

Effet des impulsions électriques sur le vivant

Les études portant sur les effets des impulsions électriques sur le vivant connaissent aujourd'hui un regain d'intérêt car elles laissent entrevoir de nouvelles potentialités pour la manipulation des objets biologiques, notamment pour les applications au traitement du cancer. Des travaux récents conduits sur des impulsions très brèves, dites "nano-impulsions", ont permis une meilleure compréhension des mécanismes d'interactions avec les cellules et ont conduit à l'obtention de nouveaux résultats sur la valeur des paramètres déclenchant le phénomène d'électroporation. Cet aspect du bio-électromagnétisme intéresse corrélativement la Défense, en terme de seuils d'innocuité sur les personnels, du fait de l'émergence de systèmes d'armes de type radar rayonnant des ondes électromagnétiques en très haute fréquence.

R. Vézinet CEA - Gramat

A. Silve • L.M. Mir CNRS, Institut Gustave Roussy, UMR 8203, Villejuif

L'application d'impulsions électriques de quelques microsecondes ou quelques millisecondes sur des cellules biologiques peut provoquer la perméabilisation (ou électroporation) de leur membrane externe (**figure 1**). Ces phénomènes sont à la base d'applications médicales telles que l'électrochimiothérapie (combinaison d'impulsions électriques et de chimiothérapie), pratiquée dans une centaine de centres de traitement du cancer en Europe, ou l'électrotransfert de gènes qui en est encore au stade des essais cliniques.

Des impulsions électriques plus brèves (nanosecondes) font l'objet d'un intérêt croissant dans le domaine médical car elles remettent en cause les seuils d'apparition du phénomène d'électroporation.

Pour la Défense, de nouveaux concepts d'Applications électromagnétiques de défense (AEMD), qui mettent en oeuvre des systèmes ULB (Ultra large bande), font appel à des impulsions parfois très brèves. Pour garantir aux utilisateurs l'innocuité de ces systèmes, il est nécessaire d'en déterminer les seuils de nocivité; c'est à ce titre que le CEA – Gramat s'intéresse à ce sujet, en collaboration avec l'UMR 8203 à l'Institut Gustave Roussy.

Dispositifs expérimentaux

La plupart des expériences *in vitro* sont conduites sur des cellules biologiques en suspension dans des cuvettes; celles-ci assurent une répartition homogène du champ électrique appliqué entre deux électrodes planes. À très haute fréquence, la capa-

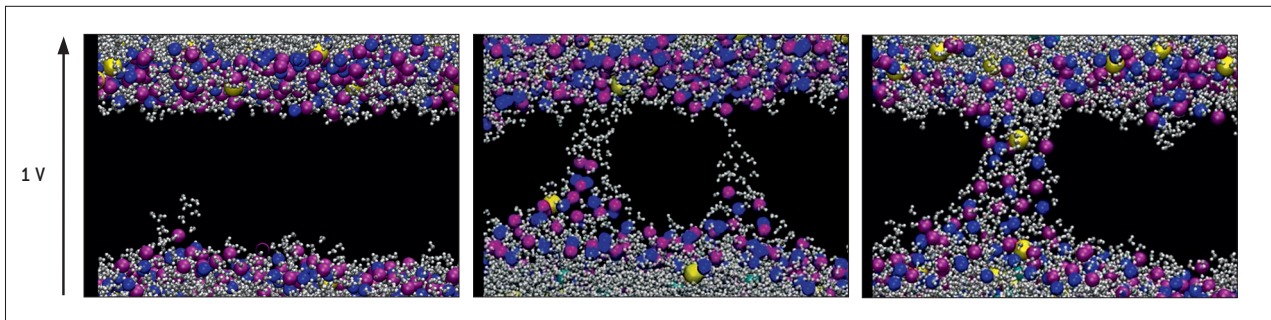


Figure 1. Simulation en dynamique moléculaire d'une membrane plane de phospholipides (zone noire) soumise à une différence de potentiel de 1 V. Mise en évidence de l'apparition de colonnes de molécules d'eau (en blanc) dans la membrane. Les atomes de phosphate et d'azote des têtes polaires des lipides sont représentés respectivement en rose et bleu. Les ions de potassium de la solution sont représentés en jaune. De gauche à droite, séquence d'évènements lors de l'électroporation.

[Crédit : M. Tarek – CNRS / Université de Lorraine, Nancy].

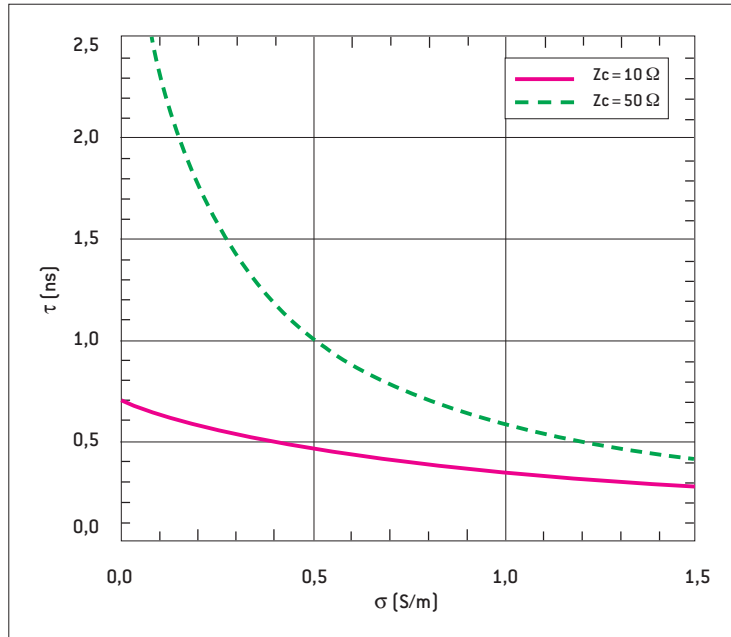


Figure 2.
Temps de montée
fonction de la
conductivité du milieu,
pour 2 impédances de
générateurs.

cité de ce banc de test à transmettre ces impulsions ultrarapides au sein même de la cuvette dépend intrinsèquement de la conductivité et de la permittivité du milieu en suspension, de la géométrie de l'éprouvette et de l'impédance interne de l'injecteur. La **figure 2** illustre ce phénomène dans le cas d'une éprouvette $S = 1 \text{ cm}^2$, $d = 1 \text{ mm}$.

Dans le cadre de cette étude, il a été nécessaire de développer des dispositifs expérimentaux et une métrologie spécifique associée, pour assurer le transfert des fronts de montée ultrarapides des champs électriques à appliquer.

Ainsi, l'implantation de capteurs de champs électriques et magnétiques miniatures de type "Bdot" et "Ddot" [1] a permis le contrôle systématique des grandeurs électriques appliquées au plus près du milieu biologique; ce sont ces paramètres clés qui sont le plus souvent mis en doute dans ce type d'expérimentation. Dans ces conditions, les temps de montée effectivement mesurés avoisinaient la nanoseconde [2] pour les cuvettes standard.

Résultats en terme d'électroporation

Les expériences conduites ont révélé que, contrairement à certaines assertions, les effets biologiques ne sont pas exclusivement dépendant de l'amplitude du champ électrique auquel les cellules sont exposées. En effet, nous avons montré que les seuils d'apparition de la perméabilisation membranaire peuvent être significativement abaissés en fonction de la durée d'impulsion, du nombre cumulé d'impulsions, de leur fréquence de répétition, et de la conductivité des milieux biologiques. Ainsi, à titre d'exemple, il faut quelques MV/m avec une seule impulsion de 10 ns ou quelques centaines de kV/m pour des impulsions de 100

microsecondes pour observer le même effet d'électroporation réversible.

Par ailleurs, et contrairement à certaines publications suggérant que les "nano-impulsions" ne peuvent créer que des pores de taille inférieure ou égale à 1 nm, nous avons montré que des molécules de plus grande taille, telle que la bléomycine, pouvaient aussi être internalisées avec ce type d'impulsion [3].

Pour les applications Défense, qui mettent en oeuvre des niveaux de champs généralement plus faibles, la détermination des seuils d'exposition nécessitera une étude plus paramétrique, prenant en compte les formes d'ondes les plus pertinentes au niveau du champ de bataille. Il faudra aussi tenir compte des phénomènes de pénétration dans les tissus humains (et de l'atténuation qui peut en résulter) des champs rayonnés par les systèmes antennaires.

RÉFÉRENCES

- [1] A. SILVE, R. VEZINET, L. M. MIR, "Implementation of a broad band, high level electric field sensor in biological exposure device", *Proc. Power Modulator and High Voltage Conference (IPMHVC)*, 23-27 May 2010, 2010 IEEE International, p. 711-714 [2010].
- [2] A. SILVE, R. VEZINET, L. M. MIR, "Nanosecond duration electric pulses delivery in vitro and in vivo: experimental considerations", *IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement*, sous presse.
- [3] A. SILVE, I. LERAY, L. M. MIR, "Demonstration of cell membrane permeabilization to medium-sized molecules caused by a single 10 ns electric pulse", *Bioelectrochemistry* (2011) doi.org/10.1016/j.bioelechem.2011.10.002.