2004 ; Peng et al., 2019). Dans une autre étude, une exposition au même âge mais à la dose de 4 Gy, n'altère pas les performances d'apprentissage en protocole semi-massé (3 jours après 2 jours d'habituation) ni la restitution de la mémoire testée 1h après chaque journée d'apprentissage, des souris âgées de 6 semaines (Allen et al., 2014). En revanche, un déficit de la mémoire spatiale dans le test du labyrinthe radial, a été démontré chez les souris âgées de 1 ou 3 mois dont le CV a été exposé à la dose de 5 Gy dans les premiers jours de vie (Caceres et al., 2009). De même, l'exposition à la dose de 6 Gy du CV de souris âgées de 10 jours retarde l'acquisition de leurs performances spatiales étudiées en « Intellicage » où les animaux doivent apprendre la localisation de biberons d'eau dans leur grande cage de vie (Barlind et al., 2009). Enfin, l'exposition du CV de souris juvéniles à la dose de 10 Gy semble impacter le processus d'apprentissage car les souris irradiées ont besoin de plus d'essais pour acquérir une trace mnésique stable leur permettant de se souvenir de l'emplacement spatial de la plateforme (Alexander et al., 2018). Dans notre étude, bien que les

résultats soient encore un peu préliminaires, il semblerait que l'irradiation du CV entier à la dose de 10Gy entraîne de moins bonnes performances d'apprentissage spatial par rapport aux animaux CTL, avec notamment une perte, voire une régression de la progression des performances observées à partir du bloc 6. Toutefois, cet apprentissage qui nous semble partiel, pourrait avoir été suffisant car les performances de restitution de la mémoire de ces souris 10 jours plus tard sont assez bonnes car elles se souviennent du quadrant cible. Cependant, lorsque la zone d'analyse est restreinte au disque cible, la distance parcourue dans cette zone ne dépasse pas le niveau de chance. Ainsi, l'irradiation du CV à l'âge de 10 jours semble entrainer des altérations de la précision de recherche spatiale des souris adultes. Il est probable que le manque de progression observé lors de l'apprentissage de ces souris irradiées ait pu empêcher l'acquisition de l'information de manière précise pour pourvoir la rappeler 10 jours plus tard. Ceci rejoint les études précédemment mentionnées (Barlind et al., 2009 ; Alexander et al., 2018) montrant qu'avec plus d'essais d'apprentissage, les performances de restitution de la mémoire des animaux irradiés peuvent être correctes. Il conviendra de poursuivre quelques expériences afin de confirmer ce point.

Concernant les souris dont seul le GDD a été exposé à la dose de 10 Gy, elles ont d'excellentes performances une fois adulte, malgré la difficulté de la tâche d'apprentissage. D'ailleurs, il est même surprenant que ces souris semblent montrer de meilleures performances en début d'apprentissage et continuent de progresser jusqu'au dernier essai alors que les performances des CTL se stabilisent sur les 3 derniers blocs de l'apprentissage. De façon étonnante, cette « facilité » d'apprentissage a pu finalement être trop rapide, ce qui a pu altérer la consolidation de la trace mnésique car la restitution mnésique de ces souris n'est pas aussi bonne que celle des CTL. Une autre interprétation possible serait que ces souris irradiées aient adopté une autre stratégie de recherche de la plateforme en ayant appris à localiser la position de la plateforme selon sa distance par rapport à la paroi de la piscine. Si cette stratégie peut s'avérer efficace pour trouver la plate-forme rapidement lors de l'apprentissage, quand elles sont placées en test de restitution, les souris ne se focalisent pas spécifiquement sur le quadrant cible/disque cible. Une analyse plus détaillée des stratégies de nage est envisagée.

Bien que cette expérience sur les 10 Gy doive être complétée, nous pouvons évoquer ici quelques-uns des mécanismes cellulaires qui ont dû être impactés par ce type d'irradiation à forte dose, et qui ont pu participer en partie aux quelques altérations de la MSLT que nous avons observées. Bien que la majorité des études citées précédemment n'ait pas mis en évidence des altérations drastiques des capacités spatiales après une exposition du CV à des doses fortes

au stade postnatal, elles décrivent toutes cependant, des atteintes de la neurogenèse hippocampique postnatale/adulte. Comme nous l'avons détaillé dans la partie VI.2.1 de l'introduction, l'exposition du CV au stade postnatal à des doses comprises entre 2 et 10 Gy diminue l'ensemble des types cellulaires du processus de neurogène de manière précoce et tardive (tableau 2). Il est alors très probable que l'exposition du CV ou du GDD à la dose de 10Gy ait altéré le processus de neurogenèse adulte, ce que nous devrons vérifier par la suite. Outre des altérations de la neurogenèse hippocampique, d'autres processus au niveau de l'hippocampe sont sans doute induits par cette forte irradiation. Par exemple, il a été montré que l'exposition à la dose de 10 Gy du cerveau de souris âgées de 10 jours induit une augmentation transitoire du nombre de cellules microgliales, leur activation de façon plus durable ainsi que l'expression de molécules pro-inflammatoires (Han et al., 2016 ; Rola et al., 2004). Cette atteinte du microenvironnement pourrait faire perdurer les altérations de la neurogenèse hippocampique adulte à plus long terme.

2. La comparaison des effets d'une exposition à l'âge juvénile et adulte à une dose forte de RIs

En irradiant le CV et le GDD avec une dose de 10Gy, nous pensions induire des déficits de la MSLT plus drastiques. Compte tenu de nos résultats et de la littérature forte dose chez la souris adulte, nous avons mené en parallèle une étude au laboratoire NeuroPSI (L.Gonzalez / R.Poirier, Université Paris-Saclay) avec les mêmes modèles d'exposition (CV / GDD) et le même protocole comportemental mais cette fois ci avec des souris adultes. Les souris ont été irradiées à l'âge de 3 mois et le test de mémoire a été effectué 3 mois plus tard. Les résultats montrent que les animaux irradiés en CV entier ou en GDD à l'âge adulte (3 mois) ne présentent aucun défaut d'apprentissage en piscine de Morris, trois mois post-exposition. Par contre, la MSLT testée 10 jours après l'apprentissage est altérée dans les deux modèles de souris, avec un pourcentage de recherche dans le quadrant cible qui reste au niveau de la chance. La comparaison entre les résultats obtenus dans cette thèse et les résultats obtenus à l'âge adulte est résumée dans le tableau 8, et montre que l'exposition du CV ou du GDD à des fortes doses à un jeune âge ne semble pas avoir les mêmes répercussions sur les processus mnésiques qu'une exposition à l'âge adulte.

	Irradiation 10Gy à 10 jours		Irradiation 10Gy à 3 mois	
	Apprentissage	MSLT	Apprentissage	MSLT
CV	↘	↘	-	x
GDD	-	↘	-	x

Tableau 8. **Le tableau récapitulatif des résultats obtenus après une exposition du CV ou du GDD à la dose de 10Gy de souris âgées de 10 jours ou de 3 mois.** Flèche = performances amoindries ; x = perte de la capacité.

En ce qui concerne la comparaison des effets d'une exposition du CV à une dose forte de RIs à un âge juvénile et adulte, nous disposons de l'étude d'Allen et al., (2014). Ils se sont intéressés à la différence d'impact d'une exposition à une dose forte de RIs (4 Gy) sur l'apprentissage (semi-massé) et la mémoire spatiale en piscine de Morris après une exposition soit à l'âge de 21 jours, soit à l'âge de 8 semaines. Ils ont démontré que l'apprentissage n'est pas altéré après l'exposition de la jeune souris alors que les souris qui ont été exposées à l'âge adulte parcourent moins de distance que les CTL pour aller à la plateforme. Aucune différence d'atteinte à la mémoire spatiale n'a été démontrée lorsque la rétention a été effectuée 1h après chaque journée d'apprentissage (Allen et al., 2014).

Dans cette thèse, nous ne disposons pas de données concernant la différence d'impact au processus de neurogenèse adulte entre une exposition à l'âge adulte et juvénile. Toutefois, nous disposons dans la littérature de plusieurs études qui ont comparé l'effet de ces types d'expositions aux deux âges différents sur la plasticité cérébrale adulte et sur le processus de neuro-inflammation.

L'exposition du cerveau à une dose forte de 6 ou 8 Gy à un âge juvénile semble être plus délétère au processus de prolifération qu'à l'âge adulte. Cette sensibilité semble venir du fait que la neurogenèse est plus importante chez le jeune rongeur que chez le rongeur âgé (Blomstrand et al., 2014, Han et al., 2016). A long-terme, le volume de l'hippocampe est alors diminué chez les jeunes ratons exposés comparé aux rats adultes (Blomstand et al., 2014), ce qui n'est pas surprenant car l'hippocampe du rat n'a pas fini son développement au stade postnatal (Semple et al., 2013, pour revue). L'exposition du CV de rat âgé de 20 jours ou de 8 semaines à la dose de 10 Gy, inhibe la potentialisation à long-terme étudiée 3 jours après l'exposition. Toutefois, 8 semaines après l'exposition, la potentialisation à long-terme est

similaire à celle des animaux témoins chez les souris irradiées à l'âge adulte et non chez les souris exposées à un âge juvénile (Zhang et al., 2018). Finalement, il semblerait que l'exposition à un jeune âge soit plus délétère au processus de neurogenèse hippocampique et à la potentialisation à long-terme des synapses que l'exposition à l'âge adulte.

De plus, tout comme l'exposition à un âge juvénile, l'exposition à l'âge adulte semble altérer l'architecture dendritique des neurones de l'hippocampe. Par exemple, l'exposition du corps entier à la dose de 10 Gy, de souris âgées de 2 mois avec des Rγ diminue significativement la densité en épines dendritiques dans le GD, 1 semaine et 1 mois après l'exposition ainsi que dans CA1, seulement 1 semaine après l'exposition. Dans ces deux régions de l'hippocampe, la morphologie des épines dendritiques est altérée et une diminution des boutons synaptiques a notamment été relevée aux deux temps d'étude (Chakraborti et al., 2012). Des résultats similaires ont été obtenus après une exposition du crâne de souris adulte à la dose de 10 Gy. La complexité dendritique : nombre de points d'embranchement, nombres d'épines, longueur et volume des dendrites, sont réduites 1 et 3 mois après l'exposition (Parihar et al., 2013). Finalement, nous pouvons supposer que les RIs à un jeune âge altère la croissance/ le développement dendritique des neurones du GD. Cette altération morphologique des dendrites pourrait expliquer en partie la baisse des performances d'apprentissage après une exposition du CV entier.

L'exposition du cerveau de rat âgé de 6 mois à la dose de 6 Gy induit une augmentation de l'activité microgliale et un profil pro-inflammatoire plus prononcé que chez les ratons exposés à l'âge de 14 jours, 4 semaines après l'exposition (Blomstrand et al., 2014). De plus, l'exposition du CV de souris à la dose de 2 Gy induit une augmentation de nombre de cellules microgliales uniquement après une exposition à l'âge de 10 semaines et non à l'âge de 10 jours, 1 et 3 mois après l'irradiation (Casciati et al., 2016). Toutefois, ces résultats ne sont pas en accord avec ceux de Han et al., (2016) qui ont démontré que l'activation microgliale est plus prononcée et est plus prolongée après une exposition du CV, à la dose de 10 Gy, de souris âgées de 10 jours qu'à l'âge de 3 mois, aux temps 6h, 24h, 7 jours et 1 mois. (Han et al., 2016). Enfin, l'activité microgliale induite à forte dose par une exposition du CV à un âge juvénile semble être transitoire dans le cerveau du jeune rongeur (Han et al., 2016) alors que l'activité microgliale semble perdurer des mois après l'exposition du CV adulte (Monje et al., 2002 ; Mizumatsu et al., 2003). Les conditions expérimentales : doses, souches, âge au moment où l'exposition a été étudiée, sont très différentes entre toutes ces études. De plus, l'âge à laquelle l'analyse du profil inflammatoire a été effectuée est différent. Or, il a été démontré que la

microglie sécrète des molécules pro et anti-inflammatoires très différentes en fonction de l'âge du sujet dans sa période postnatale (3 jours et 21 jours) mais aussi à l'âge adulte (2-4 mois) (Crain et al., 2013). De plus, l'irradiation modifie la sécrétion des cytokines et chemiokines par la microglie et les astrocytes (Blomstrand et al., 2014 ; Morganti et al., 2014). Par exemple, les interleukines IL-6 auraient tendance à augmenter dans le temps (6h, 7 jours et 4 semaines) après l'exposition du jeune rat alors que son expression diminue chez les rats exposés à l'âge adulte (Blomstrand et al., 2014). Il est alors très difficile de comparer la balance pro/anti-inflammatoire après une exposition à des RIs, si les âges de animaux sont différents au moment de l'irradiation et au moment où l'étude de ce processus a été analysé.

En conclusion, l'exposition à un âge juvénile semble plus délétère au processus de neurogenèse hippocampique qu'une exposition à l'âge adulte car la prolifération dans le cerveau de jeune rongeur est plus importante que chez l'adulte (Blomstrand et al., 2014 ; Casciati et al., 2016 ; Han et al., 2016). Il est difficile de conclure sur les effets des RIs sur le processus inflammatoire après une exposition à un âge juvénile et adulte. Ainsi, pour comprendre les potentielles altérations aux processus de neurogenèse adulte, il est nécessaire d'étudier, en parallèle, le profil inflammatoire des animaux dans nos conditions expérimentales.

Finalement, nos résultats et ceux de la littérature suggèrent que l'exposition du jeune rongeur ou de l'adulte semblent altérer des processus différents qui sont potentiellement liés au degré de maturité du cerveau. Nous pouvons supposer que certaines altérations radio induites peuvent être compensées au cours du développement de l'individu, alors que d'autres processus seront altérés, perdureront et auront des conséquences notoires à l'âge adulte. D'un autre côté, le degré de maturité du cerveau adulte le rend potentiellement moins vulnérables au RIs. Certaines altérations pourront revenir à la normale, c'est notamment le cas de la potentialisation à long-terme ou potentiellement la neuro-inflammation, alors que certaines altérations à l'âge adulte ne pourront plus être compensés/atténués et pourront perdurer tout au long de la vie.

IV. Limites de l'étude

1. Le genre

Bien que la neurogenèse adulte et les mémoires qui en dépendent soient influencées par le genre et notamment par les hormones sexuelles chez le rat (Galea et al., 2013 et Mahmoud et al., 2016, pour revues), elles ne semblent pas l'être chez la souris (Fritz et al., 2017, pour revue). En effet, une analyse détaillée de la bibliographie à ce sujet par Fritz et son équipe (2017) a démontré que les deux sexes ont, en moyenne, des performances équivalentes en PM et d'exploration en openfield (Fritz et al., 2017, pour revue). De plus, chez les souris de souche C57Bl/6, le processus de neurogenèse adulte ne semble pas être influencé par le genre ou le niveau d'œstrogènes (Lagace et al., 2007). Cependant, les RIs semblent agir différemment sur la cognition et le comportement des mâles et des femelles. Par exemple, l'exposition du corps entier de souris adulte à des rayonnements cosmiques galactiques (~500 mGy) induit une diminution du comportement social, un profil anxieux plus prononcé et une perte de la mémoire de reconnaissance d'objets uniquement chez les souris mâles. Les femelles ne présentent aucun trouble cognitif alors que les performances de souris CTL mâles et femelles semblent être similaires (Krukowski et al., 2018). Cette différence serait en partie due, à une neuro-inflammation soulignée par l'activation microgliale et, à une perte synaptique des neurones hippocampiques observée uniquement chez le mâle (Krukowski et al., 2018). A l'inverse, les performances spatiales analysées en « intellicage » sont altérées uniquement chez les souris femelles adultes dont le cerveau a été irradié à la dose de 8 Gy au 14ème jour de vie, mais pas chez les mâles (Roughton et al., 2012). Enfin, l'exposition au stade postnatal, à une dose de 500 mGy, altère le comportement spontané de l'adulte chez les deux sexes (Buratovic et al., 2014). Ainsi, même si elles sont parfois divergentes, ces quelques études témoignent d'une potentielle atteinte des RI qui est différente entre les mâles et les femelles.

Pour notre projet, nous avons choisi de commencer cette étude en utilisant uniquement des souris mâles. Cependant, le système de radioprotection a besoin d'études complémentaires pour évaluer au mieux les effets des RIs sur la cognition chez les mâles et les femelles. Ainsi, il conviendrait de reprendre des expériences avec des souris mâles et femelles testées en parallèle afin de comparer les effets des RIs, qui peuvent être convergents ou divergents entre les deux sexes.

2. Les agents anesthésiants et les RIs

Une limite à notre étude est liée au fait que nous avons endormi les animaux grâce à un mélange de kétamine (40 mg/kg) / xylasine (0.8 mg/kg) pour pouvoir les irradier avec précision. La kétamine est un antagoniste du récepteur de la NMDA qui semble avoir un double effet sur le cerveau en développement (Yan et al., 2014, pour revue) : il aurait un effet neurotoxique en induisant de la dégénérescence cellulaire (Fredrikson et al., 2004 et 2007) et un effet neuro-protecteur en diminuant la neuro-inflammation (Loix et al., 2011, pour revue). La kétamine pourrait donc influencer le statut inflammatoire du tissu cérébral. La xylasine est un agoniste des récepteurs adrénergiques α2 qui permet de diminuer la libération de noradrénaline et inhibe le système nerveux sympathique induisant une anesthésie générale. L'administration d'agents anesthésiants, comme un mélange kétamine/xylasine ou encore des dérivés du flurane, semble être particulièrement néfaste lorsqu'elle a lieu dans la période postnatale car, c'est un moment de développement du tissu cérébral dans son ensemble, mais aussi, car c'est le moment où la synaptogenèse est à son apogée chez le rongeur (Rice & Barone 2000). Ainsi, il a été montré que l'injection du mélange kétamine/xylasine au cours de la période postnatale, est suffisante pour provoquer des modifications neuro-développementales et cognitives à long-terme chez le rongeur (Jevtovic-Todorovic et al., 2003 ; Amrock et al., 2015 ; Huang et al., 2017). Par exemple, trois injections de kétamine (20 mg/Kg) / xylasine (3 mg/Kg) à cette période (à 7, 9 et 11 jours) induisent des modifications, à long-terme, sur le processus de synaptogenèse (Huang et al., 2017) ainsi qu'une altération de la mémoire de reconnaissance d'objets, du comportement social, de la préférence pour la nouveauté et de la mémoire de peur contextuelle chez la souris C757BL/6J âgée de 1 mois. Toutefois, une seule injection à cette période semble altérer uniquement la mémoire de peur contextuelle (Huang et al., 2017). Dans nos conditions, nous n'avons injecté qu'une seule fois un mélange de 40 mg/kg de kétamine et 0.8 mg/kg de xylasine. Il est alors peu probable que l'anesthésie ait fortement impacté les processus que nous avons étudiés. Toutefois, afin d'éviter tout biais éventuel, tous les animaux CTL ont également été anesthésiés de manière similaire.

Un autre paramètre à considérer est que la combinaison de la kétamine et des RIs semble potentialiser les effets des RIs. Par exemple, Buratovic et al, ont démontré que les souris co-exposées à la kétamine (7.5 mg/kg) et à une faible dose de Rγ en corps entier, à l'âge de 10 jours, présentent une altération de l'apprentissage spatial, 5 mois après l'exposition. En revanche, lorsque les animaux ont été seulement exposés aux RIs (100 ou 200 mGy) ou

seulement à la kétamine, ils ne présentent pas d'altération de l'apprentissage spatial. Les auteurs ont également démontré que la co-exposition modifiait le comportement spontané du rongeur âgé de 2 ou 4 mois. Les rongeurs co-exposés présentaient une phase d'hypoactivité dans les 20 premières minutes du test et une phase d'hyperactivité dans les 20 dernières minutes du test alors que les phases d'activité des rongeurs exposés à un seul de ces deux agents toxiques étaient similaires à celles des témoins (Buratovic et al., 2018). Encore une fois, afin de minimiser les biais expérimentaux, nous avons également scanné le corps entier des souris CTL, afin qu'elles soient exposés à une dose très faible de 4.8 cGy, comme les souris irradiées. Au vu des excellentes performances d'apprentissage des souris CTL dans des conditions d'apprentissage particulièrement difficiles en protocole massé et de leur capacité à se souvenir de la tâche, nous pouvons supposer que la co-exposition à la kétamine et à la dose très faible de 4.8 cGy n'affecte pas ces processus mnésiques. Néanmoins, nous ne pouvons pas exclure que la kétamine pourrait potentialiser les effets des RIs à certaines doses et que l'effet potentialiseur de la kétamine pourrait être différent entre nos deux modèles d'exposition.

3. L'influence du test de piscine de Morris sur la neurogenèse hippocampique adulte

Dans nos expériences, il est important de noter que tous les animaux utilisés pour étudier la neurogenèse adulte 3 mois post-exposition ont effectué notre tâche de comportement. Or, il est connu désormais que le seul fait de réaliser ce type de tâche peut modifier la prolifération et/ou la survie cellulaire, ce qui a pu masquer, voire effacer un effet potentiel de l'irradiation sur la prolifération, la différenciation des progéniteurs ou la survie neuronale trois mois post-exposition. En effet, le stress potentiel induit lors d'une tâche comportementale ou l'augmentation de l'activité physique et l'exploration d'un nouvel environnement ont des répercussions différentielles sur le processus de neurogenèse adulte (Aimone et al., 2014, ; Shohayeb et al., 2018, pour revues). Certains des paramètres influençant les différentes étapes du processus de neurogenèse hippocampique adulte sont illustrés dans la figure 53.

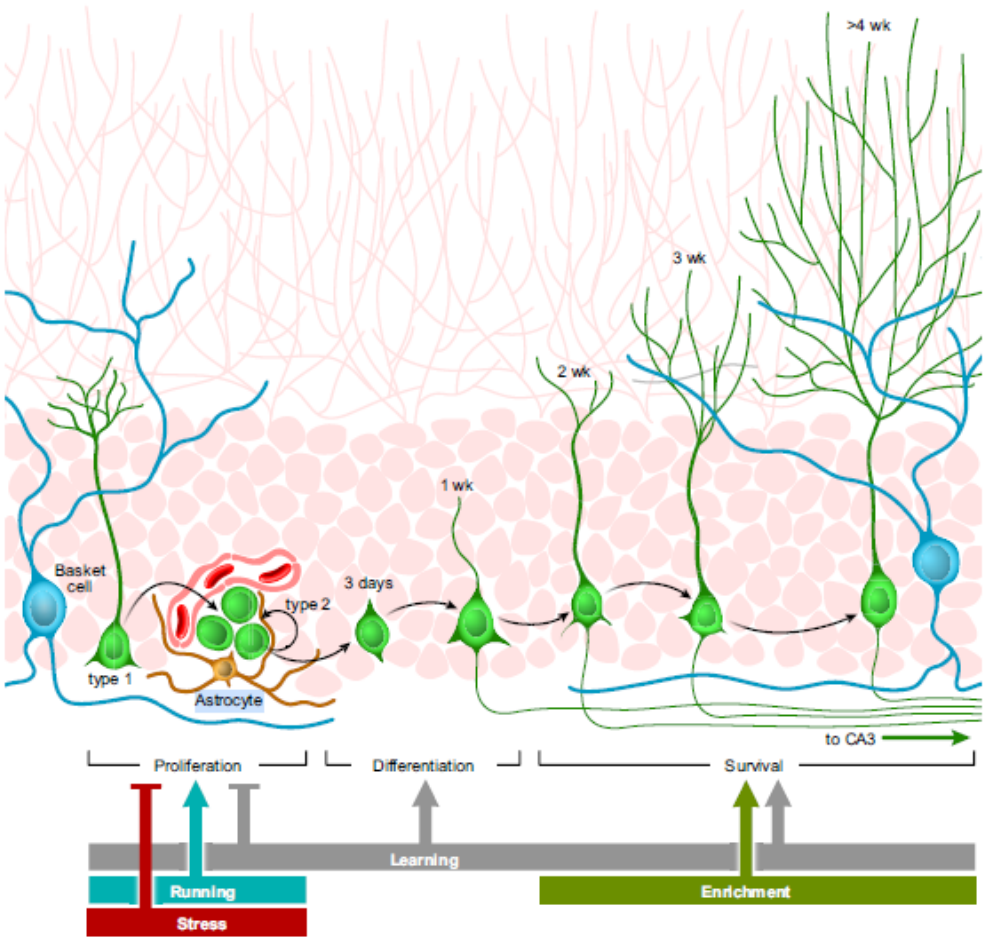


Figure 53. **La régulation de la neurogenèse hippocampique adulte par différents paramètres** (Aimone et al., 2014, pour revue).

Concernant l'apprentissage en piscine de Morris, de nombreuses études ont mis en évidence que l'apprentissage hippocampe-dépendant influence certaines étapes de la neurogenèse hippocampe adulte (Epp et al., 2013, pour revue). Par exemple, certaines études ont montré que l'apprentissage hippocampe-dépendant augmente la survie des nouveaux neurones âgés de 1 à 3 semaines et stimule leur recrutement, alors qu'une tâche hippocampe-indépendante n'influence pas la survie de ces jeunes neurones (Gould et al., 1999 ; Trouche et al., 2009 ; Veyrac et al., 2013). Cependant, d'autres études ont, au contraire, montré que la survie de nouveaux neurones immatures est diminuée par une tâche d'apprentissage hippocampe-dépendant ou -indépendante en piscine de Morris comparé aux souris non entraînées (Döbrössy et al., 2003 ; Ambrogini et al., 2004 ; Ehninger & Kempermann, 2006). Enfin, l'activité physique, comme la course volontaire ou forcée, est bénéfique au processus de neurogenèse (Van Praag et al., 1999 ; Alomari et al., 2013). D'ailleurs, la course volontaire permet notamment de restaurer les altérations au processus de neurogenèse adulte induit par

une exposition du souriceau à la dose de 6 Gy (Naylor et al., 2008). La course forcée semble elle aussi restaurer les altérations de la neurogenèse adulte induite par une exposition du CV de rat adulte à la dose forte de 20 Gy (Ji et al., 2014).

Ainsi, dans l'interprétation de nos données « neurogenèse », il convient de prendre en compte que toutes les analyses ont été réalisées sur des animaux qui ont effectué notre tâche comportementale et qu'il est probable que les mêmes études de neurogenèse menées sur des animaux naïfs mèneraient à des résultats différents.

Conclusion

L'imagerie médicale offre un bénéfice considérable pour la prise en charge des patients mais les risques associés à son utilisation ne sont pas encore acquis, bien que ce soit la première source d'exposition de la population française. L'exposition du cerveau de l'enfant aux RIs soulève plusieurs questions sur les conséquences, à long-terme, de la cognition de l'adulte. Cette thèse apporte de nouvelles connaissances sur les effets des RIs, à des doses faibles à modérées, sur le cerveau et plus particulièrement sur un des lieux de neurogenèse adulte : le GDD. Dans cette thèse, nous avons démontré que l'exposition du CV entier à une dose unique ≤ 2 Gy n'altère pas l'apprentissage ou la mémoire spatiale à long-terme. Nous avons également démontré, pour la première fois, que seule l'exposition localisée du GDD à la dose de 1 Gy empêche la restitution d'un souvenir spatial préalablement acquis lors de l'apprentissage impliquant la réquisition et l'activation des nouveaux neurones. La relation dose-réponse obtenue après une exposition localisée est non linéaire. En effet, l'atteinte à la MSLT n'est pas retrouvée à une dose plus forte de 2 Gy. Concernant la différence d'atteinte de la mémoire après une exposition du CV ou du GDD, à la dose de 1 Gy, nos résultats suggèrent qu'elle pourrait être liée, au moins en partie, à la différence d'atteinte du processus de neurogenèse hippocampique adulte observée dans nos deux modèles. Le modèle d'exposition localisée nous a permis de démontrer que l'irradiation d'une petite partie de l'hippocampe, pouvait être plus délétère à un processus mnésique et à la neurogenèse adulte que l'exposition du cerveau dans son ensemble. De plus, l'exposition du CV de souriceau à la dose forte de 10 Gy semble diminuer les performances d'apprentissage spatial alors que l'exposition du GDD semble diminuer les performances de la MSLT. Enfin, de manière surprenante, nous avons démontré que l'exposition postnatale localisée du GDD à la dose de 1 Gy a pour effet d'abolir la MSTL chez l'adulte alors qu'à une dose 10 fois plus forte, seule la performance de la MSLT a été affectée. L'ensemble des résultats de cette étude permet de mieux appréhender les effets d'une exposition aux RIs sur le cerveau et une sous-structure cérébrale. Finalement, cette thèse, en plus des données disponibles à ce sujet, apporte de nouvelles connaissances pour la radioprotection de l'enfant.

Valorisation

1. Article

« Targeted dorsal dentate gyrus or whole-brain irradiation in juvenile mice differently affects spatial memory and adult hippocampal neurogenesis ». Biology

2. Communications orales

« Etudes des troubles cognitive induits à l'âge adulte, par l'exposition postnatale du cerveau de souris à des doses faibles à modérées de rayonnements ionisants : rôle de la neurogenèse et du microenvironnement hippocampique » - Les Journées des thèses 2019 – 01 au 04 avril 2019 - La Grande Motte, France.

3. Communications affichées

« Effets d'une exposition postnatale du cerveau de souris à des doses faibles à modérées de rayonnements ionisants sur l'apprentissage et la mémoire spatiale : « Rôle de la neurogenèse et du microenvironnement hippocampique » - Journée des thèses 2018 –19 au 22 mars 2018 - Annecy, France.

"Cognitive impairments induced by postnatal mouse brain exposure to low-to-moderate doses of ionizing radiation" - European Meeting of Neuroscience by PhD students 3rd edition – 25th may 2018 - Grenoble, France.

"Effects of ionizing radiation on learning and spatial memory after postnatal mouse brain exposure at low-to-moderate doses" International meeting of NeuroFrance – 22th to 24th may 2019 - Marseille, France.

"Effects of ionizing radiation on learning and spatial memory after postnatal mouse brain exposure at low-to-moderate doses" – International meeting of Radiation Research Society (RADRES) – 3th to 6th November 2019 - San Diego, United States.

Annexes

Listes des figures annexes

Figure annexe 1. Les performances d'apprentissage spatial en protocole massé, testé 3 mois après l'exposition du CV ou du GDD à des doses faibles à modérées de RX 155
Figure annexe 2. L'étude du temps passé à la recherche de la plateforme lors de l'apprentissage spatial en protocole massé, testé 3 mois après une irradiation à la dose de 10 Gy 156
Figure annexe 3. Cognitive performance after cranial irradiation at 10D with low or high X-ray doses. 157
Figure annexe 4. La distribution des données « distance » comparée à la loi normale (0 , 1) par la méthode du Quantile-Quantile plot (Q-Q plot). 158-159
Figure annexe 5. La distribution des données « temps » comparée à la loi normale (0 , 1) par la méthode du Q-Q plot. 160-161
Figure annexe 6. La distribution des données « vitesse » comparée à la loi normale (0 , 1) par la méthode du Q-Q plot 163
Figure annexe 7. La distribution des données « distance parcourue en périphérie en% » comparée à la loi normale (0 , 1) par la méthode du Q-Q plot. 164-165
Figure annexe 8. La distribution des données « temps passé en périphérie en% » comparée à la loi normale (0 , 1) par la méthode du Q-Q plot 166-167

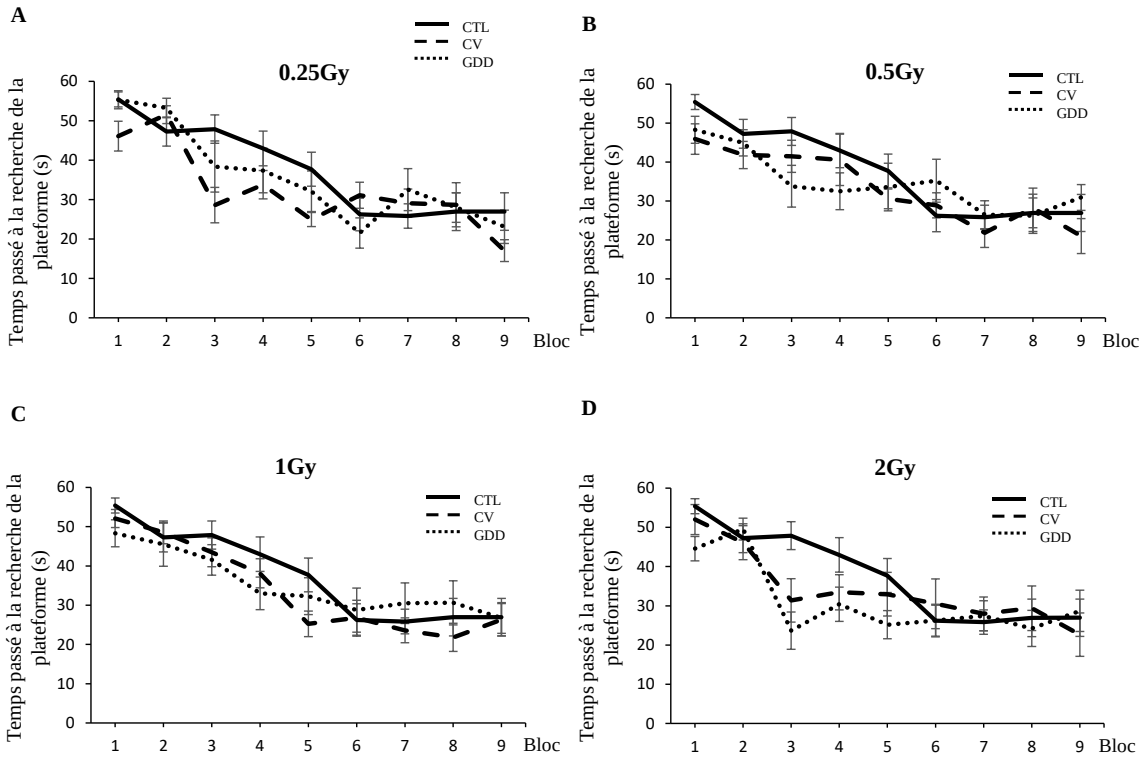


Figure annexe 1. **Les performances d'apprentissage spatial en protocole massé, testé 3 mois après l'exposition du CV ou du GDD à des doses faibles à modérées de RX.** Ces graphiques présentent le temps passé à la recherche de la plateforme en fonction des différents blocs réalisés sur une même journée (1 bloc = 3 essais consécutifs) pour les doses respectives de (A) 0.25, (B) 0.5, (C) 1 et (D) 2 Gy. Les résultats sont présentés en moyenne ± SEM, CTL n =16, CV n = 8 à 12 et GDD n = 8 à 11.

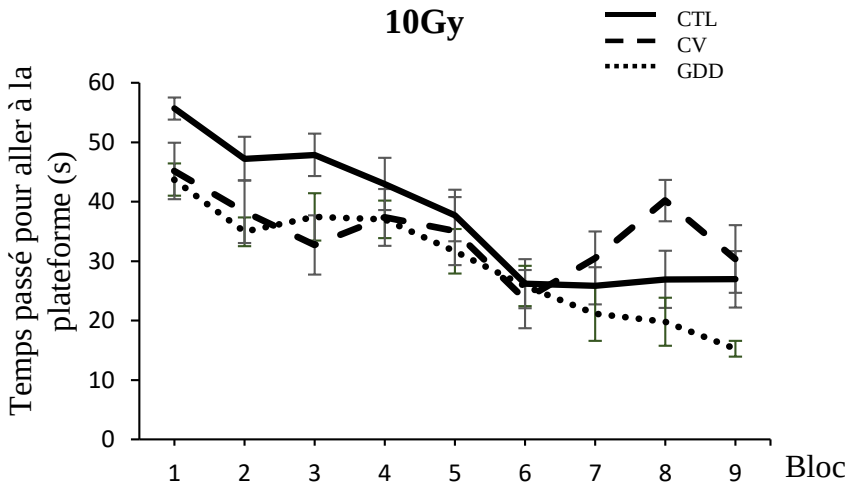


Figure annexe 2. **L'étude du temps passé à la recherche de la plateforme lors de l'apprentissage spatial en protocole massé, testé 3 mois après une irradiation à la dose de 10 Gy.** Ce graphique présente le temps passé à la recherche de la plateforme en fonction des différents blocs réalisés sur une même journée, par les CTL (n = 16) et nos deux modèles irradiés à la dose de 10 Gy (CV : n = 9 et GDD : n = 8). Les résultats sont présentés en moyenne ± SEM.

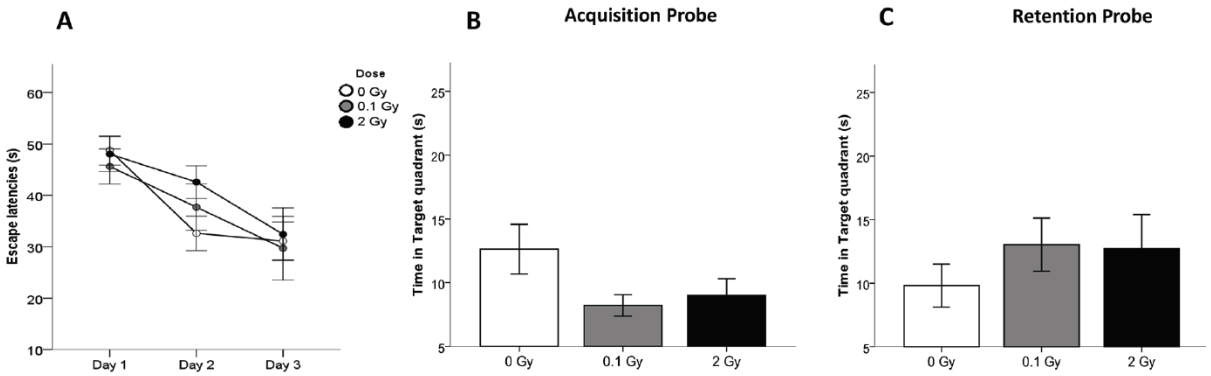
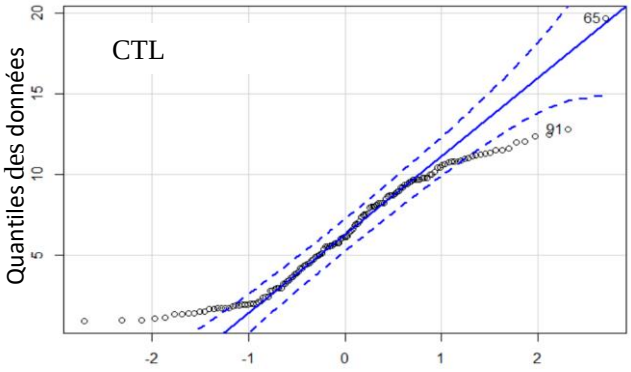
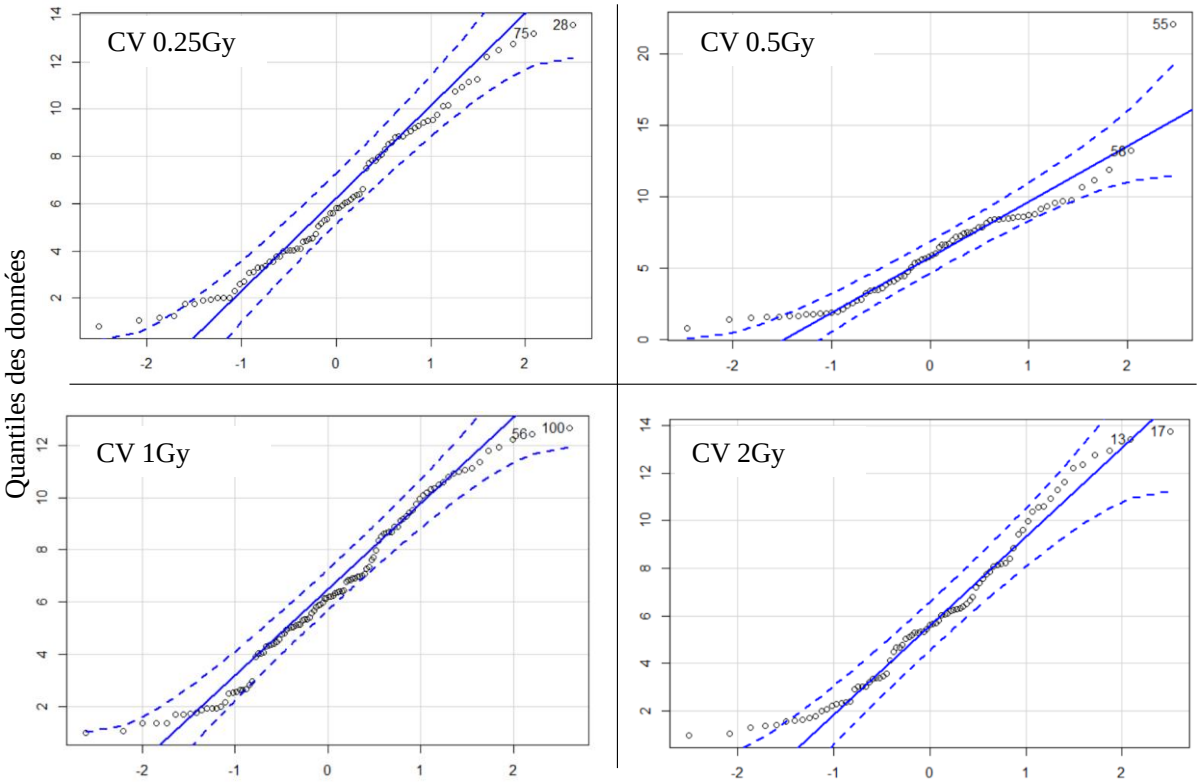


Figure annexe 3. **Cognitive performance after cranial irradiation at 10D with low or high X-ray doses. A.** Escape latencies in the water maze test for acquisition days in 10D- irradiated and control animals. **B.** Time spent in target quadrant after the last training session (Acquisition Probe) and **C.** 48 hours after the last training day (Retention Probe) of 10D- and control mice at 6 months post-irradiation. Data are presented as mean ± SEM. The number of animals used is n = 20 (Casciati et al., 2016).


CTL
Quantiles des données
Quantiles de la loi Normale


CV 0.25Gy
CV 0.5Gy
CV 1Gy
CV 2Gy
Quantiles des données
Quantiles de la loi Normale

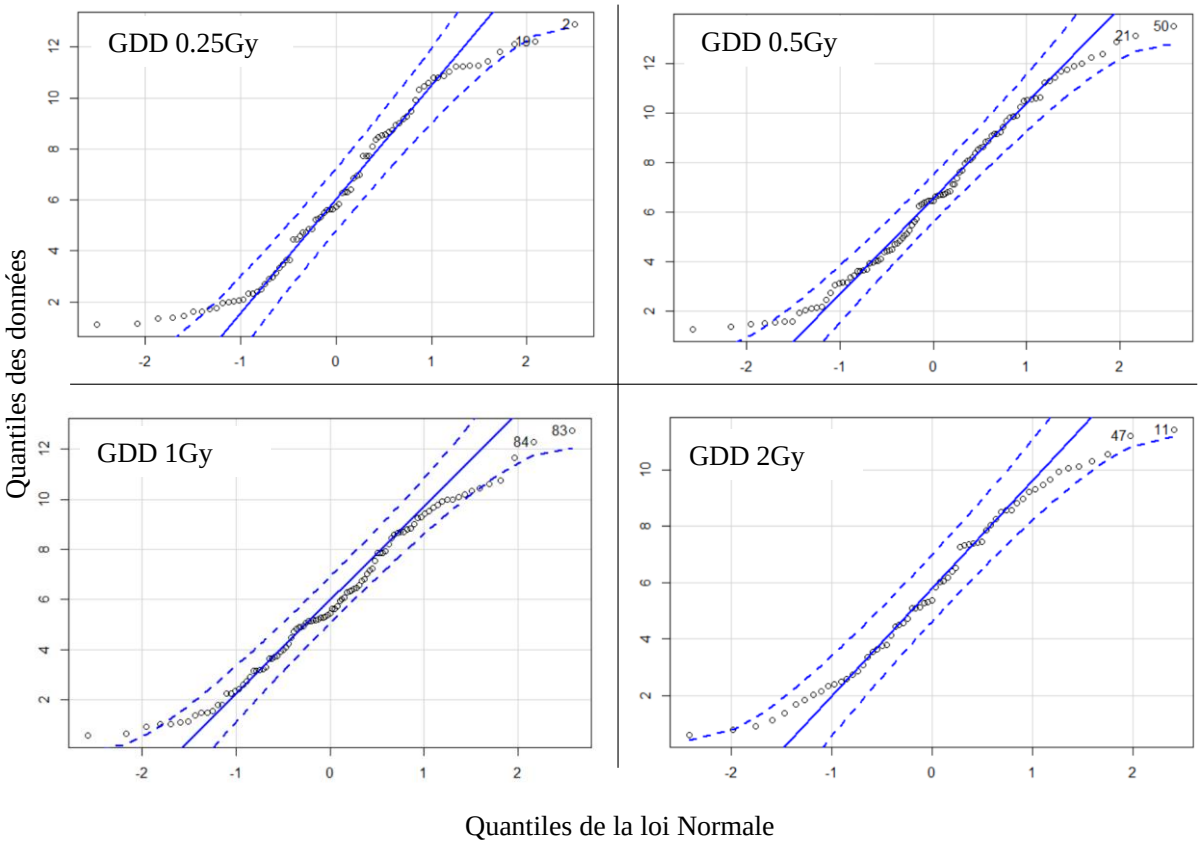
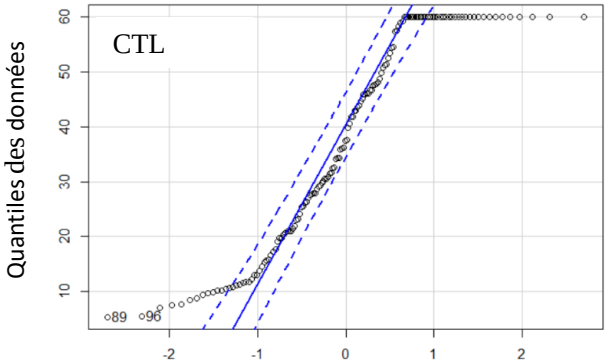
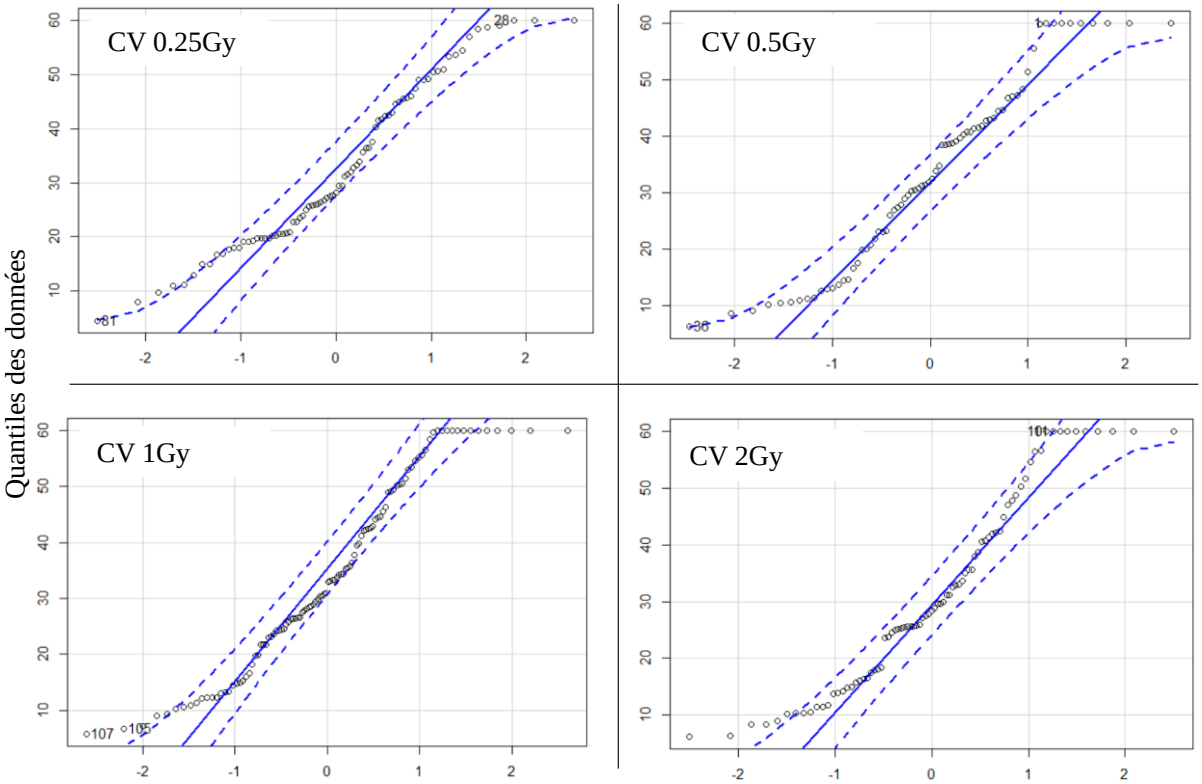


Figure annexe 4. **La distribution des données « distance » comparée à la loi normale (0 , 1) par la méthode du Quantile-Quantile plot (Q-Q plot).** Ces diagrammes présentent la distribution des quantiles observés en fonction de la distribution des quantiles d'une population théorique qui suit la loi Normale. La ligne bleue correspond à la distribution des quantiles associés au modèle théorique selon la loi Normale et les lignes en pointillés bleus représentent l'écart type. Ce type de diagramme permet de comparer la position des quantiles dans la population observée avec leur position dans une population théorique. Si la majorité des quantiles observés sont présents entre les deux lignes en pointillées, nous pouvons estimer que les données suivent la loi Normale.


CTL
Quantiles des données
Quantiles de la loi Normale


CV 0.25Gy
CV 0.5Gy
CV 1Gy
CV 2Gy
Quantiles des données
Quantiles de la loi Normale

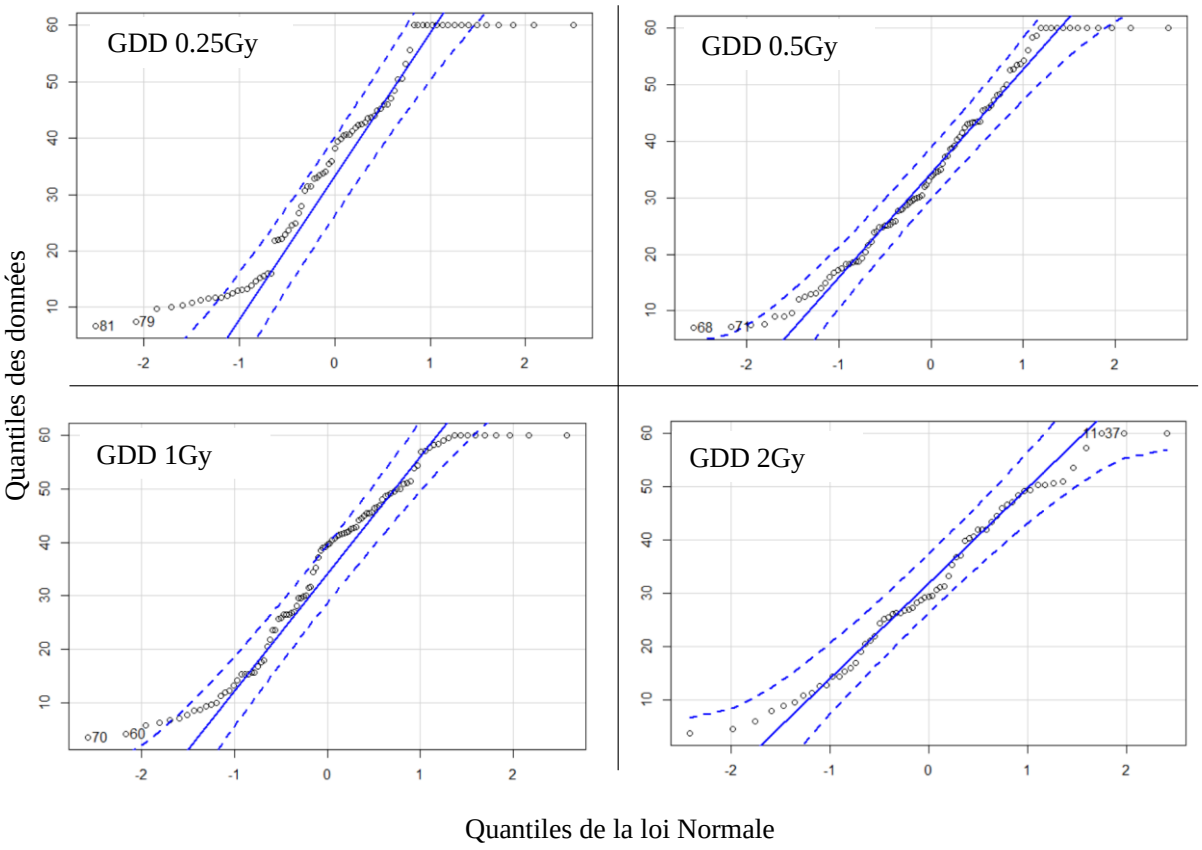
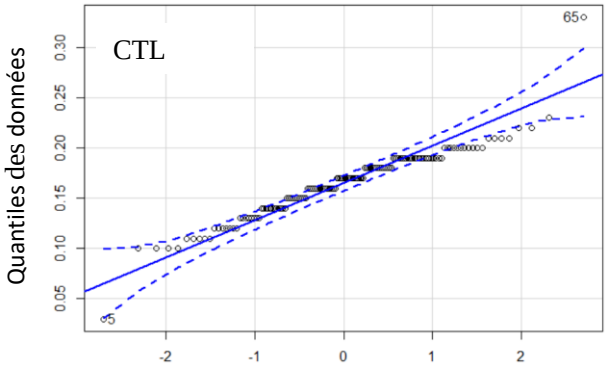
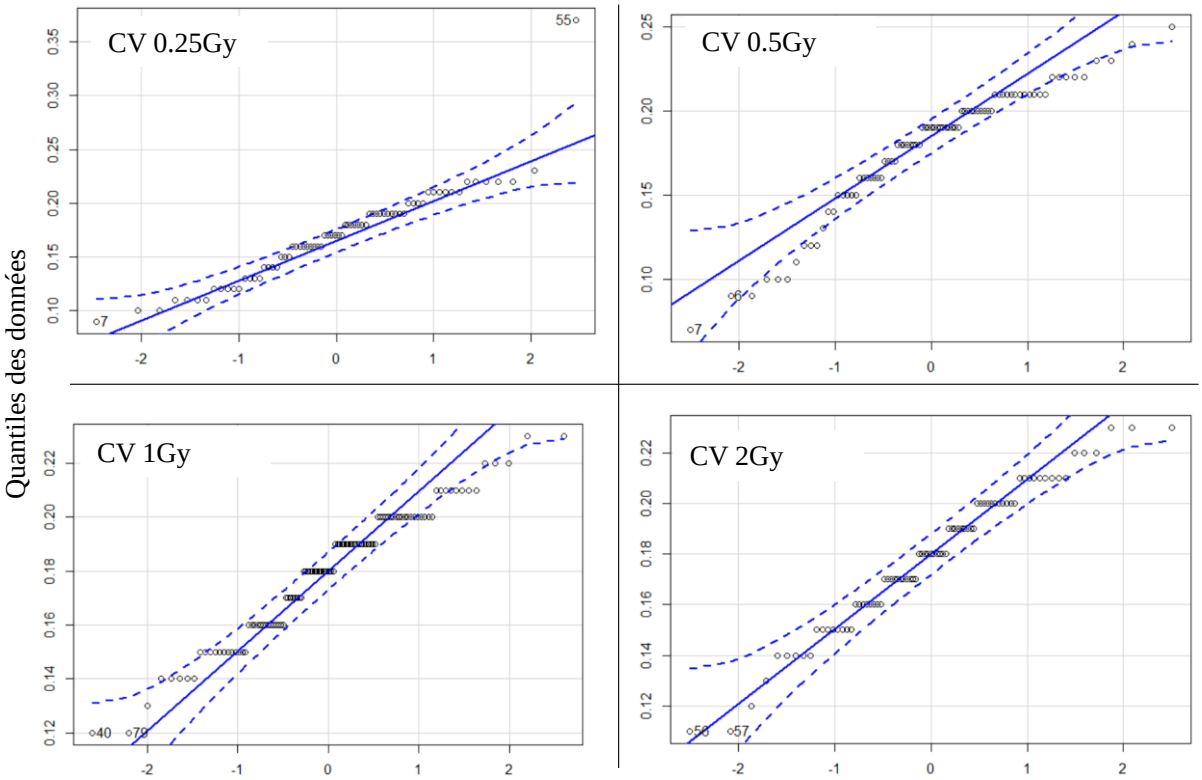


Figure annexe 5. **La distribution des données « temps » comparée à la loi normale (0 , 1) par la méthode du Q-Q plot.** Ces diagrammes présentent la distribution des quantiles observés en fonction de la distribution des quantiles d'une population théorique qui suit la loi Normale. La ligne bleue correspond à la distribution des quantiles associés au modèle théorique selon la loi Normale et les lignes en pointillés bleus représentent l'écart type. Ce type de diagramme permet de comparer la position des quantiles dans la population observée avec leur position dans une population théorique. Si la majorité des quantiles observés sont présents entre les deux lignes en pointillées, nous pouvons estimer que les données suivent la loi Normale.


CTL
Quantiles des données
Quantiles de la loi Normale


CV 0.25Gy
CV 0.5Gy
CV 1Gy
CV 2Gy
Quantiles des données
Quantiles de la loi Normale

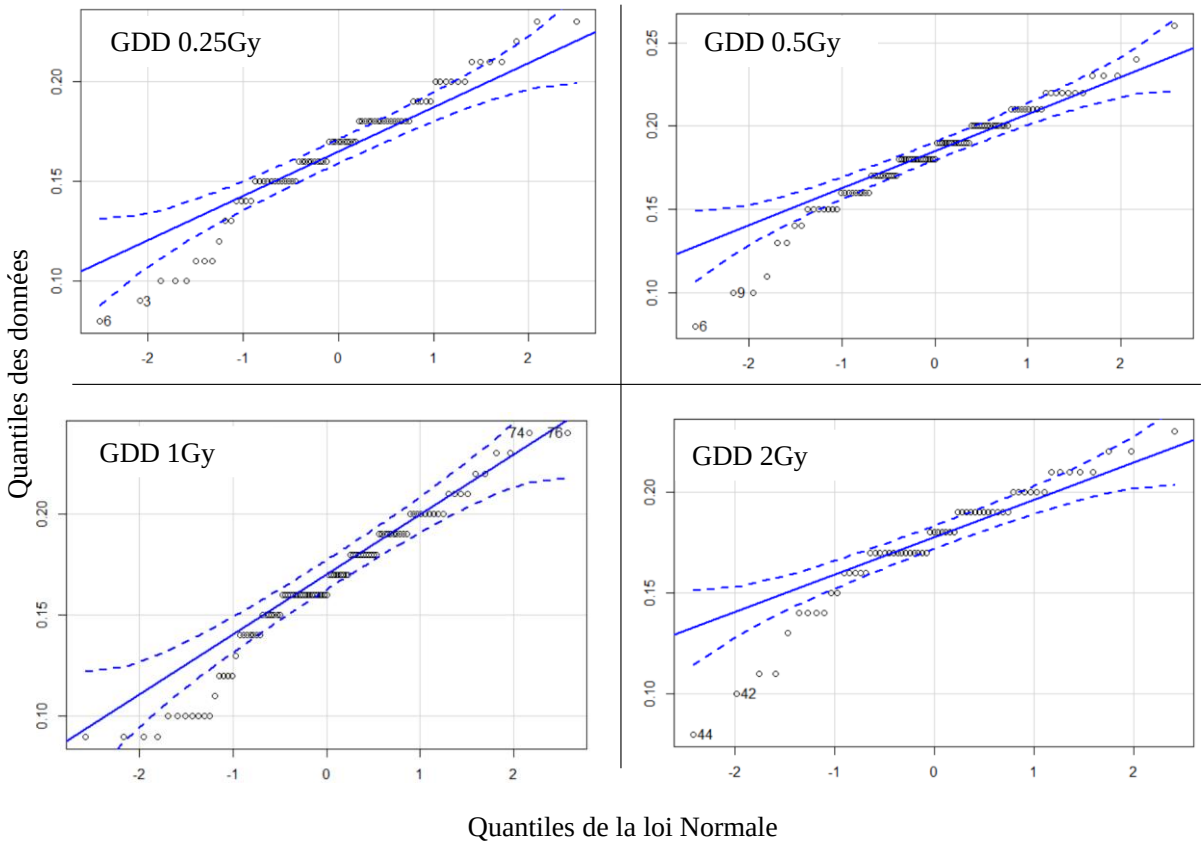
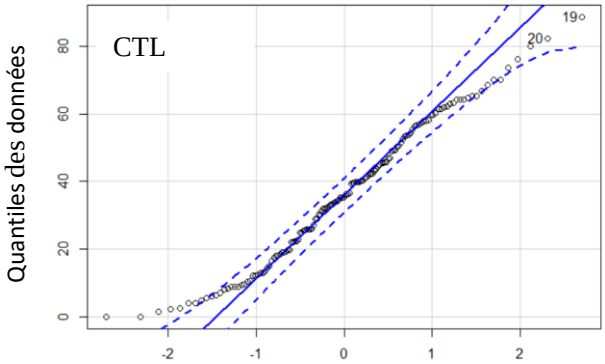
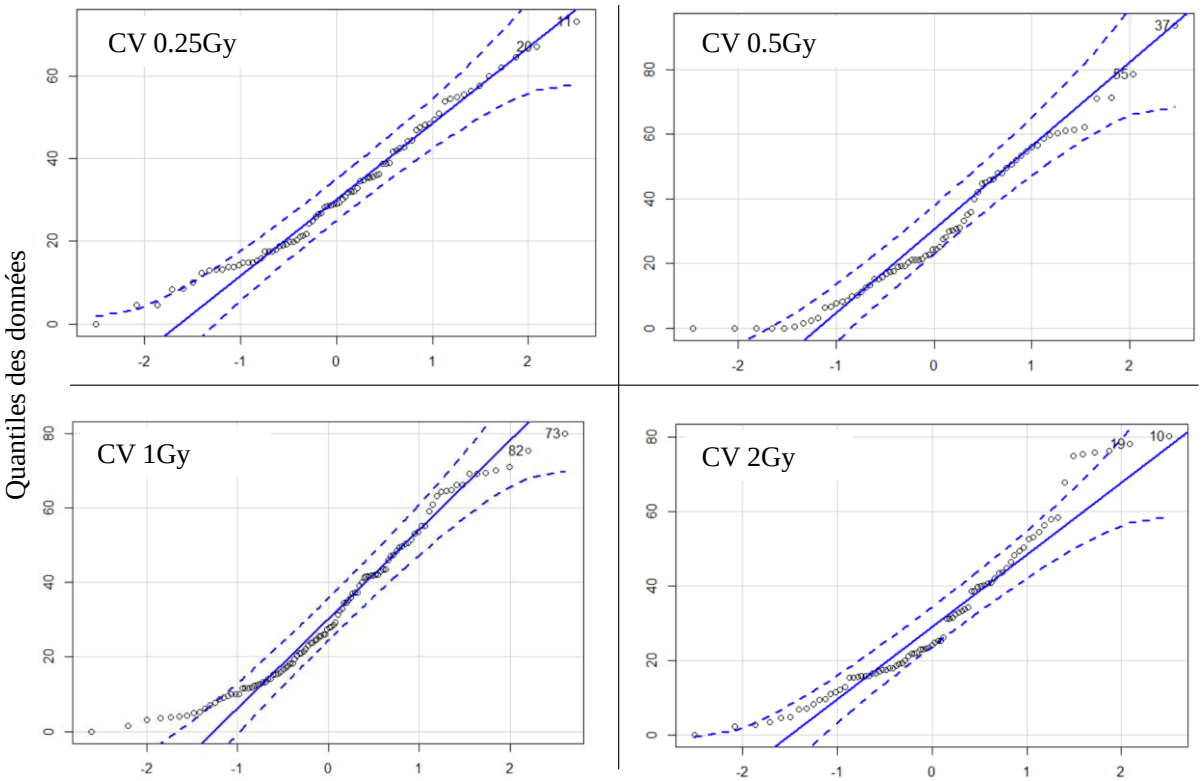


Figure annexe 6. **La distribution des données « vitesse » comparée à la loi normale (0 , 1) par la méthode du Q-Q plot.** Ces diagrammes présentent la distribution des quantiles observés en fonction de la distribution des quantiles d'une population théorique qui suit la loi Normale. La ligne bleue correspond à la distribution des quantiles associés au modèle théorique selon la loi Normale et les lignes en pointillés bleus représentent l'écart type. Ce type de diagramme permet de comparer la position des quantiles dans la population observée avec leur position dans une population théorique. Si la majorité des quantiles observés sont présents entre les deux lignes en pointillées, nous pouvons estimer que les données suivent la loi Normale.


CTL
Quantiles des données
Quantiles de la loi Normale


CV 0.25Gy
CV 0.5Gy
CV 1Gy
CV 2Gy
Quantiles des données
Quantiles de la loi Normale

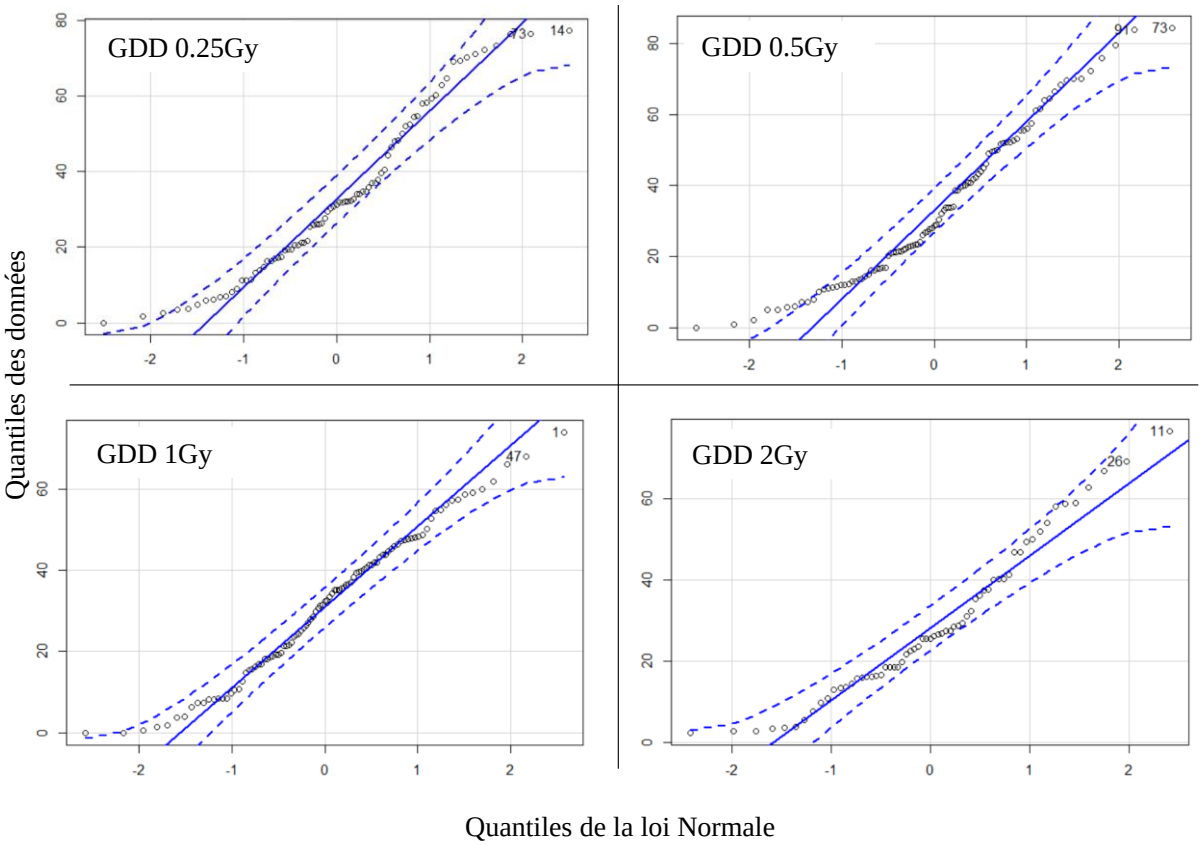
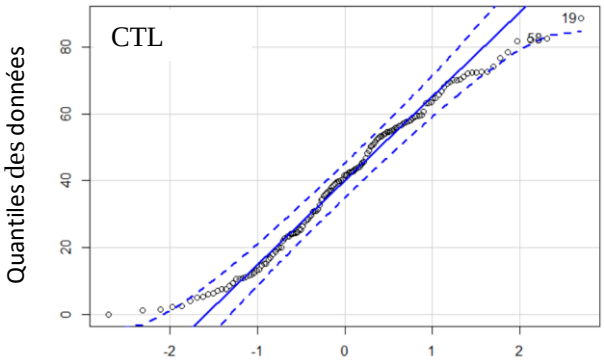
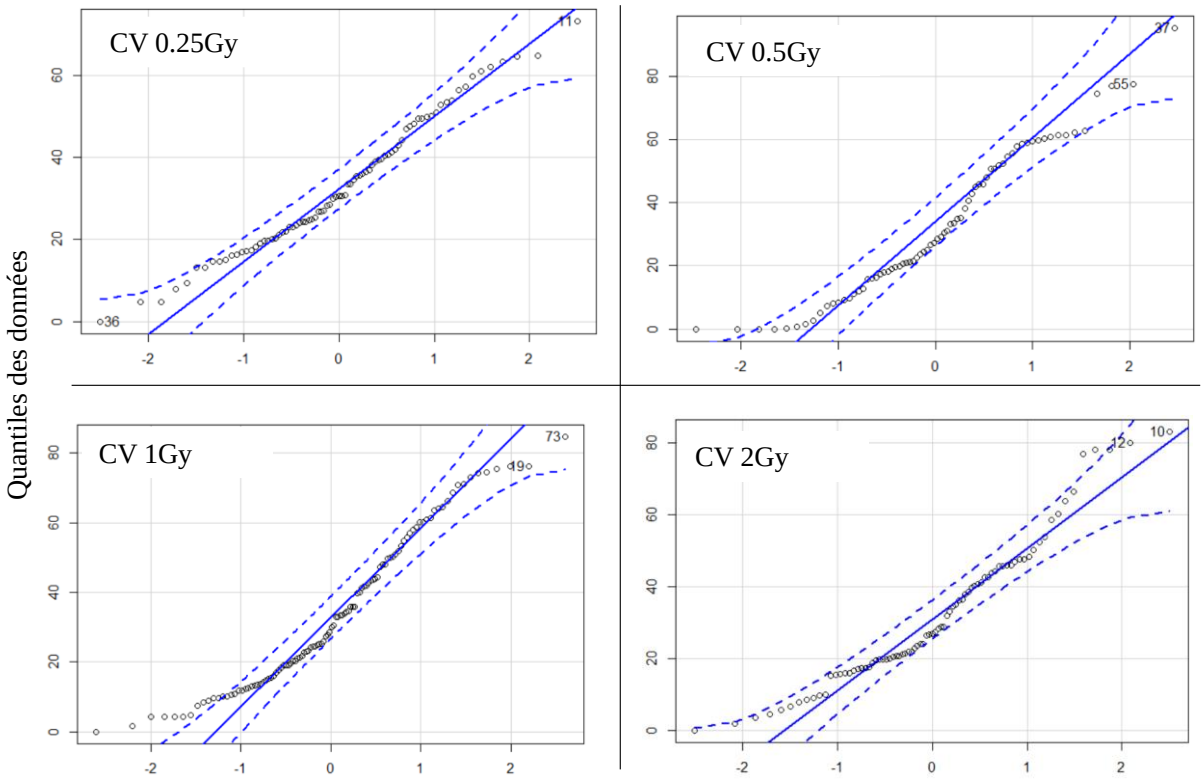


Figure annexe 7. **La distribution des données « distance parcourue en périphérie en% » comparée à la loi normale (0 , 1) par la méthode du Q-Q plot.** Ces diagrammes présentent la distribution des quantiles observés en fonction de la distribution des quantiles d'une population théorique qui suit la loi Normale. La ligne bleue correspond à la distribution des quantiles associés au modèle théorique selon la loi Normale et les lignes en en pointillés bleus représentent l'écart type. Ce type de diagramme permet de comparer la position des quantiles dans la population observée avec leur position dans une population théorique. Si la majorité des quantiles observés sont présents entre les deux lignes en pointillées, nous pouvons estimer que les données suivent la loi Normale.


CTL
Quantiles des données
Quantiles de la loi Normale


CV 0.25Gy
CV 0.5Gy
CV 1Gy
CV 2Gy
Quantiles des données
Quantiles de la loi Normale

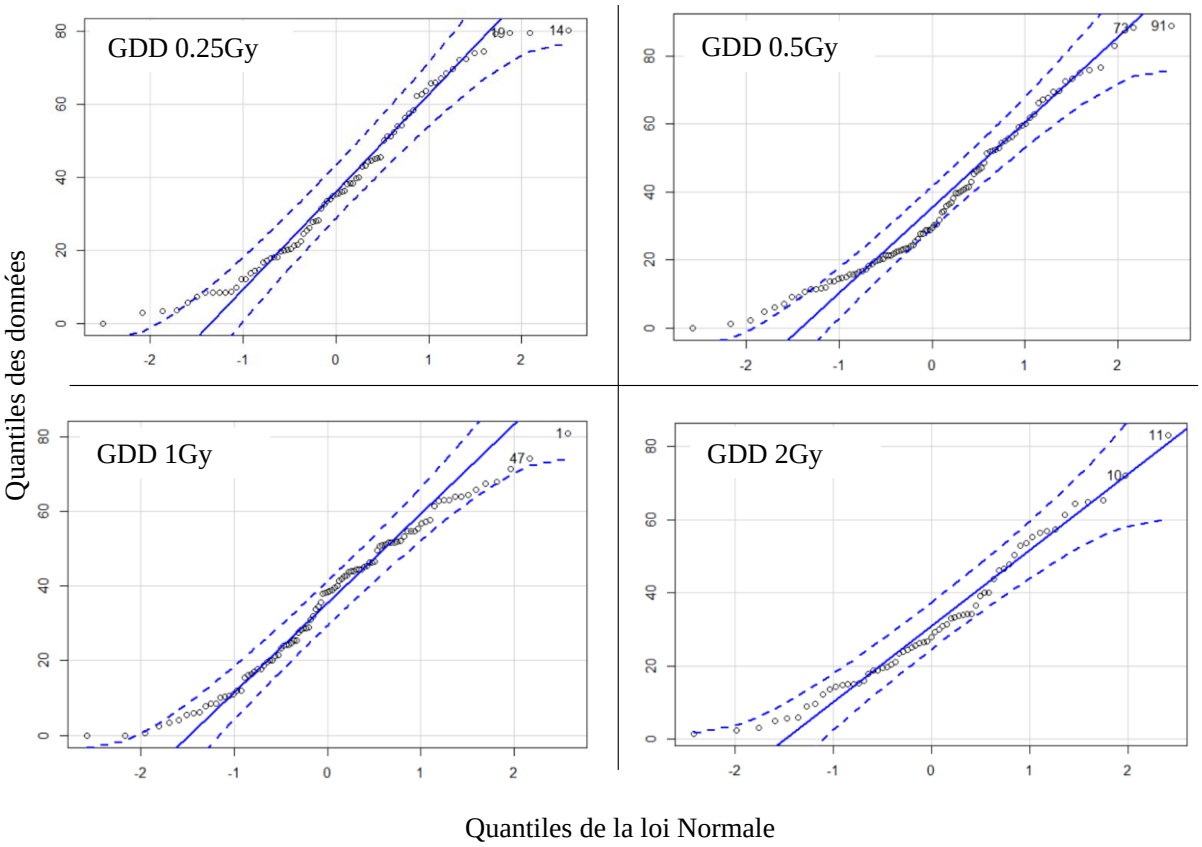


Figure annexe 8. **La distribution des données « temps passé en périphérie en% » comparée à la loi normale (0 , 1) par la méthode du Q-Q plot.** Ces diagrammes présentent la distribution des quantiles observés en fonction de la distribution des quantiles d'une population théorique qui suit la loi Normale. La ligne bleue correspond à la distribution des quantiles associés au modèle théorique selon la loi Normale et les lignes en pointillés bleus représentent l'écart type. Ce type de diagramme permet de comparer la position des quantiles dans la population observée avec leur position dans une population théorique. Si la majorité des quantiles observés sont présents entre les deux lignes en pointillées, nous pouvons estimer que les données suivent la loi Normale.

Listes des tableaux annexes

Tableau annexe 1. Les analyses statistiques réalisées pour étudier les effets d'une exposition du CV ou du GDD à des doses ≤ 2 Gy sur l'apprentissage et la thigmotaxie..... 169
Tableau annexe 2. L'étude de l'effet d'une exposition du CV ou du GDD (modèle) à une dose de 0.25, 0.5, 1 ou 2 Gy 170
Tableau annexe 3. L'étude de l'effet dose au sein de nos modèles exposés aux doses de 0.25, 0.5, 1 et 2 Gy 171
Tableau annexe 4. L'étude de l'interaction modèles*doses (≤ 2 Gy). 172
Tableau annexe 5. Les analyses statistiques réalisées pour étudier la mémoire spatiale à long-terme des animaux CTL et exposés à une dose ≤ 2 Gy..... 173
Tableau annexe 6. Les analyses statistiques réalisées pour étudier les effets d'une exposition du CV ou du GDD à la dose de 10 Gy sur l'apprentissage et la thigmotaxie 174
Tableau annexe 7. L'étude de l'effet du modèle à la dose de 10 Gy 175
Tableau annexe 8. Les analyses statistiques réalisées pour étudier la mémoire spatiale à long-terme des animaux CTL et exposés à la dose de 10 Gy 176

Dose (Gy)	Groupe	n	Distance parcourue	Temps de parcours	Vitesse de nage	Thigmotaxie distance	Thigmotaxie temps
0	**CTL**	**16**	$F_{(8,120)} = 11.17$ ***	$F_{(8,120)} = 12.81$ ***	$F_{(8,120)} = 5.10$ ***	$F_{(8,120)} = 14.84$ ***	$F_{(8,120)} = 12.81$ ***
0.25	**CV**	**9**	$F_{(8,64)} = 8.68$ ***	$F_{(8,64)} = 8.01$ ***	$F_{(8,64)} = 3.38$ * p = 0.003	$F_{(8,64)} = 9.78$ ***	$F_{(8,64)} = 8.12$ **
	GDD	**9**	$F_{(8,64)} = 10.70$ ***	$F_{(8,64)} = 7.48$ ***	$F_{(8,64)} = 3.44$ * p = 0.002	$F_{(8,64)} = 17.70$ ***	$F_{(8,64)} = 13.8$ ***
0.50	**CV**	**8**	$F_{(8,56)} = 6.79$ ***	$F_{(8,56)} = 5.78$ ***	$F_{(8,56)} = 6.05$ ***	$F_{(8,56)} = 7.50$ ***	$F_{(8,56)} = 7.53$ ***
	GDD	**11**	$F_{(8,80)} = 3.30$ ***	$F_{(8,80)} = 3.32$ ***	$F_{(8,80)} = 3.16$ * p = 0.004	$F_{(8,80)} = 14.80$ ***	$F_{(8,80)} = 13.40$ ***
1.00	**CV**	**12**	$F_{(8,88)} = 11.50$ ***	$F_{(8,88)} = 12.90$ ***	$F_{(8,88)} = 3.48$ * p = 0.002	$F_{(8,88)} = 25.70$ ***	$F_{(8,88)} = 22.70$ ***
	GDD	**11**	$F_{(8,80)} = 6.48$ ***	$F_{(8,80)} = 5.09$ ***	$F_{(8,80)} = 2.91$ * p = 0.007	$F_{(8,80)} = 9.73$ ***	$F_{(8,80)} = 10.8$ ***
2.00	**CV**	**9**	$F_{(8,64)} = 4.98$ ***	$F_{(8,64)} = 4.52$ ***	$F_{(8,64)} = 1.94$ **p = 0.07, ns**	$F_{(8,64)} = 7.12$ ***	$F_{(8,64)} = 5.07$ ***
	GDD	**8**	$F_{(8,56)} = 5.48$ ***	$F_{(8,56)} = 4.99$ * p = 0.00014	$F_{(8,56)} = 4.39$ * p = 0.001	$F_{(8,56)} = 6.03$ ***	$F_{(8,56)} = 6.97$ ***

Tableau annexe 1. **Les analyses statistiques réalisées pour étudier les effets d'une exposition du CV ou du GDD à des doses ≤ 2 Gy sur l'apprentissage et la thigmotaxie**. Ce tableau présente l'ensemble des résultats obtenus par l'ANOVA à mesures répétées pour les paramètres : la distance parcourue, le temps passé et la vitesse de nage, la distance et le temps passé en périphérie, pour toutes nos conditions expérimentales. Le seuil de significativité est fixé à la valeur de 0.05. *** $p < 0.0001$.

	Effet du modèle à la dose de 0.25Gy			**Effet du modèle à la dose de 0.5Gy**		
Paramètres analysés	Bloc	Modèle	Bloc*Modèle	Bloc	Modèle	Bloc*Modèle
Distance	$F_{(8,248)} = 25.061$ ***	$F_{(2,31)} = 0.107$ p = 0.899, ns	$F_{(16,248)} = 1.311$ p = 0.191, ns	$F_{(8,256)} = 17.564$ ***	$F_{(2,32)} = 0.448$ p = 0.643, ns	$F_{(16,256)} = 0.892$ p = 0.579, ns
Temps	$F_{(8,248)} = 19.578$ ***	$F_{(2,31)} = 1.607$ p = 0.217, ns	$F_{(16,248)} = 1.499$ p = 0.100, ns	$F_{(8,256)} = 13.824$ ***	$F_{(2,32)} = 0.473$ p = 0.4728, ns	$F_{(16,256)} = 1.105$ p = 0.350, ns
Vitesse	$F_{(8,248)} = 9.578$ ***	$F_{(2,31)} = 1.191$ p = 0.317, ns	$F_{(16,248)} = 0.916$ p = 0.551, ns	$F_{(8,256)} = 12.715$ ***	$F_{(2,32)} = 2.200$ p = 0.127, ns	$F_{(16,256)} = 1.904$ *** p = 0.030**
Thigmotaxie Distance	$F_{(8,248)} = 35.026$ * p < 0.0001	$F_{(2,31)} = 0.882$ p = 0.424, ns	$F_{(16,248)} = 1.508$ p = 0.970, ns	$F_{(8,256)} = 32.605$ ***	$F_{(2,32)} = 0.798$ p = 0.459, ns	$F_{(16,256)} = 0.581$ p = 0.897, ns
Thigmotaxie Temps	$F_{(8,248)} = 28.390$ ***	$F_{(2,31)} = 1.379$ p = 0.267, ns	$F_{(16,248)} = 1.196$ p = 0.270, ns	$F_{(8,256)} = 28.908$ ***	$F_{(2,32)} = 1.230$ p = 0.306, ns	$F_{(16,256)} = 0.622$ p = 0.865, ns

	Effet du modèle à la dose de 1Gy			**Effet du modèle à la dose de 2Gy**		
Paramètres analysés	Bloc	Modèle	Bloc*Modèle	Bloc	Modèle	Bloc*Modèle
Distance	$F_{(8,288)} = 26.148$ ***	$F_{(2,36)} = 0.590$ p = 0.560, ns	$F_{(16,288)} = 0.487$ p = 0.953, ns	$F_{(8,240)} = 15.471$ ***	$F_{(2,30)} = 0.596$ p = 0.557, ns	$F_{(16,240)} = 1.217$ p = 0.3825, ns
Temps	$F_{(8,288)} = 23.273$ ***	$F_{(2,36)} = 0.541$ p = 0.587, ns	$F_{(16,288)} = 0.906$ p = 0.5630, ns	$F_{(8,240)} = 13.647$ ***	$F_{(2,30)} = 1.618$ p = 0.215, ns	$F_{(16,240)} = 1.526$ p = 0.137, ns
Vitesse	$F_{(8,288)} = 8.189$ ***	$F_{(2,36)} = 1.707$ p = 0.196, ns	$F_{(16,288)} = 1.393$ p = 0.196, ns	$F_{(8,240)} = 6.650$ ***	$F_{(2,30)} = 2.023$ p = 0.150, ns	$F_{(16,240)} = 1.664$ **p = 0.081, ns**
Thigmotaxie Distance	$F_{(8,288)} = 42.710$ ***	$F_{(2,36)} = 1.060$ p = 0.357, ns	$F_{(16,288)} = 1.253$ p = 0.227, ns	$F_{(8,240)} = 22.005$ ***	$F_{(2,30)} = 1.253$ p = 0.300, ns	$F_{(16,240)} = 1.297$ p = 0.300, ns
Thigmotaxie Temps	$F_{(8,288)} = 38.949$ ***	$F_{(2,36)} = 1.099$ p = 0.344, ns	$F_{(16,288)} = 1.078$ p = 0.376, ns	$F_{(8,240)} = 19.264$ ***	$F_{(2,30)} = 2.178$ p = 0.370	$F_{(16,240)} = 1.085$ p = 0.370, ns

Tableau annexe 2. **L'étude de l'effet d'une exposition du CV ou du GDD (modèle) à une dose de 0.25, 0.5, 1 ou 2 Gy.** Ces tableaux présentent l'ensemble des résultats de l'ANOVA à mesures répétées à un facteur (modèle) pour chaque dose testée. Nous avons analysé l'effet du modèle pour une dose fixe sur tous les paramètres : la distance parcourue et le temps passé à la recherche de la plateforme, la vitesse de nage, la distance et le temps passé en périphérie, pour toutes nos conditions expérimentales. Le seuil de significativité est fixé à la valeur de 0.05. *** p < 0.0001.

A

	Effet de la dose dans le modèle CV		
Paramètres analysés	Bloc	Dose	Bloc*Dose
Distance	$F_{(8,392)} = 35.288$ ***	$F_{(4,49)} = 0.172$ p = 0.952, ns	$F_{(32,392)} = 0.956$ p = 0.809, ns
Temps	$F_{(8,392)} = 30.085$ ***	$F_{(4,49)} = 0.754$ p = 0.560, ns	$F_{(32,392)} = 1.243$ p = 0.260, ns
Vitesse	$F_{(8,392)} = 15.594$ ***	$F_{(4,49)} = 1.317$ p = 0.277, ns	$F_{(32,392)} = 1.855$ *** p = 0.006**
Thigmotaxie Distance	$F_{(8,392)} = 50.124$ ***	$F_{(4,49)} = 0.539$ p = 0.708, ns	$F_{(32,392)} = 1.209$ p = 0.309, ns
Thigmotaxie Temps	$F_{(8,392)} = 42.602$ ***	$F_{(4,49)} = 0.987$ p = 0.443, ns	$F_{(32,392)} = 1.018$ p = 0.443, ns

B

	Effet de la dose dans le modèle GDD		
Paramètres analysés	Bloc	Dose	Bloc*Dose
Distance	$F_{(8,400)} = 29.087$ ***	$F_{(4,50)} = 0.738$ p = 0.570, ns	$F_{(32,400)} = 1.114$ p = 0.465, ns
Temps	$F_{(8,400)} = 23.620$ ***	$F_{(4,50)} = 0.732$ p = 0.574, ns	$F_{(32,400)} = 1.245$ p = 0.259, ns
Vitesse	$F_{(8,400)} = 13.943$ ***	$F_{(4,50)} = 1.454$ p = 0.345, ns	$F_{(32,400)} = 1.013$ p = 0.451, ns
Thigmotaxie Distance	$F_{(8,400)} = 53.780$ ***	$F_{(4,50)} = 0.915$ p = 0.462, ns	$F_{(32,400)} = 1.259$ p = 0.242, ns
Thigmotaxie Temps	$F_{(8,400)} = 49.172$ ***	$F_{(4,50)} = 0.863$ p = 0.493, ns	$F_{(32,400)} = 1.044$ p = 0.493, ns

Tableau annexe 3. **L'étude de l'effet dose au sein de nos modèles exposés aux doses de 0.25, 0.5, 1 et 2 Gy.** Ces tableaux présentent l'ensemble des résultats de l'ANOVA à mesures répétées à un facteur (dose) pour (A) le modèle d'irradiation du cerveau entier (n = 38) et (B) le modèle d'irradiation localisée (n = 39). Nous avons analysé l'effet d'une exposition du CV ou du GDD avec une gamme de doses de 0.25 à 1 Gy sur les paramètres : la distance parcourue et le temps passé à la recherche de la plateforme, la vitesse de nage, la distance et le temps passé en périphérie. Le seuil de significativité est fixé à la valeur de 0.05. *** $p < 0.0001$.

	Etude de l'intéraction entre le modèle et la dose						
Paramètres analysées	Bloc	Modèle	Dose	Modèle * Dose	Bloc *Modèle	Bloc * Dose	Bloc * Modèle * Dose
Distance	*	-	-	-	-	-	-
Temps	*	-	-	-	-	*	-
Vitesse	*	-	-	-	-	*	-
Thigmotaxie Distance	*	-	-	-	-	-	-
Thigmotaxie Temps	*	-	-	-	-	-	-

Tableau annexe 4. **L'étude de l'interaction modèles*doses (≤ 2 Gy).** Ce tableau présente l'ensemble des résultats de l'ANOVA à mesures répétées à deux facteurs (modèle*dose) lorsque nous prenons en compte l'ensemble des groupes. Nous avons analysé l'effet de l'interaction modèle*dose sur tous les paramètres : la distance parcourue et le temps passé à la recherche de la plateforme, la vitesse de nage, la distance et le temps passé en périphérie. Le seuil de significativité est fixé à la valeur de 0.05.

A

			Distance dans le quadrant cible (%)			
Dose (Gy)	**Groupes**	**n**	**Moyenne ± SEM**	**Comparaison par rapport au niveau de chance**	**Comparaison avec les CTL**	**Comparaison des modèles**
0	CTL	16	42.62 ± 3.88	t = 4.393 ; p < 0.001		
0.25	CV	9	39.68 ± 3.04	t = 4.546 ; p < 0.002	U = 72.000 ; p = 0.977, ns	t = 0.701 ; p = 0.493, ns
	GDD	9	36.07 ± 3.79	t = 2.753 ; p = 0.025	t = -1.065 ; p = 0.298, ns	
0.50	CV	8	38.97 ± 4.65	t = 3.001 ; p = 0.020	t = -0.556 ; p = 0.584, ns	t = -0.033 ; p = 0.974, ns
	GDD	11	39.19 ± 4.45	t = 3.042 ; p <0.012	U = 79.000 ; p = 0.675, ns	
1.00	CV	12	34.93 ± 3.99	t = 2.381 ; p = 0.036	U = 72.000 ; p = 0.275, ns	t = 1.629 ; p = 0.118, ns
	GDD	11	27.10 ± 2.01	**t = 0.992 ; p = 0.345, ns**	**U = 30.000 ; p = 0.005**	
2.00	CV	9	41.67 ± 3.19	t = 4.931 ; p = 0.001	U = 72.000 ; p = 0.977, ns	t = 0.116 ; p = 0.909, ns
	GDD	8	40.82 ± 6.43	t = 2.400 ; p = 0.047	t = -0.409 ; p = 0.687, ns	

B

			Distance dans le disque cible (%)			
Dose (Gy)	**Groupes**	**n**	**Moyenne ± SEM**	**Comparaison par rapport au niveau de chance**	**Comparaison avec les CTL**	**Comparaison des modèles**
0	CTL	16	45.17 ± 5.30	t = 3.684 ; p = 0.002		
0.25	CV	9	42.55 ± 3.24	t = 5.113 ; p < 0.001	t = 0.337 ; p = 0.739, ns	t = 1.068 ; p = 0.301, ns
	GDD	9	34.95 ± 3.79	**t = 1.594 ; p = 0.150. ns**	t = 1.177 ; p = 0.251, ns	
0.50	CV	8	41.06 ± 5.28	t = 2.843 ; p = 0.025	t = 0.470 ; p = 0.643, ns	t = 0.305 ; p = 0.764, ns
	GDD	11	38.78 ± 4.63	t = 2.837 ; p = 0.018	t = -0.825 ; p = 0.417, ns	
1.00	CV	12	37.74 ± 5.04	t = 2.420 ; p = 0.034	t = 0.953 ; p = 0.350, ns	t = -1.597 ; p = 0.125, ns
	GDD	11	28.01 ± 2.59	**t = 1.108 ; p = 0.294. ns**	**t = -2.448 ; p = 0.022**	
2.00	CV	9	41.01 ± 6.05	t = 2.495 ; p = 0.037	t = 0.476 ; p = 0.639, ns	t = 0.301 ; p = 0.767, ns
	GDD	8	39.06 ± 6.95	**t = 1.758 ; p = 0.122. ns**	t = -0.759 ; p = 0.456, ns	

C

			Nombre de crossings		
Dose (Gy)	**Groupes**	**n**	**Moyenne ± SEM**	**Comparaison avec les CTL**	**Comparaison des modèles**
0	CTL	16	1.56 ± 0.34		
0.25	CV	9	1.56 ± 0.28	U = 67.500 ; p = 0.811, ns	U = 37.000 ; p = 0.762, ns
	GDD	9	1.44 ± 0.36	U = 70.500 ; p = 0.953, ns	
0.50	CV	8	1.50 ± 0.42	U = 64.000 ; p = 0.975, ns	U = 35.000 ; p = 0.958, ns
	GDD	11	1.45 ± 0.41	U = 84.000 ; p = 0.859, ns	
1.00	CV	12	1.33 ± 0.22	U = 92.500 ; p = 0.884, ns	U = 40.500 ; p = 0.107, ns
	GDD	11	0.82 ± 0.36	U = 58.000 ; p = 0.128, ns	
2.00	CV	9	1.33 ± 0.44	U = 64.500 ; p = 0.682, ns	U = 23.000 ; p = 0.198, ns
	GDD	8	0.50 ± 0.25	**U = 33.500 ; p = 0.055, ns**	

Tableau annexe 5. **Les analyses statistiques réalisées pour étudier la mémoire spatiale à long-terme des animaux CTL et exposés à une dose ≤ 2 Gy**. Ces tableaux présentent l'ensemble des résultats statistiques obtenus à la suite de l'étude de la distance parcourue en moyenne dans (A) le quadrant cible et (B) dans le disque cible et (C) le nombre de crossings sur la position de la plateforme, par tous les groupes expérimentaux. Un One-simple t-test (25%) a été utilisé pour comparer les données des groupes au niveau de chance. Un t-test a été utilisé pour comparer les données des groupes avec celles des CTL, dans le cas où la distribution des données suivait la loi normale. Dans le cas contraire, un Mann-Whitney a été appliqué. Le seuil de significativité est fixé à la valeur de 0.05.

Dose (Gy)	Groupes	n	Distance	Temps de parcours	Vitesse	Thigmotaxie distance	Thigmotaxie temps
0	**CTL**	**16**	$F_{(8,120)} = 11.17$ ***	$F_{(8,120)} = 12.81$ ***	$F_{(8,120)} = 5.10$ ***	$F_{(8,120)} = 14.84$ ***	$F_{(8,120)} = 12.81$ ***
10.00	**CV**	**9**	$F_{(8,64)} = 1.87$ **p = 0.081, ns**	$F_{(8,64)} = 1.98$ **p = 0.063, ns**	$F_{(8,64)} = 3.46$ * p = 0.002	$F_{(8,64)} = 1.83$ **p = 0.091, ns**	$F_{(8,64)} = 8.71$ ***
	GDD	**8**	$F_{(8,56)} = 5.78$ ***	$F_{(8,56)} = 5.10$ ***	$F_{(8,56)} = 2.37$ *p = 0.028	$F_{(8,56)} = 1.,8$ ***	$F_{(8,56)} = 11.9$ ***

Tableau annexe 9. **Les analyses statistiques réalisées pour étudier les effets d'une exposition du CV ou du GDD à la dose de 10 Gy sur l'apprentissage et la thigmotaxie**. Ce tableau présente l'ensemble des résultats de l'ANOVA à mesures répétées pour la distance parcourue, le temps passé et la vitesse de nage, la distance et le temps passé en périphérie, pour le modèle d'irradiation du CV (n = 9) et le modèle d'irradiation localisé du GDD (n = 8). Le seuil de significativité est fixé à la valeur de 0.05. *** $p < 0.0001$.

	Effet du modèle à la dose de 10Gy		
Paramètres analysés	Bloc	Modèle	Bloc*Modèle
Distance	$F_{(8,240)} = 12,313$ ***	$F_{(2,30)} = 1,203$ p = 0.314 , ns	$F_{(16,240)} = 1.550$ **p = 0.07, ns**
Temps	$F_{(8,240} = 11.049$ ***	$F_{(2,30)} = 2.784$ p = 0.078, ns	$F_{(16,240)} = 1.422$ p = 0.132, ns
Vitesse	$F_{(8,240)} = 7.081$ ***	$F_{(2,30)} = 1.915$ p = 0.222, ns	$F_{(16,240)} = 1.263$ p = 0.222, ns
Thigmotaxie Distance	$F_{(8,240)} = 19.389$ ***	$F_{(2,30)} = 1.222$ p = 0.309	$F_{(16,240)} = 0.156$ p = 0.082, ns
Thigmotaxie Temps	$F_{(8,240)} = 26.898$ ***	$F_{(2,30)} = 1.755$ p = 0.190, ns	$F_{(16,240)}=0.731$ p = 0.761, ns

Tableau annexe 7. **L'étude de l'effet du modèle à la dose de 10 Gy.** Ce tableau présente l'ensemble des résultats de l'ANOVA à mesures répétées à un facteur (modèle) pour la dose de 10 Gy. Nous avons analysé l'effet du modèle sur tous les paramètres : la distance parcourue et le temps passé à la recherche de la plateforme, la vitesse de nage, la distance et le temps passé en périphérie. Le seuil de significativité est fixé à la valeur de 0.05. CTL : n = 16 ; CV : n = 9 et GDD : n = 8. *** $p < 0.0001$.

A

			Distance dans le quadrant cible (%)			
Dose (Gy)	**Groupes**	**n**	**Moyenne ± SEM**	**Comparaison par rapport au niveau de chance**	**Comparaison avec les CTL**	**Comparaison des modèles**
0	CTL	16	42.62 ± 3.88	t = 4.393 ; p<0.001		
10.00	CV	9	34.30 ± 2.78	t = 3.166 ; p = 0.013	U = 53.000 ; p = 0.295, ns	t = 0,126 ; p = 0.901, ns
	GDD	8	33.70 ± 3.50	**t = 2.324 ; p = 0.053**	U = 43.000 ; p = 0.209, ns	

B

			Distance dans le disque cible (%)			
Dose (Gy)	**Groupes**	**n**	**Moyenne ± SEM**	**Comparaison par rapport au niveau de chance**	**Comparaison avec les CTL**	**Comparaison des modèles**
0	CTL	16	45.17±5.30	t=3.684 ; p = 0.002		
10.00	CV	9	23.10 ± 5.94	t=-0.301 ; p = 0.771, ns	t=2.533 ; p = 0.019	t = 0,182 ; p = 0.858, ns
	GDD	8	21.51 ± 5.23	**t=-0.587 ; p = 0.576, ns**	t=62.676 ; p = 0.014	

C

			Nombre de crossings		
Dose (Gy)	**Groupes**	**n**	**Moyenne ± SEM**	**Comparaison avec les CTL**	**Comparaison des modèles**
0	CTL	16	1.56 ± 0.34		
10.00	CV	9	1.33 ± 0.44	U = 64.500 ; p = 0.682, ns	t = -0,457 ; p = 0.654, ns
	GDD	8	1.63 ± 0.39	**U = 33.500 ; p = 0.799, ns**	

Tableau annexe 8. **Les analyses statistiques réalisées pour étudier la mémoire spatiale à long-terme des animaux CTL et exposés à la dose de 10 Gy**. Ces tableaux présentent l'ensemble des résultats statistiques obtenus à la suite de l'étude de la distance parcourue en moyenne dans (A) le quadrant cible et (B) dans le disque cible et (C) le nombre de crossings sur la position de la plateforme, par tous les groupes expérimentaux. Un One-simple t-test (25%) a été utilisé pour comparer les données des groupes au niveau de chance. Un t-test a été utilisé pour comparer les données des groupes avec celles des CTL, dans le cas où la distribution des données suivait la loi normale. Dans le cas contraire, un Mann-Whitney a été appliqué. Le seuil de significativité est fixé à la valeur de 0.05.

Références bibliographiques

A

Abbott and Nigussie. "Adult neurogenesis in the mammalian dentate gyrus." *Anatomia, Histologia, Embryologia* 49.1 (**2020**): 3-16.

Abbott and Friedman. "Overview and introduction: the blood–brain barrier in health and disease." *Epilepsia* 53 (**2012**): 1-6.

Achanta, Fuss and Martinez. "Ionizing radiation impairs the formation of trace fear memories and reduces hippocampal neurogenesis." *Behavioral neuroscience* 123.5 (**2009**): 1036.

Acharya et al. "Association between hippocampal dose and memory in survivors of childhood or adolescent low-grade glioma: a 10-year neurocognitive longitudinal study." *Neuro-oncology* 21.9 (**2019**): 1175-1183.

Aimone et al. "Regulation and function of adult neurogenesis: from genes to cognition." *Physiological reviews* 94.4 (**2014**): 991-1026.

Alexander et al. "Behavioral effects of focal irradiation in a juvenile murine model." *Radiation research* 189.6 (**2018**): 605-617.

Allen et al. "Radiation exposure prior to traumatic brain injury induces responses that differ as a function of animal age." *International Journal of Radiation Biology* 90.3 (**2014**): 214-223.

Alomari et al. "Forced and voluntary exercises equally improve spatial learning and memory and hippocampal BDNF levels." *Behavioural brain research* 247 (**2013**): 34-39.

Altman. "Are new neurons formed in the brains of adult mammals?." *Science* 135.3509 (**1962**): 1127-1128.

Amaral, Scharfman and Lavenex. "The dentate gyrus: fundamental neuroanatomical organization (dentate gyrus for dummies)." *Progress in brain research* 163 (**2007**): 3-790.

Ambrogini et al. "Learning may reduce neurogenesis in adult rat dentate gyrus." *Neuroscience letters* 359.1-2 (**2004**): 13-16.

Amrock et al. "Long-term effects of single or multiple neonatal sevoflurane exposures on rat hippocampal ultrastructure." *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists* 122.1 (**2015**): 87-95.

Angst al. "Alteration of conditioned emotional response and conditioned taste aversion after neonatal ventral hippocampus lesions in rats." *Brain research* 1143 (**2007**): 183-192.

Armstrong et al. "Region-specific radiotherapy and neuropsychological outcomes in adult survivors of childhood CNS malignancies." *Neuro-oncology* 12.11 (**2010**): 1173-1186.

Armulik et al. "Pericytes regulate the blood–brain barrier." *Nature* 468.7323 (**2010**): 557-561.

Azzam, Jay-Gerin and Pain. "Ionizing radiation-induced metabolic oxidative stress and prolonged cell injury." *Cancer letters* 327.1-2 (**2012**): 48-60.

B

Ballatore, Lee and Trojanowski. "Tau-mediated neurodegeneration in Alzheimer's disease and related disorders." *Nature reviews neuroscience* 8.9 (**2007**): 663-672.

Bannerman et al. "Regional dissociations within the hippocampus—memory and anxiety." *Neuroscience & biobehavioral revues* 28.3 (**2004**): 273-283.

Barlind et al. "Decreased cytogenesis in the granule cell layer of the hippocampus and impaired place learning after irradiation of the young mouse brain evaluated using the IntelliCage platform." *Experimental brain research* 201.4 (**2010**): 781-787.

Baudin. "Stress oxydant et protections antioxydantes." *Revue Francophone des Laboratoires* 2020.522 (**2020**): 22-30.

Bechtel. "Investigating neural representations: the tale of place cells." *Synthese* 193.5 (**2016**): 1287-1321.

Bekiari et al. "Dentate gyrus variation along its septo-temporal axis: structure and function in health and disease." *Dentate Gyrus: Structure, Role in Disease, and Potential Health Implications; Nova Science Publishers, Inc.: Hauppauge, NY, USA* (**2015**).

Bellone et al. "A single low dose of proton radiation induces long-term behavioral and electrophysiological changes in mice." *Radiation research* 184.2 (**2015**): 193-202.

Bellone et al. "Long-term effects of simulated microgravity and/or chronic exposure to low-dose gamma radiation on behavior and blood–brain barrier integrity." *npj Microgravity* 2.1 (**2016**): 1-6.

Ben Abdallah, Slomianka and Lipp. "Reversible effect of X-irradiation on proliferation, neurogenesis, and cell death in the dentate gyrus of adult mice." *Hippocampus* 17.12 (**2007**): 1230-1240.

Bennett et al. "New tools for studying microglia in the mouse and human CNS." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113.12 (**2016**): E1738-E1746.

Berg et al. “A Common Embryonic Origin of Stem Cells Drives Developmental and Adult Neurogenesis.” *Cell* vol. 177,3 (**2019**): 654-668.e15.

Berron et al. "Strong evidence for pattern separation in human dentate gyrus." *Journal of Neuroscience* 36.29 (**2016**): 7569-7579.

Betlazar et al. "The impact of high and low dose ionising radiation on the central nervous system." *Redox biology* 9 (**2016**): 144-156.

Blomstrand et al. "No clinically relevant effect on cognitive outcomes after low-dose radiation to the infant brain: a population-based cohort study in Sweden." *Acta Oncologica* 53.9 (**2014**): 1143-1150.

Boccara et al. "Grid cells in pre-and parasubiculum." *Nature neuroscience* 13.8 (**2010**): 987-994.

Bohnert et al. "TMEM119 as a specific marker of microglia reaction in traumatic brain injury in postmortem examination." *International Journal of Legal Medicine* (**2020**): 1-10.

Boldrini et al. "Human hippocampal neurogenesis persists throughout aging." *Cell stem cell* 22.4 (**2018**): 589-599.

Bonaguidi et al. "In vivo clonal analysis reveals self-renewing and multipotent adult neural stem cell characteristics." *Cell* 145.7 (**2011**): 1142-1155.

Borsini et al. “The role of inflammatory cytokines as key modulators of neurogenesis.” *Trends in neurosciences* vol. 38,3 (**2015**): 145-57.

Brisse et al. "Irradiation médicale de l’enfant. Attention aux conclusions hâtives." (**2004**) : 1671-1672.

Broglio, Rodríguez, and Salas. "Spatial cognition and its neural basis in teleost fishes." *Fish and fisheries* 4.3 (**2003**): 247-255.

Bruel-Jungerman, Laroche, and Rampon. "New neurons in the dentate gyrus are involved in the expression of enhanced long-term memory following environmental enrichment." *European Journal of Neuroscience* 21.2 (**2005**): 513-521.

Bullens et al. "Developmental time course of the acquisition of sequential egocentric and allocentric navigation strategies." *Journal of experimental child psychology* 107.3 (**2010**): 337-350.

Buratovic et al. "Neonatal exposure to a moderate dose of ionizing radiation causes behavioural defects and altered levels of tau protein in mice." *Neurotoxicology* 45 (**2014**): 48-55.

Buratovic et al. "Effects on adult cognitive function after neonatal exposure to clinically relevant doses of ionising radiation and ketamine in mice." *British journal of anaesthesia* 120.3 (**2018**): 546-554.

Busch. "100 years of the Coolidge tube." (**2014**): 85-86.

Butler and Mulhern. "Neurocognitive interventions for children and adolescents surviving cancer." *Journal of Pediatric Psychology* 30.1 (**2005**): 65-78.

Butti et al. "Neurogenic and non-neurogenic functions of endogenous neural stem cells." *Frontiers in Neuroscience* 8 (**2014**): 92.

C

Caceres et al. "Hippocampal-related memory deficits and histological damage induced by neonatal ionizing radiation exposure. Role of oxidative status." *Brain research* 1312 (**2010**): 67-78.

Caceres, Rios, and Ruth Guelman. "Long-lasting effects of neonatal ionizing radiation exposure on spatial memory and anxiety-like behavior." *Ecotoxicology and environmental safety* 72.3 (**2009**): 895-904.

Cahill et al. "Early survival and delayed death of developmentally-born dentate gyrus neurons." *Hippocampus* 27.11 (**2017**): 1155-1167.

Calabrese and Baldwin. "Hormesis: the dose-response revolution." *Annual review of pharmacology and toxicology* 43.1 (**2003**): 175-197.

Calabrese and Blain. "The occurrence of hormetic dose responses in the toxicological literature, the hormesis database: an overview." *Toxicology and applied pharmacology* 202.3 (**2005**): 289-301.

Calabrese and Mattson. "How does hormesis impact biology, toxicology, and medicine?." *NPJ aging and mechanisms of disease* 3.1 (**2017**): 1-8.

Cameron and Mckay. "Adult neurogenesis produces a large pool of new granule cells in the dentate gyrus." Journal of comparative neurology 435.4 (2001): 406-417.

Cao et al. "VEGF links hippocampal activity with neurogenesis, learning and memory." *Nature genetics* 36.8 (**2004**): 827-835.

Carletti and Rossi. "Neurogenesis in the cerebellum." *The Neuroscientist* 14.1 (**2008**): 91-100.

Casciati et al. "Age-related effects of X-ray irradiation on mouse hippocampus." *Oncotarget* 7.19 (**2016**): 28040.

Castilla-Ortega et al. "When is adult hippocampal neurogenesis necessary for learning? Evidence from animal research." *Reviews in the Neurosciences* 22.3 (**2011**): 267-283.

Castillon et al. "The intellectual disability PAK3 R67C mutation impacts cognitive functions and adult hippocampal neurogenesis." *Human Molecular Genetics* (**2020**).

Chakraborti et al. "Cranial irradiation alters dendritic spine density and morphology in the hippocampus." *PloS one* 7.7 (**2012**): e40844.

Chan et al. "Reconsideration of the role of the hippocampus in learned inhibition." *Behavioural brain research* 119.2 (**2001**): 111-130.

Chao et al. "The medial prefrontal cortex-hippocampus circuit that integrates information of object, place and time to construct episodic memory in rodents: behavioral, anatomical and neurochemical properties." *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* (**2020**).

Chen and Swanson. "Astrocytes and brain injury." *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 23.2 (**2003**): 137-149.

Chen et al. "Cellular senescence in ionizing radiation." *Oncology reports* 42.3 (**2019**): 883-894.

Christie and Cameron. "Neurogenesis in the adult hippocampus." *Hippocampus* 16.3 (**2006**): 199-207.

Chung, Allen, and Eroglu. "Astrocytes control synapse formation, function, andelimination." *Cold Spring Harbor perspectives in biology* 7.9 (**2015**): a020370.

Clelland et al. "A functional role for adult hippocampal neurogenesis in spatial pattern separation." *Science* 325.5937 (**2009**): 210-213.

Cope and Gould. "Adult Neurogenesis, glia, and the extracellular matrix." *Cell stem cell* 24.5 (**2019**): 690-705.

Copeland et al. "Mitochondrial DNA alterations in cancer." *Cancer investigation* 20.4 (**2002**): 557 569.

Corkin "What's new with the amnesic patient HM?." *Nature reviews neuroscience* 3.2 (**2002**): 153-160.

Crain, Nikodemova, and Watters. "Microglia express distinct M1 and M2 phenotypic markers in the postnatal and adult central nervous system in male and female mice." *Journal of neuroscience research* 91.9 (**2013**): 1143-1151.

Cui, Gerfen, and Scott III. "Hypothalamic and other connections with dorsal CA2 area of the mouse hippocampus." *Journal of comparative neurology* 521.8 (**2013**): 1844-1866.

D

Dedon and Tannenbaum. "Reactive nitrogen species in the chemical biology of inflammation." *Archives of biochemistry and biophysics* 423.1 (**2004**): 12-22.

Dees and Kesner. "The role of the dorsal dentate gyrus in object and object-context recognition." *Neurobiology of learning and memory* 106 (**2013**): 112-117.

Deng, Aimone and Gage. "New neurons and new memories: how does adult hippocampal neurogenesis affect learning and memory?." *Nature revues neuroscience* 11.5 (**2010**): 339-350.

Devic et al. "The hypersensitivity to low-dose phenomenon One radiobiology enigma finally resolved? [Le phénomène d'hypersensibilité aux faibles doses Une énigme de la radiobiologie enfin résolue?]." *Medecine Nucleaire* 40.3 (**2016**): 254-257.

Diserbo et al. "Blood-brain barrier permeability after gamma whole-body irradiation: an in vivo microdialysis study." *Canadian journal of physiology and pharmacology* 80.7 (**2002**): 670-678.

Djordjevic. "Bystander effects: a concept in need of clarification." *Bioessays* 22.3 (**2000**): 286- 290.

Döbrössy et al. "Differential effects of learning on neurogenesis: learning increases or decreases the number of newly born cells depending on their birth date." *Molecular psychiatry* 8.12 (**2003**): 974-982.

Dos Santos et al. "Development of whole brain versus targeted dentate gyrus irradiation model to explain low to moderate doses of exposure effects in mice." *Scientific reports* 8.1 (**2018**): 1-12.

Drapeau et al. "Spatial memory performances of aged rats in the water maze predict levels of hippocampal neurogenesis." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100.24 (**2003**): 14385-14390.

Dupret et al. "Spatial relational memory requires hippocampal adult neurogenesis." *PloS one* 3.4 (**2008**): e1959.

E

Ehninger and Kempermann. "Paradoxical effects of learning the Morris water maze on adult hippocampal neurogenesis in mice may be explained by a combination of stress and physical activity." *Genes, Brain and Behavior* 5.1 (**2006**): 29-39.

Ekstrom et al. "Cellular networks underlying human spatial navigation." *Nature* 425.6954 (**2003**): 184-188.

Ekstrom, Arnold, and Iaria. "A critical revue of the allocentric spatial representation and its neural underpinnings: toward a network-based perspective." *Frontiers in human neuroscience* 8 (**2014**): 803.

Epp, Chow, and Galea. "Hippocampus-dependent learning influences hippocampal neurogenesis." *Frontiers in neuroscience* 7 (**2013**): 57.

Eriksson et al. "Neurogenesis in the adult human hippocampus." *Nature medicine* 4.11 (**1998**): 1313 1317.

Ernst et al. "Neurogenesis in the striatum of the adult human brain." *Cell* 156.5 (**2014**): 1072-1083.

F

Fanselow and Dong. "Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures?." *Neuron* 65.1 (**2010**): 7-19.

Farioli-Vecchioli et al. "The timing of differentiation of adult hippocampal neurons is crucial for spatial memory." *PLoS Biol* 6.10 (**2008**): e246.

Farzanehfar. "Comparative revue of adult midbrain and striatum neurogenesis with classical neurogenesis." *Neuroscience research* 134 (**2018**): 1-9.

Fauquette et al. "Radiation-induced blood–brain barrier damages: An in vitro study." *Brain research* 1433 (**2012**): 114-126.

Feinendegen. "Evidence for beneficial low level radiation effects and radiation hormesis." *The British journal of radiology* 78.925 (**2005**): 3-7.

Ferrer and Borras. "Effects of X-irradiation on glial cells in the developing rat brain." *International journal of radiation biology* 66.2 (**1994**): 181-187.

Ford et al. "Localized CT-guided irradiation inhibits neurogenesis in specific regions of the adult mouse brain." *Radiation research* 175.6 (**2011**): 774-783.

Fouladi et al. "Intellectual and functional outcome of children 3 years old or younger who have CNS malignancies." *Journal of clinical oncology* 23.28 (**2005**): 7152-7160.

Fredriksson et al. "Neurofunctional deficits and potentiated apoptosis by neonatal NMDA antagonist administration." *Behavioural brain research* 153.2 (**2004**): 367-376.

Fredriksson et al. "Neonatal exposure to a combination of N-methyl-d-aspartate and γ- aminobutyric acid type A receptor anesthetic agents potentiates apoptotic neurodegeneration and persistent behavioral deficits." *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists* 107.3 (**2007**): 427-436.

Fritz, Amrein, and Wolfer. "Similar reliability and equivalent performance of female and male mice in the open field and water-maze place navigation task." *American Journal of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics*. Vol. 175. No. 3. (**2017**).

Fukuda et al. "Irradiation-induced progenitor cell death in the developing brain is resistant to erythropoietin treatment and caspase inhibition." *Cell Death & Differentiation* 11.11 (**2004**): 1166-1178.

Fyhn et al. "Spatial representation in the entorhinal cortex." *Science* 305.5688 (**2004**): 1258-1264.

G

Gage et al. "Survival and differentiation of adult neuronal progenitor cells transplanted to the adult brain." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92.25 (**1995**): 11879-11883.

Galea et al. "Sex, hormones and neurogenesis in the hippocampus: hormonal modulation of neurogenesis and potential functional implications." *Journal of neuroendocrinology* 25.11 (**2013**): 1039-1061.

Garthe , Behr, and Kempermann. "Adult-generated hippocampal neurons allow the flexible use of spatially precise learning strategies." *PloS one* 4.5 (**2009**): e5464.

Garthe et al. "Not all water mazes are created equal: cyclin D2 knockout mice with constitutively suppressed adult hippocampal neurogenesis do show specific spatial learning deficits." *Genes, Brain and Behavior* 13.4 (**2014**): 357-364.

Gebara et al. "Heterogeneity of radial glia-like cells in the adult hippocampus." *Stem cells* 34.4 (**2016**): 997-1010.

Ghitza et al. "Role of BDNF and GDNF in drug reward and relapse: a revue." *Neuroscience & Biobehavioral Revues* 35.2 (**2010**): 157-171.

Giaume, Froger, and Koulakoff. "Gap junction-mediated intercellular communication in astrocytes and neuroprotection." *Annales francaises d'anesthesie et de reanimation*. Vol. 24. No. 6. **2005**.

Gil-Mohapel et al. "Hippocampal neurogenesis levels predict WATERMAZE search strategies in the aging brain." *PLoS One* 8.9 (**2013**): e75125.

Ginhoux et al. "Origin and differentiation of microglia." *Frontiers in cellular neuroscience* 7 (**2013**): 45.

Gonçalves, Schafer, and Gage. "Adult neurogenesis in the hippocampus: from stem cells to behavior." *Cell* 167.4 (**2016**): 897-914.

Gondi et al. "Preservation of memory with conformal avoidance of the hippocampal neural stem-cell compartment during whole-brain radiotherapy for brain metastases (RTOG 0933): a phase II multi-institutional trial." *Journal of Clinical Oncology* 32.34 (**2014**): 3810.

Goodman et al. "Young hippocampal neurons are critical for recent and remote spatial memory in adult mice." *Neuroscience* 171.3 (**2010**): 769-778.

Gould and Tanapat. "Stress and hippocampal neurogenesis." *Biological psychiatry* 46.11 (**1999**): 1472 1479.

Granzotto et al. "Influence of nucleoshuttling of the ATM protein in the healthy tissues response to radiation therapy: toward a molecular classification of human radiosensitivity." *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics* 94.3 (**2016**): 450-460.

Greene-Schloesser, Moore and Robbins. "Molecular pathways: radiation-induced cognitive impairment." *Clinical cancer research* 19.9 (**2013**): 2294-2300.

Grieves and Jeffery. "The representation of space in the brain." *Behavioural processes* 135 (**2017**): 113 -131.

Griffiths, Bhutani and Stary. "Adult neurogenesis from reprogrammed astrocytes." *Neural Regeneration Research* 15.6 (**2020**): 973.

Gros, Veyrac and Laroche. "Cerveau et mémoire: des nouveaux neurones pour se souvenir." *Biologie Aujourd'hui* 209.3 (**2015**): 229-248.

Gross. "Neurogenesis in the adult brain: death of a dogma." *Nature Revues Neuroscience* 1.1 (**2000**): 67-73.

Groves et al. "Ablating adult neurogenesis in the rat has no effect on spatial processing: evidence from a novel pharmacogenetic model." *PLoS genetics* vol. 9,9 (**2013**): e1003718.

Guéguen, Bontemps and Ebrahimian. "Adaptive responses to low doses of radiation or chemicals: their cellular and molecular mechanisms." *Cellular and Molecular Life Sciences* 76.7 (**2019**): 1255 -1273.

Gutteridge and Halliwell. "The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems." Trends in biochemical sciences 15.4 (**1990**): 129-135.

H

Hafting et al. "Microstructure of a spatial map in the entorhinal cortex." *Nature* 436.7052 (**2005**): 801-806.

Hainmueller and Bartos. "Dentate gyrus circuits for encoding, retrieval and discrimination of episodic memories." *Nature Reviews Neuroscience* (**2020**): 1-16.

Hall Per et al. "Effect of low doses of ionising radiation in infancy on cognitive function in adulthood: Swedish population based cohort study." *Bmj* 328.7430 (**2004**): 19.

Han et al. "Cranial irradiation induces transient microglia accumulation, followed by long-lasting inflammation and loss of microglia." *Oncotarget* 7.50 (**2016**): 82305.

Hauptmann et al. "Epidemiological studies of low-dose ionizing radiation and cancer: summary bias assessment and meta-analysis." *JNCI Monographs* 2020.56 (**2020**): 188-200.

Hauser et al. "Small lesions of the dorsal or ventral hippocampus subregions are associated with distinct impairments in working memory and reference memory retrieval, and combining them attenuates the acquisition rate of spatial reference memory." *Hippocampus* (**2020**).

Hayashi and Suzuki. "Heterogeneity of Oligodendrocytes and Their Precursor Cells." *Advances in experimental medicine and biology* vol. 1190 (**2019**): 53-62.

Hernandez-Rabaza et al. "Inhibition of adult hippocampal neurogenesis disrupts contextual learning but spares spatial working memory, long-term conditional rule retention and spatial reversal." *Neuroscience* 159.1 (**2009**): 59-68.

Hladik and Tapio. "Effects of ionizing radiation on the mammalian brain." *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 770 (2016): 219-230.

Hochgerner et al. "Conserved properties of dentate gyrus neurogenesis across postnatal development revealed by single-cell RNA sequencing." *Nature neuroscience* 21.2 (**2018**): 290-299.

Hoenicke and Zender. "Immune surveillance of senescent cells—biological significance in cancer-and non-cancer pathologies." *Carcinogenesis* 33.6 (**2012**): 1123-1126.

Houée-Levin and Sicard-Roselli. "Radiation chemistry of proteins." *Studies in Physical and Theoretical Chemistry*. Vol. 87. Elsevier, **2001**. 553-584.

Huang, Hayes and Yang. "Long-lasting behavioral effects in neonatal mice with multiple exposures to ketamine-xylazine anesthesia." *Neurotoxicology and teratology* 60 (**2017**): 75-81.

Huo et al. "Lithium reduced neural progenitor apoptosis in the hippocampus and ameliorated functional deficits after irradiation to the immature mouse brain." *Molecular and Cellular Neuroscience* 51.1-2 (**2012**): 32-42.

I

Imayoshi et al. "Roles of continuous neurogenesis in the structural and functional integrity of the adult forebrain." *Nature neuroscience* 11.10 (**2008**): 1153-1161.

Inta, Cameron and Gass. "New neurons in the adult striatum: from rodents to humans." *Trends in neurosciences* 38.9 (**2015**): 517-523.

Iyama and Wilson III. "DNA repair mechanisms in dividing and non-dividing cells." *DNA repair* 12.8 (**2013**): 620-636.

J

Jacob et al. "Cognitive impairment and morphological changes after radiation therapy in brain tumors: a revue." *Radiotherapy and Oncology* 128.2 (**2018**): 221-228.

Jacobs et al. "Direct recordings of grid-like neuronal activity in human spatial navigation." *Nature neuroscience* 16.9 (**2013**): 1188-1190.

Jaholkowski et al. "New hippocampal neurons are not obligatory for memory formation; cyclin D2 knockout mice with no adult brain neurogenesis show learning." *Learning & memory* 16.7 (**2009**): 439-451.

Jalali et al. "Factors influencing neurocognitive outcomes in young patients with benign and low-grade brain tumors treated with stereotactic conformal radiotherapy." *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics* 77.4 (**2010**): 974-979.

Jessberger et al. "Dentate gyrus-specific knockdown of adult neurogenesis impairs spatial and object recognition memory in adult rats." *Learning & memory* 16.2 (**2009**): 147-154.

Jevtovic-Todorovic et al. "Early exposure to common anesthetic agents causes widespread neurodegeneration in the developing rat brain and persistent learning deficits." *Journal of Neuroscience* 23.3 (**2003**): 876-882.

Ji et al. "Forced running exercise attenuates hippocampal neurogenesis impairment and the neurocognitive deficits induced by whole-brain irradiation via the BDNF-mediated pathway." *Biochemical and biophysical research communications* 443.2 (**2014**): 646-651.

Ji et al. "Cranial irradiation inhibits hippocampal neurogenesis via DNMT1 and DNMT3A." *Oncology letters* 15.3 (**2018**): 2899-2904.

Jin et al. "Vascular endothelial growth factor (VEGF) stimulates neurogenesis in vitro and in vivo." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99.18 (**2002**): 11946-11950.

Jin, Jiang, and Cai. "New understanding of the low-dose radiation-induced hormesis." *Radiation Medicine and Protection* (**2020**).

Jin. "The role of neurogenesis during development and in the adult brain." *European Journal of Neuroscience* 44.6 (**2016**): 2291-2299.

Jinno et al. "Convergent genesis of an adult neural crest-like dermal stem cell from distinct developmental origins." *Stem cells* 28.11 (**2010**): 2027-2040.

Joiner et al. "Hypersensitivity to very-low single radiation doses: its relationship to the adaptive response and induced radioresistance." *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 358.2 (**1996**): 171-183.

Joiner et al. "Low-dose hypersensitivity: current status and possible mechanisms." *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics* 49.2 (**2001**): 379-389.

Jung, Wiener and McNaughton. "Comparison of spatial firing characteristics of units in dorsal and ventral hippocampus of the rat." *Journal of Neuroscience* 14.12 (**1994**): 7347-7356.

K

Kadhim, Moore and Goodwin. "Interrelationships amongst radiation- induced genomic instability, bystander effects, and the adaptive response." *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 568.1 (**2004**): 21-32.

Kanski et al. "A star is born: new insights into the mechanism of astrogenesis." *Cellular and Molecular Life Sciences* 71.3 (**2014**): 433-447.

Kazda et al. "Volumetric modulated arc therapy for hippocampal-sparing radiotherapy in transformed low-grade glioma: A treatment planning case report." *Cancer/Radiothérapie* 19.3 (**2015**): 187-191.

Kazda et al. "Why and how to spare the hippocampus during brain radiotherapy: the developing role of hippocampal avoidance in cranial radiotherapy." *Radiation Oncology* 9.1 (**2014**): 139.

Kazda et al. "Left hippocampus sparing whole brain radiotherapy (WBRT): A planning study." *Biomedical Papers* 161.4 (**2017**): 397-402.

Kee et al. "Preferential incorporation of adult-generated granule cells into spatial memory networks in the dentate gyrus." *Nature neuroscience* 10.3 (**2007**): 355-362.

Kempermann and Gage. "Genetic determinants of adult hippocampal neurogenesis correlate with acquisition, but not probe trial performance, in the water maze task." *European Journal of Neuroscience* 16.1 (**2002**): 129-136.

Kempermann, Gerd, et al. "Early determination and long-term persistence of adult-generated new neurons in the hippocampus of mice." *Development* 130.2 (**2003**): 391-399.

Kempermann, Gerd, Song, and Fred H. Gage. "Neurogenesis in the adult hippocampus." *Cold Spring Harbor perspectives in biology* 7.9 (**2015**): a018812.

Kempermann et al. "Human adult neurogenesis: evidence and remaining questions." *Cell stem cell* 23.1 (**2018**): 25-30.

Kempf et al. "The cognitive defects of neonatally irradiated mice are accompanied by changed synaptic plasticity, adult neurogenesis and neuroinflammation." *Molecular neurodegeneration* 9.1 (**2014a**): 1-17.

Kempf et al. "Ionising radiation immediately impairs synaptic plasticity-associated cytoskeletal signalling pathways in HT22 cells and in mouse brain: an in vitro/in vivo comparison study." *PLoS One* 9.10 (**2014b**): e110464.

Kempf et al. "Low-dose ionizing radiation rapidly affects mitochondrial and synaptic signaling pathways in murine hippocampus and cortex." *Journal of proteome research* 14.5 (**2015**): 2055-2064.

Kentros et al. "Increased attention to spatial context increases both place field stability and spatial memory." *Neuron* 42.2 (**2004**): 283-295.

Khalaf-Nazzal and Francis. "Hippocampal development–Old and new findings." *Neuroscience* 248 (**2013**): 225-242.

Kheirbek, Tannenholz and Hen. "NR2B-dependent plasticity of adult-born granule cells is necessary for context discrimination." *Journal of Neuroscience* 32.25 (**2012**): 8696-8702.

Kim, Chandrasekaran and Morgan. "Mitochondrial dysfunction, persistently elevated levels of reactive oxygen species and radiation-induced genomic instability: a revue." *Mutagenesis* 21.6 (**2006**): 361-367.

Kim et al. “Transient impairment of hippocampus-dependent learning and memory in relatively low-dose of acute radiation syndrome is associated with inhibition of hippocampal neurogenesis.” *Journal of radiation research* vol. 49,5 (**2008**): 517-26.

Kjelstrup et al. "Reduced fear expression after lesions of the ventral hippocampus." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99.16 (**2002**): 10825-10830.

Kohman and Rhodes. "Neurogenesis, inflammation and behavior." *Brain, behavior, and immunity* 27 (**2013**): 22-32.

Kokhan, Shakhbazian and Markova. "Psycho-emotional status but not cognition is changed under the combined effect of ionizing radiations at doses related to deep space missions." *Behavioural brain research* 362 (**2019**): 311-318.

Kokoeva, Yin and Flier. "Neurogenesis in the hypothalamus of adult mice: potential role in energy balance." *Science* 310.5748 (**2005**): 679-683.

Kozareva, Cryan and Nolan. "Born this way: Hippocampal neurogenesis across the lifespan." *Aging Cell* 18.5 (**2019**): e13007.

Krukowski et al. "Female mice are protected from space radiation-induced maladaptive responses." *Brain, behavior, and immunity* 74 (**2018**): 106-120

Kuang et al. "Role of chemokines in the enhancement of BBB permeability and inflammatory infiltration after rabies virus infection." *Virus research* 144.1-2 (**2009**): 18-26.

Kuhn, Dickinson-Anson and Gage. "Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: age-related decrease of neuronal progenitor proliferation." *Journal of Neuroscience* 16.6 (**1996**): 2027 -2033.

Kumar et al. "Adult neurogenesis in humans: a review of basic concepts, history, current research, and clinical implications." *Innovations in Clinical Neuroscience* 16.5-6 (**2019**): 30.

L

Laack and Brown. "Cognitive sequelae of brain radiation in adults." *Seminars in oncology*. Vol. 31. No. 5. WB Saunders, (**2004**).

Ladeby et al. "Microglial cell population dynamics in the injured adult central nervous system." *Brain Research Reviews* 48.2 (**2005**): 196-206.

Lagace, Fischer and Eisch. "Gender and endogenous levels of estradiol do not influence adult hippocampal neurogenesis in mice." *Hippocampus* 17.3 (**2007**): 175-180.

Lagali, Corcoran and Picketts. "Hippocampus development and function: role of epigenetic factors and implications for cognitive disease." *Clinical genetics* 78.4 (**2010**): 321- 333.

Lalancette-Hébert et al. "Selective ablation of proliferating microglial cells exacerbates ischemic injury in the brain." *Journal of Neuroscience* 27.10 (**2007**): 2596-2605.

Lazarov and Hollands. "Hippocampal neurogenesis: learning to remember." *Progress in neurobiology* 138 (**2016**): 1-18.

Le Caër. "Water radiolysis: influence of oxide surfaces on H2 production under ionizing radiation." *Water* 3.1 (**2011**): 235-253.

Lee and Blackshaw. "Functional implications of hypothalamic neurogenesis in the adult mammalian brain." *International journal of developmental neuroscience* 30.8 (**2012**): 615-621.

Leonardo et al. "Molecular heterogeneity along the dorsal–ventral axis of the murine hippocampal CA1 field: a microarray analysis of gene expression." *Neuroscience* 137.1 (**2006**): 177-186.

Li et al. “Hopx distinguishes hippocampal from lateral ventricle neural stem cells.” *Stem cell research* vol. 15,3 (**2015**): 522-529.

Li et al. "The ventral hippocampus is the embryonic origin for adult neural stem cells in the dentate gyrus." *Neuron* 78.4 (**2013**): 658-672.

Li et al. "Ionizing radiation-induced cellular senescence in normal, non-transformed cells and the involved DNA damage response: a mini revue." *Frontiers in pharmacology* 9 (**2018**): 522.

Limoli et al. "Persistent oxidative stress in chromosomally unstable cells." *Cancer research* 63.12 (**2003**): 3107-3111.

Lipska et al. "Neonatal damage of the ventral hippocampus impairs working memory in the rat." *Neuropsychopharmacology* 27.1 (**2002**): 47-54.

Llorens-Martín, Rábano and Ávila. "The ever-changing morphology of hippocampal granule neurons in physiology and pathology." *Frontiers in neuroscience* 9 (**2016**): 526.

Loix, De Kock and Henin. "The anti-inflammatory effects of ketamine: state of the art." *Acta Anaesthesiol Belg* 62.1 (**2011**): 47-58.

Lomax, Gulston and O'Neill. "Chemical aspects of clustered DNA damage induction by ionizing radiation." *Radiation protection dosimetry* 99.1-4 (**2002**): 63-68.

Lomax, Folkes and O'neill. "Biological consequences of radiation-induced DNA damage: relevance to radiotherapy." *Clinical oncology* 25.10 (**2013**): 578-585.

M

Mahmoud, Wainwright and Galea. "Sex hormones and adult hippocampal neurogenesis: regulation, implications, and potential mechanisms." *Frontiers in neuroendocrinology* 41 (**2016**): 129-152.

Malinow and Malenka. "AMPA receptor trafficking and synaptic plasticity." *Annual review of neuroscience* 25.1 (**2002**): 103-126.

Mancuso et al. "The radiation bystander effect and its potential implications for human health." *Current molecular medicine* 12.5 (**2012**): 613-624.

Mandyam, Harburg and Eisch. "Determination of key aspects of precursor cell proliferation, cell cycle length and kinetics in the adult mouse subgranular zone." *Neuroscience* 146.1 (**2007**): 108-122.

Marín-Burgin and Schinder. "Requirement of adult-born neurons for hippocampus-dependent learning." *Behavioural brain research* 227.2 (**2012**): 391-399.

Marsolat. *Développement d'un dosimètre diamant pour une mesure de la dose absorbée dans les mini-faisceaux utilisés en radiothérapie stéréotaxique*. Diss. **2014**. Manuscript de thèse HAL Id : **tel-00957871, version 1**

Matsuzaki et al. "Vascular endothelial growth factor rescues hippocampal neurons from glutamate-induced toxicity: signal transduction cascades." *The FASEB Journal* 15.7 (**2001**): 1218-1220.

Mazzucchelli and Brambilla. "Ras-related and MAPK signalling in neuronal plasticity and memory formation." *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS* 57.4 (**2000**): 604-611.

McDonald and Wojtowicz. "Dynamics of neurogenesis in the dentate gyrus of adult rats." *Neuroscience letters* 385.1 (**2005**): 70-75.

Meira et al. "A hippocampal circuit linking dorsal CA2 to ventral CA1 critical for social memory dynamics." *Nature Communications* 9.1 (**2018**): 1-14.

Meshi et al. "Hippocampal neurogenesis is not required for behavioral effects of environmental enrichment." *Nature neuroscience* 9.6 (**2006**): 729-731.

Mettler. "Medical effects and risks of exposure to ionising radiation." *Journal of Radiological Protection* 32.1 (**2012**): N9.

Mikkelsen and Wardman. "Biological chemistry of reactive oxygen and nitrogen and radiation-induced signal transduction mechanisms." *Oncogene* 22.37 (**2003**): 5734-5754.

Miller et al. "Conserved molecular signatures of neurogenesis in the hippocampal subgranular zone of rodents and primates." *Development* 140.22 (**2013**): 4633-4644.

Mitew et al. "Pharmacogenetic stimulation of neuronal activity increases myelination in an axon specific manner." *Nature communications* 9.1 (**2018**): 1-16.

Mizumatsu et al. "Extreme sensitivity of adult neurogenesis to low doses of X- irradiation." *Cancer research* 63.14 (**2003**): 4021-4027.

Mole. "Whole body irradiation—radiobiology or medicine?." *The British journal of radiology* 26.305 (**1953**): 234-241.

Monje et al. "Irradiation induces neural precursor-cell dysfunction." Nature medicine 8.9 (**2002**): 955-962.

Moreno-Jiménez et al. "Adult hippocampal neurogenesis is abundant in neurologically healthy subjects and drops sharply in patients with Alzheimer's disease." *Nature medicine* 25.4 (**2019**):554-560.

Morganti et al. "Cranial Irradiation Alters the Brain's Microenvironment and Permits CCR2+ Macrophage." (**2014**).

Moser, Kropff and Moser. "Place cells, grid cells, and the brain's spatial representation system." *Annu. Rev. Neurosci.* 31 (**2008**): 69-89.

Moser and Moser. "Functional differentiation in the hippocampus." *Hippocampus* 8.6 (**1998**): 608-619.

Moser et al. "Spatial learning with a minislab in the dorsal hippocampus." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92.21 (**1995**): 9697-9701.

Mothersill and Seymour. "Bystander and delayed effects after fractionated radiation exposure." *Radiation research* 158.5 (**2002**): 626-633.

Mulhern et al. "Neuropsychologic functioning of survivors of childhood medulloblastoma randomized to receive conventional or reduced-dose craniospinal irradiation: a Pediatric Oncology Group study." *Journal of Clinical Oncology* 16.5 (**1998**): 1723-1728.

Muller. "A quarter of a century of place cells." *Neuron* 17.5 (**1996**): 813-822.

N

Nada et al. "Early age-related changes in adult hippocampal neurogenesis in C57 mice." *Neurobiology of aging* 31.1 (**2010**): 151-161.

Nagel et al. "Abnormal hippocampal development in children with medulloblastoma treated with risk adapted irradiation." *American Journal of Neuroradiology* 25.9 (**2004**): 1575-1582.

Nakazawa et al. "NMDA receptors, place cells and hippocampal spatial memory." *Nature Reviews Neuroscience* 5.5 (**2004**): 361-372.

Naruse et al. "Origin of oligodendrocytes in mammalian forebrains: a revised perspective." *The journal of physiological sciences: JPS* vol. 67,1 (**2017**): 63-70.

Naylor et al. "Voluntary running rescues adult hippocampal neurogenesis after irradiation of the young mouse brain." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105.38 (**2008**): 14632-14637.

Neggers et al. "Interactions between ego-and allocentric neuronal representations of space." *Neuroimage* 31.1 (**2006**): 320-331.

Neves, Cooke and Bliss. "Synaptic plasticity, memory and the hippocampus: a neural network approach to causality." *Nature Reviews Neuroscience* 9.1 (**2008**): 65-75.

Nicola, Fabel and Kempermann. "Development of the adult neurogenic niche in the hippocampus of mice." *Frontiers in neuroanatomy* 9 (**2015**): 53.

O

O'Leary and Cryan. "A ventral view on antidepressant action: roles for adult hippocampal neurogenesis along the dorsoventral axis." *Trends in pharmacological sciences* 35.12 (**2014**): 675-687.

Ojimabet al. "Radiation-induced bystander effects induce radioadaptive response by low-dose radiation." *Radiation protection dosimetry* 146.1-3 (**2011**): 276-279.

O'Keefe and Dostrovsky. "The hippocampus as a spatial map: Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat." *Brain research* (**1971**).

O'Keefe and Nadel. "Précis of O'Keefe & Nadel's The hippocampus as a cognitive map." *Behavioral and Brain Sciences* 2.4 (**1979**): 487-494.

Oppenheim. "Adult hippocampal neurogenesis in mammals (and humans): The death of a central dogma in neuroscience and its replacement by a new dogma." *Developmental Neurobiology* 79.3 (**2019**): 268-280.

Overstreet-Wadiche, Bensen and Westbrook. "Delayed development of adult-generated granule cells in dentate gyrus." *Journal of Neuroscience* 26.8 (**2006a**): 2326- 2334.

Overstreet-Wadiche et al. "Seizures accelerate functional integration of adult-generated granule cells." *Journal of Neuroscience* 26.15 (**2006b**): 4095-4103.

Overstreet-Wadiche and Westbrook. "Functional maturation of adult-generated granule cells." *Hippocampus* 16.3 (**2006c**): 208-215.

P

Padovani et al. "Neurocognitive function after radiotherapy for paediatric brain tumours." *Nature Revues Neurology* 8.10 (**2012**): 578-588.

Palmer, Reddick and Gajjar. "Understanding the cognitive impact on children who are treated for medulloblastoma." *Journal of pediatric psychology* 32.9 (**2007**): 1040-1049.

Palmer, Willhoite, and Gage. "Vascular niche for adult hippocampal neurogenesis." *Journal of Comparative Neurology* 425.4 (**2000**): 479-494.

Parihar et al. "Persistent changes in neuronal structure and synaptic plasticity caused by proton irradiation." *Brain Structure and Function* 220.2 (**2015**): 1161-1171.

Parihar, Kumar and Limoli. "Cranial irradiation compromises neuronal architecture in the hippocampus." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110.31 (**2013**): 12822-12827.

Pasqual et al. "Neurodevelopmental effects of low dose ionizing radiation exposure: A systematic revue of the epidemiological evidence." *Environment International* 136 (**2020**): 105371.

Pavlides et al. "Hippocampal functional organization: A microstructure of the place cell network encoding space." *Neurobiology of learning and memory* 161 (**2019**): 122-134.

Peng et al. "The disparity of impairment of neurogenesis and cognition after acute or fractionated radiation exposure in adolescent BALB/c mice." *Dose-Response* 17.1 (**2019**): 1559325818822574.

Per Erikson. "Age-dependent retention of [14C] DDT in the brain of the postnatal mouse." *Toxicology letters* 22.3 (**1984**): 323-328.

Per Eriksson, et al. "Interaction of gamma-radiation and methyl mercury during a critical phase of neonatal brain development in mice exacerbates developmental neurobehavioural effects." *Neurotoxicology* 31.2 (**2010**): 223-229.

Per Eriksson, et al. "Neonatal exposure to whole body ionizing radiation induces adult neurobehavioural defects: critical period, dose—response effects and strain and sex comparison." *Behavioural brain research* 304 (**2016**): 11-19.

Per Eriksson, Per Ankarberg, and Fredriksson. "Exposure to nicotine during a defined period in neonatal life induces permanent changes in brain nicotinic receptors and in behaviour of adult mice." *Brain research* 853.1 (**2000**): 41-48.

Petkova et al. "Cyclin D2-knock-out mice with attenuated dentate gyrus neurogenesis have robust deficits in long-term memory formation." *Scientific reports* 10.1 (**2020**): 1-16.

Petty and Lo. "Junctional complexes of the blood–brain barrier: permeability changes in neuroinflammation." *Progress in neurobiology* 68.5 (**2002**): 311-323.

Pinheiro et al. "Immune cell trafficking across the barriers of the central nervous system in multiple sclerosis and stroke." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease* 1862.3 (**2016**): 461-471.

Pospisil et al. "Post-WBRT cognitive impairment and hippocampal neuronal depletion measured by in vivo metabolic MR spectroscopy: Results of prospective investigational study." *Radiotherapy and Oncology* 122.3 (**2017**): 373-379.

Poucet, Save and Lenck-Santini. "Sensory and memory properties of hippocampal place cells." *Revues in the Neurosciences* 11.2/3 (**2000**): 95-112.

Poucet et al. "L'hippocampe et le code neural de la mémoire spatiale." *Biologie aujourd'hui* 204.2 (**2010**): 103-112.

Poulter, Hartley, and Lever. "The neurobiology of mammalian navigation." *Current Biology* 28.17 (**2018**): R1023-R1042.

PUBLICATION 103 DE LA CIPR Recommandations 2007 de la Commission internationale de protection radiologique 978-2-7430-1120-8

R

Raber et al. "Radiation-induced cognitive impairments are associated with changes in indicators of hippocampal neurogenesis." *Radiation research* 162.1 (**2004**): 39-47.

Rao, Hattiangady, and Shetty. "The window and mechanisms of major age-related decline in the production of new neurons within the dentate gyrus of the hippocampus." *Aging cell* 5.6 (**2006**): 545-558.

Rapport IRSN-PRP-HOM N°2013-3

Rapport n° PSE-SANTE/SER/2018-00004

Rapport IRSN DRPH/SER N°2010-12

Redell et al. "Traumatic brain injury and hippocampal neurogenesis: Functional implications." *Experimental Neurology* (**2020**): 113372.

Redza-Dutordoir and Averill-Bates. "Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research* 1863.12 (**2016**): 2977-2992.

Rice and Barone. "Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models." *Environmental health perspectives* 108.suppl 3 (**2000**): 511-533.

Rodríguez-Ruiz et al. "Immunological mechanisms responsible for radiation-induced abscopal effect." Trends in immunology 39.8 (**2018**): 644-655.

Rola et al. "Radiation-induced impairment of hippocampal neurogenesis is associated with cognitive deficits in young mice." *Experimental neurology* 188.2 (**2004**): 316-330.

Rondi-Reig et al. "Impaired sequential egocentric and allocentric memories in forebrain-specific–NMDA receptor knock-out mice during a new task dissociating strategies of navigation." *Journal of Neuroscience* 26.15 (**2006**): 4071-4081.

Rossi et al. "Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is required for the enhancement of hippocampal neurogenesis following environmental enrichment." *European Journal of Neuroscience* 24.7 (**2006**): 1850-1856.

Rothkamm and Löbrich. "Evidence for a lack of DNA double-strand break repair in human cells exposed to very low x-ray doses." Proceedings of the National Academy of Sciences 100.9 (**2003**): 5057-5062.

Roughton, Kalm and Blomgren. "Sex-dependent differences in behavior and hippocampal neurogenesis after irradiation to the young mouse brain." *European Journal of Neuroscience* 36.6 (**2012**): 2763-2772.

Ryan and Nolan. "Neuroinflammation negatively affects adult hippocampal neurogenesis and cognition: can exercise compensate?." *Neuroscience & Biobehavioral Revues* 61 (**2016**): 121-131.

S

Sahay, Wilson and Hen. "Pattern separation: a common function for new neurons in hippocampus and olfactory bulb." *Neuron* 70.4 (**2011**): 582-588.

Salonen et al. "Cognitive function following head CT in childhood: a randomized controlled follow-up trial." *Acta Radiologica* 59.2 (**2018**): 221-228.

Sandersvet al. "Grid cells and place cells: an integrated view of their navigational and memory function." *Trends in neurosciences* 38.12 (**2015**): 763-775.

Sándor et al. "Low dose cranial irradiation-induced cerebrovascular damage is reversible in mice." *PloS one* 9.11 (**2014**): e112397.

Savelli, Yoganarasimha and Knierim. "Influence of boundary removal on the spatial representations of the medial entorhinal cortex." *Hippocampus* 18.12 (**2008**): 1270-1282.

Saxe et al. "Ablation of hippocampal neurogenesis impairs contextual fear conditioning and synaptic plasticity in the dentate gyrus." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103.46 (**2006**): 17501-17506.

Saxe et al. "Paradoxical influence of hippocampal neurogenesis on working memory." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104.11 (**2007**): 4642-4646.

Schänzer et al. "Direct stimulation of adult neural stem cells in vitro and neurogenesis in vivo by vascular endothelial growth factor." *Brain pathology* 14.3 (**2004**): 237-248.

Schneider, Karpf and Beckervordersandforth. "Role of astrocytes in the neurogenic niches." *Astrocytes*. Humana Press, New York, NY, (**2019**): 19-33.

Seki et al. "Distinctive population of Gfap-expressing neural progenitors arising around the dentate notch migrate and form the granule cell layer in the developing hippocampus." *Journal of Comparative Neurology* 522.2 (**2014**): 261-283.

Semple et al. "Brain development in rodents and humans: Identifying benchmarks of maturation and vulnerability to injury across species." *Progress in neurobiology* 106 (**2013**): 1-16.

Seymour and Mothersill. "Relative contribution of bystander and targeted cell killing to the low-dose region of the radiation dose–response curve." *Radiation research* 153.5 (**2000**): 508-511.

Shin et al. "Single-cell RNA-seq with waterfall reveals molecular cascades underlying adult neurogenesis." *Cell stem cell* 17.3 (**2015**): 360-372.

Shohayeb et al. "Factors that influence adult neurogenesis as potential therapy." *Translational neurodegeneration* 7.1 (**2018**): 1-19.

Shors et al. "Neurogenesis may relate to some but not all types of hippocampal-dependent learning." *Hippocampus* 12.5 (**2002**): 578-584.

Shors et al. "Neurogenesis may relate to some but not all types of hippocampal-dependent learning." *Hippocampus* 12.5 (**2002**): 578-584.

Sienkiewicz, Saunders and Butland. "Prenatal irradiation and spatial memory in mice: investigation of critical period." *International journal of radiation biology* 62.2 (**1992**): 211-219.

Simon, Haj-Yehia and Levi-Schaffer. "Role of reactive oxygen species (ROS) in apoptosis induction." *Apoptosis* 5.5 (**2000**): 415-418.

Siti, Kamisah and Kamsiah. "The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease (a review)." *Vascular pharmacology* 71 (**2015**): 40-56.

Snyder et al. "A role for adult neurogenesis in spatial long-term memory." *Neuroscience* 130.4 (**2005**): 843-852.

Snyder and Drew. "Functional neurogenesis over the years." (**2020**): 112470.

Snyder et al. "Adult hippocampal neurogenesis buffers stress responses and depressive behaviour." *Nature* 476.7361 (**2011**): 458-461.

Solstad et al. "Representation of geometric borders in the entorhinal cortex." *Science* 322.5909 (**2008**): 1865-1868.

Son et al. "Hippocampal dysfunction during the chronic phase following a single exposure to cranial irradiation." *Experimental neurology* 254 (**2014**): 134-144.

Song, Stevens and Gage. "Astroglia induce neurogenesis from adult neural stem cells." *Nature* 417.6884 (**2002a**): 39-44.

Song, Stevens and Gage. "Neural stem cells from adult hippocampus develop essential properties of functional CNS neurons." *Nature neuroscience* 5.5 (**2002b**): 438-445.

Song et al. "New neurons in the adult mammalian brain: synaptogenesis and functional integration." *Journal of Neuroscience* 25.45 (**2005**): 10366-10368.

Sorrells et al. "Human hippocampal neurogenesis drops sharply in children to undetectable levels in adults." *Nature* 555.7696 (**2018**): 377-381.

Sultan et al. "Synaptic integration of adult-born hippocampal neurons is locally controlled by astrocytes." *Neuron* 88.5 (**2015**): 957-972.

Sun et al. "Vascular endothelial growth factor-B (VEGFB) stimulates neurogenesis: evidence from knockout mice and growth factor administration." *Developmental biology* 289.2 (**2006**): 329-335.

Surma-aho et al. "Adverse long-term effects of brain radiotherapy in adult low-grade glioma patients." *Neurology* 56.10 (**2001**): 1285-1290.

T

Tada et al. "X-irradiation causes a prolonged reduction in cell proliferation in the dentate gyrus of adult rats." *Neuroscience* 99.1 (**2000**): 33-41.

Taillia et al. "Cognitive evaluation during brain radiotherapy in adults: a simple assessment is possible." *Cancer radiotherapie: journal de la Societe francaise de radiotherapie oncologique* 17.5-6 (**2013**): 413-418.

Tan et al. "Depletion of new neurons by image guided irradiation." *Frontiers in neuroscience* 5 (**2011**): 59.

Tang and Loke. "Molecular mechanisms of low dose ionizing radiation-induced hormesis, adaptive responses, radioresistance, bystander effects, and genomic instability." *International journal of radiation biology* 91.1 (**2015**): 13-27.

Tang, Loke and Khoo. "Low-dose or low-dose-rate ionizing radiation–induced bioeffects in animal models." *Journal of radiation research* 58.2 (**2017a**): 165-182.

Tang, Loke and Khoo. "Postnatal irradiation-induced hippocampal neuropathology, cognitive impairment and aging." *Brain and Development* 39.4 (**2017b**): 277-293.

Taube, Muller and Ranck. "Head-direction cells recorded from the postsubiculum in freely moving rats. I. Description and quantitative analysis." *Journal of Neuroscience* 10.2 (**1990**): 420-435.

Taube. "Head direction cells." *Scholarpedia* 4.12 (**2009**): 1787.

Taube. "The head direction signal: origins and sensory-motor integration." *Annu. Rev. Neurosci.* 30 (**2007**): 181-207.

Taupin. "BrdU immunohistochemistry for studying adult neurogenesis: paradigms, pitfalls, limitations, and validation." *Brain research reviews* 53.1 (**2007**): 198-214.

Thompson et al. "Genomic anatomy of the hippocampus." *Neuron* 60.6 (**2008**): 1010-1021.

Tomé et al. "A mouse model replicating hippocampal sparing cranial irradiation in humans: A tool for identifying new strategies to limit neurocognitive decline." *Scientific reports* 5 (**2015**): 14384.

Tronel et al. "Adult-born neurons are necessary for extended contextual discrimination." *Hippocampus* 22.2 (**2012**): 292-298.

Trouche et al. "Recruitment of adult-generated neurons into functional hippocampal networks contributes to updating and strengthening of spatial memory." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106.14 (**2009**): 5919-5924.

Tubiana et al. "The linear no-threshold relationship is inconsistent with radiation biologic and experimental data." *Radiology* 251.1 (**2009**): 13-22.

Tuscher et al. "Chemogenetic inactivation of the dorsal hippocampus and medial prefrontal cortex, individually and concurrently, impairs object recognition and spatial memory consolidation in female mice." *Neurobiology of learning and memory* 156 (**2018**): 103-116.

U

UNSCEAR (**2012**) Biological mechanisms of radiation actions at low doses - a white paper to guide the Scientific Committee's future programme of work United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation, New York, New York, USA.

Urbán and Guillemot. "Neurogenesis in the embryonic and adult brain: same regulators, different roles." *Frontiers in cellular neuroscience* 8 (**2014**): 396.

V

Van Groen and Wyss. "Extrinsic projections from area CA1 of the rat hippocampus: olfactory, cortical, subcortical, and bilateral hippocampal formation projections." *Journal of Comparative Neurology* 302.3 (**1990**): 515-528.

Van Praag, Kempermann and Gage. "Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus." *Nature neuroscience* 2.3 (**1999**): 266-270.

Veyrac et al. "Zif268/egr1 gene controls the selection, maturation and functional integration of adult hippocampal newborn neurons by learning." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110.17 (**2013**): 7062-7067.

Viñuela and Larsen. "Identification of NPY-induced c-Fos expression in hypothalamic neurons projecting to the dorsal vagal complex and the lower thoracic spinal cord." *Journal of Comparative Neurology* 438.3 (**2001**): 286-299.

Volterra and Meldolesi. "Astrocytes, from brain glue to communication elements: the revolution continues." *Nature Revues Neuroscience* 6.8 (**2005**): 626-640.

Vorbrodt, Dobrogowska and Tarnawski. "Immunogold study of interendothelial junction-associated and glucose transporter proteins during postnatal maturation of the mouse blood-brain barrier." *Journal of neurocytology* 30.8 (**2001**): 705-716.

W

Wang et al. "Evaluation of the comet assay for assessing the dose-response relationship of DNA damage induced by ionizing radiation." *International journal of molecular sciences* 14.11 (**2013**): 22449-22461.

Winocur et al. "Inhibition of neurogenesis interferes with hippocampus-dependent memory function." *Hippocampus* 16.3 (**2006**): 296-304.

Wojtowicz, Askew and Winocur. "The effects of running and of inhibiting adult neurogenesis on learning and memory in rats." *European Journal of Neuroscience* 27.6 (**2008**): 1494-1502.

Wong and Van der Kogel. "Mechanisms of radiation injury to the central nervous system: implications for neuroprotection." *Molecular interventions* 4.5 (**2004**): 273.

Wu et al. "Functional differentiation of adult-born neurons along the septotemporal axis of the dentate gyrus." *Cold Spring Harbor perspectives in biology* 7.8 (**2015**): a018978.

X

Xie et al. "Shared mechanisms of neurodegeneration in Alzheimer's disease and Parkinson's disease." *BioMed research international* 2014 (**2014**).

Xiong, Mahmood and Chopp. "Angiogenesis, neurogenesis and brain recovery of function following injury." *Current opinion in investigational drugs (London, England: 2000)* 11.3 (**2010**): 298.

Y

Yan and Jiang. "Dual effects of ketamine: neurotoxicity versus neuroprotection in anesthesia or the developing brain." *Journal of Neurosurgical Anesthesiology* 26.2 (**2014**): 155-160.

Yin et al. "Gene expression changes in mouse brain after exposure to low-dose ionizing radiation." *International journal of radiation biology* 79.10 (**2003**): 759-775.

Yu et al. "Adult neurogenesis promotes efficient, nonspecific search strategies in a spatial alternation water maze task." *Behavioural brain research* 376 (**2019**): 112-151.

Z

Zhang et al. "Radiation induces age-dependent deficits in cortical synaptic plasticity." *Neuro-oncology* 20.9 (**2018**): 1207-1214.

Zhang et al. "VEGF is a chemoattractant for FGF-2–stimulated neural progenitors." *The Journal of cell biology* 163.6 (**2003**): 1375-1384.

Zhang et al. "Increased protein expression levels of pCREB, BDNF and SDF-1/CXCR4 in the hippocampus may be associated with enhanced neurogenesis induced by environmental enrichment." *Molecular medicine reports* 14.3 (**2016**): 2231-2237.

Zhao, Deng and Gage. "Mechanisms and functional implications of adult neurogenesis." *Cell* 132.4 (**2008**): 645-660.

Zhao and Robbins. "Inflammation and chronic oxidative stress in radiation-induced late normal tissue injury: therapeutic implications." *Current medicinal chemistry* 16.2 (**2009**): 130-143.

Zhao et al. "Establishment and dysfunction of the blood-brain barrier." *Cell* 163.5 (**2015**): 1064-1078.

Zhou et al. "Dual roles of astrocytes in plasticity and reconstruction after traumatic brain injury." *Cell Communication and Signaling* 18 (**2020**): 1-16.

Sites :

Guide de procédures de radiothérapie externe 2007 *:*
https://www.hassante.fr/upload/docs/application/pdf/2008-08/guide_de_rth_des_tumeurs_v7_complet.pdf

ÉCOLE DOCTORALE
Innovation thérapeutique
du fondamental à l'appliqué
(ITFA)

Titre : Etude de l'apprentissage et de la mémoire spatiale à long-terme après une exposition postnatale du cerveau ou du gyrus denté dorsal, à des doses faibles à modérées de rayonnements ionisants : rôle de la neurogenèse hippocampique adulte.

Mots clés : Doses faibles à modérées de rayonnements ionisants, Exposition postnatale, Mémoire spatiale, Gyrus denté dorsal, Neurogenèse hippocampique adulte.

Résumé : Les effets d'une exposition cérébrale à des doses faibles à modérées de rayonnements ionisants (RIs) sur la cognition des adultes exposés pendant leur enfance ne sont pas clairement établis chez l'Homme et un manque de données expérimentales existe à ce sujet. Toutefois, les études menées à fortes doses nous rapportent que l'irradiation (IR) de l'hippocampe (HPC), un des lieux de neurogenèse adulte, semble jouer un rôle dans l'apparition des troubles cognitifs à l'âge adulte. Dans cette thèse, nous avons étudié et comparé les effets d'une irradiation postnatale du cerveau entier (CV) ou du gyrus denté dorsal (GDD) de l'HPC sur la mémoire spatiale à long-terme (MSLT). Les deux modèles ont été exposés avec une dose unique de 0.25, 0.5, 1 ou 2 Gy. Nos résultats démontrent que l'apprentissage n'est pas modifié, 3 mois après l'IR, dans toutes nos conditions expérimentales. La restitution de la mémoire spatiale, testée 10 jours plus tard, est altérée seulement par l'exposition du GDD à la dose de 1 Gy. Ainsi, nous avons démontré que la relation dose réponse n'est pas linéaire après une exposition localisée du GDD. Nous avons également démontré que l'exposition du CV ou du GDD à la dose de 1 Gy impacte différemment la neurogenèse hippocampique adulte, un processus cellulaire impliqué dans la MSLT. L'exposition localisée du GDD induit, entre autres, une augmentation de la prolifération cellulaire alors qu'une exposition du CV induit leur diminution, 2 mois après l'IR. Seule l'exposition du GDD a pour conséquence de diminuer le pourcentage de nouveaux neurones matures, 3 mois après l'IR. Les altérations différentes du processus de neurogenèse hippocampique adulte pourraient expliquer, en partie, les résultats obtenus lors de la restitution de la mémoire spatiale, dans nos deux modèles exposés à la dose de 1 Gy. Ces résultats démontrent que l'exposition du CV est moins délétère que l'exposition du GDD dans nos conditions expérimentales. Cette étude permet d'améliorer nos connaissances sur les effets d'une exposition à des doses faibles à modérées de RIs sur le cerveau et une sous-structure de l'hippocampe.

Title : Study on learning and long-term spatial memory after postnatal brain exposure or only the dorsal dentate gyrus exposure, at low-to-moderate dose of ionizing radiation : role of the adult hippocampal neurogenesis.

Keywords : Low-to-moderate doses of Ionising radiation, Postnatal exposure, Spatial memory, Dorsal dentate gyrus, Adult hippocampal neurogenesis.

Abstract : The effects of cerebral exposure at low-to-moderate doses of ionizing radiation (IRs) on the adult cognition exposed during childhood are not clearly established in humans and there is a lack of experimental data on this subject. However, high-dose studies teach us that hippocampus (HPC) irradiation (IR), a site of adult neurogenesis, appears to participate in the development of cognitive impairment in adulthood. In this thesis, we investigated and compared the effects of postnatal whole brain (WB) or dorsal dentate gyrus (DDG) of HPC exposure , on long-term spatial memory (LTSM) Both models were exposed with a single dose of 0.25, 0.5, 1 or 2 Gy. Our results provide evidence that learning is not affected, 3 months after IR, in all our experimental conditions. The restitution of spatial memory, tested 10 days later, is altered only by DDG exposure at the dose of 1 Gy. Thus, we demonstrated that the dose-response relationship is not linear after localized exposure of GDD. We also demonstrated that WB or DDG exposure at the dose of 1 Gy has a different impact on adult hippocampal neurogenesis, a cellular process involved in LTSM. DDG exposure induces, among other things, an increase of cell proliferation while WB exposure induces their decrease, 2 months after IR. Only DDG exposure results in reducing the percentage of new mature neurons, 3 months after IR. The different alterations on adult hippocampal neurogenesis process could explain, in part, the results obtained during the restoration of spatial memory, in our two models exposed at 1 Gy. These results demonstrate that WB exposure is less deleterious than DDG exposure under our experimental conditions. This study helps improve our knowledge of the effects of exposure at low-to-moderate doses of IRs on the brain and a substructure of the hippocampus.

Université Paris-Saclay
Espace Technologique / Immeuble Discovery
Route de l'Orme aux Merisiers RD 128 / 91190 Saint-Aubin, France