

Électroporation et électrochimiothérapie

Marie Breton, Antoine Azan et Lluís M. Mir

Résumé L'interaction entre un champ électrique impulsionnel et les cellules biologiques induit la déstabilisation de la membrane plasmique menant à sa perméabilisation (permettant par exemple l'internalisation de molécules externes aux cellules biologiques). Cette interaction physico-biologique a de nombreuses applications, en particulier dans le domaine médical avec l'électrochimiothérapie. Cet article présente des travaux récents sur les mécanismes sous-jacents de l'électroporation ainsi que les développements récents de l'électrochimiothérapie.

Mots-clés **Électroporation, électrochimiothérapie, impulsion électrique, membrane plasmique, traitement anticancéreux.**

Abstract **Electroporation and electrochemotherapy**
The main consequence of the interaction between cells and pulsed electric fields is the destabilization of the plasma membrane inducing its permeabilisation (allowing for example the uptake of external molecules by biological cells). This biophysical interaction leads to several applications, especially in medicine with the electrochemotherapy. In this article, recent new developments are presented concerning electrochemotherapy and studies to understand the underlying mechanisms of electroporation.

Keywords **Electroporation, electrochemotherapy, pulsed electric field, plasma membrane, anti-cancerous treatment.**

Électroporation

Principes et applications

La membrane plasmique joue un rôle primordial dans la régulation du transport de molécules nécessaires au métabolisme cellulaire. Suite à une exposition à un champ électrique impulsionnel, cette membrane est déstabilisée, menant à sa perméabilisation, ce qui permet la diffusion de molécules non perméantes (*figure 1*). Ce phénomène, appelé « électroperméabilisation » ou « électroporation » [1] a permis le développement d'applications pour la médecine (électrochimiothérapie, électrotransfert de gènes) et l'industrie (extraction de jus, stérilisation de liquides).

Étude des mécanismes sous-jacents

Les mécanismes sous-jacents de l'électroporation ne sont toujours pas connus précisément. Plusieurs études récentes ont abordé ce phénomène. Tout d'abord, l'étude de la fréquence de répétition des impulsions électriques sur la perméabilisation a mis en avant le concept de désensibilisation de la membrane plasmique [2]. Des mesures de bio-impédance ont révélé que l'efficacité de la perméabilisation diminuait lorsque la fréquence de répétition augmentait. Il est connu que chaque impulsion électrique génère des défauts structuraux au niveau des pôles de la membrane. Ces défauts ne sont pas fixes à la surface des cellules [3]. Ainsi, l'hypothèse de désensibilisation propose que le nombre de défauts générés par une deuxième impulsion électrique soit plus faible et donc la perméabilisation moins efficace si le temps entre les deux impulsions électriques ne permet pas à ces défauts de s'éloigner des pôles.

Un système-modèle de la membrane plasmique couramment utilisé est la vésicule géante unilamellaire (GUV) qui est composée par une bicouche de phospholipides. Une étude mécanistique comparant expérience et simulation en dynamique moléculaire a élucidé les différentes étapes d'internalisation d'un ARN interférent (siARN) dans une GUV soumise à une seule impulsion électrique de 10 ns [4]. L'internalisation du siARN au travers d'un pore de la membrane créé par le choc électrique se fait par des interactions entre les cholines des têtes lipidiques membranaires et les phosphates du siARN (*figure 2*).

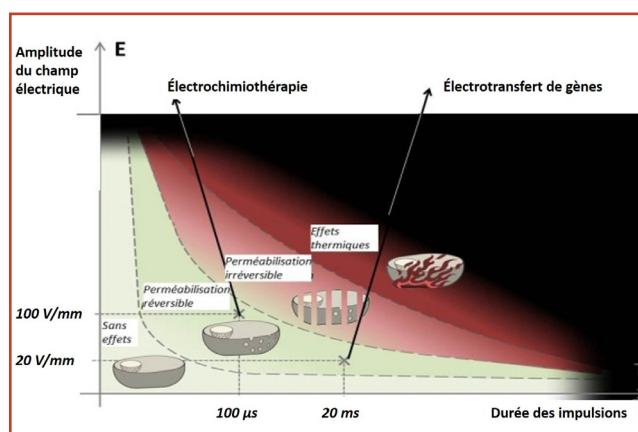


Figure 1 - Schéma des différents effets obtenus lors de l'application d'une impulsion électrique sur une cellule (d'après Aude Silve, thèse universitaire, 2011).

Électrochimiothérapie

Principes et rappels

L'application thérapeutique la plus développée et la plus répandue de l'électroperméabilisation est l'électrochimiothérapie (ECT) [5-6]. Il s'agit, en utilisant des impulsions électriques, d'améliorer l'efficacité antitumorale d'une chimiothérapie peu ou non perméante mais possédant une cytotoxicité intrinsèque élevée (*figure 3*).

Le premier essai clinique de l'ECT eut lieu en 1991 [7] et en 2006, la publication de l'étude ESOPE [8] a établi les procédures opérationnelles standard pour son utilisation en clinique. Au cours de cette étude, l'ECT s'est montrée extrêmement efficace sur des tumeurs d'origine histologique très variée : 85 % ont répondu complètement au traitement sans aucune récurrence même à long terme. Cette technique est actuellement utilisée en clinique dans plus de 130 centres contre le cancer, principalement pour le traitement de métastases cutanées et sous-cutanées. L'ECT est une technique sélective car elle n'affecte que les cellules en division qui sont principalement des

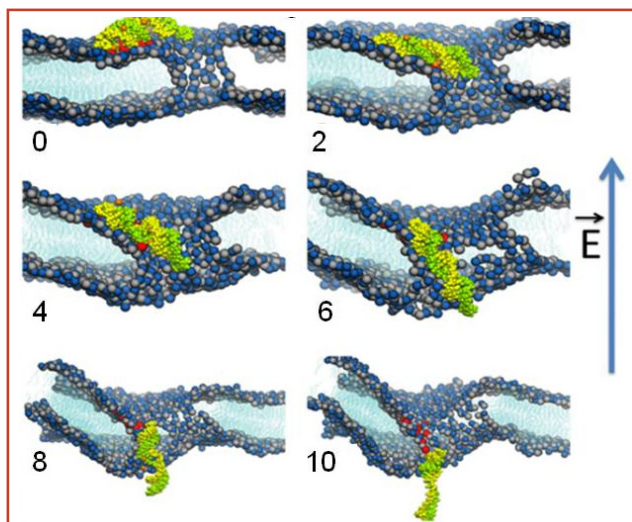


Figure 2 - Images à différents temps (en nanosecondes) d'une simulation en dynamique moléculaire des mécanismes d'interaction entre le siARN et le pore dans une vésicule géante unilamellaire (GUV) pendant l'impulsion électrique [4].

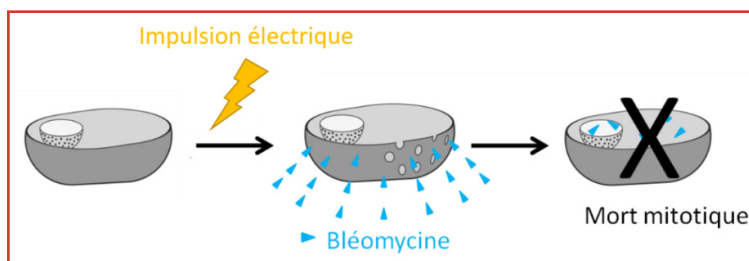


Figure 3 - Schéma de l'électrochimiothérapie utilisant de la bléomycine.

cellules tumorales. Le traitement par ECT présente également deux types d'effets adjuvants très intéressants. Premièrement, une diminution transitoire du flux sanguin, qui a pour conséquence une hausse de l'internalisation de la chimiothérapie et une absence de saignements. De plus, la mort des cellules endothéliales qui forment la couche intérieure des vaisseaux tumoraux conduit à la destruction des vaisseaux sanguins et affame la tumeur. Le deuxième effet adjuvant est une stimulation du système immunitaire notamment mis en évidence par l'apparition, après traitement, d'un œdème local et le recrutement de cellules immunitaires [9].

Développements récents

• Immunogénicité de la mort cellulaire due à l'ECT

Les cellules cancéreuses mortes du fait du traitement par ECT semblent agir comme un vaccin en induisant une réponse immunitaire cytotoxique contre les cellules cancéreuses survivantes. Cette théorie a été récemment vérifiée en testant l'effet immunogène de l'ECT dans le modèle des cellules de cancer du colon CT26. L'injection de cellules cancéreuses traitées par ECT (et donc mourantes) déclenche une réponse immunitaire antitumorale qui permet d'éviter la prise tumorale de cellules cancéreuses viables injectées *a posteriori*. Le système immunitaire peut donc aider à détruire localement les cellules cancéreuses qui auraient échappé à l'effet antitumoral direct de l'ECT contribuant à sa très bonne efficacité locale [9]. Par ailleurs, l'ECT pourrait générer une réponse immunitaire anticancéreuse systémique qui devrait permettre de combattre les métastases et d'éviter les récurrences. Des essais précliniques ont montré que le traitement combiné permet d'améliorer la réponse des tumeurs et d'avoir des effets à distance sur des nodules tumoraux non traités par ECT.

• Essais sur le traitement de tumeurs profondes, nouvelles électrodes

Les développements récents de l'ECT portent sur le traitement de tumeurs profondes qui nécessitent de mettre en place des procédures

opératoires complexes. Il est donc apparu nécessaire de planifier les traitements à l'avance grâce à des logiciels dédiés permettant d'optimiser le positionnement des électrodes et les paramètres des impulsions électriques. De nouvelles électrodes pour le traitement de tumeurs profondes ont également été développées : des électrodes aiguilles à géométrie variable (pour les métastases du foie et des os, les sarcomes des tissus mous et globalement toutes les tumeurs profondes de diamètre supérieur à 3 cm), des électrodes endoscopiques (pour les tumeurs colorectales et œsophagiennes), et des électrodes rétractables (pour les tumeurs du cerveau). Deux essais cliniques de phase I/II ont été effectués sur des métastases osseuses et sur des métastases colorectales du foie. Ces essais ont démontré la faisabilité et la sécurité de l'ECT pour ces organes profonds. Les nodules tumoraux ont disparu ou diminué de taille et la qualité de vie des patients a été améliorée. Il apparaît maintenant nécessaire de mettre en place les procédures opératoires standard pour ces nouveaux types de traitements.

Références

- [1] Teissie J., Golzio M., Rols M.P., Mechanisms of cell membrane electroporation: a minireview of our present (lack of?) knowledge, *Biochim. Biophys. Acta*, **2005**, 1724, p. 270.
- [2] Silve A., Guimerà Brunet A., Al-Sakere B., Ivorra A., Mir L.M., Comparison of the effects of the repetition rate between microsecond and nanosecond pulses: electroporation-induced electro-desensitization?, *Biochim. Biophys. Acta*, **2014**, 1840, p. 2139.
- [3] Almeida P.F.F., Vaz W.L.C., Thompson T.E., Lipid diffusion, free area, and molecular dynamics simulations, *Biophys. J.*, **2005**, 88, p. 4434.
- [4] Breton M., Delemotte L., Silve A., Mir L.M., Tarek M., Transport of siRNA through lipid membranes driven by nanosecond electric pulses: an experimental and computational study, *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, 134, p. 13938.
- [5] Breton M., Mir L.M., Microsecond and nanosecond electric pulses in cancer treatments, *Bioelectromagnetics*, **2011**, 33, p. 106.
- [6] Mir L.M., Bases and rationale of the electrochemotherapy, *Ejc Suppl.*, **2006**, 4, p. 38.
- [7] Mir L.M. *et al.*, Electrochemotherapy, a new antitumor treatment: first clinical trial, *C. R. Acad. Sci. III*, **1991**, 313, p. 613.
- [8] Mir L.M. *et al.*, Standard operating procedures of the electrochemotherapy: instructions for the use of bleomycin or cisplatin administered either systemically or locally and electric pulses delivered by the Cliniporator™ by means of invasive or non-invasive electrodes, *Eur. J. Cancer Suppl.*, **2006**, p. 14.
- [9] Calvet C.Y., Famin D., André F.M., Mir L.M., Electrochemotherapy with bleomycin induces hallmarks of immunogenic cell death in murine colon cancer cells, *Oncoimmunology*, **2014**, 3, e28131.



M. Breton



A. Azan



L.M. Mir

Marie Breton est post-doctorante, Antoine Azan, doctorant, et Lluís M. Mir (auteur correspondant), directeur de recherche au CNRS, directeur de l'UMR 8203 « Vectorologie et thérapeutiques anticancéreuses » du CNRS, Université Paris-Sud et Gustave Roussy¹⁻²⁻³. Il est également directeur du Laboratoire européen associé sur l'Électroporation en biologie et médecine (LEA EBAM) du CNRS et huit autres institutions en France et Europe.

¹ Université Paris-Sud, Laboratoire de Vectorologie et thérapeutiques anticancéreuses, UMR 8203, F-91405 Orsay.

² CNRS, Laboratoire de Vectorologie et thérapeutiques anticancéreuses, UMR 8203, F-94805 Villejuif.

³ Gustave Roussy, Laboratoire de Vectorologie et thérapeutiques anticancéreuses, UMR 8203, F-94805 Villejuif.
Courriel : luis.mir@gustaveroussy.fr