

Article

# Les fibroblastes cutanés de personnes autodiagnostiquées comme électrosensibles révèlent deux sous-ensembles distincts ayant en commun un retard de la nucléocapture de la protéine ATM

Laurène Sonzogni <sup>1,†</sup>, Joëlle Al-Choboq <sup>1,†</sup>, Patrick Combemale <sup>1,2</sup>, Amélie Massardier-Pilonchéry <sup>3,4</sup>, Audrey Bouchet <sup>1</sup>, Philippe May <sup>5</sup>, Jean-François Doré <sup>1</sup>, Jean-Claude Debouzy <sup>5</sup>, Michel Bourguignon <sup>1,6</sup>, Yves Le Dréan <sup>7</sup> et Nicolas Foray <sup>1,\*</sup>.

<sup>1</sup> Unité Mixte de Recherche (UMR)1296 "Radiation : Défense, Santé, Environnement", Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), Centre Léon-Bérard, 69008 Lyon, France ; laurène.sonzogni@inserm.fr (L.S.) ; joelle.al-choboq@inserm.fr (J.A.-C.) ; patrick.combemale@lyon.unicancer.fr (P.C.) ; audrey.bouchet@inserm.fr (A.B.) ; jean-francois.dore@inserm.fr (J.-F.D.) ; michel.bourguignon@inserm.fr (M.B.)

<sup>2</sup> Département de dermatologie, Centre Léon-Bérard, 69008 Lyon, France

<sup>3</sup> Université Claude-Bernard Lyon 1, Université Gustave-Eiffel, Unité Mixte de Recherche Epidémiologique et de Surveillance Transport Travail Environnement (UMRESTTE), UMR\_T9405, 690008 Lyon, France ; amelie.massardier-pilonchery@chu-lyon.fr

<sup>4</sup> Service de médecine du travail et des maladies professionnelles, Centre Hospitalier Lyon-Sud, Hospices Civils de Lyon, 90008 Lyon, France

<sup>5</sup> Institut de Recherche Biomédicale des Armées, 1 Place du Générale Valérie André, BP 40073, 91223 Brétigny-sur-Orge, France ; philippe.may@intradef.gouv.fr (P.M.) ; jcddebouzy@gmail.com (J.-C.D.)

<sup>6</sup> Université Paris-Saclay, 78035 Versailles, France

<sup>7</sup> Inserm, Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique (EHSEP), Institut de Recherche en Santé, Environnement et Travail (IRSET), Université de Rennes, UMR\_S 1085, 35000 Rennes, France ; yves.le-drean@univ-rennes1.fr

\* Correspondance : nicolas.foray@inserm.fr ; Tél : +33-04-7878-2828

† Ces auteurs ont contribué de manière égale à ce travail.



Rédacteurs académiques : Filomena Napolitano et Valentina Giudice

Reçue : 2 avril 2025

Révisé : 12 mai 2025

Accepté : 13 mai 2025

Publié : 16 mai 2025

**Citation** : Sonzogni, L. ; Al-Choboq, J. ; Combemale, P. ; Massardier- Pilonchéry, A. ; Bouchet, A. ; May, P. ; Doré, J.-F. ; Debouzy, J.-C. ; Bourguignon, M. ; Dréan, Y.L. ; et al.

Les fibroblastes cutanés de personnes autodiagnostiquées comme électrosensibles révèlent deux sous-ensembles distincts présentant un retard dans l'éclatement du noyau de l'ATM.

Protéines en commun. *Int. J. Mol. Sci.* **2025**, *26*, 4792. <https://doi.org/10.3390/ijms26104792>

**Copyright** : © 2025 par les auteurs.

Licencié MDPI, Bâle, Suisse. Cet article est un article en libre accès distribué selon les termes et conditions de la licence Creative Commons

Attribution (CC BY)

(<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Résumé** : L'hyper-sensibilité électromagnétique (EHS) et son lien de causalité avec les radiofréquences soulèvent une question majeure de santé publique. Dans le cadre de l'étude clinique DEMETER, 26 volontaires adultes auto-diagnostiqués comme EHS-positifs ont accepté de répondre à un questionnaire d'auto-évaluation et de fournir un échantillon de biopsie cutanée pour établir une lignée cellulaire primaire de fibroblastes. Le questionnaire et les données biologiques ont révélé, indépendamment, deux sous-ensembles de donneurs associés chacun à un phénotype de faible fond, très réactif (LBHR) et de fort fond, peu réactif (HBLR). Deux sous-ensembles basés sur les données du questionnaire et sur le nombre de cassures double brin spontanées de l'ADN se sont avérés être composés des mêmes donneurs à 64 % d'identité. Après exposition aux rayons X et application de l'immunofluorescence *anti-γH2AX*, *pATM* et *MRE11*, tous les fibroblastes DEMETER (26/26) ont provoqué une coupure du noyau ATM induite par les radiations (RIANS). L'utilisation des biomarqueurs RIANS a montré que les deux phénotypes décrits ci-dessus correspondaient à des donneurs DEMETER présentant un risque élevé de cancer (LBHR) ou un risque élevé de vieillissement accéléré (HBLR). En exposant les cellules DEMETER à l'H<sub>2</sub>O suivi d'un agent antioxydant, nous avons confirmé que

La HSEM pourrait être liée à la gestion des cassures de brins d'ADN. Un modèle moléculaire préliminaire de l'EHS inspiré du modèle RIANS a été proposé.

**Mots clés** : électrosensibilité ; EHS ; CEM ; radiosensibilité ; cassures double-brin de l'ADN ; réparation des cassures double-brin ; ATM ; questionnaire d'auto-évaluation ; immunofluorescence ; stress oxydatif

## 1. Introduction

Depuis plusieurs décennies, les champs électromagnétiques (CEM) d'origine humaine, tels que ceux produits par les micro-ondes dont la fréquence s'étend de 300 MHz à 300 GHz, sont entrés dans notre vie quotidienne [1-4]. Ces hyperfréquences (HF) micro-ondes concernent un nombre croissant d'applications, présentes aussi bien dans le domaine professionnel que dans celui du grand public : radiodiffusion et télévision, téléphonie mobile, radars militaires, hyperthermie médicale, communications par satellite, etc. Récemment encore, en raison d'avancées et de besoins technologiques considérables, de nouvelles applications HF sont développées (Bluetooth, WiFi, WiMax, etc.), ce qui augmente considérablement le nombre de sources HF et la pression de radiation environnementale globale [5-7]. Parallèlement, une forte préoccupation sociétale est apparue et a exigé une meilleure compréhension des effets biologiques potentiels des ondes décimétriques et une évaluation des risques associés possibles, afin d'accroître l'acceptabilité d'une telle révolution technologique [8-10]. Progressivement, certains auteurs ont attribué aux HF certains symptômes tels que la cataracte, la fatigue, l'anxiété et l'inconfort révélés par les personnes exposées [11-16]. A ce jour, la liste des symptômes potentiellement induits par les HF s'allonge, alors que la preuve directe du lien de causalité entre l'exposition aux HF et l'apparition de ces symptômes est encore source de débat [17-23]. Le terme "hyper-sensibilité électromagnétique" (EHS) a d'abord été proposé pour refléter le groupe de symptômes que certaines personnes attribuent à l'exposition aux CEM. C'est notamment le cas des maux de tête, des troubles du sommeil, de la fatigue, des difficultés de concentration, des vertiges, ... [17,24,25]. Toutefois, il convient de noter que d'autres termes, tels que le "syndrome des micro-ondes", ont également été cités, ce qui n'a pas facilité les analyses bibliographiques exhaustives [26]. Plus récemment, un troisième terme, "intolérance environnementale idiopathique attribuée aux CEM" (IEI-EMF), a été proposé pour mieux refléter la diversité des symptômes mais aussi l'incertitude quant à la nature de leur lien avec les CEM [17,27].

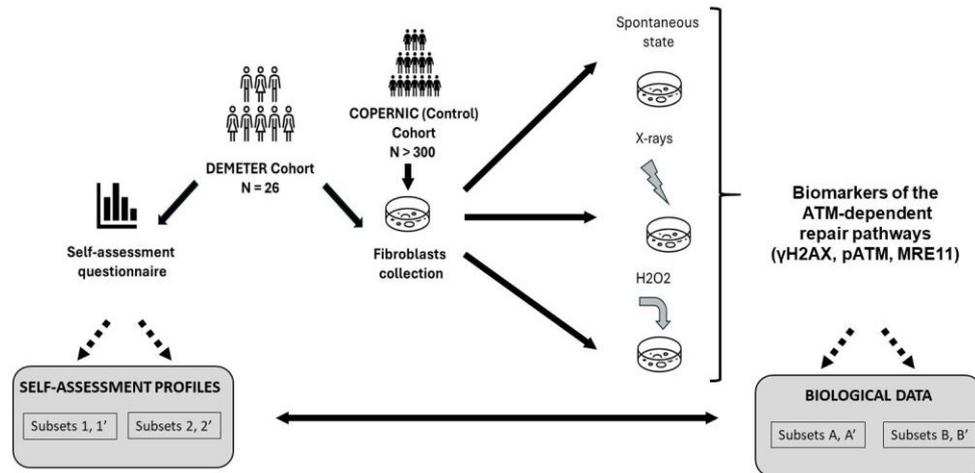
Historiquement, l'idée que les CEM peuvent avoir un impact sur la santé humaine a été soulevée avec la découverte des rayons X, à la fin du 19<sup>e</sup> siècle. Vers 1896, alors que des bobines d'induction (par exemple, la bobine d'induction de Ruhmkorff) étaient nécessaires pour augmenter la tension d'émission des rayons X, le radiologue français Étienne Destot a attribué les lésions tissulaires observées après une exposition aux rayons X aux CEM émis par les bobines d'induction [28,29]. Toutefois, l'accumulation de données radiopathologiques a permis de conclure que certaines réactions tissulaires indésirables pouvaient être observées en l'absence de bobines (c'est-à-dire sans émission de CEM) et qu'elles étaient donc dues aux rayonnements ionisants [30]. À ce jour, la littérature s'accorde à considérer que les CEM, en tant que rayonnements non ionisants, transfèrent à la matière vivante une quantité d'énergie beaucoup plus faible que les rayonnements ionisants [31]. En d'autres termes, l'électrosensibilité et la radiosensibilité devraient déclencher des caractéristiques biologiques et cliniques différentes en fonction de la quantité d'énergie absorbée. C'est probablement à partir de ce paradigme que certains auteurs ont remis en question l'existence même des symptômes induits par les CEM et de la HSEM, notamment par le biais d'études provocatrices ou en double aveugle [32,33]. La HSEM a également été comparée au "nocebo", un effet où la croyance en un effet négatif potentiel d'une exposition provoque des symptômes, même en l'absence de toute cause physique, bien que cette notion soit encore débattue à ce jour [34,35]. Enfin, certaines études ont également suggéré que les personnes souffrant d'EHS pourraient avoir une plus grande propension à ressentir des symptômes liés au stress ou à l'anxiété, notamment par le biais de la somatisation [36]. Certaines organisations de santé publique, comme l'Organisation mondiale de la santé (OMS), reconnaissent la HSEM comme un phénomène autodéclaré, mais soulignent qu'il n'existe pas de base scientifique suffisante pour en faire un diagnostic médical officiel. L'OMS recommande néanmoins aux personnes présentant des symptômes de consulter un professionnel de la santé pour les évaluer et les traiter [1-4].

La majorité des études sur la HSEM se sont concentrées sur les individus et leur comportement [17,19]. Une autre approche pourrait consister à étudier la réponse aux CEM des cellules provenant de personnes EHS afin de surmonter les biais des études comportementales. Cependant, une telle approche, qui représente à ce jour une minorité de rapports, soulève au moins deux problèmes :

(1) comment sélectionner les individus EHS et sur quels critères, alors que l'existence de l'EHS elle-même avec des symptômes spécifiques reste controversée ? (2) quel modèle cellulaire choisir ? En ce qui concerne la première question, il faut souligner que l'OMS a recommandé d'inclure, dans toute étude clinique de l'EHS, une auto-évaluation avec une gradation de l'intensité des symptômes ou de l'inconfort par le biais d'un questionnaire [1]. En ce qui concerne la deuxième question, notre longue expérience des études sur la radiosensibilité individuelle nous a conduits à privilégier l'utilisation de fibroblastes cutanés qui présentent au moins 5 avantages par rapport aux lymphocytes et à d'autres types de cellules comme les astrocytes : (1) les fibroblastes sont les cellules les plus représentatives du corps humain et du tissu conjonctif ; (2) les biopsies cutanées établies à partir de ponctions dermatologiques sont faciles à réaliser et le taux de réussite pour l'établissement de lignées cellulaires est très élevé ; (3) les fibroblastes sont stables, ont une longue durée de vie en culture cellulaire et ne provoquent pas spécifiquement l'apoptose comme les lymphocytes ; (4) leur forme, leur propriété d'inhibition du contact et leur propension à se maintenir en monocouche imitent bien l'échelle du tissu ; (5) certaines réactions cutanées reproductibles aux CEM, comme des picotements, des sensations de brûlure et des éruptions cutanées, ont été rapportées, alors que ce n'est pas le cas avec le sang [37].

Certains symptômes observés chez les patients EHS, comme les éruptions cutanées, peuvent également avoir été observés chez certains patients présentant une radiosensibilité cellulaire et clinique [38]. Comme il a été démontré que la radiosensibilité cellulaire et clinique était liée à une altération des voies de rupture double brin de l'ADN (DSB) dépendant de la protéine kinase ATM, un acteur majeur de la réponse au stress [39,40], il est apparu très intéressant d'étudier la fonctionnalité des voies de reconnaissance et de réparation des DSB dépendant de l'ATM dans les fibroblastes cutanés des patients EHS. Ainsi, afin de fournir la première définition moléculaire de l'EHS, une étude médicale, appelée DEMETER (acronyme français pour Définition moléculaire de l'électrosensibilité humaine) a été menée sur une cohorte de 26 volontaires autodiagnostiqués électrosensibles. L'étude DEMETER consistait à la fois en un questionnaire d'auto-évaluation et en des investigations moléculaires sur la collection de lignées cellulaires de fibroblastes provenant des donneurs DEMETER. Ces deux tâches ont été effectuées séparément et indépendamment. Une autre collection de lignées cellulaires de fibroblastes du laboratoire, appelée COPERNIC, et sa base de données radiobiologiques associée, fournies par des patients cancéreux traités par radiothérapie (RT) qui n'ont décrit aucun symptôme EHS dans leur questionnaire, ont été utilisées comme témoins non EHS [41]. Parmi les donneurs de COPERNIC, les radiorésistants (Dans cette étude, la notion de radiorésistance est définie à la fois cliniquement (absence de réactions tissulaires significatives post-RT), à l'échelle cellulaire (fraction survivante à 2 Gy, SF2

> 55%) et à l'échelle moléculaire (nombre maximal de foyers pATM après 2 Gy, pATMmax > 35 foyers pATM). Il est à noter que la sous-population des individus radiorésistants représente environ 75-85% des individus [39]). Des donneurs apparemment sains non EHS ont servi de témoins négatifs pour l'EHS, tandis que des cellules de patients cancéreux non EHS traités par RT et présentant une radiosensibilité intermédiaire ont servi de témoins négatifs pour la radiosensibilité [40]. Enfin, les conclusions tirées des deux premières étapes (questionnaire et données biologiques) ont été combinées pour identifier les caractéristiques moléculaires spécifiques de la HSEM. Dans le présent rapport, seules les données du questionnaire d'auto-évaluation et les données obtenues après exposition des cellules DEMETER et COPERNIC aux rayons X et à l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, deux inducteurs de stress très documentés de ruptures de brins d'ADN, sont présentées (figure 1). Les données induites par les CEM feront l'objet d'un autre rapport. L'un des principaux objectifs de cette étude est de définir les caractéristiques communes de la HSEM qui pourraient être définies à partir d'études biologiques et de questionnaires d'auto-évaluation. Nous nous sommes particulièrement intéressés à la reconnaissance, à la réparation et à la signalisation des cassures double brin de l'ADN dans les fibroblastes de la peau des patients DEMETER (Figure 1).



**Figure 1.** Organisation générale de l'étude DEMETER. Les 26 volontaires de l'étude DEMETER ont accepté de remplir un questionnaire d'auto-évaluation et de fournir une biopsie de la peau. Les CDB spontanées, induites par les rayons X et l' $H_{(2)}O_2$  ont été évaluées dans les fibroblastes qui en sont issus. Les données COPERNIC (cas radiorésistants ou radiosensibles non EHS) ont été comparées aux données DEMETER. Les liens potentiels entre le questionnaire et les données biologiques ont été étudiés, notamment en comparant les compositions de quelques sous-ensembles de donneurs DEMETER définis à partir du questionnaire et des données biologiques.

## 2. Résultats

Deux types d'enquêtes ont été menées indépendamment l'une de l'autre :

- un questionnaire d'auto-évaluation composé de cinq parties : des questions sur l'intensité des symptômes et de l'inconfort (A) après une exposition à diverses sources actuelles de CEM ; (B) après une exposition à certaines sources non CEM ; (C) en fonction du tissu/organe exposé, avant l'exposition aux sources de CEM ; (D) en fonction du tissu/organe exposé, pendant l'exposition aux sources de CEM, et une zone libre (P) pour les informations personnelles afin de détailler les éventuels antécédents médicaux et les traitements en cours. Pour les questions A à D, les intensités ont été notées de 0 (la plus faible intensité) à 5 (la plus forte intensité).
- une mesure des cassures de l'ADN dans les cellules DEMETER à l'état spontané et en réponse aux rayons X et à  $H_{(2)}O_2$ , deux sources documentées de cassures des brins d'ADN.

Dans la dernière étape, les deux analyses ont été regroupées pour identifier certaines caractéristiques communes et proposer, si possible, une première définition moléculaire de l'ESS.

### 2.1. Analyse des données du questionnaire d'auto-évaluation

#### 2.1.1. Caractéristiques générales de la cohorte DEMETER

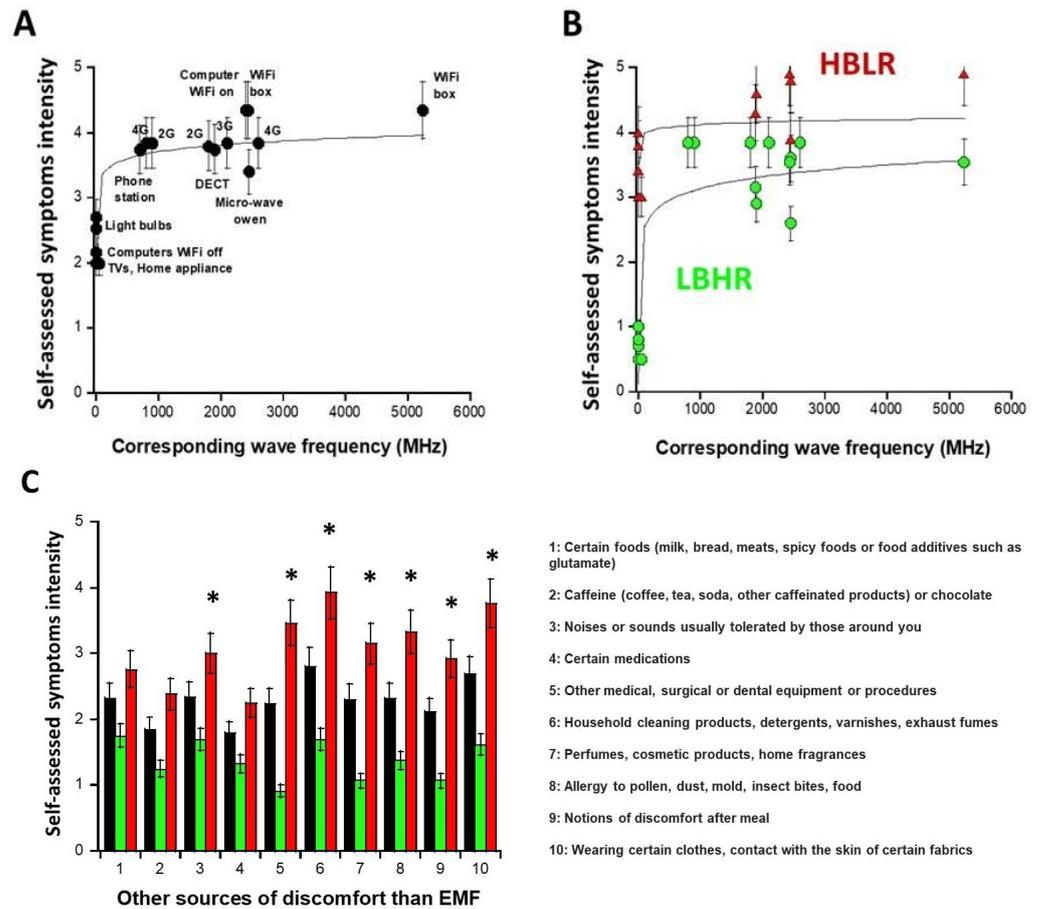
La cohorte DEMETER était composée de 26 donneurs auto-diagnostiqués comme électrosensibles, dont 20 (77%) femmes et 6 (23%) hommes. L'âge moyen des donneurs était de  $52,4 \pm 1,6$  ans au moment du prélèvement des biopsies cutanées (minimum : 39 ; maximum : 69 ;  $52,9 \pm 1,4$  et  $51,8 \pm 4,1$  ans pour les femmes et les hommes, respectivement).

#### 2.1.2. Sources de CEM susceptibles de provoquer des symptômes : Définition des sous-ensembles 1 et 2

La partie A du questionnaire d'auto-évaluation interroge les donneurs du projet DEMETER sur leurs éventuels symptômes et malaises en réponse à l'exposition à diverses sources de CEM. Tous les donneurs de la cohorte DEMETER ont répondu aux questions de la partie A en indiquant une intensité de gravité allant de 0 (aucune réaction) à 5 (douleur et gêne extrêmes). Pour chaque source de CEM, la moyenne des intensités des symptômes auto-diagnostiqués ( $I_{moyenne}$ ) fournie par les 26 donneurs de la cohorte DEMETER a été calculée et rapportée à l'onde

fréquences (WF) exprimées en MHz (figure 2A). La formule empirique fournissant la meilleure adéquation aux données est la suivante :

$$I_{\text{moyenne}}(\text{WF}) = 2.67 + 0.34 \log(\text{WF}) \quad (R = 0,81) \quad (1)$$



**Figure 2.** Données du questionnaire exprimées sous forme de symptômes auto-diagnostiqués et d'intensités de gêne en fonction de la fréquence d'onde des sources de CEM d'intérêt (A, B) et de sources différentes des ondes de CEM (C). Chaque donnée est la moyenne ( $\pm$  erreur standard de la moyenne (SEM)) des valeurs auto-évaluées par les 26 donneurs DEMETER (symboles noirs), par les donneurs DEMETER du sous-ensemble 1 (LBHR) et 2 (HBLR) (symboles verts et rouges, respectivement). Les formules logarithmiques obtenues à partir des ajustements de données ont été tracées en traits pleins ((A) : équation (1) ; (B) : équations (2) et (3)). Dans le panneau (C), les astérisques indiquent une différence significative (ANOVA à sens unique) entre les données et la moyenne des sous-ensembles 1 et 2 ( $p < 0,05$ ).

La courbe obtenue montre que l'intensité moyenne des symptômes auto-diagnostiqués,  $I_{\text{(moyenne)}}$ , augmente brutalement à partir de 300 MHz et atteint son maximum dans le domaine UHF, c'est-à-dire dans l'intervalle [300 MHz, 3 GHz] avec  $I_{\text{(moyenne)}}(\text{UHF}) \approx 3,92$  (Figure 2A). Cependant, pour certains donneurs DEMETER, des symptômes et une gêne significatifs auto-diagnostiqués ont également été décrits même en dehors de ce domaine UHF : en effet, en considérant uniquement les sources de CEM inférieures à UHF (c'est-à-dire les appareils électroménagers, les ampoules électriques, les ordinateurs avec WiFi désactivé, correspondant aux questions A5, A6, A7 du questionnaire d'auto-évaluation, respectivement (Figure supplémentaire S1 ; voir Données supplémentaires), l'intensité moyenne  $I_{(A5,A6,A7)}$  s'est avérée être égale à 2,48. Cette valeur limite a permis de définir deux sous-ensembles distincts de donneurs DEMETER, à savoir les sous-ensembles 1 et 2, obéissant respectivement aux conditions et formules suivantes (figure 2B) :

- le sous-ensemble 1 de donneurs DEMETER (N= 14 ; 53,8 %) ayant une auto-évaluation relativement faible des symptômes et de l'inconfort lorsqu'ils sont exposés à des CEM inférieures aux UHF ( $I_{(A5,A6,A7)} < 2,48$ ) : numériquement,  $I_{A5,A6,A7} = 0,8$  dans l'intervalle [0,7-1]. Le sous-ensemble 1 du DEMETER

étaient également caractérisés par des intensités de symptômes et d'inconfort auto-évaluées relativement élevées lorsqu'ils étaient exposés aux UHF ( $2,6 < I_{(UHF)} < 3,84$  ;  $I_{(moyenne)}(UHF) = 3,5$  ;  $I_{(moyenne)}(UHF) - I_{A5,A6,A7} = 2,7$ ) (figure 2B). Le sous-ensemble 1 a donc rassemblé les donneurs DEMETER qui ont présenté un faible niveau de fond (LB) mais une réactivité auto-évaluée (HR) relativement élevée à l'exposition aux UHF, définissant ainsi le phénotype "LBHR". C'était le cas des donneurs DEMETER suivants : #4, 5, 7, 8, 9, 11, 15, 16, 18, 20, 22, 23, 24 et 25 (tableau S1, données supplémentaires), dont les données obéissaient à la formule suivante :

$$\text{Sous-ensemble 1 : } I_{\text{moyenne/sous-ensemble1}}(\text{WF}) = 1.32 + 0.60 \log(\text{WF}) \quad (R = 0.45) \quad (2)$$

-le sous-ensemble 2 de donneurs DEMETER (N= 12 ; 46,1%) avec des intensités relativement élevées de symptômes et d'inconfort auto-évalués lorsqu'ils sont exposés à des CEM inférieurs à UHF ( $I_{A5,A6,A7} > 2,48$ ) : numériquement,  $I_{A5,A6,A7} = 3,8$  dans l'intervalle [3,4-4]. Les donneurs du sous-ensemble 2 de DEMETER étaient également caractérisés par des intensités auto-évaluées relativement faibles de symptômes et d'inconfort lorsqu'ils étaient exposés aux UHF ( $3,37 < I_{UHF} < 4,71$  ;  $I_{\text{moyenne}}(UHF) = 3,95$  ;  $I_{(moyenne)}(UHF) - I_{(A5,A6,A7)} = 0,15$ ) (figure 2B). Le sous-groupe 2 a donc rassemblé les donneurs DEMETER qui ont provoqué un bruit de fond élevé (HB) mais une réactivité auto-évaluée relativement faible (LR) à l'exposition aux UHF, définissant ainsi le phénotype "HBLR". C'était le cas des donneurs DEMETER suivants : #1, 2, 3, 6, 10, 12, 13, 14, 17, 19, 21, 26 (tableau S1, données complémentaires), dont les données obéissent à la formule suivante :

$$\text{Sous-ensemble 2 : } I_{\text{moyenne/sous-ensemble2}}(\text{WF}) = 3.72 + 0.13 \log(\text{WF}) \quad (R = 0.85) \quad (3)$$

Il convient de noter que les donneurs des sous-ensembles 1 et 2 étaient caractérisés par un âge similaire au moment du prélèvement de la biopsie cutanée ( $51,5 \pm 2,0$  et  $53,5 \pm 2,0$  ans, respectivement). Les rapports hommes/femmes étaient également similaires : 25 % et 21,4 % d'hommes dans les sous-ensembles 1 et 2, respectivement (tableau S1, données supplémentaires).

### 2.1.3. Nature des sources non CEM susceptibles d'induire des symptômes

La partie B du questionnaire d'auto-évaluation interroge les donneurs DEMETER sur leurs éventuels symptômes et malaises en réponse à l'exposition à diverses sources non EMF. Tous les donneurs de la cohorte DEMETER ont répondu aux questions de la partie B du questionnaire d'auto-évaluation. Comme pour la partie A, la moyenne des intensités des symptômes auto-diagnostiqués a été calculée pour chaque source de CEM (en noir ; figure 2C), mais aussi pour les sous-ensembles 1 (LBHR) et 2 (HBLR), prédéfinis ci-dessus (en vert et en rouge, respectivement, figure 2C). Parmi les différentes sources de non-EMF, celles qui ont déclenché les intensités les plus élevées de symptômes et de désagréments en moyenne étaient les produits d'entretien ménager (par exemple, les détergents) et le port de certains tissus manufacturés (figure 2C). Toutefois, les valeurs I les plus élevées ont été atteintes pour les donneurs du sous-ensemble 2 (HBLR) et concernaient, outre les deux éléments précités : les procédures médicales (n° 5), l'allergie (élément n° 8) (suggérant que le sous-ensemble 2 (HBLR), plus que le sous-ensemble 1 (LBHR), peut être associé à une certaine immunodéficiences), les parfums (élément n° 4), les bruits et les sons (n° 3) et l'inconfort postprandial (n° 9) (figure 2C).

Par conséquent, l'analyse des données de la partie B du questionnaire suggère que les donneurs du sous-groupe 1 de DEMETER (LBHR) ne sont pas particulièrement sensibles à d'autres sources que les CEM, tandis que les donneurs du sous-groupe 2 de DEMETER (HBLR) peuvent être sensibles à d'autres agents que les CEM, tels que le contact avec des produits d'entretien ménager ou certains tissus manufacturés, et peuvent présenter une certaine immunodéficiences.

### 2.1.4. Antécédents médicaux et traitements en cours des donneurs de DEMETER

La partie P du questionnaire d'auto-évaluation interroge les donneurs du DEMETER sur leurs antécédents médicaux et les traitements en cours. Seuls 7 donneurs du DEMETER ont rempli la partie P relative à

Parmi eux, 5 (71,4 %) donneurs DEMETER appartenait au sous-groupe 2 (HBLR), ce qui suggère que, dans la présente étude, le phénotype HBLR est principalement associé à des antécédents médicaux importants et/ou à un traitement en cours (tableau S1 ; données complémentaires).

### 2.1.5. Nature des symptômes avant et pendant l'exposition aux CEM : définition des sous-ensembles $1'$ et $2'$

Les parties C et D du questionnaire d'auto-évaluation interrogent les donneurs du projet DEMETER sur l'intensité des symptômes et de la gêne éventuels avant et pendant l'exposition aux sources de CEM selon le tissu, respectivement. Tous les donneurs de la cohorte DEMETER ont répondu aux questions de la partie C. Malheureusement, un donneur n'a pas rempli le formulaire concernant la partie D (intensité des symptômes et de la gêne pendant l'exposition aux CEM). La raison de cette omission étant inconnue, les données C et D de ce donneur DEMETER (n° 24) ont été exclues des calculs.

Les données des parties C et D du questionnaire d'auto-évaluation ont été représentées sous forme d'histogrammes de distribution des intensités I pour tous les organes et pathologies indiqués : pathologies oculaires, douleurs musculaires et cartilagineuses, pathologies du système cardiaque, pathologies du système digestif, fatigue et troubles du sommeil, instabilité de l'humeur et nervosité, ralentissement de l'activité intellectuelle, maux de tête et acouphènes, pathologies cutanées, pathologies génito-urinaires (figure 3). Les réponses aux parties C et D du questionnaire sont représentées en bleu et en rouge (Figures 3A et 3B, respectivement).

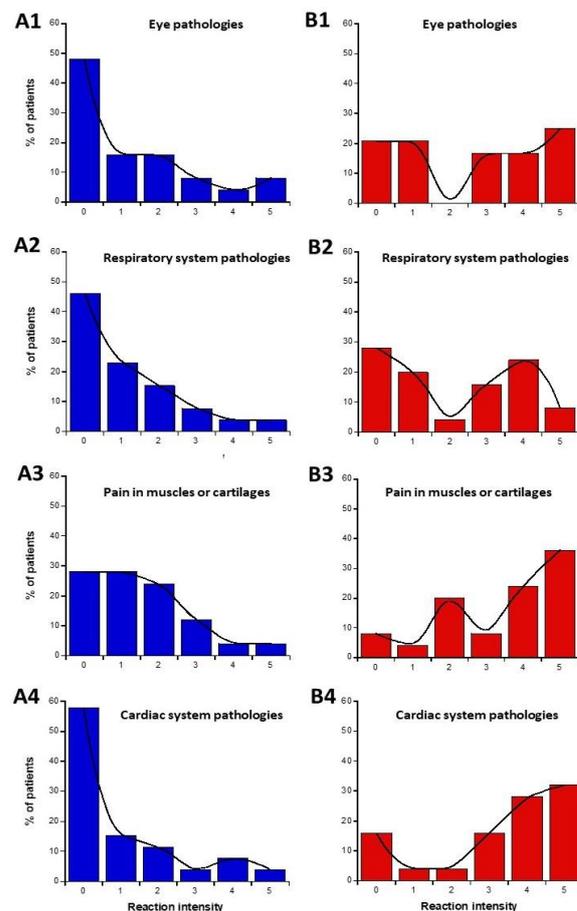
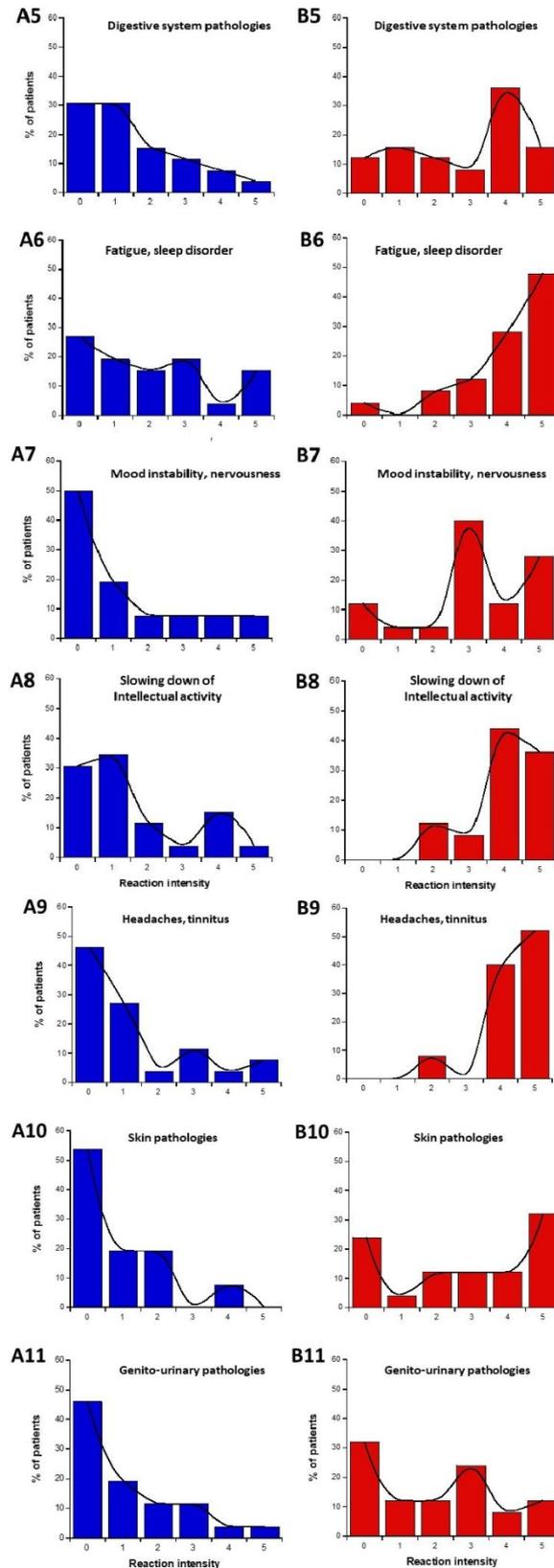


Figure 3. Cont.



**Figure 3.** Données des parties C et D du questionnaire, exprimées sous forme d'histogrammes de distribution I des intensités auto-évaluées des symptômes ou de la gêne avant (A) ou en réponse à des sources de CEM (B), pour les organes ou pathologies indiqués. La ligne continue représente l'ajustement lisse des données de distribution.

Nous avons demandé s'il était possible de définir deux sous-ensembles spécifiques de donateurs DEMETER à partir des parties C et D du questionnaire d'auto-évaluation. Nous avons appelé ces deux

sous-ensembles  $I'$  et  $I''$ . Compte tenu de la diversité des réponses et des conditions, l'analyse des données des I-histogrammes présentés dans la figure 3 a été réalisée en obéissant aux étapes suivantes :

- Calcul de la moyenne des intensités I auto-évaluées des symptômes et des gênes avant (partie C) ou en réponse à l'exposition aux sources de CEM (partie D) pour chaque organe/pathologie.
- Estimation des phénotypes LBHR/HBLR pour chaque patient et organe/pathologie en respectant les conditions suivantes : pour la partie C (avant l'exposition aux CEM), si l'intensité I était égale ou supérieure à l'intensité moyenne, le phénotype était considéré comme HB. Si l'intensité I était inférieure à l'intensité moyenne, le phénotype était considéré comme LB ; pour la partie D (pendant l'exposition aux CEM), si l'intensité I était égale ou supérieure à l'intensité moyenne, le phénotype était considéré comme HR. Si l'intensité I était inférieure à l'intensité moyenne, le phénotype était considéré comme LR. Ce processus a permis de déduire deux sous-ensembles (à savoir  $I'$  et  $I''$ ), regroupant respectivement les phénotypes LBHR et HBLR (tableaux 1 et 2.)
- Calcul des "ratios de réponses nulles" (NR) : si les intensités I sont restées les mêmes avant (partie C) et pendant la réponse à l'exposition aux CEM (partie D), la réponse a été considérée comme NR.
- Calcul des ratios de correspondance (MR), indiquant si les sous-ensembles  $I'$  et  $I''$  définis par les parties C et D du questionnaire correspondraient respectivement aux sous-ensembles 1 et 2 définis par la partie A du questionnaire (tableaux 1 et 2).

**Tableau 1.** Caractéristiques quantitatives des parties C et D du questionnaire en fonction de l'organe ou de la pathologie.

	Intensité moyenne C	Intensité moyenne D	Rapport D/C	NR * (%)	LBHR * Correspondance (%)	HBLR * Correspondance (%)
Yeux	1.16	2.62	2.25	48	40	12
Système respiratoire	1.11	2.08	1.87	48	44	8
Muscles et cartilages	1.48	3.44	2.32	48	44	8
Système cardiaque	1.00	3.32	3.32	36	48	16
Système digestif	1.46	2.88	1.97	32	60	8
Fatigue, troubles du sommeil	2.00	4.16	2.08	32	32	36
Instabilité de l'humeur, nervosité	1.26	3.20	2.54	28	40	32
Activité intellectuelle	1.50	4.04	2.69	24	36	40
Maux de tête, acouphènes	1.23	4.40	3.57	28	48	24
Peau	0.77	2.84	3.68	40	56	4
Système génito-urinaire	0.88	2.00	2.27	52	40	8

\* Les cellules ont été colorées en rouge, vert ou gris si les phénotypes HBLR, LBHR ou les réponses nulles représentent la majorité des cas pour un organe ou une pathologie donné(e), respectivement.

**Tableau 2.** Caractéristiques quantitatives des parties C et D du questionnaire en fonction de l'organe/la pathologie et des donneurs DEMETER.

Organe/donneur	Yeux	Système respiratoire	Muscles	Cœur	Système digestif	Troubles du sommeil	Instabilité de l'humeur	L'intellect. L'activité	Maux de tête, acouphènes	Peau	Système génital	NR * (%)	LBHR *(%)	HBLR *(%)	Sous-ensemble 1/2	Sous-ensemble 1/2
1												18.1	45.4	36.3	45.4	
2												81.8	9.1	9.1	81.8	
3												9.1	0	81.8	81.8	
4												63.6	36.3	0	63.6	
5												63.6	18.1	18.1	63.6	
6												45.4	36.3	18.1	45.4	
7												0	100	0	100	
8												72.7	27.2	0	72.7	
9												36.3	36.3	27.2	36.3	
10												18.1	45.4	36.3	45.4	
11												72.7	9.1	18.1	72.7	
12												0	9.1	91	91	
13												27.2	72.7	0	72.7	
14												0	72.7	27.2	72.7	
15												54.5	45.4	0	54.5	
16												27.2	72.7	0	72.7	
17												27.2	81.8	0	81.8	
18												36.3	0	63.6	63.6	
19												9	91	0	91	
20												72.7	9.1	18.1	72.7	
21												27.2	63.6	9.1	63.6	
22												63.6	27.2	9.1	63.6	
23												91	0	9.1	91	
24																
25												18.1	36.3	45.4	45.4	
26												18.1	36.3	45.4	45.4	

\* Les cellules ont été colorées en rouge, vert ou gris si les phénotypes HBLR, LBHR ou NR représentent la majorité des cas pour chaque organe/pathologie, respectivement.

L'analyse des données des I-histogrammes présentés dans la Figure 3 a reflété une grande diversité de réponses auto-évaluées en fonction de l'organe et des pathologies considérés. Les réponses les plus faibles et les plus élevées correspondent au système génito-urinaire et au système respiratoire (tableaux 1 et 2 ; figure 3). En outre, il est apparu que certains organes/pathologies peuvent être associés à des phénotypes HBLR/LBHR spécifiques (tableau 1) : par exemple, le phénotype HBLR intègre plus fréquemment la fatigue et les troubles du sommeil et le ralentissement de l'activité intellectuelle, tandis que le phénotype LBHR Les moyennes des intensités auto-évaluées des symptômes avant l'exposition aux sources de CEM ne dépassaient pas 2, les intensités les plus faibles concernant la peau, l'appareil génito-urinaire, et les systèmes cardiaque et respiratoire. Les moyennes des intensités auto-évaluées des symptômes pendant l'exposition aux sources de CEM étaient en moyenne 2,59 fois plus élevées que les valeurs correspondantes avant l'exposition (tableau 1). Les intensités I les plus élevées des symptômes potentiellement induits par les CEM ont été supérieures à 4 et ont été obtenues pour les caractéristiques cérébrales telles que les maux de tête, les acouphènes, le ralentissement de l'activité intellectuelle, la fatigue et les troubles du sommeil, tandis que les intensités les plus faibles ( $I \approx 2,00$ ) ont été observées pour les systèmes génito-urinaire et respiratoire (tableaux 1 et 2 ; figure 3). En analysant le RM et le NR, les conclusions sont similaires : le RM le plus élevé et le NR le plus bas sont aussi fréquemment composés de troubles du système cardiaque et digestif, de troubles, d'instabilité de l'humeur et de nervosité, de maux de tête et d'acouphènes, et de pathologies cutanées (tableau 1).

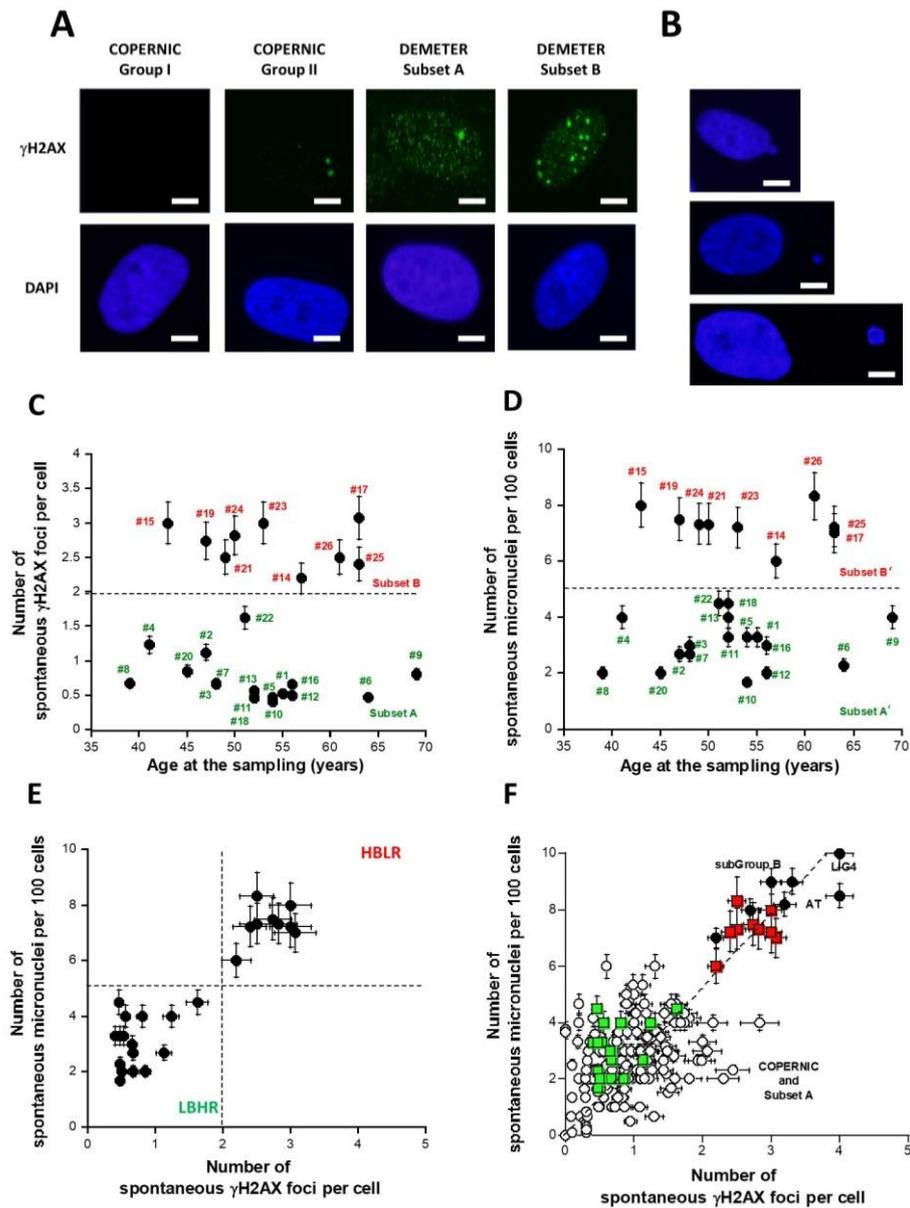
Enfin, pour chaque donneur DEMETER, la fréquence respective des phénotypes LBHR, HBLR et NR a été calculée à partir des 11 organes/pathologies proposés, et la caractéristique majeure a été directement attribuée au donneur. La première conclusion qui ressort de cette méthode est la valeur relativement élevée du ratio NR (10/25 cas ; 40%). Les sous-ensembles  $1'$  et  $2'$  étaient composés de 9/25 (36%) et 6/25 (24%) phénotypes LBHR et HBLR, respectivement. Parmi ces sous-ensembles phénotypés  $1'$  et  $2'$ , seuls 5/15 cas (33%) correspondaient aux sous-ensembles 1 et 2 définis à partir de la partie A du questionnaire (Tableau 2.) Il faut souligner ici que le fait de faire la moyenne de toutes les valeurs correspondant à chaque organe/pathologie (alors que certaines d'entre elles ne sont pas nécessairement représentatives de chaque phénotype) et d'attribuer arbitrairement la principale caractéristique LBHR/HBLR/NR à chaque patient peut introduire certains artefacts dans la définition des sous-ensembles  $1'$  et  $2'$  en favorisant le NR.

## 2.2. Analyse des données biologiques des fibroblastes de la peau provenant des donneurs DEMETER

Comme indiqué dans les Matériels et Méthodes, toutes les données biologiques brutes des fibroblastes cutanés provenant des donneurs DEMETER ont été obtenues avant l'ouverture des enveloppes scellées. Il faut souligner que les données du questionnaire d'auto-évaluation et les données biologiques ont été analysées indépendamment avant d'effectuer des inter-comparaisons conduisant à la définition des différents sous-ensembles.

### 2.2.1. Données spontanées de la cohorte DEMETER

Le nombre de DSB spontanés, dommages clés de l'ADN, et le nombre de micronoyaux spontanés (MN), une caractéristique majeure de l'instabilité génomique, ont été évalués dans chaque lignée cellulaire de fibroblastes DEMETER cultivée à des passages précoces similaires. Les DSB spontanés ont été évalués par immunofluorescence *anti- $\gamma$ H2AX*. Le nombre de MN pour 100 cellules a été évalué sur les mêmes lames microscopiques avec la coloration DAPI (voir Matériel et Méthodes) [40] (Figure 4A,B).



**Figure 4.** Nombre de foyers  $\gamma$ H2AX spontanés par cellule et de micronoyaux (MN) pour 100 cellules dans les fibroblastes de la collection DEMETER. Images représentatives en immunofluorescence des foyers  $\gamma$ H2AX spontanés (A) et des micronoyaux (B) des fibroblastes indiqués. La barre blanche correspond à 5  $\mu$ m. Données sur les foyers  $\gamma$ H2AX spontanés (C) et sur les MN (D) en fonction de l'âge des donneurs DEMETER lors du prélèvement. Chaque donnée est la moyenne  $\pm$  SEM d'au moins trois répétitions indépendantes. (E) Les données présentées dans le panneau C ont été comparées aux données correspondantes présentées dans le panneau D. La ligne pointillée correspond aux limites définies dans le texte. Ce graphique caractérise les phénotypes LBHR et HBLR. Chaque donnée est la moyenne  $\pm$  SEM d'au moins trois répétitions indépendantes. (F) Les 26 foyers DEMETER  $\gamma$ H2AX et les données MN (carrés) ont été reportés sur le même graphique que les 195 données COPERNIC (cercles) publiées ailleurs [40]. Les contrôles radio-résistants et les données COPERNIC de radiosensibilité intermédiaire (cercles ouverts) et les données COPERNIC hyper-radiosensibles *mutées ATM* et *LIG4* (cercles fermés) ont été tracés avec les données des sous-ensembles A (carrés verts) et B (carrés rouges) de DEMETER. Chaque donnée est la moyenne  $\pm$  SEM d'au moins trois répétitions indépendantes. La ligne en pointillé représente la relation linéaire entre MN et les foyers de  $\gamma$ H2AX ( $y = 2,6x$  ;  $r = 0,92$ ).

Les fibroblastes DEMETER présentait en moyenne  $1,4 \pm 0,2$  foyers  $\gamma$ H2AX spontanés, ce qui suggère une quantité de DSB spontanés significativement différente de 0 ( $p < 0,001$ ). Lorsque le nombre de foyers  $\gamma$ H2AX a été tracé en fonction de l'âge correspondant du donneur, deux sous-ensembles distincts ( $p < 0,01$ ) de donneurs DEMETER sont apparus, à savoir les sous-ensembles A et B : le sous-ensemble A, le sous-ensemble B et le sous-ensemble B.

Le sous-ensemble A dont les cellules présentaient moins de 2 foyers  $\gamma$ H2AX (N= 17 ; moyenne :  $0.71 \pm 0.07$   $\gamma$ H2AX foci) et le sous-ensemble B dont les cellules présentaient plus de 2  $\gamma$ H2AX foci par cellule (N= 9 ; moyenne :  $2.7 \pm 0.1$   $\gamma$ H2AX foci) (Figure 4C).

Parallèlement, le nombre de MN spontanées a été évalué dans les fibroblastes DEMETER : les fibroblastes DEMETER présentaient  $4,5 \pm 0,4$  MN spontanées en moyenne, ce qui suggère une quantité de cassures chromosomiques non réparées significativement différente de 0 ( $p < 0.001$ ). Lorsque le nombre de MN spontanées a été tracé en fonction de l'âge correspondant du donneur, deux sous-ensembles distincts ( $p < 0,01$ ) de donneurs sont apparus, à savoir les sous-ensembles A' et B' : le sous-ensemble A' de donneurs dont les cellules présentaient moins de 5 MN spontanées pour 100 cellules (N= 17 ; moyenne :  $3,0 \pm 0,2$  MN spontanées pour 100 cellules) et le sous-ensemble B' de donneurs dont les cellules présentaient plus de 5 MN spontanées pour 100 cellules. (N= 9 ; moyenne :  $7,3 \pm 0,2$  MN spontanées pour 100 cellules) (Figure 4D).

Il est intéressant de noter que les sous-ensembles A et A' et B et B' étaient composés des mêmes donneurs DEMETER, respectivement (Figure 4C,D). En effet, lorsque le nombre de MN spontanés et le nombre correspondant de foyers  $\gamma$ H2AX spontanés ont été représentés ensemble, les données ont révélé que  $A = A'$  et  $B = B'$ . En outre, toutes les données ont obéi à une fonction linéaire reliant les deux extrémités  $y = 2,6x$  ;  $r = 0,92$  (figure 4E). Ce lien mathématique est en accord avec les données publiées [40].

En considérant les sous-ensembles 1 et 2 définis à partir des données de la partie B du questionnaire d'auto-évaluation, le nombre moyen de foyers  $\gamma$ H2AX spontanés de chaque sous-ensemble était de  $1,43 \pm 0,30$  et  $1,35 \pm 0,27$   $\gamma$ H2AX et le nombre moyen de MN spontanés était de  $4,60 \pm 0,70$  et  $4,50 \pm 0,55$  MN, respectivement.

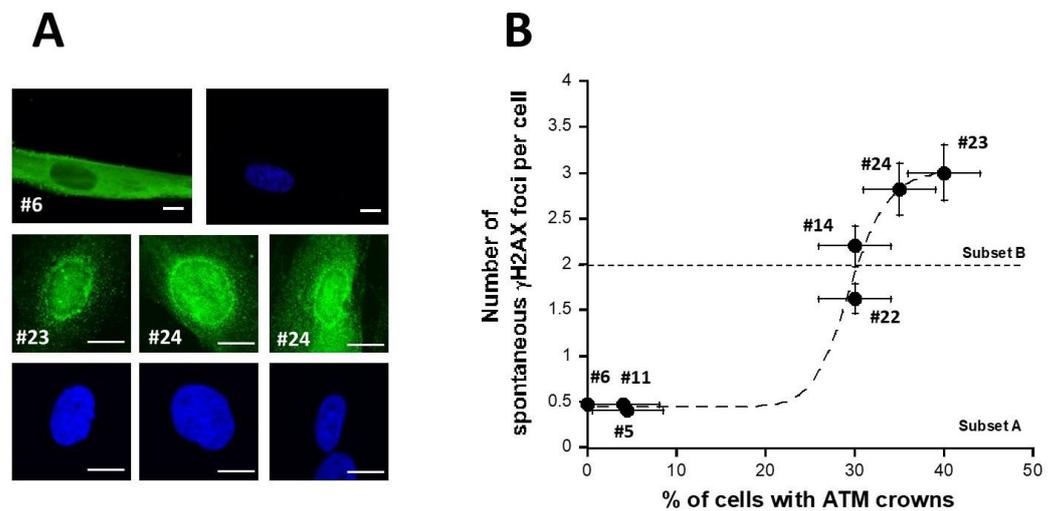
significativement différents ( $p > 0.1$ ), suggérant que les sous-ensembles 1 et 2 définis ci-dessus ne peuvent être discriminés par le nombre de foyers  $\gamma$ H2AX spontanés ou MN comme critère d'évaluation. En revanche, il faut souligner que 9/11 (81,8%) et 7/15 (46,6%) des donneurs des sous-ensembles A et B appartiennent aux sous-ensembles 1 et 2, respectivement. Le reste des donneurs (2/11 (18,1%) et 8/15 (53,3%)), respectivement, ont été envoyés dans l'autre sous-ensemble.

La relation entre les MN et les foyers  $\gamma$ H2AX était en accord avec les données publiées. précédemment avec la collection COPERNIC [40]. Afin de mieux documenter la pertinence de ces résultats, nous avons représenté les 26 données DEMETER sur le même graphique que les 195 données COPERNIC publiées ailleurs [40] (Figure 4F). Cette relation entre les MN spontanés et les foyers  $\gamma$ H2AX semble être similaire ( $p > 0,6$ ) à celle obtenue précédemment avec les phénotypes LBHR/HBLR présentés dans la figure 4E, ce qui confirme la pertinence quantitative de nos résultats [40]. Il est intéressant de noter que les niveaux de DSB et de MN spontanés observés dans les fibroblastes DEMETER correspondant à un phénotype HBLR ont été jugés similaires à ceux observés dans les fibroblastes dérivant des syndromes d'hyper-radiosensibilité les plus élevés, à savoir l'ataxie télangiectasie (AT), causée par des mutations *ATM*, et le syndrome LIG4, causé par des mutations *LIG4* [40]. À ce stade, il convient de souligner que : (1) l'électrosensibilité n'a pas été décrite chez les patients atteints des syndromes AT et LIG4 ; (2) réciproquement, le phénotype HBLR est fortement différent de celui des patients *mutés ATM* et *LIG4* [40].

### 2.2.2. Couronnes périnucléaires de la protéine ATM dans les fibroblastes DEMETER

Récemment, nous avons publié deux études montrant qu'un stress génotoxique permanent ou une faible dose d'irradiation gamma monomérisait progressivement les formes dimériques de la protéine ATM qui diffusent vers le noyau [42,43]. Par conséquent, autour du noyau, la concentration locale trop élevée de monomères d'ATM facilite la redimérisation d'ATM, ce qui déclenche la formation d'une couronne périnucléaire d'ATM. Il a été démontré que de telles couronnes périnucléaires d'ATM constituent un biomarqueur spécifique du phénomène de vieillissement accéléré [42,43]. Étant donné que les fibroblastes DEMETER associés au phénotype HBLR provoquent des niveaux spectaculaires de cassures spontanées de l'ADN (Figure 4), nous avons examiné si les fibroblastes DEMETER

cultivées à des passages élevés ont provoqué des couronnes ATM périnucléaires. Pour des raisons pratiques, le test des couronnes ATM n'a pas été appliqué à l'ensemble des 26 cellules DEMETER mais à 7 lignées cellulaires représentatives. Seuls les fibroblastes DEMETER du sous-ensemble B testé ont montré des couronnes ATM périnucléaires aux passages cellulaires 30-40. Le nombre de foyers  $\gamma$ H2AX spontanés semble être une fonction sigmoïdale du pourcentage de couronnes ATM périnucléaires (Figure 5). Ces résultats suggèrent que la formation de couronnes ATM périnucléaires nécessite un seuil de plus de 2 foyers  $\gamma$ H2AX par cellule (Figure 5.) Dans l'ensemble, ces données sont cohérentes avec le fait que le phénotype HBLR peut être associé à un vieillissement accéléré [42,43].



**Figure 5.** Couronnes périnucléaires de pATM dans les cellules DEMETER. (A) Images représentatives d'immunofluorescence montrant les couronnes périnucléaires de pATM (vert) dans les fibroblastes DEMETER du sous-ensemble B indiqués (panneau inférieur) ou l'absence de couronnes périnucléaires de pATM dans les fibroblastes DEMETER du sous-ensemble A indiqués (panneau supérieur). Toutes les cellules ont été cultivées aux passages 30-40. Les noyaux ont été colorés au DAPI (bleu). La barre blanche représente 10  $\mu$ m. (B) Nombre de foyers  $\gamma$ H2AX spontanés par cellule en fonction du pourcentage de cellules avec des couronnes pATM. Chaque donnée du sous-ensemble A et B de fibroblastes DEMETER indiqué est la moyenne  $\pm$  SEM d'au moins deux répétitions indépendantes. Les données ont été ajustées à une fonction sigmoïdale (ligne pointillée) ( $r = 0,988$ ).

### 2.2.3. Données de la cohorte DEMETER induites par les rayons X

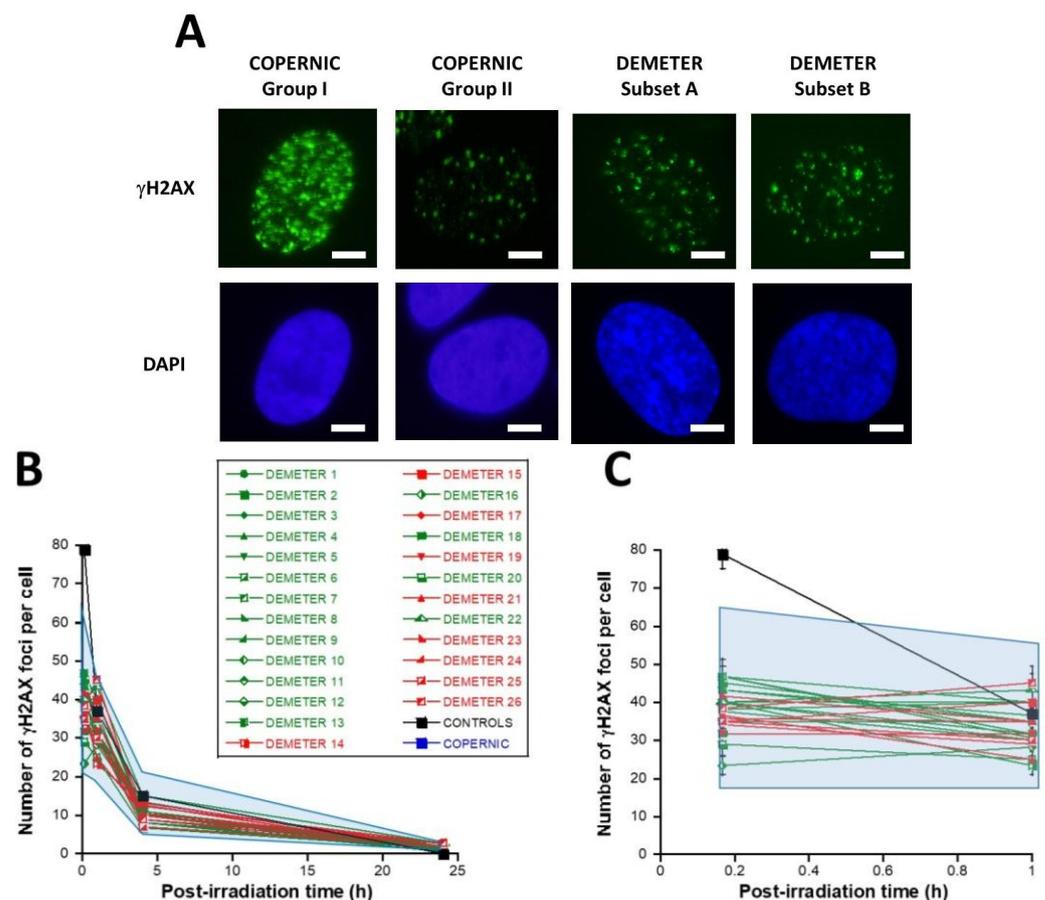
La formation des couronnes ATM périnucléaires est généralement associée à un retard dans le décollement du noyau ATM en réponse à un stress permanent [42,43]. Depuis 2014, nous avons développé un modèle mécaniste pour expliquer la réponse individuelle au stress oxydatif, notamment aux radiations ionisantes. En bref, en réponse proportionnelle au stress oxydatif, certains dimères ATM cytoplasmiques se monomérisent et diffusent dans le noyau : les monomères ATM reconnaissent les DSB induits par le stress en phosphorylant les histones H2AX de la variante X autour des sites DSB, ce qui entraîne la formation de foyers  $\gamma$ H2AX. Une fois les extrémités de l'ADN ligaturées, les monomères ATM se dimérisent et forment les foyers pATM [44]. Ce processus peut être retardé par la surexpression cytoplasmique de certains substrats d'ATM, appelés protéines X, qui forment des complexes ATM-X dans le cytoplasme. En conséquence, le flux de monomères ATM diffusant vers le noyau diminue et conduit à un manque de reconnaissance des DSB, ce qui entraîne une toxicité (lorsque les DSB ne sont pas réparés), une prédisposition au cancer et une radiosusceptibilité (lorsque les DSB sont mal réparés) ou un vieillissement accéléré et une radiodégénération (lorsque les DSB sont tolérées et s'accumulent dans le noyau). C'est notamment le cas après une irradiation avec un retard de l'ATM nucleoshuttling radio-induit (RIANS) [44]. Dans le cadre du modèle RIANS, 3 groupes de radiosensibilité ont été définis [44] : groupe I, radiorésistance, RIANS rapide ; groupe II, radiosensibilité intermédiaire, RIANS retardée ; groupe IIIa, hyper-radiosensibilité, défauts flagrants de l'ATM kinase ; groupe IIIb, hyper-radiosensibilité, ATM kinase normale mais DSB flagrants.

de réparation [44]. Afin d'examiner le statut RIANS des fibroblastes DEMETER, comme pour les COPERNIC, les cellules ont été exposées à 2 Gy de rayons X et la cinétique des foyers  $\gamma$ H2AX et pATM a été analysée.

Tout d'abord, décrivons la cinétique des foyers  $\gamma$ H2AX généralement observés dans les cellules radio-résistantes.

les fibroblastes COPERNIC témoins (Figure 6A). Dans les fibroblastes COPERNIC contrôles radio-résistants, le nombre de foyers  $\gamma$ H2AX marqué 10 min après 2 Gy était de  $79 \pm 4$  par cellule, en accord avec la valeur très documentée de  $37 \pm 4$  par Gy par cellule [40,41] (Figure 6B,C). Le nombre de foyers  $\gamma$ H2AX a ensuite diminué avec le temps pour atteindre sa valeur minimale 24 h après l'irradiation.

Pour les fibroblastes témoins radio-résistants, le nombre de foyers  $\gamma$ H2AX évaluée 24 heures après l'irradiation n'était pas différente de zéro ( $p < 0,01$ ), ce qui est en accord avec un certain nombre de données publiées (tableau 3).



**Figure 6.** Cinétique d'apparition/disparition des foyers  $\gamma$ H2AX. (A) Images représentatives d'immunofluorescence des foyers  $\gamma$ H2AX après 2 Gy suivies de 10 min post-irradiation. La barre blanche correspond à 5  $\mu$ m. (B) Le nombre de foyers  $\gamma$ H2AX après 2 Gy de rayons X suivis du temps de post-irradiation indiqué (h) a été tracé en fonction du temps de post-irradiation. Chaque graphique représente la moyenne  $\pm$  SEM de 3 répétitions. Les données du contrôle et des sous-ensembles A et B sont illustrées par des symboles noirs, verts et rouges, respectivement. La zone de confiance bleue résume l'endroit où les données COPERNIC peuvent être trouvées. Pour chaque temps post-irradiation, les données de contrôle sont représentées par la moyenne des données des 11 lignées cellulaires de contrôle regroupées définies ailleurs [40,41]. (C) Le panneau (C) est un zoom sur la première heure post-irradiation du panneau (B).

**Tableau 3.** Données sur les foyers  $\gamma$ H2AX issues de la cinétique de réparation des DSB.

	2 Gy+ 10 min	2 Gy+ 24 h
COPERNIC Groupe I (témoins) [40]	79,0± 4,0	0± 1
DEMETER	38,4± 1,1	1,68± 0,14
Sous-ensemble 1 du DEMETER (LBHR)	37,8± 2,2	1,52± 0,24
Sous-ensemble 2 du DEMETER (HBLR)	38,7± 1,1	1,80± 0,17
Sous-ensemble A du DEMETER (LBHR)	39,5± 1,6	1,36± 0,14
Sous-ensemble B du DEMETER (HBLR)	36,4± 0,3	2,19± 0,23
Groupe COPERNIC II [40]	15-60	0-8
COPERNIC Groupe IIIa [40]	6,4± 3,2	0± 1
COPERNIC Groupe IIIb [40]	78,0± 2,0	36,6± 4,2

Dans les fibroblastes DEMETER, le nombre de foyers  $\gamma$ H2AX notés 10 min après 2 Gy a été trouvé en moyenne 2,05 plus bas que les contrôles ( $p < 0,001$ ) [23,33-46,66], suggérant une altération de l'étape de reconnaissance des DSB (Tableau 3) (Figure 6B,C). Il est intéressant de noter qu'en calculant le nombre moyen de foyers  $\gamma$ H2AX notés 10 min après 2 Gy pour chaque sous-ensemble 1 et 2, il est apparu que les deux valeurs n'étaient pas différentes ( $p > 0,3$ ). Inversement, les nombres moyens de foyers  $\gamma$ H2AX notés 10 min après 2 Gy pour chacun des sous-ensembles A et B se sont révélés significativement différents ( $p < 0,05$ ), suggérant que le phénotype HBLR est associé au processus de reconnaissance des DSB le plus altéré (Tableau 3.) L'analyse du nombre de foyers  $\gamma$ H2AX 24 h après 2 Gy a abouti à des conclusions similaires : les nombres moyens de foyers  $\gamma$ H2AX résiduels des sous-ensembles 1 et 2 n'étaient pas différents ( $p > 0,5$ ) alors que ceux des sous-ensembles A et B étaient significativement différents ( $p < 0,05$ ), ce qui suggère que le phénotype HBLR est également associé à un processus de réparation des DSB altéré lorsqu'il est observé par immunofluorescence *anti- $\gamma$ H2AX* (Tableau 3 ; Figure 6).

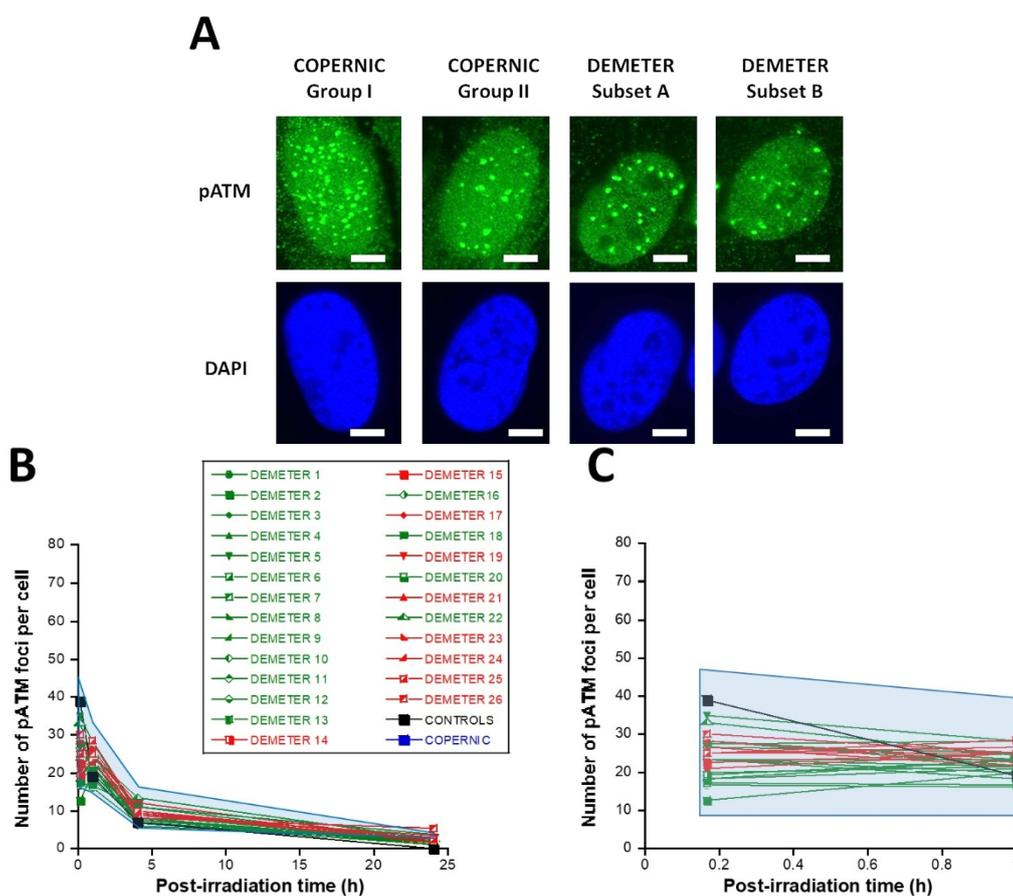
Dans les fibroblastes DEMETER, le nombre de foyers pATM notés 10 min après 2 Gy a été inférieur de 1,68 à celui des témoins ( $p < 0,01$ ) [12,5-35], ce qui suggère une altération de l'étape de reconnaissance des DSB (tableau 4 ; figure 7). Il est intéressant de noter qu'en recalculant le nombre moyen de foyers pATM notés 10 min après 2 Gy pour chaque sous-ensemble 1 et 2, il est apparu que les deux valeurs n'étaient pas différentes ( $p > 0,1$ ). Les mêmes conclusions ont été tirées pour les valeurs correspondant aux sous-ensembles A et B ( $p = 0,08$ ). L'analyse du nombre de foyers pATM notés 24 h après 2 Gy a abouti à des conclusions similaires : les nombres moyens de foyers pATM résiduels des sous-ensembles 1 et 2 et des sous-ensembles A et B n'étaient pas différents ( $p > 0,5$ ). Les

L'absence de différences significatives est probablement due au fait que toutes les valeurs de pATM étaient beaucoup plus faibles que leurs équivalents  $\gamma$ H2AX (tableau 4 ; figure 7B,C).

De plus, le fait que le nombre de foyers  $\gamma$ H2AX et pATM évalués 10 min post irradiation soit plus faible dans les fibroblastes DEMETER que dans ceux du groupe I de COPERNIC suggère fortement l'existence de protéines X, substrats d'ATM, qui pourraient être surexprimées dans le cytoplasme des fibroblastes DEMETER, ce qui entraînerait une altération de la reconnaissance des DSB. Cependant, des investigations supplémentaires sont nécessaires pour identifier ces protéines X, dans la mesure où elles peuvent être spécifiques à chaque patient DEMETER.

**Tableau 4.** Données sur les foyers pATM à partir de la cinétique de réparation des DSB.

	2 Gy+ 10 min	2 Gy+ 24 h
COPERNIC Groupe I (témoins) [40]	40,2± 2,2	0± 1
DEMETER	23,9± 1,0	2,30± 0,18
Sous-ensemble 1 du DEMETER (LBHR)	21,9± 1,6	2,02± 0,22
Sous-ensemble 2 du DEMETER (HBLR)	24,9± 1,4	2,05± 0,27
Sous-ensemble A du DEMETER (LBHR)	23,5± 1,4	2,00± 0,40
Sous-ensemble B du DEMETER (HBLR)	24,7± 1,2	2,86± 0,45
Groupe COPERNIC II [40]	8-30	0-4
COPERNIC Groupe IIIa [40]	3,2± 2,8	0± 1
COPERNIC Groupe IIIb [40]	39,2± 3,0	17,4± 4,2



**Figure 7.** Cinétique d'apparition/disparition des foyers de pATM. (A) Images représentatives en immunofluorescence des foyers de pATM après 2 Gy et 10 minutes après l'irradiation. La barre blanche correspond à 5  $\mu\text{m}$ . (B) Le nombre de foyers pATM après 2 Gy de rayons X suivis du temps de post-irradiation indiqué (h) a été tracé en fonction du temps de post-irradiation. Chaque graphique représente la moyenne  $\pm$  SEM de 3 réplicats. Les données du contrôle et des sous-ensembles A et B sont illustrées par des symboles noirs, verts et rouges, respectivement. La zone de confiance bleue résume l'endroit où les données COPERNIC peuvent être trouvées. Les données de contrôle sont, pour chaque temps post-irradiation, la moyenne des données des 11 lignées cellulaires de contrôle regroupées définies ailleurs [40,41]. (C) Le panneau (C) est un zoom sur la première heure post-irradiation du panneau B.

Enfin, dans le cadre du modèle RIANS, nous avons également montré que l'en- donucléase de MRE11 pouvait dépendre de la nucléosécrétion d'ATM. En effet, après irradiation, la phosphorylation de MRE11 par les monomères d'ATM perturbe l'activité nucléasique de MRE11 et la nucléosynthèse de MRE11.

est responsable de la formation des foyers nucléaires de MRE11. Si les foyers MRE11 apparaissent peu de temps après l'irradiation (par exemple, 24 heures après l'irradiation), un certain nombre de cassures de l'ADN s'accumulent dans le noyau. Les foyers MRE11 tardifs ont généralement été associés à des syndromes de vieillissement [45]. En revanche, les foyers MRE11 précoces (c'est-à-dire survenant dans la première heure suivant l'irradiation) ont révélé une production soudaine de cassures de l'ADN, généralement associée au phénomène d'hyper-recombinaison qui est une caractéristique très courante du syndrome du cancer [45].

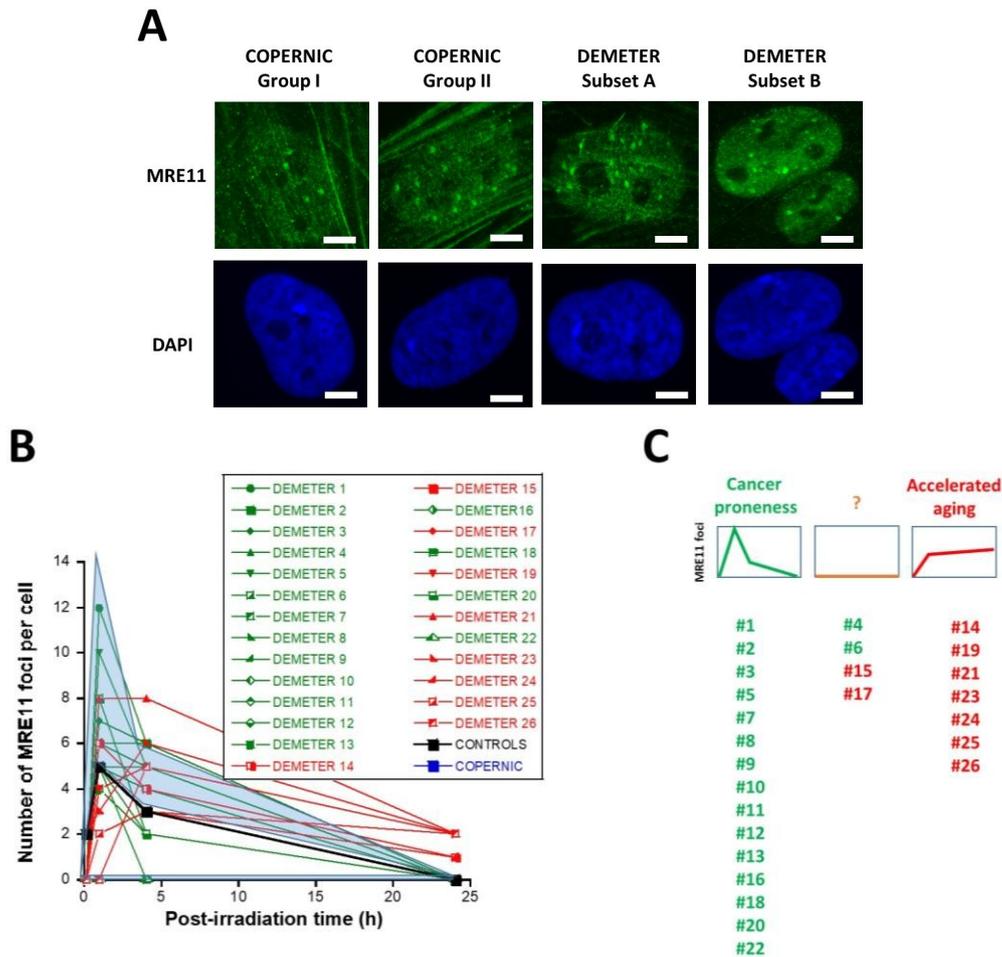
En accord avec nos publications précédentes, les fibroblastes de contrôle radiorésistants provenant de donneurs apparemment sains ont produit un faible nombre de foci MRE11 qui a augmenté de 1 h à 4 h après l'irradiation, lorsque le nombre maximal de foci MRE11 a été atteint et a progressivement diminué jusqu'à zéro foci à 24 h après l'irradiation [45] (Figure 8). Nos données précédentes ont permis d'observer trois formes de cinétique des foci de MRE11 :

- Type 1 : forme de la fonction gamma d'Euler avec un pic précoce et une forte diminution entre 4 h et 24 h après l'irradiation. La forme de type 1 de la cinétique des foyers de MRE11 a été généralement observée dans les cellules dérivant de syndromes cancéreux tels que le syndrome de neurofibromatose de type I [46].
- Type 2 : une fonction "zéro" reflétant l'absence de foyers MRE11 dans la plage [10 min-24 h] post-irradiation. La forme de type 2 de la cinétique de MRE11 reflète généralement l'absence ou l'altération des foyers de MRE11, comme observé dans les syndromes causés par une hélicase mutée (syndrome de Bloom ou syndrome de Werner) ou ceux causés par une protéine mutée en amont de la fonction de MRE11, comme l'ataxie télangiectasie ou le syndrome de Nimègue [45].
- Type 3 : une forme curviligne avec une augmentation progressive du nombre de foyers MRE11 et un plateau horizontal ou à faible décroissance. La forme de type 3 de la cinétique de MRE11 a été généralement observée dans les cellules issues de syndromes de vieillissement [45].

Dans les fibroblastes DEMETER, les trois types de cinétique MRE11 ont été observés. Cependant, en considérant les sous-ensembles A et B comme sous-ensembles de référence et les foyers MRE11 précoces/ tardifs comme point final de référence, 15/18 (83,3 %) lignées cellulaires du sous-ensemble A ont montré une forme de type 1 de la cinétique des foyers MRE11 et n'ont pas montré de forme de type 3. De même, 7/9 (77,7 %) lignées cellulaires du sous-ensemble B présentaient une forme de type 3 de la cinétique des foyers de MRE11 et ne présentaient pas de forme de type 1. Toutes ces données suggèrent que les foyers MRE11 fournissent un bon score de sensibilité pour discriminer le sous-groupe A et le sous-groupe B et les phénotypes spécifiques qui leur sont associés. Nos résultats ont donc montré que les phénotypes LBHR et HBLR sont associés à des foyers MRE11 précoces et tardifs, respectivement (tableau 5) (figure 8).

**Tableau 5.** Données sur les foyers MRE11 issues de la cinétique de réparation des CDS.

	2 Gy+ 1 h/4 h	2 Gy+ 24 h
COPERNIC Groupe I (témoins) [45]	5-7	0± 0
DEMETER	5,52± .0,56/4,0± 0,45	0,47± 0,19
Sous-ensemble 1 du DEMETER (LBHR)	5,88± 0,67/3,22± 0,76	0,18± 0,18
Sous-ensemble 2 du DEMETER (HBLR)	5,25± 0,87/4,58± 0,51	0,66± 0,28
Sous-ensemble A du DEMETER (LBHR)	6,2± 0,57/3,8± 0,51	0± 0
Sous-ensemble B du DEMETER (HBLR)	3,66± 1,1/4,5± 1,11	1,66± 0,33
Groupe COPERNIC II [45]	5-12/5-0	0-5
COPERNIC Groupe IIIa [45]	Foyers MRE11 altérés	Foyers MRE11 altérés
COPERNIC Groupe IIIb [45]	Foyers MRE11 altérés	Foyers MRE11 altérés



**Figure 8.** Cinétique d'apparition/disparition des foyers de MRE11. (A) Images représentatives en immunofluorescence des foyers de MRE11 après 2 Gy et 1 h après irradiation. La barre blanche correspond à 5 µm. (B) Le nombre de foyers MRE11 après 2 Gy de rayons X suivis du temps de post-irradiation indiqué (h) a été tracé en fonction du temps post-irradiation. Chaque graphique représente la moyenne ± SEM de 3 répétitions. Les données du contrôle et des sous-ensembles A et B sont illustrées par des symboles noirs, verts et rouges, respectivement. La zone de confiance bleue résume l'endroit où les données COPERNIC peuvent être trouvées. Les données de contrôle sont, pour chaque temps post-irradiation, la moyenne des données des 11 lignées cellulaires de contrôle regroupées définies ailleurs [40,41]. (C) Le panneau (C) est une représentation schématique des 3 types de forme de la cinétique des foyers MRE11 et détaille les lignées cellulaires DEMETER correspondantes qui ont provoqué le type de forme donné.

#### 2.2.4. Données H<sub>(2)O<sub>2</sub></sub> induites de la cohorte DEMETER

La cinétique de l'activité nucléasique de MRE11 dans les fibroblastes DEMETER a soulevé la question de la gestion des cassures simple brin de l'ADN (SSB) et des DSB. En effet, la présence de SSB autour des sites de DSB peut augmenter la sévérité de la DSB par la décondensation de la chromatine mais aussi déclencher la formation de cellules hautement endommagées (HDC), qui a été documentée récemment comme une étape finale de la couronne périnucléaire de pATM [43]. Par conséquent, pour étudier plus avant les caractéristiques moléculaires des fibroblastes DEMETER, nous avons traité les cellules avec du peroxyde d'hydrogène (H<sub>(2)O<sub>2</sub></sub>), un inducteur de SSB et de DSB très bien documenté [47]. Trois concentrations de H<sub>(2)O<sub>2</sub></sub> (10, 100, 1000 µM) ont été appliquées à des lignées cellulaires DEMETER représentatives pendant 30 minutes pour induire respectivement la SSB seule, un mélange de SSB et de DSB et la DSB seule [47]. Le nombre de DSB par cellule a été évalué par immunofluorescence *anti-γH2AX*. Là encore, pour des raisons pratiques, le test H<sub>(2)O<sub>2</sub></sub> n'a pas été appliqué à toutes les cellules DEMETER mais à 6 cellules représentatives (Figure 9A).

Quatre catégories de cellules ont été observées : les cellules sans foyers γH2AX (vert), les cellules avec des foyers 1-15 foyers γH2AX (orange), et les cellules avec 16-30 foyers (rouge) et HDC (noir). Les cellules radiorésistantes

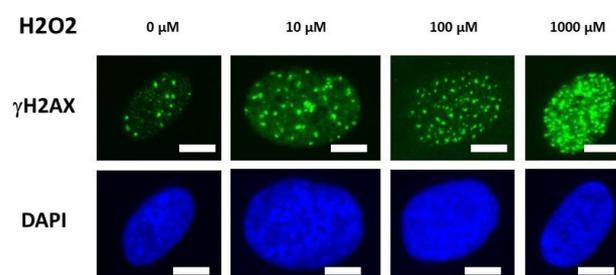
Les lignées cellulaires témoins ont montré une faible quantité de foyers  $\gamma$ H2AX et une lente progression vers la formation de CDH qui n'ont été observées qu'après 240 min de post-traitement pour seulement 100 et 1000  $\mu$ M de  $H_{(2)}O_{(2)}$  (Figure 9B,C). Dans les cellules COPERNIC, la formation de CDH a commencé 60 minutes après le traitement. Cependant, comme pour les témoins, les CDH ne sont apparues qu'aux deux concentrations les plus élevées de  $H_{(2)}O_{(2)}$  (Figure 9B). Il est intéressant de noter que les données de DEMETER 22 (sous-ensemble A) ont été jugées similaires à celles de COPERNIC, à l'exception notable que certaines CDH sont apparues dès 60 min après 10  $\mu$ M de  $H_{(2)}O_{(2)}$ . En revanche, toutes les lignées cellulaires DEMETER appartenant au sous-ensemble B testé (Figure 9B) ont provoqué une production précoce et abondante de CDH, ce qui suggère que le bruit de fond élevé observé spontanément dans ces cellules peut contribuer à la formation de CDH, probablement par le biais d'une décondensation de la chromatine causée par la formation de nombreux SSB. Cependant, il n'y avait pas de présence de CDH spontanée : un post-traitement de 5 minutes est nécessaire, au moins, pour la formation de CDH, ce qui suggère que la réparation des SSB et des DSB est nécessaire pour initier ce processus (Figure 9B). Afin de mieux illustrer cette caractéristique moléculaire qui serait spécifique au sous-ensemble B, le pourcentage de CDH évalué à 240 min post-traitement a été tracé en fonction de la concentration de  $\mu$ M  $H_{(2)}O_{(2)}$  (Tableau 6) (Figure 10).

**Tableau 6.** Les caractéristiques générales des ajustements de données sont présentées dans la figure 10.

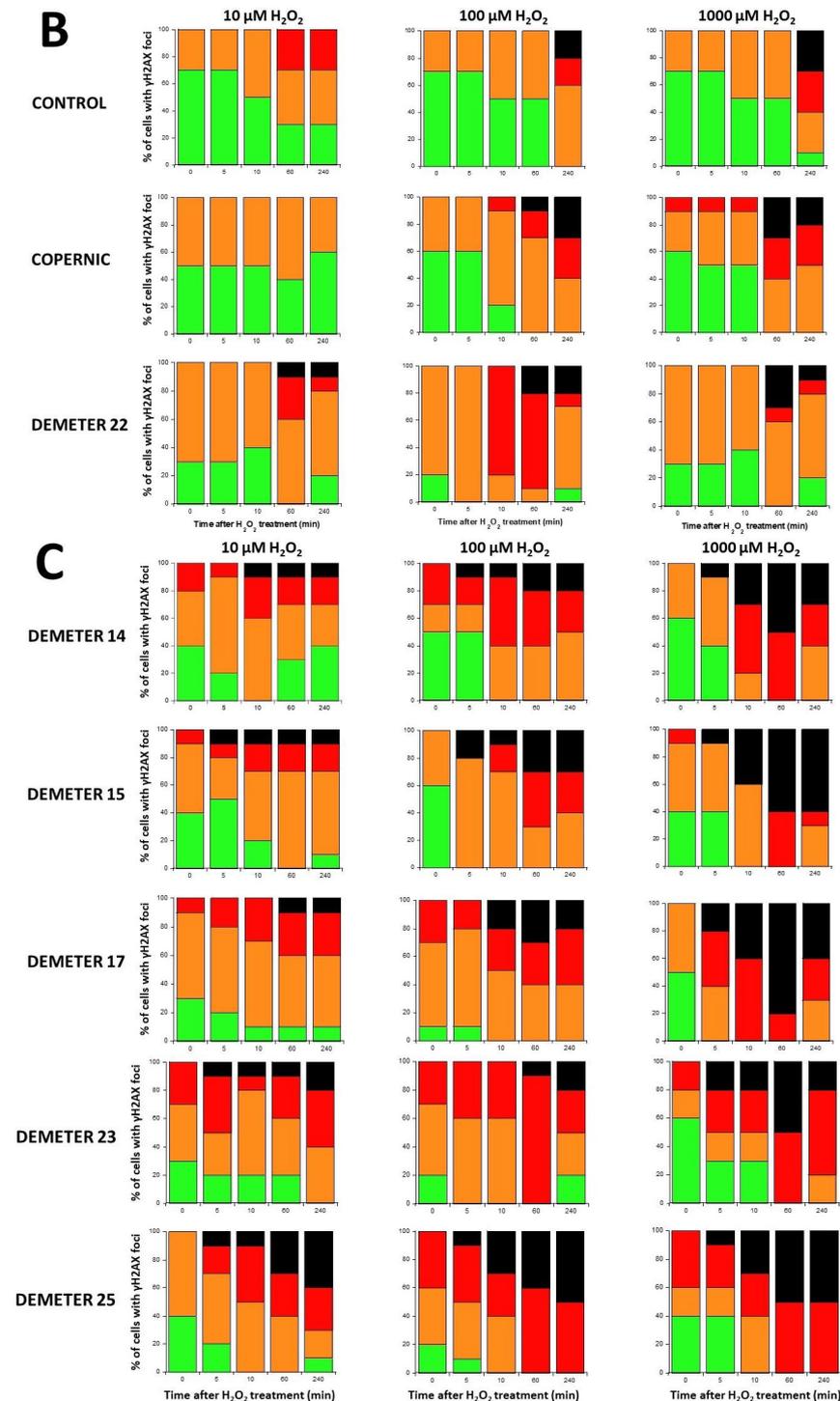
	(Paramètre) (a) (*)	Paramètre b * en $\mu$ M	Coefficient de corrélation r
COPERNIC Groupe I (contrôles)	0	0	1
COPERNIC Groupe II	22,8 $\pm$ 1,7	139 $\pm$ 38	0.995
DEMETER 22 (sous-ensemble A)	29,1 $\pm$ 2,8	27 $\pm$ 13	0.984
DEMETER 14 (sous-ensemble B)	58,0 $\pm$ 8,1	167 $\pm$ 83	0.982
DEMETER 15 (sous-ensemble B)	66,1 $\pm$ 4,8	110 $\pm$ 29	0.994
DEMETER 17 (sous-ensemble B)	99,3 $\pm$ 6,0	240 $\pm$ 48	0.998
DEMETER 23 (sous-ensemble B)	80,8 $\pm$ 39,6	618 $\pm$ 125	0.973
DEMETER 25 (sous-ensemble B)	113,0 $\pm$ 26,3	144 $\pm$ 69	0.945

\* à partir de la formule d'ajustement :  $y = ax/(b+x)$ .

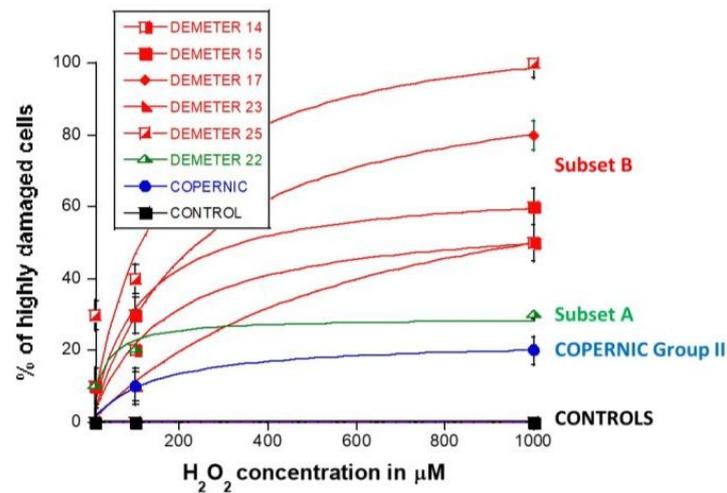
## A



**Figure 9.** Cont.



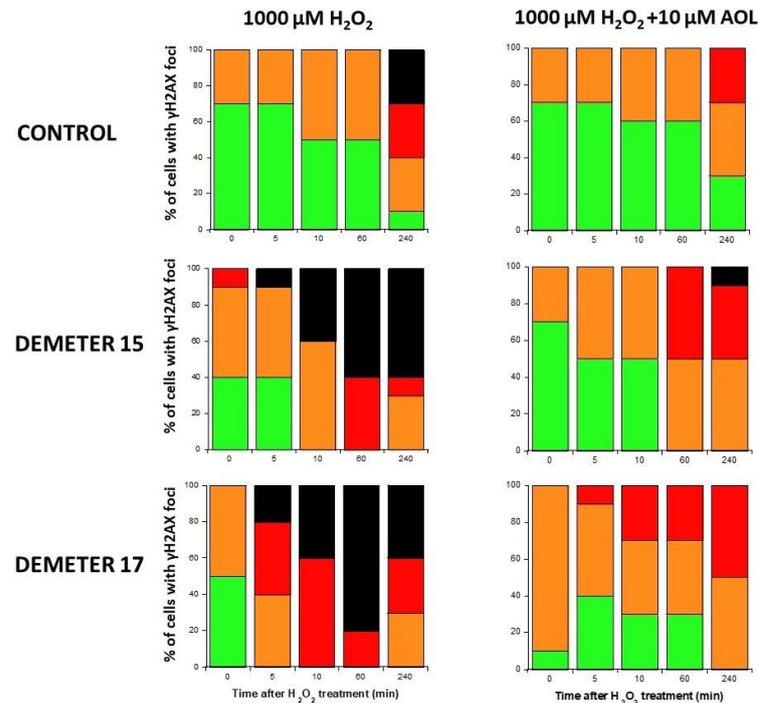
**Figure 9.** Données sur les foyers  $\gamma\text{H2AX}$  après un traitement  $\text{H}_2\text{O}_2$ . (A) Images représentatives en immunofluorescence des foyers  $\gamma\text{H2AX}$  après le traitement  $\text{H}_2\text{O}_2$  indiqué suivi de 10 min dans des fibroblastes représentatifs du sous-ensemble B de DEMETER. La barre blanche correspond à 5  $\mu\text{m}$ . (B,C). Histogrammes représentant le pourcentage de cellules avec des foyers  $\gamma\text{H2AX}$  en fonction du temps après le traitement  $\text{H}_2\text{O}_2$ . La concentration finale indiquée de  $\text{H}_2\text{O}_2$  a été ajoutée directement aux cellules pendant 30 min et un temps de post-stress a été appliqué. Après la procédure d'immunofluorescence *anti- $\gamma\text{H2AX}$* , quatre catégories de cellules ont été observées : les cellules sans foyers  $\gamma\text{H2AX}$  (vert), les cellules avec 1-15 foyers  $\gamma\text{H2AX}$  (orange), les cellules avec 16-30 foyers (rouge) et les cellules très endommagées (HDC) (noir). Chaque pourcentage est la moyenne de deux expériences indépendantes, au minimum. (B). Données présentées : une lignée cellulaire témoin radio-résistante COPERNIC Groupe I représentative, une lignée cellulaire radiosensible COPERNIC Groupe II représentative et une lignée cellulaire DEMETER 22 (appartenant au sous-ensemble A). (C). Données provenant des lignées cellulaires DEMETER indiquées appartenant au sous-ensemble (B).



**Figure 10.** Pourcentage de HDC dans les fibroblastes DEMETER traités à l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en fonction de la concentration d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Les données présentées ici sont similaires aux données de 240 min présentées dans la figure 9. Chaque graphique représente la moyenne ± SEM de deux répétitions indépendantes. Les données ont été ajustées à l'équation de Michaelis-Menten  $y = ax/(b + x)$ . Voir les valeurs résultantes des paramètres ajustables et les coefficients de corrélation dans le tableau 6.

Il a été démontré que le pourcentage de CDH en fonction de la concentration en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> obéissait à une fonction curviligne (comme la fonction de Michaelis-Menten) dont les paramètres ajustables fournissent des propriétés intéressantes : dans la formule d'ajustement :  $y = ax/(b + x)$ , le paramètre  $a$  indiquait le pourcentage maximal de CDH (valeur au plateau) atteignable et le paramètre  $b$  indiquait la concentration en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> atteinte lorsque la moitié de ce pourcentage maximal de CDH est atteinte. Il est donc apparu clairement que le pourcentage maximal de CDH était significativement plus faible dans le groupe COPERNIC II et dans les cellules du sous-ensemble A de DEMETER que dans les cellules du sous-ensemble B de DEMETER ( $p < 0,001$ ), ce qui suggère que la formation de cellules CDH après exposition à l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> peut être utilisée pour discriminer les sous-ensembles A et B, mais pas nécessairement le groupe COPERNIC II et le sous-ensemble A de DEMETER (figure 10).

Comme nos résultats suggèrent que les fibroblastes du sous-ensemble B de DEMETER impliquent des niveaux élevés de SSB et de DSB et donc des niveaux élevés de stress oxydatif, nous avons examiné si un traitement avec un agent antioxydant documenté pouvait affecter la formation de HDC. L'anétholtrithione (AOL) a été choisie comme agent antioxydant en raison de ses capacités de radioprotection [48-50]. En se concentrant uniquement sur deux lignées de fibroblastes du sous-ensemble B de DEMETER, à savoir #15 et #17, la Figure 11 montre qu'un prétraitement de 24 heures avec 10 µM d'AOL était suffisant pour réduire de manière significative la formation de cellules HDC dans les fibroblastes du sous-ensemble B de DEMETER testés. Ces résultats renforcent l'importance du stress oxydatif permanent dans le processus de formation des CDH (Figure 11). D'autres études sont nécessaires pour évaluer l'intérêt réel d'une approche anti-oxydante en tant que prévention ou thérapie de l'EHS et son effet sur chaque symptôme décrit.



**Figure 11.** Histogrammes représentant le pourcentage de cellules avec des foyers  $\gamma$ H2AX en fonction du temps après le traitement  $H_{2}O_{2}$ . La concentration finale indiquée de  $H_{2}O_{2}$  a été ajoutée directement aux cellules pendant 30 min et un temps de post-stress a été appliqué. Un prétraitement avec 10  $\mu$ M AOL a été appliqué aux cellules pendant 24 h avant le traitement  $H_{2}O_{2}$  lorsque cela est indiqué. Après la procédure d'immunofluorescence *anti- $\gamma$ H2AX*, quatre catégories de cellules ont été observées : les cellules sans foyers  $\gamma$ H2AX (vert), les cellules avec 1-15 foyers  $\gamma$ H2AX (orange), les cellules avec 16-30 foyers (rouge) et les cellules très endommagées (HDC) (noir). Chaque pourcentage est la moyenne de deux expériences indépendantes, au minimum.

### 3. Discussion

#### 3.1. Quelques caractéristiques moléculaires pour mieux comprendre l'ESS ?

L'étude DEMETER est basée sur une cohorte de 26 volontaires adultes auto-diagnostiqués comme souffrant d'EHS. Ils ont tous accepté librement de remplir un questionnaire d'auto-évaluation et de fournir une biopsie de peau pour constituer une collection unique de fibroblastes primaires, dans le respect total des réglementations éthiques nationales en vigueur. Que ce soit à partir du questionnaire ou des données sur les fibroblastes, deux sous-ensembles de donneurs DEMETER, correspondant chacun à un phénotype LBHR ou HBLR, ont été définis avec des critères d'évaluation différents. Toutes ces étapes sont résumées dans les tableaux 7 et 8 :

- La partie A du questionnaire (symptômes après exposition à différentes sources de CEM) a suggéré 2 sous-ensembles de donneurs (sous-ensembles 1 et 2) dont les phénotypes LBHR et HBLR ont été définis quantitativement par l'intensité auto-évaluée des symptômes liés aux différentes sources de CEM.
- Dans la partie B du questionnaire (symptômes après exposition à d'autres sources que les CEM), il a été suggéré que le phénotype HBLR était associé à une certaine immunodéficiência.
- dans les parties C et D du questionnaire (symptômes avant ou pendant l'exposition aux CEM), les intensités les plus élevées de symptômes auto-évalués ont été obtenues pour les caractéristiques cérébrales telles que les maux de tête, les acouphènes, le ralentissement de l'activité intellectuelle, la fatigue et les troubles du sommeil.
- les parties C et D du questionnaire proposaient également 2 sous-ensembles de donneurs (à savoir les sous-ensembles 1' et 2') dont la définition était basée sur les intensités auto-évaluées des symptômes avant et pendant l'exposition aux CEM, en considérant différents organes ou pathologies. Cependant, les réponses nulles trop fréquentes n'ont pas permis d'obtenir un taux d'appariement suffisamment élevé (en moyenne, 58%, (Tableau 7)) avec les sous-ensembles 1 et 2 définis précédemment.

- Les parties C et D du questionnaire ont également révélé que le phénotype HBLR était particulièrement associé à la fatigue, aux troubles du sommeil et à la diminution des capacités intellectuelles, tandis que le phénotype LBHR était particulièrement associé à l'altération des systèmes cardiaque et digestif, à l'instabilité de l'humeur, à la nervosité, aux maux de tête, aux acouphènes et aux réactions cutanées.
- En prenant comme critère d'évaluation le nombre de DSB ou de MN spontanés, deux séries de sous-ensembles de volontaires DEMETER, à savoir A et B, et A' et B', ont été définies, respectivement. Nos données ont montré que A et A', d'une part, et B et B', d'autre part, étaient composés des mêmes donneurs DEMETER. En outre, chacun des deux sous-ensembles A et B a été inclus dans l'un des deux sous-ensembles 1 et 2 décrits ci-dessus avec un taux de concordance ne dépassant pas 64 % d'identité (tableau 7.)
- en appliquant des rayons X, toutes les lignées cellulaires de DEMETER (26/26) ont été caractérisées par des RIANS retardés comme les patients du groupe COPERNIC II (qui ne souffrent pas de symptômes de l'EHS). Ces résultats suggèrent que la HSEM peut être systématiquement liée à des RIANS retardés, mais cette affirmation n'est pas réciproque. Cela signifie également que, comme dans les cellules du groupe COPERNIC II, certaines protéines X, substrats d'ATM, devraient être surexprimées dans le cytoplasme de toutes les cellules de DEMETER. Ces protéines X peuvent être spécifiques à chaque individu DEMETER et leur surexpression peut résulter d'une mutation hétérozygote [44].
- La définition moléculaire des sous-ensembles A et B a été consolidée par d'autres biomarqueurs : le sous-ensemble A était associé à une formation précoce de foyers MRE11 radio-induits, tandis que le sous-ensemble B était associé à la fois à la formation spontanée de couronnes pATM périnucléaires et à la formation tardive de MRE11 radio-induits (92,3 % d'identité). D'après nos données documentées publiées ailleurs [45], ces résultats suggèrent que le sous-ensemble A était composé de donneurs présentant un risque élevé de cancer, tandis que le sous-ensemble B était composé de donneurs présentant un risque élevé de vieillissement accéléré.
- En appliquant un traitement  $H_{(2)}O_2$  aux cellules DEMETER, les SSB et DSB peuvent conduire à la formation de HDC, qui se sont avérées être l'étape finale des couronnes périnucléaires de pATM [42]. Les différences observées avec le traitement  $H_{(2)}O_2$  entre le sous-ensemble B (phénotype HBLR) et les contrôles ont diminué de manière significative avec l'application d'un traitement anti-oxydant, renforçant à nouveau le modèle selon lequel la HSEM peut être liée à la gestion de la SSB et/ou de la DSB.

**Tableau 7.** Résumé de la composition des sous-ensembles définis dans cette étude et de l'appariement correspondant.

Donateur	Sexe	Sous-ensembles 1/2 de la partie A	Sous-ensemble 1/2' de Parties C et D	Sous-ensemble A/B à partir de données spontanées	Sous-ensemble A/B de MRE11 Données	Correspondance * Sous-ensembles 1/2 vs. 1/2'	Appariement ** Spontané vs. MRE11 Données	Correspondance *** Sous-ensembles 1/2 vs. A/B
01	M	■	■	■	■	0%	100%	50%
02	M	■	■	■	■	50%	100%	50%
03	M	■	■	■	■	100%	100%	50%
04	F	■	■	■	■	50%	50%	50%
05	F	■	■	■	■	50%	100%	75%
06	F	■	■	■	■	50%	50%	0%
07	F	■	■	■	■	0%	100%	75%
08	M	■	■	■	■	50%	100%	75%
09	M	■	■	■	■	100%	100%	100%
10	F	■	■	■	■	0%	100%	75%
11	F	■	■	■	■	50%	100%	75%

Tableau 7. Cont.

Donateur	Sexe	Sous-ensemble s 1/2 de la partie A	Sous-ensemble 1/2 de Parties C et D	Sous-ensemble A/B à partir de données spontanées	Sous-ensemble A/B de MRE11 Données	Correspondance * Sous-ensembles 1/2 vs. 1/2'	Appariement ** Spontané vs. MRE11 Données	Correspondance *** Sous-ensembles 1/2 vs. A/B
12	F					100%	100%	50%
13	F					0%	100%	50%
14	F					0%	100%	100%
15	F					50%	50%	0%
16	F					100%	100%	75%
17	F					0%	50%	75%
18	F					0%	100%	75%
19	F					0%	100%	75%
20	F					50%	100%	75%
21	F					0%	100%	100%
22	F					50%	100%	75%
23	M					50%	100%	50%
24	F					nc	100%	nc
25	F					0%	100%	50%
26	F					100%	100%	75%
Moyenne						40%	92.3%	64%

\* Un score de 100% et 50% a été attribué pour 1 couleur+ gris, et pour le vert+ rouge, respectivement ;  
 \*\* Un score de 100%, 50% ou 0% a été attribué pour 2 mêmes couleurs, pour 1 couleur + orange, pour vert + rouge, respectivement ;  
 \*\*\* Un score de 100%, 75%, 50% ou 0% a été attribué pour 4 mêmes couleurs, pour 3 mêmes couleurs, +gris, pour vert+ rouge, respectivement ; Les cas gris, noir et orange indiquent une réponse nulle (NR), aucun calcul possible (donor#24), et une forme de "fonction zéro" pour la cinétique des foyers MRE11.

Tableau 8. Principales caractéristiques des phénotypes LBHR/HBLR d'après le questionnaire et l'analyse des données biologiques.

Source des données	Point final	Phénotype LBHR	Phénotype HBLR
Données du questionnaire	Partie A	(Sous-ensemble 1 : LB si I) (A5,A6,A7) (<2,48) HR si I <sub>(moyenne)</sub> (UHF) - I <sub>(A5,A6,A7)</sub> = 2,7	Sous-ensemble 2 : HB si I <sub>(A5,A6,A7)</sub> ≥ 2,48 LR si I <sub>(moyenne)</sub> (UHF) - I <sub>(A5,A6,A7)</sub> = 0,15
	Partie B	Pas de sensibilité particulière aux autres agents chimiques ou physiques que les sources de CEM	Sensibilité à d'autres substances chimiques ou physiques que les sources de CEM Lien avec l'immunodéficience ?
	Partie P	28,6% Donateurs LBHR mentionnés traitement en cours et/ou antécédents médicaux	71,4 % des donneurs HBLR ont mentionné un traitement en cours et/ou des antécédents médicaux.
Données biologiques	Partie C,D	Sous-ensemble 1' : apparié avec le sous-ensemble 1 à 40%. altération des systèmes cardiaque et digestif, instabilité de l'humeur, nervosité, maux de tête, acouphènes et réactions cutanées	Sous-ensemble 2' : apparié avec le sous-ensemble 2 à 40%. la fatigue, les troubles du sommeil et la diminution de la capacité intellectuelle
	γH2AX spontané et MN	Sous-groupe A : <2 foyers γH2AX par cellule Sous-groupe B : <5 MN par 100 cellules correspondant au sous-groupe 2 à 64%.	Sous-groupe A' : ≥ 2 foyers γH2AX par cellule Sous-groupe B' : ≥5 MN pour 100 cellules correspondant au sous-ensemble 2 à 64%.
	Couronnes périnucléaires pATM	Pas de couronnes périnucléaires de pATM à des passages de culture élevés	Couronnes de pATM périnucléaires à des passages de culture élevés
	Cinétique des foyers γH2AX induits par les rayons X	RIANS retardés	RIANS retardé
	Cinétique des foyers pATM induits par les rayons X	RIANS retardés	RIANS retardé
	Cinétique des foyers de MRE11 induits par les rayons X	Foyers MRE11 précoces (risque élevé de cancer)	Foyers tardifs de MRE11 (risque élevé de vieillissement accéléré)
	H <sub>(2)</sub> O <sub>2</sub> -induites Foyers γH2AX	Faible rendement de HDC	Rendement élevé de HDC

### 3.2. Les limites actuelles d'un questionnaire d'auto-évaluation

Les questionnaires d'auto-évaluation sont actuellement utilisés pour la recherche sur l'ESS [51-53]. Parmi la diversité des réponses possibles dans un questionnaire d'auto-évaluation, la littérature a suggéré l'existence d'un certain nombre de sous-ensembles différents de volontaires. En particulier, certains phénotypes cliniques spécifiques ont été évoqués [17,24,25,51-53]. Cependant, aucune donnée biologique n'a encore été associée à la définition d'un sous-ensemble.

En outre, il existe un certain nombre de biais associés à tout questionnaire d'auto-évaluation qui peuvent affecter la validité des réponses et donner une image déformée des perceptions ou des comportements d'une personne [54,55]. Ici, la question des biais est d'autant plus importante que le nombre de volontaires DEMETER est faible ( $n=26$ ). Parmi les biais potentiels, le biais de désirabilité sociale est important : il peut entraîner un ajustement des réponses des volontaires pour mieux atteindre ce qu'ils perçoivent comme étant socialement acceptable ou attendu, au lieu de répondre honnêtement [54,55]. Par exemple, ils peuvent minimiser les comportements négatifs ou, à l'inverse, exagérer les comportements positifs. Même s'il est difficile de définir les contre-mesures contre un tel biais, en calculant les intensités moyennes auto-évaluées pour les parties C et D du questionnaire pour chaque donneur de DEMETER, nous avons vérifié que toutes les données obéissent à la fonction gaussienne cumulative (Figure S1 ; Données supplémentaires), ce qui réduit la possibilité que certains donneurs exagèrent systématiquement leurs réponses et influencent l'analyse de l'ensemble des données.

De même, étant donné que les volontaires DEMETER sont membres de la même association (ici, à savoir Electrosensibles de France/PRIARTEM), on peut également évoquer un biais, l'"effet de groupe", qui peut conduire à une certaine uniformité dans les réponses. Là encore, la distribution gaussienne cumulative des réponses (figure S1 ; données supplémentaires) et l'existence de deux phénotypes distincts qui sont en cohérence avec les données biologiques ne sont pas compatibles avec des réponses uniformes. Toutefois, d'autres études sont nécessaires pour mieux prendre en compte chaque type de biais et appliquer des contre-mesures lorsque cela est possible.

Enfin, nous sommes tous conscients que la taille de la cohorte DEMETER est faible. Mais il faut aussi prendre en compte la difficulté pour les patients EHS de se déplacer, de voyager, de quitter leur domicile où ils sont souvent protégés contre les ondes. De plus, l'accueil en milieu médical représente un véritable défi pour certains patients EHS. Cependant, il faut noter que le fait que 26/26 patients DEMETER présentent un retard de RIANS suggère qu'une cohorte plus importante n'aurait pas radicalement changé cette conclusion finale.

### 3.3. Les niveaux spontanés de rupture de l'ADN : Un premier prérequis pour l'ESS ?

La présence de SSB, DSB ou MN spontanés dans les cellules DEMETER reflète probablement un stress oxydatif en-dogène et une instabilité génomique importante [56-58]. Peu de groupes de recherche ont étudié la gestion du stress oxydatif dans les cellules des personnes EHS [32,59] :

(1) peut-être en raison du paradigme selon lequel les CEM ne peuvent pas fournir directement une énergie suffisante pour ioniser et briser l'ADN (voir ci-dessus) ; (2) parce que l'accès aux lignées cellulaires fournies par les personnes EHS est difficile dans la pratique. Toutefois, certains groupes ont effectué des recherches sur des cellules sanguines, mais généralement sous forme de dosages de protéines impliquées dans la réponse au stress oxydatif et plus rarement avec des essais fonctionnels [32,60,61]. Bien qu'il faille souligner qu'il existe une pléthore de biomarqueurs et de tests liés à la réponse moléculaire et au stress oxydatif, les études existantes n'ont pas abouti à une conclusion claire [32,60,61]. La collecte de fibroblastes DEMETER a donc été l'occasion d'appliquer les biomarqueurs du modèle RIANS qui est un modèle mécaniste très documenté et validé dans un certain nombre de situations de stress [44,62,63]. Par conséquent, en analysant les fibroblastes DEMETER et COPERNIC

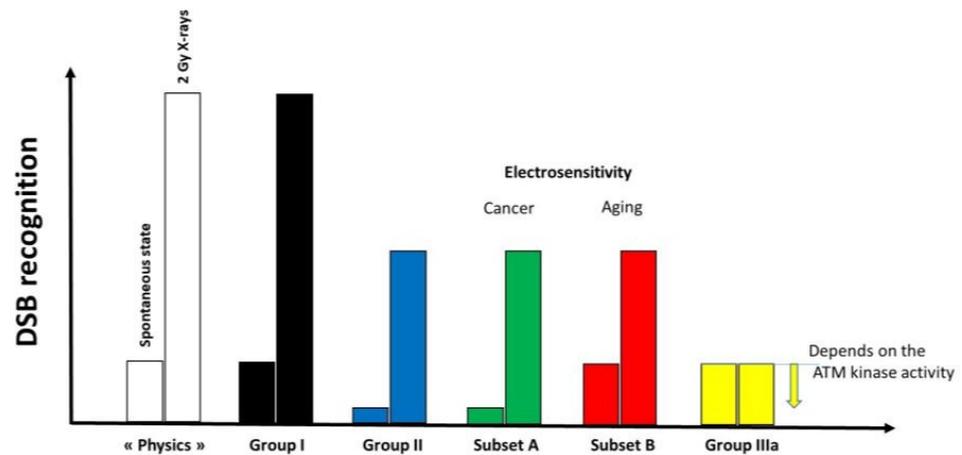
En ce qui concerne les données sur les lignées cellulaires de fibroblastes avec l'immunofluorescence *anti- $\gamma$ H2AX*, le nombre de DSB spontanés n'a pas dépassé 2 foyers  $\gamma$ H2AX par cellule à l'exception notable du sous-ensemble B de DEMETER et des lignées cellulaires COPERNIC (groupe III) hyper-radiosensibles comme celles issues de l'étude de l'ADN.

Les patients atteints d'ataxie télangiectasie ou du syndrome LIG4 (Figure 4). La même conclusion a été tirée pour les MN avec un rendement de 5 MN spontanés pour 100 cellules (Figure 4). En fait, ces conclusions sont en accord avec l'hypothèse selon laquelle les cellules ne peuvent pas survivre avec un certain degré de rupture de l'ADN ou des chromosomes [40,64]. Cependant, les donneurs du sous-ensemble B de DEMETER ne présentent pas les mêmes caractéristiques cliniques que les cas d'hyper-radiosensibilité (c'est-à-dire un risque élevé de leucémie, une dégénérescence des cellules de Purkinje, une hyper-radiotoxicité, une immunodéficience et une faible durée de vie) [65]. A l'inverse, aucune EHS n'a été rapportée pour les enfants *mutés* ATM et LIG4 et la série de symptômes observés dans le sous-ensemble B de DEMETER semble être beaucoup plus importante que dans le sous-ensemble A. En fait, le même nombre moyen de DSB ou de MN n'a pas été distribué de la même manière dans les deux cas : dans les fibroblastes hyper-radiosensibles, les DSB et MN sont distribués de manière égale dans toutes les cellules alors que dans les fibroblastes du sous-ensemble B de DEMETER, cette quantité est généralement due à une sous-population de cellules présentant des dizaines de DSB : l'élimination de cette sous-population spécifique des calculs conduira à des valeurs comparables à celles du sous-ensemble A de DEMETER (Figure S2, Données Supplémentaires). Ces caractéristiques spécifiques sont probablement dues à la présence de cellules qui conduiront à des couronnes pATM et à des cellules HDC et peuvent expliquer pourquoi, avec la même quantité de DSB spontanées et de MN, les caractéristiques cliniques du sous-ensemble B de DEMETER et des donneurs du groupe III de COPERNIC sont différentes.

Comme des foyers de  $\gamma$ H2AX ont été observés à l'état spontané, cela signifie que l'ATM kinase était capable de phosphoryler H2AX sur les sites DSB et donc de reconnaître les DSB spontanés. Cependant, le même nombre de foyers  $\gamma$ H2AX peut correspondre à des quantités différentes de DSB "physiques" en fonction du taux de reconnaissance des DSB (par exemple, 4 DSB physiques peuvent correspondre à 4 foyers  $\gamma$ H2AX si la reconnaissance des DSB est complète, alors qu'ils peuvent correspondre à 2 foyers  $\gamma$ H2AX si le taux de reconnaissance des DSB est de 50 %). Il est intéressant de noter que les données provenant de l'irradiation aux rayons X ont montré que plus de 50 % des CDB induites par les radiations ne sont pas reconnues par ATM. Par conséquent, l'activité nucléaire de la kinase ATM et le taux de reconnaissance des CDS peuvent dépendre de la quantité de CDS. Il est intéressant de noter qu'en ce qui concerne le sous-ensemble A de DEMETER, les taux spontanés de DSB et de MN sont similaires à ceux observés avec les cellules du groupe II de COPERNIC, ce qui suggère un rendement similaire de DSB "physiques". La même conclusion peut être tirée avec le sous-ensemble B du DEMETER et les cellules du groupe III de COPERNIC. Ainsi, le lien entre la quantité de DSB "physique" et la quantité de DSB reconnue par la voie ATM-dépendante peut différer selon le sous-ensemble et le phénotype observé. On peut donc conclure que (Figure 12) :

- à un rythme spontané, le taux de reconnaissance des DSB est proche de 100% car le nombre de DSB est relativement faible. Cependant, le stress permanent peut être plus élevé dans les cellules du sous-ensemble B de DEMETER que dans celles du sous-ensemble A, comme le phénotype HB le suggère, en raison d'une déficience dans la gestion du stress oxydatif.
- après un traitement aux rayons X de 2 Gy, le taux de reconnaissance des DSB est de 50% pour toutes les cellules des groupes COPERNIC II et DEMETER, quel que soit le sous-ensemble. Dans ces conditions, la réponse des cellules du sous-ensemble B de DEMETER est plus proche de celle des cellules du groupe II de COPERNIC que de celle du groupe III de COPERNIC.

Bien qu'un taux spontané élevé de DSB ou de MN ne soit pas nécessairement spécifique à l'EHS, les fibroblastes du sous-ensemble B de DEMETER peuvent provoquer un stress endogène plus élevé avec plus de DSB par cellule (phénotype HB) que ceux du sous-ensemble A (phénotype LB), ce qui suggère une déficience plus importante dans la gestion des SSB et/ou des DSB et dans leur réparation. Ces résultats sont cohérents avec les réactions d'immunodéficience rapportées spécifiquement dans ce sous-ensemble mais aussi avec l'efficacité du médicament anti-oxydant après un traitement  $H_{(2)O(2)}$ .



**Figure 12.** Illustration schématique de la reconnaissance des DSB en fonction du groupe de radiosensibilité et d'électrosensibilité. Dans les cellules radiorésistantes du groupe I, toutes les DSB induites sont reconnues. A l'état spontané, la quantité de DSB reconnues n'est pas complète dans les cellules COPERNIC groupe II et DEMETER sous-ensemble A alors qu'elle l'est dans les cellules DEMETER sous-ensemble B. A l'inverse, pour une quantité plus importante de DSB comme après une induction de 2 Gy de rayons X, seulement 50% sont reconnues. Dans les cellules COPERNIC groupe III hyper-radiorésistantes, le niveau de reconnaissance des DSB est plus faible que dans les cellules groupe II mais dépend de l'activité de l'ATM kinase.

### 3.4. L'EHS peut être associée à un retard de la RIANS

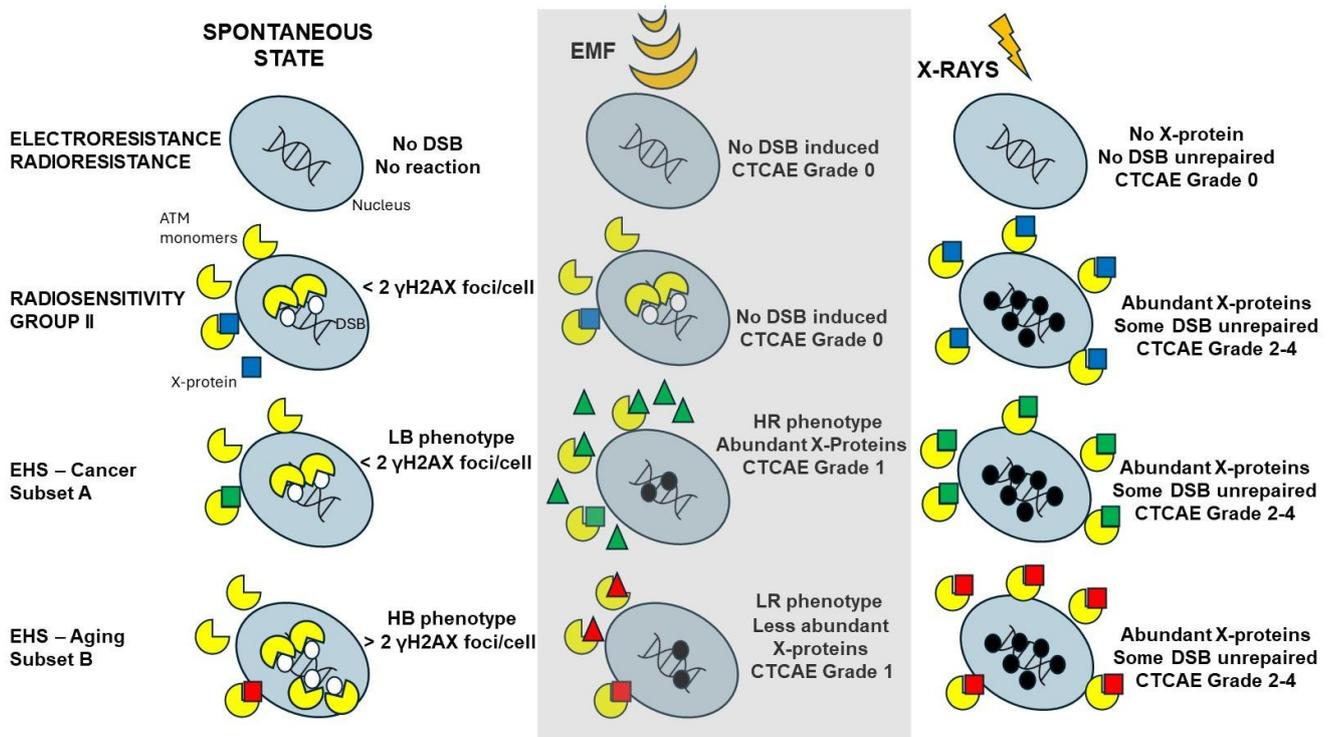
La caractérisation radiobiologique effectuée dans le présent rapport suggère fortement que tous les fibroblastes DEMETER ont présenté des RIANS retardées. Même si la cohorte DEMETER est faible ( $n = 26$ ), une telle affirmation ne peut être le résultat d'une coïncidence compte tenu des contraintes biologiques et mathématiques liées aux RIANS retardées [40]. Un tel statut RIANS signifie que, si les donneurs DEMETER ont été traités par radiothérapie pour un cancer, ils peuvent être exposés à un risque élevé de réactions tissulaires indésirables après le traitement [40]. Dans nos rapports précédents, le lien mathématique entre le nombre maximal de foyers pATM et le degré de gravité des réactions post-radiothérapie (Common Terminology Criteria for Adverse events, CTCAE) a été très bien documenté grâce à la collection COPERNIC : tous les 10 foyers pATM en moins, le degré de gravité CTCAE augmente d'une unité supplémentaire [40,41]. D'après les résultats présentés ici, les données d'immunofluorescence *anti-pATM* sur les cellules irradiées aux rayons X suggèrent que les donneurs de DEMETER peuvent être exposés à un risque de réaction tissulaire de grade 2-4 après la radiothérapie (comme tous les patients du groupe II de COPERNIC), ce qui représente des effets secondaires non négligeables. Il est intéressant de noter que de nombreux symptômes cités pour l'EHS appartiennent à la liste des réactions de grade 1 du CTCAE. Nos données publiées ont montré que le grade 1 correspond à l'absence d'environ 10 foyers pATM par cellule, soit l'équivalent d'une dose de rayons X de 0,5 Gy. D'autres études sont donc nécessaires pour vérifier si l'exposition aux CEM de cellules de personnes EHS peut être équivalente à une telle dose de rayons X.

### 3.5. Deux sous-ensembles d'EHS ?

Outre les RIANS retardés, les fibroblastes DEMETER présentent deux sous-ensembles partageant les phénotypes LBHR et HBLR dont la définition dépend du critère considéré (Tableau 8). Nous avons précédemment montré que les RIANS retardées peuvent être causées par la surexpression de substrats d'ATM appelés protéines X (voir Résultats) [44]. En réponse à tout stress oxydatif, les dimères ATM cytoplasmiques se monomérisent et diffusent vers le noyau. Les mutations hétérozygotes généralement observées dans les cellules du groupe II sont associées à une relocalisation subcellulaire des protéines X et/ou à une surexpression, ce qui facilite la formation de complexes entre ATM et les protéines X dans le cytoplasme [44]. Par conséquent, ces complexes ATM-protéines X empêchent ou retardent le décollement du noyau d'ATM nécessaire à la reconnaissance complète des DSB. Certaines protéines X peuvent être induites spontanément ou par des radiations ionisantes [44,66].

La HSEM peut-elle être associée à une surexpression des protéines X induite par les CEM qui serait spécifique à chaque sous-ensemble ? En examinant la littérature, il semble peu probable que, dans des conditions non thermiques, certaines protéines montrent une expression significative dépendant du CEM [67,68]. En revanche, des modifications post-traductionnelles (PTM) pouvant conduire à une localisation subcellulaire aberrante, à des interactions protéine-protéine facilitées ou à des répulsions, à des phosphorylations et à des méthylations ont été observées en réponse au CEM [69,70]. Il a également été démontré que les CEM régulent le métabolisme de substances spécifiques telles que les ions métalliques [71]. Il est intéressant de noter que les espèces ioniques telles que les métaux [62] ou le calcium [72] ont un impact sur le décollement du noyau d'ATM. Ainsi, bien qu'il soit trop tôt pour émettre des hypothèses sur le(s) mode(s) d'action des CEM sur l'ouverture du noyau d'ATM, la diversité des réactions physico-chimiques que l'exposition aux CEM peut produire est cohérente avec la diversité des phénotypes et des symptômes observés dans la HSEM.

A ce stade, comment expliquer les phénotypes LBHR et HBLR ? Dans les sections précédentes, nous avons émis l'hypothèse que les cellules du sous-ensemble B de DEMETER (phénotype HB) devraient souffrir d'un rendement plus élevé du stress endogène que le sous-ensemble A de DEMETER (phénotype LB). Comme nous l'avons déjà supposé plus haut, ces caractéristiques peuvent être causées par des mutations hétérozygotes de certaines protéines impliquées dans la réponse au stress oxydatif. En ce qui concerne les phénotypes LR/HR, il faut souligner que la réponse finale à tout stress génotoxique dépend de la quantité de DSB réparés et donc de la reconnaissance des DSB. Ainsi, un phénotype HR peut être obtenu par un manque sévère de reconnaissance de la DSB causé par la PTM induite par les CEM ou par la production/libération de certains ions qui peuvent être associés à la protéine ATM et causer un retard dans son découplage du noyau. Inversement, un phénotype LR peut nécessiter une réponse moins sévère à l'exposition aux CEM. Nous nous sommes efforcés d'illustrer dans la figure 13 un modèle très préliminaire de HSEM dans lequel les symptômes sont générés par la gestion de la DSB spontanée et dont la gravité est amplifiée par des modifications spécifiques induites par les CEM (figure 13). Il est évident que d'autres investigations sont nécessaires (notamment par l'exposition de cellules aux CEM) pour valider et documenter ce premier modèle.



**Figure 13.** Modèle préliminaire pour la HSEM inspiré du modèle RIANS. Pour chacun des cas indiqués d'électrosensibilité/radiosensibilité et spontanément ou en réponse à une exposition à des CEM ou des

Rayons X, illustration schématique de la CDB reconnue (cercles blancs) par les monomères ATM qui conduisent à une réparation (pas de cercle) ou à une non-réparation (cercles noirs). Les monomères ATM peuvent entrer dans le noyau ou être séquestrés dans le cytoplasme par interaction avec les protéines X (carrés). Les protéines X peuvent être surexprimées spontanément ou par exposition aux rayons X. Le nombre de CDB non réparées conditionne le degré de gravité de la réaction tissulaire. Ce modèle repose sur l'hypothèse selon laquelle les CEM n'induisent pas directement des CDB mais peuvent déclencher des PTM ou des changements dans le métabolisme conduisant finalement à la libération de certains métaux ou d'ions calcium. Tous ces événements peuvent agir sur ATM (triangles) et retarder son décollement du noyau, ce qui peut avoir un impact sur la gestion de la CDB spontanée.

## 4. Matériels et méthodes

### 4.1. La cohorte DEMETER et la collection de fibroblastes

L'association "Electrosensibles de France/PRIARTEM", une association française non gouvernementale à but non lucratif regroupant des personnes électrosensibles et promouvant la recherche sur l'EHS, a établi une liste d'adultes électrosensibles auto-diagnostiqués (de 18 à 70 ans), membres de l'association, qui peuvent documenter leur inconfort en réponse aux CEM par l'intermédiaire de leur médecin de famille. Ont notamment été exclus de l'étude, les femmes enceintes ou allaitantes, les personnes majeures légalement protégées ou privées de liberté. Les donneurs de DEMETER ont accepté de répondre à un questionnaire d'auto-évaluation et de fournir un échantillon de peau pour établir une lignée cellulaire primaire de fibroblastes. Le recrutement de la cohorte DEMETER et la collecte de lignées cellulaires de fibroblastes qui en a résulté ont été approuvés par un comité d'éthique régional, conformément à la réglementation française sur le prélèvement anonyme et le consentement éclairé pour la recherche médicale. L'étude DEMETER a été promue par l'INSERM. Les donneurs de l'étude DEMETER ont été prélevés entre novembre 2018 et janvier 2021. Une liste de rendez-vous médicaux avec un dermatologue unique, responsable clinique de l'étude DEMETER (P.C.), a été proposée et les donneurs ont répondu en fonction de leurs disponibilités pratiques. L'ordre de passage des prélèvements cutanés peut donc être considéré comme aléatoire, il n'a pas influencé le questionnaire et les données biologiques. Lors de chaque rendez-vous médical, une fois l'information délivrée par le dermatologue et le consentement donné par le donneur, ce dernier a rempli le questionnaire et l'a enfermé dans une enveloppe.

Ensuite, le dermatologue a procédé au prélèvement de la peau dans une zone non irradiée après anesthésie locale avec des consommables dermatologiques standardisés. En bref, l'échantillon de peau a été prélevé par un "punch" dermatologique classique, sur la peau saine de la face interne du bras, moins exposée aux UV et à la lumière. La peau a été nettoyée à la chlorhexidine ou à l'alcool, à l'exclusion de tout autre antiseptique. Une anesthésie locale par pommade ou injection sous-cutanée à base de lidocaïne était appliquée au préalable. La biopsie a été réalisée à l'aide d'un dermatome (ou "punch", 2 mm), en coupant le fragment cylindrique de peau avec un scalpel à "lame 23" à l'aide d'une pince de Redon courbe stérile, mesurant 2 à 3 mm de long par 1 mm de large et 1 mm de profondeur. La biopsie cutanée a été immédiatement placée dans un tube de 15 ml contenant du milieu minimum Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) (Gibco-Invitrogen-France, Cergy-Pontoise, France), supplémenté avec 20% de sérum de veau fœtal, de la pénicilline et de la streptomycine et envoyé à température ambiante dans une boîte de transport étanche et résistante aux chocs, doublement protégée, dans le laboratoire de culture cellulaire pour l'établissement des lignées cellulaires.

Dès réception, la biopsie a été incubée pendant une nuit à 4° C dans une solution de dispase de type II à 4 mg/mL.

(#04942078001 ; Sigma-Aldrich, Saint-Quentin-Fallavier, France) et le derme a été dissocié de l'épiderme à l'aide de pinces. Pour l'extraction des fibroblastes, le derme a été incubé dans une solution de collagénase II à 40 UI/mL (#C1-28 ; Sigma-Aldrich) à 37° C pendant 90 min puis ensemencé dans le milieu de culture DMEM décrit ci-dessus. Les cultures primaires ainsi obtenues ont été amplifiées dans le même milieu de culture. Les conditions de routine de la culture des fibroblastes utilisés dans cette étude ont été décrites dans la section 4.3.

Le questionnaire d'auto-évaluation DEMETER a été mis au point par A.M.-P. Il se compose de cinq parties (voir le tableau supplémentaire S1 dans les données supplémentaires) :

- (A) questions sur l'intensité des symptômes et de la gêne après exposition à certaines sources de CEM comme le téléphone cellulaire (A1), les micro-ondes (A2), le téléphone fixe sans fil (A3), la station de base du téléphone cellulaire (A4), les appareils électroménagers (A5), les ampoules basse consommation (A6), l'ordinateur câblé (A7), l'ordinateur WiFi (A8), la télévision (A9), la boîte WiFi (A10) ;
- (B) questions sur l'intensité des symptômes et de la gêne après l'exposition à certaines sources autres que les CEM (voir la figure 2C et le tableau supplémentaire S1 pour plus de détails).
- (C) des questions sur l'intensité des symptômes et de l'inconfort en fonction du tissu/organe exposé avant l'exposition aux sources de CEM : pathologies oculaires (C1), système respiratoire (C2), douleurs musculaires et cartilagineuses (C3), pathologies du système cardiaque (C4), pathologies du système digestif (C5), fatigue et troubles du sommeil (C6), instabilité de l'humeur et nervosité (C7), ralentissement de l'activité intellectuelle (C8), maux de tête, acouphènes (C9), pathologies cutanées (C10), pathologies du système génito-urinaire (C11).
- (D) questions sur l'intensité des symptômes et de la gêne en fonction du tissu/organe exposé lors de l'exposition aux sources de CEM : même chose que pour la partie C.
- (P) une zone libre pour les informations personnelles afin de détailler les éventuels antécédents médicaux et les traitements en cours.

Pour les questions A à D, les intensités ont été notées de 0 (la plus faible intensité) à 5 (la plus forte intensité).

#### 4.2. La collection de fibroblastes COPERNIC

Depuis 2004, le personnel de l'unité UMR1296 a collecté des centaines de lignées cellulaires de fibroblastes provenant de : (1) groupe I : volontaires individuels apparemment sains, dont les caractéristiques radiobiologiques indiquaient clairement une radiorésistance, un faible risque de cancer et de maladie neurodégénérative [40,41] (voir aussi Introduction) ; (2) groupe II : patients cancéreux traités par radiothérapie (RT) et présentant un large spectre de réactions individuelles tissulaires de radiosensibilité post-RT ;

(3) groupe III : enfants hyper-radiosensibles souffrant de maladies génétiques rares et graves. Une telle collecte, appelée COPERNIC, est basée à la fois sur un prélèvement de peau et un questionnaire sur les traitements en cours et les antécédents médicaux. Étant donné que les donneurs apparemment sains et radiorésistants du groupe I de COPERNIC n'ont décrit aucun symptôme EHS dans leur questionnaire, les fibroblastes du groupe I de COPERNIC et leur base de données associée ont été considérés comme des témoins non EHS radiorésistants pour l'étude DEMETER. Les données de 10 fibroblastes du groupe I de COPERNIC ont été utilisées dans cette étude. Comme les fibroblastes COPERNIC du groupe II présentant une radiosensibilité intermédiaire n'ont décrit aucun symptôme EHS dans leur questionnaire, les fibroblastes COPERNIC du groupe II et leur base de données associée ont été considérés comme des témoins non EHS radiosensibles. Les données de 186 fibroblastes du groupe II de COPERNIC ont été utilisées dans cette étude. Enfin, il convient de noter que les données radiobiologiques de 4 lignées cellulaires de fibroblastes hyper-radiosensibles *mutés* ATM (groupe IIIa de COPERNIC) et 1 lignée cellulaire de fibroblastes *mutés* LIG4 (groupe IIIb de COPERNIC) provenant de patients non adultes ont également été présentées dans des graphiques et des tableaux lorsque cela s'avérait nécessaire. La cohorte COPERNIC était composée de 200 lignées cellulaires, 120 (60%) femmes et 80 (40%) hommes. L'âge moyen des donneurs était de  $50,4 \pm 2,4$  ans au moment du prélèvement des biopsies cutanées (minimum : 18 ; maximum : 79). Le statut légal de la collection COPERNIC est un peu différent de celui de la collection DEMETER puisque les donneurs COPERNIC ont été prélevés dans le cadre de leurs soins médicaux relatifs à la radiothérapie et au traitement du cancer. Par conséquent, la collection COPERNIC a été approuvée par un comité d'éthique régional et déclarée sous les numéros DC2011-1437 et 2020-3957 au Ministère de la Recherche comme l'exige la réglementation française et a déjà été décrite ailleurs. Elle obéit à la réglementation française en matière de prélèvement anonyme et de consentement éclairé [40,41].

#### 4.3. Culture cellulaire

Les cellules DEMETER et COPERNIC ont été conservées dans un liquide azoté ou cultivées au même endroit et dans les mêmes conditions. Les fibroblastes de la peau ont été cultivés en monocouche dans du milieu DMEM, supplémenté avec 20% de sérum de veau fœtal, de la pénicilline et de la streptomycine. Les cellules ont été régulièrement maintenues à 37° C dans une atmosphère humide à 5% de CO<sub>2</sub> dans des flacons pendant moins de 5 jours [40,41]. Pour tous les essais décrits ci-dessous, les cultures confluentes ont été doucement détachées avec 0,025% de trypsine et 0,02% d'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA) (Gibco-Invitrogen-France, Cergy-Pontoise, France) pour obtenir des suspensions de cellules uniques qui sont réensemencées pour la culture de routine à une dilution de 1:2 à 1:4 en fonction des temps de doublement. Pour toutes les expériences, les cellules ont étéensemencées 3 jours avant l'expérience dans des boîtes de Petri (contenant des lames de verre pour l'immunofluorescence uniquement). Toutes les expériences ont été réalisées avec des cellules en phase de plateau de croissance (95-99% en G0/G1) pour éviter tout effet sur le cycle cellulaire. La distribution des cellules dans les différentes phases du cycle cellulaire a été systématiquement contrôlée par cytométrie de flux [40,41]. À l'exception notable de l'essai sur les couronnes ATM (voir ci-dessous), toutes les expériences ont été réalisées à des passages précoces (c'est-à-dire de 4 à 10). Le cas échéant, le transport des cellules vers les irradiateurs a été effectué dans une boîte de sécurité refroidie.

#### 4.4. Rayons X Irradiation

Toutes les irradiations ont été réalisées sur un irradiateur clinique à rayons X de 6 MeV (SL 15 Phillips) au Centre anticancéreux Léon-Bérard (Lyon, France) à une dose de 2 Gy avec un débit de dose de 6 Gy.min<sup>-1</sup>. La dosimétrie a été certifiée par le service de radiophysique du Centre Léon-Bérard [40,41].

#### 4.5. Traitement avec H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Le traitement au peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ; fabricant) a consisté à ajouter la concentration indiquée de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> directement au milieu de culture pendant 30 min. Ensuite, le milieu de culture a été retiré et les cellules ont été rincées avec du sérum physiologique (0,9% NaCl) [47].

#### 4.6. Prétraitement à l'anéthole trithione

L'anétholetrithione (AOL) (#SML4108 ; Sigma-Aldrich (Saint-Quentin-Fallavier, France)) est connu pour être un agent antioxydant efficace [48-50]. L'AOL a été ajouté directement dans le milieu de culture pendant 24 h pour atteindre une concentration finale de 10 μM d'AOL. Ensuite, le milieu a été retiré et les cellules ont été rincées avec du sérum physiologique (NaCl 0,9 %).

#### 4.7. Immunofluorescence

Les procédures d'immunofluorescence et d'évaluation des foyers ont été décrites ailleurs [40,41,46]. Brièvement, l'anticorps *anti-γH2AXser139* (clone JBW301 ; Merck, Millipore, Darmstadt, Allemagne) a été appliqué à 1:800. L'anticorps *anti-pATMser1981* (clone 10H11.E12 ; Millipore, Darmstadt, Allemagne) et l'anticorps *anti-MRE11* (#56211 ; Abcys, Paris, France) ont été utilisés à 1:100. Les cellules ont été contre-colorées avec du 4',6-Diamidino-2-Phénylindole, Dihydrochloride (DAPI), ce qui permet également de marquer les micronoyaux dans les mêmes conditions (voir ci-dessous). La procédure de notation de Foci appliquée ici a reçu l'accord de certification de la marque CE et des normes de gestion de la qualité ISO-13485 et a développé certaines caractéristiques protégées dans le cadre des brevets FR3017625 A1 et FR3045071 A1 [40,41].

#### 4.8. Test des micronoyaux

Lors de chaque expérience d'immunofluorescence, la contre-coloration au DAPI permet de quantifier les micronoyaux au grossissement X100 [40,41].

#### 4.9. Analyse statistique

En ce qui concerne le questionnaire d'auto-évaluation, l'analyse des données a été basée sur le calcul de moyennes simples de la gradation des symptômes ou de l'intensité de l'inconfort pour une fréquence d'onde donnée (partie A), une source de stress donnée (partie B) ou un tissu/une pathologie donné(e) (parties C et D). En outre, la définition de ratios d'appariement (définis dans le texte) a facilité l'identification des caractéristiques communes des sous-ensembles. Nous avons développé une approche analytique pour chaque partie A à D du questionnaire. Cette approche progressive nous permet d'éviter les artefacts en favorisant les comparaisons croisées avec plus d'un critère, au moins. Un code couleur appliqué dans les tableaux a facilité la synthèse des résultats.

En ce qui concerne l'analyse des données biologiques, le test ANOVA a été utilisé pour comparer deux moyennes, et le test de Spearman a été utilisé pour comparer les données cinétiques. Toutes les données ont été obtenues avec le nombre d'expériences indépendantes indiqué et chaque valeur est exprimée par sa moyenne et son erreur standard par rapport à la moyenne (loi de Poisson).

Dans toutes les études, la détermination systématique des fonctions mathématiques liées aux paramètres a été privilégiée pour faciliter le développement des modèles cinétiques et mécanistes. Le coefficient de corrélation fournissant la qualité de l'ajustement a été systématiquement fourni. Les analyses statistiques ont été réalisées soit par le logiciel PRISM version 8 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA), soit par Kaleidagraph v4 (Synergy Software, Reading, PA, USA).

## 5. Conclusions

L'EHS et son lien de causalité avec l'exposition aux CEM restent une question majeure de santé publique. En considérant que les études comportementales ou celles basées uniquement sur un questionnaire d'auto-évaluation peuvent être source de nombreux biais, nous avons conçu une étude clinique regroupant 26 volontaires adultes auto-diagnostiqués comme électrosensibles (EHS) afin de proposer une définition moléculaire de l'EHS (DEMETER) en combinant un questionnaire d'auto-évaluation et des investigations biologiques sur une collection de fibroblastes primaires dérivés des patients DEMETER. Le questionnaire et les données biologiques ont été analysés indépendamment l'un de l'autre. Le questionnaire et les données biologiques ont révélé deux sous-ensembles de donneurs caractérisés chacun par un phénotype spécifique : un phénotype de faible niveau de fond et de forte réactivité (LBHR) ou un phénotype de niveau de fond élevé et de faible réactivité (HBLR). Les intensités les plus élevées de gène auto-évalué ont été obtenues pour les caractéristiques cérébrales telles que les maux de tête, les acouphènes, le ralentissement de l'activité intellectuelle, la fatigue et les troubles du sommeil. Le phénotype HBLR a été caractérisé par des quantités très élevées de DSB et de MN spontanées, comme celles des lignées cellulaires les plus hyper-radiosensibles, tandis que le phénotype LBHR a été associé à des quantités limitées de DSB et de MN spontanées, comme les cellules de patients présentant une radiosensibilité modérée. En appliquant des rayons X, toutes les lignées cellulaires DEMETER (26/26) se sont révélées caractérisées par une scission nucléaire ATM retardée induite par les radiations (RIANS). Toutefois, il convient de souligner qu'un patient présentant une RIANS retardée ne souffre pas nécessairement d'EHS. Le phénotype LBHR était associé à une formation précoce de foyers MRE11 radio-induits et à un risque élevé de cancer, tandis que le phénotype HBLR était associé à la fois à la formation spontanée de couronnes pATM périnucléaires et à la formation tardive de MRE11 radio-induits, caractéristiques communes d'un risque élevé de vieillissement accéléré. Le traitement par  $H_{(2)}O_2$ , un inducteur de rupture de brins d'ADN, a conduit à la formation de CDH à un taux plus élevé pour les phénotypes HBLR que pour les phénotypes LBHR. Il est intéressant de noter que l'exposition des cellules DEMETER à un traitement à l' $H_{(2)}O_2$ , suivi d'un traitement antioxydant, a entraîné une diminution du nombre de CDH. Ces résultats confirment que la HSEM peut être liée à la gestion de la SSB et/ou de la DSB. Un modèle très préliminaire de l'EHS inspiré du modèle RIANS a été proposé. Ces conclusions sont basées sur des expériences cellulaires *in vitro* et nécessitent des études supplémentaires pour vérifier l'applicabilité de ces résultats aux personnes EHS.

En outre, des orientations pour de futures études, telles que des expériences in vivo ou des études de cohortes plus importantes, peuvent être proposées pour valider davantage les résultats.

**Matériel supplémentaire :** Les informations complémentaires suivantes peuvent être téléchargées à l'adresse suivante : [https :](https://www.mdpi.com/article/10.3390/ijms26104792/s1)

[//www.mdpi.com/article/10.3390/ijms26104792/s1](https://www.mdpi.com/article/10.3390/ijms26104792/s1).

**Contributions des auteurs :** Conceptualisation, P.C., M.B., Y.L.D. et N.F. ; méthodologie, L.S., J.A.-C., P.C. et A.M.-P. ; validation, A.B., P.M., J.-F.D. et J.-C.D. ; analyse formelle, L.S., P.C. et N.F. ; investigation, tous les auteurs ; conservation des données, L.S., J.A.-C. et P.C. ; rédaction - préparation de la version originale, L.S. et N.F. ; rédaction - révision et édition, tous les auteurs ; supervision, P.C., Y.L.D. et N.F.C. et P.C. ; rédaction - préparation de la version originale, L.S. et N.F. ; rédaction - révision et édition, tous les auteurs ; supervision, P.C., Y.L.D. et N.F. ; administration du projet, P.C., Y.L.D. et N.F. ; acquisition des fonds, Y.L.D. et N.F. Tous les auteurs ont lu et approuvé la version publiée du manuscrit.

**Financement :** Cette recherche a été financée par l'ANSES, le projet DEMETER et le Commissariat général à l'investissement (Programmes Investissement d'Avenir-INDIRA).

**Déclaration de l'Institutional Review Board :** Comme nous l'avons déjà mentionné dans les matériels et méthodes, cette étude a été réalisée avec des lignées cellulaires de fibroblastes humains appartenant à la collection DEMETER et COPERNIC qui ont été approuvées par le comité d'éthique régional.

**Déclaration de consentement éclairé :** Tous les donneurs anonymes de la cohorte DEMETER ont été informés et ont signé un consentement conforme aux recommandations éthiques et réglementaires, notamment en ce qui concerne leur consentement à participer et à la publication de données anonymes.

**Déclaration de disponibilité des données :** Toutes les données peuvent être fournies sur demande raisonnable.

**Remerciements :** Nous remercions les bénévoles de DEMETER et les membres de l'association des Electrosensibles de France-PRIARTEM (Présidente : Sophie Pelletier) pour avoir facilité le recrutement des donateurs).

**Conflits d'intérêts :** Les auteurs ne déclarent aucun conflit d'intérêts. Les bailleurs de fonds n'ont joué aucun rôle dans la conception de l'étude, dans la collecte, l'analyse ou l'interprétation des données, dans la rédaction du manuscrit ou dans la décision de publier les résultats.

## Références

1. OMS. *Champs de radiofréquences* ; Document de consultation publique ; OMS : Genève, Suisse, 2014.
2. ICNIRP. *Exposition aux champs électromagnétiques de haute fréquence, effets biologiques et conséquences pour la santé (100 kHz-300 GHz) - Examen des preuves scientifiques et des conséquences pour la santé* ; Commission internationale de protection contre les rayonnements non ionisants : Munich, Allemagne, 2019.
3. ICNIRP. Lacunes dans les connaissances relatives aux "Lignes directrices de l'ICNIRP pour la limitation de l'exposition aux champs électriques, magnétiques et électromagnétiques variables dans le temps (100 kHz à 300 GHz)". *Health Phys.* **2025**, *128*, 190-202. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
4. ANSES. *Radiofréquences et Santé : Mise à Jour de l'Expertise* ; ANSES : Paris, France, 2013.
5. Schneir, J.R. ; Whalley, J. ; Amaral, T.P. ; Pogorel, G. Les implications des réseaux 5G : Ouvrir la voie à l'innovation mobile ? *Telecommun. Policy* **2018**, *42*, 583-586. [[CrossRef](#)]
6. Russell, C.L. 5 G wireless telecommunications expansion : Implications pour la santé publique et l'environnement. *Environ. Res.* **2018**, *165*, 484-495. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Debouzy, J.C. ; Minier, L. ; Pierre, V. ; Jaoui, R. ; Crouzier, D. Effets biologiques des ondes millimétriques : Considérations sur la Bibliographie , pour la période 2017-2022. *Biomed. J. Sci. Tech. Res.* **2023**, *48*, 40171-40180.
8. Martha, C. ; Griffet, J. Rapport succinct : Comment les adolescents perçoivent-ils les risques liés à l'utilisation du téléphone portable ? *J. Adolesc.* **2007**, *30*, 513-521. [[CrossRef](#)]
9. Sansone, R.A. ; Sansone, L.A. Cell Phones : Les risques psychosociaux. *Innov. Clin. Neurosci.* **2013**, *10*, 33-37.
10. Joshi, S.C. Cell Phone Use, Sleep Quality, Academic Performance, and Psychological Well-Being in Young Adults : A Theoretical Framework. *Psychol. Res. Pract.* **2023**, *2*, 1-26. [[CrossRef](#)]
11. Olsson, J. Symptômes associés aux champs électromagnétiques : A critical review. *Electromagnetics* **1996**, *17*, 48.
12. Shacklett, D.E. ; Tredici, T.J. ; Epstein, D.L. Évaluation des changements possibles du cristallin induits par les micro-ondes dans l'armée de l'air des États-Unis. *Aviat. Space Environ. Med.* **1975**, *46*, 1403-1406.
13. Cleary, S.F. ; Pasternack, B.S. ; Beebe, G.W. Cataract incidence in radar workers. *Arch. Environ. Health* **1965**, *11*, 179-182. [[CrossRef](#)]
14. Haider, S. Hypersensibilité aux champs électromagnétiques : A clinical review. *J. Occup. Med.* **1997**, *39*, 761-764.

15. Karlsson, B. Electromagnetic hypersensitivity (EHS) in Sweden : A clinical study and review of the literature. *Scand. J. Work. Environ. Health* **2000**, *26*, 246-249.
16. Belyaev, I. ; Dean, A. ; Eger, H. ; Hubmann, G. ; Jandrisovits, R. ; Kern, M. ; Kundi, M. ; Moshhammer, H. ; Lercher, P. ; Muller, K. ; et al. EUROPAEM EMF Guideline 2016 for the prevention, diagnosis and treatment of EMF-related health problems and illnesses. *Rev. Environ. Health* **2016**, *31*, 363-397. [[CrossRef](#)]
17. ANSES. *Hypersensibilité Électromagnétique ou Intolérance Environnementale Idiopathique Attribuée aux Champs Électromagnétiques* ; ANSES : Maisons-Alfort, France, 2018.
18. ANSES. *Exposition aux Champs Électromagnétiques Liée au Déploiement de la Technologie 5G-Avis Actualisé de l'ANSES* ; ANSES : Maisons-Alfort, France, 2022.
19. Bosch-Capblanch, X. ; Esu, E. ; Oringanje, C.M. ; Dongus, S. ; Jalilian, H. ; Eysers, J. ; Auer, C. ; Meremikwu, M. ; Roosli, M. The effects of radiofrequency electromagnetic fields exposure on human self-reported symptoms : A systematic review of human experimental studies. *Environ. Int.* **2024**, *187*, 108612. [[CrossRef](#)]
20. Benke, G. ; Abramson, M.J. ; Brzozek, C. ; McDonald, S. ; Kelsall, H. ; Sanagou, M. ; Zeleke, B.M. ; Kaufman, J. ; Brennan, S. ; Verbeek, J. ; et al. Les effets de l'exposition aux radiofréquences sur la cognition : A systematic review and meta-analysis of human observational studies. *Environ. Int.* **2024**, *188*, 108779. [[CrossRef](#)]
21. Johnson, E.E. ; Kenny, R.P.W. ; Adesanya, A.M. ; Richmond, C. ; Beyer, F. ; Calderon, C. ; Rankin, J. ; Pearce, M.S. ; Toledano, M. ; Craig, D. ; et al. The effects of radiofrequency exposure on adverse female reproductive outcomes : A systematic review of human observational studies with dose-response meta-analysis. *Environ. Int.* **2024**, *190*, 108816. [[CrossRef](#)]
22. Kenny, R.P.W. ; Millar, E.B. ; Adesanya, A. ; Richmond, C. ; Beyer, F. ; Calderon, C. ; Rankin, J. ; Toledano, M. ; Feychting, M. ; Pearce, M.S. ; et al. The effects of radiofrequency exposure on male fertility and adverse reproductive outcomes : A protocol for two systematic reviews of human observational studies with meta-analysis. *Environ. Int.* **2022**, *158*, 106968. [[CrossRef](#)]
23. Pophof, B. ; Kuhne, J. ; Schmid, G. ; Weiser, E. ; Dorn, H. ; Henschenmacher, B. ; Burns, J. ; Danker-Hopfe, H. ; Sauter, C. The effect of exposure to radiofrequency electromagnetic fields on cognitive performance in human experimental studies : Revue systématique et méta-analyses. *Environ. Int.* **2024**, *191*, 108899. [[CrossRef](#)]
24. Slottje, P. ; van Moorselaar, I. ; van Strien, R. ; Vermeulen, R. ; Kromhout, H. ; Huss, A. L'hypersensibilité électromagnétique (EHS) dans les soins de santé primaires et professionnels : Une enquête nationale parmi les médecins généralistes, les médecins du travail et les hygiénistes aux Pays-Bas. *Int. J. Hyg. Environ. Health* **2017**, *220*, 395-400. [[CrossRef](#)]
25. Stein, Y. ; Udasin, I.G. Hypersensibilité électromagnétique (EHS, syndrome des micro-ondes) - Examen des mécanismes. *Environ. Res.* **2020**, *186*, 109445. [[CrossRef](#)].
26. Carpenter, D.O. Le syndrome des micro-ondes ou électro-hypersensibilité : Historical background. *Rev. Environ. Health* **2015**, *30*, 217-222. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Koteles, F. ; Szemerszky, R. ; Gubanyi, M. ; Kormendi, J. ; Szekrenyesi, C. ; Lloyd, R. ; Molnar, L. ; Drozdovszky, O. ; Bardos, G. Intolérance environnementale idiopathique attribuée aux champs électromagnétiques (IEI-EMF) et électrosensibilité (ES) - Sont-elles liées à ? *Int. J. Hyg. Environ. Health* **2013**, *216*, 362-370. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Foray, N. ; Amiel, M. ; Mornex, R. Etienne Destot (1864-1918) ou l'autre père de la radiologie française. *Cancer Radiothérapie* **2017**, *21*, 138-147. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
29. Destot, E. Les troubles physiologiques et trophiques dus aux rayons X. *Comptes-Rendus l'Académie Sci.* **1897**, *127*, 1114-1116.
30. Arcelin, F. Existe-t-il en radiothérapie des idiosyncrasies spontanées ou acquises. *Arch. d'Electr. Médicale* **1911**, *10*, 37-61.
31. Meyer, F. ; Bitsch, A. ; Forman, H.J. ; Fragoulis, A. ; Ghezzi, P. ; Henschenmacher, B. ; Kellner, R. ; Kuhne, J. ; Ludwig, T. ; Sachno, D. ; et al. The effects of radiofrequency electromagnetic field exposure on biomarkers of oxidative stress in vivo and in vitro : A systematic review of experimental studies. *Environ. Int.* **2024**, *194*, 108940. [[CrossRef](#)]
32. Belpomme, D. ; Carlo, G.L. ; Irigaray, P. ; Carpenter, D.O. ; Hardell, L. ; Kundi, M. ; Belyaev, I. ; Havas, M. ; Adlkofer, F. ; Heuser, G. ; et al. The Critical Importance of Molecular Biomarkers and Imaging in the Study of Electrohypersensitivity. A Scientific Consensus International Report. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 7321. [[CrossRef](#)]
33. Leszczynski, D. Examen des preuves scientifiques sur la sensibilité individuelle aux champs électromagnétiques (EHS). *Rev. Environ. Health* **2022**, *37*, 423-450. [[CrossRef](#)].
34. Eltiti, S. ; Wallace, D. ; Russo, R. ; Fox, E. Symptom Presentation in Idiopathic Environmental Intolerance with Attribution to Electromagnetic Fields : Evidence for a Nocebo Effect Based on Data Re-Analyzed from Two Previous Provocation Studies. *Front. Psychol.* **2018**, *9*, 1563. [[CrossRef](#)]
35. Verrender, A. ; Loughran, S.P. ; Dalecki, A. ; Freudenstein, F. ; Croft, R.J. Les suggestions explicites sur la nocivité de l'exposition aux CEM peuvent-elles exacerber une réponse nocebo chez des témoins sains ? *Environ. Res.* **2018**, *166*, 409-417. [[CrossRef](#)]
36. Johansson, A. ; Nordin, S. ; Heiden, M. ; Sandstrom, M. Symptômes, traits de personnalité et stress chez les personnes présentant des symptômes liés à la téléphonie mobile et une hypersensibilité électromagnétique. *J. Psychosom. Res.* **2010**, *68*, 37-45. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. OMS. Hypersensibilité électromagnétique. Dans les actes de l'atelier international sur l'hypersensibilité aux CEM, Prague, République tchèque, 25-27 octobre 2004.

38. Rosenthal, A. ; Israilevich, R. ; Moy, R. Management of acute radiation dermatitis : A review of the literature and proposal for treatment algorithm. *J. Am. Acad. Dermatol.* **2019**, *81*, 558-567. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Lee, J.H. ; Paull, T.T. Fonctions cellulaires de la protéine kinase ATM et leur pertinence pour les maladies humaines. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2021**, *22*, 796-814. [[CrossRef](#)].
40. Le Reun, E. ; Bodgi, L. ; Granzotto, A. ; Sonzogni, L. ; Ferlazzo, M.L. ; Al-Choboq, J. ; El-Nachef, L. ; Restier-Verlet, J. ; Berthel, E. ; Devic, C. ; et al. Les corrélations quantitatives entre les biomarqueurs de radiosensibilité montrent que la protéine kinase ATM est fortement impliquée dans les radiotoxicités observées après radiothérapie. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 10434. [[CrossRef](#)]
41. Sonzogni, L. ; Granzotto, A. ; Le Reun, E. ; Al-Choboq, J. ; Bourguignon, M. ; Foray, N. ; Bodgi, L. Prediction of radiotherapy toxicity : 20 years of COPERNIC radiosensitivity diagnosis procedure. *Cancer-Radiothérapie* **2024**, *28*, 435-441. [[CrossRef](#)]
42. Berthel, E. ; Pujon-Menjouet, L. ; Le Reun, E. ; Sonzogni, L. ; Al-Choboq, J. ; Chekroun, A. ; Granzotto, A. ; Devic, C. ; Ferlazzo, M.L. ; Pereira, S. ; et al. Toward an early diagnosis for Alzheimer's disease based on the perinuclear localization of the ATM protein. *Cells* **2023**, *12*, 1747. [[CrossRef](#)]
43. Restier-Verlet, J. ; Ferlazzo, M.L. ; Granzotto, A. ; Al-Choboq, J. ; Bellemou, C. ; Estavoyer, M. ; Lecomte, F. ; Bourguignon, M. ; Pujon-Menjouet, L. ; Foray, N. Effets de vieillissement accéléré observés in vitro après une exposition à des rayons gamma délivrés à très faible et à un débit de dose continu équivalent à 1-5 semaines dans la Station spatiale internationale. *Cells* **2024**, *13*, 1703. [[CrossRef](#)]
44. Berthel, E. ; Foray, N. ; Ferlazzo, M.L. The Nucleoshuttling of the ATM Protein : A Unified Model to Describe the Individual Response to High- and Low-Dose of Radiation ? *Cancers* **2019**, *11*, 905. [[CrossRef](#)]
45. El-Nachef, L. ; Al-Choboq, J. ; Restier-Verlet, J. ; Granzotto, A. ; Berthel, E. ; Sonzogni, L. ; Ferlazzo, M.L. ; Bouchet, A. ; Leblond, P. ; Combemale, P. ; et al. Human Radiosensitivity and Radiosusceptibility : Quelles sont les différences ? *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 7158. [[CrossRef](#)]
46. Combemale, P. ; Sonzogni, L. ; Devic, C. ; Bencokova, Z. ; Ferlazzo, M.L. ; Granzotto, A. ; Burlet, S.F. ; Pinson, S. ; Amini-Adle, M. ; Al-Choboq, J. ; et al. Individual Response to Radiation of Individuals with Neurofibromatosis Type I. Role of ATM Protein and Influence of Statins and Bisphosphonates : Role of the ATM Protein and Influence of Statins and Bisphosphonates. *Mol. Neurobiol.* **2022**, *59*, 556-573. [[CrossRef](#)]
47. Granzotto, A. ; El Nachef, L. ; Restier-Verlet, J. ; Sonzogni, L. ; Al-Choboq, J. ; Bourguignon, M. ; Foray, N. Quand la décondensation de la chromatine affecte le schéma et la cinétique des foyers nucléaires de gammaH2AX et biaise l'évaluation des cassures double-brin de l'ADN par immunofluorescence. *Biomolécules* **2024**, *14*, 703. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Belkacemi, Y. ; Rat, P. ; Piel, G. ; Christen, M.O. ; Touboul, E. ; Warnet, J.M. Lens epithelial cell protection by aminothiols WR-1065 and anetholedithiolethione from ionizing radiation. *Int. J. Cancer* **2001**, *96* (Suppl. S1), 15-26. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Dringen, R. ; Hamprecht, B. ; Drukarch, B. L'anéthole dithiolethione, un neuroprotecteur putatif, augmente les niveaux intracellulaires et extracellulaires de glutathion pendant la famine des cellules astrogliales cultivées. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **1998**, *358*, 616-622. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
50. Drukarch, B. ; Schepens, E. ; Stoof, J.C. ; Langeveld, C.H. L'anéthole dithiolethione prévient les dommages oxydatifs dans les astrocytes dépourvus de glutathion . *Eur. J. Pharmacol.* **1997**, *329*, 259-262. [[CrossRef](#)].
51. Kacprzyk, A. ; Kanclerz, G. ; Rokita, E. ; Taton, G. Quelles sont les sources de champs électromagnétiques les plus préoccupantes pour les personnes électrosensibles ? *Electromagn. Biol. Med.* **2021**, *40*, 33-40. [[CrossRef](#)]
52. Szemerszky, R. ; Gubanyi, M. ; Arvai, D. ; Domotor, Z. ; Koteles, F. Existe-t-il un lien entre l'électrosensibilité et l'électrosensibilité ? A Replication Study. *Int. J. Behav. Med.* **2015**, *22*, 755-763. [[CrossRef](#)]
53. Taton, G. ; Kacprzyk, A. ; Rok, T. ; Pytlarz, M. ; Pawlak, R. ; Rokita, E. Enquête sur l'hypersensibilité électromagnétique : L'exemple de la Pologne. *Electromagn. Biol. Med.* **2022**, *41*, 52-59. [[CrossRef](#)]
54. Karpen, S.C. The Social Psychology of Biased Self-Assessment. *Am. J. Pharm. Educ.* **2018**, *82*, 6299. [[CrossRef](#)]
55. Crowne, D.P. ; Marlowe, D. Une nouvelle échelle de désirabilité sociale indépendante de la psychopathologie. *J. Consult. Psychol.* **1960**, *24*, 349-354. [[CrossRef](#)]
56. Ma, W. ; Zhou, S. Recâblage métabolique face à l'agression génomique : intégration de la réponse aux dommages de l'ADN et du métabolisme cellulaire. *Biomolécules* **2025**, *15*, 168. [[CrossRef](#)]
57. Grote, S.J. ; Joshi, G.P. ; Revell, S.H. ; Shaw, C.A. Observations of radiation-induced chromosome fragment loss in live mammalian cells in culture, and its effect on colony-forming ability. *Int. J. Radiat. Biol. Relat. Stud. Phys. Chem. Med.* **1981**, *39*, 395-408. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
58. Iliakis, G. The role of DNA double strand breaks in ionizing radiation-induced killing of eukaryotic cells. *BioEssays* **1991**, *13*, 641-648. [[PubMed](#)].
59. Lai, H. Genetic effects of non-ionizing electromagnetic fields. *Electromagn. Biol. Med.* **2021**, *40*, 264-273. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
60. De Luca, C. ; Thai, J.C. ; Raskovic, D. ; Cesareo, E. ; Caccamo, D. ; Trukhanov, A. ; Korkina, L. Metabolic and genetic screening of electromagnetic hypersensitive subjects as a feasible tool for diagnostics and intervention. *Mediat. Inflamm.* **2014**, *2014*, 924184. [[CrossRef](#)]
61. Belpomme, D. ; Irigaray, P. Why electrohypersensitivity and related symptoms are caused by non-ionizing man-made electromagnetic fields : An overview and medical assessment. *Environ. Res.* **2022**, *212*, 113374. [[CrossRef](#)]

62. Viau, M. ; Sonzogni, L. ; Ferlazzo, M.L. ; Berthel, E. ; Pereira, S. ; Bodgi, L. ; Granzotto, A. ; Devic, C. ; Fervers, B. ; Charlet, L. ; et al. DNA Double-Strand Breaks Induced in Human Cells by Twelve Metallic Species : Quantitative Inter-Comparisons and Influence of the ATM Protein. *Biomolecules* **2021**, *11*, 1462. [[CrossRef](#)]
63. Sonzogni, L. ; Ferlazzo, M.L. ; Granzotto, A. ; Fervers, B. ; Charlet, L. ; Foray, N. DNA Double-Strand Breaks Induced in Human Cells by 6 Current Pesticides : Intercomparisons and Influence of the ATM Protein. *Biomolecules* **2022**, *12*, 250. [[CrossRef](#)]
64. Cornforth, M.N. ; Bedford, J.S. Comparaison quantitative de la réparation des dommages potentiellement mortels et de la reconstitution des cassures chromosomiques en interphase dans les fibroblastes humains normaux à faible passage. *Radiat. Res.* **1987**, *111*, 385-405. [[CrossRef](#)].
65. Taylor, A.M. ; Byrd, P.J. ; McConville, C.M. ; Thacker, S. Caractéristiques génétiques et cellulaires de l'ataxie télangiectasie. *Int. J. Radiat. Biol.* **1994**, *65*, 65-70. [[CrossRef](#)]
66. El Nachef, L. ; Berthel, E. ; Ferlazzo, M.L. ; Le Reun, E. ; Al-Choboq, J. ; Restier-Verlet, J. ; Granzotto, A. ; Sonzogni, L. ; Bourguignon, M. ; Foray, N. Cancer et syndromes de radiosensibilité : Is Impaired Nuclear ATM Kinase Activity the Primum Movens ? *Cancers* **2022**, *14*, 6141. [[CrossRef](#)]
67. Orlacchio, R. ; Le Page, Y. ; Le Drean, Y. ; Le Guevel, R. ; Sauleau, R. ; Alekseev, S. ; Zhadobov, M. Chauffage pulsé par ondes millimétriques in vitro : Mortalité cellulaire et réponse au choc thermique. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 15249. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
68. Le Quement, C. ; Nicolas Nicolaz, C. ; Zhadobov, M. ; Desmots, F. ; Sauleau, R. ; Aubry, M. ; Michel, D. ; Le Drean, Y. Whole-genome expression analysis in primary human keratinocyte cell cultures exposed to 60 GHz radiation. *Bioelectromagnetics* **2012**, *33*, 147-158. [[CrossRef](#)]
69. Sanford, E.J. ; Smolka, M.B. A field guide to the proteomics of post-translational modifications in DNA repair. *Proteomics* **2022**, *22*, e2200064. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
70. Damm, M. ; Nusshold, C. ; Cantillo, D. ; Rechberger, G.N. ; Gruber, K. ; Sattler, W. ; Kappe, C.O. Les champs électromagnétiques peuvent-ils influencer la structure et la digestion enzymatique des protéines ? Une évaluation critique des protocoles protéomiques assistés par micro-ondes. *J. Proteom.* **2012**, *75*, 5533-5543. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
71. Zhen, C. ; Zhang, G. ; Wang, S. ; Wang, J. ; Fang, Y. ; Shang, P. Les champs électromagnétiques régulent le métabolisme du fer dans les organismes vivants : A review of effects and mechanism. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **2024**, *188*, 43-54. [[CrossRef](#)]
72. Restier-Verlet, J. ; Joubert, A. ; Ferlazzo, M.L. ; Granzotto, A. ; Sonzogni, L. ; Al-Choboq, J. ; El Nachef, L. ; Le Reun, E. ; Bourguignon, M. ; Foray, N. X-rays-Induced Bystander Effect Consists in the Formation of DNA Breaks in a Calcium-Dependent Manner : Influence de la procédure expérimentale et du facteur individuel. *Biomolecules* **2023**, *13*, 542. [[CrossRef](#)]

**Clause de non-responsabilité/Note de l'éditeur :** Les déclarations, opinions et données contenues dans toutes les publications sont uniquement celles des auteurs et contributeurs individuels et non celles de MDPI et/ou de l'éditeur. MDPI et/ou le(s) rédacteur(s) décline(nt) toute responsabilité en cas de dommages corporels ou matériels résultant d'idées, de méthodes, d'instructions ou de produits mentionnés dans le contenu.