HAL
open science

Différence de Potentiel Induite par un Champ Electrique sur la Membrane d'une Cellule Biologique

Clair Poignard, Aude Silve

▶ **To cite this version:**

Clair Poignard, Aude Silve. Différence de Potentiel Induite par un Champ Electrique sur la Membrane d'une Cellule Biologique. La Revue 3E.I, 2014, 3EI, 75, pp.11-20. hal-00977590

HAL Id: hal-00977590

https://inria.hal.science/hal-00977590

Submitted on 17 Apr 2014

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Différence de Potentiel Induite par un Champ Electrique sur la Membrane d'une Cellule Biologique

C.POIGNARD[1], A.SILVE[2]
[1]Inria Bordeaux & CNRS UMR 5251, Université de Bordeaux, France
[2]Institute for Pulsed Power and Microwave Technology, Karlsruhe Institute of Technology, Allemagne

Résumé : Cet article présente un modèle électrique simple de cellule biologique permettant de calculer la tension transmembranaire d'une cellule soumise à un champ électrique extérieur. Dans un premier temps, l'approximation par circuit électrique, qui constitue une approche intuitive du problème, est présentée. L'article indique ensuite comment calculer rigoureusement la tension transmembranaire en remplaçant la membrane cellulaire de faible épaisseur par une surface d'épaisseur nulle avec des conditions de transmission approchées. Dans le cadre de cette approximation, la formule explicite de la tension transmembranaire pour une cellule sphérique est démontrée. Ceci permet de mettre en évidence l'influence de la géométrie et de l'orientation du champ électrique.

1. Introduction

Les cellules biologiques sont des objets complexes. Un élément essentiel de leur constitution est la membrane qui les délimite, et joue à la fois le rôle de barrière et de filtre.
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.
La compréhension des interactions entre le champ électrique et l'objet biologique est indispensable au développement des applications. Dans ce cadre, le calcul du champ électrique induit par un champ extérieur dans les cellules (et en particulier au niveau de la membrane) est un enjeu important. L'objectif de cet article est de présenter les modèles électriques permettant ce calcul.

Notations générales
Dans l'ensemble de l'article, les vecteurs sont notés en gras.
La perméabilité et la permittivité du vide sont notées respectivement μ_0 et ε_0. Leurs valeurs en unités S.I. sont :

$$\mu_0 = 4\pi\ 10^{-7}$$

$$\varepsilon_0 = \frac{1}{36\pi}\ 10^{-9}$$

2. Le modèle de Fear et Stuchly

A l'aide de mesures d'impédance macroscopiques effectuées sur des organes *ex-vivo* (les travaux de Gabriel et al. [5], [6] et [7] sont actuellement la référence la plus utilisée), Fear, Foster, Schwan et Stuchly (voir [2], [3], [4] et [13] par exemple) ont extrapolé un modèle électromagnétique simplifié de la cellule. Dans ce modèle, la cellule biologique est considérée comme un matériau électriquement hétérogène. On distingue trois milieux, chacun étant considéré comme homogène :

-l'intérieur de la cellule, appelé cytoplasme, dont la dimension caractéristique $\boldsymbol{L}$ varie de 1 à quelques micromètres (µm) suivant les cellules.

-la membrane qui délimite la cellule. Son épaisseur $\boldsymbol{h}$ est de l'ordre de quelques nanomètres (nm).

-le milieu extérieur

Le cytoplasme et le milieu extérieur sont des milieux ioniques. Les ions leurs confèrent une conductivité relativement élevée. Le cytoplasme présente une conductivité de l'ordre de 1 Siemens par mètre (S/m). La conductivité du milieu extérieur est, dans la plupart des cas, du même ordre de grandeur. La conductivité de la membrane, au contraire, est beaucoup plus faible et se situe typiquement entre 10^{-7} S/m et 10^{-5} S/m, suivant le type de cellule. Les permittivités relatives sont respectivement estimées à 80 dans le cytoplasme et le milieu extracellulaire, et autour de 10 dans la membrane. La perméabilité magnétique dans les trois domaines est égale à celle du vide, μ_0. Cette composante magnétique n'aura cependant pas d'influence sur les modèles présentés dans le cadre de cet article. Les paramètres électriques de ce modèle sont résumés sur la ***Figure 1***. L'ensemble des ordres de grandeur sont résumés dans le **Tableau 1**. Ce modèle est valable pour une gamme de fréquences allant du hertz à quelques gigahertz [11].

Tableau 1 : *résumé des ordres de grandeur des paramètres électriques et géométriques d'une cellule.*

σ_c, σ_e	1 S/m
σ_m	10^{-7} à 10^{-5} S/m
$\varepsilon_c, \varepsilon_e$	$10.\varepsilon_0$
ε_m	$80.\varepsilon_0$
h	5 nm
L	20 µm

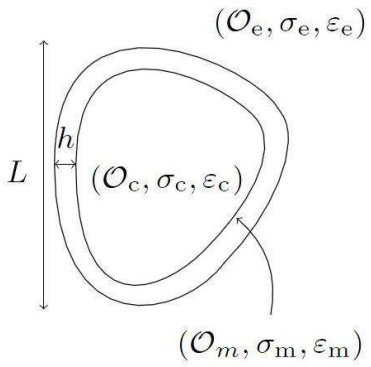

Figure 1 *: Modèle électrique de la cellule, d'après Schwan, Fear, Stuchly, et al. Le cytoplasme de la cellule $\mathcal{O}_c$ est entouré de la membrane $\mathcal{O}_m$ d'épaisseur h. La cellule est plongée dans le bain extracellulaire noté $\mathcal{O}_e$.*

Notons que les échanges (en particulier les échanges ioniques qui constituent des courants) entre les différentes cellules ne sont pas pris en compte, de même que les échanges biologiques actifs entre l'intérieur de la cellule et le milieu extracellulaire. L'analyse du modèle de Fear et Stuchly est cependant très importante, car elle constitue une première approche dans l'étude de la répartition des champs dans une cellule soumise à un champ électrique extérieur.

2.1. Equations de l'électro-quasi statique

La loi de Maxwell-Ampère et la loi d'Ohm, dans un milieu de conductivité σ et de permittivité ε, permettent d'expliciter le rotationnel de l'induction magnétique $\boldsymbol{H}$ en fonction du champ électrique selon l'équation 2.1. Le rotationnel de $\boldsymbol{H}$ est égal à la somme des courants de déplacement et des courants ohmiques dans le milieu (respectivement premier et second terme de droite de l'équation 2.1). Les courants ohmiques sont également appelés courants de conduction.

$$\boldsymbol{rot\, H} = \varepsilon \frac{d\boldsymbol{E}}{dt} + \sigma \boldsymbol{E} \qquad (2.1)$$

Par ailleurs, l'équation de Maxwell-Faraday 2.2 relie le rotationnel du champ électrique à l'induction magnétique et à la perméabilité magnétique μ.

$$\boldsymbol{rot\, E} = -\mu \frac{d\boldsymbol{H}}{dt} \qquad (2.2)$$

L'approximation électro-quasi statique consiste à négliger les variations temporelles de l'induction magnétique, ainsi :

$$\boldsymbol{rot\, E} \sim 0$$

On peut alors écrire que le champ $\boldsymbol{E}$ dérive d'un potentiel électrique V (ceci est vrai pour tout champ vectoriel dont le rotationnel est nul). Selon la notation classique, on peut ainsi écrire l'équation 2.3.

$$\boldsymbol{E} = -\boldsymbol{grad}\, V \qquad (2.3)$$

En prenant la divergence de l'équation 2.1 et en remplaçant le champ électrique E par son expression en fonction du potentiel électrique, on en déduit la formulation électro-quasi statique :

$$\frac{\partial}{\partial t} div(\varepsilon . \boldsymbol{grad} V) + div(\sigma . \boldsymbol{grad} V) = 0 \qquad (2.4)$$

Comme les propriétés diélectriques ($\varepsilon\ et\ \sigma$) sont constantes dans chacun des domaines, on en déduit que dans chacun des domaines $\mathcal{O}_e$, $\mathcal{O}_m$ et $\mathcal{O}_c$:

$$\varepsilon \frac{\partial}{\partial t} div(\boldsymbol{grad} V) + \sigma div(\boldsymbol{grad} V) = 0$$

On introduit ici la notation Δ pour désigner le Laplacien. Le Laplacien vérifie :

$$\Delta \mathrm{V} = div(\boldsymbol{grad} V)$$

Avec cette convention, l'équation électro-quasi statique 2.4 peut s'écrire sous la forme suivante :

$$\varepsilon \frac{\partial \Delta \mathrm{V}}{\partial t} + \sigma \Delta \mathrm{V} = 0$$

Ainsi, dans chaque sous domaine $\mathcal{O}_e$, $\mathcal{O}_m$ et $\mathcal{O}_c$, le Laplacien du potentiel $\Delta \mathrm{V}(\mathrm{t}, \mathrm{x})$ qui est fonction du temps t et des coordonnées d'espace x (on note x par souci de simplicité mais ΔV dépend à priori des trois dimensions de l'espace) peut s'écrire sous la forme:

$$\Delta \mathrm{V}(\mathrm{t}, \mathrm{x}) = \Delta \mathrm{V}(0, \mathrm{x}) \mathrm{e}^{-\mathrm{t}\sigma/\varepsilon} \text{ pour } t > 0 \qquad (2.5)$$

$\Delta \mathrm{V}(0, \mathrm{x})$ désigne le Laplacien du potentiel à l'instant initial t=0. Si l'on suppose que la cellule est à l'état d'équilibre à l'instant initial, le potentiel satisfait l'équation électrostatique, et alors dans chaque sous domaine on a $\Delta \mathrm{V}(0, \mathrm{x}) = 0$. Ainsi l'équation 2.5 devient :

$$\Delta \mathrm{V}(\mathrm{t}, \mathrm{x}) = 0 \text{ pour } t > 0$$
dans $\mathcal{O}_e$, $\mathcal{O}_m$ et $\mathcal{O}_c$, respectivement

Dans chaque sous domaine, le Laplacien du potentiel est nul. On dit que le potentiel est harmonique. En coordonnées cartésiennes par exemple, cette équation s'écrit :

$$\Delta V = \frac{\partial^2 V}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 V}{\partial y^2} + = \frac{\partial^2 V}{\partial z^2} = 0 \qquad (2.6)$$

A partir de cette équation il est possible de calculer les effets d'un champ électrique sur une cellule en déterminant le potentiel électrique en tout point de la cellule. Cette équation est valable dans chaque sous domaine $\mathcal{O}_e$, $\mathcal{O}_m$ et $\mathcal{O}_c$. Pour résoudre le problème, il faut préalablement déterminer les conditions de transmission entre chaque domaine. Ces conditions fixent l'évolution temporelle du potentiel. En effet, dans l'équation précédente (2.6), valable dans chaque sous domaine, le temps n'intervient pas. Il intervient

seulement dans les conditions de transmission définies dans la suite de cet article.

2.2. Les courants de déplacement dans la membrane.

Afin de simplifier les équations, nous pouvons évaluer si les courants de déplacement sont négligeables devant les courants de conduction. L'équation de Maxwell-Ampère en régime harmonique s'écrit selon l'équation 2.5. f désigne la fréquence du phénomène (en hertz [Hz]=[s^{-1}]) et i désigne le nombre imaginaire pur. Le premier terme à droite de l'égalité ($2i\pi f\varepsilon\boldsymbol{E}$) correspond aux courants de déplacement. Le second ($\sigma\boldsymbol{E}$) aux courants de conduction.

$$\boldsymbol{rot\ H} = (2i\pi f\varepsilon + \sigma)\boldsymbol{E} \qquad (2.5)$$

Pour savoir si les courants de déplacement sont négligeables on doit comparer les quantités $2\pi f\varepsilon$ et σ. Dans le cytoplasme et dans le milieu extra-cellulaire, on obtient :

$$\frac{2\pi\varepsilon_{c,e}}{\sigma_{c,e}} \sim 4.45 \cdot 10^{-9}\ s$$

Ainsi, jusqu'à une centaine de méga-Hertz, l'inégalité suivante est respectée :

$$2\pi f\varepsilon_{c,e} \ll \sigma_{c,e}$$

Ceci implique que, jusqu'à une centaine de méga-Hertz, les courants de déplacement dans le cytoplasme et dans le milieu extérieur peuvent être négligés. En revanche, dans la membrane, nous obtenons :

$$\frac{2\pi\varepsilon_m}{\sigma_m} \sim 5.6 \cdot 10^{-3}\ s$$

Ainsi, dès 1 kHz, les courants de déplacement doivent être pris en compte, et on doit garder la formulation quasi-statique complète (équation 2.4)

3. La modélisation par circuit électrique équivalent

Une première modélisation simpliste consiste à construire un circuit équivalent au modèle de Fear et Stuchly en régime électroquasistatique. Un milieu décrit par une conductivité σ et une permittivité ε peut être représenté par une résistance et un condensateur en parallèle. Dans le cas du cytoplasme et du milieu extracellulaire, nous venons de justifier que les courants de déplacement peuvent être négligés. On peut donc les représenter chacun par une résistance: R_c respectivement R_e. Si par ailleurs on considère une impulsion de l'ordre de la microseconde, on peut négliger la conductivité σ_m de la membrane et donc modéliser cette dernière par un condensateur $2C_m$. Ce modèle est représenté sur la **Figure 2A**. La simplification du schéma électrique est représentée sur la **Figure 2B** (les deux condensateurs de membrane ont été regroupés en un seul de valeur C_m).

Lorsqu'un champ électrique statique d'amplitude E est appliqué sur une cellule de rayon R, la chute de potentiel $V_{cellule}$ de part et d'autre de la cellule peut être estimé à :

$$V_{cellule} = 2RE$$

En écrivant la loi d'ohm sur la cellule (voir les conventions sur la **Figure 2**B), on obtient :

$$V_{cellule} = V_m + R_c i_m = V_m + R_c C_m \frac{dV_m}{dt}$$

En régime statique on obtient donc :

$$V_{cellule} = V_m$$

La différence de potentiel $\delta\Psi_i$ induite sur la membrane est la moitié de cette tension, puisque C_m représente deux membranes. Ainsi, en première approximation, on obtient :

$$\delta\Psi_i = \frac{V_m}{2} = \frac{V_{cellule}}{2} = ER$$

Cette différence de potentiel est proportionnelle à l'amplitude du champ électrique E ainsi qu'au rayon de la cellule R. Notons que, d'après ce modèle, toute la membrane cellulaire se charge à la même valeur de tension transmembranaire: la direction du champ électrique et la forme de la cellule n'interviennent pas.

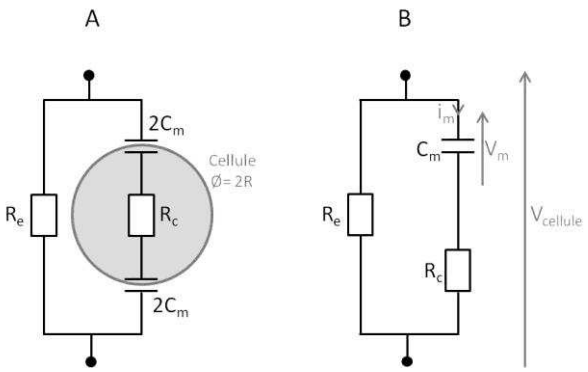

***Figure 2** : Modélisation de la cellule par circuit électrique équivalent*

4. Les équations du potentiel électrique dans la cellule

L'approche "circuit électrique" fait abstraction de la géométrie de la cellule. Si l'on veut tenir compte de ce facteur, il faut utiliser les équations aux dérivées partielles satisfaites par le potentiel électrique. Dans cette partie, nous récrivons de façon plus précise la formulation électro-quasi statique en explicitant les transmissions à travers les interfaces des différents milieux.

4.1. Notations

Etablissons tout d'abord les conventions de notations.
Le domaine extérieur est noté $\mathcal{O}_e$, le cytoplasme $\mathcal{O}_c$ et la membrane $\mathcal{O}_m$. On note respectivement Γ et Γ_h les bords intérieur et extérieur de la membrane. Le domaine total est appelé Ω et son bord $\partial\Omega$. On note indistinctement **n** la normale sortante aux surfaces Γ et Γ_h. Les notations sont résumées sur la **Figure 3**.

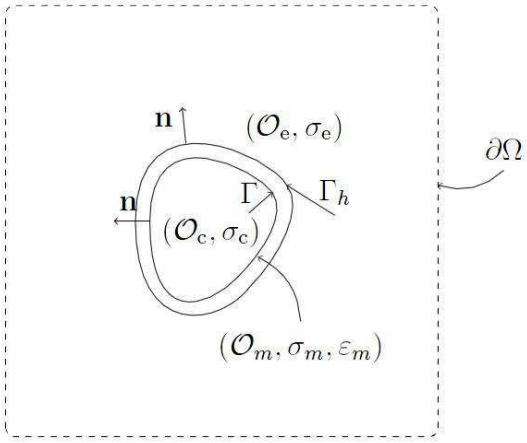

***Figure 3** : Notations géométriques. Le cytoplasme de la cellule $\mathcal{O}_c$ est entouré de la membrane $\mathcal{O}_m$. L'interface entre la membrane plasmique et le cytoplasme est notée Γ. Le bord extérieur de la membrane est Γ_h. La cellule est plongée dans le milieu extérieur $\mathcal{O}_e$. Le domaine total est noté Ω :*
$\Omega = \mathcal{O}_e \cup \mathcal{O}_m \cup \mathcal{O}_c \cup \Gamma_h \cup \Gamma$.

Pour toute fonction[1] f définie dans Ω, la notation $\partial_{\boldsymbol{n}} f|_s$ désigne le produit scalaire du gradient de f en un point de la surface $\mathcal{S}$ avec la normale extérieure à la surface $\mathcal{S}$ (il s'agit donc de la projection du gradient sur la normale):

$$\partial_{\boldsymbol{n}} f|_s = \boldsymbol{grad}(f)|_s . \boldsymbol{n}$$

L'indication $\Gamma^{\pm}$ désigne l'interface Γ vue soit depuis la membrane Γ^+, soit depuis le cytoplasme Γ^-, et de même, $\Gamma_h^{\pm}$ désigne l'interface Γ_h vue soit depuis la membrane Γ_h^- soit depuis le milieu extérieur Γ_h^+(voir **Figure 4**).

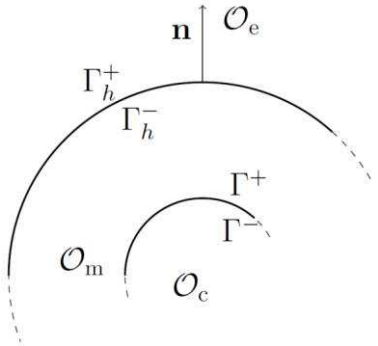

***Figure 4** : Notations, zoom au niveau de la membrane*

[1] Il faut que la fonction soit assez régulière.

Par ailleurs, si une fonction f est discontinue à travers Γ (resp. Γ_h), la discontinuité de f est notée :

$$[f]_\Gamma = f|_{\Gamma^+} - f|_{\Gamma^-}$$

4.2. Equation du potentiel électroquasistatique dans la cellule

Notons u le potentiel électrique. Dans chaque domaine $\mathcal{O}_e$, $\mathcal{O}_m$ et $\mathcal{O}_c$, (qui représentent respectivement le milieu extracellulaire, la membrane et le cytoplasme), ce potentiel est harmonique (voir la section 2) :

$$\Delta u = \frac{\partial^2 u}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 u}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 u}{\partial z^2} = 0$$

dans $\mathcal{O}_e$, $\mathcal{O}_m$ et $\mathcal{O}_c$

Il faut ensuite écrire les conditions de continuité du flux (c'est-à-dire du courant) à travers les interfaces Γ_h et Γ , qui représentent les deux bords de la membrane. A travers chacune de ces surfaces, la composante normale du courant total est continue, c'est à dire que la somme algébrique des composantes normales des intensités est nulle (le courant qui sort d'un côté rentre de l'autre côté !).

Considérons tout d'abord l'interface Γ_h entre la membrane et le milieu extérieur. Nous avons vu précédemment que les courants de déplacement sont négligeables dans le milieu extracellulaire. Ainsi la seule contribution au courant est une composante ionique. Au contraire, dans la membrane, le courant a une composante ionique et une composante diélectrique. L'équation de continuité du courant au niveau de l'interface Γ_h s'écrit donc :

$$\sigma_e \partial_{\boldsymbol{n}} u|_{\Gamma_h^+} = \varepsilon_m \frac{\partial}{\partial t} \partial_{\boldsymbol{n}} u|_{\Gamma_h^-} + \sigma_m \partial_{\boldsymbol{n}} u|_{\Gamma_h^-} \qquad (3.3)$$

Le raisonnement similaire sur l'interface Γ entre la membrane et le cytoplasme nous donne :

$$\sigma_c \partial_{\boldsymbol{n}} u|_{\Gamma^-} = \varepsilon_m \frac{\partial}{\partial t} \partial_{\boldsymbol{n}} u|_{\Gamma^+} + \sigma_m \partial_{\boldsymbol{n}} u|_{\Gamma^+} \qquad (3.4)$$

Par ailleurs, à travers ces deux surfaces, le potentiel est continu.
Pour pouvoir résoudre le problème, il faut également rajouter les conditions aux bords du domaine total. Une possibilité est de définir parfaitement le potentiel u sur le bord du domaine $\partial\Omega$:

$$u(t, x_{\partial\Omega}) = g(t, x_{\partial\Omega}) \quad \text{pour } t > 0 \quad \text{et} \quad x_{\partial\Omega} \in \partial\Omega$$

Ce type de conditions aux limites s'appelle des conditions de Dirichlet. Elles s'utilisent aussi lorsque l'on considère un domaine infini.
Dans le cas d'une cellule située entre deux électrodes proches de la cellule, une telle condition n'est pas

toujours remplie. En effet, le potentiel n'est défini que sur les électrodes, c'est-à-dire (dans une géométrie classique) sur deux bords du domaine. Si l'on note $\partial\Omega_D$ le bord du domaine constitué d'électrodes et $\partial\Omega_N$ le reste du bord, on peut écrire des conditions aux limites de type mixte:

$$u(t, x_{\partial\Omega_D}) = g(t, x_{\partial\Omega_D}) \quad \text{pour } t > 0 \quad \text{et } x_{\partial\Omega_D} \in \partial\Omega_D$$

$$\partial_{\boldsymbol{n}} u(t, x_{\partial\Omega_N}) = 0 \quad \text{pour } t > 0 \quad \text{et } x_{\partial\Omega_N} \in \partial\Omega_N$$

On a ainsi deux types de conditions aux limites. D'une part sur les électrodes $\partial\Omega_D$, on impose le potentiel (condition de type Dirichlet) pour génèrer le champ extérieur. D'autre part, sur le reste du bord du domaine ($\partial\Omega_N$), on impose que le gradient sortant du potentiel $\partial_{\boldsymbol{n}} u$ est nul. Ceci revient à empêcher que les lignes de champ sortent du domaine. Ce type de condition sur le gradient du potentiel est désigné sous le terme 'condition de Neumann'.

Dans la plupart des cas, les électrodes sont suffisamment loin de la cellule pour pouvoir considérer le domaine comme infini. Dans ce cas, on peut définir les conditions au bord du domaine entièrement en Dirichlet. C'est ce type de conditions aux limites que nous utiliserons par la suite.

Il est également indispensable de définir une condition initiale :

$$u(t = 0, x) = u_0(x)$$

Un exemple de condition initiale est de considérer qu'à $t = 0$, le potentiel u est nul en tout point :

$$u(t = 0, x) = 0 \text{ pour tout } x$$

Il est alors possible de résoudre le problème soit par un calcul analytique, si la géométrie est simple (cellule circulaire, sphérique...), soit en utilisant une méthode numérique de type éléments finis ou volumes finis.

4.3. La géométrie : un facteur important.

De nombreuses études numériques utilisant le modèle présenté à la ***Figure 1*** ont été menées pour étudier le champ électrique dans une cellule biologique [2], [12], [9], [11]. En 2001, Sebastian *et al*. ont montré, par des calculs éléments finis, l'influence de la géométrie sur la distribution du champ dans une cellule. En calculant les champs électromagnétiques par une méthode d'éléments finis pour des cellules de différentes formes (sphérique, rectangulaire et ellipsoïdale), ils ont ainsi mis en évidence l'importance de l'utilisation des modèles géométriquement réalistes de cellules biologiques [12], [9].
Ils se sont cependant heurtés à une difficulté majeure: le maillage de la fine membrane. En effet, pour un calcul précis, il est nécessaire d'avoir plusieurs mailles (au moins 3-4) dans la membrane. Etant donné que l'épaisseur de la membrane est de quelques nanomètres, et que la taille caractéristique du domaine, dans lequel la cellule est plongée, est de plusieurs dizaines de microns, il faut des mailles très petites (de l'ordre d'un dix-millième de la taille du domaine !). Ceci entraîne des coûts de calculs importants et des instabilités numériques. Pour s'assurer de la précision de leurs calculs par éléments finis, ils ont calculé les solutions analytiques de leur modèle pour des géométries simples. C'est là le point faible de ce type d'approche: comment calculer les champs électromagnétiques dans des cellules de forme quelconque, avec des membranes très fines ?

4.4. L'approximation de la membrane par des conditions de transmission.

Pour s'affranchir de ces inconvénients, il est possible de remplacer la membrane par une surface d'épaisseur nulle, à travers laquelle on écrit les transmissions du flux et du potentiel électrique approché: ainsi le problème du maillage de la fine couche est contourné.
L'idée est de faire apparaître la capacité surfacique C_m et la conductivité surfacique S_m de la membrane définies comme suit :

$$C_m = \frac{\varepsilon_m}{h}, \quad S_m = \frac{\sigma_m}{h}$$

En unité S.I., ces quantités sont du même ordre de grandeur que les conductivités du cytoplasme et du milieu extérieur, à la différence des valeurs S.I. de σ_m et ε_m qui étaient très petites.
Pour réécrire les conditions de transmission entre le milieu extracellulaire et le cytoplasme à travers la surface Γ, on utilise un développement de Taylor du potentiel à l'ordre 1 dans la membrane. C'est-à-dire qu'on utilise les approximations des dérivées normales de u sur Γ et $\Gamma_h$dans la membrane :

$$\partial_{\boldsymbol{n}} u|_{\Gamma_h^-} \sim \partial_{\boldsymbol{n}} u|_{\Gamma^+} \sim \frac{u|_{\Gamma_h^-} - u|_{\Gamma^+}}{h}$$

En utilisant les conditions de transmission (3.3) et (3.4), on en déduit :

$$\sigma_e \partial_{\boldsymbol{n}} u|_{\Gamma_h^+} \sim \varepsilon_m \frac{\partial}{\partial t}\left(\frac{u|_{\Gamma_h^-} - u|_{\Gamma^+}}{h}\right) + \sigma_m \left(\frac{u|_{\Gamma_h^-} - u|_{\Gamma^+}}{h}\right)$$

ce qui nous permet de retrouver la loi de Kirchoff classique d'un circuit électrique :

$$\sigma_e \partial_{\boldsymbol{n}} u|_{\Gamma_h^+} \sim C_m \frac{\partial}{\partial t}\left(u|_{\Gamma_h^-} - u|_{\Gamma^+}\right) + S_m\left(u|_{\Gamma_h^-} - u|_{\Gamma^+}\right)$$

et de même

$$\sigma_c \partial_{\boldsymbol{n}} u|_{\Gamma^-} \sim C_m \frac{\partial}{\partial t}\left(u|_{\Gamma_h^-} - u|_{\Gamma^+}\right) + S_m\left(u|_{\Gamma_h^-} - u|_{\Gamma^+}\right)$$

ce qui, par égalité, nous donne la continuité du flux entre le milieu extracellulaire et le milieu intracellulaire :

$$\sigma_e \partial_{\boldsymbol{n}} u|_{\Gamma_h^+} \sim \sigma_c \partial_{\boldsymbol{n}} u|_{\Gamma^-}$$

Ainsi, en notant $[v]_\Gamma$ le saut du potentiel à travers la surface Γ, le potentiel électrique approché v satisfait le système de deux équations suivant :

$$\Delta v = 0, \text{ dans } \mathcal{O}_e \text{ et dans } \mathcal{O}_c \tag{3.5a}$$

$$C_m \frac{\partial}{\partial t}[v]_\Gamma + S_m[v]_\Gamma = \sigma_c \partial_{\boldsymbol{n}} u|_{\Gamma^-} = \sigma_e \partial_{\boldsymbol{n}} u|_{\Gamma_h^+} \tag{3.5b}$$

avec les mêmes conditions initiales et aux bords que précédemment :

$$v|_{\partial\Omega} = g \quad \text{et} \quad v(0,x) = v_0(x) \tag{3.5c}$$

On observe que la membrane, bien qu'elle soit d'épaisseur nulle, possède une influence dans la transmission entre les milieux extra et intracellulaire.

5. Profil du potentiel transmembranaire dans une cellule sphérique soumise à un champ

Lorsque la cellule est sphérique, et si le domaine extérieur est beaucoup plus grand que la cellule (ce qui est le cas dans les expériences *in vitro*) il est possible de calculer explicitement la tension transmembranaire. L'idée est d'utiliser les harmoniques sphériques $(\boldsymbol{e}_r, \boldsymbol{e}_\varphi, \boldsymbol{e}_\theta)$ pour décomposer le potentiel. Les conventions des coordonnées sphériques sont indiquées sur la **Figure 5**.

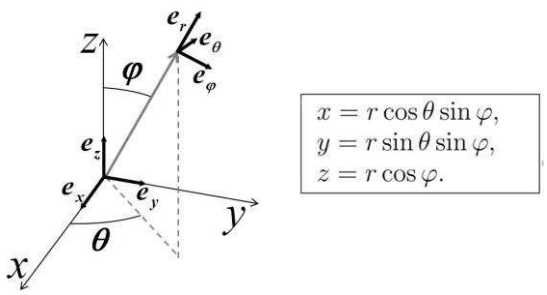

Figure 5 *: Convention pour les coordonnées sphériques. Les relations entre les deux systèmes de coordonnées sont indiquées dans l'encart.*

5.1. Cas d'un champ unidirectionnel

Pour simplifier, nous supposons que le domaine extracellulaire est infini. La cellule sphérique de rayon R est centrée sur l'origine du repère $(x = y = z = 0)$. Un champ électrique $\boldsymbol{E}(t)$ unidirectionnel orienté selon la direction $\boldsymbol{e_z}$ est appliqué (voir la représentation schématique sur la **Figure 6A**) :

$$\boldsymbol{E}(t) = E(t)\boldsymbol{e_z}$$

Ceci revient à dire que le potentiel vaut à l'infini (c'est-à-dire loin de la cellule) :

$$v(t,x,y,z) = -E(t)z$$

Soit en coordonnées sphériques $(\boldsymbol{e}_r, \boldsymbol{e}_\varphi, \boldsymbol{e}_\theta)$ et toujours à l'infini:

$$v(t,r,\varphi,\theta) = -E(t)r\cos\varphi$$

Le potentiel v satisfait l'équation (3.5a). En explicitant en coordonnées sphériques et en notant R le rayon de la cellule on obtient:

Pour tout $r > R$ ou $r \in (0,R)$,
et pour tout $(\theta,\varphi) \in (0,2\pi) \times (0,\pi)$

$$\Delta v = \frac{1}{r^2}\frac{\partial}{\partial r}\left(r^2\frac{\partial v}{\partial r}\right) + \frac{1}{r^2}\frac{\partial^2 v}{\partial \varphi^2} + \frac{1}{r^2 \sin^2\varphi}\frac{\partial^2 v}{\partial \theta^2} + \frac{1}{r^2 \tan\varphi}\frac{\partial v}{\partial \varphi} = 0 \tag{5.1a}$$

De même, la condition de transmission 3.5b en $r = R$ s'écrit:

$$C_m \frac{\partial}{\partial t}[v]_{\mathrm{r=R}} + S_m[v]_{\mathrm{r=R}} = \sigma_c \left.\frac{\partial v}{\partial r}\right|_{r=R^-} = \sigma_e \left.\frac{\partial v}{\partial r}\right|_{r=R^+} \tag{5.1b}$$

Enfin, les conditions initiales et aux limites s'écrivent:

$$\left.\begin{array}{c} v(0,r,\varphi,\theta) = v_0\cos\varphi \\ \text{et à l'infini} \\ v(t,r,\varphi,\theta) = -E(t)r\cos\varphi \end{array}\right\} \tag{5.1c}$$

En observant la projection du problème dans le plan xy il apparaît que la solution est invariante par rotation autour de l'axe $\boldsymbol{e}_\theta$ (observer la **Figure 6B**).

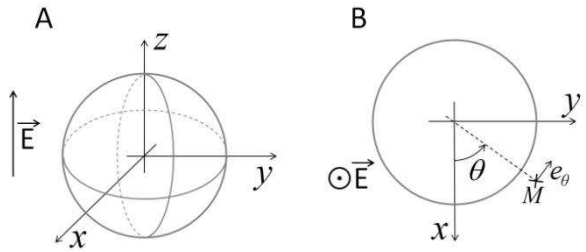

Figure 6 *: A- position de la cellule et direction du champ électrique. B- projection du problème dans le plan xy*

La solution du potentiel est donc indépendante de θ. Pour obtenir l'expression analytique du potentiel, on cherche v sous la forme d'une solution à variables séparées :

$$v(t,r,\varphi,\theta) = \alpha(r)\beta(t)\cos\varphi$$

En réinjectant dans l'équation 5.1a, on en déduit que dans chaque sous-domaine, la solution vérifie :

$$\frac{\beta(t)\cos\varphi}{r^2}\frac{d}{dr}\left(r^2\frac{d\alpha}{dr}\right) - \frac{\alpha(r)\beta(t)\cos\varphi}{r^2} - \frac{\alpha(r)\beta(t)\sin\varphi}{r^2\tan\varphi} = 0$$

Soit :

$$\beta(t)\cos\varphi\left(\frac{d^2\alpha}{dr^2}+\frac{2}{r}\frac{d\alpha}{dr}-2\frac{\alpha}{r^2}\right)=0$$

Cette équation différentielle en r admet une base de deux solutions : r et r^{-2}. Nous admettrons que l'expression analytique du potentiel v s'écrit sous la forme suivante (on peut chercher sous la forme générale mais elle se réduira à cette forme):

$$v=(A_c(t)-E(t))rcos\varphi\ ;\ \text{si}\ r\in(0,R)$$

$$v=\left(\frac{A_e(t)}{r^2}-\ E(t)r\right)cos\varphi\ ;\ \text{si}\ r>R$$

Notons $\delta\Psi_\mathrm{i}$ la tension transmembranaire induite par le champ électrique extérieur. Par convention en biologie, cette tension est le potentiel à l'intérieur moins le potentiel à l'extérieur. Ainsi :

$$\delta\Psi_\mathrm{i}=\ -[v]_{r=R}\ =\left(A_cR-\frac{A_e}{R^2}\right)cos\varphi$$

et en utilisant la continuité du flux à travers la membrane (équation 5.1b) on obtient:

$$\sigma_c\big(A_c-E(t)\big)cos\varphi\ \ =\sigma_e\left(-\frac{2}{R^3}A_e-E(t)\right)cos\varphi$$
$$=\ (-\sigma_eE(t)-2\sigma_eA_c)cos\varphi+\frac{2\sigma_e}{R}\delta\Psi_\mathrm{i}$$

Ainsi, A_c satisfait :

$$A_ccos\varphi=\frac{(\sigma_c-\sigma_e)E(t)cos\varphi+\frac{2\sigma_e}{R}\delta\Psi_\mathrm{i}}{\sigma_c+2\sigma_e}\qquad(5.2)$$

On en déduit ainsi l'équation satisfaite par $\delta\Psi_\mathrm{i}$:

$$C_m\frac{\partial\delta\Psi_\mathrm{i}}{\partial t}+\left(S_m+\frac{2\sigma_e\sigma_c}{R(\sigma_c+2\sigma_e)}\right)\delta\Psi_\mathrm{i}$$
$$=3\frac{\sigma_\mathrm{e}\sigma_\mathrm{c}}{\sigma_\mathrm{c}+2\sigma_\mathrm{e}}\mathrm{E(t)}cos\varphi$$

Notons τ_m le temps caractéristique de charge de la membrane :

$$\tau_m=\frac{RC_m}{RS_m+2\sigma_e\sigma_c/(\sigma_c+2\sigma_e)}$$

Ainsi, la tension transmembranaire $\delta\Psi_\mathrm{i}$ d'une cellule sphérique de rayon R soumise à un champ $\boldsymbol{E}(t)$ dans la direction $\boldsymbol{e_z}$ s'écrit :

$$\delta\Psi_\mathrm{i}(\mathrm{t},\varphi)=\mathrm{e}^{-\mathrm{t}/\tau_m}v_0cos\varphi$$
$$+\frac{3}{C_m}\frac{\sigma_\mathrm{e}\sigma_\mathrm{c}}{\sigma_\mathrm{c}+2\sigma_\mathrm{e}}\int_0^t\mathrm{e}^{-(\mathrm{t-s})/\tau_m}E(s)\,dscos\varphi$$

Si le champ est constant et si le potentiel initial v_0 est nul en tout point, on obtient la formule :

$$\delta\Psi_\mathrm{i}(\mathrm{t},\varphi)=\frac{3}{2}R\mathrm{E}\frac{\sigma_\mathrm{c}\sigma_\mathrm{e}\left(1-e^{-t/\tau_m}\right)cos\varphi}{\sigma_\mathrm{c}\sigma_\mathrm{e}+RS_m\,(\sigma_\mathrm{c}+2\sigma_\mathrm{e})/2}$$

5.2. Formule simplifiée et comparaison avec les mesures

En utilisant les ordres de grandeur donnés dans le **Tableau 1**, il apparaît que l'on peut le plus souvent négliger RSm devant $2\sigma_e\sigma_c/(\sigma_c+2\sigma_e)$. On en déduit alors une solution approchée :

$$\delta\Psi_\mathrm{i}(\mathrm{t},\varphi)\sim\frac{3}{2}REcos\varphi\left(1-e^{-t/\tau_m}\right)$$

Avec la constante de temps approchée :

$$\tau_m\sim\frac{RC_m(\sigma_c+2\sigma_e)}{2\sigma_e\sigma_c}$$

C'est cette forme très simplifiée de la solution que l'on trouve le plus souvent dans la littérature et que l'on appelle Equation de Schwan. On retrouve, comme dans l'approche circuit, que la tension transmembranaire induite est proportionnelle au rayon R de la cellule et à l'amplitude E du champ électrique. La dépendance en R a des conséquences pratiques directes. En effet, pour obtenir une certaine différence de potentiel sur la membrane d'une cellule donnée, il faudra un champ électrique d'autant plus intense que la cellule est petite. On observe par ailleurs que la tension n'est pas homogène sur toute la membrane, mais qu'elle dépend de cos(φ). Ceci est illustré sur la **Figure 7**.

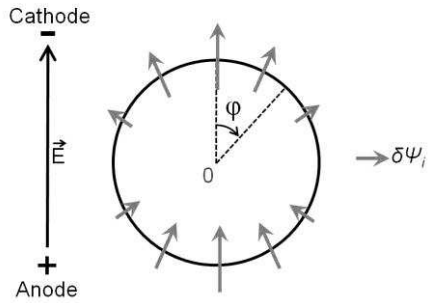

Figure 7: *Représentation schématique de la tension induite $\delta\Psi_i$ par le champ extérieur* $\boldsymbol{E}$ *sur la membrane. Projection dans le plan* ($\boldsymbol{e_r}, \boldsymbol{e_\varphi}$).

On peut souligner que la tension transmembranaire totale est la somme de la tension transmembranaire induite et de la tension transmembranaire de repos (voir également la **Figure 8**) :

$$\delta\Psi_\mathrm{tot}=\ \delta\Psi_\mathrm{i}+\delta\Psi_0$$

Ceci implique une asymétrie dans les phénomènes d'électroporation. La tension transmembranaire de repos $\delta\Psi_0$ en conditions physiologiques est toujours négative. Ainsi, sur l'hémisphère de la cellule face à la cathode ($-\pi/2<\varphi<\pi/2$), les tensions de repos $\delta\Psi_0$ et induite $\delta\Psi_\mathrm{i}$ sont de signes opposés. On dit que la membrane est dépolarisée. Sur l'hémisphère face à l'anode, au contraire, les tensions de repos et induite sont de même signe. On dit que la membrane est hyperpolarisée. Expérimentalement, c'est sur cet hémisphère que l'on observe en premier les effets de l'électroporation.

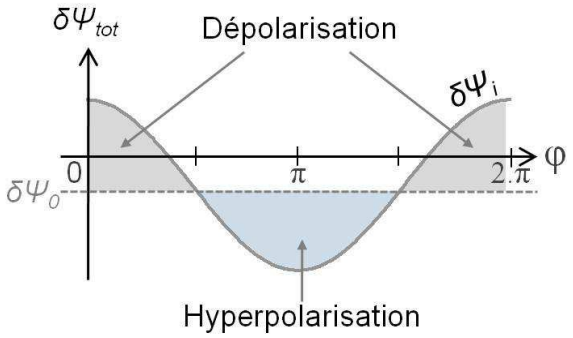

Figure 8 *: Profil de la différence de potentiel transmembranaire totale $\delta\Psi_{tot}$ sur une cellule sphérique soumise à un champ extérieur homogène, unidirectionnel, et constant. On se positionne à $\theta = \pi/2$ et on regarde l'évolution de $\delta\Psi_{tot}$ en fonction de l'angle φ. La différence de potentiel de repos $\delta\Psi_0$ s'ajoute à la tension induite $\delta\Psi_i$ pour donner la tension totale.*

Il est possible expérimentalement d'étudier la tension transmembranaire induite par un champ électrique extérieur. La méthode expérimentale la plus courante consiste à utiliser des molécules fluorescentes sensibles au champ électrique. Ces molécules s'insèrent dans la membrane des cellules. Lorsqu'elles sont excitées à la longueur d'onde appropriée, elles produisent un signal de fluorescence qui est une image du champ électrique local qui les entoure. Lorsqu'une tension transmembranaire est induite sur la membrane, le champ électrique local autour des molécules fluorescentes est modifié. Ceci se traduit expérimentalement par une modification (atténuation ou amplification) du signal de fluorescence. La **Figure 9** illustre cette technique expérimentale. La photographie de gauche est une image de fluorescence d'une cellule dont la membrane contient des molécules électrosensibles (dans ce cas, l'ANNINE-6). Cette image indique le niveau de fluorescence de base F_0 en l'absence de champ électrique extérieur. Sur la photographie de droite, on observe la même cellule, 1 µs après le début d'une impulsion électrique de 100 kV/m. La direction du champ est indiquée par la flèche. On observe du côté de la cathode (pole -) une atténuation de la fluorescence et inversement, du côté de l'anode (pole +), une intensification de la fluorescence. Les variations d'intensité de fluorescence F/F_0 peuvent être quantifiées en chaque point de la membrane. Le graphique de la **Figure 9** représente le ratio F/F_0 en fonction de l'angle θ. Ceci est un résultat moyen obtenu sur une dizaine de cellules. Le graphique fait apparaitre de façon évidente le comportement de type cosinus que nous avons détaillé plus haut. La mesure absolue de la valeur de la tension transmembranaire induite nécessite de pouvoir calibrer la réponse de fluorescence. Bien que cette calibration ait été faite dans certains cas particuliers, ceci demeure un sujet de recherche actuel.

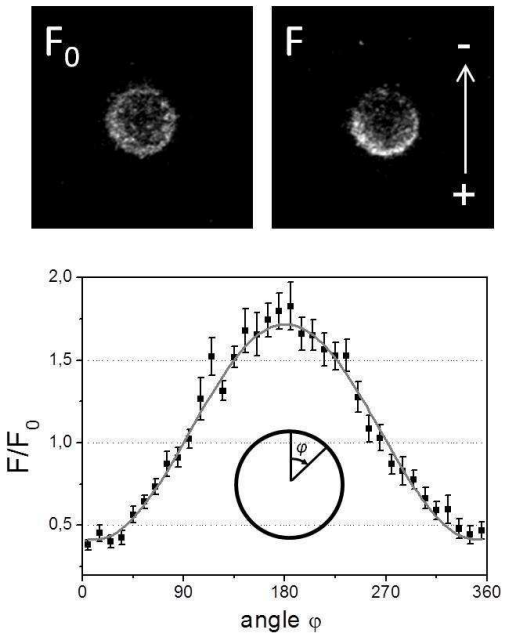

Figure 9 : *Images de fluorescence d'une cellule dont la membrane contient une molécule sensible au champ électrique. Les images de gauche, respectivement droite, donnent les niveaux de fluorescence F_0, respectivement F, en l'absence de champ extérieur et 1µs après l'établissement d'un champ électrique de 100 kV/m. Le graphique donne le ratio de fluorescence F/F_0 sur la membrane, en fonction de l'angle φ (moyenne de 10 cellules). La courbe grise est un ajustement des données expérimentales par une fonction sinusoïdale.*

5.3. Remarque sur le champ à l'intérieur de la cellule.

Nous avons montré dans la section 5.1 que le potentiel v dans la cellule s'écrit :

$$v(t,r,\varphi) = (A_c(t) - E(t))rcos\varphi$$

En utilisant la relation (5.2), on obtient donc pour le potentiel dans la cellule :

$$v(t,r,\varphi) = \left(\frac{-3\sigma_e}{\sigma_c + 2\sigma_e}E(t)\right)rcos\varphi + \frac{2\sigma_e r\delta\Psi_i(t,\varphi)}{R(\sigma_c + 2\sigma_e)}$$

Si on considère un champ $\boldsymbol{E}$ indépendant du temps et en remplaçant $\delta\Psi_i(t,\varphi)$ par son expression explicite (section 5.1), on obtient :

$$v(t,r,\varphi) = \frac{-3\sigma_e}{\sigma_c + 2\sigma_e} \times \frac{RS_m\,(\sigma_c + 2\sigma_e)/2 + \sigma_c\sigma_e e^{-t/\tau_m}}{\sigma_c\sigma_e + RS_m\,(\sigma_c + 2\sigma_e)/2} Ercos\varphi$$

En négligeant encore RSm devant $2\sigma_e\sigma_c/(\sigma_c + 2\sigma_e)$, on obtient :

$$v(t,r,\varphi) = \frac{-3\sigma_e}{\sigma_c + 2\sigma_e}\, e^{-t/\tau_m}\, Ercos\varphi$$

Soit en repassant en coordonnées cartésiennes :

$$v(t,z) = \frac{-3\sigma_e}{\sigma_c + 2\sigma_e}\, e^{-t/\tau_m}\, Ez \qquad (5.3)$$

L'expression (5.3) peut être utilisée pour calculer le champ électrique à l'intérieur de la cellule. On utilise le fait que le champ électrique est l'opposé du gradient du potentiel. Ainsi, le champ électrique $\boldsymbol{E_i}$ à l'intérieur de la cellule s'écrit :

$$\boldsymbol{E_i}(t) = \frac{3\sigma_e}{\sigma_c + 2\sigma_e}\, e^{-t/\tau_m}\, E\, \boldsymbol{e_z}$$

Le champ à l'intérieur de la cellule $\boldsymbol{E_i}$ est indépendant des coordonnées d'espace. Il est donc uniforme dans tout l'intérieur de la cellule. Sa direction est la même que celle du champ extérieur $\boldsymbol{E}$. De plus, on constate que le champ intérieur décroît de façon exponentielle avec une constante de temps τ_m. Ainsi quand une impulsion de champ est appliquée sur une cellule, le champ à l'intérieur s'annule très rapidement. La **Figure 10**, montre les lignes équipotentielles telles qu'elles s'établissent autour et dans la cellule.

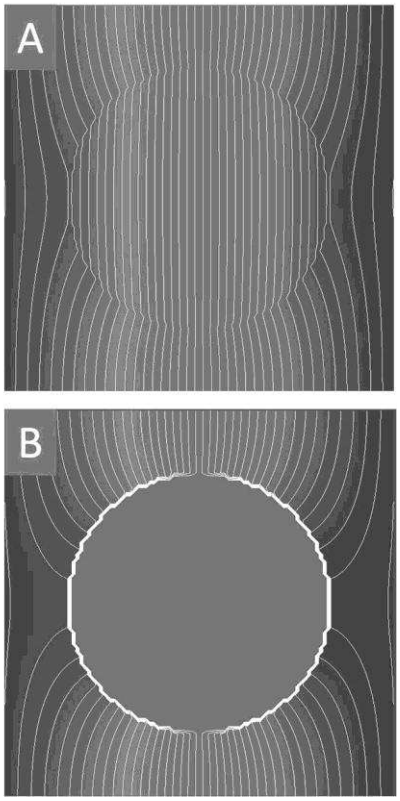

Figure 10 *: Simulations des lignes équipotentielles autour et dans une cellule soumise à un champ électrique extérieur. Les images A et B, ont été extraites de la simulation respectivement 10 ns, et 2 µs après la mise en place du champ.*

La figure A, correspond à la situation 10 ns après la mise en place du champ électrique extérieur, soit un temps inférieur à la constante de temps τ_m. On observe que les lignes équipotentielles sont très peu déformées par la cellule. Le champ à l'intérieur de la cellule est quasiment identique au champ extérieur. La figure B correspond à la situation 2 µs après la mise en place du champ, soit après un temps bien supérieur à τ_m. On observe que toutes les équipotentielles se resserrent au niveau de la membrane où le champ est donc le plus intense. Au contraire, le champ à l'intérieur de la cellule est presque nul. Ces observations justifient également pourquoi, lorsqu'on souhaite affecter l'intérieur des cellules, il est nécessaire d'utiliser des impulsions ultracourtes, dans le domaine de la nanoseconde (voir contribution dans ce numéro).

6. Conclusion

Nous avons présenté comment, à partir d'un modèle simple de cellule, on peut obtenir la tension transmembranaire induite par un champ électrique extérieur. L'approche « circuit électrique » nous donne une estimation grossière, mais montre que la tension transmembranaire induite est proportionnelle à l'amplitude du champ et au rayon de la cellule. De plus, nous avons vu que la géométrie de la cellule ainsi que l'orientation du champ étaient deux paramètres très importants.

Lorsque la tension transmembranaire dépasse une valeur seuil, située autour de 1V pendant un temps suffisamment long (quelques microsecondes), la membrane réagit comme un matériau non-linéaire : la conductivité augmente en fonction de la tension transmembranaire. C'est le phénomène d'électroporation. La modélisation de ce phénomène est complexe et est actuellement un domaine actif de recherche (citons à ce sujet les modèles de Krassowska, Neu, Weaver *et al*. basés sur les considérations de physique des membranes [10, 1, 17]). D'autres modèles comme celui développé récemment par Kavian *et al*., sont basés sur une approche phénoménologique. Ces modèles, comportant peu de paramètres [8], permettent d'envisager une calibration précise des différents paramètres et donc une modélisation complète du phénomène d'électroporation. Les modèles électromagnétiques comme celui présenté dans cet article, couplés aux modèles d'électroporation, permettront à terme de prédire les conséquences de tous types d'impulsion sur une cellule ou sur un ensemble de cellules. Ils seront donc précieux à la fois pour l'amélioration des applications existantes et pour le développement de nouvelles applications.

7. Références

[1] K. DeBruin and W. Krassowska. Modelling electroporation in a single cell. I. Effects of field strength and rest potential. Biophysical Journal, 1999.

[2] E.C. Fear and M.A. Stuchly. Modeling assemblies of biological cells exposed to electric fields. IEEE Trans.Bio.Eng, 1998.

[3] E.C. Fear and M.A. Stuchly. A novel equivalent circuit model for gap-connected cells. Phys. Med. Biol.,1998.

[4] K.R. Foster and H.P. Schwan. Dielectric properties of tissues and biological materials : a critical review. CRC in Biomedical Engineering, 1989.

[5] S Gabriel, R.W Lau, and E Corthout. The dielectric properties of biological tissues : I. literature survey. Phys. Med. Biol, 1996.

[6] S Gabriel, R.W Lau, and C Gabriel. The dielectric properties of biological tissues: II. Measurements in the frequency range 10Hz to 20Ghz. Phys. Med. Biol, 1996.

[7] S Gabriel, R.W Lau, and C Gabriel. The dielectric properties of biological tissues : III. Parametric models for the dielectric spectrum of tissues. 1996.

[8] O. Kavian, M. Legu_ebe, C. Poignard, and L. Weynans. "classical" electropermeabilization modeling at the cell scale. J. of Math. Biol., 2012.

[9] S. Munoz, J.L. Sebastian, M. Sancho, and J.M. Miranda. Transmembrane voltage induced on altered erythrocyte shapes exposed to RF fields. Bioelectromagnetics, 2004.

[10] J. Neu and W. Krassowska. Asymptotic model of electroporation. Physical Review E, 1999.

[11] G Pucihar, T Kotnik, B Valic, and D Miklavcic. Numerical determination of transmembrane voltage induced on irregularly shaped cells. Annals of Biomedical Engineering, 2006.

[12] J.L. Sebastian, S. Munoz, M. Sancho, and J.M. Miranda. Analysis of the influence of the cell geometry and cell proximity effects on the electric field distribution from direct rf exposure. Phys. Med. Biol., 2001.

[13] D. Sel, D. Cukjati, D. Batiuskaite, T. Slivnik, L.M. Mir, and D. Miklavcic. Sequential finite element model of tissue electropermeabilization. IEEE Trans. Bio. Eng., 2005.

[14] M.A. Stuchly and S.S. Stuchly. Electrical properties of biological substances. Biological Effects and Medical Applications of Electromagnetic Energy, 1990.

[15] S.I. Sukharev, V.A Klenchin, S.M. nad Chernomordik L.V. Serov, and Chizmadzhev Y.A. Electroporation and electrophoretic dna transfer into cells: The effect of DNA interaction with electropores. Biophys J., 1992.

[16] T.Y. Tsong. Electroporation of cell membranes. Biophys J., 1991.

[17] Z. Vasilkoski, A.T. Esser, T.R. Gowrishankar, and J.C.Weaver. Membrane electroporation: the absolute rate equation and nanosecond time scale pore creation. Physical review E, 74, 2006.