

Etudes de l'impact des champs électromagnétiques pulsés sur des cellules cancéreuses avec des techniques d'imagerie innovantes.

SYLVIA COSTE, sylvia.bardetcoste@unilim.fr

Tél : 0761344943

Philippe Leveque, philippe.leveque@unilim.fr

Tél : 0

Equipe : BIO-EM, LIMOGES

Mots clés : cancer, optogénétique, biophotonique, imagerie, glioblastome, champs électriques pulsés, ingénierie

Résumé de la thèse :

Le caractère ubiquitaire de l'exposition aux ondes radiofréquence (RF) émises par les systèmes rayonnants pose des questions légitimes sur leurs effets éventuels sur la santé. Il existe un effet biologique clairement identifié et expliqué des RF émises qui correspond à l'échauffement des tissus vivants. La réglementation impose que le seuil de cet effet thermique ne soit jamais atteint. Parallèlement à cet effet, il existe d'autres mécanismes d'interaction des champs électromagnétiques avec le vivant, en particulier, lors de l'exposition à des impulsions de champ électrique ultra-court et de très forte intensité. Il est alors possible de modifier le comportement biologique au niveau cellulaire, en modifiant par exemple la perméabilisation membranaire des cellules. Dans ce dernier cas, les champs électriques pulsés, dits nanopulses, correspondent à des signaux sans porteuses et ont des durées de quelques nanosecondes pour les plus courtes et des intensités de la dizaine de kV/cm.

L'équipe BioEM du laboratoire XLIM (Limoges) propose d'utiliser ces compétences et méthodes dédiées aux recherches pluridisciplinaires sur les effets biologiques des champs électromagnétiques. Au cours de ce projet, on souhaite explorer l'influence de la forme, unipolaire ou bipolaire, et de la durée de l'impulsion. En effet, des premiers résultats montrent aujourd'hui un effet significatif du caractère bipolaire des impulsions. La diminution de la durée (< quelques ns) des nanopulses, nous rapproche des signaux impulsionnels de type RADAR. Il sera alors possible en prenant comme point de départ la réponse biologique induites par des nanopulses d'explorer les réponses biologiques des signaux similaires avec porteuse et de durée variable.

Le projet s'appuie d'une part sur notre expertise reconnu dans le domaine de la conception et la dosimétrie de systèmes d'exposition¹ et sur les moyens d'imagerie à fluorescence et électrophysiologie dédiées aux études bioélectromagnétiques^{2, 3}. Les travaux de thèse se focaliseront plus précisément sur l'étude des aspects bioélectriques de cellules cancéreuses à l'aide de techniques d'imagerie in vivo et in vitro sur cellule vivante. On s'intéressera à l'influence des ondes électromagnétiques pulsées sur : la dépolarisation du glioblastome, sur la modification du potentiel membranaire des cellules, sur le rôle de différents canaux ioniques voltage-dépendant. On cherchera également à mettre en avant les mécanismes sous-jacents aux effets observés.

Vis-à-vis des intérêts pour la défense, ces recherches se positionnent principalement sur les points suivants : protections des personnes vis-à-vis des signaux impulsionnels (MFP, RADAR, ...), comparaison avec les seuils de normes de protection des signaux pulsés. Ces travaux s'intègrent également sur les applications à finalité thérapeutique.

Les candidats avec une expérience universitaire en biophysique ou ingénierie biomédicale seront recherchés pour ce projet. Les personnes avec un intérêt particulier dans la recherche multidisciplinaire sont aussi encouragées à candidater.



We are searching for a highly motivated doctoral student interested in a multidisciplinary project at the intersection of bioelectrics, cellular physiology and biophotonics. The project is investigating the bioelectric aspects of cancer using live-cell in vitro and in vivo imaging and carrying out manipulations of membrane potential using optogenetics tools and pulsed electric fields. Here we are approaching cancer as a bioelectric issue and key questions being addressed will explore the link between plasma membrane potential and proliferation in cancer cells, whether this be manipulated to control cancer, and pursuing the mechanisms involved. Applicants with a strong undergraduate education in biophysics or biomedical engineering are well suited to this project; and those with masters training in advanced bioimaging would be ideal. Students with other backgrounds and an interest in multidisciplinary research are also encouraged to apply.

Objectifs :

Vérifier notre hypothèse sur la sensibilité électrique des cellules tumorales à travers des études

de dépolarisation électrique du glioblastome :

1 : imagerie physiologique sur le transport et la localisation du calcium après exposition aux champs électromagnétiques

2 : imagerie physiologique sur le rôle du calcium et sur l'influence de la largeur des impulsions et du voltage sur la dépolarisation des cellules tumorales

3 : Ingénierie génétique et rôle de différents canaux ioniques voltage-dépendant dans la réponse des cellules aux impulsions électriques

4 : Analyse des effets biologiques des paramètres électriques des champs électromagnétiques

Description complète du sujet de thèse :

I. Problématique générale :

Le caractère ubiquitaire de l'exposition aux ondes radiofréquence (RF) émises par les systèmes rayonnants pose des questions légitimes sur leurs effets éventuels sur la santé. Il existe un effet biologique clairement identifié et expliqué des RF émises qui correspond à l'échauffement des tissus vivants. La réglementation impose que le seuil de cet effet thermique ne soit jamais atteint.

Parallèlement à cet effet, il existe d'autres mécanismes d'interaction des champs électromagnétiques avec le vivant, en particulier, lors de l'exposition à des impulsions de champ électrique ultra-court et de très forte intensité, dits nanopulses. Il est alors possible de modifier le comportement biologique au niveau cellulaire, en modifiant par exemple la perméabilisation membranaire des cellules. Dans ce dernier cas, les champs électriques pulsés, dits nanopulses, correspondent à des signaux sans porteuses et ont des durées de quelques nanosecondes pour les plus courtes et des intensités de la dizaine de kV/cm.

Au niveau national, notre équipe est leader sur les systèmes d'exposition et la dosimétrie pour l'étude en laboratoire des effets sanitaires potentiels des signaux de télécommunications sans fil (GSM, Wifi, LTE, ...). Nous sommes impliqués dans un projet européen (GERoNiMO,

FP7), et deux projets ANSES (MODUS, et Neurinf-1800). Dans le domaine, on peut noter en France les travaux menés à l'IETR focalisés principalement sur les ondes millimétriques et les « Body Area Network ». Au niveau international, le leader du domaine est le laboratoire ITIS-Zurich Suisse. On se démarque aujourd'hui par le développement de systèmes originaux au plus près de la biologie.

Vis-à-vis des nanopulses, il existe une dizaine de groupes en France et à l'étranger impliqués sur cette thématique. Parmi les leaders du domaine, on peut citer le groupe de l'ODU à Norfolk USA. A l'échelle européenne, nous sommes membres du LEA-EBAM, intitulé « Pulsed Electric Fields Applications in Biology and Medecine ». Initialement reconnus sur les aspects instrumentations, nous le sommes également aujourd'hui sur les outils d'analyse en bio-photonique et bio-imagerie. Nous nous démarquons essentiellement par la maîtrise des systèmes d'exposition, la génération des nanopulses et les techniques et outils d'imagerie innovants couplés à l'exposition en simultané sur échantillon biologique in vitro comme in vivo.

Nous proposons au cours de ce projet d'explorer l'influence de la forme, unipolaire ou bipolaire, et de la durée de l'impulsion. En effet, des premiers résultats montrent aujourd'hui un effet significatif du caractère bipolaire des impulsions. La diminution de la durée (< quelques ns) des nanopulses, nous rapproche des signaux impulsionnels de type RADAR. Il sera alors possible en prenant comme point de départ la réponse biologique induites par des nanopulses d'explorer les réponses biologiques des signaux similaires avec porteuse et de durée variable. Le projet s'appuie d'une part sur notre expertise reconnu dans le domaine de la conception et la dosimétrie de systèmes d'exposition¹ et sur les moyens d'imagerie à fluorescence et électrophysiologie dédiées aux études bioélectromagnétiques^{2, 3}.

Les travaux de thèse se focaliseront plus précisément sur l'étude des aspects bioélectriques de cellules cancéreuses à l'aide de techniques d'imagerie in vivo et in vitro sur cellule vivante.

On s'intéressera à l'influence des ondes électromagnétiques pulsées sur : la dépolarisation du glioblastome, sur la modification du potentiel membranaire des cellules, sur le rôle de différents canaux ioniques voltage-dépendant. On cherchera également à mettre en avant les mécanismes sous-jacents aux effets observés.

Au regard des intérêts pour la défense, ces recherches se positionnent principalement sur les points suivants : protections des personnes vis-à-vis des signaux impulsionnels (MFP, RADAR, ...), comparaison avec les seuils de normes de protection des signaux pulsés. Ces travaux s'intègrent également sur les applications à finalité thérapeutique.

1. Wu, Y.H. et al. Moveable wire electrode microchamber for nanosecond pulsed electric-field delivery. IEEE transactions on bio-medical engineering 60, 489-496 (2013).
2. Bardet, S.M. et al. Multiphoton imaging reveals that nanosecond pulsed electric fields collapse tumor and normal vascular perfusion in human glioblastoma xenografts. Scientific reports 6, 34443 (2016).
3. Carr, L. et al. Calcium-independent disruption of microtubule dynamics by nanosecond pulsed electric fields in U87 human glioblastoma cells. Scientific reports 7, 41267 (2017).

II. Programme de la thèse :

A. Contexte et équipement scientifique de l'équipe

Ce projet de thèse s'intéresse à la compréhension des effets biologiques de champs électromagnétiques à visée thérapeutique énergie-dépendante pour traiter des maladies

humaines, mais aussi à visée sanitaire afin de définir des seuils critiques d'effet selon différents paramètres électriques.

Nos travaux se sont concentrés en particulier ces dernières années sur les champs électriques pulsés nanosecondes, dits nanopulses. La compréhension des mécanismes d'interaction avec le vivant devrait permettre le développement de nouvelles approches thérapeutiques tournées vers le cancer et les maladies neurologiques.

Pourtant, le potentiel de ces nanopulses n'a pas encore été exploré finement en termes de paramètres électriques comme l'intensité, la durée (MV/m).

Grâce à un arsenal de marqueurs fluorescents, lignées cellulaires établies par lentivirus et modèles murins transgéniques, des techniques de cytométrie en flux et d'imagerie in vivo et in vitro sur cellule vivante cancéreuse permettront d'étudier diverses réponses cellulaires : survie et apoptose, dépolarisation mitochondriale, modification du potentiel membranaire, rôle de différents canaux ioniques voltage-dépendant... On cherchera également à mettre en avant les mécanismes sous-jacents aux effets observés.

C. Programme scientifique

Des expériences bioélectriques in vitro vont être réalisées sur plusieurs lignées cellulaires en culture, incluant des lignées cancéreuses de référence utilisées par la communauté internationale scientifique (par exemple, glioblastome U87 MG, GL261...), en comparaison d'une lignée non cancéreuse non excitable (CHO) ou excitable (HT22). Grâce aux compétences d'ingénierie et de biophotonique dont nous disposons, nous sommes en possession de systèmes d'exposition aux champs électromagnétiques, pour lesquels nous pouvons établir la dosimétrie au niveau cellulaire en combinaison avec de l'imagerie fluorescente sur cellule vivante. Les modèles d'étude concernés ciblent différentes lignées cellulaires (cancéreuses et normales) cultivées in vitro comme cellules adhérentes et sphéroïdes, mais aussi in vivo sous forme de tumeurs et sur tissus sains.

1 : imagerie physiologique sur le transport et la localisation du calcium après exposition aux champs électromagnétiques

. L'étude du transport du calcium vers les organites intracellulaires (réticulum endoplasmique, mitochondrie, Golgi, noyau)

. La recherche de l'éventuelle extrusion du calcium par le PMCA (plasma membrane calcium ATPases) et le NCX (sodium calcium exchangers) en comparaison avec l'électroporation calcique

2 : imagerie physiologique sur le rôle du calcium et sur l'influence de la largeur des impulsions et du voltage sur la dépolarisation des cellules tumorales

. Localisation précise du calcium suite à l'électroporation calcique (liaison à la membrane plasmique, localisation intracellulaire dans le cytosol, réticulum endoplasmique, mitochondrie, Golgi, et noyau)

. Imagerie sur cellules avec un fluorophore synthétique indicateur de voltage pour comprendre la sensibilité au voltage/calcium et identifier le rôle du canal KCa

. Etude de l'influence de la largeur de l'impulsion et du voltage sur le potentiel de membrane plasmique, et préciser si la réponse de dépolarisation est dépendante des canaux ioniques voltage-dépendant membranaires ou si elle provient d'aspects plutôt intracellulaires des nsPEFs

3 : Ingénierie génétique et rôle de différents canaux ioniques voltage-dépendant dans la réponse des cellules aux impulsions électriques

. Culture de cellules tumorales et transfection stable par des protéines fluorescentes sensibles au voltage

. Mesure de la déplétion en énergie (ex : ATP) sur cellules tumorales

4 : Analyse des effets biologiques des paramètres électriques des champs électromagnétiques

. L'étude par cytométrie en flux de la survie et de l'apoptose, du cycle cellulaire et de la dépolarisation mitochondriale

Compétences à l'issue de la thèse :

- culture cellulaire in vitro
- imagerie confocale sur cellules vivantes
- Ingénierie de systèmes d'exposition aux champs électromagnétiques
- Biostatistiques, analyse de données (calcul et imagerie)

Présentation de l'équipe d'accueil :

L'équipe Bio-électromagnétique (BioEM) se veut à l'interface entre la physique, la biologie et la médecine.

Elle a pour vocation de concevoir des dispositifs permettant d'étudier les interactions des ondes

électromagnétiques avec le vivant, en particulier dans le spectre des hyperfréquences. Sa présence au sein de l'hôtel à projet Bio-Ingénierie la positionne au plus près des biologistes et médecins.

Financement : Lot3: Sujet financé (organisme - industriel - ...)

Spécialité de Doctorat : Sciences et Technologies de l'Information et de la Communication

Domaine de compétences principal: Physique

Domaine de compétences secondaire: Sciences pour l'Ingénieur

Candidat :

Compétences souhaitées : Les candidats avec une forte expérience universitaire en biophysique, neuroscience ou ingénierie biomédicale seront favorisés pour ce projet ; les étudiants possédant en supplément un Master en électrophysiologie ou en bioimagerie

avancée seront les candidats idéaux. Les étudiants avec un autre cursus et un intérêt particulier à la recherche multidisciplinaire sont aussi encouragés à candidater.

Anglais courant.

Informatique (Excel, powerpoint, statistiques, ImageJ...).

Conditions restrictives de candidature : Aucune

Date Limite de candidature : 31/05/2017