

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Ecole Nationale Polytechnique

Département de Génie de l'environnement

Laboratoire de bioengineering et génie des procédés

Mémoire de Projet de Fin d'Etudes

**Pour l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat en
Génie de l'Environnement.**

**Influence du champ électrique
sur les cellules cancéreuses**

Présenté par :

Mr. MEHENNI Salim

Dirigés par :

Pr. MAMERI Nabil

D^R.CHEMLAL Radia

Soutenue le 2 Juillet 2018 devant le jury composé de :

Président

Pr. ABDI Nadia (ENP)

Examineur

Pr. GRIB Hocine (ENP)

Promoteurs

Pr. MAMERI Nabil (ENP)

D^r. CHEMLAL Radia (MCA à la FSB .USTHB)

ENP 2018

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Ecole Nationale Polytechnique

Département de Génie de l'environnement

Laboratoire de bioengineering et génie des procédés

Mémoire de Projet de Fin d'Etudes

**Pour l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat en
Génie de l'Environnement.**

**Influence du champ électrique
sur les cellules cancéreuses**

Présenté par :

Mr. MEHENNI Salim

Dirigé par :

Pr. MAMERI Nabil

D^R.CHEMLAL Radia

Soutenue le 2 Juillet 2018 devant le jury composé de :

Président

Pr. ABDI Nadia (ENP)

Examineur

Pr. GRIB Hocine (ENP)

Promoteurs

Pr. MAMERI Nabil (ENP)

D^r. CHEMLAL Radia (MCA à la FSB .USTHB)

ENP 2018

Dédicace

A MA TRÈS CHÈRE MÈRE : Tiliket Samia

Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour

A MON TRÈS CHER PÈRE : Mehenni Said

Autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soient-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal

A MON FRÈRE ET A MES DEUX SŒURS : Amine, Sara, Sonia Mehenni

Vous qui n'avait jamais cessé de me soutenir de m'aider dans les moments les plus difficiles j'ai toujours trouvé en vous une épaule sur laquelle je peux me reposer et je vous en serais à jamais reconnaissant que dieux illumine votre vie de bonheur et de réussite

A MES AMIS : Nassim , Amine, Lhadi, Yasmine

Vous mes amis les plus proches sans lesquels je ne serais jamais arrivé jusqu'ici merci de m'avoir supporté durant tout ce temps.

Remercîment

J'exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive reconnaissance à Mr Nabil Mameri professeur à l'Ecole Nationale Polytechnique pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il m'a accordé m'ont permis de réaliser ce travail.

J'exprime aussi mes profonds remerciements et ma vive reconnaissance à Mme. CHEMLAL Radia maitre de conférences à la FSB (USTHB) pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et surtout tout le temps qu'elle m'a consacré durant ce projet, sans elle la réalisation de ce projet aurait été impossible.

J'adresse mes sincères remerciements à Pr. ABDI Nadia, professeur à l'Ecole Nationale Polytechnique et membre de l'académie scientifique d'avoir accepté de présider le jury.

Je tiens également à adresser mes vifs remerciements à Pr. GRIB Hocine, enseignant à l'Ecole Nationale Polytechnique pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.

Je tiens à exprimer ma gratitude à Mme. BOULAHBAL Dahbia responsable du laboratoire des entérovirus à l'institut Pasteur d'Alger pour son aide très précieuse.

J'adresse mes loyaux remerciements à KHERAT Mohamed, doctorant pour sa disponibilité, ses conseils et son aide très précieuse à la réalisation de ce travail sans oublier Ouadah Moustapha, doctorant, pour son aide au cours de la réalisation de ce mémoire.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance aux enseignants de notre département, pour leurs efforts fournis et leur patience durant ces trois années.

Enfin je remercie toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce projet.

ملخص

إن الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تحديد تأثير الحقل الكهربائي على الخلايا السرطانية RD. استخدمنا منهجية سطح الاستجابة لدراسة تأثير بعض العوامل على الخلايا السرطانية مثل التوتر, مدة التعرض للحقل الكهربائي و تركيز الخلايا السرطانية. محاولين بذلك تحديد ما إذا كانت هناك تفاعلات بين هذه العوامل. تظهر النتائج أن العوامل التي كان لها التأثير الأكبر في القضاء على الخلايا السرطانية هم التوتر, تركيز الخلايا والتفاعل بين التوتر ومدة التعرض للحقل الكهربائي. الكلمات الرئيسية: الخلايا السرطانية RD و الحقل الكهربائي.

Abstract :

The main goal of this project is to determine the effect of an electric field on the RD cancer cell line. We used response surface methodology to study the effect of tension, time of exposition to the electric field and cell concentration, and to determine if interactions between these factors exist. The results show that the factors that had the greatest influence of cell mortality were tension, cell concentration and the interaction between tension and time of exposition.

key words : tumoral cells RD, electrical field.

Résumé :

Le but principal de ce mémoire est de déterminer l'effet du champ électrique sur les cellules cancéreuses. Les essais réalisés consistaient à soumettre les cellules cancéreuses RD sous l'effet du champ électrique tout en faisant varier certains paramètres (la tension, le temps d'exposition et la concentration cellulaire). La méthodologie de surface de réponse a été utilisée afin d'évaluer l'effet des paramètres choisis, ainsi que l'existence d'interactions entre eux. Les résultats obtenus ont montré que la tension, la concentration cellulaire ainsi que l'interaction entre la tension et le temps d'exposition ont une influence sur le taux de mortalité de la lignée cancéreuse RD.

Mots clés : Cellules cancéreuses RD, champ électrique.

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale.....	8
Chapitre 1 : Généralités sur le cancer.....	11
1. Introduction.....	11
2. Cellules cancéreuse	11
2.1. Historique	11
2.2. Définitions	12
2.2.1. Tumeur	12
2.2.2. Cancer.....	12
2.3. Les types de cancers les plus répandus[6]	12
2.4. Processus de carcinogenèse	13
2.5. Particularité de la cellule cancéreuse [7,8]	14
2.6. Facteurs de la cancérogenèse.....	15
3. Traitement actuel	15
3.1. La chirurgie	15
3.2. L'hormonothérapie.....	16
3.3. La chimiothérapie	16
3.4. La radiothérapie	16
3.5. Immunothérapie.....	17
3.6. La thérapie ciblée	17
Chapitre 2 : le champ électrique	19
1. Définition du champ électrique	19
1.2. Champ électrostatique	19
1.3. Champ électrique induit et champ électromagnétique	19
2. Electrochimie.....	20
2.1. Échanges électroniques et ioniques	20
2.2. Electrolyse	21
3. Effets biologique.....	21
3.1. Electroporation.....	21
Matériel & méthodes	24

Matériel :	24
1.1. Matériel biologique :	24
1.2. Réactifs et produits chimiques :	24
1.3. Appareillages	25
1.4. Le dispositif.....	25
2. Méthodes	26
2.1. Entretien des cellules RD	26
2.1.1. Préparation du milieu de culture	26
2.1.2. Adaptation des cellules au milieu de culture	26
2.1.3. Trypsination des cellules RD	26
2.2. La numération cellulaire	27
2.3. Le plan d'expérience.....	27
2.3.1. Expérimentation	28
1. Analyse Statistique des Résultats :	32
1.1. Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues	32
1.2. Résumé de l'ajustement	32
1.3. Analyse de la variance	32
1.4. Défaut d'ajustement	33
1.5. Estimations des coefficients	33
1.6. Graphique des résidus en fonction des valeurs prévues	34
1.7. Estimations des coefficients triés	34
1.8. Estimations étendues	34
1.9. Expression de la prévision	35
1.10. Profils d'interaction	39
2. interprétation des résultats.....	41
Conclusion.....	43
Référence.....	45

Liste des figures

Figure 1: cellules cancéreuses en prolifération.....	14
Figure 2: Les lignées cellulaires RD en confluences observées au microscope photonique à phase inversé.	24
Figure 3: Cellules RD détachée observées au microscope photonique à phase inversé.	27
Figure 4: valeurs observées en fonction des prévisions du model prévu.....	32
Figure 5: Graphique des résidus en fonction des valeurs prévues.	34
Figure 6: graphique des leviers temps.	36
Figure 7: graphique des leviers tension.	36
Figure 8: graphique des leviers concentrations initiales.....	37
Figure 9: graphique des leviers temps tension.	37
Figure 10: graphique des leviers temps tension.	37
Figure 11: graphique des leviers temps tension.	38
Figure 12: graphique des leviers temps carrée.	38
Figure 13: graphique des leviers tension carrée.	38
Figure 14: graphique des leviers concentrations initiales carrée.	39
Figure 15: interactions entre les paramètres étudiées.....	39
Figure 16: taux de mortalité moyen en conditions de 2.8min/0.8V/2*10 ⁵ cell *ml ⁻¹	400
Figure 17: taux de mortalité optimisé en conditions de 10min/1.4V/3*10 ⁵ cell *ml ⁻¹	400

Liste des tableaux

Tableau 1:Plan d'expérience et les résultats du taux de mortalité des RD.	31
Tableau 2: valeurs des ajustements du model mathématique point carrée.....	32
Tableau 3: analyse de la variance.....	32
Tableau 4:Défaut d'ajustement.....	33
Tableau 5: Estimations des coefficients.	33
Tableau 6: Estimations des coefficients triés.....	34
Tableau 7: Estimations étendues	34

Introduction

Introduction générale

En 2015, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a estimé que le cancer avait fait plus de 8.8 millions de victimes, près d'un décès sur 6 dans le monde est dû au cancer et environ un tiers des décès par cancer sont dus aux 5 principaux facteurs de risque comportementaux et alimentaires (un indice élevé de masse corporelle, une faible consommation de fruits et légumes, le manque d'exercice physique, le tabagisme et la consommation d'alcool) [1]. Il arrive donc en 6^{ème} position après les maladies cardiaques, les accidents vasculaires cérébraux, les pneumopathies, les infections des voies respiratoires et l'Alzheimer [2]. Face à cette situation critique, l'OMS a lancé en 2013 un plan d'action mondial pour la lutte contre les maladies non transmissibles 2013 -2020 qui vise à réduire de 25% d'ici 2025 la mortalité prématurée due au cancer, aux maladies cardiovasculaires, au diabète et aux maladies respiratoires chroniques [1]. En Algérie, l'augmentation de l'incidence du cancer est passée de 80 nouveaux cas pour 100.000 habitants en 1990 à plus de 107 nouveaux cas pour 100.000 habitants en 2014 (Zitouni, 2015).

Les traitements actuels contre le cancer (la chirurgie, la chimiothérapie, radiothérapie) constituent aujourd'hui les grandes catégories de traitement de cancer, des critères qualité spécifiques à ces disciplines ont été définis dans le cadre de l'autorisation des établissements de santé en oncologie [3]. Ces traitements sont parfois difficiles à supporter mais des efforts sont développés pour atténuer les effets secondaires des traitements et permettre une meilleure qualité de vie [4].

Pour pallier à ces effets, les approches non invasives de traitement du cancer ont été développées, impliquant l'utilisation des virus qui ciblent uniquement les cellules cancéreuses ou bien des ultra-sons, de la chaleur du champ électrique ou magnétique, la thérapie photodynamique ou encore de la lumière et de la chaleur, semblent très prometteuses. Ces approches peuvent potentiellement améliorer l'efficacité du traitement, réduire le temps de récupération, éliminer les infections et la formation de cicatrices (Miller et al., 2012; Sengupta & Balla, 2018 ; Azaïs et al, 2017 ;Garofalo et al., 2018).

C'est dans ce contexte que ce projet a été entrepris au sein du laboratoire de **Biogep** de l'école nationale polytechnique, ayant pour principal but de déterminer l'effet du champ électrique sur les cellules cancéreuses.

Pour la réalisation de cette étude nous avons fixé trois objectifs :

- Préparation des cellules cancéreuse ;
- Conception du dispositif ;
- Application du champ électrique sur les cellules cancéreuses.

CHAPITRE 1

Généralités sur le Cancer

1. Introduction

Le cancer n'est pas une maladie récente. Des cancers étaient déjà décrits dans des écrits égyptiens 3500 ans avant J.-C sur quelques momies égyptiennes datant de -2500 ans, on a diagnostiqué des tumeurs osseuses. Des papyrus laissés par des médecins décrivent avec précision le cancer du col utérin. Des stigmates de cancer des os ont même été retrouvés sur des squelettes de grands reptiles de l'ère tertiaire. Actuellement, l'augmentation de l'espérance de vie, le changement du mode de vie (régime alimentaire par exemple) et le développement des techniques de détection des cancers ont fait qu'au XXI^e siècle, le cancer est considéré comme un enjeu majeur de santé publique dans de nombreux pays à travers le monde. On constate en effet une forte augmentation de l'incidence du cancer dans les pays industrialisés **(Desrumeaux, 2012)**.

Avant de plonger dans le vif du sujet de notre mémoire, on va en premier lieu présenter un aperçu sur le cancer et les facteurs favorisant son apparition. Par la suite, on traitera les différents moyens actuels de lutte contre le cancer et les traitements existants afin de mieux mettre en avant les limites de ces méthodes face à la maladie.

2. Cellules cancéreuse

2.1. Historique

Le terme de « cancer » est utilisé depuis l'antiquité pour désigner toute excroissance anormale comme des tumeurs et des ulcérations. C'est Hippocrate (460-377 avant J-C) qui, le premier, compare le cancer à un crabe par analogie à l'aspect des tumeurs du sein avec cet animal et introduit le terme de « karcinos » pour désigner ces processus expansifs. La comparaison au crabe est reprise ultérieurement par Galien (131-201 après J-C) qui écrit un traité des tumeurs et décrit avec beaucoup de précision le cancer du sein **([5] ; Moerschel, 2010)**. Le terme est utilisé plus particulièrement pour les maladies oncologiques (« oncos » masse, grosseur) depuis les connaissances scientifiques. Au Moyen-âge, les chirurgiens décrivent assez précisément des tumeurs comme le cancer du rectum ou du sein dans le cadre des autopsies. C'est au fur et à mesure, des études avec notamment la naissance de l'anatomopathologie et de la découverte du système lymphatique, que les scientifiques ont

commencé à comprendre le principe de l'évolution de la maladie. La découverte des rayons X en 1895 et de la radioactivité en 1896 révolutionna les pratiques thérapeutiques. Parallèlement, y a eu le développement d'autres moyens de traitement, la chirurgie pour les traitements locorégionale et la chimiothérapie, l'hormonothérapie et l'immunothérapie pour les traitements par voie générale.

La recherche permet et continue de progresser sur plusieurs fronts :

- L'oncologie médicale ou la connaissance de la maladie par le biais de l'expérience médicale et des études en laboratoire;
- La biologie cellulaire ou une meilleure compréhension de la cancérogenèse pour trouver des pistes de contrôle de la maladie;
- Les thérapies pour tendre vers toujours plus d'efficacité et de tolérance **(Moerschel, 2010)**.

2.2. Définitions

2.2.1. Tumeur

Du latin «tumere»=être gonflé

Prolifération cellulaire excessive déséquilibre croissance, destruction non contrôlée par l'organisme Bénin ou malin, Perte de contrôle accidentel de la régulation normale des cellules **(Moerschel, 2010; Normand, 2013)**.

2.2.2. Cancer

Du grec « karkinos »=crabe

Tumeur maligne par prolifération anarchique d'un clone cellulaire, détruisant le tissu d'origine, essaimant à distance (métastases) et conduisant au décès en l'absence de traitement **(Normand, 2013)**.

2.3. Les types de cancers les plus répandus[6]

- *Cancer du poumon.*
- *Cancer de l'estomac.*
- *Cancer du foie.*
- *Cancer colorectal.*
- *Cancer du sein.*

- *Cancer du col de l'utérus.*

2.4. Processus de carcinogenèse

Le corps humain compte quelques 100 000 milliards de cellules. Vingt milliards de ces cellules meurent chaque jour et elles sont remplacées par mitose. Près de 20 millions de cellules se divisent en deux cellules filles chaque seconde. Des erreurs peuvent se produire et elles sont réparées, à l'exception, de certaines erreurs irrémédiables apparaissent, favorisées par les facteurs à risques et permet l'initiation du processus cancéreux. Le risque augmente avec le vieillissement des cellules qui peut être accéléré par l'environnement (tabac, soleil...)(Langdon, 2004; Morel, 2008; Bazan, 2014).

Dans la carcinogenèse, on distingue deux étapes (Moerschel, 2010 ; Nesslany, 2013):

a. Initiation

Phénomène irréversible correspondant à une lésion de l'ADN par un cancérigène dit « initiateur ».

b. Promotion

Phénomène réversible correspondant à la stimulation des cellules initiées. Cette étape peut aboutir soit directement à un cancer soit à une tumeur bénigne soit à un état précancéreux.

Dans l'évolution on distingue :

a. L'extension locale

Au niveau des épithéliums, la cancérisation passe par différentes séquences pour passer de l'épithélium normal à un épithélium hyperplasique puis dysplasique qui aboutit au cancer in situ puis invasif

Dans le stade invasif, les cellules cancéreuses atteignent les tissus voisins du fait de la pression exercée par la population cellulaire croissante, des capacités des cellules tumorales à franchir les barrières cellulaires et des réactions de l'hôte (Moerschel, 2010).

b. L'extension « à distance »

L'extension métastatique est la caractéristique essentielle de la malignité d'une tumeur. Plus de 50% des cancers ont pour cause de décès non pas la croissance locale de la tumeur mais

le développement de métastases. Les cellules cancéreuses peuvent à tout moment quitter la tumeur principale ; ces départs étant possibles dès le début de la croissance tumorale.

- Par voie lymphatique;
- Par voie sanguine(**Moerschel, 2010**).

2.5. Particularité de la cellule cancéreuse [7,8]

Les cellules cancéreuses ont des propriétés communes qui les différencient des cellules normales :

1. indépendance vis-à-vis des signaux de prolifération (facteurs de croissance);
2. insensibilité aux signaux anti-prolifératifs ;
3. résistance à l'apoptose ;
4. prolifération illimitée ;
5. capacité à induire l'angiogénèse ;
6. capacité d'invasion tissulaire et diffusion métastatique.

Ces anomalies fonctionnelles sont l'aboutissement d'un processus multi-étapes dans lequel l'environnement n'est pas neutre. Elles s'accompagnent de modifications morphologiques de la cellule qui permettent le plus souvent de reconnaître son caractère cancéreux en l'observant au microscope optique.

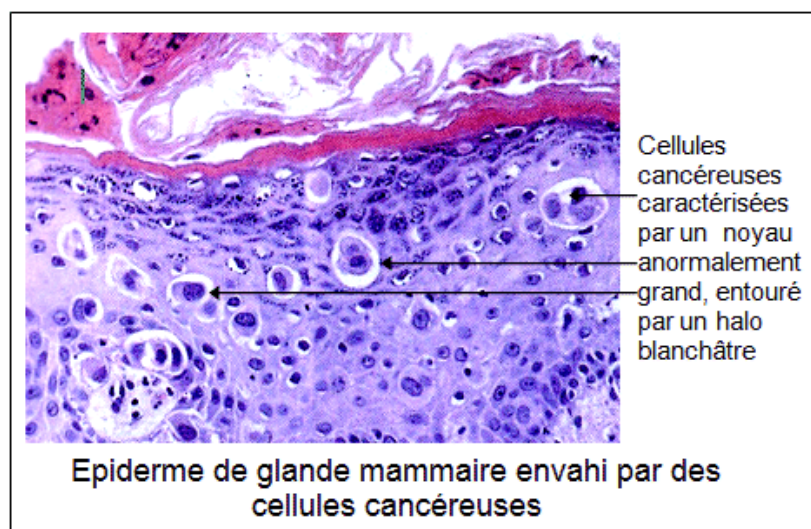


Figure 1 : cellules cancéreuses en prolifération[9].

2.6. Facteurs de la cancérogenèse

Dans les pays développés, environ un tiers des cancers serait lié à l'alimentation, 25% au tabac, 10% à l'alcool. Une transmission héréditaire est retrouvée dans moins de 5 % des cancers du sein, du colon ou de la prostate. Les facteurs environnementaux sont prépondérants mais la prédisposition génétique explique pourquoi certains individus soumis au même cancérogène présentent ou ne présentent pas la maladie. Les facteurs à risques peuvent être classés en plusieurs catégories:

- Cancérogène chimique (Tabac, alcool, alimentation et les hydrocarbures et ses dérivés).
- Médicaments à potentiel cancérigène (hormones et les traitements immunosuppresseurs).
- Cancérogène physique (Radiations ionisantes, UV et les traumatismes).
- Cancérogène virale (Virus de l'hépatite B et virus du papillome humain...etc).
- Les facteurs génétiques (**Cabarrot, 2008**).

3. Traitement actuel

La chirurgie, la radiothérapie (rayons) et la chimiothérapie (médicaments) sont les trois traitements de référence en cancérologie. Ils sont utilisés séparément ou de façon combinée. Face à certains cancers, l'hormonothérapie, l'immunothérapie ou de nouveaux traitements ciblés peuvent également être nécessaires. Le choix de la meilleure stratégie possible doit être fait par une équipe médicale multidisciplinaire, composée de tous les spécialistes concernés. Le traitement vise la guérison définitive, l'arrêt ou le ralentissement de l'évolution du cancer ou encore le soulagement du patient **[10]**.

3.1. La chirurgie

La chirurgie permet d'enlever une tumeur localisée ou localement avancée. Elle participe également au bilan d'extension par l'ablation des ganglions (curage). Elle peut être suffisante pour guérir le cancer. Elle pourra aussi s'intégrer dans une stratégie globale de traitement, précédée ou complétée de radiothérapie et/ou chimiothérapie, et parfois d'hormonothérapie. En complémentarité, la chirurgie plastique, reconstructrice et

esthétique est une partie intégrante du traitement du cancer. Elle est destinée à restaurer, dans toute la mesure du possible, la fonction d'un organe ou l'aspect du corps [11].

3.2. L'hormonothérapie

Certains cancers sont sensibles à l'action d'hormones naturellement produites par l'organisme (on dit alors qu'il est hormono-sensible). C'est fréquemment le cas en particulier pour les cancers du sein et de la prostate. Les cellules cancéreuses ont tendance à se multiplier plus vite en présence de ces hormones. L'idée est donc de bloquer la production ou l'activité de ces hormones. L'hormonothérapie ne vise pas à détruire directement les cellules cancéreuses. Il s'agit de donner des médicaments qui soit bloquent la production hormonale, soit s'oppose à leur action. Cela permet ainsi de réduire la croissance des cellules cancéreuses [12].

3.3. La chimiothérapie

La chimiothérapie est un traitement qui consiste à utiliser des médicaments contre les cellules cancéreuses par injection. La chimiothérapie agit sur toutes les cellules cancéreuses, même sur celles qui n'ont pas été détectées par les examens d'imagerie [13]. Dans ce type de traitement on distinguera deux phases (**Moerschel, 2010**):

- le blocage de la prolifération des cellules cancéreuses (dans certaines leucémies, le pourcentage de rémission peut atteindre 100%) ;
- le traitement complémentaire, ou chimiothérapie adjuvante permet d'éviter la récurrence.

L'inconvénient majeur de ce traitement est les toxicités (hématologiques, digestives, cardiaques, rénales et neurologiques). Une surveillance très étroite des organes et tissus est obligatoire pendant le traitement (**Moerschel, 2010 ; Haanen et al., 2017**).

3.4. La radiothérapie

La radiothérapie est un traitement locorégional des cancers. Elle consiste à utiliser des rayonnements (des radiations ionisantes) pour détruire les cellules cancéreuses en bloquant leur capacité à se multiplier tout en préservant le mieux possible les tissus sains et les organes avoisinants. Plus de la moitié des patients atteints d'un cancer sont traités par radiothérapie à une étape de leur parcours de soin. On distingue la radiothérapie externe et

la curiethérapie. Dans la radiothérapie externe les rayons sont émis en faisceau par une machine située à proximité du patient ; ils traversent la peau pour atteindre la tumeur. Dans la curiethérapie, des sources radioactives sont implantées directement à l'intérieur du corps de la personne malade. Il existe une troisième modalité de radiothérapie, la radiothérapie métabolique. Elle consiste à administrer, par voie orale (boisson ou capsule) ou par injection intraveineuse, une substance radioactive, qui se fixe préférentiellement sur les cellules cancéreuses pour les détruire. La radiothérapie métabolique est utilisée pour traiter certains cancers de la thyroïde et certaines métastases osseuses [14].

3.5. Immunothérapie

L'immunothérapie relève des thérapeutiques récentes issues du génie génétique qui a permis d'identifier des protéines qui stimulent ou inhibent l'activation ou la prolifération des lymphocytes très impliqués dans les processus de défenses de l'organisme contre les cellules tumorales. Il est possible aujourd'hui de fabriquer en laboratoire l'interféron humain. Ce dernier est prescrit dans le traitement de leucémies, de lymphomes, de certaines formes de cancer de la moelle osseuse ou de mélanome malin (Moerschel, 2010).

Pour les tumeurs induites par les virus la stratégie vaccinale peut être efficace. Ainsi la vaccination d'une population contre l'hépatite B permet de prévenir la survenue d'hépatites chroniques B et de réduire de façon importante l'incidence du carcinome hépatocellulaire qu'elle aurait induit.

Des injections d'interleukine 2 peuvent induire des régressions métastatiques dans certains cancers du rein ou dans les mélanomes.

Actuellement, plusieurs anticorps monoclonaux sont dirigés contre des antigènes spécifiques des tumeurs. Ces anticorps sont éventuellement associés à des radio-éléments ou des toxines [15].

3.6. La thérapie ciblée

Une thérapie ciblée est un médicament "sélectif" qui s'attaque aux cellules cancéreuses sur une cible précise (récepteur, gène ou protéine) en diminuant la croissance des tumeurs, en réduisant leur vascularisation et en épargnant au maximum les cellules saines [11].

CHAPITRE 2

Le champ électrique

1. Définition du champ électrique

Un champ électrique est un champ de force créé par des particules chargées électriquement. On peut différencier deux types de champs électriques : les champs électrostatiques, dans le cas de charges fixes, et les champs électriques induits par les déplacements de charge (**Villemejjane, 2010**). Le champ électrique total est la somme de ces deux composantes que nous allons détailler par la suite.

1.2. Champ électrostatique

Dans le cas de particules chargées au repos, le champ électrique résultant, aussi appelé champ électrostatique, se déduit de la loi de Coulomb. Cette loi exprime la force de l'interaction entre deux particules chargées électriquement. la loi du champ électrique peut s'écrire :

$$E = \frac{V}{d}$$

Ceci, dans le cas d'un champ uniforme et unidirectionnel, créé par l'application d'un potentiel V (en V) entre deux électrodes séparées d'une distance d (en m) par un milieu diélectrique ou très faiblement conducteur (solution d'exposition) (**Villemejjane, 2010**).

1.3. Champ électrique induit et champ électromagnétique

Lorsque les particules créant ce champ électrique sont en mouvement, il vient alors se rajouter une seconde composante à ce champ appelé champ électrique induit. Ce champ électrique induit est directement relié au champ magnétique créé par ces charges en mouvement par l'intermédiaire du potentiel vecteur.

Un champ électromagnétique ou onde électromagnétique est la combinaison d'un champ électrique et d'un champ magnétique. Alors que les champs électriques sont le produit d'un gradient de tension, les champs magnétiques sont le résultat de la circulation d'un courant dans un circuit électrique. Les principales caractéristiques d'une onde EM sont sa longueur d'onde (ou sa fréquence) et sa puissance (**Villemejjane, 2010**).

Notre univers regorge de phénomènes électromagnétiques dans la majorité des cas celui-ci est d'origine naturelle est crucial pour certaines espèces (migrations des oiseaux, aide à la navigation pour les poissons et l'existence de saisons) d'autre part certains champs électriques sont induits par l'activité humaine leur influence dépend de 3 facteurs : temps d'exposition, longueur d'onde et son intensité pouvant avoir des effets indésirables sur les cellules (petites perturbations ou des perturbations pouvant conduire à la destruction cellulaire). Il est toutefois important de rappeler que ces champs électriques sont la base de toutes les avancées technologiques, notamment le matériel médical et l'imagerie (Filler, 2009; Villemejeane, 2010).

2. Electrochimie

La naissance de l'électrochimie remonte historiquement à 1786, lorsque Luigi Galvani à Bologne démontra qu'un muscle de grenouille se contracte au contact de deux métaux différents reliés par un conducteur électrique. Galvani eut le génie d'interpréter ce phénomène grâce aux connaissances de l'électrostatique de l'époque. Cependant, ne pouvant interpréter les phénomènes biologiques liés à sa découverte, il développa le concept stérile d'« électricité animale ». En 1800, Alessandro Volta reprit l'expérience de Galvani, en utilisant cette fois sa langue comme détecteur. En effet, à l'époque, les chimistes avaient l'habitude de goûter leurs produits ! Volta comprit que l'association de deux métaux différents et d'une solution aqueuse génère de l'électricité. C'est ainsi que naquit le premier générateur électrochimique [16].

2.1. Échanges électroniques et ioniques

Lorsqu'une différence de potentiel est imposée entre deux électrodes permettant d'appliquer un champ électrique sur une solution contenant des cellules, un courant traverse ce milieu. Mais contrairement aux matériaux conducteurs (métaux par exemple) où le courant est créé par le déplacement des électrons dans les solutions aqueuses, le courant est dû aux déplacements des ions. On peut diviser ce courant en deux parties (Villemejeane, 2010) :

- Le courant capacitif provenant du réarrangement d'ions dans la solution pour contrer les perturbations provoquées par le contact entre les électrodes et la solution, à savoir une accumulation d'électrons à la surface de l'électrode.

- Le courant faradique, provenant du transfert de charges à travers l'interface entre la solution et les électrodes lorsque des réactions d'oxydo-réduction ont lieu.

2.2. Electrolyse

Il est possible de forcer des réactions redox non spontanées à se produire. Ce procédé s'appelle l'électrolyse. Une réaction redox forcée est la réaction inverse de la réaction spontanée. Une électrolyse s'effectue en apportant de l'énergie électrique au système chimique, c'est-à-dire en inversant le sens de passage du courant bornes de l'électrolyseur une tension inverse, mais au moins égale, en valeur absolue, à celle donnée par la pile correspondante (réaction redox spontanée)[17].

3. Effets biologique

Les composés générés au niveau des électrodes peuvent avoir des conséquences néfastes sur la viabilité cellulaire et entraîner des modifications des conditions électriques pendant l'impulsion par variation des propriétés physiques du milieu. Les résultats biologiques associés à certaines expériences peuvent aussi être modifiés en présence de ces réactions chimiques. Une réduction de ces effets peut être observée lors de l'application d'impulsions bipolaires sur la solution, l'effet de l'alternance négative compensant en grande partie celui de l'alternance positive. Ces réactions chimiques peuvent aussi entraîner un relargage d'ions, comme nous l'avons mentionné précédemment. Il faut savoir que la plupart des métaux ne sont pas biocompatibles, à savoir qu'ils peuvent induire une certaine toxicité au niveau des cellules (**Villemejeane, 2010**). D'autres travaux corroborent le fait qu'un champ pulsé peut contraindre les cellules à l'autodestruction (**Nuccitelli et al., 2006**).

3.1. Electroporation

A la fin des années 1970, il a été observé que l'application d'un champ électrique pouvait modifier temporairement la porosité de la membrane, laissant envisager de nombreuses applications cliniques et industrielles de ce phénomène appelé électroporation (**Poignard & Silve, 2014**). Ces modifications dépendent principalement du type de cellule, l'application de cette découverte pourrait largement révolutionner le domaine d'extraction de biomolécules et leur assimilation dans le cytoplasme (**André & Mir, 2004**).

L'électroporation dépend toutefois de la pulsation, la température, types de cellules et des tissus et du milieu environnant...etc. **(Batista Napotnik & Miklavčič, 2018)**. En effet, l'efficacité de l'électroporation est connue et elle varie de manière significative selon le domaine de recherche en biologie et leur application dans le domaine clinique**(Sadik et al., 2014)**.

Matériel
&
Méthodes

1. Matériel :

1.1. Matériel biologique :

La lignée RD (American Type Culture Collection) : c'est des cellules cancéreuses fusiformes issues des cellules musculaires striés (rhabdomyosarcome) d'origine humaine. Elle a été fournie par le laboratoire des Entérovirus de l'Institut Pasteur d'Algérie (annexe de Sidi Fredj) dont le nombre de passage est 237 (**figure2**).

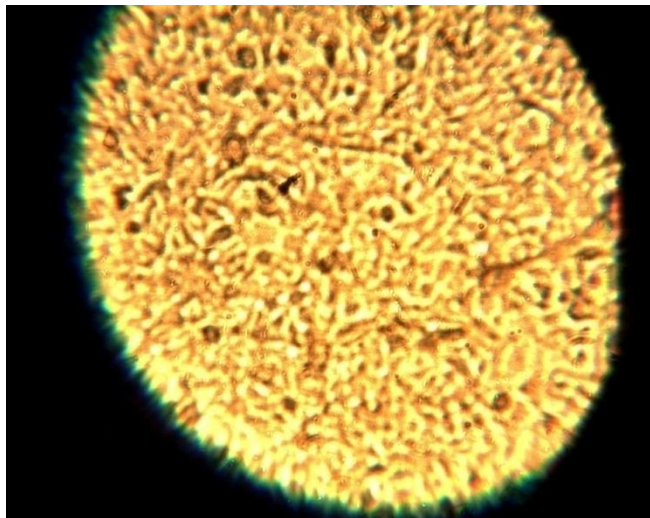


Figure 2 : Les lignées cellulaires RD en confluences observées au microscope photonique à phase inversé.

1.2. Réactifs et produits chimiques :

Les produits chimiques ainsi que les réactifs utilisés sont de qualité analytique.

- Sérum de veau foétale (SVF) ;
- Antibiotiques ;
- Glutamine ;
- MEM (Minimum Essential Medium) ;
- Trypsine-EDTA ;
- PBS (phosphate buffered saline);

- Bleu de trypan ;

1.3. Appareillages

- Incubateurs à 37°C ;
- Pipettes jetables 1ml 2ml 5ml ;
- Seringues 5 ml, 10ml, 50ml ;
- Boîtes Falcon ;
- Hotte de sécurité à flux laminaires ;
- Gants stériles ;
- Verre de montre ;
- Balance électronique ;
- PH-mètre ;
- Agitateur magnétiques ;
- Lame de malassez ;
- Microscope inversé ;
- Chronomètre ;
- Pro -pipettes ;
- Autoclave ;
- Embout de 1 ml et 200µl ;
- Eppendorf ;
- Générateur de courant continu ;
- Thermomètre infrarouge ;
- Tubes sec ;
- Aiguilles ;
- Tubes à essai.

1.4. Le dispositif

Dans une optique de préserver les ressources du laboratoire et d'éviter les risques de contaminations, nous avons opté de travailler avec un petit dispositif dont le volume réactionnel ne dépasse pas 5ml.

Le réacteur électrochimique a été conçu au niveau du laboratoire Biogep et il est composé essentiellement de :

- Des électrodes ;
- Tubes en verres ;
- Un générateur de tension.

2. Méthodes

Pour pouvoir étudier l'action du champ électrique sur les cellules cancéreuses et essayer de comprendre l'influence de certains paramètres tels que : la tension, la concentration cellulaire et le temps d'exposition des cellules cancéreuses au champ électrique, nous avons réalisé une étude *in vitro* sur une lignée RD.

2.1. Entretien des cellules RD

2.1.1. Préparation du milieu de culture

En culture cellulaire, la préparation du milieu de culture est une étape très délicate qui nécessite des mesures de précautions afin d'éviter les contaminations. Dans notre étude, le milieu de culture (EMEM) destiné pour cultiver les cellules RD a été préparé selon les recommandations de **l'OMS (2004)**.

2.1.2. Adaptation des cellules au milieu de culture

Après avoir réceptionné les cellules RD de l'institut Pasteur. Ces cellules vont subir une adaptation à notre milieu de culture préparé au préalable. L'adaptation consiste à faire introduire notre milieu de culture à des volumes croissant après chaque trypsination.

2.1.3. Trypsination des cellules RD

A confluence, le tapis cellulaire est détaché de la boîte par ajout de la trypsine-EDTA, puis incubé à 37°C pendant 5mn (**voir figure3**). Après avoir dénombré les cellules dissociées, un certain volume de la suspension cellulaire est remis dans du milieu de culture. La trypsination est réalisée tous les 3 jours afin d'assurer une amplification des cellules cancéreuses (**IPA, 2017**).

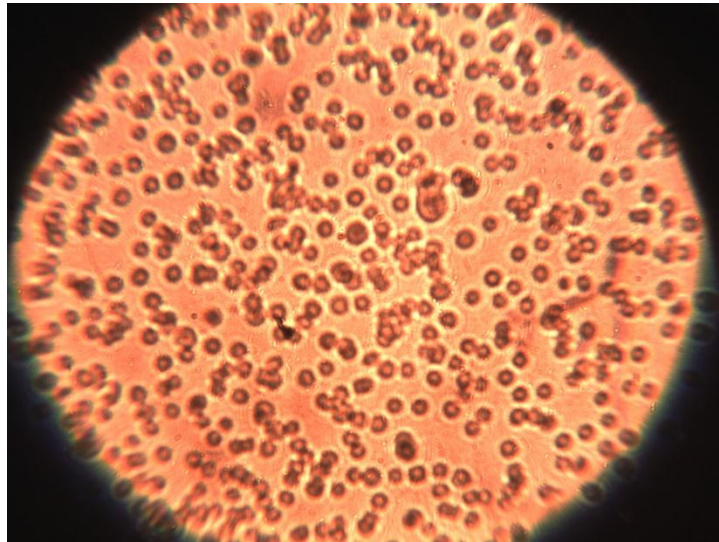


Figure 3: Cellules RD détachée observées au microscope photonique à phase inversé.

2.2. La numération cellulaire

Afin d'évaluer l'effet du champ électrique sur les cellules RD, nous avons procédé à la numération cellulaires selon le protocole préconisé par le laboratoire des Entérovirus **(IPA, 2017)**.

Le principe repose sur la numération des cellules viables présentes dans une suspension cellulaire en présence du bleu de trypan (les cellules mortes sont colorées en bleu). Le dénombrement est réalisé directement par comptage au microscope inversé, à l'aide d'un haemocytomètre (cellule de Malassez dans notre étude).

2.3. Le plan d'expérience

Dans nos essais, nous avons eu recours la méthodologie de surface de réponse pour l'élaboration d'un plan d'expérimentation. Un plan composite central orthogonal avec 3 points centraux, les expériences sont classées par rapport à la concentration cellulaire (10^5 , $2 \cdot 10^5$ et $3 \cdot 10^5$ cellules/ml). Le temps d'exposition au champ électrique (2, 6 et 10 mn) et la tension (0.2, 0.8 et 1.4 volts).

2.3.1. Expérimentation

Les essais sont réalisés sur les cellules RD et introduites dans des tubes à essai où les électrodes sont déjà placées, tout en faisant attention à ce que les électrodes soit parallèle et que la distance entre les électrodes reste fixe. Le réacteur électrochimique est relié au générateur, la tension et le temps d'exposition sont réglés comme prévus dans notre plan d'expérience.

Au cours des expériences, nous avons suivi certains paramètres :

- La variation de la température ;
- Changement de couleur du milieu réactionnel ;
- Evaluation du taux de mortalité.

Le taux de mortalité des cellules RD a été déterminé selon la formule suivante :

$$\text{Taux de mortalité} = (1 - \text{taux de viabilité}) * 100$$

Taux de viabilité = (le nombre de cellule viable / le nombre total de cellule) * 100

Résultats & discussion

Afin d'étudier l'effet de la tension, du temps d'exposition et de la concentration initiale cellulaire tout en recherchant d'éventuelles interactions de second ordre entre ces facteurs nous avons utilisé la méthode de surface de réponse.

Ainsi, un plan d'expérience central composite orthogonal a été établi à l'aide du logiciel SAS JMP en définissant les limites suivantes pour les facteurs retenus :

Tension (V)	[0,2 - 1,4]
Temps d'exposition (min)	[2 - 10]
Concentration initiale (Cellules/ml)	[10^5 - $3 \cdot 10^5$]

Compte tenu de la grande variabilité inhérente aux systèmes biologiques, chaque point du plan a été dupliqué deux fois (expériences réalisées en triplicate) et quatre points centraux ont été rajoutés afin d'estimer la courbure dans l'espace de réponse.

L'objectif de ce plan d'expérience, en plus de quantifier l'effet de chaque facteur et de chaque interaction, est d'établir un modèle polynomial prédictif qui permettra d'optimiser la réponse recherchée, qui est la mort cellulaire.

Pour chaque expérience, l'augmentation de la température a été évaluée et le taux de mortalité des cellules calculé.

Le plan d'expérience, ainsi que les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Plan d'expérience et les résultats du taux de mortalité des RD.

numéros	Configuration	Temps (min)	Tension (voltes)	Concentration en cellules (10^5 cell /ml)	Taux de mortalité cellulaire
01	---	2	0.2	1	10
02	---	2	0.2	1	0
03	---	2	0.2	1	30
04	+--	10	0.2	1	0
05	+--	10	0.2	1	0
06	+--	10	0.2	1	0
07	00a	6	0.8	1	10
08	00a	6	0.8	1	0
09	00a	6	0.8	1	0
10	--+	2	1.4	1	10
11	--+	2	1.4	1	60
12	--+	2	1.4	1	20
13	++-	10	1.4	1	30
14	++-	10	1.4	1	50
15	++-	10	1.4	1	50
16	0a0	6	0.2	2	25
17	0a0	6	0.2	2	55
18	0a0	6	0.2	2	20
19	A00	2	0.8	2	65
20	A00	2	0.8	2	35
21	A00	2	0.8	2	40
22	000	6	0.8	2	10
23	000	6	0.8	2	35
24	000	6	0.8	2	30
25	000	6	0.8	2	65
26	000	6	0.8	2	30
27	000	6	0.8	2	35
28	000	6	0.8	2	10
29	000	6	0.8	2	35
30	000	6	0.8	2	20
31	A00	10	0.8	2	20
32	A00	10	0.8	2	30
33	A00	10	0.8	2	20
34	0a0	6	1.4	2	15
35	0a0	6	1.4	2	55
36	0a0	6	1.4	2	65
37	--+	2	0.2	3	43
38	--+	2	0.2	3	13
39	--+	2	0.2	3	33
40	++-	10	0.2	3	26
41	++-	10	0.2	3	16
42	++-	10	0.2	3	23
43	00a	6	0.8	3	56
44	00a	6	0.8	3	36
45	00a	6	0.8	3	56
46	-++	2	1.4	3	53
47	-++	2	1.4	3	76
48	-++	2	1.4	3	60
49	+++	10	1.4	3	73
50	+++	10	1.4	3	83
51	+++	10	1.4	3	90

1. Analyse Statistique des Résultats :

Le graphique suivant (**figure 4**) montre la qualité de l'ajustement du modèle prédictif, il montre l'écart qui existe entre les valeurs mesurées et les valeurs prédites par le modèle.

1.1. Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues

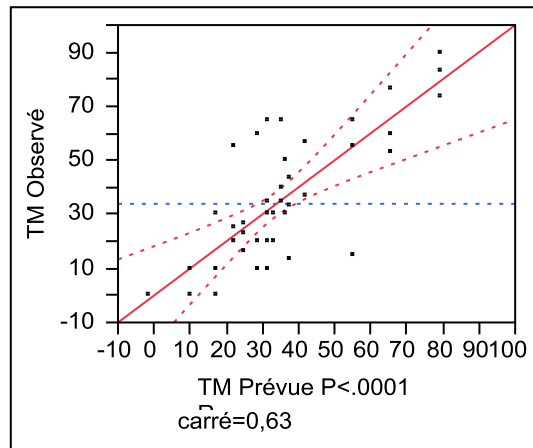


Figure 4 : valeurs observées en fonction des prévisions du model prévu.

1.2. Résumé de l'ajustement

Tableau 2 : valeurs des ajustements du model mathématique point carrée.

R carré	0,631193
R carré ajusté	0,550236
Racine de l'erreur quadratique moyenne	15,95932
Moyenne de la réponse	33,88889
Observations (ou sommes pondérées)	51

1.3. Analyse de la variance

Tableau 3 : analyse de la variance.

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	9	17872,123	1985,79	7,7966
Résidus	41	10442,692	254,70	Prob. > F
Total	50	28314,815		<.0001*

1.4. Défaut d'ajustement

Tableau 4 :Défaut d'ajustement.

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Défaut d'ajustement	5	2127,877	425,575	1,8426
Erreur pure	36	8314,815	230,967	Prob. > F0,1292
Erreur totale	41	10442,692		R carré max. 0,7063

Nous constatons que la qualité de l'ajustement est faible, le R carré étant de 0,63 et la variance augmente plus on s'écarte du centre de l'espace de réponse. Il est normal d'obtenir des valeurs aussi basses avec des systèmes biologiques. En effet, de nombreux facteurs n'ont pas été pris en compte lors de cette expérimentation et il existe de nombreux phénomènes qu'il est impossible de contrôler. Cela étant dit, le modèle permet néanmoins d'avoir une estimation de l'effet des facteurs.

Dans la section suivante, les effets des facteurs et des différentes interactions sont quantifiés.

1.5. Estimations des coefficients

Tableau 5 : Estimations des coefficients.

Terme	Estimation	Erreur standard	Rapport t	Prob.> t
Constante	31,189358	3,942722	7,91	<,0001*
Temps(2,10)	-1,222222	2,913759	-0,42	0,6771
Tension(0,2,1,4)	16,5	2,913759	5,66	<,0001*
Cin(1,3)	15,777778	2,913759	5,41	<,0001*
Temps*Tension	6,666667	3,257682	2,05	0,0472*
Temps*Cin	1,388889	3,257682	0,43	0,6721
Tension*Cin	4,166667	3,257682	1,28	0,2081
Temps*Temps	2,9186228	5,62921	0,52	0,6069
Tension*Tension	7,0852895	5,62921	1,26	0,2153
Cin*Cin	-5,41471	5,62921	-0,96	0,3417

1.6. Graphique des résidus en fonction des valeurs prévues

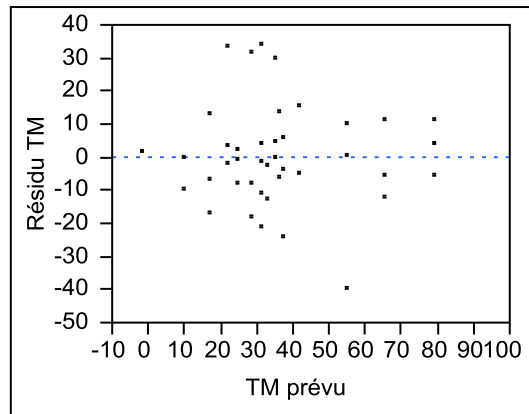


Figure 5: Graphique des résidus en fonction des valeurs prévues.

1.7. Estimations des coefficients triés

Tableau 6 : Estimations des coefficients triés.

Terme	Estimation	Erreur standard	Rapport t	Rapport t	Prob.> t
Tension(0,2,1,4)	16,5	2,913759	5,66		<,0001*
Cin(1,3)	15,777778	2,913759	5,41		<,0001*
Temps*Tension	6,6666667	3,257682	2,05		0,0472*
Tension*Cin	4,1666667	3,257682	1,28		0,2081
Tension*Tension	7,0852895	5,62921	1,26		0,2153
Cin*Cin	-5,41471	5,62921	-0,96		0,3417
Temps*Temps	2,9186228	5,62921	0,52		0,6069
Temps*Cin	1,3888889	3,257682	0,43		0,6721
Temps(2,10)	-1,222222	2,913759	-0,42		0,6771

1.8. Estimations étendues

Tableau 7 : Estimations étendues

Terme	Estimation	Erreur standard	Rapport t	Prob.> t
Constante	31,189358	3,942722	7,91	<,0001*
Temps(2,10)	-1,222222	2,913759	-0,42	0,6771
Tension(0,2,1,4)	16,5	2,913759	5,66	<,0001*
Cin(1,3)	15,777778	2,913759	5,41	<,0001*
Temps*Tension	6,6666667	3,257682	2,05	0,0472*
Temps*Cin	1,3888889	3,257682	0,43	0,6721
Tension*Cin	4,1666667	3,257682	1,28	0,2081
Temps*Temps	2,9186228	5,62921	0,52	0,6069
Tension*Tension	7,0852895	5,62921	1,26	0,2153
Cin*Cin	-5,41471	5,62921	-0,96	0,3417

A travers ces résultats nous constatons que la tension et la concentration initiale sont les deux facteurs les plus significatifs avec une contribution positive et des coefficients respectifs de 16,5 et 15,77. Le temps d'exposition seul ne semble pas intervenir de manière significative et son coefficient est seulement de -1,2.

Il faut noter toutefois, que le troisième facteur significatif est celui lié à l'interaction entre le temps et la tension. Ceci veut dire que le rôle joué par le temps d'exposition sera différent en fonction de la tension utilisée.

1.9. Expression de la prévision

L'estimation des coefficients associés à chaque facteur a permis d'établir le modèle prédictif polynomial suivant. Ce modèle sera utilisé pour une optimisation de la réponse recherchée.

$$\begin{aligned}
 & 31,1893583729577 \\
 & + -1,2222222222 * \left[\frac{[\text{Temps}-6]}{4} \right] \\
 & + 16,5 * \left[\frac{[\text{Tension}-0,8]}{0,6} \right] \\
 & + 15,7777777776667 * [\text{Cin}-2] \\
 & + \left[\frac{[\text{Temps}-6]}{4} \right] \\
 & * \left[\left[\frac{[\text{Tension}-0,8]}{0,6} \right] * 6,66666666583333 \right] \\
 & + \left[\frac{[\text{Temps}-6]}{4} \right] * ([\text{Cin}-2] * 1,38888888916667) \\
 & + \left[\frac{[\text{Tension}-0,8]}{0,6} \right] * ([\text{Cin}-2] * 4,16666666666667) \\
 & + \left[\frac{[\text{Temps}-6]}{4} \right] \\
 & * \left[\left[\frac{[\text{Temps}-6]}{4} \right] * 2,91862284732395 \right] \\
 & + \left[\frac{[\text{Tension}-0,8]}{0,6} \right] \\
 & * \left[\left[\frac{[\text{Tension}-0,8]}{0,6} \right] * 7,08528951399061 \right] \\
 & + [\text{Cin}-2] * ([\text{Cin}-2] * -5,4147104843427)
 \end{aligned}$$

Temps(2,10)

- Graphique des leviers

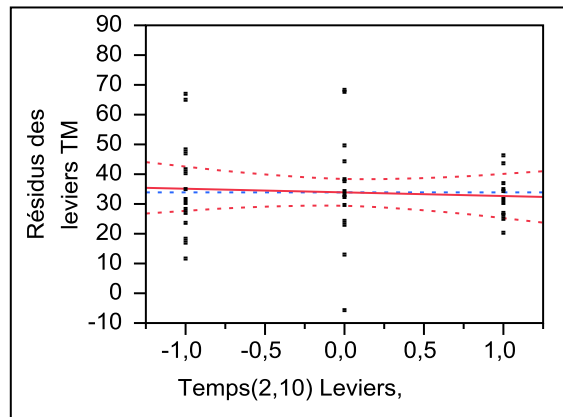


Figure 6: graphique des leviers temps.

Tension(0,2,1,4)

- Graphique des leviers

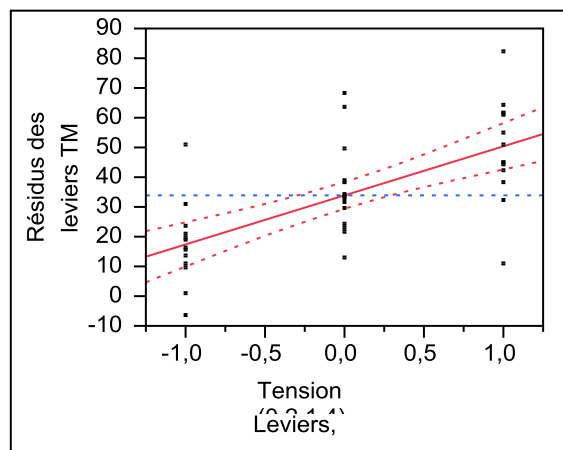


Figure 7: graphique des leviers tension.

Cin(1,3)

- Graphique des leviers

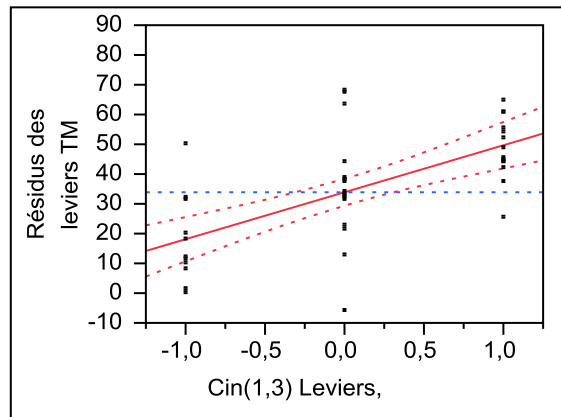


Figure 8 : graphique des leviers concentrations initiales.

Temps*Tension

- Graphique des leviers

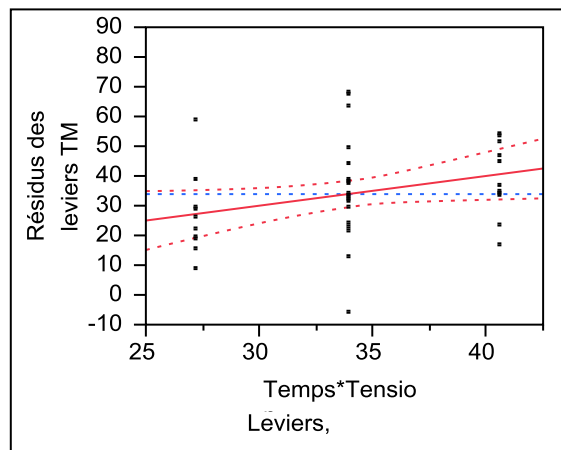


Figure 9 : graphique des leviers temps tension.

Temps*Cin

- Graphique des leviers

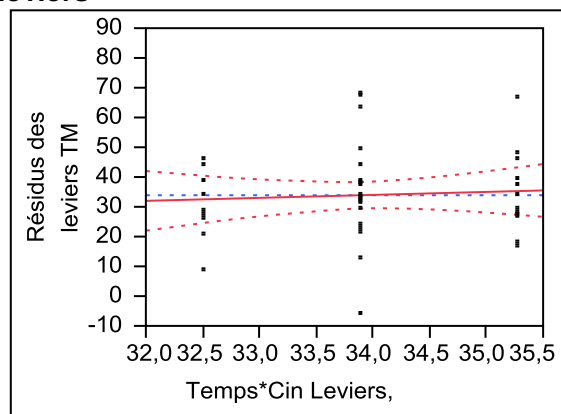


Figure 10 : graphique des leviers temps tension.

Tension*Cin

- Graphique des leviers

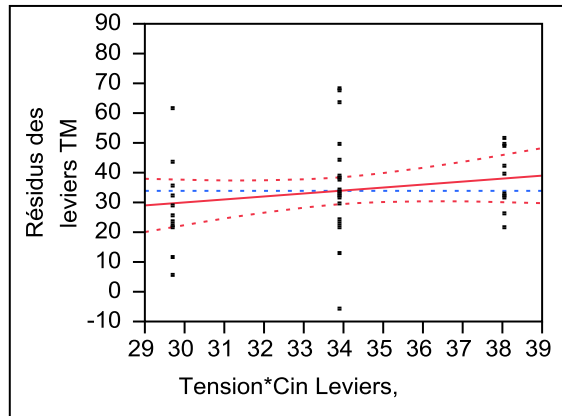


Figure 11: graphique des leviers temps tension.

Temps*Temps

- Graphique des leviers

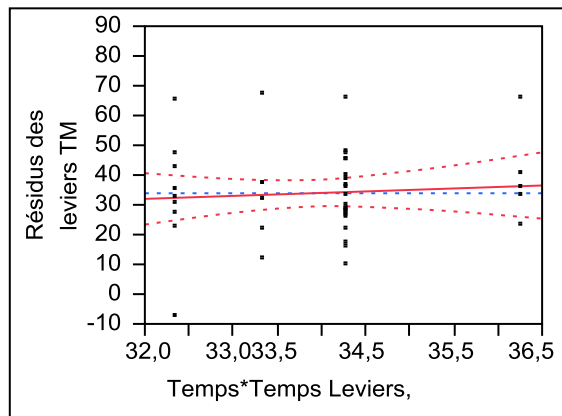


Figure 12: graphique des leviers temps carrée.

Tension*Tension

- Graphique des leviers

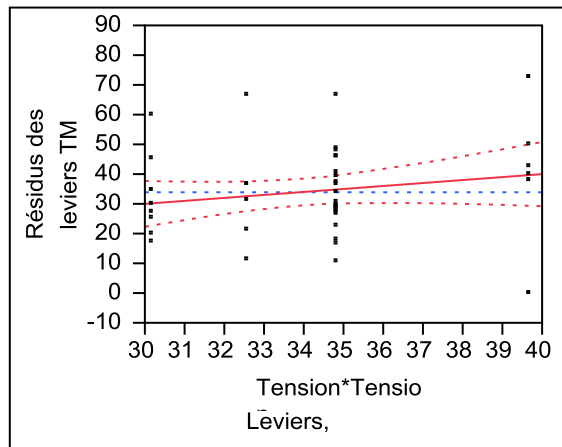


Figure 13: graphique des leviers tension carrée.

Cin*Cin

- **Graphique des leviers**

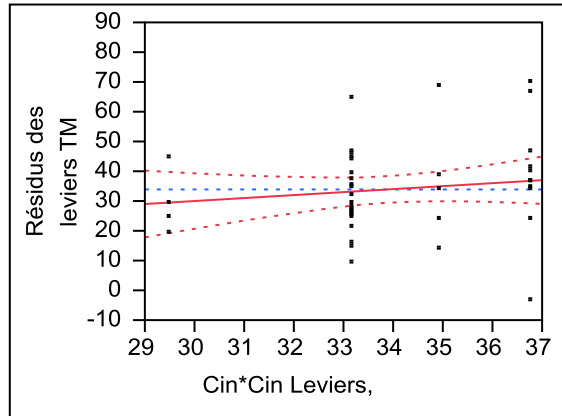


Figure 14: graphique des leviers concentrations initiale carrée.

1.10. Profils d'interaction

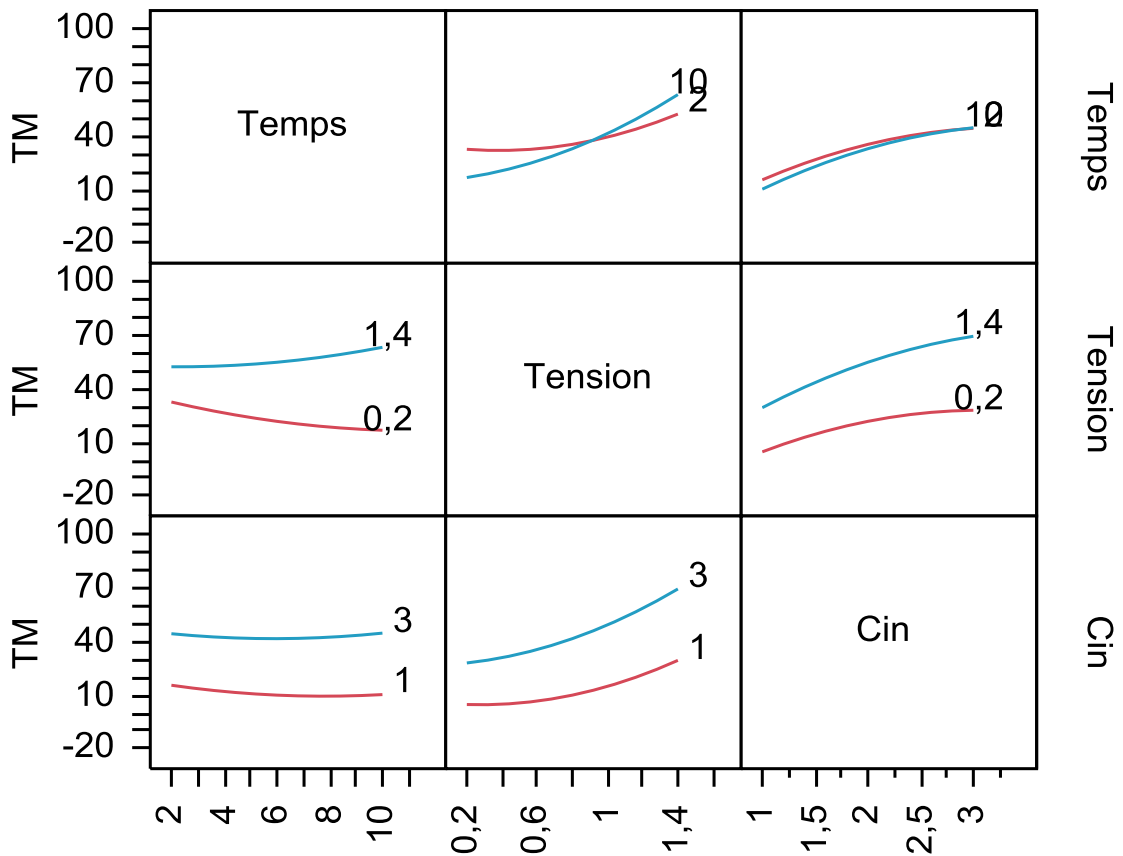


Figure 15 : interactions entre les paramètres étudiées

Nous constatons qu'il existe une interaction entre le temps et la tension. Pour des tensions inférieures à 0,6 V, une augmentation du temps d'exposition n'augmente pas le taux de

mortalité cellulaire. Une fois que la tension dépasse 0,6 V, la mortalité cellulaire augmente avec le temps d'exposition.

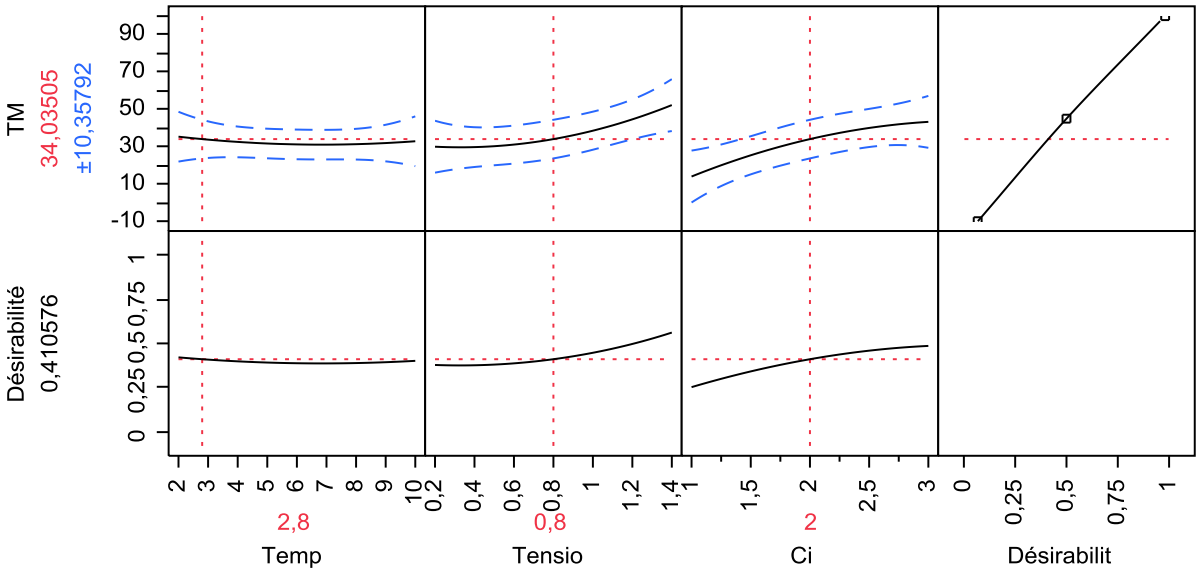


Figure 16: taux de mortalité moyen en conditions de 2.8min/0.8V/2*105cell *ml-1

L'utilisation du modèle prédictif obtenu permet d'effectuer une optimisation. Cette optimisation est représentée dans la figure suivante.

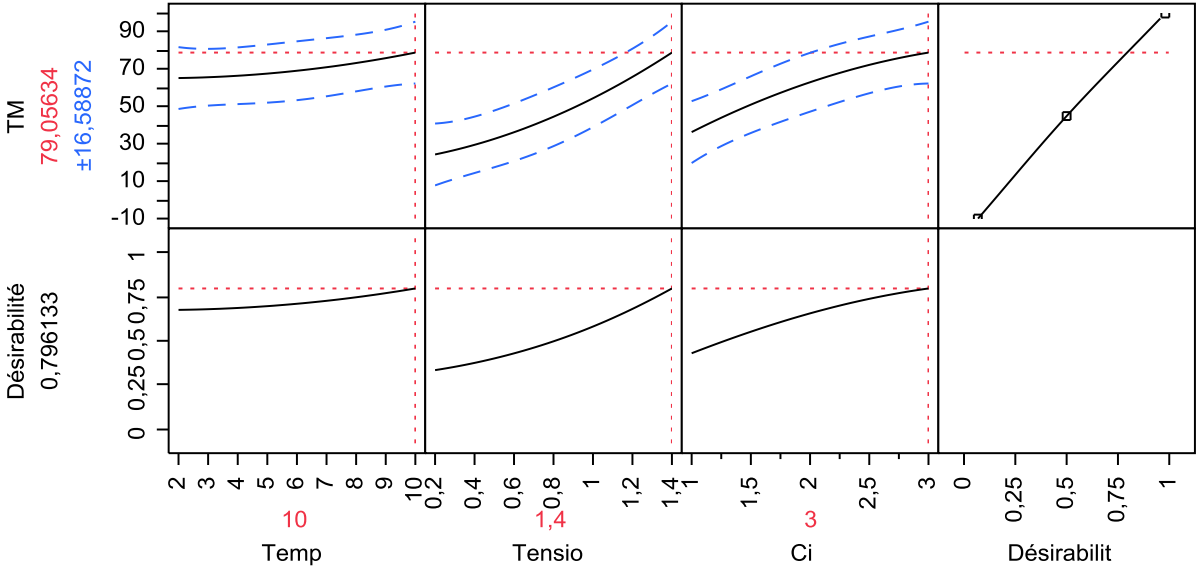


Figure 17: taux de mortalité optimisé en conditions de 10min/1.4V/3*105cell *ml-1

Etant donné que les facteurs dont l'influence sur la réponse est la plus élevée sont la tension, la concentration cellulaire, ainsi que l'interaction temps-tension, afin de maximiser

le taux de mortalité il suffit d'utiliser les valeurs maximales des facteurs retenus pour notre étude.

Ainsi, pour une tension de 1,4 V, une concentration cellulaire de $3 \cdot 10^5$ cellules/ml et un temps d'exposition de 10 minutes, nous obtenons un taux de mortalité de 79,06 % (16,59).

2. interprétation des résultats

Une augmentation de la tension entraîne une augmentation du taux de mortalité des cellules, ceci est dû à l'augmentation du mouvement des ions présents sous l'action du champ électrique et par conséquent une augmentation des forces qui seront appliquées sur les membranes cellulaires, provoquant ainsi l'apparition de pores dans la membrane, puis une rupture de cette dernière, entraînant ainsi une mort cellulaire.

Pour des valeurs élevées de tension, nous avons constaté l'apparition d'un phénomène d'électrolyse. Ce phénomène peut augmenter le taux de mortalité mécaniquement, en effet, les bulles de gaz peuvent appliquer des forces sur les membranes cellulaires qui vont s'ajouter à celles qui sont attribuables aux mouvements des ions sous l'action du champ électrique.

Aussi, la présence d'ions Cl^- dans le milieu de culture peut entraîner la formation de Cl_2 gazeux par électrolyse. Ce gaz est toxique et peut contribuer à l'augmentation du taux de mortalité.

En plus de ces effets, nous avons également constaté que pour les tensions élevées, il y avait corrosion des électrodes. Ceci peut entraîner la libération d'ions qui peuvent être toxiques vis-à-vis des cellules ;

La température était contrôlée durant l'expérimentation. Aucune augmentation de cette dernière n'a été mesurée, ce qui veut dire que la mort cellulaire n'est pas due à des effets thermiques.

L'interaction entre les facteurs temps d'exposition et tension indique que pour les valeurs faibles de tension (dans la gamme retenue pour notre étude), la mort cellulaire n'est pas

appréciable et une augmentation du temps d'exposition ne permettrait pas d'augmenter cette dernière.

Ce n'est qu'à partir d'une valeur de 0,6 V qu'une augmentation du temps d'exposition permet d'augmenter le taux de mortalité.

Il est plus difficile d'expliquer l'influence de la concentration cellulaire sur le taux de mortalité. Il est probable que lors de la mort nécrotique des cellules, certaines molécules sont libérées dans le milieu et entraînent à leur tour la mort de cellules avoisinantes.

Conclusion

L'objectif fixé dans notre étude est de contribuer à une meilleure connaissance de l'effet du champ électrique sur les cellules cancéreuse RD.

Dans une première étape, nous avons pu mettre en œuvre le dispositif de l'étude, préparé les cellules cancéreuses RD et établir le plan d'expérience approprié à notre étude.

Dans une seconde étape, nous avons procédé aux essais du champ électrique sur les cellules cancéreuses RD tout en faisant varier la tension, la concentration cellulaire et le temps d'exposition au champ électrique.

A ce stade de l'étude, nous avons remarqué une relation directe entre le taux de mortalité des cellules cancéreuses RD et le champ électrique. Bien qu'il soit très difficile de déterminer le mécanisme responsable de la mort cellulaire, les résultats obtenus sont en faveur d'une mort nécrotique.

Les résultats du plan d'expérience ont montré que la tension, la concentration cellulaire ainsi que l'interaction entre la tension et le temps d'exposition ont une influence significative sur le taux de mortalité de la lignée cancéreuse RD. Ainsi, il a été montré qu'il est possible d'atteindre un taux de mortalité de 79,06% (± 16.59) pour une tension de 1.4 V, une concentration initiale de $3 \cdot 10^5$ cellules/ml et un temps d'exposition de 10 minutes.

En perspectives il s'agit de compléter par une étude plus approfondie sur d'autres cellules cancéreuses

Référence

Bibliographie

- André, F., & Mir, L. M. (2004). DNA electrotransfer: Its principles and an updated review of its therapeutic applications. *Gene Therapy*, *11*, S33–S42. <https://doi.org/10.1038/sj.gt.3302367>
- Azaïs, H., Mordon, S., & Collinet, P. (2017). Traitement des métastases péritonéales des cancers épithéliaux de l’ovaire par thérapie photodynamique. Limites et perspectives. *Gynecologie Obstetrique Fertilité et Senologie*, *45*(4), 249–256. <https://doi.org/10.1016/j.gofs.2017.02.005>
- Batista Napotnik, T., & Miklavčič, D. (2018). In vitro electroporation detection methods – An overview. *Bioelectrochemistry*, *120*, 166–182. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2017.12.005>
- Bazan Fernando (2014). Cancérogenèse et notion d’épidémiologie. <http://www.oncolie.fr/wp-content/uploads/2014/01/1-BAZAN-Fernando-CANCEROGENESE-EPIDEMIO-2014.pdf>.
- Cabarrot etienne. (2008). Epidémiologie, cancérogenèse, développement tumoral, classifications. <http://www.medecine.upstlse.fr/dcem3/module10/COURS%20CANCERO%20%20MODULE%2010.pdf>.
- Clair Poignard, Aude Silve. Différence de Potentiel Induite par un Champ Electrique sur la Membrane d’une Cellule Biologique. 3EI, Société de l’Electricité, de l’Electronique et des TIC, 2014, 3EI, pp.11- 20.
- Klervi Even-DESRUMEAUX (2012). Développement d’outils innovants pour le diagnostic et la découverte de cibles dans le cancer du sein. Thèse de doctorat en biologie. Aix-Marseille Université.
- Elisabeth MOERSCHEL. (2010). Formation en Physiopathologie ST2S. *Physiopathologie*, 1–15.
- Filler, A. (2009). The History, Development and Impact of Computed Imaging in Neurological Diagnosis and Neurosurgery: CT, MRI, and DTI. *Nature Precedings*, (May 2010).

<https://doi.org/10.1038/npre.2009.3267.5>

IPA (2017). Trypsination et numération cellulaires, Institut Pasteur d'Algérie, laboratoire des Entérovirus (Laboratoire de référence OMS pour la Poliomyélite) "EV1" version numéro 6. 1-10p.

Garofalo, M., Saari, H., Somersalo, P., Crescenti, D., Kuryk, L., Aksela, L., ... Yliperttula, M. (2018). Antitumor effect of oncolytic virus and paclitaxel encapsulated in extracellular vesicles for lung cancer treatment. *Journal of Controlled Release : Official Journal of the Controlled Release Society*, 283(December 2017), 223–234. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.05.015>

Haanen, J. B. A. G., Carbone, F., Robert, C., Kerr, K. M., Peters, S., Larkin, J., & Jordan, K. (2017). Management of toxicities from immunotherapy: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†. *Annals of Oncology*, 28(suppl_4), iv119-iv142. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx225>

Langdon, S. P. (2004). *Cancer Cell Culture Edited by. Methods*. <https://doi.org/10.1385/1592594069>

Miller, D. L., Smith, N. B., Bailey, M. R., Czarnota, G. J., Hynynen, K., & Makin, I. R. S. (2012). Overview of therapeutic ultrasound applications and safety considerations. *Journal of Ultrasound in Medicine*, 31(4), 623–634. <https://doi.org/10.7863/jum.2012.31.4.623>.

Morel Nicole (2008), Généralité sur le cancer. https://www.chu-besancon.fr/3c/generalites_sur_le_cancer.pdf.

Nesslany Fabrice (2013). Etudes de cancerogénèse. http://www.biomedicale.parisdescartes.fr/enseignement/toxico/M2THERV_2013_2014/documents/TC1/TC1%20Nesslany%20Etudes%20de%20canc%C3%A9rogen%C3%A8se.pdf. Institut Pasteur de Lille

Normand Charline (2013). Processus tumoraux. Centre Léon Bérard-IHOP, <http://studylibfr.com/doc/4353677/processus-tumoraux---charline-normand-1-42>.

Nuccitelli, R., Pliquett, U., Chen, X., Ford, W., James Swanson, R., Beebe, S. J., ... Schoenbach,

- K. H. (2006). Nanosecond pulsed electric fields cause melanomas to self-destruct. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 343(2), 351–360. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.02.181>
- OMS (2004). Polio laboratory manuel, 4th edition. World Health Organization, Geneve, Switzerland. 1-166p.
- Sadik, M. M., Yu, M., Zheng, M., Zahn, J. D., Shan, J. W., Shreiber, D. I., & Lin, H. (2014). Scaling relationship and optimization of double-pulse electroporation. *Biophysical Journal*, 106(4), 801–812. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2013.12.045>
- Sengupta, S., & Balla, V. K. (2018). A review on the use of magnetic fields and ultrasound for non-invasive cancer treatment. *Journal of Advanced Research*, (June). <https://doi.org/10.1016/j.jare.2018.06.003>
- Villemejeane Julien (2010). Étude des effets d’impulsions électriques ultra-courtes sur des cellules vivantes : mise au point de nouveaux outils, développement théorique et premières applications in vivo. Automatique / Robotique. École normale supérieure de Cachan - ENS Cachan, 2010. Français.

Webographie

- [1] <http://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
- [2] <http://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
- [3] www.e-cancer.fr/professionnels de santé.
- [4] https://www.ligue-cancer.net/sites/default/files/brochures/traitements-cancers-2011-06_0.pdf
- [5] <http://www.centre-paul-strauss.fr/comprendre-le-cancer/histoire-et-definition>.
- [6] <https://sites.google.com/site/canceretmortcellulaire/1-le-cancer-dans-le-monde/les-differents-cancers>.
- [7] http://campus.cerimes.fr/anatomie-pathologique/enseignement/anapath_8/site/html/cours.pdf.
- [8] http://194.167.35.92/enseignement/cycle_2/MIB/Ressources_locales/cancero/MIB_cancero_138_cell_kc_sept2004.pdf
- [9] https://www.bio-top.net/Schemas/Cell_cancereuses.gif
- [10] [https://www.cancer.be/sites/default/files/publication/4.2.5%20-%20Les%20principaux%20traitements%20\(FOL%2013.06\).pdf](https://www.cancer.be/sites/default/files/publication/4.2.5%20-%20Les%20principaux%20traitements%20(FOL%2013.06).pdf)
- [11] <http://www.chu-nimes.fr/cancerologie/le-cancer-et-ses-traitements.html?PHPSESSID=be63a0612351719f149026a2f568942b>
- [12] [https://www.docvadis.fr/files/all/AG_wapxsSj8yuvy5yHv8ig/les différents types de traitements attachedfile_01053.pdf](https://www.docvadis.fr/files/all/AG_wapxsSj8yuvy5yHv8ig/les%20diff%C3%A9rents%20types%20de%20traitements%20attachedfile_01053.pdf).
- [13] <http://cancerologie.chru-lille.fr/patients/patients/Comprendrelachimiotherapie.pdf>
- [14] [http://cancerologie.chru-lille.fr/patients/patients/Comprendrelaradiotherapie\(1\).pdf](http://cancerologie.chru-lille.fr/patients/patients/Comprendrelaradiotherapie(1).pdf)
- [15] http://campus.cerimes.fr/anatomie-pathologique/enseignement/anapath_8/site/html/cours.pdf
- [16] <https://www.unitheque.com/UploadFile/DocumentPDF/E/L/HUQG-9782100712342.pdf>
- [17] [Electrolysetheorie%20-%20DF-2017.pdf](#).