

OFFRE DE THESE

INFINITY, Equipe 2 « Barrière épidermique et différenciation du kératinocyte »

Laboratoire plasma et conversion d'énergie (LAPLACE), Equipe « plasmas réactifs hors équilibres »

Contacts : michel.simon@inserm.fr, merbahi@laplace.univ-tlse.fr

Milieus activés par plasma froid à pression atmosphérique comme nouvelle approche thérapeutique pour le traitement des plaies

Les plaies chroniques et les ulcères affectent des millions de personnes dans le monde occidental, tout particulièrement les personnes âgées, et leur traitement constitue un lourd fardeau pour les patients et les systèmes de santé. Les stratégies thérapeutiques classiques sont d'ordre pharmacologique ou chirurgical et incluent le débridement de la plaie, des traitements antibiotiques et des pansements bioactifs. Au cours des dernières années, une amélioration de la cicatrisation des plaies a été observée lors de traitements à l'aide de plasma à basse température et à pression atmosphérique. Les plasmas à basse température, ou dits froids, sont des gaz faiblement ionisés impliquant diverses espèces actives de faible densité (particules chargées, radicaux, espèces excitées de longue durée de vie, photons, et également des champs électriques) immergés dans un gaz neutre à température ambiante. Ils peuvent être appliqués par jet direct sur les tissus ou être utilisés pour activer des milieux biologiques. Les mécanismes tissulaires et cellulaires mis en jeu pour améliorer la cicatrisation sont mal connus. Nous avons récemment montré qu'une application directe du plasma au jet d'hélium favorise la migration des kératinocytes. Nous avons fait l'hypothèse qu'une application d'un milieu préalablement activé par le plasma pourrait avoir le même effet.

Nos résultats préliminaires obtenus à l'aide d'une lignée kératinocytaire suggèrent fortement que nous avons identifié des conditions de traitement qui ne sont pas toxiques pour les cellules, n'induisent pas de stress thermique mais au contraire stimulent leur migration et leur prolifération. Le but du projet est de confirmer ces résultats en utilisant des kératinocytes primaires issus de biopsies de peau humaine normale (cultivés en monocouche ou utilisés pour produire des épidermes reconstruits en 3D), de les valider à l'aide d'un modèle *in vitro* de cicatrisation mis en œuvre sur des explants de peau humaine et à l'aide d'un modèle animal, et d'étudier les mécanismes moléculaires mis en jeu. Nous souhaitons développer en parallèle, un dispositif à jet de plasma sûr et miniaturisé permettant l'activation à la demande de liquides et basé sur le même principe que les machines à café à capsules.

Les résultats attendus de ce projet multidisciplinaire réalisé en collaboration entre INFINITY (UMR CNRS-Inserm-UPS U1291), le laboratoire LAPLACE (CNRS-UPS-INP UMR5213), l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse et la Faculté d'Odontologie permettront de développer des stratégies thérapeutiques innovantes pour le traitement des plaies chroniques et ou des plaies de la bouche.

Mots clés : plasma froid atmosphérique, kératinocytes, cicatrisation, plaies chroniques.

Treatments of chronic wounds with liquids activated by cold atmospheric plasma, a new therapeutic approach

Chronic wounds and ulcers affect millions of people in the Western world, especially the elderly, and their treatment is a heavy burden on patients and health systems. Conventional therapeutic strategies include wound debridement, antibiotic treatments and bioactive dressings. In recent years, improved wound healing has been observed after low-temperature and atmospheric pressure plasma treatments. The so called cold atmospheric plasmas, are low-ionized gases involving various low-density active species (charged particles, radicals, long-lived excited species, photons, and also electric fields) immersed in a neutral gas at room temperature. They can be applied by direct spray on tissues or used to activate biological mediums. The tissue and cellular mechanisms involved in improving healing are poorly understood. We have recently shown that a direct application of helium jet plasma promotes

keratinocyte migration. We hypothesized that an application of a medium previously activated by plasma could have the same effect.

Our preliminary results obtained using a keratinocyte cell line strongly suggest that we have identified treatment conditions that are not cytotoxic, do not induce thermal stress but rather stimulate cell migration. The aim of the project is to confirm these results using primary keratinocytes from normal human skin biopsies (cultured in monolayer or used to produce reconstructed 3D epidermis), to validate them using an in vitro healing model implemented on human skin explants and an animal model, and to study the molecular mechanisms involved. In parallel, we want to develop a safe and miniaturized plasma jet device based on the same principle as capsule coffee machines allowing on-demand activation of liquids.

Key words: cold atmospheric plasma, keratinocyte, chronic wounds, wound healing.

Techniques : production de plasmas froids atmosphériques, cultures de kératinocytes (monocouches et épidermes reconstruits 3D, RT-PCR quantitative, immunotransfert, microscopie confocale, microscopie électronique, IncuCyte live cell analysis system, spectrométrie de masse.

Publications des équipes d'accueil en relation avec le sujet :

Gouarderes S, Marches A, Vicendo P, Fourquaux I, Simon M, Merbahi N, Gibot L. Cold helium plasma jet does not stimulate collagen remodeling in a 3D human dermal substitute. *Bioelectrochemistry*. 143:107985, 2022.

Marchès A, Clement E, Albérola G, Rols M-P, Cousty S, Simon M, Merbahi N. Cold atmospheric plasma jet treatment improves human keratinocyte migration and wound closure capacity without causing cellular oxidative stress. *Int J Mol Sci*, 23:10650, 2022

Chauvin J, Gibot L, Grisetti E, Golzio M., Rols M. -P., Merbahi N, Vicendo P. Elucidation of in vitro cellular steps induced by antitumor treatment with plasma-activated medium. *Scientific Reports*,(9), p.4866, 2019

Profil du candidat: Etudiant(e) particulièrement motivé(e), possédant de bonnes bases de biologie cellulaire et moléculaire et intéressé.e par la physique.

Encadrement :

L'étudiant(e) sera accueilli par un groupe de 10 personnes travaillant dans le domaine de la biologie cutanée et des maladies inflammatoires de la peau. Il ou elle sera encadré(e) par un chercheur DR Inserm et bénéficiera du soutien scientifique, technique et humain de tout le personnel du groupe. Une co-direction sera réalisée avec un professeur de physique de l'Université Paul Sabatier, membre du laboratoire LAPLACE.

Contexte :

Ce projet multidisciplinaire sera réalisé dans une équipe de l'Institut INFINITY, qui possède une longue expérience en biologie cutanée et a participé à des avancées majeures dans ce domaine, en collaboration avec le laboratoire LAPLACE (CNRS-UPS-INP UMR5213), l'Ecole Vétérinaire de Toulouse et la Faculté d'Odontologie. **La thèse sera co-financée par l'Université de Toulouse et la région Occitanie.**

Résultat attendus :

Les résultats attendus permettront de développer des stratégies thérapeutiques innovantes pour le traitement des plaies chroniques. Ils feront l'objet d'au moins une publication avec le(a) doctorant(e) en premier auteur dans une revue de fort facteur d'impact.