



Proposition d'un sujet de thèse en cotutelle 2026/2027

A. Porteur du sujet à l'Université Libanaise

1. Nom : Diab Assaf
2. Prénom : Mona
3. Titre (Prof, HDR,) : Professeur
4. Laboratoire : Tumorigènes moléculaire et pharmacologie anticancéreuse (TMPAC)
5. Adresse Web : mdiabassaf@ul.edu.lb
6. Etablissement : Université Libanaise
7. Adresse Web : mdiabassaf@ul.edu.lb
8. **Domaines d'expertise :**
 - Cancérologie, Culture cellulaire, Biologie cellulaire du cancer, Apoptose.
 - Sénescence et cancer -Voies de signalisation cellulaire - Biomarqueurs du cancer-Toxicologie, Antioxydants et cancer leucémique (prévention et traitement) et cancer colorectal et effet antiprolifératif et antitumoral.
 - Agents thérapeutiques sélectifs de l'hypoxie. Invasion et migration des cellules cancéreuses.
 - Métabolisme et cancer. Nutrition et cancer, Probiotiques, Pharmacologie moléculaire et anticancéreuse.
9. **Publications importantes en relation avec le sujet proposé :**
 - Josiane.semaan; Aline.pinson; Benjamin.rioux; Lama.hassan; Youness.limami; Christelle.pouget; Catherine.fagnere; Vincent.sol; **Mona Diab Assaf**; Alain.simon; Bertrand.liagre "Resistance to 3-HTMC- induced apoptosis through activation of PI3K/Akt, MEK/ERK and p38/COX-2/PGE2 pathways in human HT-29 and HCT116 colorectal cancer cells" **Journal of Cellular Biochemistry, 2016;**
 - Sahar Al Kattar , Rosalyn Jurjus, Aline Pinon ,David Yannick Leger, Abdo Jurjus,, Chawki Boukarim **Mona Diab-Assaf** ,Bertrand Liagre .Metformin and Probiotics in the Crosstalk between Colitis-Associated Colorectal Cancer and Diabetes in Mice. *Cancers (Basel)* 2020 Jul 10;12(7). Epub 2020 Jul
 - Fatima Dandash, David Y Leger, **Mona Diab-Assaf** ,Vincent Sol and Bertrand Liagre Porphyrin/Chlorin Derivatives as Promising Molecules for Therapy of Colorectal Cancer. **Molecules** 2021 Nov 30;26(23). Epub 2021 Nov 30.
10. -Adresse Web de votre page personnelle :
11. Adresse e-mail : **mdiabassaf@ul.edu.lb**



B. Partenaire à l'UPJV :

1. Nom : Khorsi-Cauet
2. Prénom : Hafida
3. Titre (PU, MCF, HDR, ...) : Professeur
4. Laboratoire : Pérیتox UMRI_01
5. Etablissement : Université de Picardie Jules Verne (UPJV)
6. Adresse Web : hafida.khorsi@u-picardie.fr

7. Domaines d'expertise :

- Santé environnement (exposition chronique via des pesticides),
- Microbiote intestinal, translocation bactérienne, Dysbiose intestinale, perméabilité intestinale,
- Modèle in vitro (intestin artificiel, SHIME) et stratégie nutritionnelle (prébiotiques/probiotiques) ...

8. Publications importantes en relation avec le sujet proposé :

- Abou Diwan M, Huet A, Poiriez J, Joly Condette C, Delanaud S, Sevin E, Corona A, Rhazi L, Depeint F, Ouadid-Ahidouch H, Gosselet F, Bach V, Candela P, **Khorsi-Cauet H**. Effects of Chlorpyrifos on gut dysbiosis and barriers integrity in women with a focus on pregnancy and prebiotic intervention: Insights from advanced in vitro human models. Environ Pollut. 2025 Feb 15;367: 125533. doi: 10.1016/j.envpol.2024. 125533...
- Abou Diwan M, Djekkoun N, Boucau MC, Corona A, Dehouck L, Biendo M, Gosselet F, Bach V, Candela P, **Khorsi-Cauet H**. Maternal exposure to pesticides induces perturbations in the gut microbiota and blood-brain barrier of dams and the progeny, prevented by a prebiotic. Environ Sci Pollut Res Int. 2024 Oct;31(49):58957-58972. doi: 10.1007/s11356-024-34969-1.

9. Adresse Web de votre page personnelle :

10. Adresse e-mail : **hafida.khorsi@u-picardie.fr**

C. Description du sujet de thèse proposé : (3 à 5 pages)

- 1. Discipline : Biologie-Santé-Physiopathologie Humaine – risques environnementaux, cancers et signalisation cellulaire.**
- 2. Titre : Impact de l'exposition chronique des cellules coliques normale et cancéreuse à un cocktail de pesticides : rôle du microbiote et identification des voies de signalisation**

Résumé du projet

L'exposition chronique aux pesticides constitue un enjeu majeur de santé publique, notamment en raison de leur présence persistante dans l'alimentation et de leurs effets potentiellement délétères à long terme. Parmi les pathologies associées, le cancer colorectal (CCR) reste encore insuffisamment étudié, malgré des données suggérant un lien entre exposition aux pesticides et augmentation du risque. Ce projet de thèse vise à étudier l'impact d'une exposition chronique à faibles doses d'un cocktail de pesticides couramment retrouvés dans l'alimentation (chlorpyrifos, glyphosate et imazalil) sur la cancérogenèse colique. L'hypothèse centrale est que ce cocktail peut induire une dysbiose intestinale, une altération de la barrière intestinale, une translocation bactérienne et des modifications épigénétiques favorisant l'apparition de lésions inflammatoires et tumorales. Le projet repose sur une approche multidisciplinaire et complémentaire combinant : des modèles cellulaires de côlon sain et cancéreux, un modèle d'intestin artificiel (SHIME®) simulant le microbiote intestinal humain, des analyses moléculaires (prolifération, apoptose, migration, inflammation), l'étude des voies de signalisation (NF- κ B, Wnt/ β -caténine, PI3K/AKT, etc.), et des analyses épigénétiques (méthylation de l'ADN, modifications des histones). Des résultats préliminaires ont montré que le Chlorpyrifos perturbe le microbiote intestinal, augmente la perméabilité intestinale et favorise des phénomènes pro-inflammatoires. Au niveau cellulaire, il induit une augmentation de la prolifération, de la migration et une résistance à la chimiothérapie. Le projet a pour objectifs : 1-Évaluer les effets directs du cocktail de pesticides sur les cellules coliques, 2-Identifier les voies de signalisation dérégulées. 3-Étudier les modifications épigénétiques associées. 4-Caractériser l'impact du microbiote intestinal exposé aux cocktails pesticides. 5-Tester une stratégie préventive basée sur des prébiotiques (inuline). Une attention particulière sera portée au rôle protecteur potentiel des prébiotiques et des acides gras à chaîne courte. Ce travail permettra d'identifier de nouveaux mécanismes impliqués dans le CCR et de proposer des approches préventives basées sur la modulation du microbiote intestinal afin de limiter les effets cancérogènes des pesticides et thérapeutiques innovantes ciblant le microbiote et les voies de signalisation.

3. Sujet :

a-Description du sujet (contexte scientifique, description du problème, Objectifs,) :

Ce projet s'inscrit dans la continuité d'un programme de recherche initié par le laboratoire PERITOX depuis 2010. Il concerne l'impact de l'exposition aux pesticides sur la santé en particulier les changements de la fonction intestinale. Nos études expérimentales, *in vivo* (rat) et *in vitro* (SHIME®), ont mis en évidence que l'exposition aux résidus de pesticides alimentaires, notamment le Chlorpyrifos (CPF), déséquilibre le microbiote (dysbiose intestinale) en faveur des bactéries potentiellement pathogènes, induit une translocation bactérienne, module la perméabilité de la barrière intestinale et génère ainsi un passage non contrôlé et permissif non seulement d'agents pro-inflammatoires (cytokines, interleukines, bactéries vivantes, composants bactériens) (Guibourdenche et al., 2021; Joly Condette et al., 2015; N. Djekkoun et al., 2022; Reygnier et al., 2016 ; Maria abou Diwan et al., 2025). Dans le but de contrer les effets des pesticides, une stratégie de prévention utilisant un prébiotique, l'inuline, a été

mise en place. Nos recherches ainsi que celles d'autres laboratoires sur des animaux indiquent qu'une exposition prolongée à certains pesticides altère le microbiote intestinal (MI), la barrière intestinale (BI) et augmente le risque du développement du cancer colorectal (CCR). Un intérêt croissant s'observe quant à l'utilisation potentielle de prébiotiques, tels que l'inuline, afin de prévenir la perturbation du MI, le dysfonctionnement de la BI et l'état normal de l'épithélium intestinal. Bien que ces études confirment d'une part les dangers des pesticides et d'autre part l'effet préventif des prébiotiques, les mécanismes par lesquels ils agissent sur ces barrières demeurent non élucidés en raison d'incertitudes concernant les relations de cause à effet et la complexité des modèles utilisés, notamment in vitro. Au niveau cellulaire, l'exposition chronique aux pesticides altère la barrière intestinale (BI), la composition du microbiote (MI) animal et humain, augmente la production des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et la sécrétion des agents pro-inflammatoires. Au sein de ce projet, **notre objectif est de déterminer les effets d'un cocktail de pesticides**, comprenant l'Imazalil (fongicide), le Glyphosate (herbicide) et le Chlorpyrifos (organophosphoré), sur le MI, la BI, et le développement de CCR. Nous déterminerons la manière dont l'inuline, atténue significativement les dysfonctionnements constatés au niveau intestinal. Trois questions principales seront abordées : (i) **Quels sont les effets des métabolites microbiens suite à une exposition à un mélange de polluants à faible doses sur la transformation du phénotype intestinal, la perméabilité de la BI et le MI?**, (ii) **Quels sont les mécanismes moléculaires sous-jacents ?**, (iii) **est ce qu'une intervention précoce par une supplémentation en prébiotiques pourrait atténuer l'impact des pesticides sur la BI, MI et le développement du CCR ?** La problématique centrale de ce projet est donc de **comprendre comment l'exposition chronique à un cocktail de pesticides (chlorpyrifos, glyphosate, imazalil) influence la biologie des cellules coliques normales et cancéreuses, et d'évaluer le rôle du microbiote intestinal dans ces effets**. L'ensemble de nos résultats est en faveur d'une modification des voies de signalisation dans l'induction des effets délétères du CPF.

L'objectif de ce projet de thèse est : (i) évaluer l'effet direct du cocktail de pesticides sur la biologie des cellules normales et cancéreuse du côlon, (ii) caractériser les voies de signalisation, et des modifications épigénétiques impliquées dans l'acquisition du phénotype prolifératif et migratoire des cellules normales et l'agressivité du CCR suite à l'exposition chronique aux pesticides, (iii) évaluer les modifications du microbiote intestinal (MI) de volontaires sains et de patients atteints de CRR exposé aux pesticides, et étude de son impact sur la barrière intestinale et les caractéristiques biologiques des cellules normales et cancéreuses coliques et (iv) proposer une stratégie nutritionnelle préventive via les prébiotiques afin de contre carter les effets délétères de ces xénobiotiques.

b-Approche méthodologique :

Ce projet exige des approches multidisciplinaires nécessitant des échantillons humains, des lignées cellulaires normales, ainsi qu'une grande variété de techniques expérimentales. Toutes ces techniques sont utilisées en routine dans les laboratoires PériTox en France et TMPAC au Liban.

Le laboratoire PériTox (UMR I 01, UPJV, Amiens) se consacre à l'étude de l'impact des facteurs environnementaux, notamment les pesticides, sur le développement périnatal et les fonctions physiologiques vitales impliquées dans le bilan énergétique des populations sensibles, notamment les femmes enceintes et les enfants. Le laboratoire dispose et maîtrise la plateforme d'intestin artificiel adulte « SHIME® » qui permettra de simuler le MI et le suivi de l'exposition des cocktails de pesticides en supplémentation ou non avec le prébiotique. Cette équipe dispose également de toute l'infrastructure pour l'analyse de la culture microbienne (chambre anaérobie, PSM...) ainsi qu'une plateforme pour la biologie cellulaire et moléculaire.

Le Laboratoire TMPAC (LIBAN) : Le Laboratoire au Liban dispose d'un grand éventail de techniques de biologie moléculaire, cellulaire, biochimie, culture cellulaires, immunohistochimie offrant à le (la) doctorante tous les outils complémentaires pour compléter (PériTox) et/ou réaliser ses expériences in vitro sur les cellules normales et cancéreuses. Il dispose aussi d'une plateforme permettant de faire l'étude épigénétique.

1. Modèles cellulaires et Étude des voies de signalisation : au liban

Deux lignées cellulaires intestinales saines du colon (NCM460 et CCD 841 CoTr) et cancéreuses (HCT116 et Caco-2) seront utilisées dans ce projet. La prolifération, survie, migration et invasion seront évaluées par les tests de

MTT, le système d'imagerie cellulaire automatisée ImageXpress Pico, test de blessure et de chambres de boyden sans/avec matrigel, cytométrie en flux. Le sécrétome (en particulier le TNF, IL-6, et des espèces réactives de l'oxygène (par Kit, qPCR), et la morphologie cellulaire (Immunofluorescence en marquant l'actine et la paxilline)... Le stress mitochondrial sera suivi par la sonde JC-1 et l'apoptose évaluée par différentes techniques : (double marquage Annexine V/7-AAD, ratio Bcl2/Bax, Hoescht et effet «Tunel», clivage des protéines PARP et Caspases 3 et 9). Étude des voies de signalisation : Les voies NF- κ B, Wnt/ β -caténine, MAPK, PI3K/AKT/mTOR et Nrf2 seront analysées. L'expression des ARNm sera évaluée par RT-qPCR et l'activation protéique par Western blot. La validation fonctionnelle sera réalisée par inhibition pharmacologique ou knockdown par siRNA.

2. Analyses épigénétiques : Au liban

L'analyse épigénétique sur des cellules cancéreuses traitées par le cocktail des pesticides sera réalisée sur certains gènes suppresseurs de tumeurs (comme par exemple TP53) et gènes impliqués dans l'apoptose (comme par exemple BCL2) sont inactives par méthylation par différentes techniques : Bisulfite sequencing pour détecter la méthylation de l'ADN (Extraction de l'ADN, Traitement au bisulfite, PCR Spécifique de régions promotrices TP53 et quantification par qPCR) et Chip-seq (chromatine immunoprécipitations sequencing) pour identifier les modifications d'histones.

3. Étude du microbiote intestinal (MI) : En France

Le modèle SHIME® (ou simulated human intestinal microbial environment) : modèle d'intestin artificiel : sera utilisé pour l'étude *in vitro* sur la perturbation du microbiote intestinal. Celui-ci mime chaque compartiment du tractus digestif de l'adulte (de l'estomac au côlon) et permet de mesurer l'activité et la transformation de l'aliment. Des selles de 20 volontaires sains et 20 patients volontaires CCR seront ensemencées en parallèle dans les fermenteurs coliques (colon ascendant, transverse et descendant) du SHIME. Les pesticides en combinaison (à la dose journalière admissible, 1mg/1mL) seront inclus dans l'alimentation du SHIME® 1 fois par jour pendant 30 jours. Après exposition chronique à ce cocktail, les échantillons seront collectés et analysés à J0 (contrôle), J15 et J30 (effet chronique à court et long terme). La composition du microbiote (culture bactérienne, qPCR, NGS) et les métabolites bactériens (GC) seront analysés dans les différents compartiments du SHIME®. Le niveau des marqueurs inflammatoires dans les surnageants issus de la digestion *in vitro* (SHIME®) (protéine C-réactive ; cytokines pro-inflammatoires telles que TNF, IL1, IL6, IL10, TGF) sera analysé par des tests ELISA. L'expression et la localisation des protéines des jonctions serrées (occludine, claudine-5, ZO-1) dans le modèle de barrière intestinale fera l'objet d'une caractérisation par qRT-PCR et Western blot, et immunocytochimie. La translocation bactérienne à travers la barrière intestinale sera évaluée par culture bactérienne et typage moléculaire. L'expression des molécules d'adhésion telles que ICAM-1, ICAM-2, VCAM-1 sur la surface cellulaire des cellules épithéliales ainsi que les voies de signalisations (MAPK, NF κ B) seront détectées par RT-qPCR et western blot.

4. Stratégie préventive: En France et au Liban

- L'effet d'un prébiotique (inuline) sur le microbiote et les cellules coliques sera étudié en co-exposition avec le cocktail de pesticides.
- Les analyses porteront sur la restauration de l'équilibre microbien, la perméabilité de la barrière intestinale, le phénotype cellulaire et les voies de signalisation impliquées.
- Cette méthodologie intégrée permettra de relier les modifications du microbiote et des cellules coliques aux effets des pesticides et d'évaluer des stratégies préventives potentiellement transposables à l'humain.

c- Résultats attendus :

Les 2 équipes de recherche partenaires (**TMPAC ET PERITOX**) dans ce projet ont une expertise dans le microbiote, la translocation bactérienne et la cancérogenèse associée à la dérégulation des voies de signalisation, les modifications épigénétiques, et les effets des pesticides sur le MI humain. Ce projet devrait permettre de mieux comprendre les effets d'une exposition chronique à un cocktail de pesticides sur la physiologie intestinale et la cancérogenèse colorectale, à travers plusieurs niveaux d'analyse. Les résultats attendus de cette étude incluent l'évaluation de la cytotoxicité des pesticides et leur capacité à traverser la barrière biologique, fournissant des



données cruciales pour comprendre leur impact périphérique. L'analyse du microbiote intestinal permettra d'identifier les bactéries et métabolites impliqués dans l'homéostasie intestinale et les altérations induites par les pesticides, ouvrant la voie à la découverte de biomarqueurs et détection de l'activation de voies de signalisation clés (NF- κ B, Wnt/ β -caténine, MAPK, PI3K/AKT/mTOR) impliquées dans la survie, la prolifération et la migration cellulaire. De plus, l'étude des modifications épigénétiques permet : (i) détermination des altérations de la méthylation de l'ADN et des modifications d'histones sur les gènes suppresseurs de tumeurs et régulateurs de l'apoptose. (ii) Identification des cibles épigénétiques potentielles pour la restauration du phénotype normal ou la sensibilisation des cellules cancéreuses aux traitements. Enfin, l'étude des effets protecteurs de l'inuline permettra de valider des cibles thérapeutiques. Finalement, l'impact scientifique et translationnel de ce projet permet de fournir des preuves expérimentales sur le rôle des pesticides dans le développement du CCR, identification de biomarqueurs et de voies de signalisation modulables pouvant servir de cibles préventives ou thérapeutiques, et justification de futures études épidémiologiques et développement de recommandations nutritionnelles ou environnementales pour limiter le risque de CCR. Ce projet a une portée nationale et internationale, en particulier dans le domaine de la recherche sur la santé publique et l'impact des pesticides et cancer. En utilisant des modèles in vitro d'origine humaine, il permet d'obtenir des résultats proches de la réalité humaine tout en respectant les contraintes éthiques. De plus, la compréhension des mécanismes sous-jacents à la perturbation de l'axe microbiote-intestin-CCR enrichit les connaissances internationales et offre des perspectives pour le développement de stratégies de prévention et de traitement. En conclusion, ce projet permettra : (i) d'identifier de nouveaux mécanismes impliqués dans la cancérogenèse liée aux pesticides, (ii) de mettre en évidence le rôle central du microbiote intestinal (iii) de proposer de nouvelles stratégies préventives et thérapeutiques basées sur la nutrition et la modulation du microbiote

e-Soutenance prévue : Démarrage en Automne 2026 et soutenance en Automne 2029

f-Mots clés : Pesticides, microbiote, cancer colorectal, Épigénétique, prévention, SHIME® – prébiotique-Inuline

g-Possibilité de financement (Justificatif éventuel) :

Pour financer les fonctionnements de ce projet de thèse :

- **Au Liban**, le Pr Mona Diab Assaf va déposer un projet en 2026-2027
- **En France**, le Pr Hafida Khorsi-Cauet a déjà obtenu 2 projets de la Ligue contre le cancer (projet PESTICCR, 2024-2027) en partenariat avec le Pr Halima Ahidouch du LPMC/UPJV et du projet ANSES/ECOPHYTO (PESTIPRÉDIS, 2025-2028) en partenariat avec le Dr Pietra Candela, LBHE de Lens. Ce projet de thèse s'inscrit dans cette dynamique de collaboration A2U.

References :

1. Guibourdenche et al., 2021; Guibourdenche, M., el Khayat El Sabbouri, H., Djekkoun, N., Khorsi-Cauet, H., Bach, V., Anton, P. M., & Gay-Quéheillard, J. (2021). Programming of intestinal homeostasis in male rat offspring after maternal exposure to chlorpyrifos and/or to a high fat diet. *Scientific Reports*, 11(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90981-2>
2. Joly Condetta et al., 2015; Joly Condetta, C., Bach, V., Mayeur, C., Gay-Quéheillard, J., & Khorsi-Cauet, H. (2015). Chlorpyrifos Exposure during Perinatal Period Affects Intestinal Microbiota Associated with Delay of Maturation of Digestive Tract in Rats. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 61(1), 30–40. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000000734>
3. N. Djekkoun et al., 2022; N. Djekkoun, F. Depeint, M. Guibourdenche, H. E. K. E. S., A. Corona, L. Rhazi, J. Gay-Quéheillard, L., L. Rouabah, F. H., & v. Bach, M. Benkhalifa, and H. K.-C. L. (2022). *Chronic Perigestational Exposure to Chlorpyrifos Induces Perturbations in Gut Bacteria and Glucose and Lipid Markers in Female Rats and Their Offspring*.
4. Reygner et al., 2016). Reygner, J., Condetta, C. J., Bruneau, A., Delanaud, S., Rhazi, L., Depeint, F., Abdennebi-Najar, L., Bach, V., Mayeur, C., & Khorsi-Cauet, H. (2016). Changes in composition and function of human intestinal microbiota exposed to chlorpyrifos in oil as assessed by the SHIME® model. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13(11). <https://doi.org/10.3390/ijerph13111>

d-Calendrier : « Le doctorant débutera sa première année en France afin d’acquérir les compétences nécessaires à l’utilisation du modèle SHIME® et aux analyses du microbiote intestinal. Les travaux expérimentaux in vitro et les analyses épigénétiques seront ensuite réalisés au Liban, en complémentarité avec les approches développées en France. »

Calendrier détaillé du projet de thèse				
1 ^{ère} année de doctorat	2026-2027	France	Novembre- Décembre	Intégration au laboratoire PERITOX + bibliographie.
			Janvier-Avril	Modèle SHIME, culture anaérobie microbiote, exposition au cocktail de pesticides sur des témoins et patient CCR.
			Mai -Juillet	Analyse : microbiote (qPCR, NGS), Métabolites microbiens (CG), cytokines inflammatoires(ELISA)
		Liban	Aout-Novembre	Culture cellulaire, tests biologiques (Viabilité (MTT), Prolifération / apoptose, Migration / invasion)
2 ^{ème} année de doctorat	2027-2028	France	Novembre- Décembre	Exploitation des surnageants SHIME : MI sain / MI-CPF / MI-cocktail / MI-CCR
			Janvier-Février	Exposition des cellules aux métabolites microbiens. Modèle barrière intestinale
			Mars-Avril	Analyse voies de signalisation (NF-κB, MAPK...)
		Liban	Mai-Juin	Étude des voies : PI3K/AKT, Wnt/β-caténine...
			Juillet- Aout	Validation fonctionnelle: siRNA / inhibiteurs
			Septembre- Octobre	Études épigénétiques : Bisulfite sequencing (méthylation ADN, ChIP-seq (histones) des gènes clés :TP53, BCL2...
3 ^{ème} année de doctora	2028-2029	France	Novembre- Février	Étude effet protecteur : Modèle SHIME Coexposition (Inuline + cocktail -pesticides)
			Mars- Avril	Finalisation analyses globales
			Mai-Juin	Publications scientifiques et rédaction du manuscrit Liban
		France/Liban	Juillet - Août	Finalisation des résultats
			Septembre - octobre	Rédaction (résultats + discussion) et préparation soutenance de thèse.