

Spectroscopie diélectrique HyperFréquence(HF) des cellules biologiques soumises à l'Electro-Poration(EP).

Auteurs : Amar TAMRA ^{1,2}, David DUBUC ^{1,3}, Marie-Pierre ROLS ², Katia GRENIER ¹

¹LAAS-CNRS, 7 avenue du colonel Roche, 31400 Toulouse, France

²IPBS, UMR 5089, 205 route de Narbonne, 31077 Toulouse, France

³ Université de Toulouse, UPS, 31400 Toulouse, France

L'électroporation(EP) est un procédé physique qui consiste en l'application d'impulsions de champ électrique calibrées conduisant à la perméabilisation transitoire ou permanente de la membrane plasmique. Ce phénomène suscite un grand intérêt en médecine et dans l'industrie agroalimentaire en raison de ses nombreuses applications (électrochimiothérapie antitumorale, thérapie génique, stérilisation, extraction de molécules d'intérêt). Adapter l'amplitude et la durée des impulsions électriques permet ainsi de créer des altérations transitoires ou irréversibles des cellules. Comprendre les mécanismes impliqués dans ces phénomènes est déterminant pour utiliser la méthode de manière efficace et sécuritaire.

Les techniques dédiées à l'étude de ces phénomènes sont variées. Les méthodes optiques et biochimiques (microscopie, cytométrie en flux, test biochimique) nécessitent l'utilisation de fluorochromes et de marqueurs dont la mise en œuvre, laborieuse et coûteuse, présente un caractère invasif vis à vis des cellules. Durant ces dernières années, le développement de nouvelles stratégies d'étude biophysiques de l'électroporation a pris place, telles que la microscopie à force atomique (AFM) et la spectroscopie d'impédance (basse fréquence). Ces méthodes permettent de cibler les modifications membranaires de la cellule, sans ajout de marqueurs exogènes. Néanmoins, il est également très important de déterminer les conséquences intracellulaires de l'électroporation.

Opérer dans la gamme de fréquence des micro-ondes (0.5 MHz-50 GHz) est particulièrement intéressant, car permet à la membrane cytoplasmique de devenir transparente et au contenu intracellulaire d'être accessible. Dans ces conditions, l'extraction de la permittivité relative de l'interaction champ électromagnétique/cellules biologiques reflète l'état cellulaire. Cette technique, la spectroscopie diélectrique hyperfréquence, se présente ainsi comme une méthode pertinente pour analyser les effets de l'électroporation au niveau intracellulaire. De plus, elle ne nécessite pas de préparation de l'échantillon (méthode non-invasive) et les mesures sont directement réalisées dans le milieu de culture.

Plusieurs objectifs ont été définis lors de cette thèse, dont les travaux se situent à l'interface entre trois domaines scientifiques : la biologie cellulaire, l'électronique hyperfréquence et les micro-technologies. Le premier objectif abouti durant cette thèse représente l'utilisation d'un composant micrométrique microfluidique (=chip) permettant l'électroporation in-situ (on-chip) des cellules soumises aux impulsions électriques. Dans une seconde étape, nous avons étudié, par spectroscopie diélectrique hyperfréquence, la cinétique de la réponse des cellules aux impulsions électriques intenses (perméabilisation cellulaire irréversible). Les résultats obtenus ont été comparés avec une méthode biologique de référence : la cytométrie en flux. Nos travaux ont permis de montrer que la spectroscopie diélectrique non seulement révèle l'effet de l'IRE sur les cellules mais est un outil performant qui permet d'étudier la cinétique des altérations cellulaires. Le dernier axe de nos travaux a concerné l'étude

de l'effet de l'électrotransfert de molécules cytotoxiques (molécules médicament utilisées en clinique par EP pour le traitement de cellules cancéreuses humaines). Le but de cette dernière étude était de pouvoir distinguer des événements à des temps plus précoces qu'avec les techniques classiques d'analyse.

Ainsi, ces travaux de recherche contribuent à montrer que, en complémentarité à d'autres techniques, la spectroscopie diélectrique associée à la microfluidique enrichit efficacement nos connaissances des cellules sous traitement.