



HAL
open science

Physique des jets de plasma froid. Étude fondamentale des streamers guidés et applications à l'oncologie

Henri Decauchy

► **To cite this version:**

Henri Decauchy. Physique des jets de plasma froid. Étude fondamentale des streamers guidés et applications à l'oncologie. Plasmas. Sorbonne Université, 2022. Français. NNT : 2022SORUS389 . tel-03967323

HAL Id: tel-03967323

<https://theses.hal.science/tel-03967323v1>

Submitted on 1 Feb 2023

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.

Sorbonne Université

Ecole doctorale Physique en Ile-de-France (ED 564)

Laboratoire de Physique des Plasmas

Physique des jets de plasma froid - Étude fondamentale des streamers guidés et applications à l'oncologie

Par **Henri DECAUCHY**

Thèse de doctorat de Physique des Plasmas

Dirigée par **Thierry DUFOR**

Présentée et soutenue publiquement le 30 septembre 2022

Devant un jury composé de :

Nofel MERBAHI	Professeur	Rapporteur
Philippe GUILLOT	Professeur	Rapporteur
Farzaneh AREFI	Professeur	Présidente du jury
Augusto STANCAMPIANO	Chargé de recherche	Examineur
Laura FOUASSIER	Chargée de recherche	Invitée
Isabelle CREMER	Professeur	Invitée
Thierry DUFOR	Maître de conférences	Directeur de thèse

Remerciements

Avant de commencer ce manuscrit je tiens particulièrement à remercier les différentes personnes qui ont rendu cette thèse possible et qui par leurs remarques ou actions m'ont aidé à grandement améliorer ce travail et m'ont fait apprécier ces trois années particulières à cause du contexte sanitaire.

Tout d'abord, merci à Thierry, mon Directeur de Thèse, de m'avoir choisi pour un stage puis pour passer les concours de l'école doctorale. J'ai beaucoup apprécié passer ces trois années et demie à ses côtés et celles-ci m'ont permis aussi bien de mûrir mon projet professionnel que de m'épanouir personnellement. Les conférences plasma médecine resteront gravées dans ma mémoire. Je remercie sincèrement Thierry pour son encadrement, son investissement et sa bienveillance.

Puis je tiens aussi à remercier toutes les personnes que j'ai pu côtoyer au Laboratoire de Physique des Plasmas et notamment Jonas, Alexia et Benjamin pour leur bonne humeur au quotidien. Merci beaucoup à Manon pour sa relecture attentive de ce manuscrit qui m'a beaucoup aidé !

Ensuite, merci aussi à tous mes partenaires biologistes qui m'ont accueilli et intégré avec gentillesse dans leur laboratoire, expliqué le domaine de l'oncologie avec pédagogie et pour tous ces beaux projets et ces expériences démontrant l'efficacité et la sécurité des différents dispositifs plasmas. J'espère vivement qu'ils pourront un jour être utilisés à l'hôpital pour enrichir l'arsenal thérapeutique contre le cholangiocarcinome.

Au Centre de Recherche Saint Antoine, merci à Javier, Marie, Sophie et Allan d'avoir passé autant de temps avec moi en salle de culture et/ou en animalerie afin d'effectuer les traitements plasma. Merci aussi à Laura pour son enthousiasme et sa joie de vivre au quotidien.

Au CRC merci à Isabelle et Solenne ! Je n'oublierai jamais les journées passées dans la zone stérile de l'animalerie qui ont permis d'obtenir tant de beaux résultats ainsi que ces jolis costumes blancs dignes d'une soirée d'Halloween.

Merci aussi à Marine pour son apport dans la création du cathéter plasma et pour m'avoir montré l'envers du décor à l'hôpital et à l'école de chirurgie du Fer à Moulin pour nous avoir accueilli avec notre matériel imposant et autant de bienveillance.

Je tenais aussi à attribuer une mention spéciale à ma famille et mes proches pour leur soutien tout au long du Doctorat et plus particulièrement dans les moments les plus soutenus de la thèse, notamment pendant la rédaction.

Merci aussi au Stade Français Triathlon, mon club de triathlon, qui m'a permis de garder un bon équilibre mental tout au long de ce projet.

Enfin, je tiens à remercier Nofel Merbahi et Philippe Guillot pour avoir accepté d'être les rapporteurs de ce manuscrit, Farzaneh Arefi et Augusto Stancampiano pour avoir accepté d'être les examinateurs de ce projet de thèse. Merci pour leurs retours qui ont permis d'améliorer ce projet et pour leurs questions lors de la soutenance qui ont abouti à des échanges constructifs, intéressants et enrichissants.

Bonne chance à tous pour la suite de ce beau projet !

Résumé

Les sources à jet de plasma froid présentent un intérêt majeur pour les applications médicales, en particulier en oncologie. De par leurs propriétés chimiques (production d'espèces réactives de l'azote et de l'oxygène), radiatives (rayonnement UV/visible), thermiques et électriques (champ électrique, impulsions de courant), les jets de plasma froid constituent un outil thérapeutique innovant. En amont d'une utilisation clinique, il est nécessaire de comprendre les mécanismes de physique fondamentale qui régissent leur fonctionnement mais aussi de créer des sources *ad hoc* pour obtenir une efficacité antitumorale significative à partir de modèles tumoraux à pronostic sombre. Cette thèse se positionne donc à l'interface de deux volets : d'une part un volet dédié à la physique des streamers et des sources à jet de plasma froid mené au LPP (Laboratoire de Physique des Plasmas, Paris) et d'autre part un volet dédié à l'oncologie mené au CRSA (Centre de Recherche Saint-Antoine, Paris) et au CRC (Centre de Recherche des Cordeliers, Paris). Dans un premier temps, cette thèse porte sur une étude fondamentale dédiée à la physique de propagation et de contre-propagation des streamers générés dans des jets de plasma, en interaction avec 3 types de cibles métalliques : électrode annulaire à la masse, électrode plane à la masse et électrode grille à potentiel flottant. Ces cibles correspondent à des éléments pouvant être intégrés aux sources à jet de plasma froid en vue d'une utilisation thérapeutique, afin de garantir l'absence de risques électrique et thermique. A l'aide de diagnostics spectroscopiques, électriques et d'imagerie rapide, il a ainsi été possible de mettre en lumière l'existence de streamers négatifs se contre-propageant à des vitesses supérieures à celles des streamers incidents. Un modèle théorique de la contre-propagation a ainsi pu être élaboré. L'ajout d'une électrode grille à potentiel flottant entre la sortie du tube (source plasma) et l'électrode plane à la masse a permis d'identifier un phénomène de périodisation des streamers qui apparaît pour des conditions précises de tension et de distance : N streamers atteignant la grille (avec $1 \leq N \leq 6$) conduit à un unique streamer transmis atteignant la cible. Sur la base de mesures électriques et optiques, un modèle est proposé pour analyser les paramètres régissant cette périodisation. De cette compréhension approfondie des interactions « streamers-cibles », découle la possibilité de créer des sources à jet de plasma froid en vue de répondre à des applications oncologiques, notamment des cathéters plasma utilisables par endoscopie. Deux modèles de tumeurs solides avec un mauvais pronostic ont ainsi été étudiés : le cholangiocarcinome (cancer des voies biliaires) et le cancer bronchique non à petites cellules (cancer du poumon). Dans le cas du cholangiocarcinome, des expériences *in vitro* ont démontré une efficacité antitumorale élevée, tout en présentant des avantages en termes de sélectivité biologique. Sur la base d'études *in vivo* menées sur des modèles murins et dans la perspective d'une applicabilité chez l'humain, un cathéter à plasma froid a été utilisé sur deux modèles précliniques : un ERCP trainer et un modèle anatomique post-mortem porcin. Il a ainsi été possible de montrer l'absence de risques électrique et thermique. En parallèle, l'analyse des effets du plasma froid sur le cancer du poumon non à petites cellules a fait l'objet de 9 campagnes *in vivo* menées sur des modèles murins au cours de cette thèse. Deux sources à plasma présentant des configurations d'électrodes différentes ont été comparées, les deux entraînant systématiquement des inflexions de

Abstract

croissance tumorale importantes (p -valeur $< 10^{-4}$). Un effet abscopal a aussi été démontré sur des modèles tumoraux ectopiques.

Abstract

Cold plasma jet sources are of major interest for medical applications, especially in oncology. Due to their chemical (production of reactive nitrogen and oxygen species), radiative (UV/visible radiations), thermal and electrical (electric field, current pulses) properties, cold plasma jets constitute an innovative therapeutic tool. Prior to clinical use, it is necessary to understand the fundamental physics mechanisms that govern their operation but also to create *ad hoc* sources to obtain significant anti-tumour efficacy from tumour models with a poor prognosis. This thesis is therefore positioned at the interface of two parts: on the one hand, a part dedicated to the physics of streamers and cold plasma jet sources carried out at the LPP (Laboratoire de Physique des Plasmas, Paris) and on the other hand, a part dedicated to oncology carried out at the CRSA (Centre de Recherche Saint-Antoine, Paris) and the CRC (Centre de Recherche des Cordeliers, Paris). Firstly, this thesis focuses on a fundamental study dedicated to the physics of propagation and counter-propagation of streamers generated in plasma jets, interacting with 3 types of metallic targets: grounded ring electrode, grounded plane electrode and floating potential grid electrode. These targets correspond to elements that can be integrated into cold plasma jet sources for therapeutic use, in order to guarantee the absence of electrical and thermal risks. Using spectroscopic, electrical and rapid imaging diagnostics, it was possible to identify the existence of negative streamers counter-propagating at higher speeds than the incident streamers. A theoretical model of counter-propagation was thus developed. The addition of a floating potential grid electrode between the tube outlet (plasma source) and the grounded plane electrode allowed the identification of a streamer periodization phenomenon that appears for specific voltage and distance conditions: N streamers reaching the grid (with N between 1 and 6) lead to a single transmitted streamer reaching the target. Based on electrical and optical measurements, a model is proposed to analyse the parameters governing this periodization. This in-depth understanding of streamer-target interactions leads to the possibility of creating cold plasma jet sources for oncological applications, in particular plasma catheters that can be used in endoscopy. Two solid tumour models with a poor prognosis were studied: cholangiocarcinoma (biliary tract cancer) and non-small cell bronchial cancer (lung cancer). In the case of cholangiocarcinoma, *in vitro* experiments have demonstrated high anti-tumour efficacy, while at the same time offering advantages in terms of biological selectivity. Based on *in vivo* studies in mouse models and with a view to human applicability, a cold plasma catheter was used in two preclinical models: an ERCP trainer and a porcine post-mortem anatomical model. It was thus possible to demonstrate the absence of electrical and thermal risks. In parallel, the analysis of the effects of cold plasma on non-small cell lung cancer was the subject of 9 *in vivo* campaigns conducted on murine models during this thesis. Two plasma sources with different electrode configurations

Abstract

were compared, both of which consistently resulted in significant tumour growth inflections (p -value $< 10^{-4}$). An abscopal effect was also demonstrated on ectopic tumour models.

Préface

Le progrès médical est indispensable pour ouvrir la voie à de nouveaux traitements innovants contre le cancer qui reste encore une cause majeure de mortalité dans le monde. Ainsi, la Fondation ARC souligne que 157 400 personnes sont mortes en France d'un cancer en 2018 et que certains cancers possèdent toujours des pronostics très sombres. C'est le cas du mésothéliome pleural malin dont le taux de survie à 5 ans est de seulement 7%, d'après la Haute Autorité de Santé. Les traitements actuellement utilisés comme la chimiothérapie, l'immunothérapie, la radiothérapie et les thérapies ciblées présentent des limitations majeures : les effets secondaires sont souvent très éprouvants pour les patients traités, le coût de certains traitements est un vrai problème pour l'assurance maladie, certaines immunothérapies coûtant plus de 100 k€/an/patient et la guérison de nombreux cancers ne peut être obtenue que par chirurgie. Ces raisons expliquent pourquoi il est urgent de trouver de nouvelles approches technologiques et traitements de rupture contre le cancer.

Les plasmas froids ont un effet antitumoral démontré sur modèle murin depuis le début des années 2010 et peuvent être envisagés comme une approche thérapeutique innovante contre le cancer. Les dispositifs à jets de plasma froid semblent particulièrement bien adaptés pour effectuer des traitements régio-localisés de tumeurs solides. Ces dispositifs permettent de générer du plasma froid en dehors de leurs espaces inter-électrodes, sous la forme d'une « plume » ou d'un « jet » dont la longueur peut atteindre plusieurs centimètres. Un élément essentiel est de pouvoir alimenter électriquement ces dispositifs par un générateur de haute tension non-continue, idéalement un générateur impulsionnel comme cela a été effectué dans le cadre de ce projet doctoral. Cela permet de générer des streamers guidés qui peuvent se propager au-delà de l'espace inter-électrodes pour atteindre la cible biologique (tumeur, culture *in vitro*, ...). L'utilisation de ce profil de tension impose d'utiliser l'hélium comme gaz porteur. Celui-ci permet de générer des plasmas stables, froids et non-filamentaires. Les effets antitumoraux induits par le plasma froid peuvent être imputés à la diversité de ses propriétés : (i) la production de nombreuses espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (Reactive Oxygen and Nitrogen species, RONS), (ii) le champ électrique dont le profil spatio-temporel permet de structurer la décharge de plasma, (iii) l'émission de radiations UV, (iv) les températures électronique et gazeuse du jet de plasma froid et (v) le régime d'écoulement du gaz qui environne la cible biologique à traiter. A terme, la technologie « plasma froid » appliquée à l'oncologie offre des perspectives très favorables : (i) le caractère peu onéreux de la technologie, notamment comparée à des approches parallèles comme les immunothérapies, (ii) l'absence d'effets délétères (e.g. brûlures) ou secondaires (e.g. perte de cheveux) sur le corps humain, (iii) la rapidité de mise en œuvre et (iv) l'efficacité antitumorale qui rivalise avec les approches conventionnellement utilisées en milieu hospitalier, en particulier la chimiothérapie. Cependant de nombreuses barrières technologiques restent encore à lever avant une mise sur le marché.

Par ailleurs, il est important de mentionner que la communauté Plasma-Médecine fait face à deux biais : la multiplicité des sources de plasma froid et le concept de dose. Concernant

le premier point, il apparaît que chaque laboratoire développe sa propre source de plasma froid ainsi que ses propres protocoles pour soigner ses propres cibles biologiques. Le manque de concertation et d'utilisation pratique d'une source standard par la Communauté Plasma-Médecine peut apparaître comme une faiblesse tant au regard du marché des dispositifs médicaux que de la diversité des pathologies à traiter. Néanmoins, il est important de comprendre que cette diversité de sources est le fruit d'expérimentations toujours plus fines et qui se contraignent à être toujours plus spécifiques vis-à-vis des pathologies à soigner. Ainsi, la source ORJET ne peut être appliquée à des fins endoscopiques pour traiter le cholangiocarcinome dans les voies biliaires ; dès lors sa miniaturisation sous forme d'un cathéter est tout à fait justifiable, créant *de facto* une nouvelle source de plasma froid. Concernant le deuxième biais – le concept de dose – il convient de rappeler que le plasma froid est régi non pas par une propriété unique comme le rayonnement pour la radiothérapie mais par au moins cinq familles de propriétés qui ont été rappelées dans le paragraphe précédent. Dès lors, ce concept apparaît très difficile à définir, en particulier s'il faut le relier à une grandeur physique ayant une unité. Ainsi, associer le concept de dose à une puissance électrique n'a que peu de sens puisqu'une puissance par exemple de 5 W peut être obtenue par un dispositif générant 5 J en 1 s comme 5 kJ en 1 ms et rien ensuite, avec dans les deux cas, des effets biologiques radicalement différents. Le premier biais explique donc pourquoi ce projet doctoral a contribué à créer et à caractériser de nouvelles sources de plasma froid – toujours pour être plus pertinents vis-à-vis des pathologies tumorales à traiter – et également pourquoi le concept de dose est délaissé au profit de paramètres quantifiables comme le temps d'exposition au plasma froid.

Ce projet doctoral a donc été réalisé dans l'optique d'apporter des éléments de réponse concrets à ces problématiques. Cette thèse a été réalisée et financée par l'Ecole doctorale Physique en Ile-de-France (EDPIF). Une partie axée physique a permis de comprendre les mécanismes des jets de plasma et leur interaction avec différentes cibles de caractéristiques électriques différentes. L'autre partie a concerné les effets du plasma sur les cellules cancéreuses et la création de dispositifs plasmas à même de traiter des modèles vivants sans risques pour le patient. Cette partie a été réalisée dans le cadre d'une collaboration entre le LPP et le Centre de Recherche Saint-Antoine sur le cholangiocarcinome (CCA) ou cancer des voies biliaires et entre le Centre de Recherche des Cordeliers sur le cancer du poumon non à petites cellules (NSCLC – Non Small Cell Lung Cancer).

Le **premier chapitre** présente l'état de l'art sur les jets de plasma froid ainsi que leurs applications à deux types de cancer de très mauvais pronostic : le cholangiocarcinome (CCA) et le cancer du poumon non à petites cellules (NSCLC). Dans un **second chapitre** les différents dispositifs utilisés ainsi que les protocoles expérimentaux mis en œuvre sont précisés. Cela concerne d'une part les sources de plasma froid utilisées comme l'ORJET, le DBD'Med et le cathéter à plasma transféré et d'autre part les moyens de caractérisation propres à la physique des plasmas (spectroscopie d'émission optique, imagerie infrarouge, caractérisations électriques, ...). Les chapitres suivants concernent les résultats obtenus dans le cadre de cette thèse, incluant deux chapitres de recherche

fondamentale sur la physique des streamers dans les jets de plasma froid puis deux chapitres de recherche appliquée à l'oncologie. Ainsi, le **troisième chapitre** permet d'étudier comment les streamers guidés interagissent avec des cibles métalliques portées à la masse mais de géométrie différente : une contre-électrode annulaire et une contre-électrode plaque. Un modèle électrique de la contre-propagation des streamers guidés sur cible est également présenté et argumenté sur la base de démonstrations expérimentales telle que la polarisation négative des streamers en contre-propagation. Le **quatrième chapitre** se focalise quant à lui sur les phénomènes d'auto-organisation des streamers guidés lorsqu'ils quittent le capillaire de leur source de plasma froid et qu'ils interagissent dans l'air ambiant avec un jeu de deux cibles métalliques mises en parallèle : une grille à potentiel flottant et une plaque métallique mise à la masse. Les mécanismes de physique fondamentale découverts et étudiés au travers des chapitres III et IV contribuent à mieux comprendre comment le plasma froid interagit avec des cibles biologiques mais aussi à mieux définir le cahier des charges qui s'appliquerait à tout dispositif médical reposant sur la technologie « plasma froid » et qui pourrait faire l'objet d'une certification FDA. Sur la base de ces travaux, les dispositifs de jet à plasma froid sont appliqués sur deux modèles de cancer. Ainsi, le **cinquième chapitre** porte sur le cholangiocarcinome (CCA) et sur l'approche technologique privilégiée pour le soigner : l'utilisation d'un cathéter à plasma transféré. Il est ensuite démontré que d'une manière plus générale, les jets de plasma froid peuvent induire des effets antitumoraux sur le CCA inoculé sur des modèles murins. Des éléments de mécanistique biologique sont présentés afin de comprendre les tenants et les aboutissants des traitements réalisés par plasma froid (mort cellulaire, arrêt du cycle cellulaire, polarisation des macrophages, etc...). Enfin, le **sixième chapitre** s'intéresse quant à lui à l'effet du traitement plasma sur le NSCLC, et ce principalement au regard de campagnes expérimentales *in vivo*. Son efficacité antitumorale et son effet anti-métastatique sont ainsi démontrés et sont statistiquement très significatifs (p-value inférieure à 10^{-4}).

Table des matières

Remerciements.....	i
Résumé/Abstract.....	ii
Préface	v
Table des matières	viii

Chapitre I - Etat de l'art sur les jets de plasma froid et leurs applications

1. Principes généraux des plasmas et des décharges	2
a. Qu'est-ce qu'un plasma ?	2
i. Définition d'un plasma.....	2
ii. Différentes branches d'études des plasmas.....	3
b. Décharges de Townsend.....	5
c. Claquage streamer	10
2. Physique des jets de plasma froid à pression atmosphérique	13
a. Applications des dispositifs à jet de plasma froid	14
b. Différentes configurations de jets de plasma	15
c. Modes de propagation – Streamer guidé ou non guidé.....	16
d. Modes d'excitation électrique des jets de plasma	17
e. Cibles, propagation et contre-propagation	18
3. Plasma Médecine	20
a. Description des cancers étudiés au cours du projet doctoral.....	20
i. Cholangiocarcinome (CCA)	21
ii. Cancer du poumon non à petites cellules.....	25
b. Effets du plasma sur les tumeurs <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i>	28
i. Effets du plasma sur le CCA.....	28
ii. Effets du plasma sur le cancer du poumon non à petites cellules.....	29
c. Effets du traitement plasma en soins palliatif	29
d. Utilisation du plasma en médecine	31
i. Jets de plasmas adaptés à la médecine.....	31
ii. Cathéters plasmas pour le traitement du CCA.....	32
iii. Utilisation endoscopique de catheters plasma	35

Table des matières

Bibliographie.....	36
--------------------	----

Chapitre II – Dispositifs expérimentaux, matériels et méthodes

1. Sources de plasma froid	48
a. Générateur de haute tension impulsionnelle	48
b. Sources de plasma froid.....	50
i. Plasma gun (ou canon à plasma)	50
ii. ORJET – Variante statique & Variante mobile.....	51
iii. Cathéter à plasma transféré.....	53
iv. DBD'Med : décharge à barrière diélectrique généré sur une contre-électrode «grille».....	55
v. Approche méthodologique de traitement par plasma froid des modèles biologiques	56
c. Apport de gaz au sources à plasma froid	57
d. Cibles en contact avec le jet de plasma	57
2. Diagnostics physiques.....	58
a. Diagnostics optiques	58
i. Le matériel de spectrométrie	58
ii. Mesure de la température rotationnelle par spectrométrie d'émission optique 60	
iii. Mesure de la température par caméra infrarouge.....	62
iv. Imagerie rapide ICCD.....	62
b. Diagnostics électriques	65
i. Sondes électriques.....	65
ii. Traitement des données des sondes électriques.....	66
3. Méthodes utilisées pour caractériser l'efficacité biologique du plasma	69
a. Détermination de la concentration de nitrites en milieu de culture cellulaire	69
b. Détermination de la concentration de peroxyde d'hydrogène en milieu de culture cellulaire	69
c. Protocole de traitement plasma	70
i. <i>In vitro</i>	70
ii. <i>in vivo</i>	70
d. Traitement de tumeurs solides par endoscopique au plasma froid	72
i. Duodéroscope conventionnel.....	73

Table des matières

ii. Modèles de voies biliaires.....	73
Bibliographie.....	75

Chapitre III - Mécanismes de réflexions multiples et de transmission de streamers guidés

1. Dispositif expérimental	78
2. Résultats.....	79
a. Streamers guidés interagissant avec l'ELPM.....	79
i. Transmission et réflexion résultant des streamers guidés positifs	79
ii. Transmission et réflexion résultant de streamers guidés négatifs incidents.....	81
b. Streamers guidés interagissant avec deux cibles distantes métalliques : électrode annulaire à la masse (ELAM) et électrode plane à la masse (ELPM)	82
i. Caractérisation électrique	82
ii. Paramètres pertinents obtenus à partir de la caractérisation électrique.....	85
iii. Caractérisation rapide de l'ICCD.....	87
iv. Paramètres pertinents obtenus à partir de la caractérisation ICCD	92
3. Discussion.....	96
a. Complémentarité de l'analyse électrique et optique.....	96
b. Mécanismes de propagation et modèle électrique équivalent	99
4. Conclusion	102
Bibliographie.....	103

Chapitre IV - Auto-organisation de streamers guidés

1. Présentation du dispositif expérimental	106
2. Résultats.....	109
a. Caractérisation électrique du phénomène d'auto-organisation sur la grille à potentiel flottant.....	109
b. Caractérisation optique du phénomène d'auto-organisation créé sur la grille à potentiel flottant.....	113
c. Caractérisation optique du plasma entre les deux cibles	117
3. Discussion.....	118
a. Influence de la polarisation de la grille sur la vitesse du streamer guidé.....	118
b. Streamer guidé dans la région grille-plaque	118
c. Périodicité de la décharge.....	122

Table des matières

4. Conclusion	122
---------------------	-----

Chapitre V - Application du plasma froid au cholangio-carcinome

1. Etude de faisabilité/risques : application endoscopique du plasma froid aux voies biliaires.....	124
a. Rôle du fil auxiliaire dans le cathéter à plasma transféré	124
b. Cathéter à plasma transféré appliqué au modèle de l'arbre biliaire humain artificiel (ABHA).....	126
1. Propriétés électriques (cathéter opérant en dehors du duodéroscope) ...	126
2. Propriétés thermiques (cathéter opérant en dehors du duodéroscope) ..	128
c. Cathéter à plasma transféré dans le duodéroscope appliqué au modèle post-mortem de l'arbre biliaire porcin (ABPP).....	129
1. Cadre expérimental	129
2. Propriétés électriques	131
3. Propriétés thermiques	138
2. Etude <i>in vivo</i> : effets anti-tumoraux sur modèle murin	141
a. Effet du traitement plasma sur un modèle murin <i>in vivo</i>	141
b. Le plasma froid induit l'apoptose des cellules de cholangiocarcinome.....	142
3. Mécanistique de la mort cellulaire induite par milieu activé au plasma froid (MAP) 143	
a. Sélectivité biologique induite par le MAP	143
b. Arrêt du cycle cellulaire des cellules de cholangiocarcinome	145
c. Apoptose des cellules de cholangiocarcinome	147
d. Modification du phénotype des macrophages associés aux tumeurs.....	148
4. Conclusion	150
Bibliographie.....	151

Chapitre VI - Application du plasma froid au cancer du poumon non à petites cellules

1. Campagne expérimentale dédiée à l'innocuité des sources plasma appliquées sur modèles murins.....	153
a. Présentation & Conditions expérimentales	153
b. Température des tissus exposés au plasma froid.....	154

Table des matières

c. Identification des conditions permettant de s'affranchir des effets délétères du plasma froid sur la peau	156
d. Discussion	158
2. Effets du plasma froid sur des tumeurs ectopiques du cancer du poumon non à petites cellules	160
a. Efficacité antitumorale du plasma froid sur les sites tumoraux primaires	160
b. Efficacité antitumorale du plasma froid sur les sites tumoraux secondaires (métastases).....	163
c. Persistance de l'effet antitumoral induit par plasma froid (ou effet mémoire)....	167
d. Déclenchement de l'effet abscopal par plasma froid.....	170
i. Présentation.....	170
ii. Etude via le protocole par injections simultanées	172
iii. Etude via le protocole par injections séquencées	175
3. Conclusion	177
Bibliographie.....	178
Conclusion & Perspectives.....	179
Publications	183

Chapitre I - Etat de l’art sur les jets de plasma froid et leurs applications

Table des matières

1. Principes généraux des plasmas et des décharges	2
a. Qu’est-ce qu’un plasma ?	2
i. Définition d’un plasma.....	2
ii. Différentes branches d’études des plasmas.....	3
b. Décharges de Townsend.....	5
c. Claquage streamer	10
2. Physique des jets de plasma froid à pression atmosphérique	13
a. Applications des dispositifs à jet de plasma froid	14
b. Différentes configurations de jets de plasma	15
c. Modes de propagation – Streamer guidé ou non guidé.....	16
d. Modes d’excitation électrique des jets de plasma	17
e. Cibles, propagation et contre-propagation	18
3. Plasma Médecine	20
a. Description des cancers étudiés au cours du projet doctoral.....	20
i. Cholangiocarcinome (CCA)	21
ii. Cancer du poumon non à petites cellules	25
b. Effets du plasma sur les tumeurs <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i>	28
i. Effets du plasma sur le CCA.....	28
ii. Effets du plasma sur le cancer du poumon non à petites cellules.....	29
c. Effets du traitement plasma en soins palliatif	30
d. Utilisation du plasma en médecine	32
i. Jets de plasmas adaptés à la médecine	32
ii. Cathéters plasmas pour le traitement du CCA.....	32
iii. Utilisation endoscopique de catheters plasma	35
Bibliographie.....	36

Dans cette partie, une étude approfondie de l’état de l’art existant sur les propriétés physiques des jets de plasma va être effectuée. Dans une première partie, le modèle des décharges de Townsend sera présenté avec le concept d’avalanche électronique. De ce

modèle découlera naturellement le critère de Meek, base de la physique des streamers qui sera présenté ensuite. Dans une seconde partie, les jets de plasma, leurs caractéristiques ainsi que leurs applications seront étudiées. Dans une dernière partie, le domaine « plasma oncologie » sera présenté avec les deux cancers étudiés pendant la thèse : le cholangiocarcinome et le cancer des poumons non à petites cellules.

1. Principes généraux des plasmas et des décharges

a. Qu’est-ce qu’un plasma ?

i. Définition d’un plasma

Un plasma est défini comme un gaz partiellement ou totalement ionisé. Ce terme a été proposé en 1928 par le chimiste et physicien Irvin Langmuir (Langmuir, 1928), en référence à l’aspect diffus et complexe du plasma sanguin. La Figure I.1 représente les différents « états » de la matière : solide, liquide, gaz et plasma.

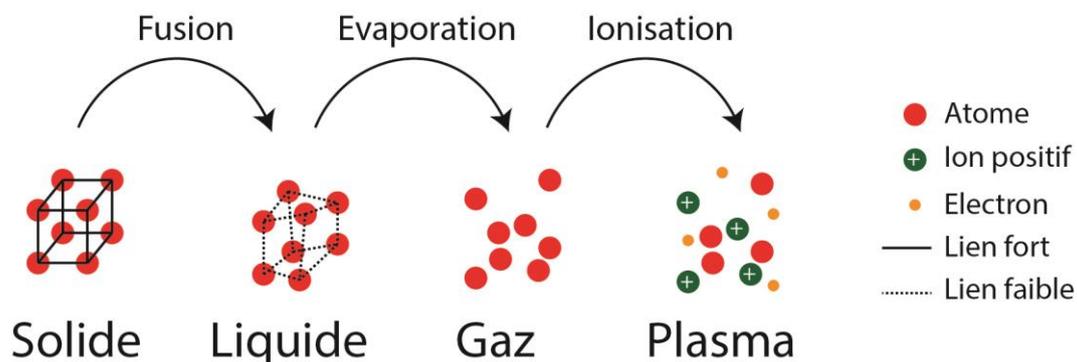


Figure I.1 : Représentation des différents états de la matière – solide, liquide, gaz et plasma

Comme un plasma est typiquement constitué d’électrons, d’ions et de particules neutres, il est opportun de le caractériser par son taux d’ionisation χ {I.1} :

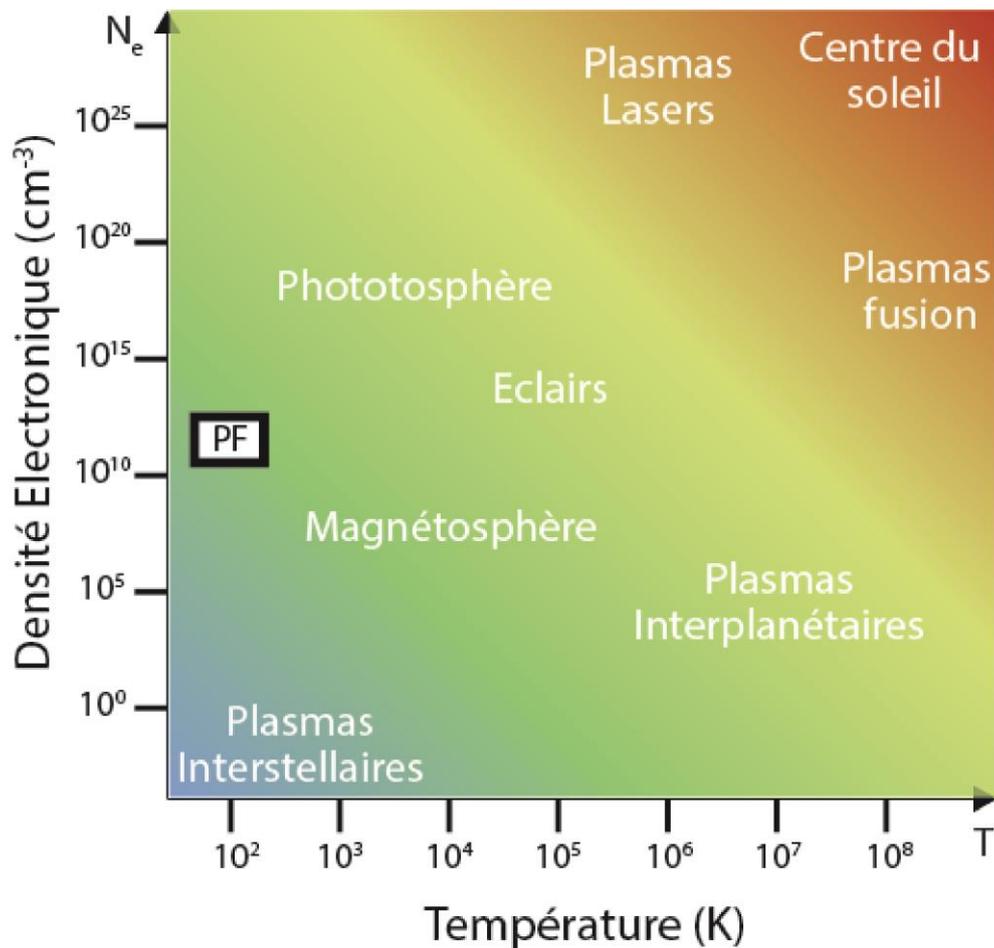
$$\chi = \frac{n_e}{n_e + n_n} \text{ {I. 1}}$$

χ représente ainsi le rapport entre la densité d’électrons libres (n_e) et la somme des densités des espèces qui le composent, ici les particules neutres (n_n) et les électrons libres (n_e).

Aussi contre-intuitif que cela puisse paraître, un gaz présente toujours un faible taux d’ionisation, notamment en raison du rayonnement cosmique. Ainsi, on considère qu’un gaz est à l’état de plasma si $\chi > 10^{-7}$. Sur Terre, le degré d’ionisation de l’air ambiant est

d’environ $\chi_{air} = 10^{-15}$ avec une densité électronique d’environ 10^4 e.cm^{-3} . Le passage de l’état gazeux vers l’état de plasma ne s’opère donc pas par un changement de phase mais par le franchissement d’un seuil d’énergie critique appelé seuil d’ionisation. Le terme « quatrième état de la matière » peut à cet égard paraître quelque peu galvaudé.

ii. Différentes branches d’études des plasmas



PF Zone des plasmas étudiés pendant la thèse

Figure I.2 : Graphique représentant les différents plasmas existant dans l’univers en fonction de leur température et leur densité électronique

La Figure I.2 présente une classification des plasmas sur un graphique reportant leur densité électronique en fonction de leur température gazeuse. Leur densité électronique peut varier de 1 e.cm^{-3} pour les plasmas interstellaires à $10^{30} \text{ e.cm}^{-3}$ pour les plasmas régnant au cœur des étoiles ou ceux issus de la fusion par confinement inertiel. Leur température électronique varie de plusieurs centaines de Kelvin pour les plasmas interstellaires et les jets de plasma froid à plusieurs centaines de millions de Kelvin pour les plasmas de tokamaks comme ITER ou au cœur d’une étoile.

Chapitre I – Etat de l’art sur les jets de plasma froid et leurs applications

Principes généraux des plasmas et des décharges

Les plasmas pouvant avoir des densités électroniques et des températures variant sur plusieurs ordres de grandeurs (Figure I.2) sont regroupés en plusieurs domaines d’études. Les 4 principaux sont les plasmas de fusion, les plasmas créés par laser, les plasmas spatiaux et les plasmas de décharge.

Les plasmas de fusion sont étudiés pour reproduire le phénomène de fusion thermonucléaire contrôlée. Ces plasmas sont très chauds ($\sim 100\,000\,000\text{K}$) et ont des densités électroniques très élevées. Pour cette raison, ils sont confinés dans un tore nommé tokamak à l’aide de forts champs magnétiques. On peut les trouver dans des structures comme le tokamak JET ou le futur tokamak ITER (Aymar, 2002). Ils présentent l’avantage de produire de grandes quantités d’énergie sans générer de déchets radioactifs, ce qui rend leur impact écologique extrêmement faible.

L’étude des interactions Lasers-Plasmas consiste à étudier les plasmas créés à partir de lasers. Certains plasmas confinés par laser peuvent engendrer en leur sein des réactions de fusion qui sont souvent non contrôlées (e.g. les bombes nucléaires dites bombes H) ou contrôlées mais difficilement exploitables comme source d’énergie (e.g. laser Mégajoule (André, 1999)). Ces plasmas sont très chauds et atteignent des densités massiques supérieures à 1000 fois celle de la matière présente sur Terre.

Le domaine des plasmas spatiaux est consacré aux plasmas du système solaire. Ces derniers représentent plus de 99% de la matière visible de l’Univers car ils sont les seuls à émettre de la lumière et donc à être visibles. Les plasmas spatiaux regroupent les étoiles (Baumjohann, 2012), le milieu interstellaire (Rickett, 1990), les aurores boréales (Paschmann, 2003), ... Ils existent donc sur des gammes de température et de densité électronique extrêmement larges.

Les plasmas de décharge sont des plasmas créés à partir de décharges électriques. Ils sont omniprésents dans la vie quotidienne ou à travers les objets que l’on utilise : télévisions à écran « plasma », processeurs et composants électroniques fabriqués par des procédés de plasma dédiés au dépôt de couches minces, tubes d’éclairage fluorescents (néons), éclaircs ... Les plasmas de décharge peuvent être répartis en deux catégories selon qu’ils ont ou non atteint l’équilibre thermodynamique local (ETL) :

- S’ils l’ont atteint, alors la température des électrons est la même que celle des ions et des particules neutres ($\sim 10^5\text{K}$), ils seront donc chauds et qualifiés de thermiques. On regroupe dans cette catégorie tous les arcs électriques.
- S’ils n’ont pas atteint cet équilibre, alors la température des ions et des particules neutres peut être beaucoup plus faible que celle des électrons ($T_e \sim 10^5\text{K}$, $T_{\text{ions}} \sim 2000\text{K}$ et $T_{\text{neutres}} \sim 300\text{K}$ pour les jets utilisés en médecine qui seront décrits dans les chapitres suivants). Ces plasmas sont qualifiés de « non-thermiques » ou plus communément de « froids ». Ces plasmas sont ceux qui ont été utilisés lors de cette thèse. Leur domaine est représenté par l’encadré PF sur la Figure I.2.

b. Décharges de Townsend

Le modèle des décharges de Townsend permet de bien représenter et comprendre ce qu’il se produit dans les plasmas de décharge pour des valeurs faibles du produit pression x distance.

Afin de comprendre ce modèle, il faut d’abord introduire le phénomène d’avalanche électronique, qui se produit lorsqu’un électron rencontre un atome neutre et parvient à l’ioniser. Il faut pour cela que celui-ci ait une énergie cinétique supérieure à son énergie d’ionisation E_i . Ainsi, lorsqu’un électron entre en collision avec un atome, il extrait de cet atome un électron des couches externes. Une réaction de collision électronique peut ainsi conduire à deux électrons qui, s’ils acquièrent une énergie suffisante, en produiront 4 et ainsi de suite. Le premier coefficient de Townsend α est défini comme le nombre moyen de paires électron-ion créées par unité de longueur par un électron. (Chanin, 1964) (Rax, 2005)

$$\alpha \equiv \frac{[\text{Nombre d'ionisations par unité de longueur}]}{[\text{Nombre d'électrons}]}$$

On considère une décharge entre deux électrodes planes séparées l’une de l’autre d’une distance d , comme montré sur la Figure I.3. La pression est notée P et le champ électrique entre les deux plaques E . Le libre parcours moyen représente la distance moyenne parcourue par un électron avant de rencontrer un atome et sera noté λ . La probabilité qu’un électron collisionne avec un atome sur une distance dx dépend linéairement de cette distance infinitésimale et de λ . Ainsi la probabilité qu’un électron ne rencontre pas d’atome sur la distance dx peut s’exprimer comme {1.2} :

$$p(dx) \sim 1 - \frac{dx}{\lambda} \quad \{1.2\}$$

Pour parcourir une distance $dx_1 + dx_2 + dx_3$, la probabilité vaut {1.3} :

$$p(dx_1 + dx_2 + dx_3) = \left(1 - \frac{dx_1}{\lambda}\right) \times \left(1 - \frac{dx_2}{\lambda}\right) \times \left(1 - \frac{dx_3}{\lambda}\right) \quad \{1.3\}$$

Comme les évènements « parcourir une distance dx_i sans collision » sont indépendants d’un point de vue statistique, en généralisant pour K $dx = x$ et en prenant la limite lorsque K tend vers l’infini,

$$p(x) = \left(1 - \frac{x}{K\lambda}\right)^K \quad \{1.4\}$$

$$\lim_{K \rightarrow \infty} \left(1 - \frac{x}{K\lambda}\right)^K = \exp\left(-\frac{x}{\lambda}\right) \quad \{1.5\}$$

La probabilité $p(x) = \exp\left(-\frac{x}{\lambda}\right)$ qu’un électron parcourt une distance x est une loi de Poisson. La valeur de x nécessaire pour que l’électron ait une énergie suffisamment élevée pour ioniser un atome vaut, en notant E_i l’énergie d’ionisation de l’atome :

$$x = \frac{E_I}{eE} \quad \{I.6\}$$

La probabilité qu’un atome parcoure une distance $x = \frac{E_I}{eE}$, et entraîne une collision dans un espace dx vaut {1.7} :

$$\exp\left(-\frac{x}{\lambda}\right) \times \frac{dx}{\lambda} \quad \{I.7\}$$

Le nombre d’atomes dN créé par unité de longueur dx en x vaut donc :

$$dN = N \times \exp\left(-\frac{x}{\lambda}\right) \times \frac{dx}{\lambda} \quad \{I.8\}$$

On obtient ainsi l’expression du coefficient α {1.9} :

$$\frac{dN}{dx} = \frac{N \times \exp\left(-\frac{E_I}{eE\lambda}\right)}{\lambda} \equiv \alpha N \rightarrow \alpha = \frac{\exp\left(-\frac{E_I}{\lambda eE}\right)}{\lambda} \quad \{I.9\}$$

En exprimant le libre parcours moyen en fonction de la pression, $\lambda = \frac{1}{p}$ et en introduisant deux constantes A et B avec $A = \frac{1}{p\lambda}$ et $B = \frac{E_I A}{e}$, la forme suivante, très utilisée dans la littérature, est obtenue {I.10} :

$$\alpha = AP \exp\left(-\frac{B}{E}\right) \quad \{I.10\}$$

Un schéma de processus d’avalanche électronique est représenté sur la Figure I.3.

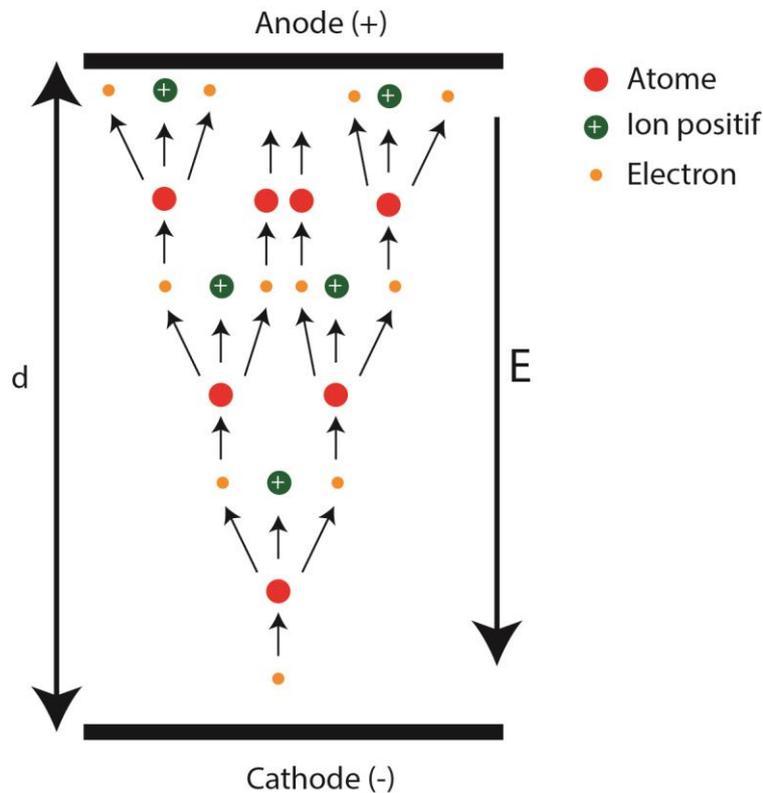


Figure I.3 : Schéma du processus d'avalanche électronique

Le premier coefficient de Townsend permet d’expliquer le phénomène d’amplification d’une décharge. Cependant, comme les charges sont capturées à l’anode et à la cathode, il ne permet pas d’expliquer l’existence de décharges qui se maintiennent au cours du temps (régime permanent), ce qui induit l’existence d’un autre mécanisme permettant la régénération de charges.

Lorsqu’il arrive à la cathode, un ion peut émettre un électron secondaire par conversion de son énergie cinétique et potentielle. On peut ainsi en déduire un coefficient γ de recapture ionique (Posin, 1936). Ce coefficient exprime le nombre d’électrons secondaires produits par ion impactant la cathode, comme représenté sur la Figure I.4. γ dépend du matériau de la cathode, de l’angle d’incidence du cation sur la cathode et est généralement compris entre 0,1 et 0,3 (Bowls, 1938).

$$\gamma \equiv \frac{[\text{Nombre d'électrons secondaires}]}{[\text{Nombre ions incidents}]}$$

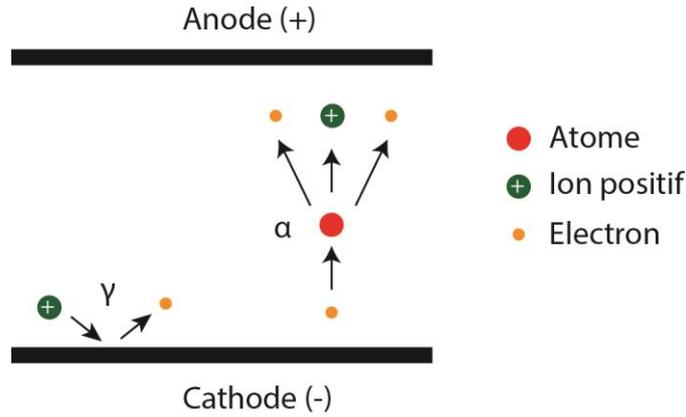


Figure I.4 : Schéma représentant le deuxième coefficient de Townsend

Chaque électron partant de la cathode produit $\exp(\alpha d) - 1$ paires électron-ion. Ces $\exp(\alpha d) - 1$ ions vont, en arrivant à la cathode, produire $\gamma(\exp(\alpha d) - 1)$ électrons secondaires. En généralisant :

$$1 \rightarrow \exp(\alpha d) - 1 \rightarrow \gamma(\exp(\alpha d) - 1) \exp(\alpha d) \rightarrow \gamma^2(\exp(\alpha d) - 1)^2 \exp(\alpha d) \rightarrow \dots$$

Une série géométrique se dessine ainsi et en sommant tous les termes, on obtient :

$$1 \text{ électron à la cathode} \rightarrow \frac{\exp(\alpha d)}{1 - \gamma(\exp(\alpha d) - 1)} \text{ électrons à l'anode}$$

Lorsque $1 - \gamma(\exp(\alpha d) - 1)$ tend vers 0, le nombre d'électrons créés par un 1 électron incident est infini et la décharge commence à être soutenue. Le claquage de Townsend se réalise à ce moment-là selon le critère de Townsend :

$$\alpha d = \ln \left(1 + \frac{1}{\gamma} \right) \quad \{I. 11\}$$

En reprenant les constantes A et B, avec $E = \frac{V_B}{d}$, en notant V_B la différence de potentiel entre l'anode et la cathode,

$$\alpha \left(\frac{V_B}{d}, P \right) d = \ln \left(1 + \frac{1}{\gamma} \right) \quad \{I. 12\}$$

$$APd \cdot \exp \left(-\frac{BPd}{V_B} \right) = \ln \left(1 + \frac{1}{\gamma} \right) \quad \{I. 13\}$$

En introduisant le potentiel de claquage minimum $V^* = B \exp(1) \log \left(1 + \frac{1}{\gamma} \right)$ et le produit pression x longueur critique $Pd^* = \exp(1) \log \left(1 + \frac{1}{\gamma} \right)$, on obtient la loi de Paschen {I.14} :

$$\frac{V_B}{V^*} = \frac{\frac{Pd}{Pd^*}}{1 + \log \left(\frac{Pd}{Pd^*} \right)} \quad \{I. 14\}$$

Cette loi est représentée sur la Figure I.5 pour plusieurs gaz. Le Tableau I.1 donne les valeurs de V^* et Pd^* pour l'hélium, l'hydrogène, l'azote, l'oxygène et l'air à pression

atmosphérique, le gaz le plus simple à décharger selon les courbes de Paschen est donc l’hélium. Le champ de claquage de l’air à pression atmosphérique est de 30kV.cm^{-1} .

	$V^*[\text{V}]$	$Pd^*[\text{torr.cm}]$
He	156	4,0
H₂	273	1,15
N₂	251	0,67
O₂	450	0,7
Air	327	0,56

Tableau I.1 : Liste des valeurs de V^* et Pd^* des gaz usuels (Rax, 2005)

Sur la figure I.5, la forme des courbes est facilement explicable d’un point de vue quantitatif :

- Lorsque la pression est trop basse, le libre parcours moyen (qui dépend de $\frac{1}{p}$) devient trop grand et la probabilité qu’un électron puisse rencontrer un atome (et donc déclencher une avalanche électronique) devient très faible.
- Lorsque la pression est trop élevée, les collisions sont trop fréquentes et l’électron n’arrive plus à atteindre une vitesse suffisante pour pouvoir ioniser les atomes neutres.

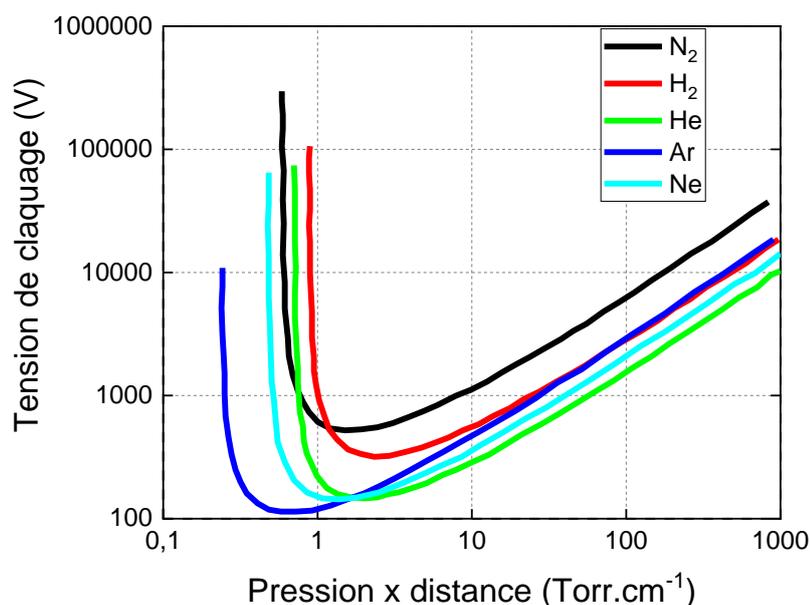


Figure I.5 : Courbes de Paschen des principaux gaz utilisés en physique des décharges. Inspiré de (Lieberman, 2005)

La Figure I.6 correspond à la courbe caractéristique Courant-Tension d’une décharge électrique dite courbe de Townsend (Townsend, 1915). Six zones doivent être distinguées :

- La zone 1 correspond à la collecte des charges électriques naturellement présentes dans le gaz (rayonnement cosmique notamment). Le courant sature à partir d’une valeur critique qui correspond au nombre très limité de ces charges.

- Dans la zone 2, le phénomène d’ionisation par impact électronique commence. Les avalanches électroniques ainsi que la recapture induisent une croissance exponentielle du courant. Cette zone est dénommé « Décharge sombre de Townsend ».
- La zone 3 est une zone instable correspondant au passage entre la décharge sombre de Townsend et la décharge luminescente.
- La zone 4 correspond à la décharge luminescente ou « glow » qui se caractérise par une forte émission optique dans le domaine du visible et de l’ultraviolet.
- La zone 5 est aussi une zone instable correspondant au passage de la décharge luminescente à l’arc électrique. Certains auteurs nomment cette zone « spark » (étincelle)
- La zone 6 correspond aux arcs électriques. Les décharges y sont très chaudes (plusieurs milliers de Kelvin) et la reformation de charge s’effectue par émission thermo-ionique. Le courant est ici très intense et la tension faible ; le plasma se comporte donc comme un système de très faible résistance (ou très forte conduction), proche de celle du cuivre.

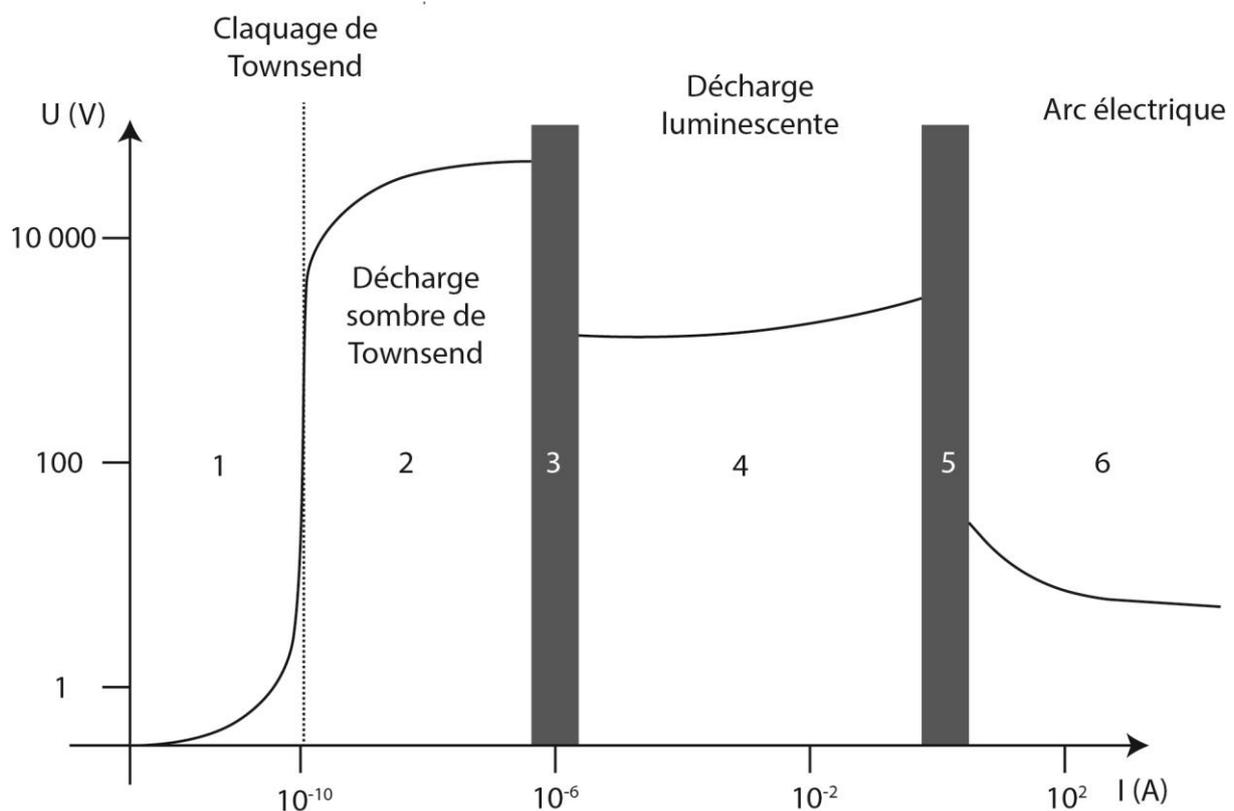


Figure I.6 : Caractéristique courant-tension universelle des décharges électriques (Rax, 2005)

c. Claquage streamer

Au-delà d’un certain produit pression x distance, le champ électrique à l’intérieur de l’avalanche électronique E_a devient supérieur ou égal au champ électrique extérieur E

(Fridman, 2008). En notant r_A le rayon de l’avalanche électronique, E_a est donné par {I.15} :

$$E_a = \frac{e}{4\pi\epsilon_0 r_A^2} \exp\left(\frac{\alpha EP}{d}\right) \sim E_0 \quad \{I.15\}$$

On peut en déduire le critère de Raether-Meek, (Meek, 1940) (Loeb, 1940) qui donne le nombre d’électrons nécessaire pour qu’une avalanche électronique devienne un streamer,

$$N_e = \exp(\alpha d) \sim 3 \cdot 10^8 \quad \{I.16\}$$

Dès que le critère de Raether-Meek est atteint, c’est-à-dire que le nombre d’électrons dans la tête de l’avalanche est supérieur à 10^8 - 10^9 , l’avalanche se transforme en streamer : une onde d’ionisation qui se propage longitudinalement et qui transporte des charges électriques et des espèces radiatives sur de longues distances (Lu, 2014).

On distingue deux types de streamer, les streamers dits négatifs et les streamers dits positifs, en fonction de la charge de la tête du streamer, comme montré dans la Figure I.7.

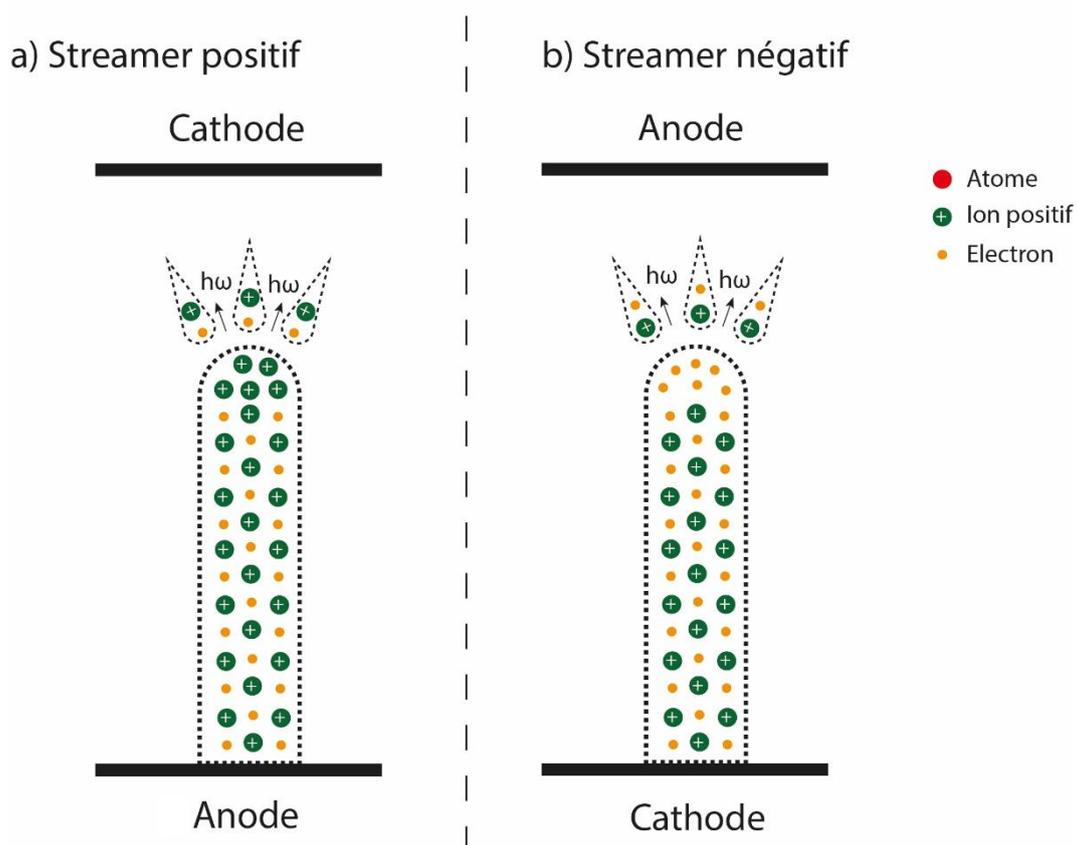


Figure I.7 : Schéma de la progression d'un streamer positif en (a) et d'un streamer négatif en (b) Inspiré de (Fridman, 2008)

Un streamer positif est nommé en raison de sa tête qui possède une charge positive, ce qui peut donner l'impression que ce sont les ions positifs qui se déplacent. En réalité, ce sont les électrons qui se déplacent grâce à leur mobilité qui est environ 2000 fois

supérieure à celle des ions. Lors de l’avancée du streamer, des paires électrons-ions sont créés à la fois par avalanche électronique et photo-ionisation dues à l’émissivité de la tête du streamer. Les électrons sont ensuite attirés par la charge positive afin de combler les charges d’espace. Lorsqu’ils rejoignent la zone positive, ils dépeuplent leur zone de départ. Cela crée alors une zone d’espace chargée positivement. A son tour, cette zone positive crée d’autres paires électrons-ions et continue d’avancer jusqu’à atteindre la cathode, comme montré sur la Figure I.7.

Pour les streamers négatifs l’évolution est beaucoup plus simple : le streamer avance par avalanche électronique, les électrons de la tête entraînant des avalanches électroniques et créant aussi d’autres paires électron-ion par photo-ionisation, comme montré sur la Figure I.7.

La Figure I.8 montre un jet de plasma froid photographié par imagerie ultra rapide, permettant ainsi d’isoler la propagation d’un streamer guidé positif en (a) et d’un streamer guidé négatif en (b). On peut remarquer que les streamers négatifs ont une tête moins définie que les streamers positifs (Kone, 2017) et qu’ils sont moins rapides que les streamers positifs (Luque, 2008).

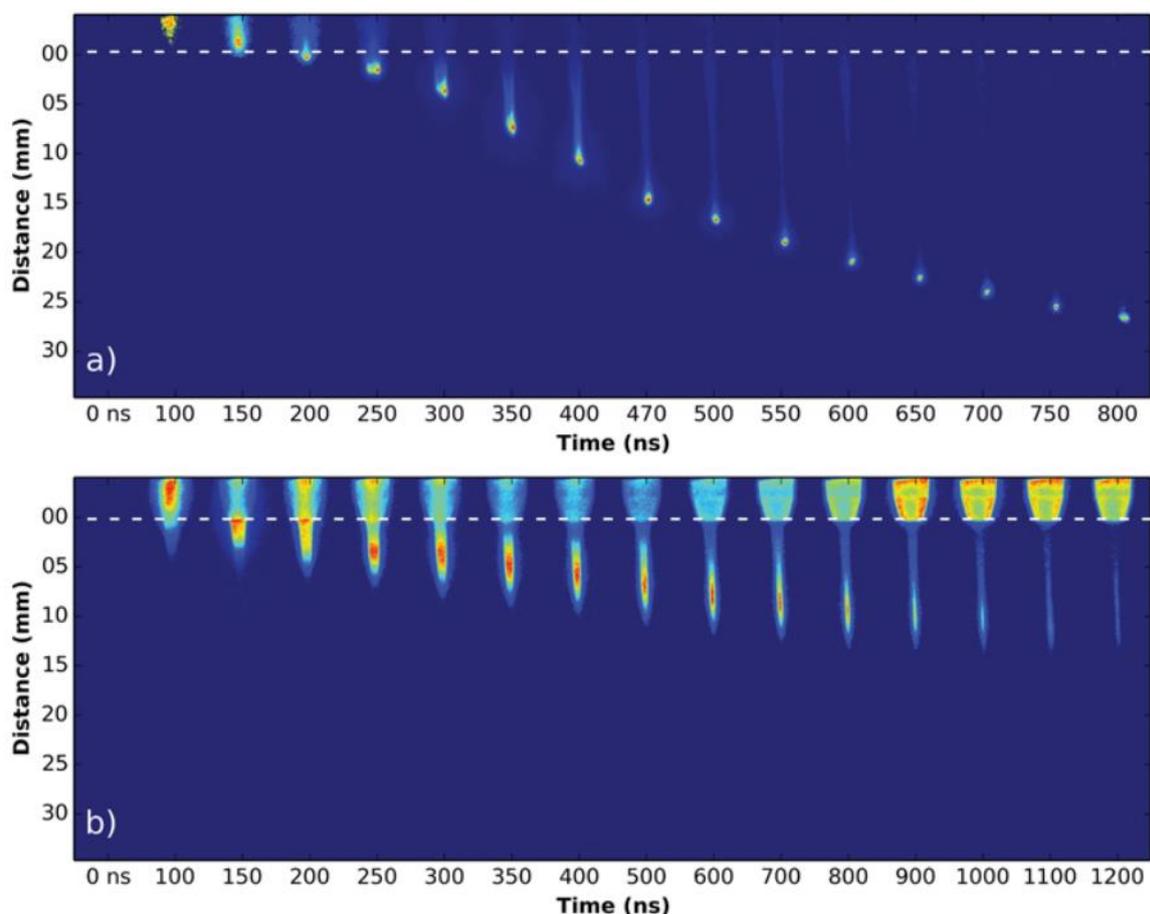


Figure I.8 : Imagerie ICCD de streamers (a) positifs et en (b) négatifs se propageant dans l’air (Kone, 2017). La polarité de la source haute tension a été inversée pour obtenir les streamers négatifs.

Les streamers peuvent être détectés par imagerie ICCD ultra rapide (comme montré sur la Figure I.8) et/ou par caractérisation électrique. La combinaison de ces diagnostics avec des outils de simulation conduit à modéliser un streamer comme une structure à plusieurs étages, comprenant :

- La région de la pré-tête qui est située très en amont de la tête du streamer et où les électrons d’ensemencement sont créés par photo-ionisation qui est le mécanisme physique le plus communément accepté (Pavan, 2019).
- La tête dont l’apparence est celle d’une petite balle à forte émission optique. Selon le signe de polarisation, elle peut être chargée positivement ou négativement, d’où le nom de streamer positif ou négatif (Montijn, 2006).
- La queue qui a l’apparence d’une longue traînée de faible intensité et dont l’émission optique diminue à mesure que l’on s’éloigne de la tête. La queue peut contenir des espèces chargées positivement et négativement bien que sa charge électrique macroscopique globale soit nulle (Lu X. N., 2014) (Kone, 2017).

Le terme « plasma bullet », bien que largement utilisé dans la littérature, est quelque peu trompeur car il suggère qu’un petit volume de plasma (en l’occurrence la tête) pourrait se propager comme un projectile totalement indépendant de la source qui l’a généré. Dans le cas d’un jet de plasma, cette terminologie impliquerait que la « plasma bullet » soit déconnectée de l’électrode polarisée alors qu’il existe pourtant bien une queue qui la relie à cette électrode (Ye, 2008). Par souci de clarté, cette terminologie n’est donc pas employée dans ce manuscrit.

2. Physique des jets de plasma froid à pression atmosphérique

Le terme « jet de plasma » est utilisé dans de nombreux domaines de la physique des plasmas. Dans la communauté des plasmas spatiaux, il est appliqué aux flux de plasma lumineux éjectés principalement dans l’ionosphère terrestre (Sergeev, 2000). Dans la communauté des plasmas froids, il désigne un écoulement de gaz ionisé qui se propage au-delà de l’espace inter-électrode, dans une direction donnée de l’espace (Winter J., 2015). Si cette éjection de plasma froid est souvent obtenue en faisant circuler dans un tube (ou capillaire) diélectrique le gaz vecteur à débit élevé, elle peut également résulter de la géométrie du champ électrique.

Les dispositifs à jet de plasma à pression atmosphérique (APPJ) sont étudiés depuis plusieurs décennies et plus particulièrement depuis les années 2000, à travers un large éventail d’applications, comme indiqué sur la Figure I.9. Ces applications sont en lien avec la science des matériaux (dépôt de couches minces, texturisation et fonctionnalisation de surfaces), la valorisation des effluents atmosphériques ou plus récemment encore les sciences de la vie (Penkov, 2015). En trois décennies, le nombre de publications a augmenté de manière quasi-exponentielle pour se stabiliser à une valeur annuelle d’environ 250 depuis le début des années 2020 (Figure I.9).

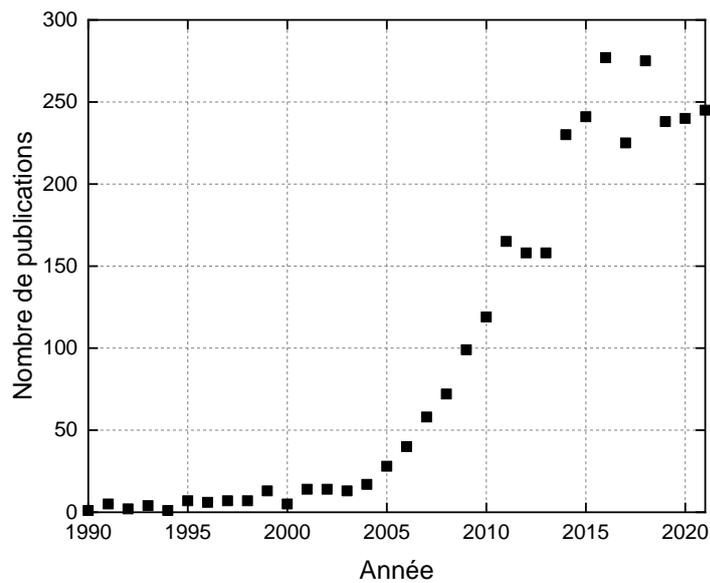


Figure I.9 : Nombre de publications par année traitant des APPJ (inspiré de (Winter J., 2015)). Le nombre de publications a été calculé en recherchant les mots « plasma jet » et « atmospheric pressure ».

Le nombre élevé de travaux de recherches utilisant des dispositifs à jet de plasma froid, conjugué à une très grande diversité d'applications ont permis de décliner ces dispositifs en de nombreuses configurations, comme détaillé ci-après.

a. Applications des dispositifs à jet de plasma froid

Les dispositifs à jet de plasma froid sont présents dans de nombreuses applications :

- En Sciences & Technologie des Matériaux et Surfaces, les APPJ peuvent être utilisés pour la gravure de matériaux comme le Kapton, le dioxyde de silicium, le tantale ou le tungstène (Jeong, 1998) mais aussi pour le dépôt de films de carbone amorphe (Fusselman, 1994) ainsi que de films minces composites comme In_xO_y et SnO_x (Churpita, 2003).
- Les APPJ sont également utiles pour le traitement des effluents, surtout lorsqu'ils sont montés en parallèle pour traiter de plus grands volumes. De telles configurations peuvent être utilisées pour traiter les eaux usées de l'industrie textile et plus particulièrement les colorants qui comptent parmi les polluants environnementaux les plus problématiques en raison de leurs structures complexes, de leurs propriétés chimiques et de leurs poids moléculaires (Rashid, 2020). La conversion du CO_2 par APPJ est également une application phare qui ouvre la voie à des procédés durables et à faible empreinte carbone (George, 2021).

- Les APPJ font l'objet de recherches intensives en vue de répondre à des enjeux propres aux Sciences de la Vie. Ainsi, les jets de plasma alimentés en hélium ou en argon peuvent générer des espèces réactives qui jouent un rôle essentiel dans l'inactivation d'agents pathogènes comme *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, et plus généralement pour la décontamination de surface en détruisant un large spectre de micro-organismes (bactéries, bacilles, champignons, virus) (Liu, 2013). Les APPJ se sont aussi imposés dans le domaine de la cicatrisation des plaies afin de déclencher des effets biologiques sur la désinfection, la prolifération, l'angiogenèse, la migration cellulaire et la réépithélialisation (Boeckmann, 2020). Ils ont également été appliqués avec succès en oncologie pour induire des effets antitumoraux lors de campagnes *in vivo*, soit par une approche directe (cellules tumorales exposées au plasma) (Vaquero, 2020), soit par une approche indirecte (utilisation de liquides activés par le plasma) pour générer des espèces réactives à longue durée de vie (Khlyustova, 2019). Enfin, les APPJ sont utilisés en agriculture pour améliorer les propriétés germinatives des semences. Bien qu'elles ne puissent traiter que de petits lots de semences, les APPJ peuvent être utilisées pour tester facilement un large éventail de conditions expérimentales et innover ensuite des procédés à plus grande échelle. (Ranieri, 2021)

b. Différentes configurations de jets de plasma

La diversité des applications précitées et le savoir-faire spécifique de chaque laboratoire ont conduit à l'émergence d'un large panel de dispositifs à jet de plasma froid (Lu, 2012). Comme le montre la Figure I.10, il est commode de classer les APPJ en trois catégories. La première comprend les dispositifs où le plasma n'est en contact avec aucune électrode. Ces APPJ présentent des barrières diélectriques doubles comme le montre la configuration (a) où deux anneaux métalliques entourent un capillaire diélectrique, la configuration (b) où une électrode à broche est noyée dans un matériau diélectrique ou la configuration (c) où l'électrode polarisée et la contre-électrode sont enroulées autour d'un tube selon une structure en double hélice. Ces électrodes noyées dans un matériau diélectrique sont particulièrement utiles pour le traitement des liquides ou des gaz corrosifs (Nguyen, 2020). La deuxième catégorie correspond aux APPJ n'ayant qu'une seule barrière diélectrique, de sorte que le plasma n'est en contact qu'avec une seule électrode. C'est le cas de la configuration (d) correspondant au dispositif de canon à plasma appliqué avec succès dans plusieurs applications médicales (Brullé, 2012) ainsi que pour les configurations (e), (f) et (g). Cette dernière étant radicalement différente des précédentes puisque sa contre-électrode n'est pas en contact avec le tube diélectrique. La troisième catégorie regroupe les dispositifs APPJ où le plasma est en contact avec au moins une électrode et où le concept de barrière diélectrique n'est plus pertinent. Dans cette catégorie, une surface métallique est souvent utilisée comme contre-électrode, comme le montre la configuration (h). Une variante correspond à la configuration (i) où aucune contre-électrode n'est présente. Dans ces deux dernières configurations, le rôle du tube diélectrique se limite à orienter le flux de gaz dans une direction privilégiée ; en

aucun cas il joue un rôle de barrière empêchant la transition au régime d'arc. Pour cette raison, une faible variation de la distance inter-électrodes ou de la puissance appliquée peut facilement conduire le plasma froid vers un régime thermique ou réciproquement.

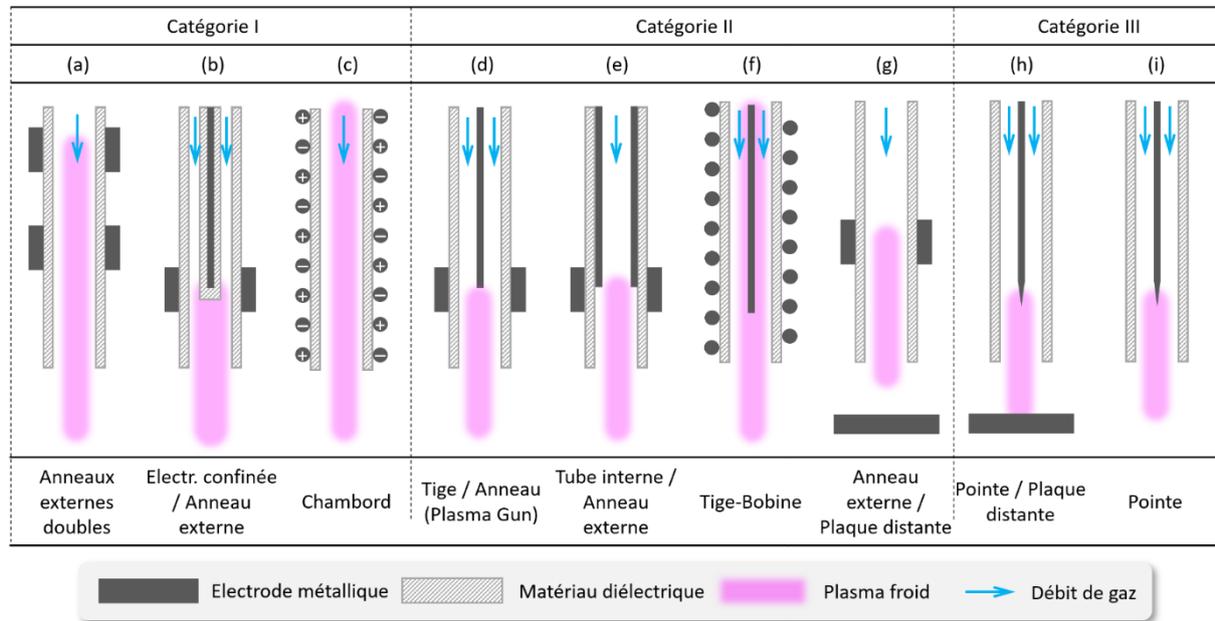


Figure 1.10: Nomenclature non exhaustive des dispositifs AAPJ et de leurs représentations transversales

c. Modes de propagation – Streamer guidé ou non guidé

Selon les configurations d'APPJ et le profil de la tension appliquée, différents modes d'excitation électrique peuvent être appliqués, permettant de générer soit des trains de streamers guidés, soit des trains de streamers non guidés. Un train de streamers guidés correspond à la succession de streamers répétés périodiquement dans le temps, chacun suivant la même dynamique de propagation et occupant la même disposition spatiale des branches que ses prédécesseurs. Les streamers guidés se propagent toujours à la même vitesse (variations de vitesse < quelques pourcents), après le même temps de retard (incertitudes < quelques nanosecondes) (Lu X. &, 2018). A l'inverse, un train de streamers non guidés correspond à une succession de streamers apparaissant à des moments différents par rapport à l'instant où la tension de claquage est atteinte, et qui occupent une disposition spatiale différente à chaque fois (Nijdam, 2011). Comme le soulignent Zeng *et al.*, ces streamers se propagent dans différentes directions avec une variation typique de la vitesse de propagation d'environ 20%-50% (Zeng, 2013). Ce comportement stochastique peut résulter de la différence du délai d'allumage des streamers et de la variation de leur vitesse de propagation d'une impulsion à l'autre (Lu X. &, 2018). Le paramètre physique clé qui différencie les streamers guidés des non guidés est la densité d'électrons germes restant dans le canal de propagation entre deux streamers successifs. Si sa valeur est supérieure à 10^9 électrons par cm^3 , alors la dynamique passe d'un mode

stochastique à un mode de répétition (Lu X. &, 2018). La Figure I.11 représente deux types de streamers : en a) un train de streamers non guidés se propageant stochastiquement sous forme de « branches » et en b) un streamer guidé en sortie d’un dispositif à capillaire diélectrique.

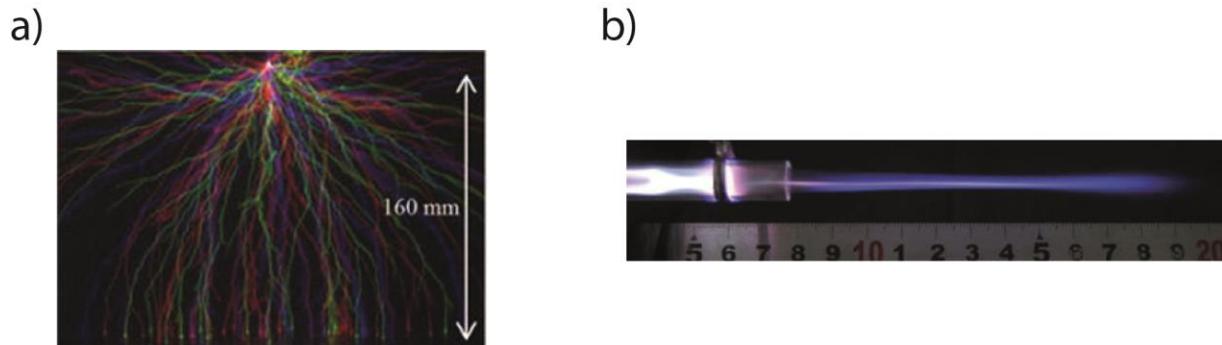


Figure I.11: a) Exemple de streamer non guidé les différentes couleurs indiquent des décharges différentes (Nijdam, 2011)
b) Streamer guidé obtenu en sortie d'un jet de plasma (Lu X. J., 2008)

d. Modes d'excitation électrique des jets de plasma

La Figure I.12 présente trois modes d'excitation électrique (forme continue ou DC, forme sinusoïdale et forme impulsionnelle) en considérant les configurations (g) et (h) de la Figure I.10. Le mode d'excitation DC permet de générer soit des streamers guidés, soit des streamers non guidés, et conduit ainsi à différents types de décharges de plasma qui apparaissent selon la distance inter-électrodes imposée (Wu S. C., 2018). Une décharge « streamer corona » est obtenue (Figure I.12.a) si l'avalanche est désintégrée avant d'atteindre la contre-électrode. En conséquence, la décharge prend la forme d'impulsions qui se succèdent régulièrement à une fréquence de quelques kHz, justifiant ainsi le caractère guidé des streamers générés (Wu S. C., 2018). En réduisant l'espace inter-électrodes, la décharge connecte l'électrode polarisée à la plaque métallique mise à la terre, conduisant ainsi à la formation d'un seul filament, comme le montre la Figure I.12b. À une fréquence plus élevée et une largeur d'impulsion plus faible, le courant de décharge reste impulsionnel et les streamers guidés. Il est alors possible d'obtenir un « glow » transitoire, comme le montre la Figure I.12.c où la décharge est composée de streamers guidés et présente à proximité de la contre-électrode une région appelée « espace sombre » (ES). La Figure I.12d indique que pour des distances inter-électrodes plus faibles, le courant présente un profil temporel constant, ce qui signifie que le courant de décharge n'est plus transporté par des streamers, qu'ils soient guidés ou non. Des valeurs plus courtes conduisent ensuite à l'apparition d'un « spark » qui peut être direct ou ramifié, comme le montrent les Figure I.12.e et Figure I.12.f respectivement. Ici encore, les streamers peuvent être considérés comme guidés en raison de leur fréquence de répétition hautement reproductible ainsi que d'un agencement spatial unique (Khun, 2018). Si l'alimentation électrique fournit un courant d'amplitude suffisamment élevée, le spark peut alors se transformer en arc (plasma thermique). La Figure I.12 propose deux autres modes d'excitation électrique à partir de la même configuration "électrode

annulaire plaque éloignée". Dans le cas d'une polarisation sinusoïdale à haute tension (Figure I.12g), le courant de décharge présente deux composantes : (i) une composante diélectrique correspondant à une forme d'onde sinusoïdale et (ii) une composante plasma composée d'une distribution stochastique de streamers non guidés. Inversement, des streamers guidés peuvent être obtenus en utilisant le même dispositif APPJ s'il est alimenté par des impulsions de haute tension - positives, négatives ou alternativement positives/négatives - avec des largeurs qui doivent être suffisamment courtes ($< 100 \mu\text{s}$). De tels streamers guidés se propagent typiquement à des vitesses de l'ordre de 10^5 - 10^8 km.s^{-1} (Karakas, 2012) (Lu X. L., 2012).

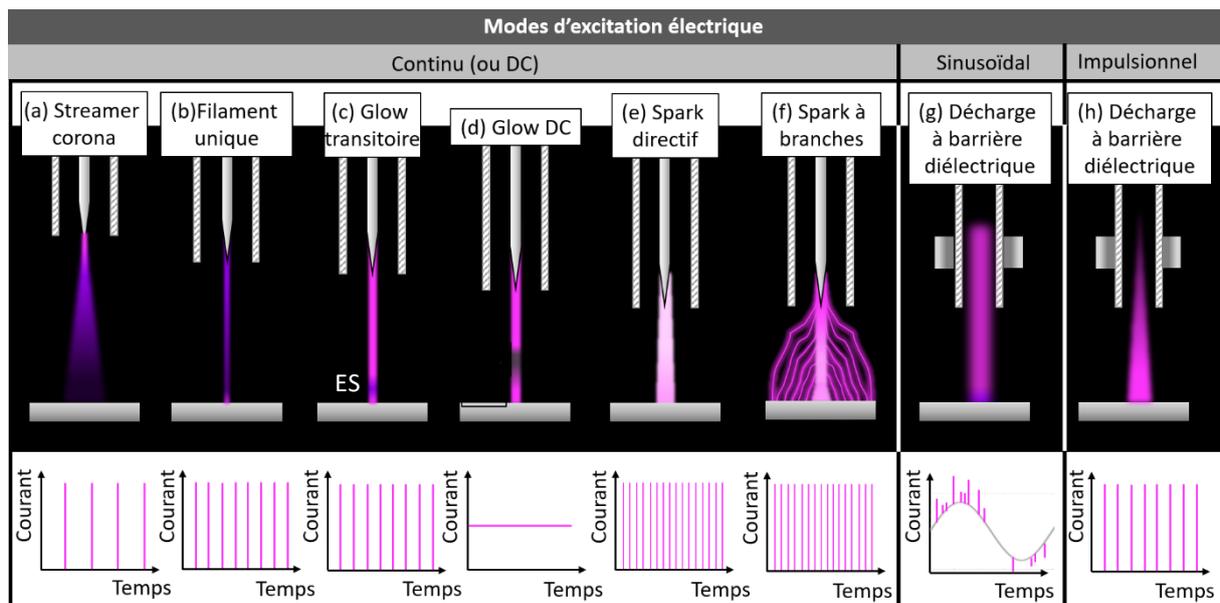


Figure I.12: Schémas de décharges de plasma atmosphérique hors équilibre obtenus pour différents modes d'excitation électrique sur une plaque métallique reliée à la masse et caractérisés soit par des streamers guidés (répétition périodique des pics de courant), des streamers non guidés (distribution aléatoire des pics de courant lors des phases d'extinction) ou l'absence de streamers (courant continu). ES = Espace sombre

e. Cibles, propagation et contre-propagation

Un jet de plasma peut fonctionner soit en mode « jet libre » (propagation au-delà de l'espace inter-électrodes du dispositif et dissipation énergétique complète dans l'environnement gazeux), soit en mode « contact » (propagation dans l'environnement gazeux suivie d'une interaction avec un matériau condensé - liquide ou solide - communément appelé "cible"). Les paramètres clés d'une cible sont sa permittivité diélectrique et sa conductivité électrique qui déterminent toutes deux ses valeurs de capacité et de résistance et qui contrôlent donc la constante de temps pour charger sa surface.

- Lorsque le streamer frappe une cible dont la permittivité et la conductivité sont faibles (par exemple, du verre), on observe une pénétration en profondeur du champ électrique

avec des gradients latéraux négligeables (Norberg, 2015). En conséquence, le streamer se propage sur la surface de la cible tout en chargeant celle-ci (Klarenaar, 2018).

- Lorsque le streamer impacte une cible de haute permittivité et conductivité (par exemple, un métal), la cible possède une charge électrique inexistante ou se charge à une vitesse très faible. En outre, le champ électrique ne pénètre pas dans la cible, créant donc une différence de tension plus élevée dans l'espace entre la sortie du capillaire et la cible. Par conséquent, un canal ionisé conducteur est établi, reliant l'électrode polarisée à la cible (source d'électrons). Là, le champ électrique localisé crée immédiatement une forte décharge pour reconstruire le canal conducteur quelques centaines de ns après l'impact du streamer sur la cible. En conséquence, un streamer se contre-propage à l'intérieur de ce canal (Norberg, 2015) (Babaeva, 2019).

Des images de jets impactant des cibles diélectriques et métalliques sont présentés dans la Figure I.13. Dans le cas de la cible diélectrique, la propagation surfacique du streamer est clairement identifiée.

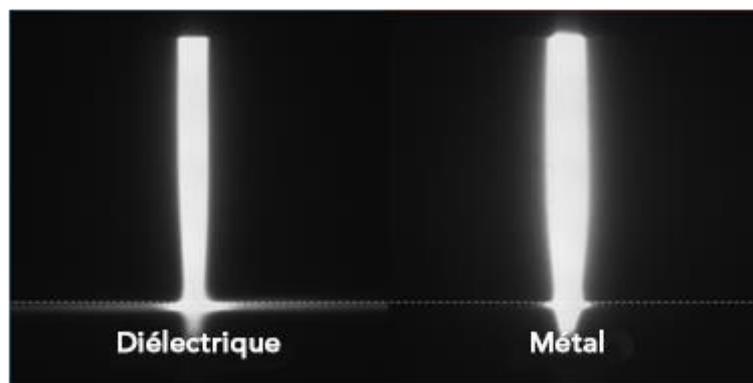


Figure I.13: Images d'un jet de plasma rencontrant une cible diélectrique ou métallique. Adapté de (Simoncelli, 2019)

Cette contre-propagation a déjà été caractérisée par Darny *et al.* qui ont réalisé des mesures de densité d'hélium métastable (spectrométrie d'absorption laser) et des mesures de distribution de champ électrique (sonde de PoECKELS) (Darny, 2016). Ces deux paramètres physiques permettent aux auteurs d'expliquer la contre-propagation comme le résultat d'une désadaptation d'impédance entre la cible et l'électrode polarisée.

Ce phénomène a également fait l'objet de simulations numériques, notamment celles de Viegas *et al.* en utilisant un modèle fluide axisymétrique 2D basé sur les équations de dérive-diffusion-réaction pour les espèces chargées, les équations de réaction pour les espèces neutres et l'équation de Poisson (Viegas, 2020). Leurs simulations ont démontré que l'existence d'un canal ionisé est nécessaire à la propagation des ondes d'ionisation de la cible vers l'électrode polarisée. Ils ont également montré que la réactivité radicalaire reste dans la plume de plasma pendant l'impulsion de 1 μ s si la cible métallique est mise à la terre alors qu'elle diminue jusqu'à quelques centaines de ns si la même cible est à un potentiel flottant (Viegas, 2020). Par ailleurs, il est intéressant de noter que les travaux de simulation numérique de Babaeva *et al.* révèlent que pour une cible métallique, un streamer de contre-propagation (ou streamer arrière) peut changer de direction et se transformer en un streamer de propagation secondaire (ou streamer avant secondaire)

(Babaeva, 2019). Les vitesses du streamer arrière et du streamer avant secondaire sont supérieures à celle du streamer avant primaire car ils se propagent tous deux le long d'un canal déjà ionisé. De multiples réflexions de streamers avant et arrière ont également été observées et analysées par le laboratoire GREMI (Darny, 2016).

La permittivité diélectrique d'une cible est une question fondamentale qui a également de fortes retombées dans de nombreuses applications phares, que ce soit dans le domaine des matériaux ou des sciences du Vivant. Comme démontré par Yonemori *et al.*, la densité de radicaux oxygène générés par un APPJ peut être deux fois plus élevée au voisinage d'une surface de verre plutôt que d'un tissu biologique (par exemple la peau ex vivo d'un modèle murin) (Yonemori, 2014). De plus, les chercheurs peuvent tirer de nombreux avantages des cibles dans les applications médicales reposant sur des plasmas: (i) les cibles peuvent être utilisées pour vérifier l'absence de risques électriques et thermiques avant de mettre en péril la vie des modèles précliniques, e.g. souris, rats et porcs, (ii) des cibles peuvent être conçues de manière à imiter la réponse électrique d'un corps humain dans le but de personnaliser la plasmathérapie en tenant compte des spécificités biophysiques de chaque patient (e.g. femme enceinte, enfant à la peau moite, homme âgé avec prothèse métallique, etc.) (Judée F. &, 2019) (Stancampiano, 2019).

3. Plasma Médecine

Cette section est dédiée à un état de l’art en « plasma oncologie » axée sur deux modèles de cancer étudiés par le LPP et deux laboratoires de Sorbonne Université spécialisés en oncologie :

- Le cholangiocarcinome (CCA) étudié par l’équipe du Dr. Laura FOUASSIER du Centre de Recherche Saint-Antoine et l’équipe. Ce partenariat a débuté en 2016 et vise à trouver une nouvelle méthode de traitement du CCA.

- Le cancer du poumon non à petites cellules (Non Small Cell Lung Carcinoma, NSCLC) étudié par l’équipe d’Isabelle CREMER du Centre de recherche des Cordeliers (CRC). La collaboration a débuté début 2021 et a pour objectif de trouver un traitement au cancer du poumon non à petites cellules.

a. Description des cancers étudiés au cours du projet doctoral

Le cancer est l'une des principales causes de décès dans tous les pays. En 2020, le monde comptait 19,3 millions de nouveaux cas et 10,0 millions de décès liés au cancer (Sung, 2021). D'ici 2040, le nombre de nouveaux cas de cancer par an devrait passer à 29,5 millions et le nombre de décès liés au cancer à 16,4 millions (Long, 2020). En général, les pays présentant les taux de cancer les plus élevés sont ceux dont les populations bénéficient d'une espérance de vie élevée, d'un haut niveau d'éducation et d'un niveau de vie élevé. Il existe toutefois quelques exceptions, comme le cancer du col de l'utérus, dont

le taux d'incidence est plus élevé dans les pays à faible PIB (NIH, 2022). Par ailleurs, au sein d'un même pays, le taux de survie des patients peut varier fortement en fonction du type de cancer. Ainsi, en France, la survie nette standardisée (SNS) qui prend en compte l'effet de l'âge par standardisation à 5 ans varie de 96% pour les cancers de la thyroïde à 10% pour le mésothéliome de la plèvre. Les cancers de pronostic défavorable représentent, en termes d'incidence, 32% des tumeurs solides chez l'homme et 19% chez la femme, ainsi que 7% des hémopathies malignes chez l'homme et 9% chez la femme (Defossez, 2019). A l'inverse, les cancers de pronostic favorable représentent 40% des tumeurs solides chez l'homme et 55% chez la femme, ainsi que 45% des hémopathies malignes chez l'homme et la femme (Coureau, 2021).

Parmi les cancers de mauvais pronostic, les cancers rares et agressifs présentent souvent des complications qui les rendent plus difficiles à traiter que les types de tumeurs courants. Dans le cas d'un cancer rare, les médecins peuvent ne pas disposer d'un traitement standard approuvé par la FDA (et/ou par l'EMA) pour les guider dans leur prise de décision clinique. Dans les cas de cancers agressifs, les cellules cancéreuses peuvent souvent devenir résistantes aux options de traitement standard, et les patients peuvent donc épuiser ces options très rapidement. Pour ces raisons, la recherche de nouveaux traitements est une urgence vitale pour les patients atteints de cancers rares et/ou agressifs comme le CCA et le NSCLC.

i. Cholangiocarcinome (CCA)

1. Présentation du cancer

Comme le montre la Figure I.14, l'arbre biliaire est une série de canaux gastro-intestinaux permettant la modification et le transport de la bile. Celle-ci est principalement synthétisée par les hépatocytes du foie pour être concentrée et stockée dans la vésicule biliaire, avant d'être libérée dans le duodénum au moment des repas. Le canalicule biliaire donne naissance aux canaux de Herring, à l'origine des canaux biliaires, puis aux canaux biliaires intra-hépatiques à partir desquels les canaux hépatiques droit et gauche se rejoignent à l'extérieur du foie pour former le canal biliaire commun, puis le canal cystique et le cholédoque qui se déverse dans le duodénum par la grande caroncule via l'ampoule de Vater et le sphincter d'Oddi (Abou-Khalil, 2019).

Le CCA correspond à un groupe de tumeurs malignes très hétérogènes qui peuvent se développer en tout point de l'arbre biliaire, indépendamment de leur taille ou de leur localisation : dans le foie (intra-hépatique, iCCA), au niveau du hile (périhilaire, pCCA) ou distalement (distal, dCCA). Leurs fréquences sont respectivement de 10%, 50% et 40% pour les iCCA, pCCA et dCCA. Selon la nouvelle nomenclature, ces 2 derniers sites sont considérés comme des CCA extra-hépatiques (eCCA). Le profil mutationnel des CCA varie également :

- Les iCCA présentent des altérations génétiques de l>IDH-1 (15-20%) et du FGFR-2 (fusion) (10-15%) qui peuvent être ciblées par des inhibiteurs, actuellement approuvés

par la FDA et/ou l'EMA. Des essais cliniques de phase II et III sont actuellement menés avec le pemigatinib et l'ingratinib (FGFR-2 inh), et l'ivosidenib (IDH-1 inh) (Abou-Alfa, 2020), (Rizzo, 2021). Le pemigatinib est maintenant approuvé pour les patients atteints d'un CCA avancé avec des réarrangements du FGFR2, précédemment traités par GEMCIS.

- Les eCCA présentent également des altérations génétiques, dont certaines sont connues pour être ciblées par des inhibiteurs déjà présents sur le marché des médicaments (Personeni, 2020).

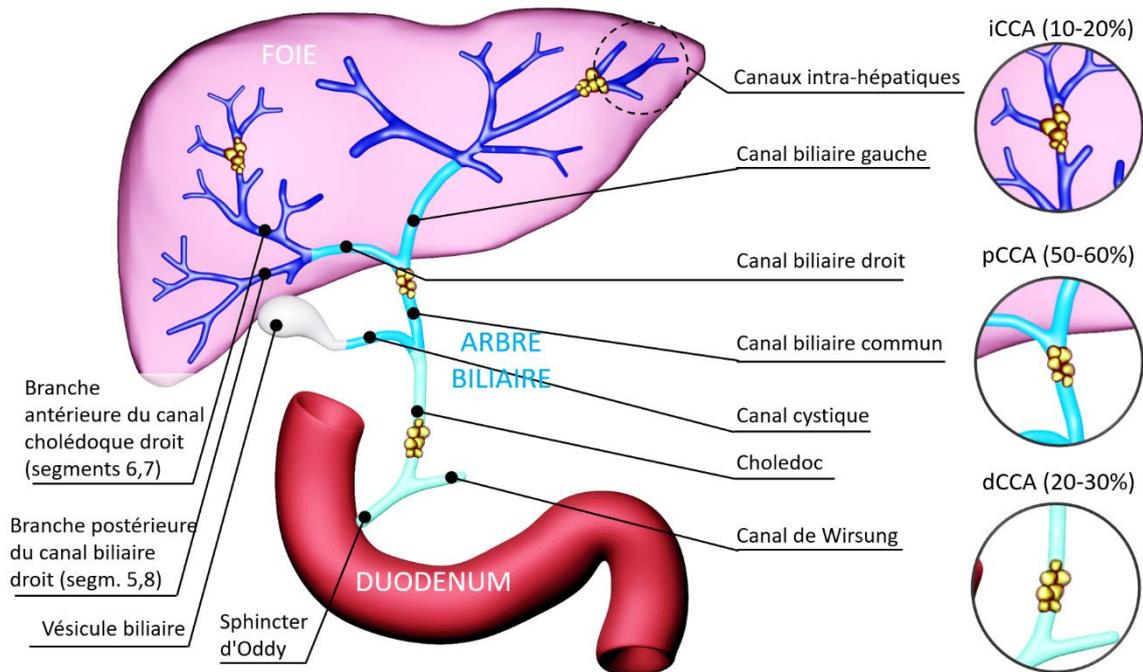


Figure 1.14: Représentation anatomique de l'arbre biliaire, de son environnement (foie et duodénum) et des sites de cholangiocarcinome représentés comme des amas de cellules jaunes (intra-hépatique, périhilaire et distal).

Le CCA est le deuxième type de cancer primaire du foie (~15% de tous les cas) et représente actuellement environ 3% des carcinomes gastro-intestinaux (Banales, 2020). À ce jour, ce cancer rare et agressif représente près de 2 % de la mortalité annuelle mondiale par cancer. Les principaux facteurs de risque de cette malignité sont les maladies inflammatoires chroniques des voies biliaires, les infections parasitaires (en Asie), la consommation d'alcool et les infections par les virus des hépatites B et C. Cependant, dans 50 % des cas, aucun facteur de risque n'est identifié. L'une des principales caractéristiques histologiques du CCA est son stroma extrêmement fibreux qui crée une barrière physique et diminue ainsi la capacité des chimiothérapies ou des thérapies ciblées pour atteindre les cellules tumorales (Banales, 2020). Les tumeurs malignes du CCA sont asymptomatiques et ne sont suspectées qu'en cas d'apparition d'une jaunisse ou d'anomalies des tests de la fonction hépatique, conséquences d'un écoulement défectueux de la bile causé par l'obstruction de la tumeur dans les voies biliaires. Le diagnostic intervient à un stade avancé, localement avancé ou métastatique, ce qui contribue au pronostic sombre du CCA, avec un taux de survie globale à 5 ans

inférieur à 30 % (Yin, 2021). Le CCA continue d'avoir un mauvais pronostic, avec peu d'amélioration au cours des 30 dernières années en termes de résectabilité ou de diagnostic précoce, avec des taux de survie relative à 1, 3 et 5 ans de 25%, 10% et 7%.

2. Options thérapeutiques du CCA

Aujourd'hui, le CCA est traité selon différentes approches médicales en fonction des stades d'évolution tumorale. Si certains traitements sont bien établis pour apporter des soins curatifs (résection, chimiothérapies adjuvantes) et palliatifs (chimiothérapies), un panel de traitements optionnels peut également être proposé, comme rapporté dans le Tableau I.2.

	Principe	Limitations
Chirurgie	<ul style="list-style-type: none"> · Pour les très petits cancers des voies biliaires, la chirurgie consiste à enlever une partie des voies biliaires et à joindre les extrémités coupées. · Pour les cancers des voies biliaires plus avancés, les tissus du foie, du pancréas ou des ganglions lymphatiques voisins peuvent également être retirés. 	<p>L'intervention chirurgicale est le seul traitement curatif mais n'est possible que chez 20 à 30 % des patients. Les taux de rechute sont élevés et varient de 40 à 70 % (Lamarca, 2022).</p>
Chimiothérapie	<ul style="list-style-type: none"> · La chimiothérapie peut être utilisée avant une greffe de foie. Cela peut également être une option pour les personnes atteintes de CCA avancé afin de ralentir la maladie et soulager les symptômes. Les médicaments chimiothérapeutiques peuvent être perfusés en intraveineuse afin qu'ils diffusent rapidement dans tout le corps ou être administrés directement aux cellules cancéreuses (chimio embolisation intra-artérielle). (Malka, 2019) · Traitement de première intention (GEMCIS) et traitement de deuxième intention (FOLFOX) (Lamarca, 2022) 	<ul style="list-style-type: none"> · Cette approche reste palliative · Cette approche systémique n'est pas curative et ne permet qu'un contrôle temporaire de la maladie : le taux de survie n'est augmenté que de quelques mois, avec des effets secondaires non négligeables.
Transplantation hépatique	<p>La chirurgie pour retirer le foie et le remplacer par celui d'un donneur peut être une option pour les personnes atteintes d'iCCA (combinée à une</p>	<p>· Traitement curatif avec peu de foies disponibles par rapport au nombre de patients</p>

Chapitre I – Etat de l’art sur les jets de plasma froid et leurs applications

Plasma Médecine

	chimiothérapie néoadjuvante) (Sun, 2021) et de pCCA (Cambridge, 2021).	· Risque que le cancer récidive après une greffe du foie.
Immuno- thérapie	L'immunothérapie peut être une option pour le CCA du cancer avancé si les autres traitements ont échoué. Les traitements ciblant les inhibiteurs de points de contrôle immunitaires tels que PD-1, PD-L1, CTLA-4 ou une combinaison de ceux-ci font actuellement l'objet d'essais cliniques. (Yao, 2021)	Le système immunitaire qui combat les maladies du corps peut ne pas attaquer le cancer parce que les cellules cancéreuses produisent des protéines qui les aident à se cacher des cellules du système immunitaire. Des monothérapies d'inhibiteurs de points de contrôle immunitaires sont étudiées mais leur efficacité est limitée (Yao, 2021).
Thérapie médica- menteus e ciblée	Elle se concentre sur des anomalies spécifiques présentes dans les cellules cancéreuses. En bloquant ces anomalies, les traitements médicamenteux ciblés peuvent entraîner la mort des cellules cancéreuses.	Thérapie qui n'est pas systématiquement efficace contre le CCA car elle dépend d'altérations génétiques (médecine personnalisée).
Radio- thérapie	Thérapie qui repose sur des faisceaux d'énergie de haute puissance provenant de sources telles que les rayons X et les protons pour tuer les cellules cancéreuses. Les faisceaux de rayonnement peuvent être focalisés sur le corps (rayonnement externe). Cela peut également impliquer de placer des matières radioactives à l'intérieur du corps près du site de CCA (curiethérapie).	Le taux de survie est augmenté de quelques mois seulement (Shinohara, 2010).
Ablation thermiqu e endo- biliaire	Des courants de radiofréquence confinés localement sont utilisés pour ablater thermiquement des tissus tumoraux du canal cholédoque sans endommager ses parois structurelles. Cette procédure peut être réalisée par voie endoscopique ou percutanée. Il contribue au drainage biliaire en mettant en place des stents (prothèses biliaires) capables de lever la sténose biliaire (Gonzalez-Carmona, 2022). Dispositifs médicaux	Bien que disponible sur le marché professionnel, l'utilité de la radiofréquence dans l'arsenal thérapeutique du CCA n'a pas été prouvée de manière concluante : les études menées chez l'homme sont rétrospectives, non randomisées et de faible envergure.

	commercialisés par les sociétés Boston Scientific et Taewong.	
Drainage biliaire	Le drainage biliaire est une procédure pour rétablir l'écoulement de la bile. Cela peut impliquer de placer un tube mince dans le canal biliaire principal pour drainer la bile ou d'effectuer une chirurgie de pontage pour rediriger la bile autour du cancer et des stents pour maintenir ouvert un canal biliaire sténosé par le cancer.	Le drainage biliaire est utilisé comme traitement préopératoire (Ramanathan, 2018). Les signes et les symptômes du CCA sont soulagés mais restent non guéris.
Thérapie photodynamique (PDT)	Un produit chimique sensible à la lumière est injecté dans une veine et s'accumule dans les cellules cancéreuses à croissance rapide. La lumière laser dirigée vers le cancer provoque une réaction chimique dans les cellules cancéreuses afin de les tuer.	Plusieurs traitements sont nécessaires. Aujourd'hui, la PDT n'est plus commercialisée ni pratiquée. Un essai randomisé multicentrique de phase III au Royaume-Uni a été interrompu prématurément en raison d'une survie globale significativement inférieure dans le groupe TPD par rapport au groupe contrôle (drainage biliaire seul).

Tableau I.2 : Options thérapeutiques pour le traitement du cholangiocarcinome, soit en routine, soit dans le cadre d'essais cliniques à l'hôpital.

ii. Cancer du poumon non à petites cellules

1. Présentation du cancer

De même que le CCA, le cancer du poumon est l'un des cancers au pronostic le plus sombre avec un taux de survie standardisé à 5 ans ne dépassant pas les 20% (HAS, 2021). Il est souvent diagnostiqué très tardivement (40 à 55% des diagnostics se font lorsque le cancer est déjà métastasé – à ce stade le taux de survie à 5ans est de 4%) car il est asymptomatique dans ses premières phases et ses symptômes ne sont pas spécifiques. C'est le cancer qui présente le plus haut taux de mortalité en France avec 33100 décès par an et le 3^{ème} en fréquence avec 46300 nouveaux cas par an. Ses principaux facteurs de risque sont le tabac (O'Keeffe, 2018), l'exposition professionnelle (Micallef, 2019), les facteurs génétiques (Leprieur, 2020) et l'exposition domestique aux polluants (Zhao, 2006).

Le cancer du poumon se décline en deux types de cancer (ESMO, 2019) (HAS, 2021) :

- Le cancer du poumon à petites cellules : sa dénomination s’explique par la très petite taille de ses cellules tumorales lorsqu’elles sont observées au microscope (Raso, 2021). En France, il représente 15% de tous les cancers du poumon. C’est le type le plus agressif des cancers du poumon avec seulement 8% de taux de survie à 5 ans. Il ne sera pas étudié ici.
- Le cancer du poumon non à petites cellules (en anglais : Non Small Cell Lung Carcinoma, NSCLC), divisé en trois sous-types :
 - o Adénocarcinome pulmonaire : cancer débutant dans les cellules produisant le mucus. Il représente 40% de l’ensemble des cancers du poumon et est celui qui touche le plus les non-fumeurs. (Hutchinson, 2019). Il possède beaucoup de mutations (EGFR, KRAS, ALK, ...) qui peuvent être ciblés par des thérapies médicamenteuses.
 - o Carcinome Epidermoïde : ce cancer se développe dans les cellules tapissant les voies respiratoires. Il représente entre 25 et 30% de l’ensemble des cancers du poumon. (Drilon, 2012)
 - o Cancer du poumon à grandes cellules (indifférencié) : il représente entre 10 et 15% des cancers du poumon. Comme le cancer du poumon à petite cellule, il doit son nom à son apparence microscopique. (Battafarano, 2005)

Dans le cadre de ce projet doctoral, seul le cancer du poumon non à petites cellules sera étudié.

2. Options thérapeutiques du cancer du poumon

Comme pour le CCA, plusieurs options thérapeutiques existent pour le NSCLC dépendant du stade auquel est découvert le cancer, présentées dans le Tableau I.4I.3 et du profil génétique de la tumeur (ESMO, 2019). Les options thérapeutiques sont similaires dans certains cas : chirurgie, chimiothérapie et radiothérapies. Dans le cas du NSCLC, des thérapies ciblées et des immunothérapies peuvent aussi être mises en place.

	Principe	Limitations
Chirurgie	Elle consiste à enlever complètement la tumeur. En fonction du stade du cancer, la tumeur peut être retirée avec un lobe du poumon ou avec un poumon entier. C’est la seule possibilité permettant de guérir le cancer complètement. (Uramoto, 2014). Une chimiothérapie (Burdett, 2006) ou une radiothérapie (Robinson, 2015) peut être réalisée avant ou après la chirurgie afin de prévenir des récives.	La chirurgie est très invasive et ne peut être pratiqué que si le patient est en bonne santé. Nombreux effets secondaires possibles après la chirurgie : insuffisance respiratoire, pneumonies, ...

Chapitre I – Etat de l’art sur les jets de plasma froid et leurs applications

Plasma Médecine

Chimio-thérapie	Les principales chimiothérapies utilisées pour le cancer du poumon sont la cisplatine et la carboplatine. Elles sont utilisées à tous les stades de la maladie. (Chang, 2011). Elles sont parfois associées à de la radiothérapie pour de meilleurs effets (Sager, 2021).	Ces médicaments sont toxiques pour l’organisme et le patient subit de nombreux effets secondaires : alopecie, nausées, affections hématologiques, ... Si le patient est en mauvaise santé il ne peut recevoir de chimiothérapie.
Immuno-thérapie	L’immunothérapie est utilisée pour les NSCLC avancés de stade 3 et 4. Les seuls traitements actuellement autorisés par l’EMA sont les anti PD-L1 et anti PD-1 (Abdel-Rahman, 2016). Les anti CTLA-4 (De Giglio, 2021) sont parfois proposés en dernier recours.	Le coût des immunothérapies est très élevé. Certains patients ne répondent absolument pas à ces traitements pour des raisons encore indéterminées.
Radio-thérapie	De la même façon que pour le CCA, une radiothérapie a pour but d’utiliser un rayonnement intense pour attaquer les tumeurs.	Effets secondaires très fréquents : brûlures, fatigue, difficultés à respirer ...
Thérapies ciblées	Certaines mutations des NSCLC peuvent être ciblées par thérapie médicamenteuse (Herbst, 2018) (Wang M. H., 2021). Ce traitement est utilisé lorsque le cancer a déjà métastasé et vise certaines mutations cancéreuses : EGFR, KRAS, ALK, BRAF, ...	Seulement la moitié des NSCLC peuvent prétendre à ces thérapies. Elles ont un coût très élevé comme l’immunothérapie.

Tableau I.3 : Liste des thérapies proposées dans le cadre du cancer du poumon avec leur principales limitations

Contrairement au CCA, la transplantation pulmonaire est très rarement effectuée d’une part en raison de la complexité de l’opération (1/3 des patients décèdent après l’opération et ils ne sont que 50% à être encore vivants 3 ans après) et d’autre part parce qu’elle exige le recours à des immunosuppresseurs qui, bien qu’ils visent à éviter les rejets, peuvent aussi favoriser le développement de la tumeur si celle-ci n’a pas été totalement retirée.

Le Tableau I.4 fournit la liste des thérapies proposées selon le stade d’avancement de la tumeur.

Stade d’avancement du cancer	Thérapies proposées
Précoce	- Chirurgie - Radiothérapies, chimiothérapies (si la chirurgie est impossible)
Localement avancé	- Chirurgie (souvent impossible) - Chimiothérapies - Radiothérapies

	- Immunothérapie si le pourcentage de cellules exprimant PD-L1 est supérieur à 1%
Métastatique	- Chimiothérapies - Thérapies ciblées - Immunothérapies - Radiothérapies - Soins palliatifs pour assurer une bonne qualité de fin de vie

Tableau I.4: Liste des traitements proposés en fonction de l’avancée du cancer

b. Effets du plasma sur les tumeurs *in vitro* et *in vivo*

Des études *in vitro* ont mis en évidence plusieurs mécanismes biologiques induits par le plasma froid. L'un des plus importants est que le plasma froid peut déclencher l'apoptose des cellules cancéreuses, principalement en fournissant des radicaux et des espèces réactives de l'oxygène, avec l'avantage de les délivrer à plusieurs millimètres dans les tissus (Szili, 2018). Ainsi, dans le cas des cellules de mélanome malin, les ROS générés par le plasma peuvent libérer TRX1 de ASK1 qui phosphoryle ensuite p38 et conduit à l'apoptose après activation de la cascade de signalisation (Yadav, 2020). Ces études *in vitro* sont également soutenues par des campagnes *in vivo* (modèles précliniques) bien que ces travaux ne représentent qu'environ 5% des articles publiés dans le domaine du plasma froid/oncologie à ce jour (Dubuc, 2018). Récemment, les effets antinéoplasiques du plasma ont été démontrés sur des modèles murins de tumeurs sous-cutanées de mélanome (Rafiei, 2020), de sein (Adil, 2020), de prostate (Fofana, 2020) et de vessie (Zhang, 2021). Il est intéressant de noter que le plasma froid apparaît comme un traitement sélectif, c'est-à-dire capable de réduire la viabilité des cellules épithéliales malignes sans altérer les cellules saines. Ainsi, dans le cas du cancer de la prostate, les cellules non tumorales P69 sont moins sensibles au plasma froid (viabilité cellulaire = 67 %) que les lignées cellulaires tumorales LNCaP et PC3 (viabilité cellulaire de 29 % et 23 % respectivement) (Fofana, 2020). Globalement, cette sélectivité semble déterminée par les propriétés des cellules ou des tissus (par exemple, la composition de la membrane, le système antioxydant) plutôt que par le traitement au plasma (Wende, 2018).

i. Effets du plasma sur le CCA

Jusqu'à présent, très peu de travaux ont été consacrés au traitement du CCA par plasma froid. Les laboratoires LPP et CRSA (Paris, France) travaillent sur ce modèle tumoral depuis 2017. Tout d'abord, les deux équipes ont utilisé un dispositif à jet de plasma froid appelé *Plasma Tesla Jet* (PTJ) (Vaquero, 2020) pour traiter des modèles ectopiques du CCA inoculés par voie sous-cutanée à des souris immunodéprimées (Judée F. V., 2019). Il a été démontré qu'en plus d'induire des effets antitumoraux significatifs, cette source de plasma froid n'induit pas d'effets toxiques sur les tissus cutanés (aucune brûlure, aucune nécrose tissulaire et aucune altération des cellules épithéliales ou de la structure du

collagène). Ainsi, deux applications locales de plasma froid (1 min chacune) sur la tumeur réduisent de 30% son volume par rapport aux souris non traitées. De manière cohérente, les tumeurs du groupe témoin présentent une taille plus importante et des caractéristiques de vascularisation, tandis que les tumeurs du groupe plasma semblent plus petites et intactes (Judée F. V., 2019). L'analyse du microenvironnement tumoral (provenant des souris) montre une plus grande expression de l'ARNm d'Agre1 (codant pour la protéine macrophage F4/80) dans le groupe plasma, ce qui indique un recrutement et/ou une prolifération accrue des macrophages associés aux tumeurs (TAM). En outre, le plasma froid augmente l'expression de l'ARNm de deux régulateurs majeurs du chimiotactisme des monocytes et du trafic des macrophages : CCL2 et CCR2 (récepteur de CCL2) respectivement (Vaquero, 2020). Les taux de CCL2 et CCR2 montrent un recrutement accru de TAM dans le groupe plasma par rapport au groupe témoin (Vaquero, 2020). Ces résultats suggèrent que l'exposition au plasma froid stimule la différenciation des monocytes en macrophages. Plus récemment, O. Jones *et al.* ont démontré l'intérêt de combiner le plasma froid avec le FOLFIRINOX conventionnel : une chimiothérapie systémique utilisée pour traiter le CCA. Ils montrent que cette combinaison permet d'administrer le FOLFIRINOX à des doses plus faibles tout en obtenant la même efficacité thérapeutique qu'un traitement FOLFIRINOX non-combiné (Jones, 2021).

ii. Effets du plasma sur le cancer du poumon non à petites cellules

L'efficacité du plasma froid a été démontrée par de nombreuses équipes de recherche sur des modèles *in vitro*. Akhlagi *et al.* ont montré que les lignées murines de cancer du poumon LL/2 étaient sensibles à un jet de plasma froid de manière dose-dépendante, i.e. en fonction de la durée de traitement (Akhlaghi, 2016). Ils ont aussi montré que le rayonnement UV n'est pas le facteur principal d'efficacité du traitement plasma sur ces lignées. Panngom *et al.* ont montré une efficacité d'un traitement à base de milieu cellulaire activé par plasma sur les lignées cancéreuses humaine du poumon H460 et HCC1588. Ils ont montré que l'efficacité du traitement venait principalement de la concentration en espèces réactives du milieu et que le traitement plasma était sélectif. Les lignées de cellules pulmonaire MRC5 et L132 non malignes résistaient mieux au traitement plasma (Panngom, 2013). Cet effet est confirmé par (Cheng, 2020). Les effets du plasma sur le cancer du poumon sont les mêmes que ceux décrits dans (Vaquero, 2020), c'est-à-dire que le plasma entraîne une mort par apoptose des cellules et un arrêt du cycle cellulaire avec différents dispositifs plasma (Karki, 2020) (Kim, 2011) (Karki, 2017). Yu *et al.* ont montré que l'efficacité du traitement par plasma pouvait être améliorée sur le cancer du poumon en ajoutant des nanoparticules chargées en paclitaxel (Yu, 2018).

Parmi les campagnes expérimentales menées sur des modèles *in vivo*, Keidar *et al.* ont confirmé l'efficacité thérapeutique du plasma froid contre le NSCLC. (Keidar, 2011). Le traitement indirect, à base d'eau traitée par plasma puis administrée par voie orale aux souris a conduit aux mêmes résultats qu'un traitement visant à supprimer l'expression de

l’EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) tout en démontrant une toxicité bien plus faible pour la souris. (Song, 2021)

c. Effets du traitement plasma en soins palliatif

A ce jour, le traitement par plasma froid de patients atteints de cancer a fait l’objet de deux études cliniques réalisées en 2015 et 2016 et dont les résultats ont été publiés dans trois articles (Metelmann, 2018)(Metelmann, 2015) (Schuster, 2016). Elles ont concerné 6 patients placés en soins palliatifs, atteints du cancer de la gorge et du poumon et qui ont été traités par le kINPen (Bekeschus, 2016). L’évolution des patients est représentée sur la Figure I.15 et laisse présager d’une certaine efficacité, notamment pour le patient H6 qui a connu une rémission partielle de sa tumeur mais aussi pour le patient H5 dont certaines étapes de la régression tumorale sont représentées sur la Figure I.16. Bien que pionnière, cette étude reste inexploitable sur le plan statistique en raison du nombre trop faible de patients qui, de surcroît, étaient déjà pénalisés par un cancer développé à un stade très avancé et ne laissant que peu de chance au traitement d’être pleinement efficace.

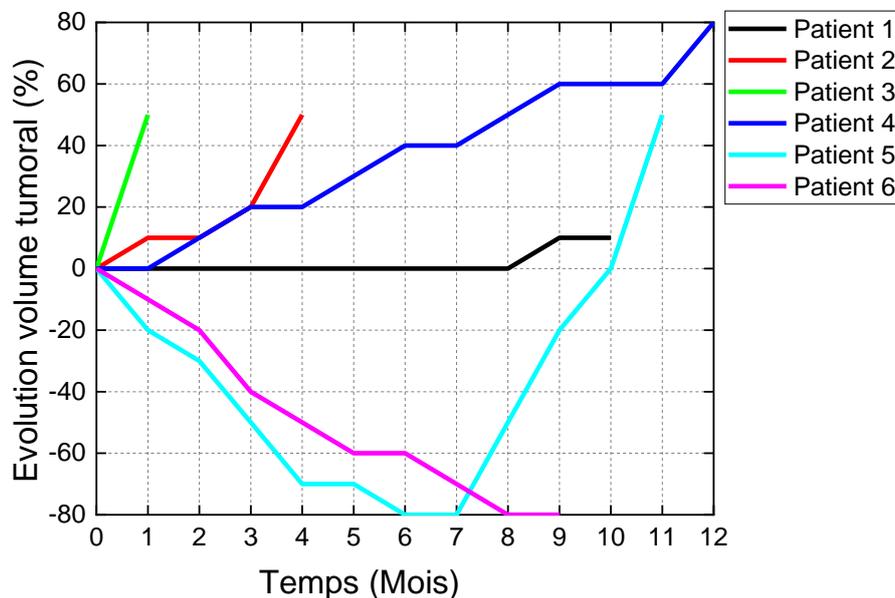


Figure I.15: Evolution de la taille de la tumeur des patients traités au plasma. Inspiré de (H.R.Metelmann, et al., 2018)



Figure 1.16 : Evolution de la tumeur du patient 5 (Metelmann,2018)

Le Tableau I.5 synthétise les actions du plasma froid sur les tumeurs (Metelmann,2018) de la première étude. Il en ressort que : (i) un effet bénéfique est constaté en termes de réduction de la viabilité des populations de bactéries tapissant les tumeurs et notamment les ulcères infectés, (ii) 4 patients sur 11 bénéficient d’une réduction de la croissance de leur tumeur, (iii) la moitié des patients a diminué sa quantité de médicaments antidouleurs après le traitement, (iv) les effets secondaires les plus couramment observés sont la fatigue, un goût désagréable laissé dans la bouche par le plasma et les saignements après traitement. Dans l’ensemble, le traitement par plasma a été apprécié en tant que nouvelle stratégie palliative et surtout pour réduire les mauvaises odeurs résultant de la nécrose des tissus dans la tumeur.

Numéro Patient	Croissance tumorale	Effet Medicaments Anti-douleurs	Effets secondaires
2	Pas d’effet	Diminution	/
3	Rémission partielle	Diminution	Mauvais goût, prise de poids
4	Pas d’effet	Augmentation	Douleur, Fatigue
5	Pas d’effet	Similaire	Œdème collatéral
6	Rémission partielle	Diminution	Mauvais goût
7	Pas d’effet	Similaire	Saignements
8	Pas d’effet	Similaire	/
9	Rémission partielle	Diminution	Mauvais goût, gain de poids
10	Pas d’effet	Diminution	Œdème du cou, saignements
11	Rémission partielle	Diminution	Fatigue, saignements, Sialorrhée, nécrose, gain de poids
12	Pas d’effet	Similaire	Fatigue

Tableau I.5: Récapitulatif des effets du plasma sur le traitement du cancer du cou. Inspiré de (H.R.Metelmann, et al., 2015)

Plusieurs dispositifs à plasma ont déjà été cliniquement testés à l’hôpital pour répondre à diverses pathologies. C’est le cas des dispositifs à jet de plasma thermique permettant

d’induire la coagulation (Ackroyd, 2004). Ils diffèrent des dispositifs utilisés en oncologie où les plasmas sont développés pour avoir des températures de gaz de l’ordre de 35 °C, contre typiquement 1000 °C pour l’*Argon Plasma Coagulator*. En dermatologie, Microplaster® est un dispositif utilisé pour traiter les plaies chroniques. Il a été testé en phase 2 clinique (Isbary, 2010).

d. Utilisation du plasma en médecine

i. Jets de plasmas adaptés à la médecine

La Figure 1.17 présente en (a), (b) et (c) plusieurs dispositifs de jets de plasma froids (APPJ) utilisés en médecine. La plupart de ces APPJ comportent deux électrodes dont les potentiels électriques sont connus et fixes : une électrode polarisée à haute tension et une contre-électrode qui est mise à la terre. À titre d’exemple, la figure I.17a montre un APPJ où l’énergie électrique est délivrée par deux électrodes annulaires extérieures, de sorte que le plasma n’est jamais en contact direct avec elles. Ce type d’APPJ a été utilisé avec succès pour des applications précliniques (Vaquero, 2020)(Judée, 2019). Dans certains dispositifs APPJ, le plasma froid n’est en contact qu’avec une seule électrode, l’autre étant recouverte d’une barrière diélectrique comme le montre la figure I.17b. Dans cette configuration particulière, un fil auxiliaire peut être ajouté dans le capillaire pour propager le plasma sur de longues distances. En 2018, il a été appliqué avec succès et combiné à la technologie des champs électriques pulsés pour traiter une solution saline tamponnée au phosphate (PBS) de manière à réduire la viabilité des fibroblastes pulmonaires et des cellules de mélanome malin (Maho, 2018) (Chung, 2020). En 2020, do Nascimento *et al.* ont développé un dispositif de barrière diélectrique à écoulement composé d’une électrode flottante auxiliaire placée à équidistance de 4 électrodes à haute tension pour générer un jet de plasma (do Nascimento, 2020). L’année suivante, l’équipe a fait évoluer sa technologie vers un "jet de plasma à pression atmosphérique transféré" - comme celui développé par Maho *et al.* pour identifier les radicaux OH et NO résultant d’une alimentation en hélium mélangé à de l’oxygène moléculaire (Maho, 2018), (Nascimento, 2021). Dans d’autres configurations APPJ, la contre-électrode peut être non métallique et externe au dispositif APPJ, comme le montre la figure I.17c. Bien que les risques électriques associés à cette configuration soient plus difficiles à contrôler que dans les configurations précédentes, ce jet de plasma à électrode flottante a été utilisé avec succès en dermatologie pour stimuler la cicatrisation des plaies (Nastuta, 2011) (Mirpour, 2020).

ii. Cathéters plasmas pour le traitement du CCA

En raison de sa localisation dans les voies biliaires, le traitement par plasma froid du CCA ne peut être envisagé que si une approche endoscopique est réalisable. Dans le but de transférer la technologie de la paillasse au lit du patient, les équipes du LPP et du CRSA

ont miniaturisé le dispositif PTJ pour l'adapter au canal opérateur d'un duodéroscope conventionnel. Cette approche thérapeutique vise principalement à traiter l'eCCA pour au moins deux raisons : (i) sa prévalence est de 85-90% contre seulement 10-15% pour l'iCCA, (ii) l'eCCA est implanté dans les voies biliaires de plus grand diamètre, à savoir les voies biliaires hilaires, le canal cystique, la voie biliaire commune et la voie hépatique commune, ce qui facilite la délivrance du plasma froid sur les sites tumoraux. En outre, il convient de noter que la thérapie endoscopique au plasma froid offre plusieurs avantages par rapport aux thérapies systémiques ciblées : (i) elle est peu invasive, (ii) elle permet des traitements locorégionaux directs sous imagerie, quel que soit le statut mutationnel de la tumeur, minimisant ainsi les effets systémiques secondaires, (iii) elle peut être combinée à une thérapie systémique, qu'il s'agisse de chimiothérapie ou de thérapie ciblée, dans le cadre d'un traitement néoadjuvant ou adjuvant.

Un APPJ peut être considéré comme un cathéter à plasma froid s'il répond aux critères suivants : (i) son capillaire est flexible, (ii) la valeur maximale de son diamètre extérieur est inférieure au diamètre intérieur du canal opérateur d'un endoscope conventionnel, que ce soit pour la duodéoscopie, la gastroscopie, la bronchoscopie ou la coloscopie, c'est-à-dire typiquement inférieure à 4,2 mm et (iii) les risques thermiques et électriques sont maîtrisés que le cathéter à plasma froid soit utilisé seul ou placé à l'intérieur d'un endoscope conventionnel. Les miniaturisations et incrémentations technologiques des dispositifs APPJ susmentionnés ont conduit au développement de cathéters à plasma froid qui sont maintenant discutés :

- (i) Le dispositif de jet de plasma (figure I.17d) est composé d'une électrode tige interne et d'une électrode anneau externe qui sont respectivement polarisée et mises à la terre. L'une de ses principales caractéristiques est que le plasma froid est en contact direct avec l'électrode polarisée. Les streamers peuvent se propager à l'intérieur d'un capillaire flexible, jusqu'à 60 cm de longueur si le générateur de tension délivre des impulsions d'une amplitude supérieure à 30 kV avec une largeur de quelques microsecondes (Robert, 2009). Cette configuration offre la possibilité de propager des flux de plasma atmosphérique pulsé sur de plus longues distances en fournissant des valeurs de tension plus élevées. Bien que ce dispositif ait été utilisé avec succès comme APPJ dans des applications oncologiques (Robert, 2013), son utilisation comme cathéter reste limitée s'il est inséré dans un endoscope hospitalier. La longueur standard d'un endoscope étant de 2 mètres, les tensions à appliquer seraient trop élevées pour la sécurité du praticien comme pour celle du patient
- (ii) Le cathéter à plasma de la Figure I.17e est composé d'une électrode annulaire extérieure polarisée à haute tension, d'une électrode plaque mise à la terre et d'un long fil auxiliaire distinct de ces deux électrodes (Maho, 2018) (Bastin, 2020). L'électrode de masse est suffisamment éloignée de l'électrode polarisée (par exemple 20 cm) pour ne pas influencer les propriétés du plasma généré dans le dispositif. Une caractéristique intéressante du cathéter à plasma transféré est que le plasma froid se forme dans trois régions : (i) entre l'électrode HV et l'extrémité proximale du fil auxiliaire, (ii) le long du fil auxiliaire lui-même et (iii) du fil auxiliaire à la

cible (tissu biologique, surface métallique, ...). Paradoxalement, ce fil auxiliaire est à la fois une force et une limite : s'il permet la propagation du plasma sur de longues distances, supérieures à 2 mètres, la valeur de sa tension reste inconnue en fonctionnement.

- (iii) Le cathéter à électrode bifilaire en hélice (figure I.17f) est composé d'un tube diélectrique le long duquel deux fils-électrodes (une électrode polarisée et une électrode mise à la terre) sont enroulés en hélice et équidistants l'un de l'autre. Un tube diélectrique externe est superposé coaxialement à cet arrangement pour isoler les électrodes de l'environnement gazeux (Polak, 2012). Un tel cathéter reste flexible et offre la possibilité de délivrer du plasma à plusieurs mètres dans le capillaire, comme avec le cathéter à plasma transféré. Si l'espace interélectrodes est supérieur à 2 mm, un champ électrique important est créé à l'intérieur du capillaire et du plasma froid y est généré. De manière intéressante, si cet espace interélectrodes devient inférieur à 2 mm, alors l'enroulement étroit des électrodes forme une surface quasi-équipotentielle autour du capillaire, ce qui entraîne l'absence de plasma généré à l'intérieur du capillaire et donc l'avantage de ne pas altérer les parois internes du capillaire. Le principal inconvénient de cette électrode à hélice bifilaire est qu'une utilisation répétée peut modifier l'espace équidistant séparant les deux électrodes enroulées et conduire à des inhomogénéités de plasma. Pour cette raison, la fabrication de cette configuration nécessite des ressources et du temps.
- (iv) Le cathéter à double canal de gaz (figure I.17g) comprend deux capillaires diélectriques flexibles, centrés coaxialement et formant deux canaux de gaz séparés. L'électrode polarisée est un fil métallique qui est enroulé autour du tube interne tandis qu'une électrode mise à la terre est placée à l'extrémité distale du tube externe (Winter, 2018).
- (v) Le cathéter mono-électrode confiné (figure I.17h) est composé d'un capillaire diélectrique de petit diamètre dont la paroi extérieure est recouverte d'un dépôt métallique. Ensuite, un capillaire diélectrique de plus grand diamètre est placé coaxialement tout le long du premier. Le dépôt métallique est totalement noyé dans les deux capillaires diélectriques ; il est polarisé à la haute tension et joue donc le rôle d'une électrode polarisée (Wang, 2018). Ce type de cathéter peut susciter quelques inquiétudes pour les applications endoscopiques, notamment parce qu'il ne possède pas d'électrode mise à la terre, alors que cette exigence est obligatoire pour la certification du dispositif par la Food & Drug Administration (FDA) aux Etats-Unis ou par le Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS) dans l'Union européenne.

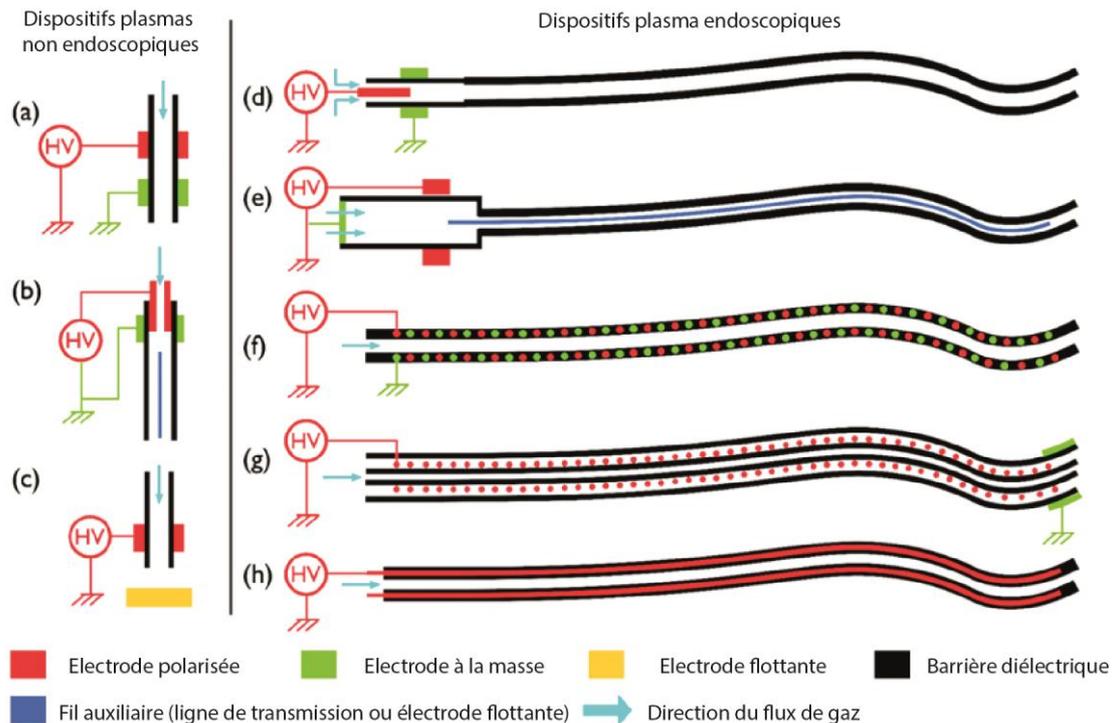


Figure I.17 : Schémas des dispositifs à plasma non endoscopiques et endoscopiques (a) jet de plasma Tesla, (b) jet de plasma à pression atmosphérique transféré, (c) jet de plasma à électrode flottante, (d) cathéter à pistolet à plasma, (e) cathéter à plasma transféré, (f) cathéter à électrode à hélice bifilaire, (g) cathéter à double canal de gaz, (h) cathéter à électrode confinée.

iii. Utilisation endoscopique de catheters plasma

Dans les années 1990, des cathéters à plasma froid ont été conçus pour délivrer du gaz d'argon ionisé sur les tissus blessés afin d'induire une coagulation du sang (Grund, 1994). Le plasma d'argon est alimenté par un courant haute fréquence de sorte qu'un champ électrique haute fréquence est confiné entre les électrodes de l'applicateur et le tissu. La profondeur de pénétration de l'énergie étant de 3 mm maximum, le procédé est à la fois simple et sans risque (Prost, 2004). Le chauffage puissant mais superficiel du tissu est responsable de la fermeture des petits vaisseaux sanguins (coagulation) et de la destruction des zones de tissu pathologique (dévitalisation du tissu). Le gaz argon peut être remplacé par du dioxyde de carbone, comme l'ont proposé Kurosawa *et al.* pour obtenir l'hémostase en cas d'hémorragie gastro-intestinale (Kurosawa, 2019).

Les cathéters de plasma froid peuvent également être envisagés pour la résection de tumeurs, bien que seuls des jets de plasma non endoscopiques aient été utilisés à ce jour. Ainsi, une première preuve de concept a mis en lumière la possibilité d'une ablation ciblée de tumeurs de la vessie greffées par voie sous-cutanée chez des souris nude (Keidar, 2011). D'autres travaux de Wang *et al.* montrent la capacité de l'approche du plasma froid pour une ablation sélective des cellules métastatiques de tumeurs du sein *in vitro* sans endommager les cellules souches mésenchymateuses (CSM) saines au niveau du site osseux métastatique (Wang, 2013).

Bibliographie

- Abdel-Rahman, O. "Correlation between PD-L1 expression and outcome of NSCLC patients treated with anti-PD-1/PD-L1 agents: a meta-analysis." *Critical reviews in oncology/hematology*, 2016: 101, 75-85.
- Abou-Alfa, G. K., Macarulla, T., Javle, M. M., Kelley, R. K., Lubner, S. J., Adeva, J., ... & Zhu, A. X. "Ivosidenib in IDH1-mutant, chemotherapy-refractory cholangiocarcinoma (ClarIDHy): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 study." *The Lancet Oncology*, 2020: 21(6), 796-807.
- Abou-Khalil, J. E., & Bertens, K. A. "Embryology, anatomy, and imaging of the biliary tree." *Surgical Clinics*, 2019: 99(2), 163-174.
- Ackroyd, R., Tam, W., Schoeman, M., Devitt, P. G., & Watson, D. I. "Prospective randomized controlled trial of argon plasma coagulation ablation vs. endoscopic surveillance of patients with Barrett's esophagus after antireflux surgery." *Gastrointestinal endoscopy*, 2004: 59(1), 1-7.
- Adil, B. H., Al-Shammari, A. M., & Murbat, H. H. "Breast cancer treatment using cold atmospheric plasma generated by the FE-DBD scheme." *Clinical Plasma Medicine*, 2020: 19, 100103.
- Akhlaghi, M., Rajaei, H., Mashayekh, A. S., Shafiae, M., Mahdikia, H., Khani, M., ... & Shokri, B. "Determination of the optimum conditions for lung cancer cells treatment using cold atmospheric plasma." *Physics of Plasmas*, 2016: 23(10), 103512.
- André, M. L. "The French megajoule laser project (LMJ). ." *Fusion Engineering and Design*, 1999: 44(1-4), 43-49.
- Aymar, R., Barabaschi, P., & Shimomura, Y. "The ITER design." *Plasma physics and controlled fusion*, 2002: 44(5), 519.
- Babaeva, N. Y., Naidis, G. V., Panov, V. A., Wang, R., Zhang, S., Zhang, C., & Shao, T. "Plasma bullet propagation and reflection from metallic and dielectric targets." *Plasma Sources Science and Technology*, 2019: 28(9), 095006.
- Banales, J. M., Marin, J. J., Lamarca, A., Rodrigues, P. M., Khan, S. A., Roberts, L. R., ... & Gores, G. J. "Cholangiocarcinoma 2020: the next horizon in mechanisms and management." *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2020: 17(9), 557-588.
- Bastin, O., Thulliez, M., Servais, J., Nonclercq, A., Delchambre, A., Hadeffi, A., ... & Reniers, F. "Optical and electrical characteristics of an endoscopic DBD plasma jet." *Plasma Medicine*, 2020: 10(2).
- Baumjohann, W., & Treumann, R. A. "Basic space plasma physics", 2012.
- Battafarano, R. J., Fernandez, F. G., Ritter, J., Meyers, B. F., Guthrie, T. J., Cooper, J. D., & Patterson, G. A. "Large cell neuroendocrine carcinoma: an aggressive form of non-

- small cell lung cancer.” *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 2005: 130(1), 166-172.
- Bekeschus, S., Schmidt, A., Weltmann, K. D., & von Woedtke, T. “The plasma jet kINPen–A powerful tool for wound healing.” *Clinical Plasma Medicine*, 2016: 4(1), 19-28.
- Boeckmann, L., Schäfer, M., Bernhardt, T., Semmler, M. L., Jung, O., Ojak, G., ... & Emmert, S. “Cold atmospheric pressure plasma in wound healing and cancer treatment.” *Applied Sciences*, , 2020: 10(19), 6898.
- Bowls, W. E. “The effect of cathode material on the second Townsend coefficient for ionization by collision in pure and contaminated N₂ gas”. *Physical Review*, 2012: 53(4), 293.
- Brullé, L., Vandamme, M., Riès, D., Martel, E., Robert, E., Lerondel, S., ... & Le Pape, A. “Effects of a non thermal plasma treatment alone or in combination with gemcitabine in a MIA PaCa2-luc orthotopic pancreatic carcinoma model.” *PloS one*, 2012: 7(12), e52653.
- Burdett, S., Stewart, L. A., & Rydzewska, L. “A systematic review and meta-analysis of the literature: chemotherapy and surgery versus surgery alone in non-small cell lung cancer.” *Journal of Thoracic Oncology*, 2006: 1(7), 611-621.
- Cambridge, W. A., Fairfield, C., Powell, J. J., Harrison, E. M., Søreide, K., Wigmore, S. J., & Guest, R. V. “Meta-analysis and meta-regression of survival after liver transplantation for unresectable perihilar cholangiocarcinoma.” *Annals of surgery*, 2021: 273(2), 240-250.
- Chang, A. “Chemotherapy, chemoresistance and the changing treatment landscape for NSCLC.” *Lung cancer*, 2011: 71(1), 3-10.
- Chanin, L. M., & Rork, G. D. “Experimental determinations of the first Townsend ionization coefficient in helium”. *Physical Review*, 1964: 133(4A), 1005.
- Cheng, Y. J., Lin, C. K., Chen, C. Y., Chien, P. C., Chuan, H. H., Ho, C. C., & Cheng, Y. C. “Plasma-activated medium as adjuvant therapy for lung cancer with malignant pleural effusion.” *Scientific reports*, 2020: 10(1), 1-15.
- Chung, T. H., Stancampiano, A., Sklias, K., Gazeli, K., André, F. M., Dozias, S., ... & Mir, L. M. “Cell electropermeabilisation enhancement by non-thermal-plasma-treated pbs.” *Cancers*, 2020: 12(1), 219.
- Churpita, A., Hubička, Z., Cada, M., Chvostová, D., Soukup, L., Jastrabík, L., & Ptáček, P. “Deposition of InxOy and SnOx thin films on polymer substrate by means of atmospheric barrier-torch discharge.” *Surface and Coatings Technology*, 2003: 174, 1059-1063.
- Coureau, G., Mounier, M., Trétarre, B., Dantony, E., Uhry, Z., Monnereau, A., Woronoff, A.S., Grosclaude, P., ... & Molinié, F. “Survie des personnes atteintes de cancer en France métropolitaine 1989-2018 - Synthèse des résultats: tumeurs solides et hémopathies malignes.” *Institut National du cancer*, 2021.

- Darny, T. “Étude de la production des espèces réactives de l’oxygène et de l’azote par décharge Plasma Gun à pression atmosphérique pour des applications biomédicales.” *Doctoral dissertation, Université d’Orléans*, 2016.
- De Giglio, A., Di Federico, A., Nuvola, G., Deiana, C., & Gelsomino, F. “The landscape of immunotherapy in advanced NSCLC: driving beyond PD-1/PD-L1 inhibitors (CTLA-4, LAG3, IDO, OX40, TIGIT, vaccines).” *Current oncology reports*, 2021: 23(11), 1-15.
- Defossez, G., Le Guyader-Peyrou, S., Uhry, Z., Grosclaude, P., Colonna, M., Dantony, E., ... & Monnereau, A. “Estimations nationales de l’incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018.” *Synthèse. Saint-Maurice: Santé publique France*, 2019.
- do Nascimento, F., Machida, M., Kostov, K. G., & Moshkalev, S. “Four-electrodes DBD plasma jet device with additional floating electrode.” *The European Physical Journal D*, 2020: 74(1), 1-7.
- Drilon, A., Rekhtman, N., Ladanyi, M., & Paik, P. “Squamous-cell carcinomas of the lung: emerging biology, controversies, and the promise of targeted therapy.” *The lancet oncology*, 2012: 13(10), e418-e426.
- Dubuc, A., Monsarrat, P., Virard, F., Merbahi, N., Sarrette, J. P., Laurencin-Dalicioux, S., & Cousty, S. “Use of cold-atmospheric plasma in oncology: A concise systematic review.” *Therapeutic advances in medical oncology*, 2018: 10, 1758835918786475.
- ESMO. “Qu’est-ce que le cancer du poumon non à petite cellule ? - Guide du patient.” 2019.
- Fofana, M., Buñay, J., Judée, F., Baron, S., Menecier, S., Nivoix, M., ... & Balandraud, X. “Selective treatments of prostate tumor cells with a cold atmospheric plasma jet.” *Clinical Plasma Medicine*, 2020: 17, 100098.
- Fridman, A. “Electric discharges in plasma chemistry.” *Cambridge university press*, 2008: 157-258.
- Fusselman, S. P., & Yasuda, H. K. “An overall mechanism for the deposition of plasma polymers from methane in a low-pressure argon plasma jet.” *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 1994: 14(3), 277-299.
- George, A., Shen, B., Craven, M., Wang, Y., Kang, D., Wu, C., & Tu, X. “A Review of Non-Thermal Plasma Technology: A novel solution for CO2 conversion and utilization.” *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2021: 135, 109702.
- Gonzalez-Carmona, M. A., Möhring, C., Mahn, R., Zhou, T., Bartels, A., Sadeghlar, F., ... & Weismüller, T. J. “Impact of regular additional endobiliary radiofrequency ablation on survival of patients with advanced extrahepatic cholangiocarcinoma under systemic chemotherapy.” *Scientific Reports*, 2022: 12(1), 1-11.
- Grund, K. E., Storek, D., & Farin, G. “Endoscopic argon plasma coagulation (APC) first clinical experiences in flexible endoscopy.” *Endoscopic surgery and allied technologies*, 1994: 2(1), 42-46.

- H.R.Metelmann, et al. “Clinical experience with cold plasma in the treatment of locally advanced head and neck cancer.” *Clinical Plasma Medicine*, 2018: 9 6-13.
- H.R.Metelmann, et al. “Head and neck cancer treatment and physical plasma.” *Clinical Plasma Medecine* , 2015: 3(1) 17-23.
- HAS. “Dépistage du cancer bronchopulmonaire par scanner thoracique faible dose sans injection : Actualisation de l’avis de 2016.” 2021.
- Herbst, R. S., Morgensztern, D., & Boshoff, C. “The biology and management of non-small cell lung cancer.” *Nature*, 2018: 553(7689), 446-454.
- Hutchinson, B. D., Shroff, G. S., Truong, M. T., & Ko, J. P. “Spectrum of lung adenocarcinoma.” *In Seminars in Ultrasound, CT and MRI*, 2019: Vol. 40, No. 3, pp. 255-264.
- Isbary, G., Morfill, G., Schmidt, H. U., Georgi, M., Ramrath, K., Heinlin, J., ... & Stolz, W. “A first prospective randomized controlled trial to decrease bacterial load using cold atmospheric argon plasma on chronic wounds in patients.” *British Journal of Dermatology*, 2010: 163(1), 78-82.
- Jeong, J. Y., Babayan, S. E., Tu, V. J., Park, J., Henins, I., Hicks, R. F., & Selwyn, G. S. “Etching materials with an atmospheric-pressure plasma jet.” *Plasma Sources Science and Technology*, 1998: 7(3), 282.
- Jones, O., Cheng, X., Murthy, S. R., Ly, L., Zhuang, T., Basadonna, G., ... & Canady, J. “The synergistic effect of Canady Helios cold atmospheric plasma and a FOLFIRINOX regimen for the treatment of cholangiocarcinoma in vitro.” *Scientific Reports*, 2021: 11(1), 1-11.
- Judée, F., & Dufour, T. “Plasma gun for medical applications: engineering an equivalent electrical target of the human body and deciphering relevant electrical parameters.” *Journal of Physics D: Applied Physics*, 2019: 52(16), 16LT02.
- Judée, F., Vaquero, J., Guégan, S., Fouassier, L., & Dufour, T. “Atmospheric pressure plasma jets applied to cancerology: correlating electrical configuration with in vivo toxicity and therapeutic efficiency.” *Journal of physics D: Applied physics* , 2019: 52(24), 245201.
- Karakas, E., Akman, M. A., & Laroussi, M. “The evolution of atmospheric-pressure low-temperature plasma jets: jet current measurements.” *Plasma Sources Science and Technology*, 2012: 21(3), 034016.
- Karki, S. B., Gupta, T. T., Yildirim-Ayan, E., Eisenmann, K. M., & Ayan, H. “Investigation of non-thermal plasma effects on lung cancer cells within 3D collagen matrices.” *Journal of Physics D: Applied Physics*, 2017: 50(31), 315401.
- Karki, S. B., Gupta, T. T., Yildirim-Ayan, E., Eisenmann, K. M., & Ayan, H. “Miniature non-thermal plasma induced cell cycle arrest and apoptosis in lung carcinoma cells.” *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 2020: 40(1), 99-117.

- Keidar, M., Walk, R., Shashurin, A., Srinivasan, P., Sandler, A., Dasgupta, S., ... & Trink, B. “Cold plasma selectivity and the possibility of a paradigm shift in cancer therapy.” *British journal of cancer*, 2011: 105(9), 1295-1301.
- Khlyustova, A., Labay, C., Machala, Z., Ginebra, M. P., & Canal, C. “Important parameters in plasma jets for the production of RONS in liquids for plasma medicine: A brief review.” *Frontiers of Chemical Science and Engineering*, 2019: 13(2), 238-252.
- Khun, J., Scholtz, V., Hozák, P., Fitl, P., & Julák, J. “Various DC-driven point-to-plane discharges as non-thermal plasma sources and their bactericidal effects.” *Plasma Sources Science and Technology*, 2018: 27(6), 065002.
- Kim, J. Y., Ballato, J., Foy, P., Hawkins, T., Wei, Y., Li, J., & Kim, S. O. “Apoptosis of lung carcinoma cells induced by a flexible optical fiber-based cold microplasma.” *Biosensors and Bioelectronics*, 2011: 28(1), 333-338.
- Klarenaar, B. L. M., Guaitella, O., Engeln, R., & Sobota, A. “How dielectric, metallic and liquid targets influence the evolution of electron properties in a pulsed He jet measured by Thomson and Raman scattering.” *Plasma Sources Science and Technology*, 2018: 27(8), 085004.
- Kone, A., Saint, F. P., Muja, C., Caillier, B., & Guillot, P. “Investigation of the Interaction between a Helium Plasma Jet and Conductive (Metal)/Non-Conductive (Dielectric) Targets.” *Plasma Medecine*, 2017: 7(4).
- Kurosawa, M., Takamatsu, T., Kawano, H., Hayashi, Y., Miyahara, H., Ota, S., ... & Yoshida, M. “Endoscopic hemostasis in porcine gastrointestinal tract using CO₂ low-temperature plasma jet.” *Journal of surgical research*, 2019: 234, 334-342.
- Lamarca, A., Edeline, J., & Goyal, L. “How I treat biliary tract cancer.” *ESMO open*, 2022: 7(1), 100378.
- Langmuir, I. “Oscillations in ionized gases.” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1928: 14(8), 627-637.
- Leprieur, E. G., Vergnenègre, A., & Trédaniel, J. “Épidémiologie des cancers du poumon en France: les tendances actuelles: Epidemiology of lung cancer in France: Current trends.” *Revue des Maladies Respiratoires Actualités*, 2020: 12(2), 2S6-2S13.
- Lieberman, M. A., & Lichtenberg, A. J. “Principles of plasma discharges and materials processing.” *John Wiley & Sons*, 2005.
- Liu, X., Hong, F., Guo, Y., Zhang, J., & Shi, J. “Sterilization of Staphylococcus aureus by an atmospheric non-thermal plasma jet.” *Plasma Science and Technology*, 2013: 15(5), 439.
- Loeb, L. B., & Meek, J. M. “The mechanism of spark discharge in air at atmospheric pressure. I.” *Journal of applied physics*, 1940: 11(6), 438-447.
- Long, J., Ji, Z., Yuan, P., Long, T., Liu, K., Li, J., & Cheng, L. “Nut Consumption and Risk of Cancer: A Meta-analysis of Prospective Studies Nut Consumption and Cancer Risk.” *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 2020: 29(3), 565-573.

- Lu, X., & Ostrikov, K. “Guided ionization waves : the physics of repeatability.” *Applied Physics Review*, 2018: 5 031102.
- Lu, X., Jiang, Z., Xiong, Q., Tang, Z., Hu, X., & Pan, Y. “An 11 cm long atmospheric pressure cold plasma plume for applications of plasma medicine.” *Applied Physics Letters*, 2008: 92(8), 081502.
- Lu, X., Laroussi, M., & Puech, V. “On atmospheric-pressure non-equilibrium plasma jets and plasma bullets.” *Plasma Sources Science and Technology*, 2012: 21(3), 034005.
- Lu, X., Naidis, G. V., Laroussi, M. A., & Ostrikov, K. “Guided ionization waves: theory and experiments.” *Physics reports*, 2014: 540(3) 123-166.
- Luque, A., Ratushnaya, V., & Ebert, U. “ Positive and negative streamers in ambient air: modelling evolution and velocities.” *Journal of Physics D: Applied Physics*, 2008: 41(23), 234005.
- Maho, T., Goard, I., Damany, X., Dozias, S., Douat, C., Demasure, M., ... & Robert, E. “Atmospheric Pressure Multijet Plasma Source for PlasmaMedicine Applications.” *In ICPM7*, 2018.
- Malka, D., Bernardini, D., Boudjema, K., Bretagne-Bignon, A.L., Coriat, R., de Baère, T., ..., Verlingue, L.,. *Chapitre: 8 Cancer des voies biliaires*. Thésaurus National de Cancérologie Digestive, 2019.
- Meek, J. M. “A theory of spark discharge.” *Physical review*, 1940: 57(8), 722.
- Micallef, C. M., Shield, K. D., Vignat, J., Baldi, I., Charbotel, B., Fervers, B., ... & Soerjomataram, I. “Cancers in France in 2015 attributable to occupational exposures. .” *International journal of hygiene and environmental health*, , 2019: 222(1), 22-29.
- Mirpour, S., Fathollah, S., Mansouri, P., Larijani, B., Ghoranneviss, M., Mohajeri Tehrani, M., & Amini, M. R. “Cold atmospheric plasma as an effective method to treat diabetic foot ulcers: A randomized clinical trial.” *Scientific Reports*, 2020: 10(1), 1-9.
- Montijn, C., & Ebert, U. “Diffusion correction to the Raether–Meek criterion for the avalanche-to-streamer transition.” *Journal of Physics D: Applied Physics*, 2006: 39(14), 2979.
- Nascimento, F., Petroski, K., & Kostov, K. “Effects of O₂ Addition on the Discharge Parameters and Production of Reactive Species of a Transferred Atmospheric Pressure Plasma Jet.” *Applied Sciences*, 2021: 11(14), 6311.
- Nastuta, A. V., Topala, I., Grigoras, C., Pohoata, V., & Popa, G. “Stimulation of wound healing by helium atmospheric pressure plasma treatment.” *Journal of Physics D: Applied Physics*, 2011: 44(10), 105204.
- Nguyen, D. B., Trinh, Q. H., Mok, Y. S., & Lee, W. G. “Generation of cold atmospheric plasma jet by a coaxial double dielectric barrier reactor.” *Plasma Sources Science and Technology*, 2020: 29(3), 035014.

- NIH, National Cancer Institute. *Cancer statistics*. 2 Mars 2022. <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/statistics>.
- Nijdam, S., Wormeester, G., Van Veldhuizen, E. M., & Ebert, U. “Probing background ionization: positive streamers with varying pulse repetition rate and with a radioactive admixture.” *Journal of Physics D: Applied Physics*, 2011: 44(45), 455201.
- Norberg, S. A., Johnsen, E., & Kushner, M. J. “Helium atmospheric pressure plasma jets touching dielectric and metal surfaces.” *Journal of Applied Physics*, 2015: 118(1), 013301.
- O’Keeffe, L. M., Taylor, G., Huxley, R. R., Mitchell, P., Woodward, M., & Peters, S. A. “Smoking as a risk factor for lung cancer in women and men: a systematic review and meta-analysis.” *BMJ open*, 2018: 8(10), e021611.
- Pannong, K., Baik, K. Y., Nam, M. K., Han, J. H., Rhim, H., & Choi, E. H. “Preferential killing of human lung cancer cell lines with mitochondrial dysfunction by nonthermal dielectric barrier discharge plasma.” *Cell death & disease*, 2013: 4(5), e642-e642.
- Paschmann, G., Haaland, S., Treumann, R., & Treumann, R. A. (Eds.). “Auroral plasma physics (Vol. 15)”. *Springer Science & Business Media*, 2003
- Pavan, C. A. “Reduced order modelling of streamers and their characterization by macroscopic parameters.” *Doctoral dissertation, Massachusetts Institute of Technology*, 2019.
- Penkov, O. V., Khadem, M., Lim, W. S., & Kim, D. E. “A review of recent applications of atmospheric pressure plasma jets for materials processing.” *Journal of Coatings Technology and Research*, 2015: 12(2), 225-235.
- Personeni, N., Lleo, A., Pressiani, T., Colapietro, F., Openshaw, M. R., Stavraka, C., ... & Rimassa, L. “Biliary tract cancers: molecular heterogeneity and new treatment options.” *Cancers*, 2020: 12(11), 3370.
- Polak, M., Winter, J., Schnabel, U., Ehlbeck, J., & Weltmann, K. D. “Innovative plasma generation in flexible biopsy channels for inner-tube decontamination and medical applications.” *Plasma processes and polymers*, 2012: 9(1), 67-76.
- Posin, D. Q. “The Townsend coefficients and spark discharge”. *Physical Review*, 1936: 50(7), 650.
- Prost, B., Poncet, G., Scoazec, J. Y., & Saurin, J. C. “Unusual complications of argon plasma coagulation.” *Gastrointestinal endoscopy*, 2004: 59(7), 929-932.
- Rafiei, A., Sohbatzadeh, F., Hadavi, S., Bekeschus, S., Alimohammadi, M., & Valadan, R. “Inhibition of murine melanoma tumor growth in vitro and in vivo using an argon-based plasma jet.” *Clinical Plasma Medicine*, 2020: 19, 100102.
- Ramanathan, R., Borrebach, J., Tohme, S., & Tsung, A. “Preoperative biliary drainage is associated with increased complications after liver resection for proximal

- cholangiocarcinoma.” *Journal of Gastrointestinal Surgery*, 2018: 22(11), 1950-1957.
- Ranieri, P., Sponsel, N., Kizer, J., Rojas-Pierce, M., Hernández, R., Gatiboni, L., ... & Stapelmann, K. “Plasma agriculture: Review from the perspective of the plant and its ecosystem.” *Plasma Processes and Polymers*, 2021: 18(1), 2000162.
- Rashid, M. M., Chowdhury, M., & Talukder, M. R. (2020). “Textile wastewater treatment by underwater parallel-multi-tube air discharge plasma jet.” *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2020: 8(6), 104504.
- Raso, M. G., Bota-Rabassedas, N., & Wistuba, I. I. “Pathology and Classification of SCLC.” *Cancers*, 2021: 13(4), 820.
- Rax, J. M. “Physique des plasmas: Cours et applications.” *Dunod*, 2005.
- Rickett, B. J. “Radio propagation through the turbulent interstellar plasma”. *Annual review of astronomy and astrophysics*, 1990: 28, 561-605.
- Rizzo, A., Ricci, A. D., & Brandi, G. “Pemigatinib: Hot topics behind the first approval of a targeted therapy in cholangiocarcinoma.” *Cancer Treatment and Research Communications*, 2021: 27, 100337.
- Robert, E., Barbosa, E., Dozias, S., Vandamme, M., Cachoncinlle, C., Viladrosa, R., & Pouvesle, J. M. “Experimental study of a compact nanosecond plasma gun.” *Plasma processes and polymers*, 2009: 6(12), 795-802.
- Robert, E., Vandamme, M., Brullé, L., Lerondel, S., Le Pape, A., Sarron, V., ... & Pouvesle, J. M. “Perspectives of endoscopic plasma applications.” *Clinical Plasma Medicine*, 2013: 1(2), 8-16.
- Robinson, C. G., Patel, A. P., Bradley, J. D., DeWees, T., Waqar, S. N., Morgensztern, D., ... & Puri, V. “Postoperative radiotherapy for pathologic N2 non–small-cell lung cancer treated with adjuvant chemotherapy: A review of the National Cancer Data Base.” *Journal of Clinical Oncology*, 2015: 33(8), 870.
- Sager, O., Dincoglan, F., Demiral, S., & Beyzadeoglu, M. “Evaluation of changes in tumor volume following upfront chemotherapy for locally advanced Non Small Cell Lung Cancer (NSCLC).” *Global Journal of Cancer Therapy*, 2021: 7(1), 031-034.
- Schuster, M., Seebauer, C., Rutkowski, R., Hauschild, A., Podmelle, F., Metelmann, C., ... & Metelmann, H. R. “Visible tumor surface response to physical plasma and apoptotic cell kill in head and neck cancer. .” *Journal of Cranio-Maxillofacial Surger*, 2016.
- Sergeev, V. A., Sauvaud, J. A., Popescu, D., Kovrazhkin, R. A., Liou, K., Newell, P. T., ... & Reeves, G. D. “Multiple-spacecraft observation of a narrow transient plasma jet in the Earth's plasma sheet.” *Geophysical Research Letters*, 2000: 27(6), 851-854.
- Shinohara, E. T., Guo, M., Mitra, N., & Metz, J. M. “Brachytherapy in the treatment of cholangiocarcinoma.” *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics*, 2010: 78(3), 722-728.

- Simoncelli, E., Stancampiano, A., Boselli, M., Gherardi, M., & Colombo, V. “Experimental investigation on the influence of target physical properties on an impinging plasma jet.” *Plasma*, 2019: 2(3), 369-379.
- Song, C. H., Attri, P., Ku, S. K., Han, I., Bogaerts, A., & Choi, E. H. “Cocktail of reactive species generated by cold atmospheric plasma: oral administration induces non-small cell lung cancer cell death.” *Journal of Physics D: Applied Physics*, 2021: 54(18), 185202.
- Stancampiano, A., Chung, T. H., Dozias, S., Pouvesle, J. M., Mir, L. M., & Robert, E. “Mimicking of human body electrical characteristic for easier translation of plasma biomedical studies to clinical applications.” *IEEE Transactions on Radiation and Plasma Medical Sciences*, 2019: 4(3), 335-342.
- Sun, D., Lv, G., & Dong, J. “Liver Transplantation for Intrahepatic Cholangiocarcinoma: What Are New Insights and What Should We Follow?” *Frontiers in Oncology*, 2021: 11.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. “Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries.” *CA: a cancer journal for clinicians*, 2021: 71(3), 209-249.
- Szili, E. J., Hong, S. H., Oh, J. S., Gaur, N., & Short, R. D. “Tracking the penetration of plasma reactive species in tissue models.” *Trends in biotechnology*, 2018: 36(6), 594-602.
- Townsend, J. S. *Electricity in gases*. Oxford at clarendon press, 1915
- Uramoto, H., & Tanaka, F. “Recurrence after surgery in patients with NSCLC.” *Translational lung cancer research*, 2014: 3(4), 242.
- Vaquero, J., Judée, F., Vallette, M., Decauchy, H., Arbelaz, A., Aoudjehane, L., ... & Fouassier, L. “Cold-Atmospheric Plasma Induces Tumor Cell Death in Preclinical In Vivo and In Vitro Models of Human Cholangiocarcinoma.” *Cancers*, 2020: 12(5), 1280.
- Viegas, P., Hofmans, M., van Rooij, O., Obrusník, A., Klarenaar, B. L., Bonaventura, Z., ... & Bourdon, A. “Interaction of an atmospheric pressure plasma jet with grounded and floating metallic targets: simulations and experiments.” *Plasma Sources Science and Technology*, 2020: 29(9), 095011.
- Wang, M., Herbst, R. S., & Boshoff, C. “Toward personalized treatment approaches for non-small-cell lung cancer.” *Nature medicine*, 2021: 27(8), 1345-1356.
- Wang, M., Holmes, B., Cheng, X., Zhu, W., Keidar, M., & Zhang, L. G. “Cold atmospheric plasma for selectively ablating metastatic breast cancer cells.” *PloS one*, 2013: 8(9), e73741.
- Wang, T., Hu, M. S., Yang, B., Wang, X. L., Chen, X., & Liu, J. Q. “Long, biocompatible and highly flexible cold atmospheric microplasma jet device for precise endoscopic therapies.” In *2018 IEEE Micro Electro Mechanical Systems (MEMS)*, 2018: (pp. 365-368). IEEE.

- Wende, K., Lackmann, J. W., Jablonowski, H., Stapelmann, K., von Woedtke, T., & Bekeschus, S. “Can we achieve selectivity in plasma medicine.” *Clinical Plasma Medicine*, 2018: 9, 43.
- Winter, J., Brandenburg, R., & Weltmann, K. D. “Atmospheric pressure plasma jets: an overview of devices and new directions.” *Plasma Sources Science and Technology*, 2015: 24(6), 064001.
- Winter, J., Nishime, T. M., Glitsch, S., Lühder, H., & Weltmann, K. D. “On the development of a deployable cold plasma endoscope.” *Contributions to Plasma Physics*, 2018: 58(5), 404-414.
- Wu, S., Cheng, W., Huang, G., Wu, F., Liu, C., Liu, X., ... & Lu, X. “Positive streamer corona, single filament, transient glow, dc glow, spark, and their transitions in atmospheric air.” *Physics of Plasmas*, 2018: 25(12), 123507.
- Wu, S., Wang, Z., Huang, Q., Tan, X., Lu, X., & Ostrikov, K. “Atmospheric-pressure plasma jets: Effect of gas flow, active species, and snake-like bullet propagation.” *Physics of Plasmas*, 2013: 20(2), 023503.
- Yadav, D. K., Adhikari, M., Kumar, S., Ghimire, B., Han, I., Kim, M. H., & Choi, E. H. “Cold atmospheric plasma generated reactive species aided inhibitory effects on human melanoma cells: an in vitro and in silico study.” *Scientific reports*, 2020: 10(1), 1-15.
- Yao, W. Y., & Gong, W. “Immunotherapy in cholangiocarcinoma: from concept to clinical trials.” *Surgery in Practice and Science*, , 2021: 5, 100028.
- Ye, R., & Zheng, W. “Temporal-spatial-resolved spectroscopic study on the formation of an atmospheric pressure microplasma jet.” *Applied Physics Letters*, 2008: 93(7), 071502.
- Yin, L., Zhao, S., Zhu, H., Ji, G., & Zhang, X. “Primary tumor resection improves survival in patients with multifocal intrahepatic cholangiocarcinoma based on a population study.” *Scientific reports*, 2021: 11(1), 1-12.
- Yonemori, S., & Ono, R. “Flux of OH and O radicals onto a surface by an atmospheric-pressure helium plasma jet measured by laser-induced fluorescence.” *Journal of Physics D: Applied Physics*, 2014: 47(12), 125401.
- Yu, H., Wang, Y., Wang, S., Li, X., Li, W., Ding, D., ... & Zhang, W. “Paclitaxel-loaded core-shell magnetic nanoparticles and cold atmospheric plasma inhibit non-small cell lung cancer growth.” *ACS applied materials & interfaces*, 2018: 10(50), 43462-43471.
- Zeng, R., & Chen, S. “The dynamic velocity of long positive streamers observed using a multi-frame ICCD camera in a 57 cm air gap.” *Journal of Physics D: Applied Physics*, 2013: 46(48), 485201.
- Zhang, H., Zhang, J., Guo, B., Chen, H., Xu, D., & Kong, M. G. “The antitumor effects of plasma-activated saline on muscle-invasive bladder cancer cells in vitro and in vivo

demonstrate its feasibility as a potential therapeutic approach." *Cancers*, 2021: 13(5), 1042.

Zhao, Y., Wang, S., Aunan, K., Seip, H. M., & Hao, J. "Air pollution and lung cancer risks in China—a meta-analysis." *Science of the total environment*, 2006: 366(2-3), 500-513.

Chapitre II – Dispositifs expérimentaux, matériels et méthodes

Table des matières

1. Sources de plasma froid	48
a. Générateur de haute tension impulsionnelle	48
b. Sources de plasma froid.....	50
i. Plasma gun (ou canon à plasma)	50
ii. ORJET – Variante statique & Variante mobile.....	51
iii. Cathéter à plasma transféré.....	53
iv. DBD'Med : décharge à barrière diélectrique généré sur une contre-électrode «grille».....	55
v. Approche méthodologique de traitement par plasma froid des modèles biologiques	56
c. Apport de gaz au sources à plasma froid	57
d. Cibles en contact avec le jet de plasma	57
2. Diagnostics physiques.....	58
a. Diagnostics optiques	58
i. Le matériel de spectrométrie	58
ii. Mesure de la température rotationnelle par spectrométrie d'émission optique 60	
iii. Mesure de la température par caméra infrarouge.....	62
iv. Imagerie rapide ICCD.....	62
b. Diagnostics électriques	65
i. Sondes électriques.....	65
ii. Traitement des données des sondes électriques.....	66
3. Méthodes utilisées pour caractériser l'efficacité biologique du plasma	69
a. Détermination de la concentration de nitrites en milieu de culture cellulaire	69
b. Détermination de la concentration de peroxyde d'hydrogène en milieu de culture cellulaire	69
c. Protocole de traitement plasma	70
i. <i>In vitro</i>	70
ii. <i>in vivo</i>	70
d. Traitement de tumeurs solides par endoscopique au plasma froid.....	72
i. Duodéroscope conventionnel.....	73

ii. Modèles de voies biliaires.....	73
Bibliographie.....	75

Ce chapitre présente les dispositifs et les protocoles expérimentaux utilisés dans le cadre de ce projet doctoral. Chaque application nécessitant un jet de plasma *ad hoc*, il est nécessaire de trouver des méthodes permettant de comparer leur efficacité biologique et en amont leurs propriétés physico-chimiques. Dans une première partie, ce chapitre présente les sources de plasma froid utilisées pour étudier les questions de physique fondamentale mais aussi les applications en oncologie. Dans une seconde partie, les différents diagnostics permettant une caractérisation physique du plasma sont décrits. Enfin, l'ensemble des protocoles mis en œuvre pour la biologie fait l'objet d'une troisième partie : mesures des espèces réactives, traitement de lignées cellulaires et de cellules primaires, mise en place de modèles ectopiques murins.

1. Sources de plasma froid

Dans le chapitre I, le jet de plasma froid a été défini comme un flux de gaz ionisé se propageant au-delà de l'espace inter-électrodes dans l'air ambiant. Cette partie présente donc les appareils utilisés pour obtenir ces jets ainsi que les valeurs des paramètres fixés afin d'induire les effets thérapeutiques détaillés dans les chapitres V et VI.

a. Générateur de haute tension impulsionnelle

Pour toutes les expériences présentées dans le cadre de ce manuscrit de thèse, le plasma froid est généré à partir d'impulsions de haute tension. Celles-ci sont obtenues à l'aide d'un générateur de haute tension à courant continu (Modèle SLM 10 kV 1200W, société Spellman) couplé à un générateur d'impulsions à haute tension (Modèle NanoGen 1, société RLC). La tension d'impulsion peut être modifiée à partir des trois paramètres suivants contrôlés via le logiciel « RLC Nanogen 1 » : le rapport cyclique (valeurs comprises entre 0,1% et 50%), la fréquence de répétition (valeurs comprises entre 1Hz et 100kHz) et l'amplitude (valeurs comprises entre 0 et 10 kV). La largeur d'impulsion, obtenue en divisant le rapport cyclique par la fréquence de répétition, varie quant à elle entre 50ns et 100µs.

La Figure II.1 représente une impulsion de haute tension délivrée par le générateur pour une amplitude fixée à 8,5kV, de fréquence 5kHz et de rapport cyclique fixé à 10%. Le temps de montée (temps pour atteindre 90% de la tension de consigne) de l'impulsion est de 9ns alors que le temps de réponse (temps correspondant à la plage 90-110% de la tension de consigne) est de 90ns. L'amplitude maximale de la tension pouvant être atteinte s'appelle "overshoot" et a une valeur de 13,2kV ce qui correspond à un

dépassement de 48%. Après avoir atteint ce pic, le signal oscille à une fréquence de 30 MHz et s'amortit autour de la valeur de consigne. A la fin de l'état haut de l'impulsion (20 μ s), la tension reste toujours supérieure de 2000 V par rapport à la valeur de consigne. Le temps de descente est égal au temps de montée (36ns) et dépasse de 5 kV la consigne au front descendant. La Figure II.1 c) représente la dérivée du signal de tension fourni par le générateur. Les temps très courts liés aux fronts de montée et de descente peuvent générer un important courant capacitif à travers la barrière diélectrique mais aussi à travers l'air, comme indiqué dans la relation {II.1}. Ces pics capacitifs peuvent entraîner des dysfonctionnements du matériel électrique situé dans le voisinage du générateur (clavier et/ou souris qui ne fonctionnent plus, alarmes qui sonnent, ...). A titre indicatif, il est possible d'estimer l'ordre de grandeur de ces courants en calculant la capacitance de l'air situé entre une cible de 10x10 cm et le générateur, la distance cible-générateur étant fixée à 1 m. D'après la relation {II.2.}, on trouve alors une capacitance ayant une valeur de l'ordre de 0,1 pF. Multiplier cette valeur par la valeur maximale du pic de courant capacitif (5.10¹¹ V.s⁻¹) conduit à des pics de courant très courts (~10ns) et de plusieurs dizaines de milliampères. Par la suite, il conviendra de soustraire ces pics parasites aux profils de courants mesurés par les sondes afin de minimiser les biais, comme expliqué dans la section 2.b de ce chapitre

$$i_k(t) = C. \frac{dV}{dt} \quad \{II. 1\}$$

$$C_{air} = \epsilon_0 * \frac{S}{d} \quad \{II. 2\}$$

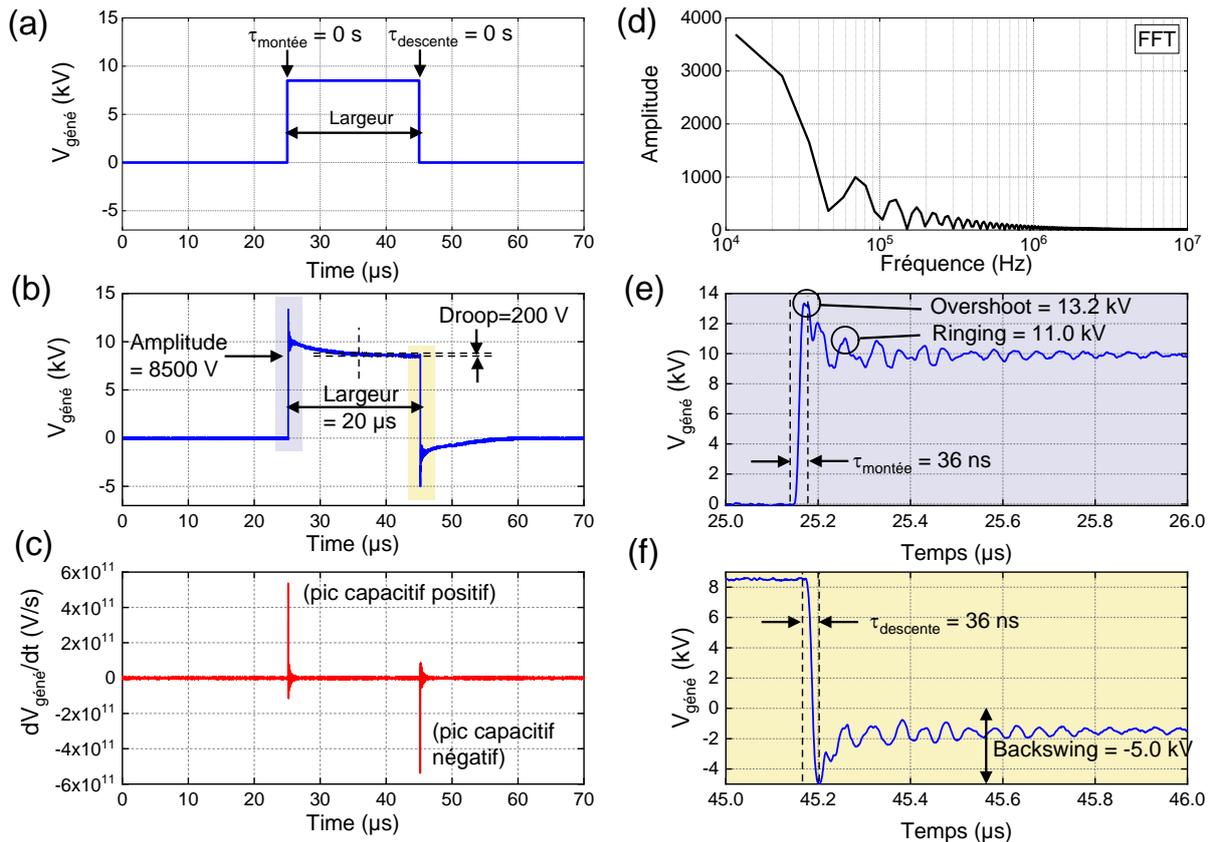


Figure 11.1 : (a) Impulsion carrée positive idéale, (b) Impulsion carrée positive réelle obtenue avec l'alimentation HT, (c) Dérivée de l'impulsion réelle pour mettre en évidence les pics capacitifs positifs (κ^+) et négatifs (κ^-), (d) Transformée de Fourier rapide de l'impulsion réelle, (e) Vue agrandie du front montant de l'impulsion pour mettre en évidence la montée, le dépassement et la sonnerie, (f) Vue agrandie du front descendant de l'impulsion pour mettre en évidence la chute et le retour.

b. Sources de plasma froid

Une première source destinée à l'étude fondamentale des propriétés physiques des jets de plasma froid a été développée afin d'étudier les interactions plasma-cible. La compréhension de ces interactions a permis de concevoir des dispositifs à jet de plasma froid destinés à des applications médicales, en particulier pour traiter des tumeurs solides. Trois sources ont ainsi été développées pour tester l'efficacité du plasma froid sur des modèles dont l'accessibilité rend le traitement facile (e.g. plaques de culture à 6 puits, tumeurs en sous-cutané) puis par voie endoscopique, l'objectif étant alors de traiter par plasma froid des tumeurs solides à l'intérieur du corps humain, sur leurs sites d'origine.

i. Plasma gun (ou canon à plasma)

Afin d'étudier les phénomènes de propagation des streamers au laboratoire de physique, un jet de plasma de type « plasma gun » a été étudié. Il permet d'émettre un

plasma à forte émissivité optique et n'a pas été conçu pour une utilisation sur modèle vivant ou pour répondre aux normes de sûreté électrique et thermique.

Il est constitué d'un capillaire en quartz de 2 mm de diamètre interne et 4mm de diamètre externe. A l'intérieur, une électrode polarisée à la haute tension est insérée : elle se présente sous la forme d'un tube de cuivre de diamètres interne et externe valant 1mm et 2 mm respectivement, comme décrit sur la Figure II.2. L'hélium est acheminé via cette électrode polarisée. Une contre-électrode d'aluminium est enroulée autour du capillaire en quartz et est placée à la masse. La distance séparant la sortie du capillaire et l'extrémité de l'électrode haute tension est de 10,5 cm, tandis que la distance séparant la sortie de ce même capillaire avec l'extrémité opposée de la contre-électrode de masse est de 10 cm. Les observations par imagerie ICCD et par spectroscopie d'émission optique sont réalisées sur une région spatiale allant de l'électrode haute tension à la cible.

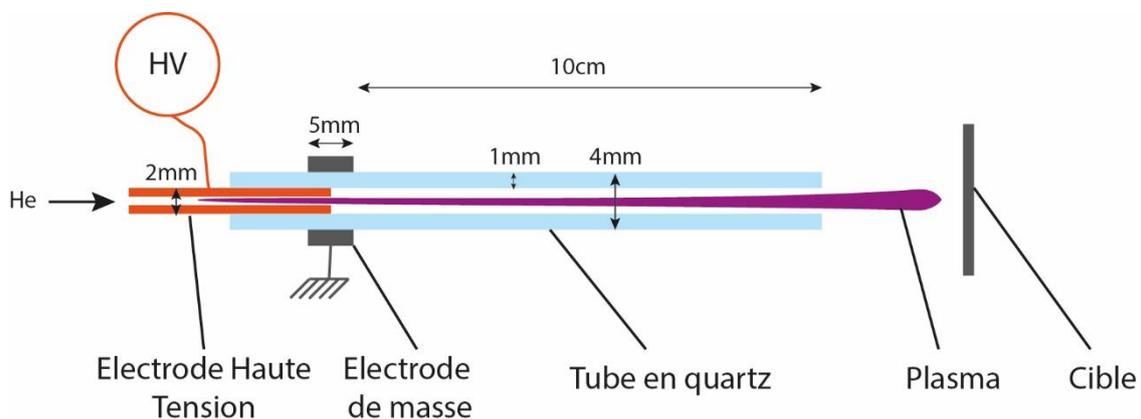


Figure II.2: Schéma de la source « plasma gun » (ou canon à plasma)

ii. ORJET – Variante statique & Variante mobile

L'ORJET (dielectric capillary with Outer Ring electrodes, generating a plasma JET) est une source de plasma froid composée d'un capillaire de quartz diélectrique de 10 cm de long présentant un diamètre intérieur de 4 mm et une épaisseur de paroi de 1 mm. Il est complété par deux électrodes annulaires externes et distantes de 1 cm l'une de l'autre. Pour toutes les expériences, l'électrode annulaire inférieure est connectée à la masse, tandis que l'électrode annulaire supérieure est polarisée à la haute tension. Les impulsions de haute tension ont les caractéristiques suivantes : 5-9kV d'amplitude, 10-30kHz de fréquence et 1-14% de temps de charge (Judee, 2019). Ce jet est représenté sur la Figure II.3.

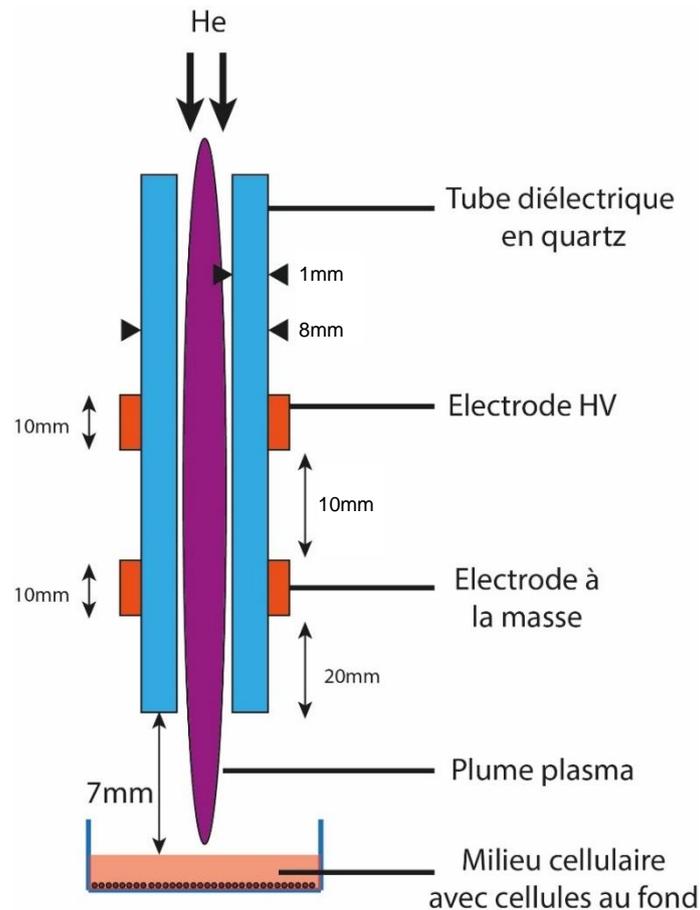


Figure II.3: Schéma de l'ORJET en statique

L'ORJET peut être appliqué en position statique au-dessus d'un liquide contenu dans un puits de culture ou encore au-dessus d'un volume tumoral de modèle murin. Cette position statique peut s'avérer limitante dans le cadre des expériences *in vivo* puisqu'une zone très limitée de la tumeur est ainsi en contact direct avec le plasma. Pour pouvoir traiter l'entièreté du volume tumoral apparent, il faut donc que l'utilisateur puisse tenir l'ORJET entre ses mains. Pour ce faire, un boîtier de protection a été réalisé comme représenté sur la Figure II.4. Ce boîtier empêche tout contact entre les mains de l'utilisateur et l'électrode haute tension de l'ORJET. Comme le jet de plasma froid balaye en continu le volume tumoral, l'échauffement local (i.e. sur quelques mm² de la tumeur) disparaît, ce qui permet d'augmenter la durée des temps de traitement par un facteur 10.

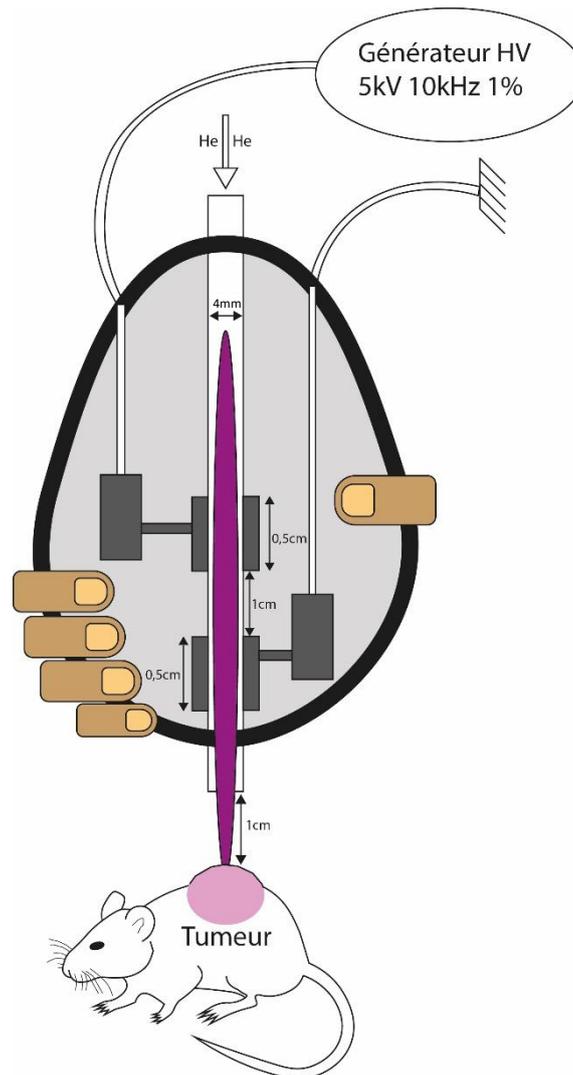


Figure II.4: Schéma du dispositif ORJET mobile en train d'agir sur une souris

L'ORJET a permis de valider l'efficacité du plasma froid sur le cholangiocarcinome dans le cadre de campagnes expérimentales *in vivo* menées sur des modèles ectopiques inoculés à des souris mais aussi au cours d'expériences *in vitro* afin de comprendre des éléments de mécanistique biologique. Néanmoins, il faut souligner que l'ORJET ne peut pas être appliqué sur des tumeurs de cholangiocarcinome si celles-ci sont localisées sur leur site d'origine : les voies biliaires. Dans une optique de recherche translationnelle, l'ORJET a donc été modifié et miniaturisé afin de concevoir un cathéter pouvant apporter le plasma froid sur le site tumoral, dans le corps humain.

iii. Cathéter à plasma transféré

Lors de cette thèse un effort important a été consacré à la mise en place d'un dispositif endoscopique capable de délivrer du plasma froid dans le corps humain. Plusieurs versions ont été développées (dont une ayant fait l'objet d'un brevet déposé) au

fil d'une collaboration entre l'équipe de physiciens du LPP, l'équipe de biologistes du CRSA et l'équipe de cliniciens/endoscopistes de l'hôpital Saint-Antoine (M. Camus, PUPH). Les contraintes du cahier des charges lors de l'utilisation d'un dispositif plasma sont nombreuses, en particulier :

- Le dispositif ne doit présenter aucun risque d'électrocution du patient et respecter les normes IEC 60601-1 [(IEC, 2005)].
- Le dispositif doit être sécurisé thermiquement et ne pas induire de température supérieure à 40°C dans le corps humain.
- Le cathéter plasma introduit dans l'endoscope doit avoir un diamètre inférieur à 2,5 mm pour qu'il puisse y être insérer avec un fil guide servant à localiser la sonde dans la voie biliaire.
- Il doit être flexible pour facilement glisser dans le système digestif du patient.
- Le capillaire doit être inerte chimiquement pour ne pas risquer d'irriter les tissus du patient.
- Aucune interférence ne doit avoir lieu entre le dispositif et les équipements électriques qui l'environnent

Deux versions de cathéter auront été conçues pendant la thèse :

- 1- Une première version a été brevetée lors de la thèse (France Brevet n° PCT/FR2021/000041, 2021). Celle-ci présente un blindage électromagnétique réalisé à partir d'une tresse métallique d'épaisseur 0,15mm, laquelle est recouverte d'une gaine isolante thermodurcissable. Le diamètre externe de l'ensemble de ces couches concentriques est de 0,25mm. A l'intérieur de ce blindage est disposé un fil de cuivre d'une épaisseur de 0,3mm recouvert d'une couche de diélectrique de 0,15mm d'épaisseur servant d'électrode haute tension. Cette version est représentée dans la Figure II.5.a
- 2- La deuxième version est inspirée de (Bastin, 2020). Cette source de plasma est composée de deux principaux éléments : (i) une chambre externe (i.e. hors duodéno-scopie) alimentée en gaz hélium à un débit de 1 slm où le plasma froid est généré et (ii) un long capillaire flexible qui permet au plasma de se propager sur une distance d'au moins 2 m. Ce capillaire est en PTFE, a un diamètre interne de 1 mm, une épaisseur de 0,5 mm et une longueur variant de 2 à 4 m. La chambre externe comporte deux électrodes : une électrode plate connectée au générateur de haute tension et une électrode annulaire externe qui est mise à la terre. Une barrière diélectrique de 1 mm d'épaisseur recouvre l'électrode polarisée pour empêcher tout passage au régime d'arc thermique. Un fil de cuivre auxiliaire (0,3 mm de diamètre) est centré coaxialement dans la chambre principale et court le long du capillaire flexible. Sa longueur est inférieure de 0,5 cm à la longueur du capillaire souple de sorte qu'il reste confiné dans le capillaire et ne peut pas être en contact avec des tissus vivants. Dans cette configuration, le plasma froid se forme entre l'électrode polarisée et le fil auxiliaire, puis se propage tout le long de l'électrode auxiliaire et sort enfin du capillaire sous la forme d'un panache de plusieurs millimètres de long. Cette version est représentée dans la Figure II.5.b.

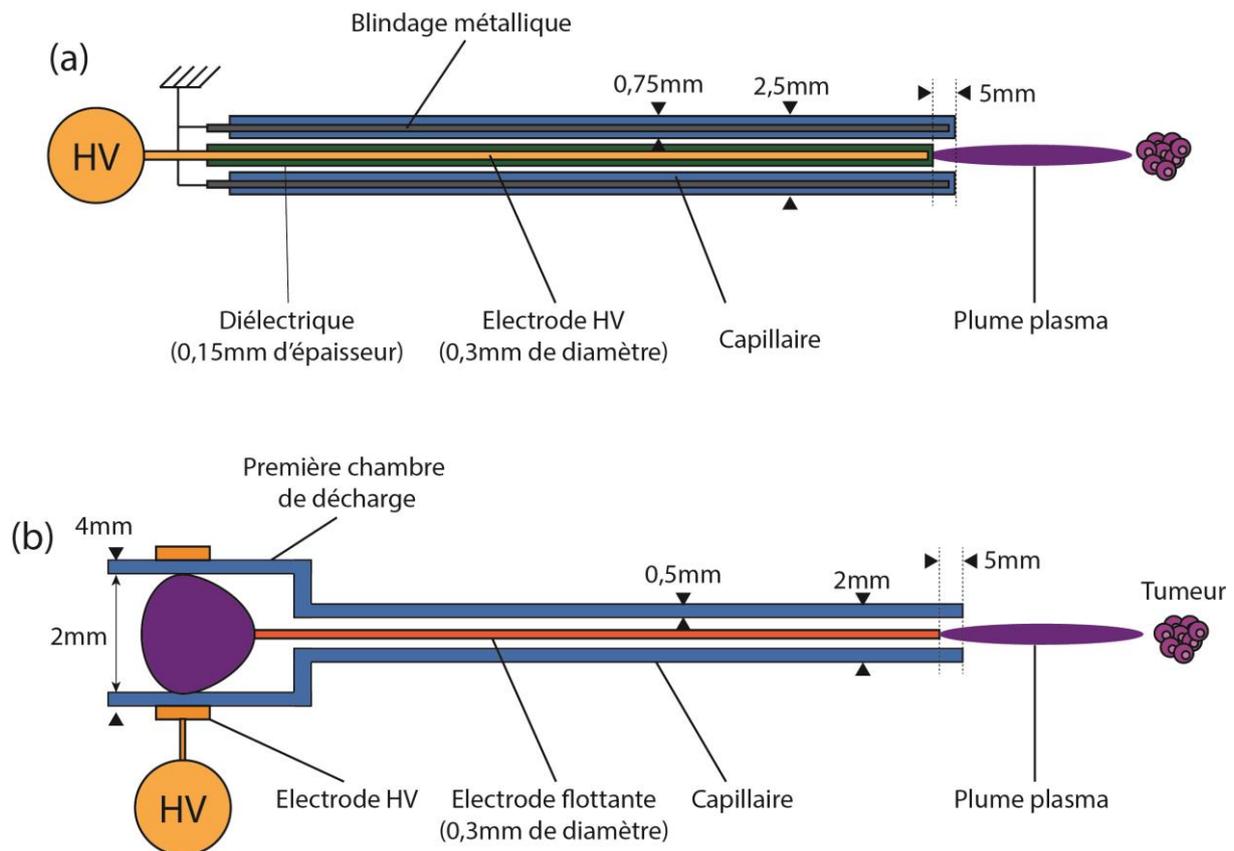


Figure II.5: Schéma des différents dispositifs endoscopiques utilisés pendant la thèse (a) Version brevetée durant la thèse (b) Version inspirée de (Bastin, 2020)

iv. DBD'Med : décharge à barrière diélectrique générée sur une contre-électrode « grille »

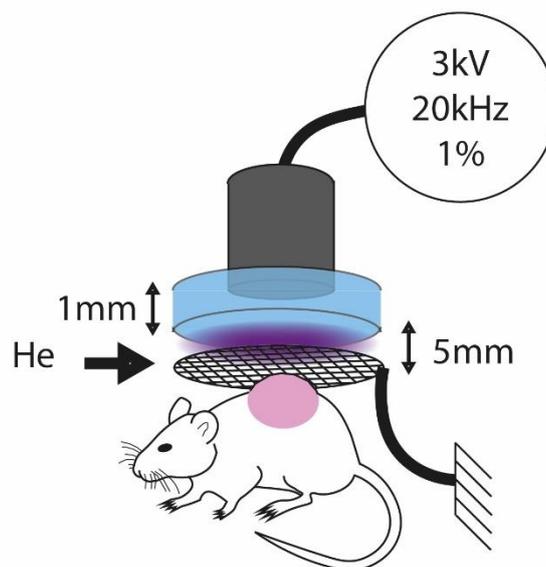


Figure II.6 : Schéma du dispositif DBD'MED et photographie du DBD'MED en train d'agir sur une souris

A l'inverse des dispositifs précédents, cette source ne permet pas de générer un jet de plasma froid et n'a *a fortiori* pas vocation à être utilisée à des fins endoscopiques. Son originalité réside néanmoins dans sa capacité à traiter des tumeurs ectopiques entières ou des puits de cultures de grande surface (plaques de cultures à 6 puits). Cette source de plasma froid est une décharge à barrière diélectrique fonctionnant dans l'hélium. Elle a été nommée « DBD'Med » (Dielectric Barrier Device with gas flowing through Mesh counter-ElectroDe). Le dispositif est constitué d'une électrode polarisée à la haute tension (cylindre en aluminium de diamètre 1 cm et de longueur 5 cm) mise au contact d'une barrière diélectrique d'épaisseur 1 mm. Une contre-électrode correspondant à une grille en aluminium est portée à la masse. La grille présente une ouverture nominale $w = 74 \mu\text{m}$, un diamètre filaire $d = 71 \mu\text{m}$ et un pourcentage de vide estimé à $100 \cdot \left(\frac{w}{w+d}\right)^2 = 34\%$. Cette grille est placée 5mm en dessous de la barrière diélectrique comme indiqué sur la Figure II.5. Le dispositif est alimenté par une ligne d'hélium dont l'écoulement est ensuite réparti sur un jeu de tuyères internes garantissant un environnement d'hélium uniforme dans l'espace inter-électrode. Lors d'un traitement, la cible biologique à traiter (e.g. tumeur) est placée sous la contre-électrode grille et au contact de celle-ci, comme indiqué sur la Figure II.6. Le traitement avec le DBD'MED s'effectue donc en post-décharge.

v. Approche méthodologique de traitement par plasma froid des modèles biologiques

Dans un premier temps, le traitement par plasma froid est réalisé sur des modèles murins sains, i.e. ne souffrant d'aucune pathologie. L'objectif est de vérifier l'innocuité du plasma froid, en particulier l'absence d'effets délétères comme des brûlures thermiques, le risque de fibrillation ventriculaire, etc. Ce n'est que dans un second temps que l'on cherche à démontrer un effet thérapeutique du plasma froid en utilisant des tumeurs ectopiques, i.e. greffées en sous-cutané sur des modèles murins. Cette approche permet de s'affranchir des contraintes liées au positionnement *in situ* des tumeurs étudiées (dans les voies biliaires et dans le poumon) et donc de quantifier facilement des effets anti-tumoraux. Il est préférable de constater les effets thérapeutiques du plasma froid sur des modèles *in vivo* plutôt que *in vitro* car la notion d'innocuité est immédiatement attestée. Dans un troisième temps, l'approche *in vitro* est utilisée pour étudier la mécanistique biologique, i.e. comprendre les mécanismes d'action du plasma froid sur les cellules. Ces trois premières étapes permettent alors de prendre le recul nécessaire pour optimiser la source de plasma froid, lui apporter un certain nombre d'améliorations technologiques dans le but de pouvoir traiter ensuite la tumeur sur son site, i.e. garantir un traitement des cellules cancéreuses sur site orthotopique. Enfin, les étapes suivantes peuvent consister à protéger le dispositif par un brevet et à l'avenir de réaliser un marquage CE (Certification Européenne) en vue de la réalisation d'essais cliniques.

c. Apport de gaz aux sources à plasma froid

Tout au long de ce travail de thèse, les jets de plasma ont été alimentés en hélium pur à 99,99% (Société Air liquide, Alphagaz 1) et régulés à l'aide de débitmètres massiques (Bronkhorst EL-FLOW Prestige Series) pour des valeurs comprises entre 0,3 et 2 slm.

d. Cibles en contact avec le jet de plasma

Ces travaux de recherche étant réalisés dans une optique thérapeutique, il est opportun de ne pas appliquer le plasma directement sur des modèles murins mais sur des cibles matérielles qui miment le Vivant, en particulier la réponse électrique de modèles tels que l'humain. Cette cible qui sera nommée EEHB (Electrical Equivalent Human Body) a été conçue par le Dr. Florian Judée et validée à partir d'expériences et de simulations numériques réalisées sur le logiciel Sim4Life (Judée, 2019). Elle consiste en une résistance de 1500Ω en parallèle avec un condensateur de 10pF (Figure II.7.a). Par ces valeurs, on peut remarquer que ce modèle est assez proche de celui donné par le Standard International IEC 60601-1 (IEC, 2005) s'appliquant aux équipements médicaux puisque dans ce deuxième cas, ce modèle comporte une résistance de $1\text{k}\Omega$ en parallèle avec une autre résistance de $10\text{k}\Omega$ et une capacité de 150pF (Figure II.7.b). Celui-ci a été validé comme cible mimant la réponse du corps humain pour des expériences plasma (Stancampiano, 2019). Pour réaliser la cible une plaque d'aluminium de dimension $10\times 10\text{ cm}$ a été connectée à une résistance et un condensateur avec les valeurs mentionnées ci-dessus (Figure II.7.a).

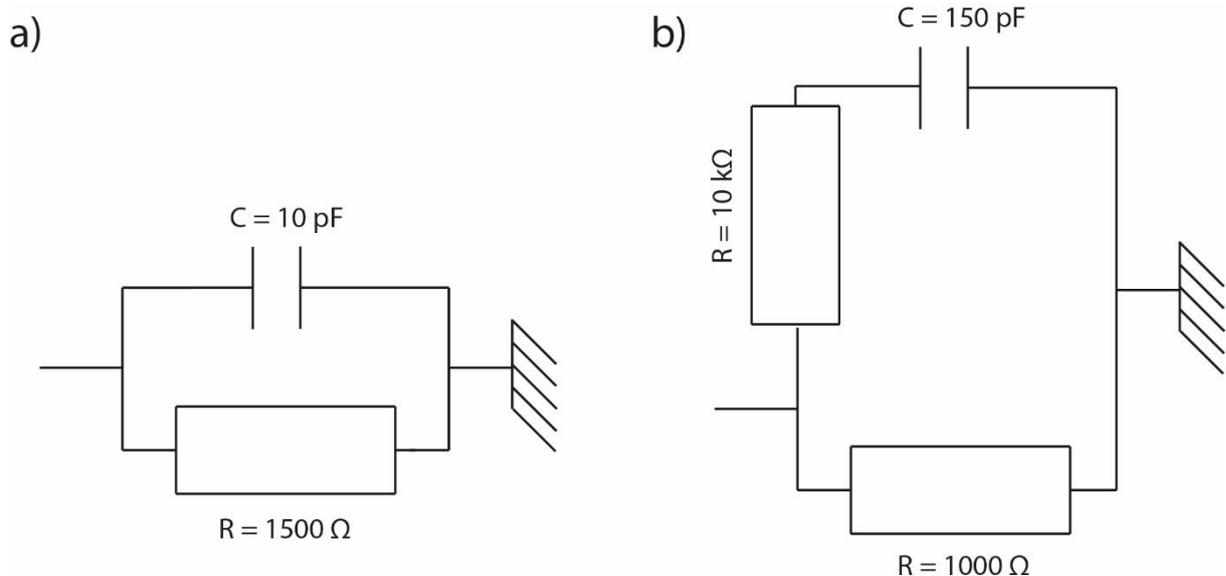


Figure II.7 : a) Schéma électrique de la cible EEHB simulé par notre équipe (Judée, 2019) b) Schéma électrique du corps humain selon le standard IEC 60601-1

Cette plaque en aluminium a aussi été mise à la masse et utilisée comme cible flottante dans le cadre des expériences physiques afin de pouvoir comparer les résultats issus de la littérature.

Dans le chapitre IV, une grille en inox de dimension 3×3 cm (ouverture nominale de 300 µm, diamètre filaire de 220 µm et pourcentage de vide de 33 %) a été utilisée comme cible flottante.

2. Diagnosics physiques

Cette partie décrit les diagnostics utilisés au cours de cette thèse : spectroscopie d'émission optique, caméra infrarouge, imagerie rapide ICCD et sondes électriques. Ces techniques d'analyse ont non seulement permis de caractériser le plasma froid, les streamers mais aussi les questions liées à la sécurité de son utilisation vis-à-vis des patients en milieu hospitalier.

a. Diagnosics optiques

Le plasma émet de la lumière sur une gamme spectrale couvrant des UV au proche infrarouge. Cette lumière est une source d'informations très importante pour le physicien des plasmas car elle lui permet de déterminer la composition élémentaire/chimique du plasma mais aussi de remonter à un certain nombre de paramètres physiques (température, densité, champ électrique, etc.)

i. Le matériel de spectrométrie

L'émission radiative du plasma est collectée par un spectromètre d'émission optique d'Andor (SR-750-B1-R) fonctionnant en configuration Czerny-Tuner sur une distance focale de 750mm. Il est équipé d'une fibre optique (Leoni Fiber Optics SR-OPT-8014) et d'une caméra ICCD (Andor Istar, matrice d'imagerie 2048 x 512 de 13,5 µm x 13,5 µm pixels). La diffraction est réalisée par trois réseaux : un réseau à 1200 sillons/mm blazé à 300nm, un réseau à 1200 sillons/mm blazé à 500nm et un réseau à 1800 sillons/mm blazé à 250nm. En raison de la faible émissivité du plasma, les spectres OES sont acquis à l'aide de deux lentilles convergentes (ThorLabs, LB941-UV, f = 100 mm et ThorLabs, LB4941, f = 50 mm) pour focaliser et collecter de manière optimale l'émission de plasma. Un système optique composé de ces deux lentilles convergentes permet d'améliorer la résolution spatiale de ce diagnostic ; cette résolution étant estimée à 0,5mm via une calibration laser.

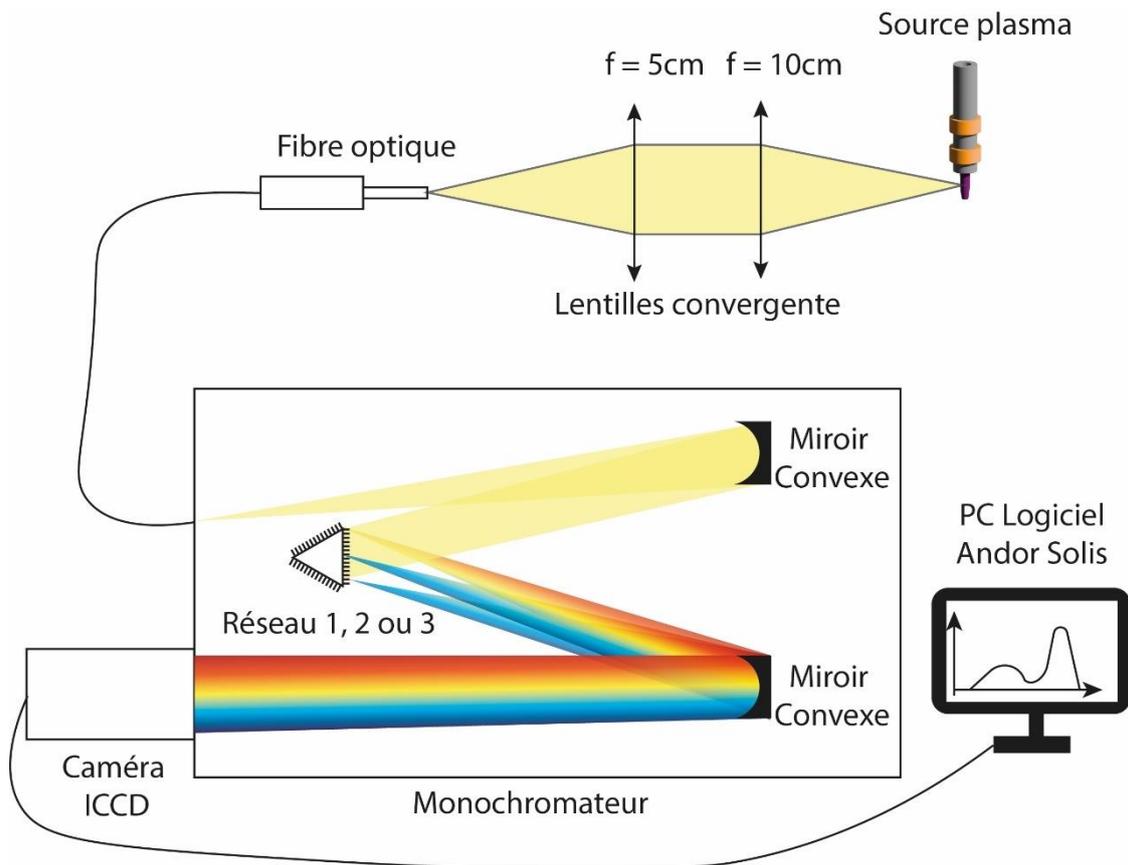


Figure II.8: Schéma illustrant le fonctionnement du spectromètre d'émission optique avec monochromateur en configuration Czerny-Turner et monitoring de l'émission plasma par caméra ICCD

Dans le cadre de ce projet doctoral, seul le réseau à 1200 sillons/mm blazé à 500 nm est utilisé. Il permet de réaliser des spectres couvrant un intervalle spectre allant de 180nm à 900nm avec une résolution spectrale de 0,014nm. Le Tableau II.1 reprend de manière non exhaustive les raies remarquables observées avec un jet de plasma fonctionnant dans l'hélium.

Longueur d'onde	Espèce	Transition	Quantité / Paramètre déduit
308.9 nm (tête de bande)	OH	(A-X)	T_{rot}
337,13 nm	N_2^*	(C-B)(0-0)	Raie la plus lumineuse
371,05-375,54-380,49 nm	N_2^*	(C-B)	T_{vib}
391,44nm	N_2^+	(B-X)(0-0)	Quantité de N_2^+ présent grâce à l'utilisation de filtres (cf partie Imagerie rapide ICCD)

492,19nm	He I		Champ électrique (Sretenovic, 2012)
656,28 nm	H β		Densité électronique (Konjević, 2012)
706,52nm	He	($^3P_0 - ^3S$)	Utilisation de filtres pour mesurer la quantité de He (cf partie Imagerie rapide ICCD)
777,19nm, 777,42nm et 777,54nm	O	($^5S_0 - ^5P$)	Quantité de O présent

Tableau II.1: Liste des raies remarquables lors de l'observation d'un spectre d'émission optique d'un jet de plasma d'hélium

ii. Mesure de la température rotationnelle par spectrométrie d'émission optique

Grâce aux raies d'émission optique, on peut estimer les températures du plasma. Un plasma froid étant par définition hors équilibre thermodynamique, l'inégalité suivante est vérifiée : $T_{rot} < T_{vib} < T_e$. Une approximation courante consiste à supposer que T_{rot} est proche de la température des atomes neutres et donc à la température du gaz. On peut ainsi en déduire une valeur approximative de la température gazeuse du plasma.

La méthode du diagramme de Boltzmann est utilisée pour déterminer la température rotationnelle du plasma grâce à la branche Q1 de la bande OH(A-X)(0-0) (Figure II.9). L'intensité de la transition lumineuse entre deux niveaux rotationnels est régie par la relation :

$$I_{JJ'} \propto h\nu_{JJ'} \times A_{JJ'} \times [N(J)] \quad \{II.3\}$$

En notant $I_{JJ'}$ l'intensité de la transition lumineuse entre les niveaux rotationnels J et J', $\nu_{JJ'}$ la fréquence de la transition, $A_{JJ'}$ le coefficient d'Einstein, $N(J)$ le nombre d'atomes dans l'état J et C une constante propre à la configuration du spectromètre.

En supposant une distribution boltzmanienne des états rotationnels et en notant E_J l'état d'énergie du niveau J,

$$N(J) = N(0)e^{-\frac{E_J}{kT_{rot}}} \quad \{II.4\}$$

Ce qui permet d'exprimer la relation {II.3} sous la forme :

$$I_{JJ'} \propto h\nu_{JJ'} \times A_{JJ'} \times [N(0)]e^{-\frac{E_J}{kT_{rot}}} \quad \{II.5\}$$

Cette formule est vraie si les niveaux ne sont pas dégénérés. Or, le nombre d'états dégénérés ici est $N_J^* = (2J + 1)N_J$. La formule {II.5} doit donc être corrigée par le facteur $2J + 1$, d'où la nouvelle expression

$$I_{JJ'} \propto A_{JJ'}(2J + 1) \cdot \nu_{JJ'} \cdot e^{-\frac{E_J}{kT_{rot}}} \quad \{II.6\}$$

$$\frac{I_{JJ'}}{A_{JJ'}(2J + 1)\nu_{JJ'}} = -Be^{-\frac{E_J}{kT_{rot}}} \quad \{II.7\}$$

Où B est une constante. En passant au logarithme népérien, la relation {II.7} devient :

$$\ln\left(\frac{I_{JJ'}}{A_{JJ'}(2J+1)v_{JJ'}}\right) = -\frac{E_J}{kT_{rot}} + \ln(B) \quad \{II.8\}$$

La pente de la courbe de $\ln\left(\frac{I_{JJ'}}{v_{JJ'}A_{JJ'}(2J+1)}\right) = f(E_J)$ est donc égale à $-\frac{1}{kT_{rot}}$. L'inverse de cette pente permet de retrouver directement la température rotationnelle.

Les coefficients $A_{JJ'}$, $\lambda_{JJ'}$ et E_J sont issus de (I.Ishii, 1990), (Crosswhite, 1962) et du logiciel LIFBASE et peuvent être retrouvés dans le Tableau II.2. Un exemple de spectre de la bande R₁ de OH(A-X)(0-0) peut être observé dans la Figure II.,. Les numéros montrent les raies utilisées pour le calcul.

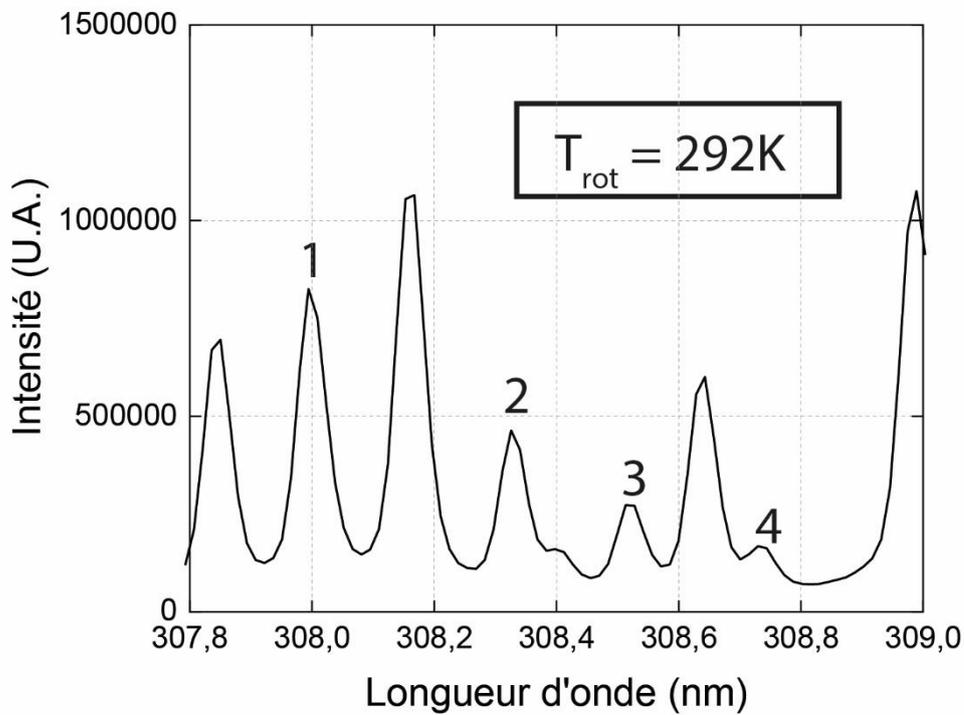


Figure II.9: Spectre montrant la bande Q₁ de OH(A-X)(0-0) avec en 1 - 307,995 nm, en 2 - 308,328 nm, en 3 - 308,520 nm et en 4 - 308,734 nm.

Raie (nm)	2J+1	A _{JJ'}
307,995	6	5,15
308,328	10	6,044
308,520	12	6,243
308,734	14	6,352

Tableau II.2 : Liste des coefficients nécessaires pour le calcul de la Température rotationnelle

Ce diagnostic est cependant peu précis pour les applications médicales, avec une précision estimée à ± 30 K). Pour rappel, la plupart des expériences utilisant des dispositifs médicaux chauffant ne doivent pas dépasser une température de $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ si on souhaite les appliquer sur des modèles animaliers (souris, rats, porcs), l'objectif étant de ne pas induire des effets délétères sur les tissus, en particulier des brûlures. Pour cette raison, une autre méthode a été utilisée pour mesurer la température de la zone exposée au plasma froid.

iii. Mesure de la température par caméra infrarouge

Afin de pallier au manque de précision de la mesure de température par spectrométrie d'émission optique, des mesures de température de surfaces matérielles ou de tissus biologiques exposés au plasma ont été effectuées par imagerie infrarouge thermographique. La caméra de JENOPTIK & INFRATEC est équipée d'une tête VarioCAM® HD 680/30 et permet l'analyse, le transfert et le traitement des informations en temps réel. Sa plage spectrale est de $7,5$ à $14\text{ }\mu\text{m}$, sa plage de mesure thermique est de -40°C à 1200°C , sa résolution thermique à 30°C est inférieure à 30 mK et sa précision de mesure est de $\pm 1,5\%$ à partir de 0°C à 100°C . Elle permet ainsi de connaître précisément la température du point en contact avec le plasma.

iv. Imagerie rapide ICCD

L'imagerie ICCD est le dernier diagnostic optique présenté dans ce chapitre. Lors de la thèse il a été utilisé afin de comprendre les interactions entre les streamers guidées composant le plasma et les différentes cibles.

1. Caméra ICCD et protocole de prise d'images de streamers guidés

L'émission radiative du jet de plasma est collectée par une caméra dont le capteur est un dispositif matriciel à transfert de charge, complété par un système d'intensification (ICCD – Intensified Charge Coupled Device) de la société Andor (modèle Istar DH340T). Ce capteur présente 2048×512 pixels de dimension unitaire $13,5\text{ }\mu\text{m} \times 13,5\text{ }\mu\text{m}$ avec une largeur de porte optique inférieure à 2 ns . Cette caméra est connectée au générateur de tension impulsionnelle par un câble BNC afin de synchroniser les prises de vue par rapport aux fronts montants du signal de tension. Il est ainsi possible d'étudier la cinétique des streamers guidés interagissant avec une cible.

Les streamers guidés sont des phénomènes transitoires et peu émissifs. Chercher à en isoler un seul pour l'observer est impossible même avec une caméra équipée d'une technologie à haute intensification. Cependant il est possible d'étudier un train de streamers guidés, c'est-à-dire de collecter à intervalles de temps réguliers un grand nombre de ces streamers (N_{GS}) et de sommer leurs émissions sur une seule image. Le logiciel Solis permet ainsi de suivre plusieurs trains de streamers guidés en combinant le mode d'acquisition "série cinétique" et le mode porte "DDG" (Digital Delay Generator –

Générateur de délai virtuel). Afin d'expliquer la procédure de création d'une série d'image, les quatre points suivants sont précisés :

- L'alimentation HV délivre des impulsions à la fréquence de répétition de 5 kHz pour un rapport cyclique de 10 %. Par conséquent, la largeur d'une seule impulsion est de $10\% / 5 \text{ kHz} = 20 \mu\text{s}$ et la période de répétition est $T_{\text{rep}} = 1 / 5 \text{ k} = 200 \mu\text{s}$ (Figure II.10).
- Une série cinétique est définie par les 3 paramètres suivants : le temps d'exposition d'un balayage unique (τ_{kin}), le nombre d'accumulations (N_{acc}) et la longueur qui correspond au nombre de balayages effectués pendant la série cinétique (L_{kin}). Ici, on considère que $\tau_{\text{scan}} = 5 \text{ s}$, $N_{\text{acc}} = 1$ et $L_{\text{kin}} = 850$. Par conséquent, on peut facilement déduire le nombre de streamers guidés (ou pulses) collectés sur un seul balayage, à savoir $N_{\text{GS}} = \frac{\tau_{\text{kin}}}{T_{\text{rep}}} = \frac{5\text{s}}{200\mu\text{s}} = 25000$, comme esquissé sur la Figure II.. En outre, la durée totale d'une série cinétique peut également être évaluée comme $\tau_{\text{scan}} \times N_{\text{acc}} \times L_{\text{kin}} = 4250 \text{ s} = 1\text{h}10\text{min } 50\text{s}$. Ainsi, selon que l'on souhaite observer tout ou partie du phénomène de propagation aller/retour, la valeur L_{kin} est choisie avec soin pour trouver le meilleur compromis entre précision de mesure et temps de mesure.
- Le mode DDG (Digital Delay Generator = générateur de retard virtuel) est caractérisé par un gain d'amplification $G = 1500$, une largeur de grille $w = 2 \text{ ns}$ et un retard λ variant de 0 à 1000ns (valeur L_{kin}) par pas de 1 ns. Ce retard est défini par rapport à un déclencheur synchronisé au front montant du générateur. Il est à noter qu'un chevauchement de $\lambda - w = 1 \text{ ns}$ se produit entre deux acquisitions successives. Cette valeur de 1 ns définit la résolution temporelle des expériences.
- Le mode « Intelligate » de la caméra est activé et permet d'augmenter la résolution des prises de vues. Cependant la fréquence d'acquisition doit rester inférieure à 5000Hz sous peine d'endommager la caméra.

La procédure de création d'une série d'images s'effectue ensuite en 850 scans :

(i) Lors du scan #0001, alors que 25 000 impulsions sont réalisées (et donc 25000 streamers guidés positifs sont générés), la caméra ICCD n'acquiert que les premières ns de chacune ($w = 2 \text{ ns}$) pour un retard toujours maintenu à $\lambda = 0 \text{ ns}$, comme le montre la Figure II.10. Ces 25 000 acquisitions sont additionnées pour constituer une acquisition unique et spécifique au balayage #0001.

(ii) Lors du scan #0002, 25 000 nouvelles impulsions sont réalisées alors que la caméra ICCD n'acquiert qu'une infime partie de chacune définie par $w = 2 \text{ ns}$ et un retard λ fixé à 1 ns. Ces 25 000 acquisitions sont additionnées pour constituer une nouvelle acquisition propre au balayage #0002.

(iii) Plus généralement, pour chaque nouveau balayage k (avec $k < 1001$), 25 000 impulsions sont réalisées, chacune d'elles étant partiellement captée par la caméra ICCD sur un intervalle de temps toujours fixé à $w = 2 \text{ ns}$ et décalé par 1ns - étape telle qu'une fois que $k = L_{\text{kin}} = 1000$, λ a une valeur de 999 ns.

Cette procédure est illustrée dans la Figure II., où le schéma du haut représente les impulsions de tension et les 4 schémas du bas représentent l'acquisition des différentes prises de vues.

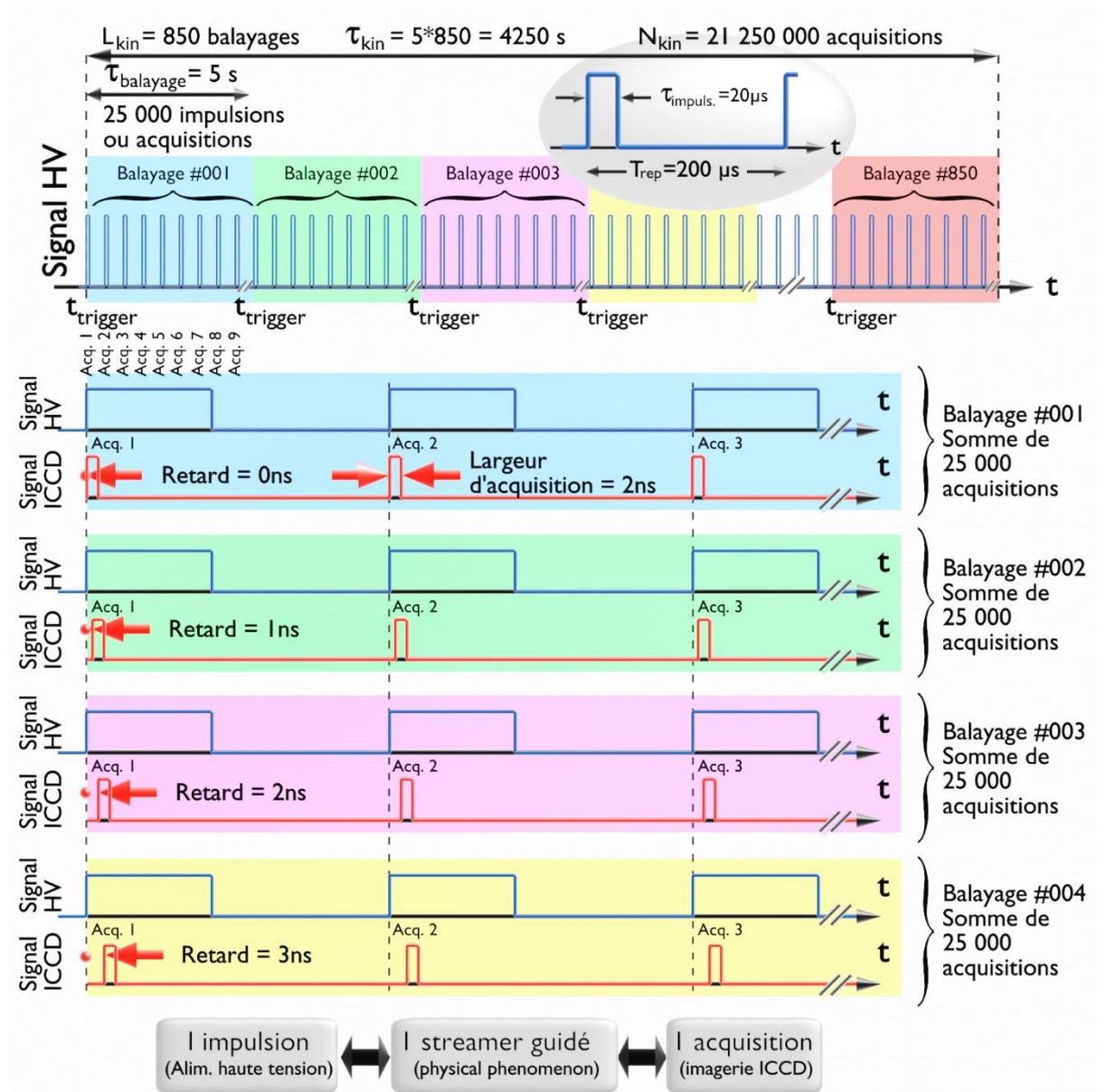


Figure II.10: Schéma explicatif du fonctionnement du mode DDG permettant l'acquisition d'une série d'image avec un retard se décalant dans le temps

2. Mesure de la vitesse de propagation d'un streamer

A partir des images obtenues par caméra ICCD, il est possible de mesurer avec précision la vitesse de propagation des streamers guidés (v_{GS}). Considérant que les dimensions de chaque image ICCD sont $L_{ICCD} = 2048$ px pour sa longueur et $h_{ICCD} = 512$ px pour sa hauteur, la procédure suivante est réalisée : (i) l'image ICCD est décomposée en tranches optiques de hauteur h_{ICCD} et d'épaisseur élémentaire $dx = 1$ px le long de la

direction de propagation, (ii) l'émission optique de chaque tranche est sommée, de sorte qu'une valeur unique (scalaire) est attribuée à chaque dx, (iii) la tranche la plus émissive est prise comme référence de la position du streamer guidé. Cette région est généralement située dans la tête du streamer guidé et peut être associée à son front d'ionisation. Comme exprimé dans l'équation {II.9}, la vitesse est mesurée aux emplacements x_k et x_{k+1} correspondant à deux images ICCD consécutives prises par exemple à un intervalle de temps de $t_{k+1}-t_k=1\text{ns}$:

$$v_{GS}(x_k) \approx v(x_k) = \frac{dx}{dt} = \frac{x(t_{k+1}) - x(t_k)}{t_{k+1} - t_k} \quad \{\text{II. 9}\}$$

b. Diagnostics électriques

Différents diagnostics électriques ont été mis en place au cours de la thèse, d'une part pour caractériser la charge des streamers, évaluer le champ électrique créé par le plasma, démontrer l'absence de risques électriques pour un transfert de la technologie vers les applications cliniques et confirmer/compléter les résultats obtenus sur les streamers par imagerie rapide ICCD.

i. Sondes électriques

Les paramètres électriques sont mesurés à l'aide d'un oscilloscope analogique (Wavesurfer 3054 de Teledyne Lecroy) couplé à des sondes haute tension (Tektronix P6015A 1000:1, Teledyne LeCroy PPE 20 kV 1000:1, Teledyne LeCroy PP020 10:1) et des moniteurs de courant (Pearson, 2877).

Chaque moniteur de courant (CM) se présente sous la forme d'un boîtier cylindrique creux, d'épaisseur 16 mm, avec des diamètres interne et externe de 6 mm et 26 mm respectivement, comme représenté sur la Figure II.11. L'espace creux renferme un tore ferromagnétique caractérisé par son rayon poloïdal interne (R_{in}), son rayon poloïdal externe (R_{out}) et sa section rectangulaire (longueur L_1 et largeur w_1). Un fil métallique est enroulé autour de ce tore, formant $N = 50$ spires équidistantes les unes des autres.

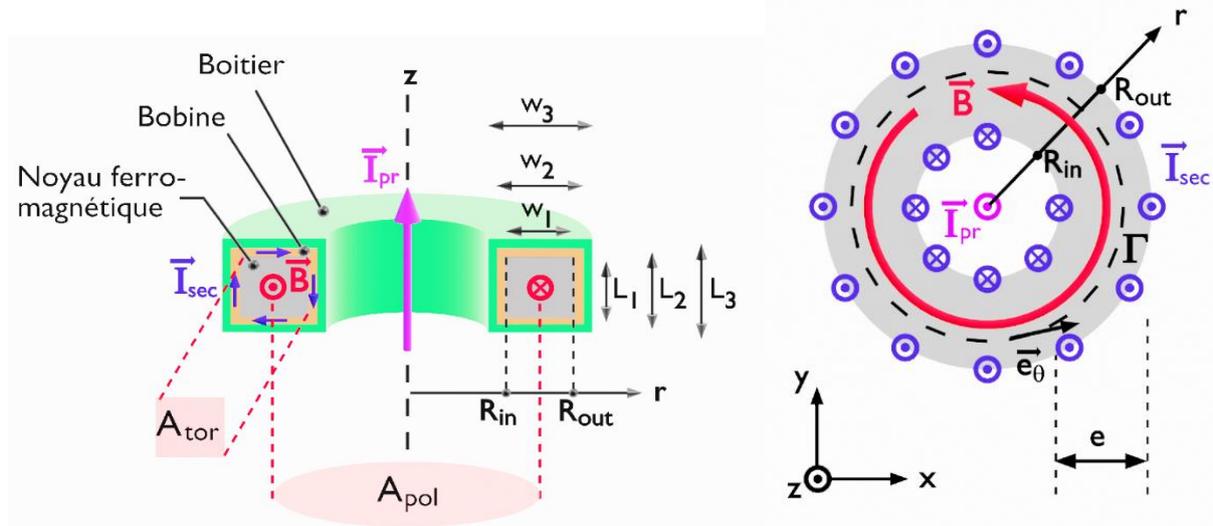


Figure II.11: Schéma du dispositif de mesure de courant Pearson 2877

ii. Traitement des données des sondes électriques

Lorsque le générateur impulsionnel fonctionne, il émet un rayonnement électromagnétique (REM) dans tout son environnement, biaisant de facto les mesures réalisées avec les sondes électriques. Le REM correspond à des ondes d'énergie électrique et magnétique se déplaçant conjointement dans l'espace. Le générateur impulsionnel HV permettant de créer les streamers guidés (et donc le plasma) est une source intense de REM du fait de ses transformateurs internes et de ses nombreux fils électriques qui se comportent comme des lignes de transmission et de la raideur de l'impulsion de tension (36ns de 0 à 13kV). Bien que cette émission REM est non ionisante, sa force est suffisamment élevée pour interférer avec le fonctionnement normal des transistors dans un rayon de 5 mètres, et donc avec tous les appareils électroniques environnants, en particulier les ordinateurs portables, induisant par exemple le verrouillage du clavier et de la souris (Bona, 2009).

Comme le REM peut brouiller les mesures effectuées par les moniteurs de courants, il faut le supprimer par une procédure de filtrage. Pour cela, un protocole reposant sur l'utilisation d'un filtre de Butterworth a été mis en place. Considérons l'exemple où l'on souhaite mesurer le courant dans le capillaire, comme cela est schématisé en haut de la Figure II.12. Ce protocole s'applique tout aussi bien si l'on veut mesurer le courant traversant un fil. Ici le courant est réglé sur les paramètres suivants : 8,5kV d'amplitude, 5kHz de fréquence et 10% de temps de charge. Pour mesurer le courant de conduction propre aux streamers, il faut considérer préalablement deux configurations : la "configuration A" où le capillaire/le fil conducteur est placé à quelques centimètres de CM1 et la "configuration B" où le capillaire/le fil conducteur est centré coaxialement dans CM1.

Dans la configuration A, CM1 ne peut mesurer que le courant propre au REM ($I_{REM}(t)$) comme indiqué dans l'équation {II.10}. La Figure II.12a montre un agrandissement du

profil de $I_{REM}(t)$ sur le front montant de l'impulsion HT tandis que l'encart rappelle l'existence d'une composante I_{REM} à chaque front de l'impulsion : une sur le front montant, l'autre sur le front descendant. Dans la configuration B, le courant total mesuré par CM1 (I_B) présente trois composantes, comme indiqué dans l'équation {II.9} : la première correspond à l'émission de champ électromagnétique (I_{REM}), la seconde est liée au pic de courant capacitif (I_κ) et le troisième représente le pic de courant conducteur du streamer guidé (I_ζ). Dans cette configuration, la Figure II.12b montre le profil de I_B au front montant de l'impulsion positive HV. Comme son profil est trop bruité pour distinguer clairement les trois composantes précédemment mentionnées, une analyse par transformée de Fourier rapide (FFT) s'avère indispensable pour dissocier le bruit des autres composants de fréquence discrète, et ce pour la configuration B comme pour la configuration A. Comme le montre la Figure II.12c, l'analyse FFT de I_A révèle que les interférences électromagnétiques fonctionnent à des valeurs généralement supérieures à 4 MHz. En comparaison, la Figure II.12d représente le spectre FFT du signal dans la configuration B, où les pics de courant capacitifs et conducteurs se produisent sur une plage de fréquences bien inférieure. Un filtre passe-bas Butterworth d'ordre $n = 3$ est appliqué avec une fréquence de coupure (f_c) définie à 4MHz et une fréquence d'échantillonnage (f_s) de 2 GHz, qui correspond à la fréquence d'échantillonnage de l'oscilloscope. Ce traitement est noté B_{4MHz} et se caractérise sur un diagramme de Bode logarithmique par son gain à l'ordre 3 (G_3) qui décroît linéairement vers $-\infty$, à raison de -60 dB/décade suivant l'équation {II.12}. Le traitement Butterworth de I_A conduit à un fond résiduel ε qui reste constant à environ 18 mA, comme représenté sur la Figure II.12e et exprimé dans l'équation {II.13}. Dans la configuration B, la Figure II.12f montre le résultat du même traitement appliqué à I_B : le profil d'intensité de courant est composé du fond de courant ε , du pic de courant capacitif (I_κ) et du pic de courant streamer guidé (I_ζ) (équation {II.14}). Enfin, les composantes utiles du profil d'intensité de courant mesuré par CM1 – à savoir I_κ et I_ζ – sont obtenues en appliquant l'équation {II.13}. Ces pics apparaissent clairement sur la Figure II.12g.

$$I_A = I_{REM} \quad \{II.10\}$$

$$I_B = I_{REM} + I_\kappa + I_\zeta \quad \{II.11\}$$

$$G_3(f) = \frac{1}{\sqrt{1 + \left(\frac{f}{f_c}\right)^6}} \quad \{II.12\}$$

$$\mathcal{B}_{4MHz}[I_A] = \varepsilon \quad \{II.13\}$$

$$\mathcal{B}_{4MHz}[I_B] = \varepsilon + I_\kappa + I_\zeta \quad \{II.14\}$$

$$I_\kappa + I_\zeta = \mathcal{B}_{4MHz}[I_B] - \mathcal{B}_{4MHz}[I_A] \quad \{II.15\}$$

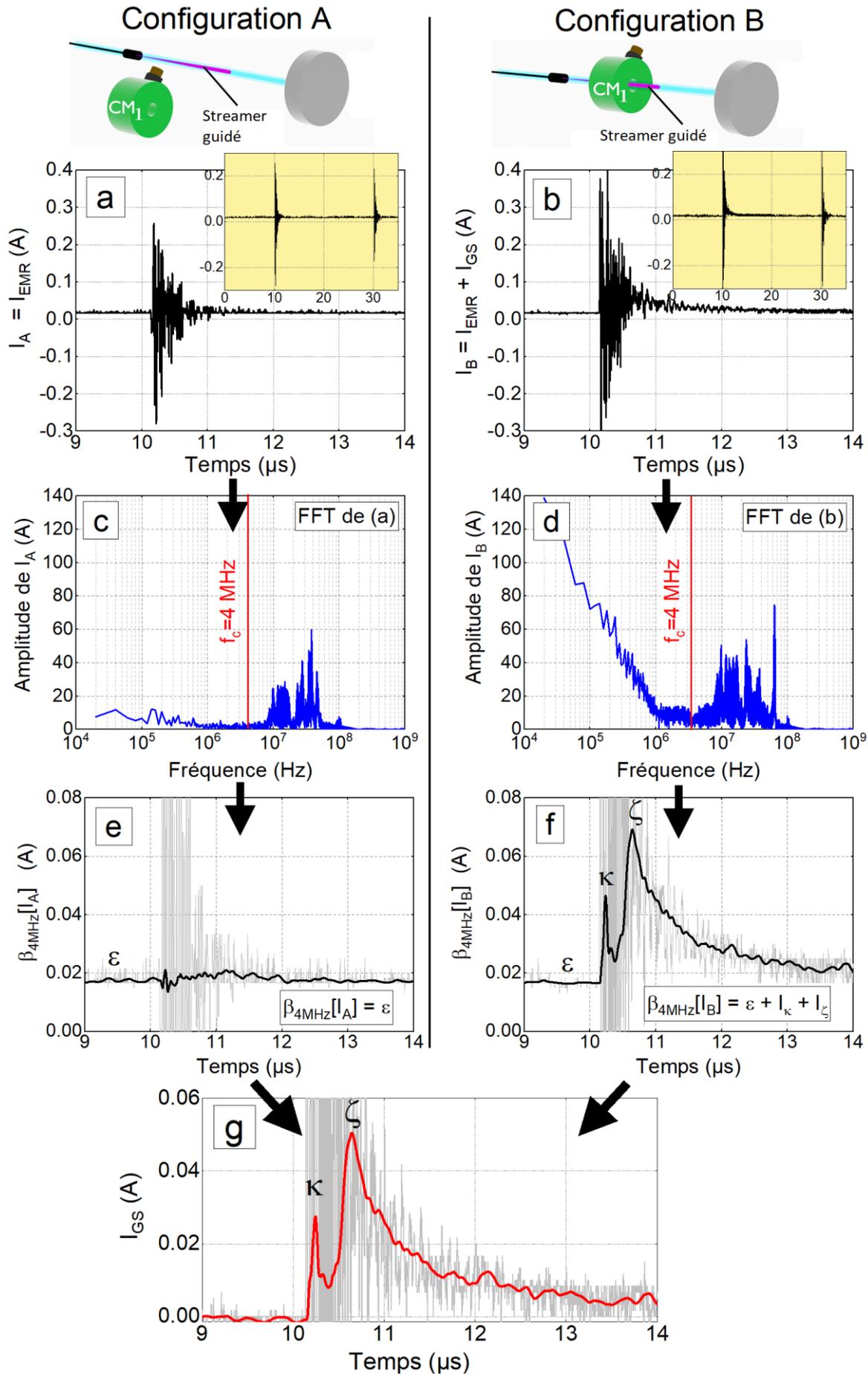


Figure II.12 : Procédure d'étalonnage pour mesurer le courant avec CM1 au front montant d'une impulsion positive (a) Courant EMR ; (b) Courant de streamer guidé et EMR ; (c) FFT de (a) ; (d) FFT de (b) ; (e) Courant de (a) après traitement de Butterworth ; (f) courant de (b) après traitement de Butterworth ; (g) Pic de courant du streamer guidé (ζ) et pic de courant capacitif de l'appareil (κ).

3. Méthodes utilisées pour caractériser l'efficacité biologique du plasma

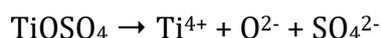
Dans cette partie, les protocoles de traitement et de culture biologiques sont présentés ainsi que la détermination des concentrations de certains RO(N)S en phase aqueuse, en l'occurrence dans les milieux de culture.

a. Détermination de la concentration de nitrites en milieu de culture cellulaire

La concentration de nitrites est mesurée à l'aide du réactif de Griess (Griess Reagent for nitrites, Sigma Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France). Le réactif de Griess est composé d'acide sulfanilique et α -naphtylamine. Le nitrite réagit avec l'acide sulfanilique pour former un sel de diazonium. Ce sel de diazonium réagit ensuite avec l' α -naphtylamine pour donner un colorant azoïque, composé de couleur rouge-rose qui possède un pic d'absorption à 518 nm. L'analyse spectrophotométrique est réalisée avec le dispositif Cytation 3 de Biotek. Le milieu de culture est exposé au plasma. 25 μ L de chaque échantillon de milieu de culture traité sont mélangés avec 175 μ L d'eau distillée et 50 μ L de réactif de Griess.

b. Détermination de la concentration de peroxyde d'hydrogène en milieu de culture cellulaire

La concentration en peroxyde d'hydrogène est mesurée à partir du sulfate de titane TiOSO_4 (Titanium(IV) oxysulfate solution, Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France). La réaction se produisant entre le TiOSO_4 et le H_2O_2 en présence d'acide sulfurique est la suivante :



Le H_2TiO_4 , aussi connu sous le nom d'acide pertitanic, colore la solution en jaune avec un pic d'absorption à 407 nm. L'analyse spectrophotométrique est réalisée avec le dispositif Cytation 3 de Biotek. Le milieu de culture est exposé au plasma. Pour la détermination du peroxyde d'hydrogène, 250 μ L de chaque échantillon de milieu de culture traité sont mélangés avec 100 μ L d'une solution de 15% de TiSO_4 diluée dans de l'acide sulfurique fournie par Sigma Aldrich.

c. Protocole de traitement plasma

i. In vitro

Les cultures cellulaires peuvent être traitées selon une méthode directe ou selon une méthode indirecte.

La méthode directe consiste à exposer au plasma froid un puits de culture contenant dans son fond un tapis cellulaire recouvert par un volume de milieu de croissance biologique. Des volumes de milieu de croissance de 3mL, 700µL et 200µL sont ainsi ajoutés aux puits de plaques de cultures à 6, 24 et 96 puits respectivement. On appelle « gap » la distance séparant l'extrémité du capillaire de la source plasma de l'interface de liquide. Les puits sont traités en veillant à toujours conserver un gap constant. Puis, les cellules reposent pendant 24h, 48h ou 72h dans un incubateur à cellules à 37°C avec 5% de CO₂ (Panasonic MCO-18 AC) avant d'être analysées.

La méthode indirecte consiste à traiter une culture cellulaire sans les exposer directement au plasma froid. Par principe, cette approche suppose donc de faire intervenir 2 puits de culture différents : le puits A qui ne contient que du milieu de croissance et le puits B qui contient le tapis cellulaire (à traiter au plasma froid) recouvert par une « épaisseur » de milieu de croissance. Dans un premier temps, on traite par plasma froid le milieu de croissance contenu dans le puits A. Dans un second temps, on vide le milieu de croissance contenu dans le puits B, de sorte à n'y laisser que le tapis cellulaire. Dans un troisième temps, on verse le milieu activé par plasma du puits A dans le puits B. Dans ce projet doctoral, on utilise des plaques de cultures à 6 puits pour y activer le milieu de croissance (puits A) à raison de 3 mL de milieu de croissance par puits. Pour chaque condition expérimentale à tester, un même traitement au plasma froid est réalisé dans 3 puits de culture différents et répétés en triplicat (soit un moyennage sur 9 puits). Les temps de traitement sont de 1, 3, 5 et 10 minutes pour une excitation impulsionnelle caractérisée par ses paramètres d'amplitude, fréquence et rapport cyclique fixés respectivement à 9 kV, 30 kHz et 14 % respectivement. Un gap (distance capillaire / interface liquide) de 7 mm est constamment maintenu. Après les traitements, le PAM est transféré dans des plaques à 96, 24 ou 6 puits, selon les différentes analyses à réaliser.

ii. in vivo

Toutes les expériences *in vivo* faites pendant la thèse ont été réalisées au centre d'exploration fonctionnelle (CEF) du CRC. Il s'agit d'une animalerie de niveau de sécurité biologique A2 où il est possible d'étudier la réponse du système immunitaire des souris traitées par plasma froid. Les souris ont été commandées chez Janvier Labs et sont de souche B6/Rj -Tyr^{c/c}. Seules des souris femelles sont commandées, celles-ci n'étant pas agressives et pouvant donc être regroupées à raison de 5 individus par cage. Les souris sont réceptionnées âgées de 6 semaines puis acclimatées 4 semaines supplémentaires au CEF. Afin de démontrer ensuite les effets antitumoraux du plasma froid, on injecte en sous-cutané les souris à raison de 10⁵ cellules KP et il faut attendre environ 2 semaines

pour que le volume tumoral porté par chaque souris devienne « palpable », soit un volume au moins égal à 50mm³. Une fois ce seuil franchi, il est possible de traiter les souris au plasma froid (Figure II.13). Typiquement, une souris bénéficie de 5 expositions au plasma espacées de 3 jours, une exposition ayant une durée de 10 minutes. Avant chaque traitement, les dimensions du volume tumoral sont mesurées à l'aide d'un pied à coulisse, i.e. sa longueur a et sa largeur b (avec a>b). Le volume est déduit à partir de la relation $V = a \times \frac{b^2}{2}$. Au terme du protocole éthique (typiquement un volume tumoral ne devant pas dépasser 2000 mm³) les souris sont sacrifiées et certains de leurs organes peuvent être prélevés à des fins d'analyse.

Toutes les expérimentations animales ont été réalisées conformément aux directives du Comité français d'éthique de la recherche animale et avec l'approbation des comités de régulation des animaleries de Saint-Antoine (PHEA, équipe 2) et des Cordeliers (CEF, équipe 3). Le bien-être des animaux a été respecté et la recherche a été basée sur les principes de remplacement, de raffinement et de réduction (principe des 3R). Le nombre d'animaux sera réduit au minimum requis (n=10 par groupe), afin d'obtenir des données statistiquement fiables.

Chapitre II – Dispositifs expérimentaux, matériels et méthodes

Méthodes utilisées pour caractériser l'efficacité biologique du plasma

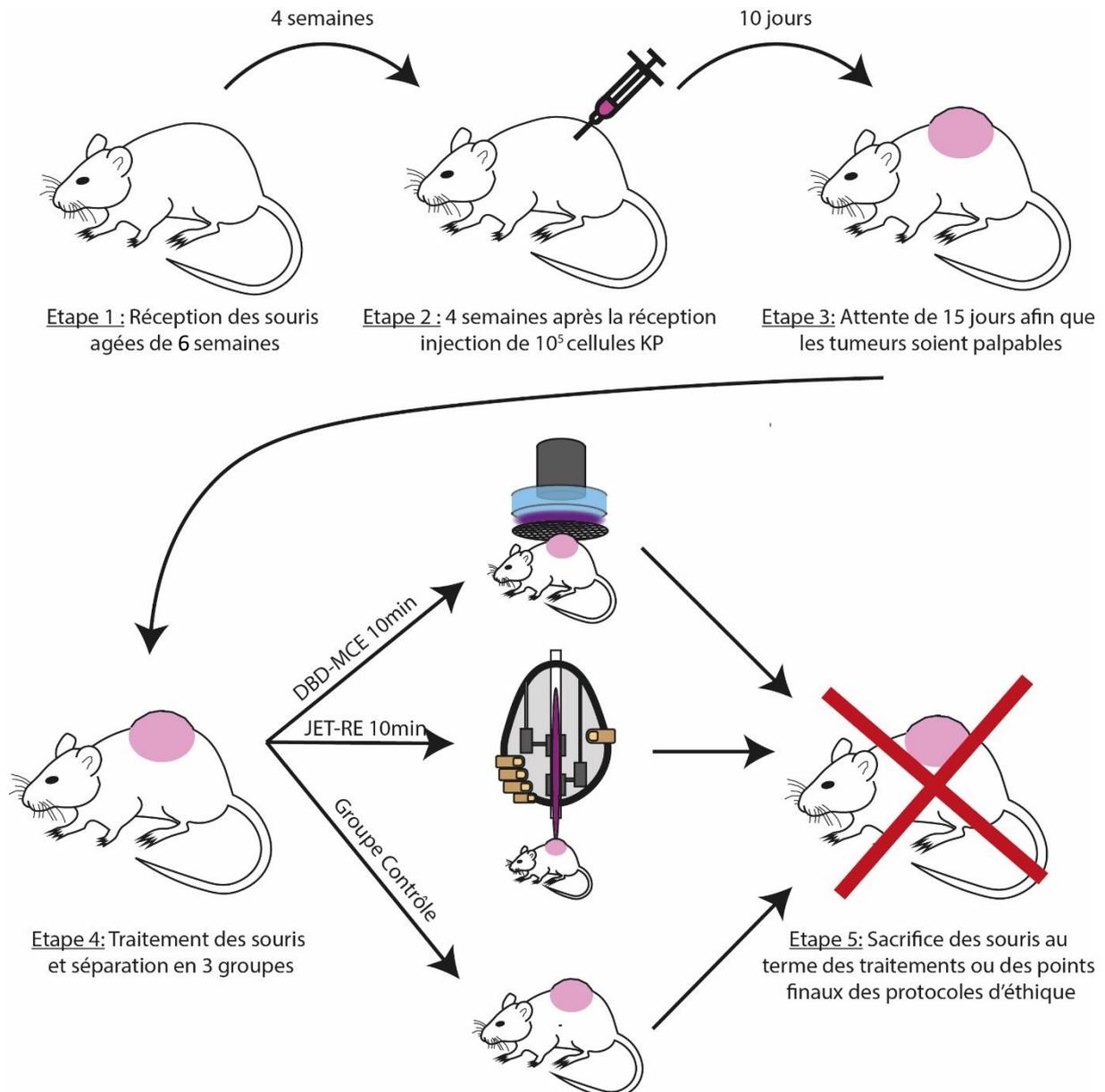


Figure II.13: Schéma synoptique retraçant les étapes de vie d'une souris de laboratoire dédiée à des expérimentations visant à démontrer l'efficacité antitumorale du plasma froid (cas de tumeurs ectopiques du cancer du poumon non à petites cellules)

d. Traitement de tumeurs solides par endoscopique au plasma froid

Pour pouvoir traiter par plasma froid des tumeurs solides de l'arbre biliaire ou des voies bronchiques, il est nécessaire de développer un cathéter à plasma froid, i.e. un cathéter capable de délivrer une plume plasma sur le site tumoral confiné. Dans le cadre de ce projet doctoral, la preuve de concept a été réalisée sur le cholangiocarcinome (tumeur des voies biliaires) et plus précisément sur deux modèles anatomiques reproduisant la topographie de voies biliaires humaines. Pour pouvoir placer le cathéter à plasma froid sur le site tumoral, il faut préalablement l'introduire dans un duodéroscope

conventionnel, i.e. un type d'endoscope utilisé par les professionnels de la santé afin de réaliser par exemple des biopsies du système digestif. Marine Camus, APHP à l'hôpital Saint-Antoine, a gracieusement mis à disposition ce dispositif pour les expériences plasma.

i. Duodénolescope conventionnel

Dans ces travaux de recherche, un duodénolescope vidéo numérique de Pentax Medical Company (modèle ED-3480TK) est utilisé, comme illustré sur la Figure . Ce dispositif combiné à la technologie Pentax DSP et aux puces CCD couleur haute résolution permet d'obtenir des images endoscopiques à haute définition. Son tube d'insertion (11,6 mm de diamètre extérieur et 125 cm de longueur utile) possède un canal opératoire de diamètre interne 4,2 mm comme le montre la vue en coupe de la Figure II.14. Il est complété par un système optique dont le champ de vision peut atteindre 100° tandis que son angulation est de 120° vers le haut, 90° vers le bas, 100° vers la droite et 90° vers la gauche.

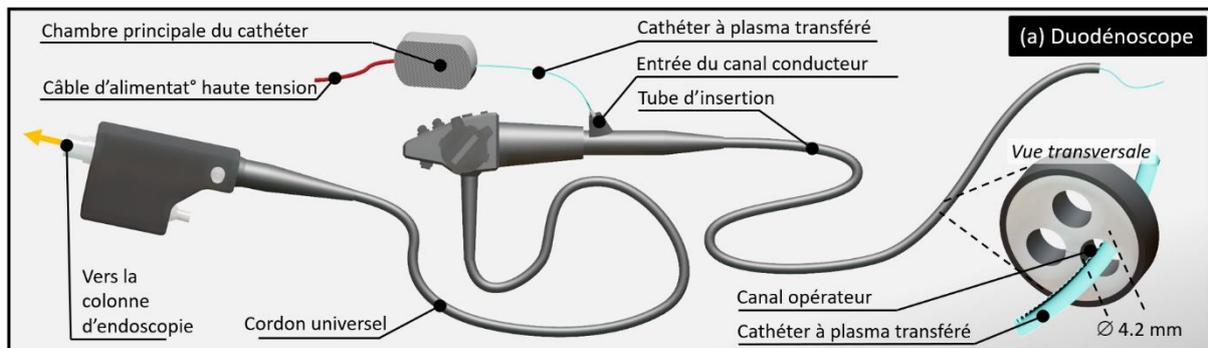


Figure II.14: Schéma d'un duodénolescope conventionnel avec un cathéter à plasma froid inséré dans le canal opératoire

ii. Modèles de voies biliaires

Afin de valider la pertinence de l'endoscopie au plasma froid pour les maladies des voies biliaires, des expériences ont été successivement menées sur deux modèles d'arbres biliaires : un modèle artificiel d'arbre biliaire humain (AHBT – Artificial Human Biliary Tree) et un modèle post-mortem d'arbre biliaire porcine (PPBT – Post mortem Porcine Biliary Tree). Les procédures d'endoscopie par plasma froid ont été réalisées par Marine Camus, endoscopiste professionnelle à l'Hôpital Saint-Antoine, où j'ai pu l'assister afin de prendre en charge les paramètres « plasma ».

1. Le modèle AHBT

Le modèle d'arbre biliaire humain artificiel (AHBT) est composé de deux éléments distincts :

- 1- Un simulateur développé par la société Chamberlaingroup (modèle 2101) qui reproduit la topographie tridimensionnelle d'un arbre biliaire humain. Il est utilisé à des fins éducatives pour entraîner les étudiants à réaliser des interventions

endoscopiques dans différentes situations, comme une cholangiopancréatographie rétrograde endoscopique (CPRE) sur des patients fictifs placés en position latérale ou couchée. L'accès se fait par un long tube qui simule le passage d'un endoscope à travers l'œsophage, l'estomac et le duodénum. Le simulateur comprend également un port d'injection de fluide pour rendre l'entraînement aussi proche possible d'une situation réelle. Comme le montre la Figure II.15a, l'arbre biliaire est composé du canal cholédoque, du canal cystique, des canaux hépatiques et du canal pancréatique. Il peut être isolé de l'air ambiant par un couvercle de protection transparent. De plus, il peut être complété par des inserts de sténose et/ou des inserts de volume tumoral (Figure II.15b) afin de représenter la diversité des cas pathologiques rencontrés à l'hôpital.

- 2- Un insert tumoral en silicone, recouvert d'une fine couche d'aluminium électriquement connectée à un circuit mimant la réponse électrique du corps humain (cible EEHB), comme illustré en encadré de la Figure II.15a.

La Figure II.15c est une photographie du modèle AHBT dans lequel le cathéter à plasma froid est transféré le long du cholédoc ; il délivre sa plume plasma à l'extrémité distale du cholédoque.

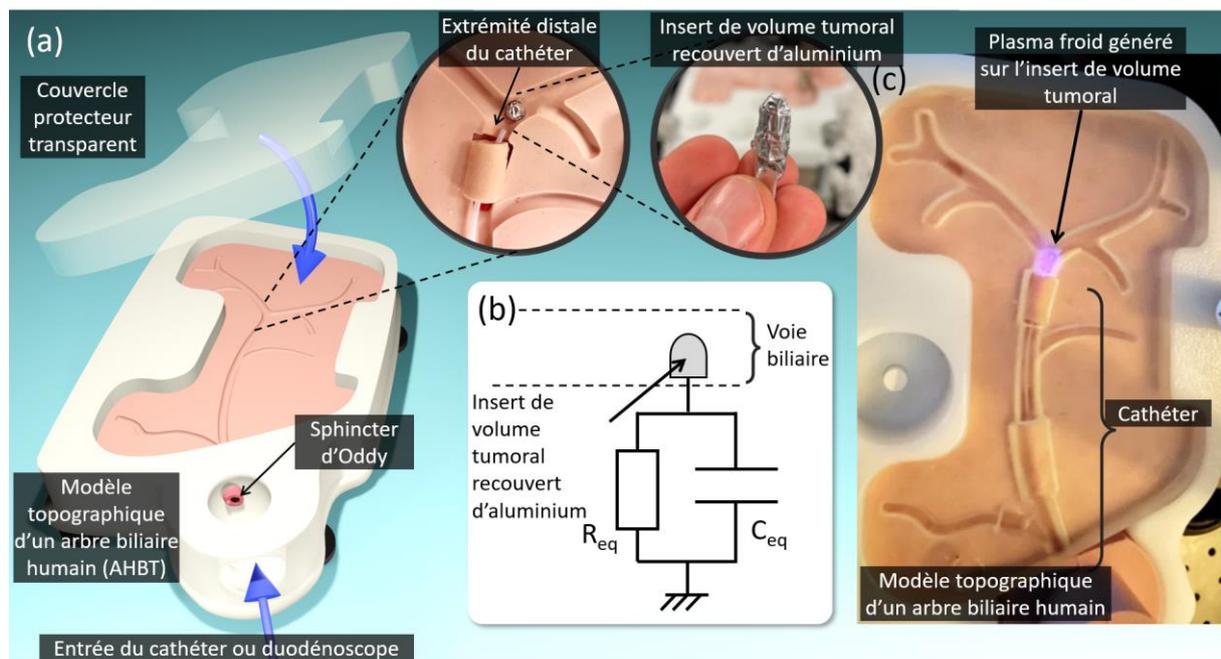


Figure II.15: (a) Schéma de l'entraîneur ERCP avec photo agrandie de l'extrémité distale du cathéter et photo agrandie de l'insert du volume de la tumeur, (b) Modèle électrique équivalent de la tumeur, (c) Cathéter à plasma transféré en fonctionnement à l'intérieur de l'entraîneur ERCP. Le plasma froid est observé à travers le couvercle de protection transparent à l'extrémité du canal biliaire commun.

2. Le modèle PPBT

L'arbre biliaire porcin post-mortem (PPBT) est un modèle anatomique qui a été acheté auprès de la société LEBEAU, spécialisée dans le transport et le commerce de pièces anatomiques animales pour la Recherche et l'Enseignement. Comme le montre la Figure

II.16, le modèle inclue l'œsophage, l'estomac, le duodénum, l'arbre biliaire, le foie et la vésicule biliaire. Le PPBT est placé dans une structure qui reproduit la cavité péritonéale humaine, appelée EASIE (simulateur actif d'Erlangen pour l'endoscopie interventionnelle) exploitée sous sa version EASIE-R™ et commercialisée par la société ENDOSIM. EASIE-R™ est un excellent outil pédagogique pour l'endoscopie interventionnelle avec un haut niveau d'acceptation, que ce soit pour la procédure d'échographie endoscopique (EUS), la chirurgie endoscopique transluminale par orifice naturel (NOTES) ou l'endoscopie par plasma froid (CPE) comme démontré dans le cadre de ce projet doctoral. Les expériences ont été réalisées sur 3 spécimens différentes du même modèle PPBT, à l'école de chirurgie de l'AP-HP, Fer à Moulin, Paris.

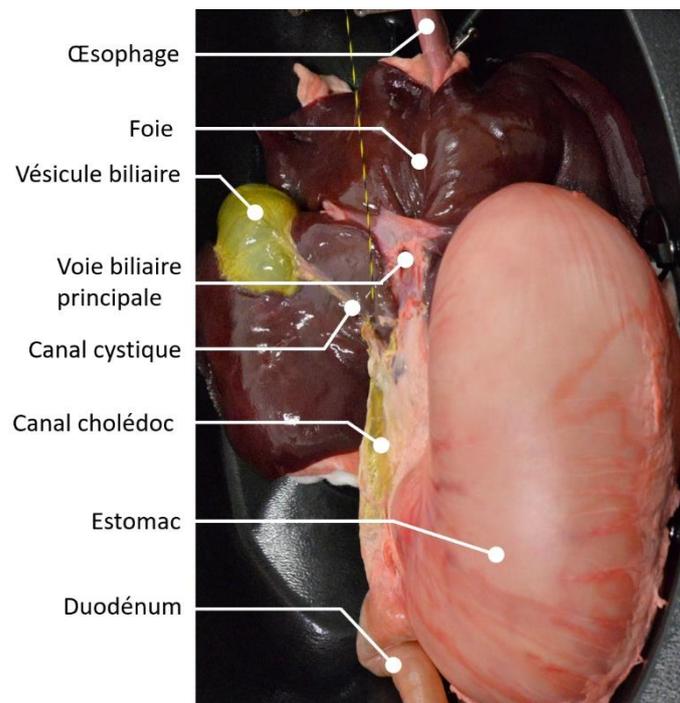


Figure II.16: Description anatomique du modèle post-mortem d'arbre biliaire de porc (PPBT) avec les organes adjacents (œsophage, estomac, foie, duodénum) placés dans EASIE-RTM

Bibliographie

Bastin, O., Thulliez, M., Servais, J., Nonclercq, A., Delchambre, A., Hadeffi, A., ... & Reniers, F. «Optical and electrical characteristics of an endoscopic DBD plasma jet.» *Plasma Medicine*, 2020: 10(2).

Bona, C., Fiori, C. «EMI-induced failures in MOS power transistors.» *International Conference on Electromagnetics in Advanced Applications*, 2009: INSPEC Accession Number: 10966909.

Crosswhite, H.M., Dieke, G.H. «The ultraviolet band of OH.» *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 1962: 2(2), 97-199.

IEC. «International Standard IEC 60601-1, vol. Third edit.» 2005.

- Judee, F., Dufour, F. «Plasma gun for medical applications: engineering an equivalent electrical target of the human body and deciphering relevant electrical parameters.» *Journal of physics D: Applied physics*, 2019: 52(16) 16LT02.
- Konjević, N., Ivković, M., & Sakan, N. «Hydrogen Balmer lines for low electron number density plasma diagnostics.» *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2012: 76, 16-26.
- Sretenovic, G. B., Krstic, I. B., Kovacevic, V. V., Obradovic, B. M., & Kuraica, M. M. «Spectroscopic study of low-frequency helium DBD plasma jet.» *IEEE Transactions on Plasma Science*, 2012: 40(11), 2870-2878.
- Stancampiano, A., Chung, T. H., Dozias, S., Pouvesle, J. M., Mir, L. M., & Robert, E. “Mimicking of human body electrical characteristic for easier translation of plasma biomedical studies to clinical applications”. *IEEE Transactions on Radiation and Plasma Medical Sciences*, 2019: 4(3), 335-342.
- T. Dufour, H. Decauchy, M. Camus, L. Fouassier. France Brevet PCT/FR2021/000041. 2021.

Chapitre III - Mécanismes de réflexions multiples et de transmission de streamers guidés

Table des matières

1. Dispositif expérimental	78
2. Résultats.....	79
a. Streamers guidés interagissant avec l'ELPM.....	79
i. Transmission et réflexion résultant des streamers guidés positifs	79
ii. Transmission et réflexion résultant de streamers guidés négatifs incidents.....	81
b. Streamers guidés interagissant avec deux cibles distantes métalliques : électrode annulaire à la masse (ELAM) et électrode plane à la masse (ELPM).....	82
i. Caractérisation électrique	82
ii. Paramètres pertinents obtenus à partir de la caractérisation électrique.....	85
iii. Caractérisation rapide de l'ICCD.....	87
iv. Paramètres pertinents obtenus à partir de la caractérisation ICCD	92
3. Discussion.....	96
a. Complémentarité de l'analyse électrique et optique.....	96
b. Mécanismes de propagation et modèle électrique équivalent	99
4. Conclusion	102
Bibliographie.....	103

Ce chapitre s'intéresse aux streamers guidés entrant en interaction avec deux types de cibles métalliques mises à la masse : une électrode annulaire au travers de laquelle passe le streamer et une électrode plane que le streamer impacte. A l'issue de ces interactions, des phénomènes de réflexion (contre-propagation) et de transmission apparaissent. Dans ce chapitre, ces phénomènes sont mis en évidence expérimentalement en combinant de l'imagerie ICCD rapide et des sondes électriques (courant et tension). Ces caractérisations permettent d'établir un modèle électrique équivalent afin de mieux comprendre les lois physiques qui régissent la dynamique des streamers guidés. Ce chapitre a fait l'objet d'un article publié dans le journal PSST en 2022 (Decauchy, 2022).

1. Dispositif expérimental

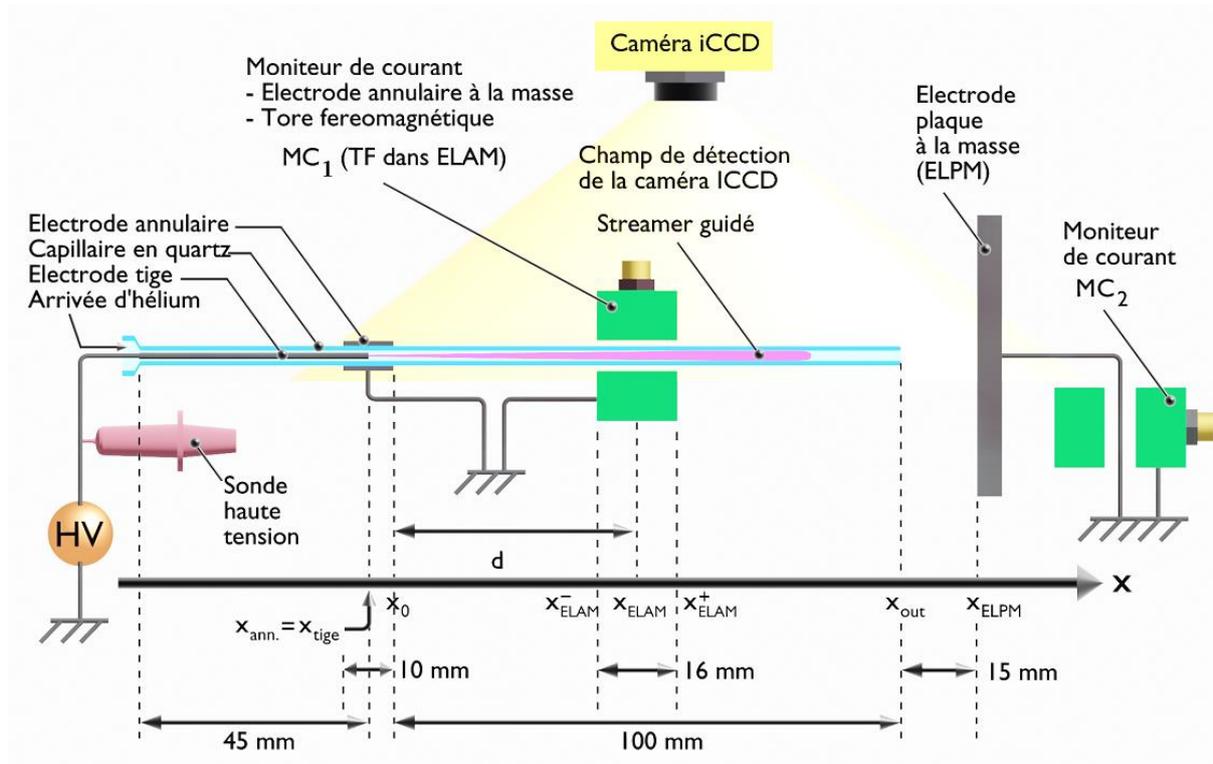


Figure III.1: Montage expérimental du jet de plasma froid interagissant avec deux cibles métalliques distantes : une électrode annulaire à la masse (ELAM) et une électrode plane mise à la terre (ELPM). L'ELAM est coaxialement centrée avec le capillaire et correspond au boîtier externe d'un moniteur de courant (MC₁). Les streamers incidents, réfléchis et transmis sont analysés à l'aide des moniteurs de courant MC₁ et MC₂, ainsi que par l'imagerie ICCD rapide.

Les streamers ont été générés à l'aide du dispositif décrit dans la section Chap 2.1.b.i et reproduit sur la Figure III.1. Le capillaire en quartz a une longueur de 150 mm et des diamètres interne et externe respectivement de 2,0 et 4,0 mm. L'électrode "haute tension" (HT) est une tige placée à l'intérieur du capillaire (50,0 mm de longueur et 2,0 mm de diamètre) tandis que la contre-électrode est un anneau externe au capillaire (10 mm de largeur) qui est mis à la terre. Le long de l'axe x, l'électrode annulaire est repérée par sa coordonnée centrale ($x_{ann.}$) qui est alignée avec l'extrémité de l'électrode tige intérieure (x_{tige}). En d'autres termes, $x_{ann.} = x_{tige}$, comme le montre la Figure III.1. Le plasma gun est alimenté en hélium à 1000 sccm et polarisé par des impulsions de haute tension. Dans toutes les expériences présentées dans ce chapitre, ces impulsions sont positives, d'amplitude 8500 V, de rapport cyclique 10 % et de fréquence de répétition 5 kHz.

Cette source de plasma est complétée par deux cibles métalliques distantes : une électrode annulaire à la masse (ELAM) qui correspond au boîtier métallique du moniteur de courant MC₁ et une électrode plane à la masse (ELPM), placée à 15 mm en sortie du capillaire.

2. Résultats

a. Streamers guidés interagissant avec l'ELPM

i. Transmission et réflexion résultant des streamers guidés positifs

Nous proposons d'étudier les mécanismes de propagation des streamers guidés le long du capillaire puis de l'espace (tranche d'air de 15 mm d'épaisseur) qui le sépare à l'ELPM (Figure III.1). Aucun moniteur de courant (MC_1 et/ou MC_2) n'est présent dans le dispositif expérimental ; seule de l'imagerie ICCD rapide est réalisée, comme l'illustrent les photos compilées sur la Figure III.2. Ces photos sont prises à intervalles de temps compris entre 0 ns (apparition du pic de courant capacitif) et 3000 ns, cette valeur correspondant à $(3 \mu s)/(20 \mu s)=15 \%$ de la largeur impulsionnelle. Comme le streamer guidé est généré sur le front montant de l'impulsion et se propage le long des coordonnées x croissantes, il est appelé "streamer guidé incident" et porte une charge positive, d'où la notation : SG_i^+ . L'analyse de la propagation des streamers peut être réalisée en suivant les cinq étapes :

- De 0 à 424 ns, SG_i^+ se propage de l'électrode HT à la sortie du capillaire, c'est-à-dire de $X_{ann.}$ à X_{out} , comme le montre la Figure III.1. Sa tête est clairement visible tandis que sa queue reste toujours en contact de l'électrode HT mais son émission optique diminue d'autant plus à son voisinage. SG_i^+ ralentit à mesure qu'il se rapproche de la sortie du capillaire.
- De 425 ns à 444 ns, le streamer est transmis (SG_t) hors du capillaire pour atteindre l'ELPM après avoir traversé la tranche d'air d'épaisseur 15mm. Le temps de contact entre la tête du streamer et l'ELPM atteint une valeur proche de 6 ns. Ensuite, son émission optique disparaît au profit d'un streamer guidé réfléchi (SG_r).
- De 445 ns à 1099 ns, on observe une réflexion (ou contre-propagation) du streamer guidé (SG_r). Puis, SG_r se contre-propage et s'étend à l'intérieur du capillaire tandis que son émission optique augmente. Ce phénomène est en accord avec les simulations et les travaux expérimentaux de Babaeva et al. et de Darny et al. (Babaeva, 2019) (Darny, 2017). Simultanément, la partie du SG_r qui reste à l'extérieur du capillaire ne s'étend plus et son émission optique diminue. Là encore, l'émission optique de SG_r à l'intérieur du capillaire augmente au détriment de celle de SG_r à l'extérieur du capillaire.
- De 1100 ns à 3000 ns, une deuxième réflexion est observée à partir de l'ELPM : un streamer guidé (SG_R) est émis de l'ELPM vers le capillaire. Cependant, SG_R ne peut pas pénétrer à l'intérieur du capillaire et présente une émission optique beaucoup plus faible que celle de SG_i^+ .

Le signe positif ou négatif de SG_t , SG_r et SG_R ne peut pas être déterminé par imagerie ICCD rapide ; cette question est abordée dans la section Chap 3.II.b.

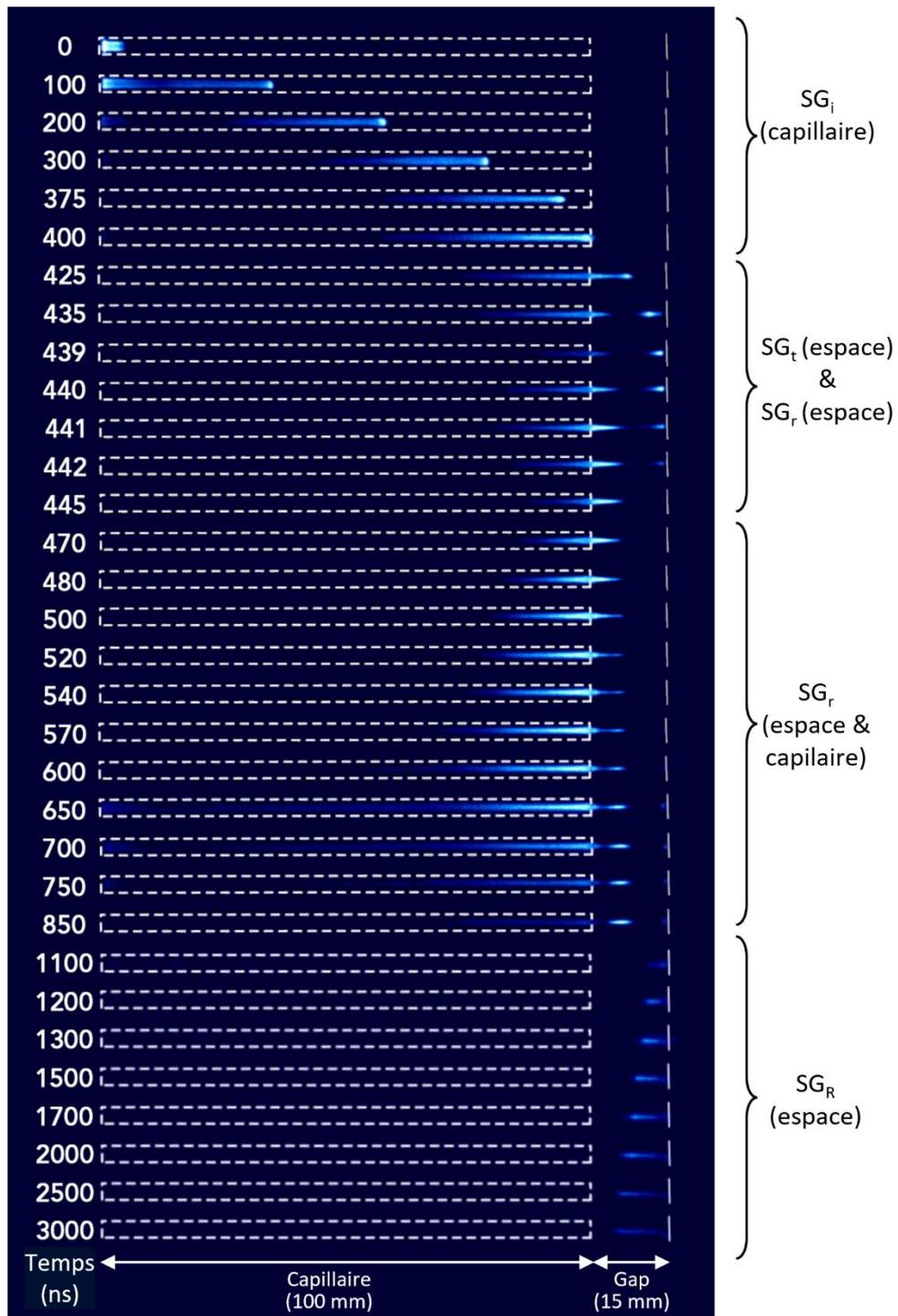


Figure III.2: Séquence de photos montrant un streamer guidé incident (SG_i) se propageant dans le capillaire, puis transmis (SG_t) dans l'air ambiant le long d'un espace de 15 mm avant d'atteindre l'électrode plane mise à la terre (ELPM). Deux streamers guidés sont réfléchis: SG_r de l'espace vers le capillaire et SGR uniquement le long de l'espace.

ii. Transmission et réflexion résultant de streamers guidés négatifs incidents

L'imagerie ICCD rapide est également réalisée sur les fronts descendants des impulsions de tension afin de mettre en évidence le profil de propagation des streamers guidés incidents négatifs (SG_i^-). Comme on peut le voir sur la Figure III.3, la propagation de ces streamers est plus diffuse que celle des streamers positifs. Bien que ces deux types de streamers aient des vitesses de propagation du même ordre de grandeur ($\approx 1 - 2 \cdot 10^5$ m/s), il est important de souligner des différences essentielles. Comme le montrent les photographies à $t = 100, 200$ et 300 ns, SG_i^- présente une distribution hétérogène, incluant une région fortement émissive à proximité immédiate de l'électrode HT ; SG_i^- reste confiné à l'intérieur du capillaire et n'atteint jamais l'ELPM. Par conséquent, les SG_i^- ne peuvent jamais conduire à des streamers guidés réfléchis, du moins dans nos conditions expérimentales. Leur intérêt est donc mineur dans ce chapitre qui se concentre sur la transmission et les réflexions des streamers guidés.

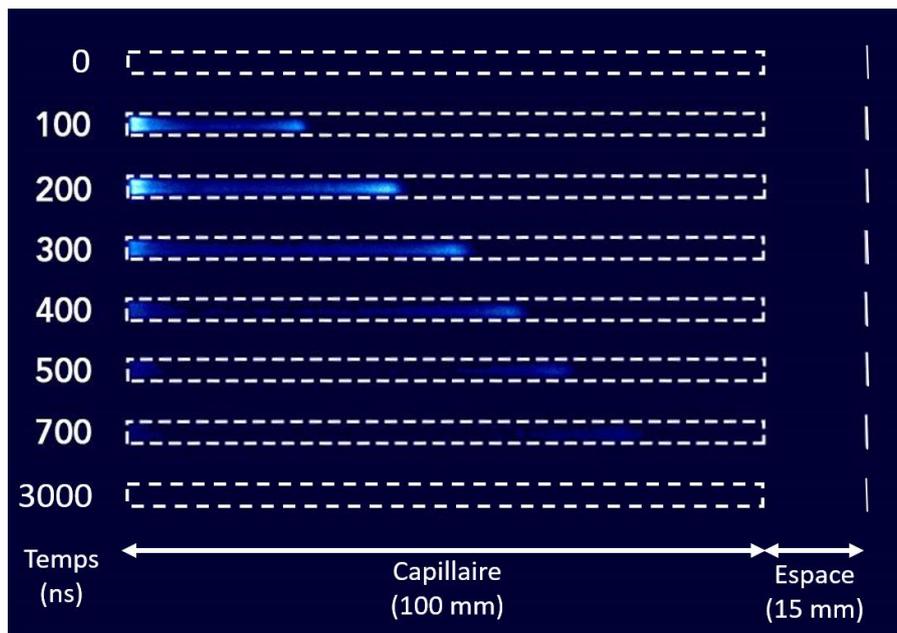


Figure III.3: Séquence de photos d'un streamer guidé incident portant une charge négative (SG_i^-) et se propageant le long du capillaire sans pouvoir en sortir. Aucune propagation vers l'arrière n'est observée. Le SG_i^- présente une région fortement émissive à proximité immédiate de l'électrode HT.

**b. Streamers guidés interagissant avec deux cibles distantes métalliques :
électrode annulaire à la masse (ELAM) et électrode plane à la masse
(ELPM)**

i. Caractérisation électrique

Les mécanismes de propagation des streamers guidés sont étudiés en interaction avec deux cibles distantes métalliques : une électrode annulaire à la masse (ELAM) et au travers de laquelle passe le streamer guidé et l'électrode plane à la masse (ELPM) sur laquelle le streamer guidé peut impacter, comme le montre la Figure III.1. Dans ce montage expérimental, les deux moniteurs de courant sont présents, de sorte que le profil de courant des streamers guidés peut être détecté à deux endroits distincts. Ce profil peut prendre l'aspect de 2 ou 3 pics de courant parmi :

- κ_i^+ : un pic de courant capacitif (κ) qui est incident (i) avec une charge positive (+).
- ζ_i^+ : un pic de courant conducteur (ζ) associé à la propagation d'un streamer guidé incident (i) dont la charge électrique est positive (+)
- ζ_t^+ : un pic de courant conducteur (ζ) associé à la propagation d'un streamer guidé transmis (t) dont la charge électrique est positive (+)
- ζ_r^- : un pic de courant conducteur (ζ) associé à la propagation d'un streamer guidé réfléchi (r) dont la charge électrique est négative (-). Le signe négatif de cette polarisation est justifié plus loin dans la Figure III.5.

A partir de ces pics, cinq durées caractéristiques peuvent être définies, comme le montre la Figure III.4a :

- $\tilde{\tau}_{\kappa\kappa}$ est la durée entre l'instant où le pic de courant capacitif est mesuré par MC₁ et l'instant où le pic de courant capacitif est mesuré par MC₂, c'est-à-dire respectivement les pics noir et rouge de la Figure III.4b.
- $\tilde{\tau}_{\kappa\zeta}$ est la durée entre le pic de courant conducteur d'un streamer guidé (soit ζ_i^+ ou ζ_t^+) et le pic de courant capacitif correspondant (soit κ_i^+ ou κ_t^+).
- $\tilde{\tau}_f$ est le temps requis par SG_t pour se propager dans le sens « aller » (f, *forward*) de MC₁ à l'ELPM, qui est à peu près le même que celui de MC₁ à MC₂. En conséquence, $\tilde{\tau}_f$ est la durée entre $t(x_{\zeta_i^+} = x_{ELAM})$ et $t(x_{\zeta_t^+} = x_{ELPM})$ qui correspond respectivement à l'instant où le pic de courant de conduction de SG_i passe au travers de MC₁ (et donc de l'ELAM) et l'instant où le pic de courant de conduction de SG_t atteint l'ELPM (Voir l'équation {III.1.a}).
- $\tilde{\tau}_b$ est la durée nécessaire à SG_r pour se propager dans le sens « retour » (b, *backward*) ou se contre-propager de l'ELPM à l'ELAM. Cela revient à considérer une contre-propagation allant de MC₂ à l'ELAM. En conséquence, $\tilde{\tau}_b$ est la durée entre $t(x_{\zeta_r^-} = x_{ELAM})$ et $t(x_{\zeta_t^+} = x_{ELPM})$ qui correspondent respectivement au pic de courant de conduction de SG_r lorsqu'il traverse MC₁ et à l'instant où le pic de courant de conduction de SG_t est mesuré à l'ELPM (voir équation {III.2.a}).

- $\tilde{\tau}_{f+b}$ correspond au temps nécessaire à un streamer guidé pour se propager (f) de l'ELAM à l'ELPM puis revenir à l'ELAM (b), c'est-à-dire le temps nécessaire pour réaliser l'aller-retour ELAM-ELPM-ELAM. En conséquence, $\tilde{\tau}_{f+b}$ est la durée entre $t(x_{\zeta_i^+} = x_{ELAM})$ et $t(x_{\zeta_r^-} = x_{ELAM})$ qui correspondent respectivement à l'instant où SG_i – et donc le pic de courant de conduction qui lui est associé (ζ_i^+ sur la Figure III.9b) – passe par l'ELAM et à l'instant où SG_r se contre-propage de telle sorte que son pic de conduction (pic ζ_r^- sur la Figure III.4b) atteigne l'ELAM (voir équation {III.3.a}).
- Les équations {III.1.b}, {III.2.b} et {III.3.b} sont une généralisation des équations {III.1.a}, {III.2.a} et {III.3.a} et pour lesquelles les temps de propagation caractéristiques ne sont pas liés à x_{ELAM} . Ces équations seront particulièrement utiles pour analyser les résultats issus de l'imagerie ICCD rapide de la Figure III.8.

Temps de propagation caractéristiques entre les deux électrodes distantes		Temps de propagations caractéristiques entre 2 positions x_k	
$\tilde{\tau}_f = t(x_{\zeta_t^+} = x_{ELPM}) - t(x_{\zeta_i^+} = x_{ELAM})$	{III.1.a}	$\tau_f(x) = t(x_{\zeta_t^+} = x_{ELPM}) - t(x_{\zeta_i^+} = x_k)$	{III.1.b}
$\tilde{\tau}_b = t_{ELAM}^{\zeta_r^-} - t_{ELPM}^{\zeta_t^+}$	{III.2.a}	$\tau_b(x) = t(x_{\zeta_r^-} = x_k) - t(x_{\zeta_t^+} = x_{ELPM})$	{III.2.b}
$\tilde{\tau}_{f+b} = t_{ELAM}^{\zeta_r^-} - t_{ELAM}^{\zeta_i^+}$	{III.3.a}	$\tau_{f+b}(x) = t(x_{\zeta_r^-} = x_k) - t(x_{\zeta_i^+} = x_k)$	{III.3.b}

Tableau III.1: Temps de propagation caractéristiques soit pour relier les deux cibles métalliques distantes (ELAM et ELPM), soit pour pointer à n'importe quelle position x . $\tilde{\tau}_f$: temps de propagation avant, $\tilde{\tau}_b$: temps de propagation arrière, $\tilde{\tau}_{f+b}$: temps de propagation aller-retour.

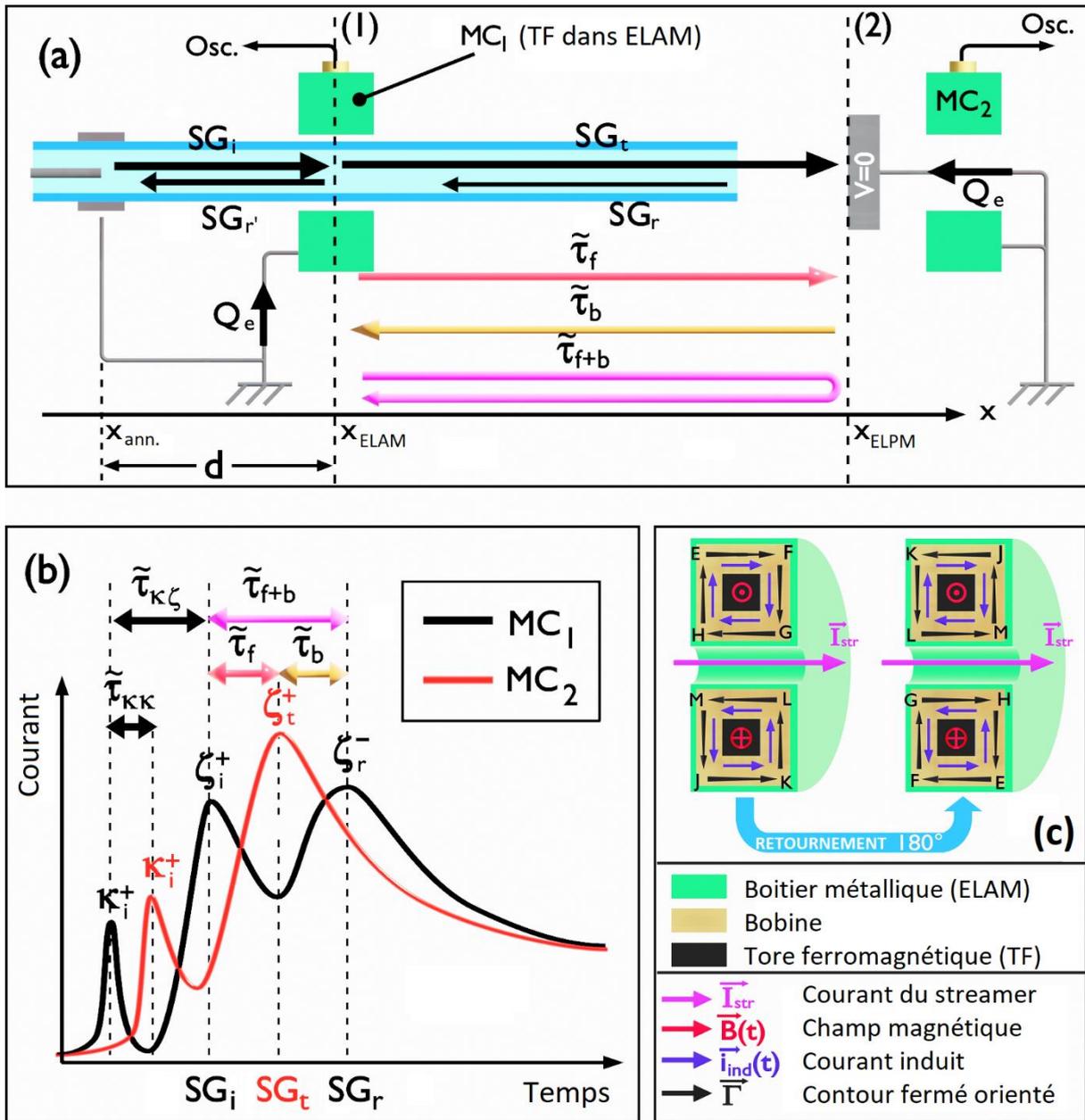


Figure III.4: (a) Temps caractéristiques de propagation associés aux pics de courant conducteur des streamers guidés incidents, réfléchis et transmis, (b) Représentation des pics capacitifs (κ) et conducteurs (ζ) associés aux streamers guidés et mesurés lors de la caractérisation électrique pour évaluer les temps caractéristiques précités, (c) Schémas d'un moniteur de courant (MC) comprenant un tore ferromagnétique (TF) et un boîtier annulaire mis à la terre (ELAM) expliquant le signe - positif ou négatif - du courant d'induction.

Maintenant que les pics et durées caractéristiques sont définis, la variation de leurs valeurs peut être étudiée pour différentes positions de l'ELAM par rapport à l'électrode HT (distance d). Sur la base de différentes valeurs de d , à savoir 1 cm (Figure III.5a), 3 cm (Figure III.5b), 5 cm (Figure III.5c), 7 cm (Figure III.5d) et 9 cm (Figure III.5e), plusieurs observations sont à noter :

- Le pic capacitif (κ) est détecté par MC_1 à x_{ELAM} et par MC_2 à $x=x_{ELPM}$. Ces pics, dont les amplitudes sont directement proportionnelles à la dérivée de la tension appliquée, peuvent être considérés comme des références temporelles puisque

leurs positions ne dépendent pas de la valeur de d , contrairement aux pics de courant conducteur.

- Deux pics de courant conducteur sont mesurés par MC_1 alors qu'un seul est détecté par MC_2 .
- Pour des valeurs croissantes de d , on observe une augmentation de $\tau_{\kappa\zeta}$ et par conséquent de $\tilde{\tau}_f$, $\tilde{\tau}_b$ et $\tilde{\tau}_{f+b}$ également.
- Sur la Figure III.5, tous les pics de courant conducteur associés aux streamers guidés réfléchis sont positifs, ce qui – à première vue – pourrait suggérer que les streamers réfléchis (SG_r) portent une charge positive (ζ_r^+). Cependant, comme le rappelle la Figure III.4c, selon que MC_1 est orienté dans le sens conventionnel ou opposé au flux d'électrons, il renvoie une valeur positive ou négative du même courant mesuré (I_{str}). Sur la Figure III.4c, que ce soit avant ou après le basculement de 180° de MC_1 , les streamers sont toujours orientés de gauche à droite, ce qui signifie que l'orientation du champ magnétique reste inchangée, ainsi que le courant induit circulant dans la bobine. Cependant, le basculement de 180° a changé l'orientation du contour fermé et donc l'orientation du courant en entrée et en sortie de la bobine. Pour cette raison, tout streamer guidé qui se contre-propage (SG_r) à travers MC_1 porte une charge négative (ζ_r^-) si son pic de courant de conduction apparaît positif.

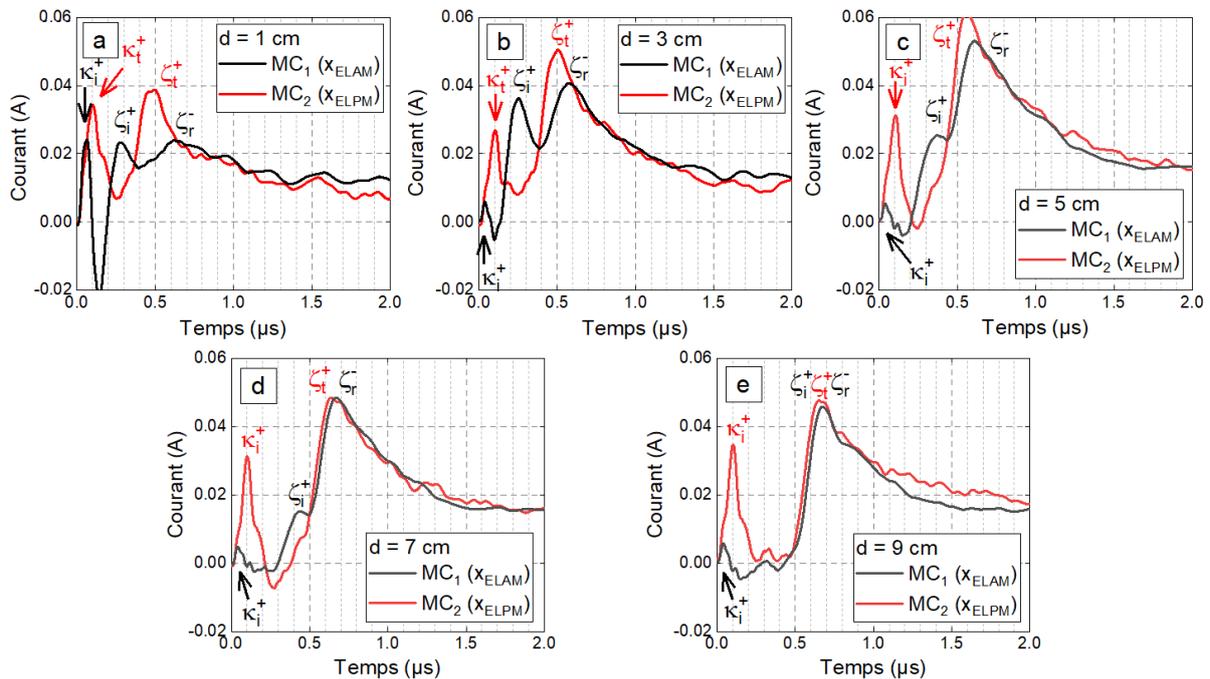


Figure III.5: Profils temporels des pics de courant associés aux streamers guidés et mesurés par MC_1 et MC_2 à x_{ELAM} et x_{ELPM} respectivement, pour $d = 1, 3, 5, 7$ et 9 cm (κ : pic de courant capacitif, ζ : pic de courant conducteur).

ii. Paramètres pertinents obtenus à partir de la caractérisation électrique

Comme tracé sur la Figure III.6a, lorsque d augmente de 1 à 9 cm, $\tilde{\tau}_{\kappa\kappa}$ reste à peu près constant avec une valeur moyenne de $59,2\text{ns} \pm 2,3\text{ns}$. Cela signifie que la modification de d n'a pas d'influence significatif sur la cinétique d'un même pic capacitif mesuré à XELAM et XELPM. La raison est que les pics capacitifs sont spécifiques au dispositif jet de plasma et décorrélés de la propagation des streamers ; $\tilde{\tau}_{\kappa\kappa}$ peut donc être considéré comme une référence temporelle pour caractériser la cinétique des pics de courant conducteur.

La variation de $\tilde{\tau}_{\kappa\zeta}$ en fonction de d est représentée sur la Figure III.6b en considérant les mesures effectuées par MC1 (intervalle de temps entre κ_i^+ et ζ_i^+) et MC2 (intervalle de temps entre κ_t^+ et ζ_t^+). Un ajustement linéaire des courbes de la Figure III.6b indique des pentes présentant des valeurs d'environ 30 ps/cm. Aucun point expérimental apparaît pour MC1 à $d = 9$ cm parce que le pic de courant conducteur (ζ_i^+) du streamer guidé incident (SG_i) est recouvert par le pic de courant conducteur (ζ_r^-) du streamer guidé réfléchi (SG_r), comme le montre la Figure III.5e. La Figure III.6b montre qu'en éloignant l'ELAM (MC1) de l'électrode HT, le pic de courant conducteur (ζ_i^+) associé à SG_i est retardé puisque le pic de courant capacitif (κ_i^+) apparaît toujours au même instant. La raison est que plus l'ELAM est éloignée de l'électrode HT, plus le streamer incident arrive lentement avant d'atteindre l'ELAM. L'utilisation de MC2 conduit au même retard observé entre ζ_t^+ et κ_t^+ . Par conséquent, l'écart temporel entre ces deux moniteurs de courant est toujours proche de 170 ns (cf. flèche verticale) quelle que soit la valeur de d .

Les temps de propagation caractéristiques des streamers guidés peuvent être déduits de la Figure III.6c. Une augmentation de d conduit à des valeurs plus courtes de $\tilde{\tau}_f$ et $\tilde{\tau}_b$, ainsi que de $\tilde{\tau}_{f+b}$ en conservant toujours la relation $\tilde{\tau}_{f+b} = \tilde{\tau}_f + \tilde{\tau}_b$. Les valeurs de $\tilde{\tau}_f$ sont toujours inférieures à celles de $\tilde{\tau}_b$, ce qui signifie que la vitesse d'un streamer guidé est directement corrélée à sa charge électrique : un streamer guidé positif transmis par l'ELAM se propage plus lentement qu'un streamer guidé négatif réfléchi par l'ELPM. Lorsque d augmente, la distance ELAM-ELPM est nécessairement diminuée, de sorte que le temps de propagation caractéristique associé à l'aller-retour ($\tilde{\tau}_{f+b}$) est également réduit.

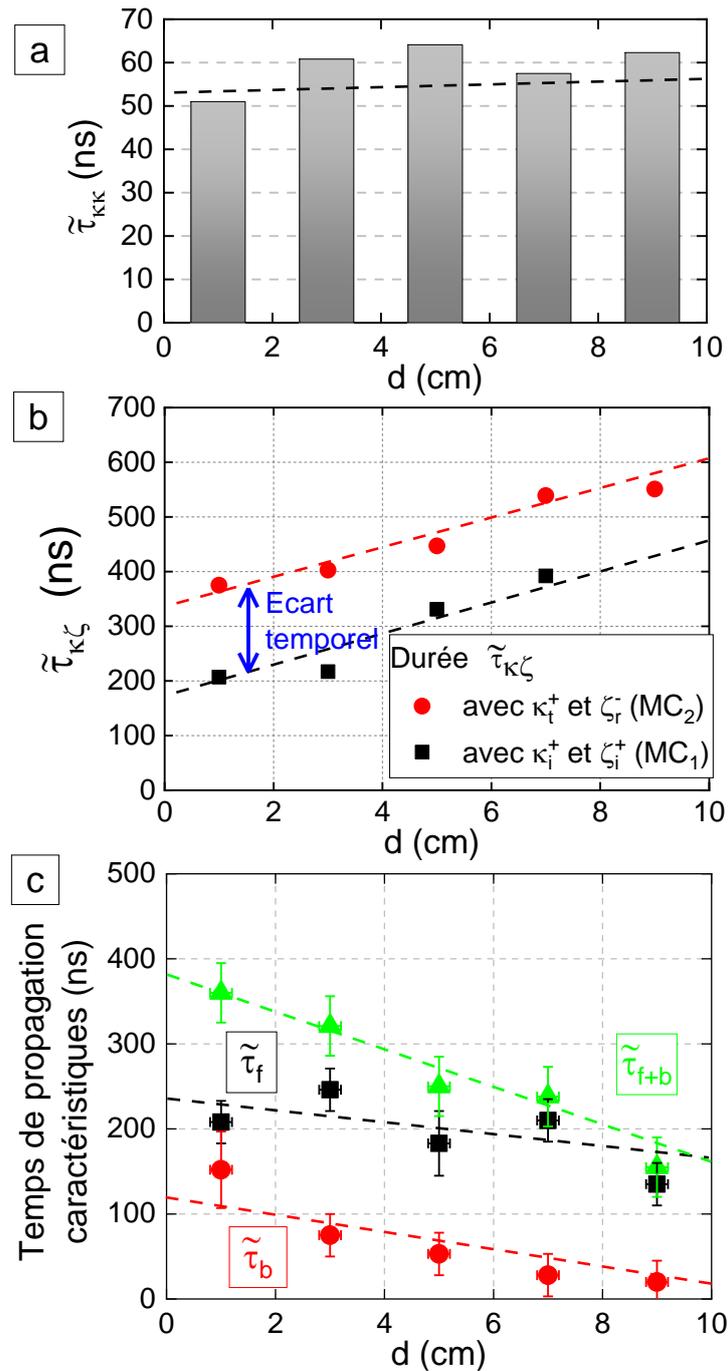


Figure III.6: Influence de d sur (a) $\tilde{\tau}_{\kappa\kappa}$ (intervalle temporel d'un même pic capacitif mesuré à X_{ELAM} et X_{ELPM}), (b) $\tilde{\tau}_{\kappa\zeta}$: intervalle temporel entre les pics de courant capacitif et conducteur en fonction de d , (c) Temps de propagation caractéristiques des streamers guidés en fonction de d .

iii. Caractérisation rapide de l'ICCD

En complément des caractérisations électriques précédentes, une étude d'imagerie ICCD rapide est réalisée pour suivre la cinétique de propagation et de contre-propagation des streamers guidés. Ces phénomènes se produisent typiquement sur une échelle de temps de quelques μ s et les résultats ICCD obtenus sur la Figure III.2

démontrent que les streamers transmis et réfléchis peuvent être analysés sur des échelles de temps plus courtes, ici 850 ns. Comme détaillé dans la section Chap 2.2.a.iv, la présente caractérisation ICCD rapide a été réalisée en utilisant $L_{cin} = 850$ balayages avec un retard (δ) incrémenté toutes les 1 ns.

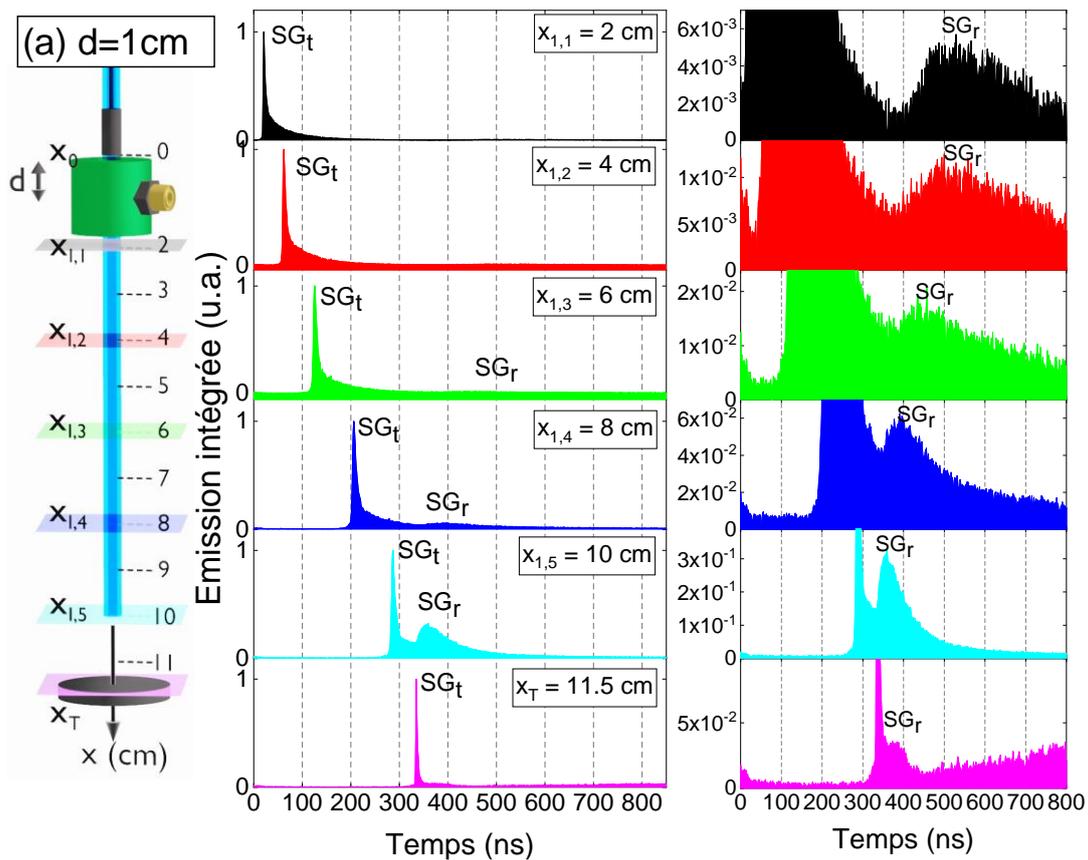
La Figure III.7 est divisée en 5 sous-figures avec $d = 1$ cm (Figure III.7a), $d = 3$ cm (Figure III.7b), $d = 5$ cm (Figure III.7c), $d = 7$ cm (Figure III.7d) et $d = 9$ cm (Figure III.7e). Avant d'analyser comment l'ELAM et l'ELPM peuvent modifier la dynamique des streamers, il faut noter que :

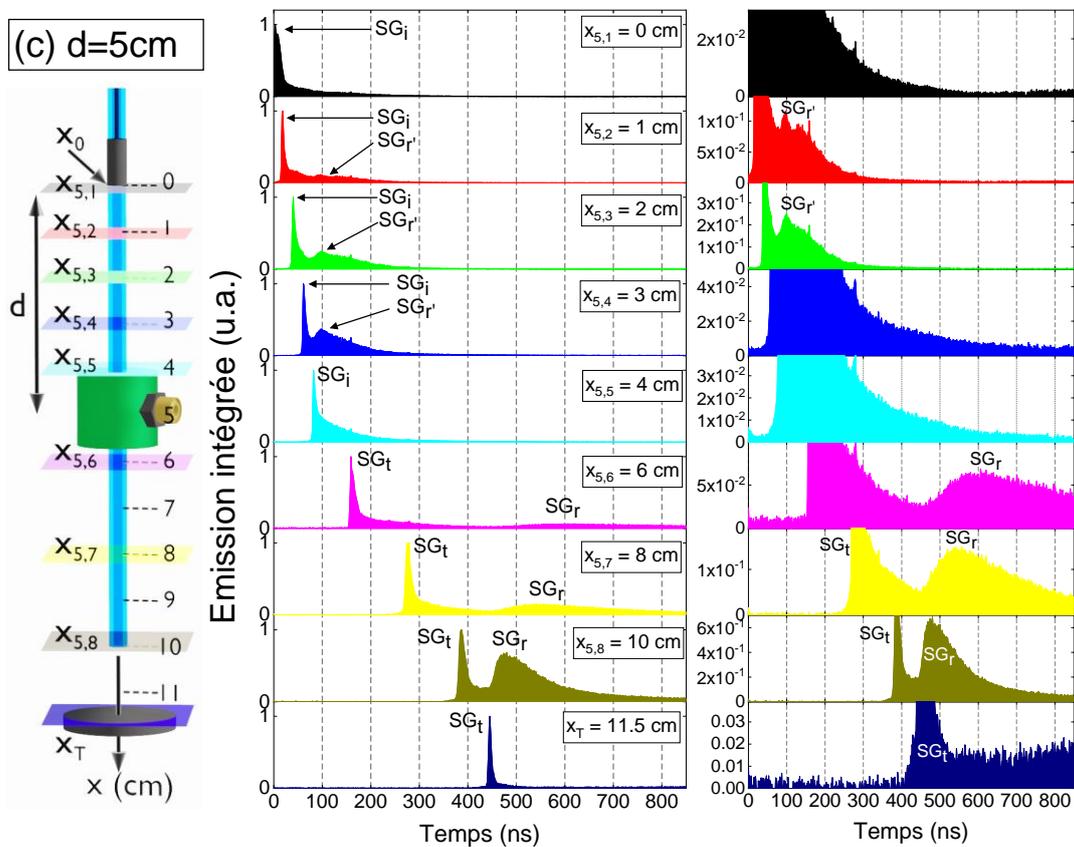
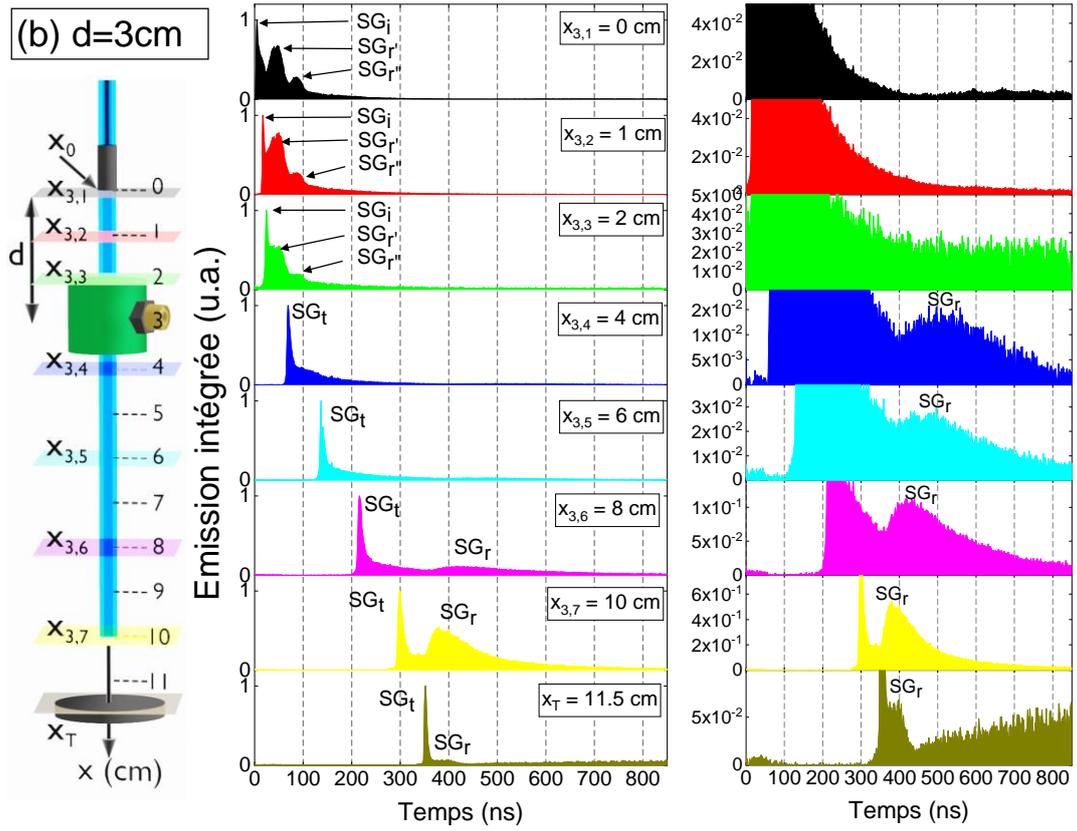
- (i) Dans chacune de ces sous-figures, l'émission intégrée des streamers guidés est tracée en fonction du temps pour différentes positions de CM_1 le long de l'axe x . Les coordonnées des streamers sont repérées à l'aide de la notation suivante : $x_{Digit1, Digit2}$ où Digit1 rappelle la valeur de d (position de l'ELAM par rapport à l'électrode HT) et Digit2 indique le numéro de référence du profil d'émission intégrée.
- (ii) Chaque profil contient au moins un pic principal associé à la partie la plus émissive de la tête du streamer, typiquement le front d'ionisation. Ce pic principal est considéré comme une référence à la fois pour localiser le streamer dans le capillaire et pour normaliser l'ensemble du profil d'émission intégrée entre 0 et 1.

Plusieurs observations sont à noter :

- (i) Pour $d = 1$ cm, tous les profils d'émission intégrés montrent deux types de streamers guidés : le streamer guidé transmis (SG_t) après son passage dans l'ELAM et la contre-propagation d'un streamer guidé (SG_r) réfléchi par l'ELPM. SG_t apparaît à $t = 30$ ns avec la plus forte intensité (ici normalisée à 1) et se déplace vers les valeurs croissantes de x . Au contraire, SG_r a une intensité beaucoup plus faible et se contre-propage. Sans surprise, l'intervalle de temps séparant ces deux pics diminue pour des valeurs croissantes de x . En corrélant ces profils d'émission intégrés avec les profils d'intensité de courant de la Figure III.5, il s'avère que le premier et le second pic d'émission correspondent respectivement aux pics conducteurs ζ_t^+ et ζ_r^- .
- (ii) Pour $d = 3, 5, 7$ et 9 cm, les profils d'émission intégrés peuvent être réalisés pour $x < x_{ELAM}^-$ et $x > x_{ELAM}^+$. Dans ce dernier cas, les profils sont similaires à ceux obtenus pour $d = 1$ cm, c'est-à-dire un premier pic correspondant à (SG_t, ζ_t^+) et le second à (SG_r, ζ_r^-). L'influence de d sur le temps séparant ces deux pics est assez claire et discutée dans la suite de ce chapitre. Il est intéressant de noter que les profils d'émission intégrés mesurés pour $x < x_{ELAM}^-$ révèlent non seulement un pic unique associé à SG_i mais au moins un autre pic qui prouve l'existence d'au moins un streamer guidé réfléchi. Sur la Figure III.7b ($d = 3$ cm), le pic correspondant au streamer guidé incident (SG_i) présente une intensité de 1, suivie de deux pics plus petits correspondant aux streamers guidés réfléchis : SG_r , (plus proche de SG_i avec une intensité de 0,5-0,7) et $SG_{r''}$ (plus éloigné de SG_i avec une intensité relative de 0,2-0,3). Alors que $SG_{r''}$ n'est visible que pour $d = 3$ cm, SG_r , est

encore clairement détecté pour les valeurs plus élevées de d dans les Figure III.7c, 7d et 7e. En outre, plus d augmente, plus SG_r , peut s'éloigner de SG_i . Dans notre dispositif expérimental, SG_r , et SG_r'' ne peuvent être détectés que par imagerie ICCD rapide. L'analyse électrique ne serait possible qu'en plaçant un autre moniteur de courant entre l'électrode HT et l'ELAM. Le pic associé à SG_r , ne doit pas être confondu avec un pic SG_r , ce dernier résultant d'une réflexion sur l'ELPM. Le pic associé à SG_r , est mesuré à un instant qui intervient bien avant que SG_r ne soit généré. A titre d'exemple, sur la Figure III.7b, SG_i apparaît à $t = 5$ ns, est transmis à $t = 70$ ns et est réfléchi par l'ELPM à $t = 450$ ns. Les pics SG_r , et SG_r'' sont apparus bien plus tôt, à respectivement 50 et 85 ns.





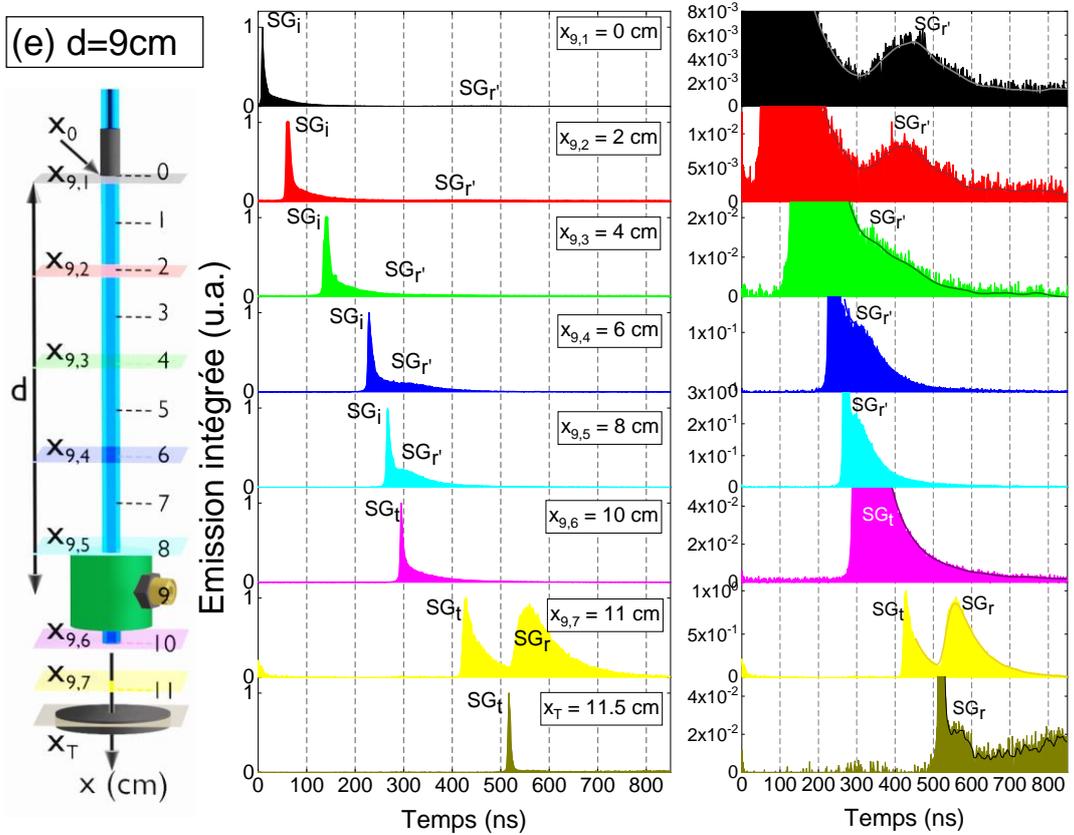
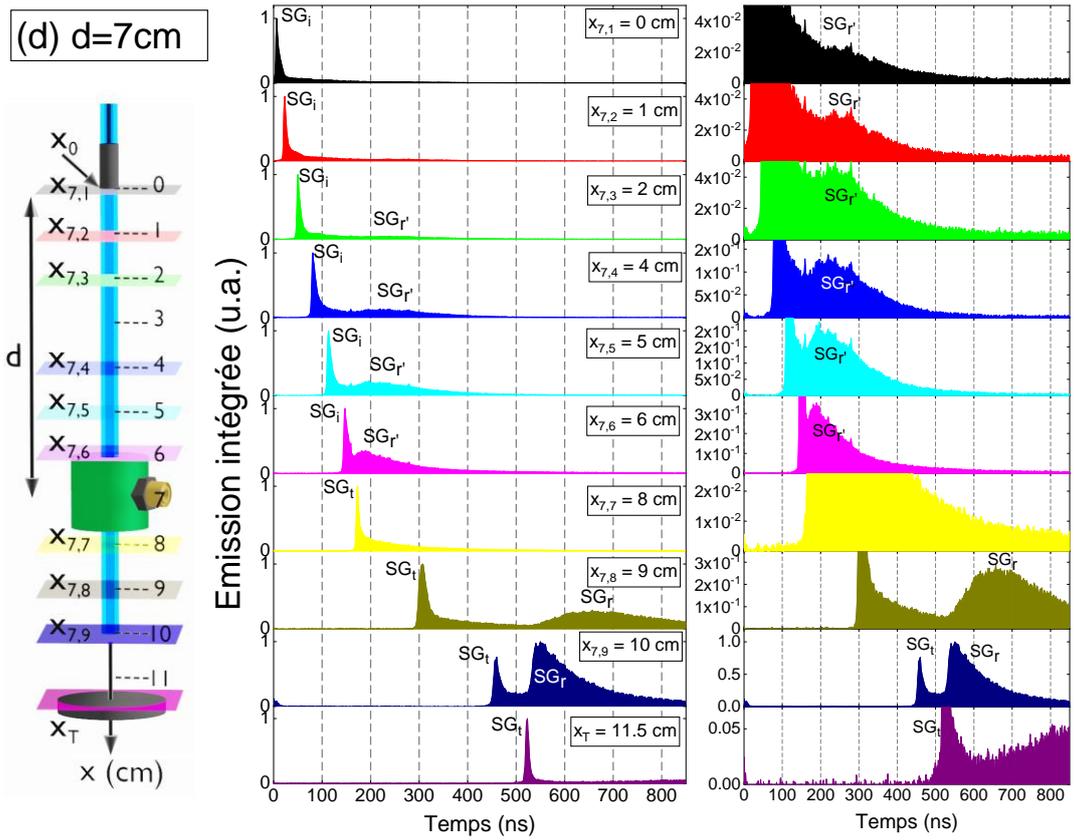


Figure III.7: Profils d'émission intégrés des streamers guidés se propageant dans le plasma gun et interagissant avec deux cibles métalliques distantes : l'électrode annulaire à la masse (ELAM) et l'électrode plane à la masse (ELPM). (a) $d = 1$ cm, (b) $d = 3$ cm, (c) $d = 5$ cm, (d) $d = 7$ cm, (e) $d = 9$ cm. Chaque sous-figure comprend un croquis du montage dans la partie gauche et un agrandissement local des profils d'émission intégrés dans la partie droite.

iv. Paramètres pertinents obtenus à partir de la caractérisation ICCD

Plusieurs paramètres peuvent être extraits des profils d'émission intégrés précédents, à savoir les temps de propagation caractéristiques (comme déjà obtenus par l'étude électrique de la Figure III.5), les rapports des pics d'émission intégrés et la vitesse des streamers guidés à proximité immédiate de l'ELAM et l'ELPM.

Le capillaire étant transparent, la position des streamers guidés peut être déterminée avec précision pour toute coordonnée x , sauf dans la région cachée par MC_1 qui a une épaisseur de 16mm. L'instant où la tête d'un streamer guidé occupe la position x_{ELAM} peut être approximé par $t = \frac{t(x_{SGr}=x_{ELAM}^+) - t(x_{SGi}=x_{ELPM}^-)}{2}$. τ_f , τ_b et τ_{f+b} définis respectivement par les équations {III.1.b}, {III.2.b} et {III.3.b} peuvent être évalués en considérant les instants $t(x_{z_t^+} = x_{ELPM})$, $t(x_{z_i^+} = x_k)$ et $t(x_{z_r^-} = x_k)$ mesurés par imagerie ICCD rapide de la Figure III.7a à la Figure III.7e. τ_f et τ_b sont tracés en fonction de x sur la Figure III.8a. Quelle que soit la valeur de d , il apparaît que les temps de propagation (f) sont toujours plus longs que les temps de contre-propagation (b). A titre d'exemple, pour $d = 1$ cm et $x = 2$ cm, τ_f a une valeur aussi élevée que 300 ns alors qu'elle n'est que de 200 ns pour τ_b . Par ailleurs, les valeurs de $\tilde{\tau}_f$ and $\tilde{\tau}_b$ peuvent être déduites de la Figure III.8a à chaque fois que $x = d$. Par conséquent, la Figure III.8b montre une diminution de ces durées caractéristiques en fonction de d . Ceci illustre que plus l'ELAM est éloignée de l'électrode HT, plus SG_t se propage rapidement dans le capillaire et en sortie. Ainsi, alors que $\tilde{\tau}_f$ diminue de 310 ns ($d = 1$ cm) à 250 ns ($d = 9$ cm), $\tilde{\tau}_b$ est généralement plus faible puisqu'il varie de 180 ns ($d = 1$ cm) à 70 ns ($d = 9$ cm).

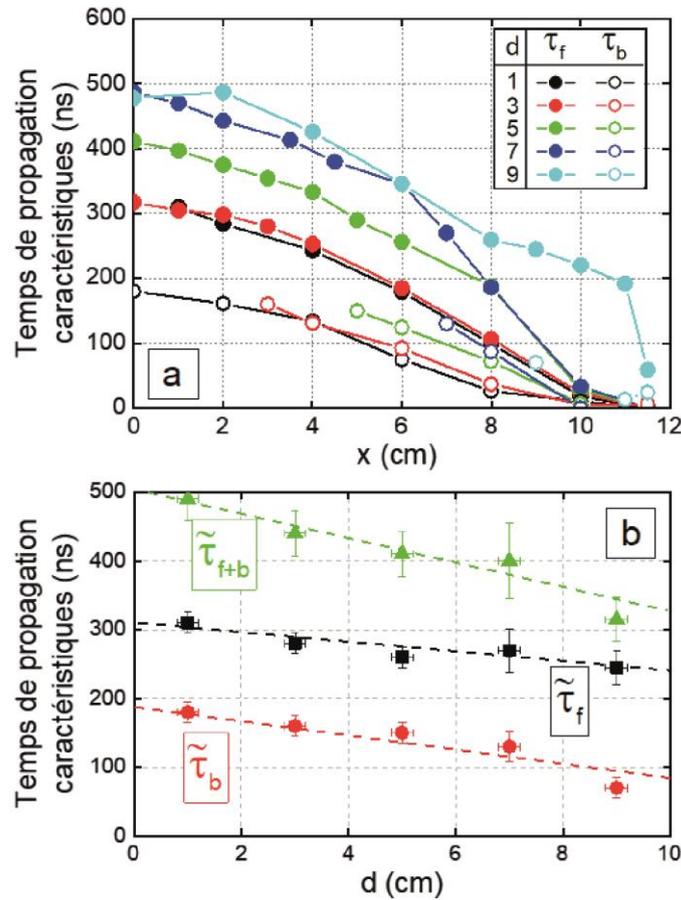


Figure III.8: (a) Temps de propagation avant et arrière mesurés entre x et x_{ELPM} (emplacement de l'électrode de surface mise à la terre) en considérant différentes valeurs de d , (b) Temps de propagation de l'aller, du retour et d'aller-retour mesurés entre x_{ELPM} et x_{ELAM} en fonction de d .

A partir de la Figure III.7, il est possible de mesurer l'émission intégrée de chaque pic, que ce soit pour le flux guidé incident (I_i), le flux guidé transmis (I_t) ou les flux guidés réfléchis (I_r et I_r'). Ensuite, leurs valeurs peuvent être corrélées en traçant le rapport I_r'/I_i (Figure III.9a) et le rapport I_r/I_t (Figure III.9b) sur une échelle logarithmique en fonction de x et pour différentes valeurs de d . Sur la Figure III.9a et pour une valeur d fixée, le rapport I_r'/I_i devient plus grand pour des valeurs croissantes de x parce que le streamer guidé réfléchi est détecté plus près de l'ELAM, c'est-à-dire à une distance maximale de 1 cm. Par exemple, avec $d = 7$ cm, $\left(\frac{I_r'}{I_i}\right)_{x=2cm} = 8 \times 10^{-3}$ alors que $\left(\frac{I_r'}{I_i}\right)_{x=8cm} = 2 \times 10^{-1}$. Le même comportement est observé sur la Figure III.9b avec $d = 3$ cm par exemple : $\left(\frac{I_r}{I_t}\right)_{x=8cm} = 1.1 \times 10^{-1}$ alors que $\left(\frac{I_r}{I_t}\right)_{x=10cm} = 5.4 \times 10^{-1}$. Cette dernière observation est cohérente avec les travaux de Darny et al. où les streamers guidés réfléchis présentent toujours une amplitude plus élevée que celle des streamers guidés transmis (Darny, 2017). De plus, pour une coordonnée x donnée, une diminution de d entraîne des rapports I_r'/I_i plus élevés mais des rapports I_r/I_t plus faibles.

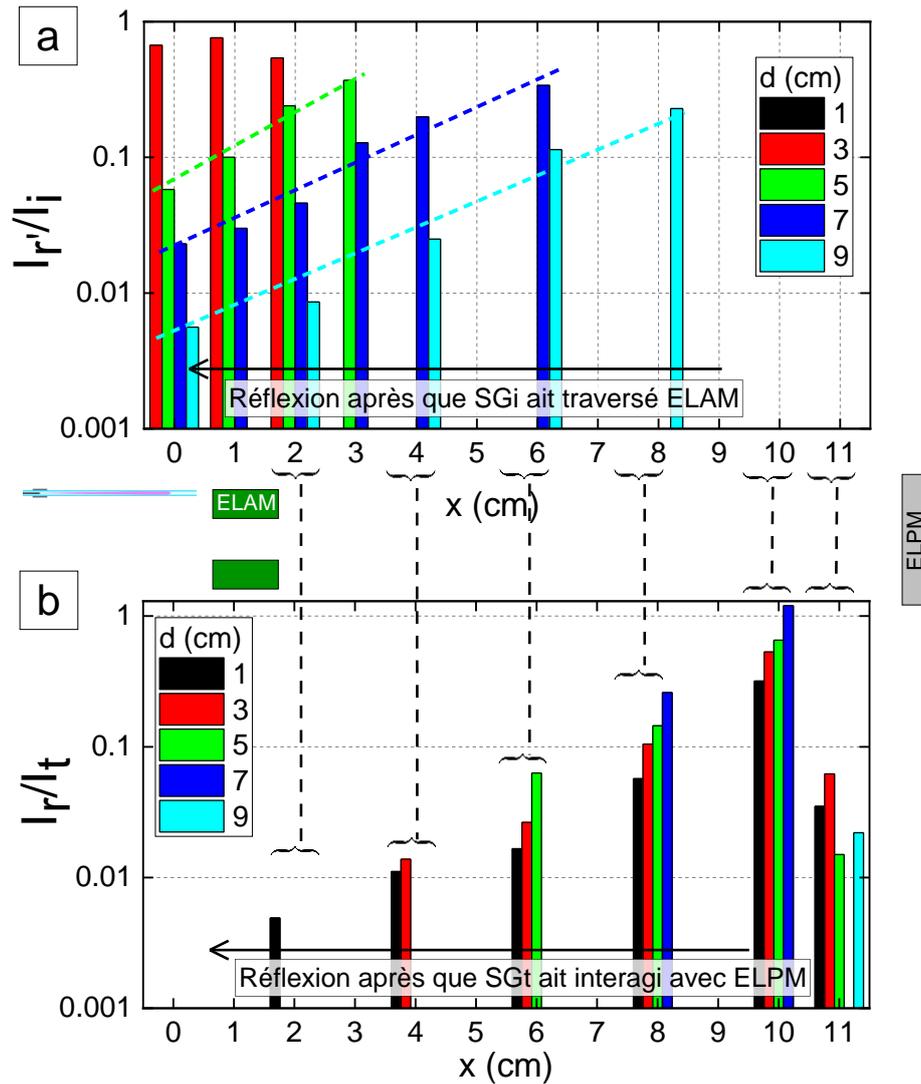


Figure III.9: (a) Rapport d'émission des streamers guidés réfléchis/incident par l'ELAM, (b) Rapport d'émission des streamers guidés réfléchis/transmis par l'ELPM.

En plus des temps de propagation caractéristiques de la Figure III.8 et des rapports d'émission de la Figure III.8, un troisième paramètre d'intérêt est la vitesse des streamers avant/après l'interaction avec chacune des deux cibles métalliques distantes. Pour évaluer les valeurs de ces vitesses, nous avons d'abord tracé sur la Figure III.10a les profils des streamers guidés dans un diagramme temps-espace, pour différentes valeurs de d. Comme esquissé en médaillon de la Figure III.10a et comme vérifié pour tout profil expérimental, un streamer guidé incident se divise en un premier streamer guidé réfléchi (r'), éventuellement un second streamer réfléchi (r'') non-représenté ici pour rester explicite et un streamer guidé transmis (t) qui apparaît après avoir traversé l'ELAM. Ensuite, ce streamer guidé entre en collision avec l'ELPM, entraînant une réflexion supplémentaire (r). Chaque profil est composé de données expérimentales (ligne pleine) et de valeurs interpolées (ligne pointillée) lorsque le streamer se (contre)propage à travers l'ELAM. Tous les profils, qu'ils soient « aller » ou « retour », sont non linéaires, ce qui prouve l'existence de régions d'accélération et de décélération. Par exemple, une région d'accélération de SG_t est clairement visible dans l'espace d'air de 15 mm (10,0

cm < x < 11,5 cm). De plus, l'emplacement de l'ELAM a une forte influence sur la dynamique des streamers guidés. A titre d'exemple, la durée nécessaire aux streamers guidés pour faire joindre l'électrode HT et l'ELPM est seulement de 335 ns pour $d = 1$ cm et devient aussi élevée que 530 ns pour $d = 9$ cm. A partir de cette Figure III.7, il est possible de mesurer les coordonnées spatio-temporelles des streamers guidés (i) à proximité immédiate de l'ELAM, à x_{ELAM}^- et x_{ELAM}^+ et (ii) à la surface de l'ELPM à x_{ELPM} , comme esquissé sur la Figure III.1. En conséquence, les vitesses du streamer guidé incident (v_{SGi}) à x_{ELAM}^- et du flux guidé transmis (v_{SGt}) à x_{ELAM}^+ peuvent être représentées en fonction de d sur la Figure III.10b. De même, les vitesses des streamers guidés transmis (v_{SGt}) et réfléchis (v_{SGr}), interagissant avec la cible métallique mise à la masse, sont tracées en fonction de d sur la Figure III.10c.

Sur la Figure III.10b, la vitesse des streamers guidés est toujours réduite après avoir traversé l'ELAM, par exemple en passant de $v_{SGi} = 960$ km/s à $v_{SGt} = 300$ km/s à $d = 3$ cm. Il est intéressant de noter que cette tendance est encore plus prononcée pour les valeurs croissantes de d , de sorte que la valeur de v_{SGt} peut changer de 50 %. Au contraire, de telles tendances ne sont pas observées lorsque SG_t interagit avec l'ELPM : comme le montre la Figure III.10c, les vitesses sont toujours significativement plus élevées pour SG_r . Ainsi, lorsque l'ELAM est placée à 3 cm de l'électrode HT, SG_t impacte l'ELPM à la vitesse $v_{SGt} = 400$ km/s, tandis que le streamer réfléchi quitte cette électrode à une vitesse plus élevée : $v_{SGr} = 580$ km/s. Il est également intéressant de souligner que les vitesses de réflexion sont beaucoup plus élevées pour les streamers interagissant avec l'ELAM que l'ELPM. En effet, si l'on considère la condition $d = 5$ cm, il s'avère que $v_{SGr} = 1400$ km/s alors que $v_{SGr} = 600$ km/s.

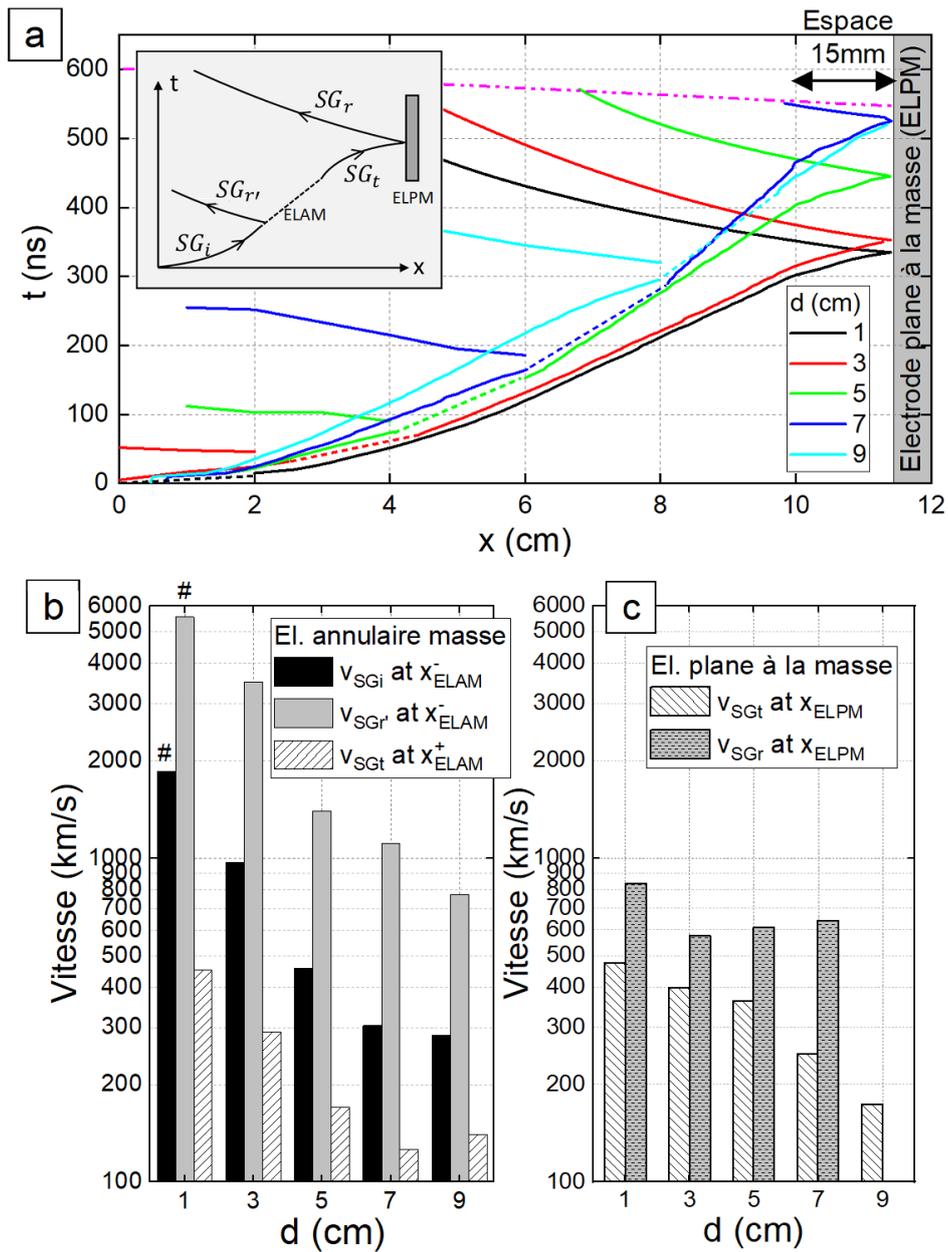


Figure III.10: (a) Diagramme spatio-temporel des streamers guidés incidents, réfléchis et transmis. (b) Vitesse des streamers guidés avant/après avoir traversé l'ELAM (c) Vitesse des streamers guidés avant/après interaction avec l'ELPM. Toutes les courbes sont tracées pour $d = 1, 3, 5, 7$ et 9 cm. (# : estimation par extrapolation).

3. Discussion

a. Complémentarité de l'analyse électrique et optique

[Temps de propagation caractéristiques] Dans cette étude, nous avons démontré comment détecter les streamers guidés réfléchis et transmis en combinant deux

techniques d'analyse qui reposent sur des principes physiques fondamentalement différents : la première mesure les propriétés électriques des streamers guidés et l'autre leurs propriétés optiques. Pour évaluer cette complémentarité, la Figure III.11 montre les temps de propagation caractéristiques obtenus par analyse électrique (Figure III.6c) et par analyse optique (Figure III.8b) pour plusieurs valeurs de d . Si les tendances restent les mêmes, il apparaît qu'un écart temporel quasi-constant est mesuré, de l'ordre de 50-100 ns. Cet écart pourrait résulter d'un nombre différent d'acquisitions entre (i) l'approche électrique dont la statistique repose sur un triplicata de 3 oscillogrammes, soit 3 acquisitions et (ii) l'approche optique dont la statistique est réalisée sur un triplicata de 3 trains de streamers guidés, chaque train contenant $N_{SG} = 25\ 000$ streamers guidés. Par ailleurs, les valeurs obtenues par caractérisation électrique pourraient être légèrement sous-estimées en raison de l'utilisation du filtre passe-bas de Butterworth (Section chap2.2.b.). Malgré ces légères divergences, les tendances restent les mêmes et consolident les conclusions : (i) la réflexion des streamers guidés est toujours plus rapide que celle des streamers transmis, (ii) plus l'ELAM est proche de l'ELPM, plus $\tilde{\tau}_b$ est court.

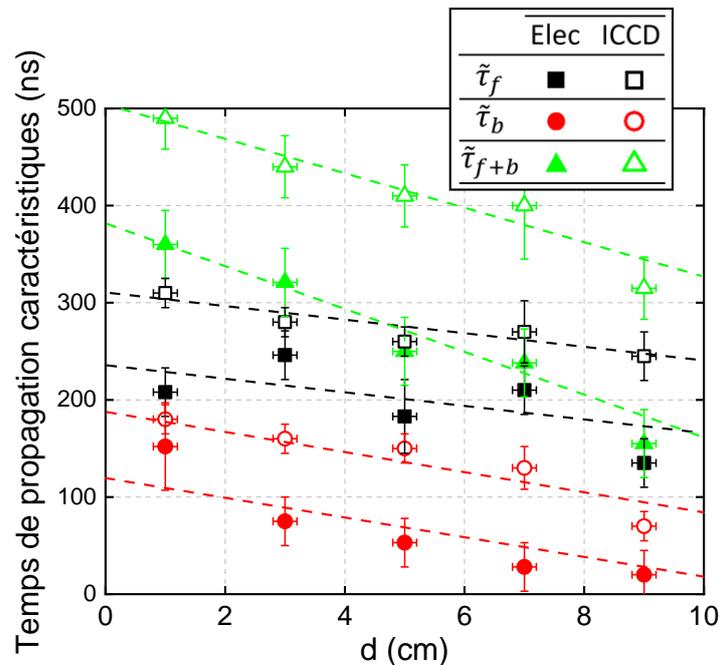


Figure III.11: Temps de propagation caractéristique en fonction de d mesuré par l'approche électrique ou optique.

[Charge électrique des streamers transmis et réfléchis] L'imagerie ICCD rapide ne peut à elle seule fournir des informations sur la charge électrique portée par les têtes des streamers guidés ; elle permet juste de vérifier si ces streamers guidés sont incidents, transmis ou réfléchis (Figure III.2, Figure III.3). De même, l'analyse électrique permet seulement d'identifier les pics de courant (capacitif ou conducteur) lorsque les streamers guidés passent à travers les moniteurs de courant, à seulement deux positions dans notre montage expérimental. Ceci étant, la caractérisation électrique présente un avantage majeur qui mérite d'être souligné : elle permet d'identifier la polarisation (positive/négative) des pics de courant conducteur associés aux streamers et donc la

charge électrique globale qu'ils portent dans leur tête. Ainsi, en combinant les approches électrique et optique, un pic de courant conducteur ζ_t^+ associé à un streamer guidé transmis SG_t^+ peut s'écrire comme : SG_t^+ . De même, un pic de courant conducteur ζ_r^- associé à un streamer guidé réfléchi SG_r^- peut être écrit sous la forme : SG_r^- .

[Mise en évidence de phénomènes de réflexions multiples] Alors que l'analyse électrique seule ne montre qu'un seul type de réflexion (la réflexion r correspondant à l'interaction du SG_t^+ sur l'électrode plane à la masse), l'imagerie ICCD rapide révèle 4 types de réflexion :

- r : réflexion correspondant à la contre-propagation d'un streamer guidé négatif initié par SG_t^+ à la sortie du capillaire. Cette réflexion est la seule à être détectée à la fois optiquement et électriquement (Figure III.5). Nos résultats expérimentaux sont en accord avec les travaux de Babaeva et al. modélisant la contre-propagation d'un streamer approchant et réfléchissant une cible métallique mise à la terre (Babaeva, 2019).
- R : réflexion correspondant à la contre-propagation d'un streamer guidé initié depuis l'ELPM et apparaissant après SG_r^- . La réflexion R reste confinée dans l'espace de 15 mm et ne peut atteindre le capillaire de sortie. Si la polarité de ce streamer ne peut être mesurée par analyse électrique, on peut raisonnablement supposer qu'elle est négative, comme cela a été démontré précédemment avec la contre-propagation de streamers guidés de charge négative. Dans ce cas, la notation suivante peut être utilisée : SG_R^- .
- r' : réflexion correspondant à la contre-propagation d'un streamer guidé initié depuis l'entrefer de l'ELAM ($SG_{r'}^-$). Sa vitesse de propagation est très élevée et est d'autant plus grande que l'ELAM est proche de l'électrode HT. Compte tenu de notre dispositif expérimental, ce type de réflexion ne peut être mis en évidence que par une imagerie ICCD rapide. Cependant, son existence peut également être démontrée par analyse électrique en plaçant un troisième moniteur de courant entre l'électrode HT et l'ELAM (voir Figure III.1). Ici, puisque $SG_{r'}$ n'est détecté que par imagerie ICCD rapide, le signe de sa charge électrique ne peut être déduit. Cependant, on suppose qu'elle est négative, d'où la notation $SG_{r'}^-$. Cette hypothèse s'appuie sur le résultat précédent (réflexion r sur l'ELPM). Par ailleurs, la Figure III.5 indique que les streamers réfléchis sont toujours plus rapides que les incidents/transmis : $v_{SG_{r'}^-} > v_{SG_t^+}$ mais aussi $v_{SG_{r'}^-} > v_{SG_t^+}$. Ce résultat peut sembler en contradiction avec des travaux de recherche antérieurs où les streamers guidés négatifs sont plus lents que les positifs (Briels, 2008) (Luque, 2008). Cependant, dans le cadre de ce projet doctoral, les réflexions résultent de l'interaction avec une électrode de masse et dans une configuration de contre-propagation, c'est-à-dire dans la trace ionique d'un streamer guidé précédent.
- r'' : réflexion correspondant à la contre-propagation d'un streamer guidé initié depuis l'ELAM et apparaissant après $SG_{r'}$. L'existence de ce streamer ne peut être démontrée que par imagerie ICCD rapide et sous la condition $d = 3$ cm. Démontrer son existence à $d = 1$ cm est impossible puisqu'il est caché par l'ELAM qui a une épaisseur de 16 mm. Pour $d = 5$ cm, $SG_{r''}$ n'existe plus ou a été considérablement

atténué ; c'est le cas de SG_r , dont l'émission intégrée est fortement réduite pour d allant de 3 à 5 cm (Figure III.7c).

b. Mécanismes de propagation et modèle électrique équivalent

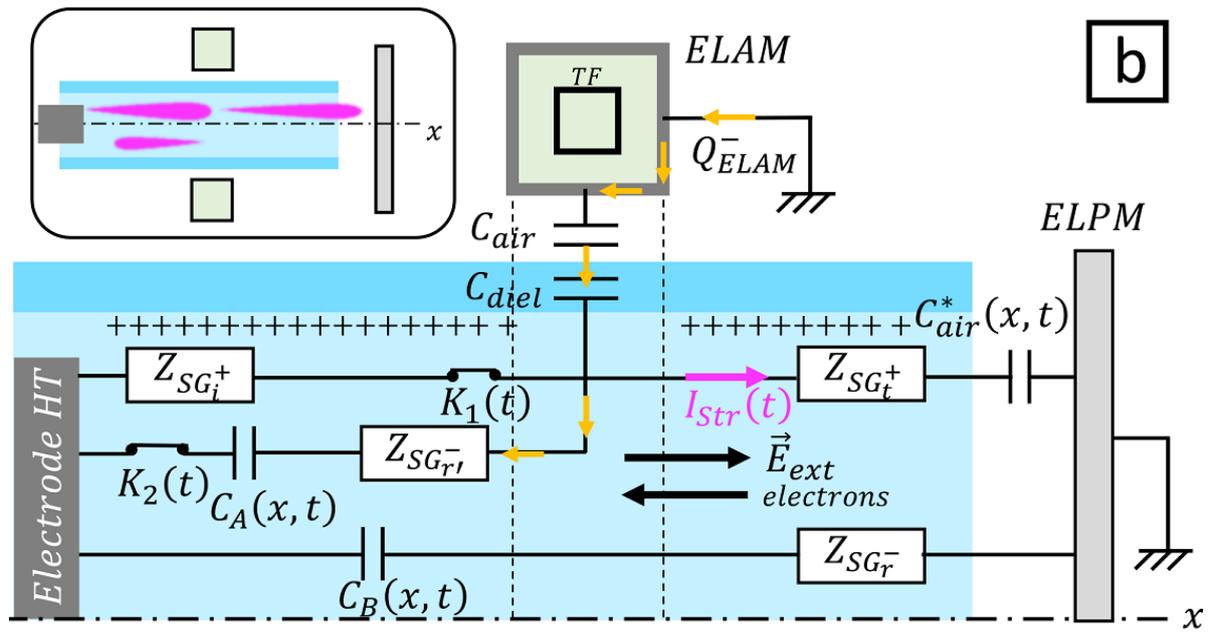
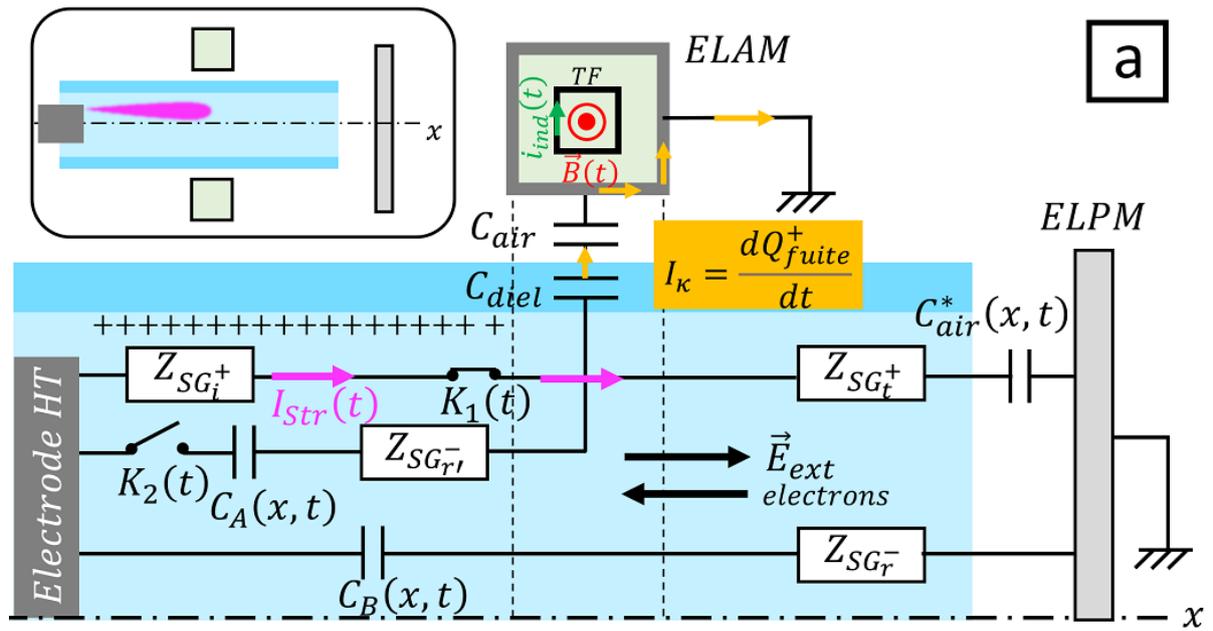
[Sources d'électrons] Dans cette étude, le dispositif expérimental comporte deux cibles métalliques distantes (ELAM et ELPM), dont le potentiel électrique est toujours de 0V. Rappelons qu'une masse électrique correspond à un réservoir contenant un nombre infini d'électrons libres et dont le potentiel électrique est toujours de 0 V. Ainsi, si un flux de charges positives (charge totale Q^+) est transféré à la masse, celle-ci génère un flux équivalent d'électrons (charge totale Q^-) pour maintenir son potentiel nul ($V_{\text{masse}} = 0 \text{ V}$). Dans notre dispositif expérimental, les électrodes distantes mises à la masse ne sont pas obligatoires pour la génération et la propagation des streamers guidés. Qu'il soit positif ou négatif, un streamer guidé peut se propager d'une électrode à l'autre grâce aux processus de photo-ionisation qui ont lieu dans sa tête pour générer des électrons. Dans le cas d'un streamer guidé positif, la densité électronique obtenue est inférieure à celle des ions positifs produits, de sorte que la charge globale de la tête du streamer guidé est positive (Q^+). Lorsque ce streamer entre en contact avec une électrode mise à la terre, cette dernière peut libérer un certain nombre d'électrons (charge globale Q^-) dans la queue du streamer.

[Propagation de l'électrode HT vers l'ELAM] En se propageant, SG_i^+ laisse derrière lui une trace ionique dans le volume du capillaire ainsi qu'une polarisation positive sur les parois internes. Cette polarisation surfacique est esquissée sur la Figure III.12a qui présente un modèle électrique équivalent des streamers guidés. Lors de son passage dans l'ELAM, c'est-à-dire de x_{ELAM}^- à x_{ELAM}^+ (Figure III.1), cette polarisation de surface est considérablement réduite, voire annulée. La charge électrique portée par SG_i^+ se divise en deux composantes : (i) Q_t^+ portée par le streamer guidé transmis par l'ELAM et (ii) Q_{fuite}^+ qui quitte le capillaire sous la forme d'un courant capacitif de fuite $I_{\kappa} = \frac{dQ_{fuite}^+}{dt}$ en passant par C_{diel} et C_{air} qui représentent respectivement les capacités du capillaire et de l'espace de 15 mm. Comme les streamers sont générés à pression atmosphérique et que les particules excitées/ionisées (électrons, ions positifs) sont régies par des fonctions de distribution d'énergie, on suppose que l'ELAM induit localement une barrière de potentiel qui sépare les particules les plus énergétiques (particules qui peuvent traverser l'ELAM et constituent donc le streamer de charge Q_t^+ transmis) des particules les moins énergétiques (particules qui ne peuvent pas traverser l'ELAM et qui sont dissipées sous la forme d'un courant de fuite capacitif impliquant Q_{fuite}^+). Pour maintenir son potentiel à 0V, l'ELAM doit fournir un flux d'électrons (de charge globale Q_{ELAM}^-) qui retourne dans le capillaire, ou plus précisément dans la queue ionique de SG_i^+ . Q_{ELAM}^- peut alors donner naissance à une zone de charge d'espace négative caractérisée par une densité

électronique beaucoup plus élevée que la densité ionique. Dans le modèle de la Figure III.12, les états ouvert/fermé des commutateurs $K_1(t)$ et $K_2(t)$ doivent s'inverser, afin que les électrons puissent se déplacer vers les potentiels croissants, permettant à cette région de charge d'espace négative de se contre-propager vers l'électrode HT sous la forme d'un streamer guidé négatif (SG_r^-).

[Propagation de l'ELAM vers l'ELPM] Lorsque SG_t^+ se propage de l'ELAM à l'ELPM, il interagit d'abord avec les parois internes du capillaire diélectrique, laissant derrière lui une trace ionique dans le volume du capillaire et une polarisation positive des parois internes, comme le montre la Figure III.12b. Ensuite, la tête de SG_t^+ est séparée de l'ELPM par une couche d'air qui peut être modélisée par $C_{air}^*(x, t)$. Au fur et à mesure que le streamer s'approche de l'ELPM, l'épaisseur de l'air diminue, ce qui augmente la valeur de cette capacité. Lorsque SG_t^+ atteint l'ELPM, la capacité devient infinie et se comporte donc comme un simple court-circuit. SG_t^+ impacte directement l'ELPM pour transférer sa charge Q^+ . Toujours pour respecter la condition $V_{masse} = 0V$, l'ELPM renvoie un flux d'électrons, de charge globale Q_{GSEL}^- et de très grande mobilité. Contrairement au cas où l'interaction s'opère avec l'ELAM, nous supposons ici que la totalité de Q^+ est transférée à l'ELPM.

[Propagation de l'ELPM à l'électrode HT] La région de charge d'espace négative résultant du transfert de Q_{ELPM}^- dans l'espace de 15 mm donne naissance à un streamer guidé négatif (SG_r^-) qui peut ensuite se contre-propager vers l'ELAM puis l'électrode HT. Au fur et à mesure de la contre-propagation de SG_r^- , la valeur de $C_B(x,t)$ augmente.



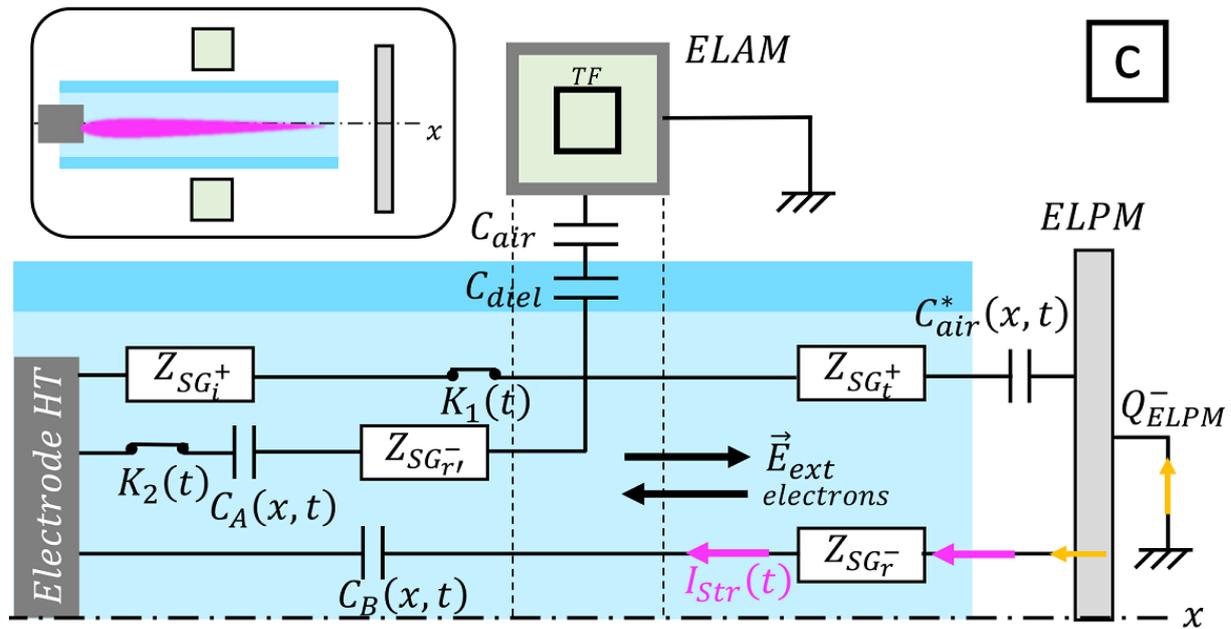


Figure III.12: Modèle électrique équivalent expliquant la (contre)propagation de streamers guidés dans un dispositif de canon à plasma interagissant avec deux électrodes distantes mises à la terre (ELAM et ELPM) correspondant à différents endroits du streamer dans le capillaire (a, b et c)

4. Conclusion

Des impulsions de haute tension ont été appliquées à un dispositif de type « plasma gun » afin de générer des trains de streamers guidés positifs mis en interaction avec deux types de cibles métalliques : une électrode annulaire à la masse et une électrode plane à la masse (à 15 mm en sortie du capillaire). En combinant des diagnostics de caractérisation électrique et d'imagerie ICCD rapide, nous avons développé une approche méthodologique qui a permis de démontrer les résultats suivants :

- Les streamers guidés peuvent être réfléchis par deux types d'interactions : (i) un impact direct sur l'ELPM comme cela est couramment observé dans de nombreux travaux de recherche et (ii) en passant par l'entrefer de l'ELAM sans qu'il y ait le moindre impact physique.
- Les streamers guidés réfléchis portent une charge négative. Bien que prédit par la théorie, ce résultat n'avait jamais été démontré expérimentalement jusqu'à présent.
- Quatre types de réflexions ont été identifiés :
 - o Deux réflexions consécutives suite à un impact avec l'ELPM : une avec une énergie cinétique suffisamment élevée pour se contre-propager sur de longues distances et pénétrer dans le capillaire en tant que streamer guidé négatif (SG_r), et l'autre avec une énergie cinétique plus faible, de sorte que

- le streamer réfléchi négatif (SG_R) ne peut que se contre-propager dans l'espace de 15 mm, sans pouvoir pénétrer dans le capillaire.
- Deux réflexions résultant de l'interaction du streamer guidé incident avec l'ELAM. Ces streamers guidés réfléchis r' et r'' ne sont détectables que par imagerie ICCD rapide et leur charge électrique est supposée négative.
 - Les streamers qui se contre-propagent (réflexion) sont plus rapides que ceux qui se propagent (incident ou transmis), en particulier après une réflexion impliquant l'ELAM (plutôt que l'ELPM). Des vitesses aussi élevées que 3000 km/s sont ainsi obtenues pour $d = 3$ cm (Figure III.10b).
 - L'ELAM est toujours située entre l'électrode HT et l'ELPM. Sa position relative a une influence significative sur l'émission optique des streamers guidés mais aussi sur leurs temps de propagation caractéristiques. Ainsi, rapprocher l'ELAM de l'ELPM contribue à réduire significativement $\tilde{\tau}_f$ (typiquement de 160 ns à 50 ns), ainsi que $\tilde{\tau}_b$ (typiquement de 250 ns à 200 ns) et donc $\tilde{\tau}_{f+b}$ (typiquement de 420 ns à 250 ns).
 - Quel que soit le type d'électrode distante mise à la terre, l'amplitude des streamers réfléchis décroît exponentiellement. Pour une position donnée (x_k), plus l'ELAM est proche de l'électrode HT, plus l'amplitude des streamers réfléchis par l'ELPM (r) diminue (Figure III.9b) alors que l'amplitude des streamers réfléchis par l'ELAM augmente (Figure III.9a).

Sur la base de ces résultats, un modèle électrique équivalent est proposé pour mieux comprendre la dynamique des streamers guidés. Dans ce modèle, les électrodes de masse sont définies comme des réservoirs contenant un nombre infini d'électrons libres, libérables à tout moment pour toujours maintenir un potentiel de 0 Volt, en particulier lorsque l'ELAM ou l'ELPM est exposé à un flux de charges positives provenant d'un streamer guidé incident.

Bibliographie

- Babaeva, N. Y., Naidis, G. V., Panov, V. A., Wang, R., Zhang, S., Zhang, C., & Shao, T. "Plasma bullet propagation and reflection from metallic and dielectric targets ." *Plasma Sources Science and Technology*, 2019: 28(9), 095006.
- Briels, T. M. P., Kos, J., Winands, G. J. J., Van Veldhuizen, E. M., & Ebert, U. "Positive and negative streamers in ambient air: measuring diameter, velocity and dissipated energy." *Journal of Physics D: Applied Physics*, 2008: 41(23), 234004.
- Darny, T., Pouvesle, J. M., Puech, V., Douat, C., Dozias, S., & Robert, E. "Analysis of conductive target influence in plasma jet experiments through helium metastable and electric field measurements." *Plasma Sources Science and Technology*, 2017: 26(4), 0.

Decauchy, H., Dufour, T. "Transmission and multiple reflection mechanisms of guided streamers propagating through grounded annular electrode and interacting with grounded surface electrode." *Plasma Sources Science and Technologies*, 2022: En cours d'acceptation.

Luque, A., Ratushnaya, V., & Ebert, U. "Positive and negative streamers in ambient air: modelling evolution and velocities." *Journal of Physics D: Applied Physics*, 2008: 41(23), 234005.

Chapitre IV - Auto-organisation de streamers guidés

Table des matières

1. Présentation du dispositif expérimental	106
2. Résultats.....	109
a. Caractérisation électrique du phénomène d'auto-organisation sur la grille à potentiel flottant.....	109
b. Caractérisation optique du phénomène d'auto-organisation créé sur la grille à potentiel flottant.....	113
c. Caractérisation optique du plasma entre les deux cibles	117
3. Discussion.....	118
a. Influence de la polarisation de la grille sur la vitesse du streamer guidé.....	118
b. Streamer guidé dans la région grille-plaque	118
c. Périodicité de la décharge.....	122
4. Conclusion	122

Ce chapitre s'intéresse au phénomène d'auto-organisation qui apparaît lorsqu'un streamer guidé émis par un dispositif à jet de plasma froid de type « plasma gun » interagit avec deux cibles placées en parallèle : une grille métallique portée à un potentiel flottant et une plaque métallique reliée à la masse via une résistance. Un phénomène d'auto-organisation de streamers guidés apparaît dans des conditions précises de tension et de distance grille-plaque précises. On appelle N_{SGAO} le nombre de streamers guidés auto-organisés ou encore l'ordre d'auto-organisation. Expérimentalement N_{SGAO} est compris entre 1 et 6, i.e. la grille métallique peut être impactée par un nombre de streamers compris entre 1 et 6 streamers. En revanche, la plaque résistive est systématiquement impactée par un unique streamer.

1. Présentation du dispositif expérimental

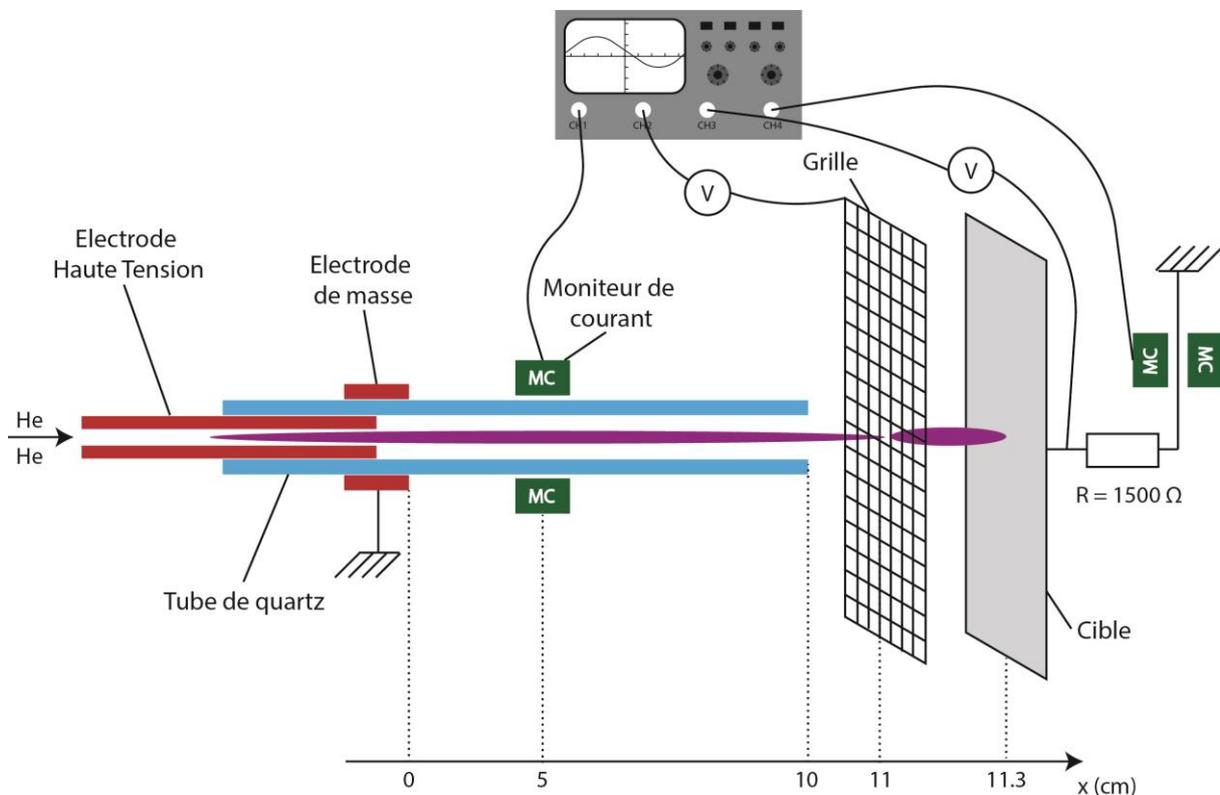


Figure IV.1: Schéma du dispositif expérimental montrant le jet de plasma fonctionnant en face d'une grille flottante et d'une plaque métallique mise à la masse. Les moniteurs de courants sont représentés par des rectangles verts avec MC marqués à l'intérieur

Comme dans le chapitre précédent, les streamers guidés sont générés dans un « plasma gun » : l'électrode polarisée à la haute tension impulsionnelle est une tige métallique ($L = 50$ mm, $D = 2$ mm), coaxialement insérée à l'intérieur d'un capillaire diélectrique ($L = 150$ mm, $D_{\text{int}} = 2$ mm, $D_{\text{ext}} = 4$ mm), tandis que la contre-électrode est portée à la masse et correspond à un anneau métallique apposé sur la paroi externe du capillaire, comme illustré sur la Figure IV.1. La contre-électrode est centrée par rapport à l'extrémité distale de l'électrode polarisée. Une sonde de courant (Pearson, 2877) est placée autour du capillaire, à 5cm de l'électrode de masse.

Ce dispositif à jet de plasma froid est complété par deux cibles :

- Une grille métallique à potentiel flottant (GPF) en aluminium de dimension $3\text{cm} \times 3\text{cm}$, d'ouverture nominale $w = 300 \mu\text{m}$, de diamètre filaire $d = 220 \mu\text{m}$ et présentant un pourcentage de vide estimé à $100 \cdot \left(\frac{w}{w+d}\right)^2 = 33\%$. Cette grille est placée à 10 mm de l'extrémité distale de l'électrode polarisée. Une sonde de haute-tension (Tektronix P6015A 1000:1) est reliée à la GPF (Figure IV.1).

Chapitre IV - Auto-organisation de streamers guidés

Présentation du dispositif expérimental

- Une plaque résistive (SR) correspondant à une plaque métallique reliée à une résistance de 1500Ω , elle-même reliée à la masse. Ce type de cible est en aluminium, de dimensions $10\text{cm} \times 10\text{cm}$ et placée à 3mm de la grille. Comme indiqué sur la Figure IV.1, la tension et le courant de SR sont mesurés par une sonde haute tension (Teledyne LeCroy PPE 20 kV 1000:1) et un moniteur de courant (Pearson, 2877) respectivement.

Les streamers guidés sont générés dans un écoulement d'hélium qui alimente le capillaire du plasma gun à un débit de 1 slm. L'électrode HV est polarisée par une tension impulsionnelle présentant les caractéristiques suivantes : amplitude comprise entre 4, 5 kV et 5,5 kV, fréquence de répétition fixée à 5 kHz et rapport cyclique compris entre 10% et 15%). La figure IV.2.a représente une impulsion idéale où les temps de montée (T_{rise}) et de descente (T_{fall}) sont égaux à 0. La figure 2 b) représente une impulsion réelle, fournie par le générateur ($A = 5000\text{V}$, $f = 5 \text{ kHz}$ et $D_{\text{Cycle}} = 10\%$). On constate que la tension délivrée en début d'impulsion dépasse de 400 V la valeur de consigne au cours des premières 200 ns qui suivent le front montant. Les figures IV.2.c et IV.2.d proposent des agrandissements des front montant et front descendant respectivement. Les temps caractéristiques associés T_{rise} et T_{fall} ont une valeur de 20ns. L'amplitude réelle dépasse la valeur de consigne, avec une valeur égale à 2467V en montée et 2333V en descente. La figure IV.2.e représente la tension de consigne sur trois périodes. Les trois périodes sont identiques tout au long de l'alimentation en tension du jet de plasma.

Chapitre IV - Auto-organisation de streamers guidés

Présentation du dispositif expérimental

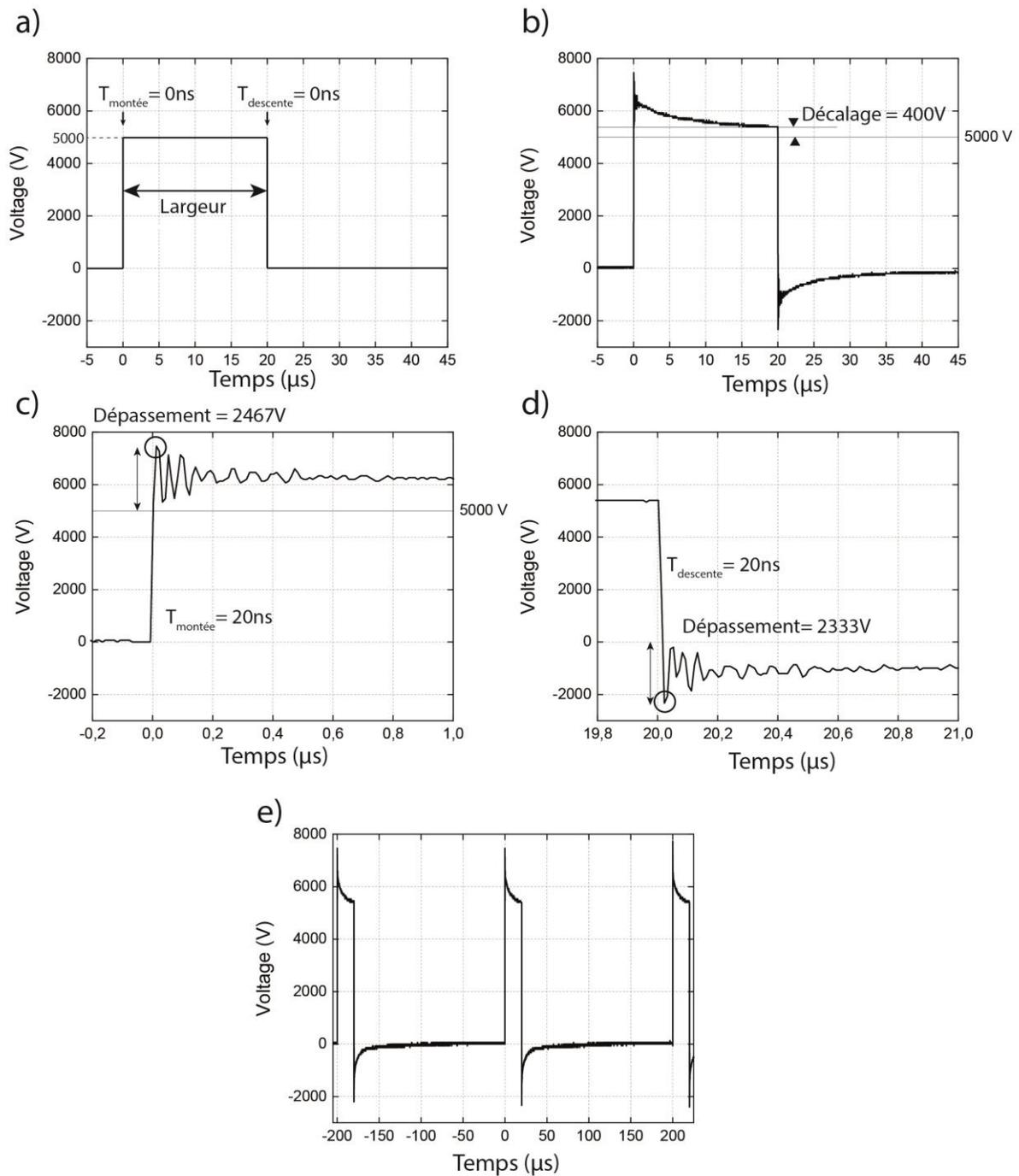


Figure IV.2 : Graphique des tensions fournies au jet de plasma par le générateur avec (a) impulsion idéale, (b) impulsion réelle délivrée par le générateur, (c) – zoom sur le front montant de l'impulsion, (d) Zoom sur le front descendant de l'impulsion, (e), Représentation de trois impulsions délivrées par le générateur.

2. Résultats

a. Caractérisation électrique du phénomène d'auto-organisation sur la grille à potentiel flottant

La tension du générateur est fixée à une amplitude de 5 kV, un rapport cyclique de 10 % et une fréquence de répétition de 5 kHz, soit une période de répétition de 200 μ s. La Figure IV.3.a représente le profil temporel de la tension délivrée par le générateur sur une plage de 1000-(-1000) = 2000 μ s, faisant ainsi apparaître 10 périodes, soit 11 impulsions de haute tension. Si l'on considère à présent le profil temporel du potentiel de la grille sur la Figure IV.3.b, on constate la même périodicité de 200 μ s mais avec trois niveaux de tension au lieu des deux auxquels on aurait pu s'attendre puisque la notion de rapport cyclique propre aux impulsions délivrées sous-entend l'existence d'un niveau bas et d'un niveau haut. Ici, il existe donc les 3 niveaux suivants : bas, intermédiaire et haut. De plus, chaque période est marquée par un chargement progressif de la grille métallique puis un décrochage rapide. On distingue ainsi 3 motifs auto-organisés : de -800 μ s à -200 μ s, de -200 μ s à 400 μ s et de 400 μ s à 1000 μ s. Pour mieux comprendre le phénomène, un zoom a été réalisé sur le front montant :

- Entre -205 μ s et -175 μ s : la grille se charge comme un condensateur, la tension augmentant de 550V à 1400V en 10 μ s. Le temps caractéristique de charge est estimé à $\tau = 4 \mu$ s. V_{grille} se stabilise quelques 100 μ s avant de retomber à une valeur de 1200 V, soit un front descendant enregistrant une baisse de 1400 - 1200 = 200 V.
- Entre -5 μ s et 25 μ s : la grille se charge à nouveau, le front de montée étant caractérisé par une tension passant de 1075 V à 1650 V. L'amplitude de ce front est donc plus faible que dans le cas précédent (575 V *versus* 850 V précédemment). La valeur maximale de V_{grille} est cependant plus élevée puisqu'elle atteint une valeur de 1650 V. Le temps caractéristique de charge est estimé à $\tau = 4 \mu$ s. La grille ne se décharge que partiellement puisque le front descendant ne diminue que de 100V.
- Entre 195 μ s et 225 μ s : la grille métallique se décharge complètement à l'instant $t = 202\mu$ s, passant de 1510 à - 150 V. Puis, la grille peut de nouveau se polariser à la manière d'un condensateur, une valeur de 400V étant obtenue en fin d'impulsion.

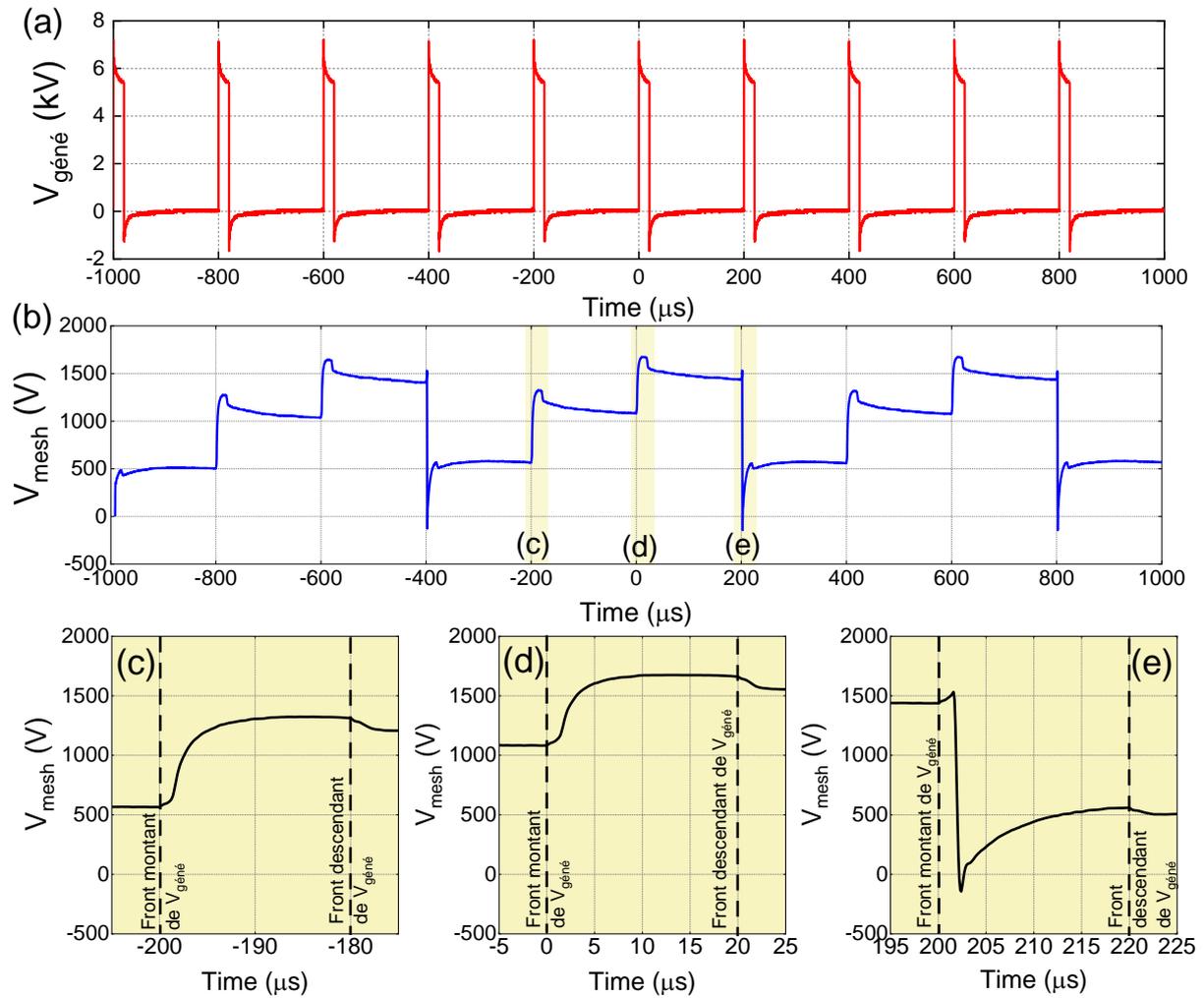


Figure IV.3 : Gros plan sur les trois périodes de la tension de la grille entre -205ns et -175ns pour a), entre -5ns et 25ns pour b) et entre 195ns et 225ns pour c).

La Figure IV.4 représente le courant du streamer guidé se propageant dans le capillaire (I_{streamer}), le courant mesuré dans la plaque métallique (I_{surf}) ainsi que le potentiel flottant de la grille (V_{grille}) et le potentiel de la plaque métallique (V_{surf}). Les profils temporels de ces 4 paramètres sont tracés sur 3 intervalles de temps : entre -201 μs et -195 μs (Figures IV.4.b et IV.4.c), entre -1 μs et 5 μs (Figures IV.4.d et IV.4.e) et entre 199 et 205 μs (Figures IV.4.f et IV.4.g).

Le profil du courant mesuré dans le capillaire diélectrique est similaire à ce qui est observé dans le chapitre précédent (Decauchy, 2022) : le premier pic est causé par le passage du streamer à travers le moniteur de courant (CM_1) tandis que le second pic est dû au streamer réfléchi au sein du capillaire. D'autres pics plus petits sont aussi observés entre 1 et 3 μs après le pic secondaire. Le profil de courant du streamer contre-propagé est identique entre les trois temps.

Dans les graphiques (a), (c) et (e), le courant traversant la cible est représenté en fonction du temps. Les graphiques (a) et (c) sont semblables avec un léger courant traversant la cible de 0,015A, le graphique (e) correspondant à la décharge entre la grille et la plaque a

un pic plus important à $8 \cdot 10^{-2} \text{A}$. Ces graphiques ne suivent pas la loi d'Ohm (si $U = RI$ alors le pic des tensions traversant la cible devrait être égal à 120V) à cause des harmoniques à très hautes fréquences composant le signal (temps de montée inférieur à $0.5 \mu\text{s}$ ce qui correspond à une harmonique de 2MHz). Celui-ci correspond à la décharge de la grille sur la plaque métallique. Ce pic intervient plus tard que le retour du streamer, signe que la contre propagation du streamer est régie par la grille et non pas par la plaque métallique.

La tension de la plaque est tracée en fonction du temps sur les Figures IV.4.b, d et f. Un pic de tension d'une valeur de 40V est observé au moment de la décharge. Durant les autres périodes, seul deux pics d'une valeur de 5V sont observés et correspondent au courant capacitif pour le premier petit pic et à l'arrivée du streamer et à la polarisation de la grille pour le deuxième. Une nette différence est observée entre les profils de tension en présence de la décharge avec l'apparition de ce pic une période sur trois.

La tension de la grille est tracée en fonction du temps sur les Figures IV.4.b, d et f. Aux temps correspondant aux graphiques IV.4.b et IV.4.d, le chargement positif de la grille s'effectue avec l'arrivée du streamer sur la grille. Au temps correspondant au graphique IV.4.f, le chargement de la grille est brutalement interrompu par la décharge qui se déroule dans un laps de temps très court ($\sim 500\text{ns}$), comme observé sur la figure IV.3.

Les informations données par la tension et par le courant des différents composants permettent d'établir une première indication sur les phénomènes se déroulant à l'interface jet-grille-cible. Chaque streamer charge la grille positivement et au bout de trois streamers, le champ électrique est suffisant pour amorcer une décharge dans l'espace grille-cible. Cette décharge se déroule ainsi périodiquement avec une période d'ordre 3 avec les conditions imposées de tension au générateur (5000V d'amplitude, 5kHz de fréquence et 10% de rapport cyclique).

Le front descendant ne provoque pas de phénomène particulier au niveau de la tension de la grille, de l'intensité des streamers et des tensions et courants dans la cible. La décharge qui est initiée entre la grille et la cible intervient donc uniquement au front montant.

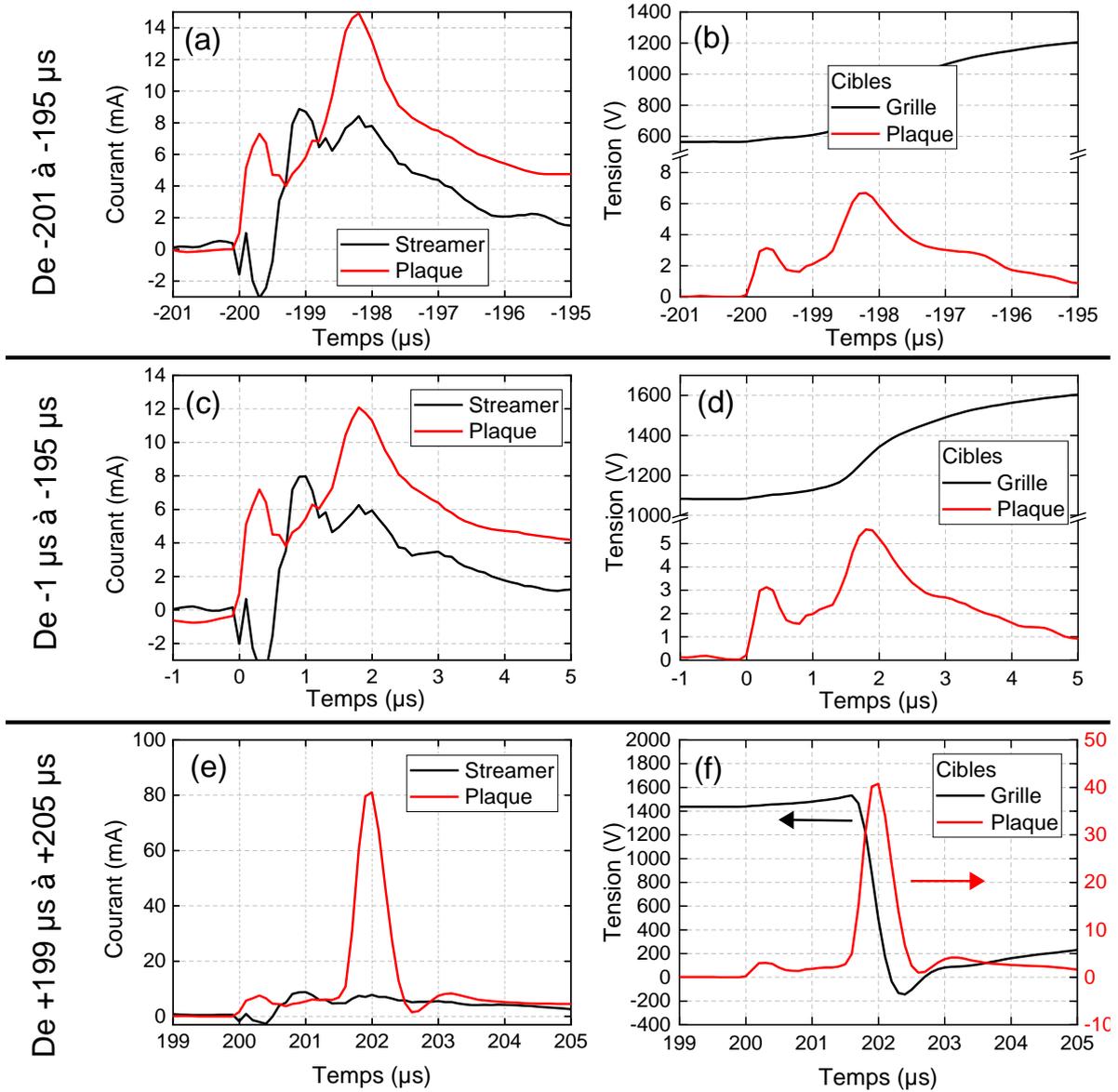


Figure IV.4 : Graphiques représentant le courant traversant le capillaire et la cible en (a), (c) et (e) et la tension de la grille et celle de la plaque métallique en (b), (d) et (f) à trois instants : entre -201 μs et -199 μs pour (a) et (b), entre -1 μs et 5 μs pour (c) et (d) et entre 199 μs et 205 μs pour (e) et (f)

b. Caractérisation optique du phénomène d'auto-organisation créé sur la grille à potentiel flottant

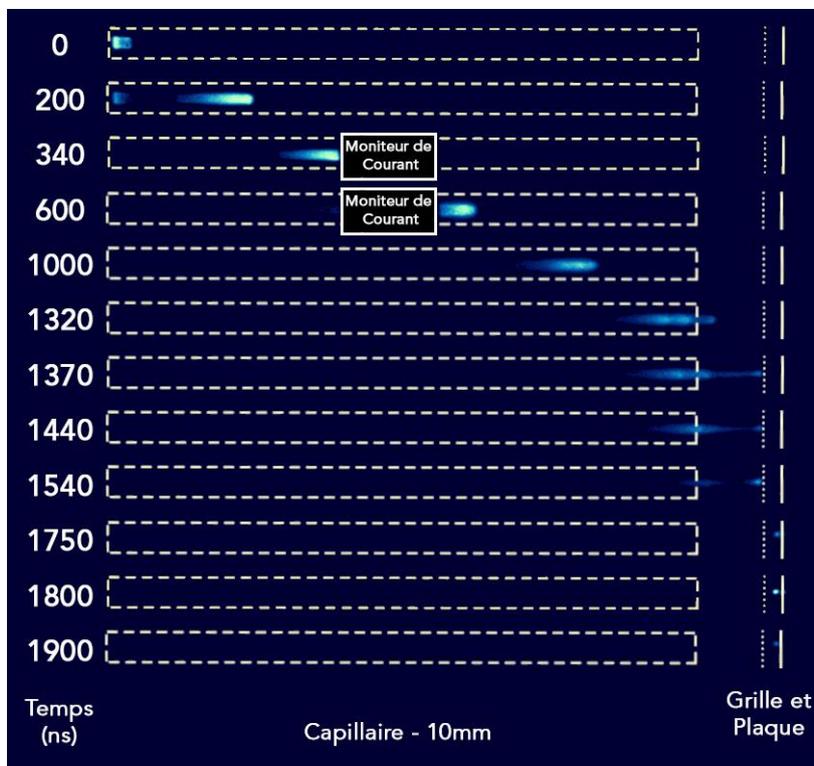


Figure IV.5 : Séquence de photos obtenues par imagerie ICCD rapide, montrant un streamer guidé positif se propageant dans le capillaire d'un dispositif « plasma gun » puis dans l'air ambiant pour atteindre deux cibles placées en parallèle : la grille à potentiel flottant et la plaque résistive ($V_{gene} = 5 \text{ kV}$, $f = 5 \text{ kHz}$, $D_{cycle} = 10\%$).

La Figure IV.5 représente la propagation d'un streamer guidé positif le long d'un tube capillaire, traversant un moniteur de courant avant d'entrer dans l'air ambiant pour interagir avec deux cibles : la grille métallique puis la plaque résistive. Cette figure correspond à une accumulation d'images de streamers guidés et a été obtenue par imagerie ICCD rapide selon le protocole détaillé au Chapitre II. La propagation des streamers est suivie sur une durée de 2000ns, l'instant $t = 0 \text{ ns}$ correspondant au front de montée de la tension impulsionnelle délivrée par le générateur. Pour les figures IV.5, 6 et 7, celui-ci a été réglé sur 5 kV, 5 kHz et 10% de rapport cyclique. Un streamer est émis par l'électrode haute tension à 0ns et se propage à travers le moniteur de courant (CM) à $t=340\text{ns}$. Le streamer transmis est alors ralenti. Puis, à partir $t = 1000\text{ns}$, il se « divise » en trois streamers successifs. Cette séparation dans l'espace et dans le temps est observée à $t = 1320 \text{ ns}$ et explique pourquoi la grille est ensuite impactée par 3 streamers successifs aux instants à 1370, 1440 et 1540ns.

Une fois que les 3 streamers se sont accumulés sur la grille, celle-ci peut alors se décharger en émettant un unique streamer en direction de la plaque métallique, comme cela est observable sur la Figure IV.5 entre $t = 1750 \text{ ns}$ et $t = 1900 \text{ ns}$.

Pour une meilleure compréhension du phénomène de propagation à $t > 1540$ ns, la Figure IV.8 propose une vue agrandie de la dynamique de propagation des streamers dans la région grille-plaque. Dès 1620 ns, soit 80 ns après que le 3^{ème} streamer guidé ait atteint la grille, une émission lumineuse localisée – nommée « diffuse speck » – apparaît au centre de l'espace grille-plaque puis se propage en direction de la plaque métallique pour l'atteindre à $t = 1630$ ns. Au même instant, un streamer apparaît sur la grille et s'étend jusqu'à atteindre la plaque métallique à une vitesse d'environ $v_{pr} = \frac{3 \text{ mm}}{1660 \text{ ns} - 1630 \text{ ns}} = 100 \text{ km/s}$. De 1660 ns à 1860 ns, soit pendant au moins 200 ns, les deux cibles sont ainsi connectées par le streamer, tandis que son émission diminue simultanément.

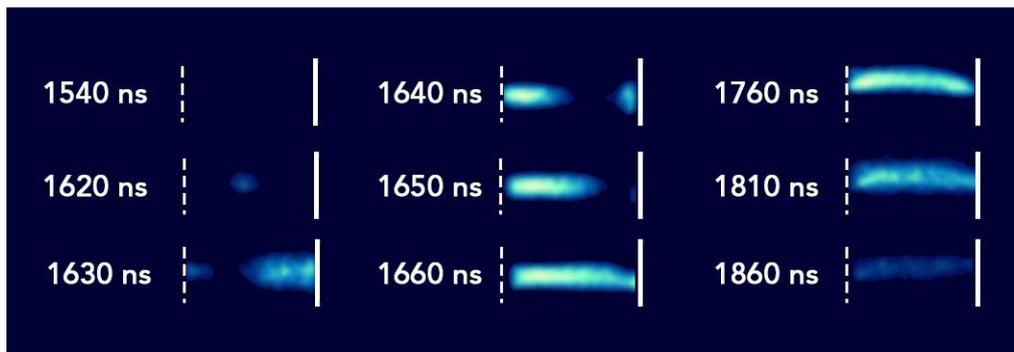


Figure IV.6 : Séquence de photos obtenues par imagerie ICCD rapide, montrant un streamer guidé positif se propageant entre les deux cibles en parallèle : de la grille à potentiel flottant à la plaque résistive ($V = 5 \text{ kV}$, $f = 5 \text{ kHz}$, $D_{\text{cycle}} = 10\%$).

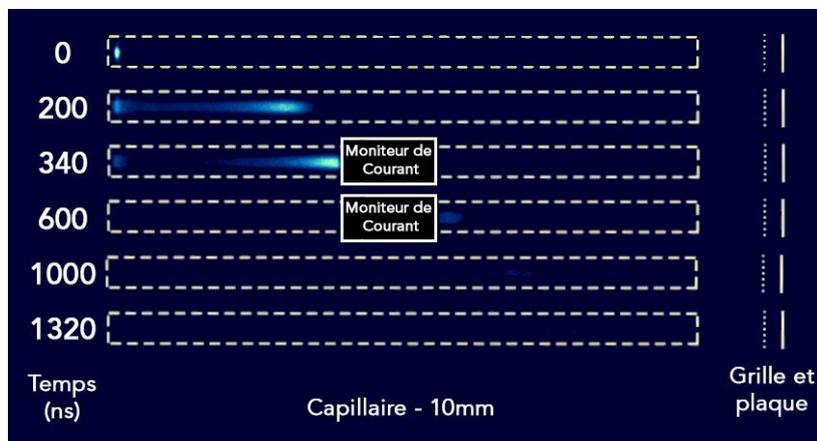


Figure IV.7 : Séquence de photos obtenues par imagerie ICCD rapide, montrant un streamer guidé négatif se propageant dans le capillaire d'un dispositif « plasma gun » ($V = 5 \text{ kV}$, $f = 5 \text{ kHz}$, $D_{\text{cycle}} = 10\%$).

Nous avons considéré le cas de streamers guidés positifs, i.e. générés à partir des fronts montants des impulsions de tension. Il apparaît tout aussi légitime de s'intéresser au cas des streamers guidés négatifs, lesquels peuvent être obtenus à partir du front descendant de chaque impulsion de tension. La Figure IV.7 illustre la propagation de ce streamer dans le capillaire. Plusieurs observations méritent d'être soulignées : (i) Les streamers guidés négatifs sont optiquement détectables jusqu'à 340 ns, i.e. avant de traverser le moniteur de courant. Le streamer guidé négatif transmis reste détectable à $t = 600$ ns bien que son

Chapitre IV - Auto-organisation de streamers guidés

Résultats

émissivité a considérablement diminué. Au-delà de 600 ns, il n'existe plus de streamers guidés négatifs ayant pu se propager au-delà du moniteur de courant (CM). En conséquence, aucune décharge de plasma peut être constatée dans l'espace grille-plaque, ce qui confirme les mesures réalisées avec les sondes de courant et de tension. Il est donc possible d'affirmer que la décharge de plasma générée entre la grille à potentiel flottant et la plaque résistive ne peut exister que si elle a été générée sur la base du front montant d'une impulsion.

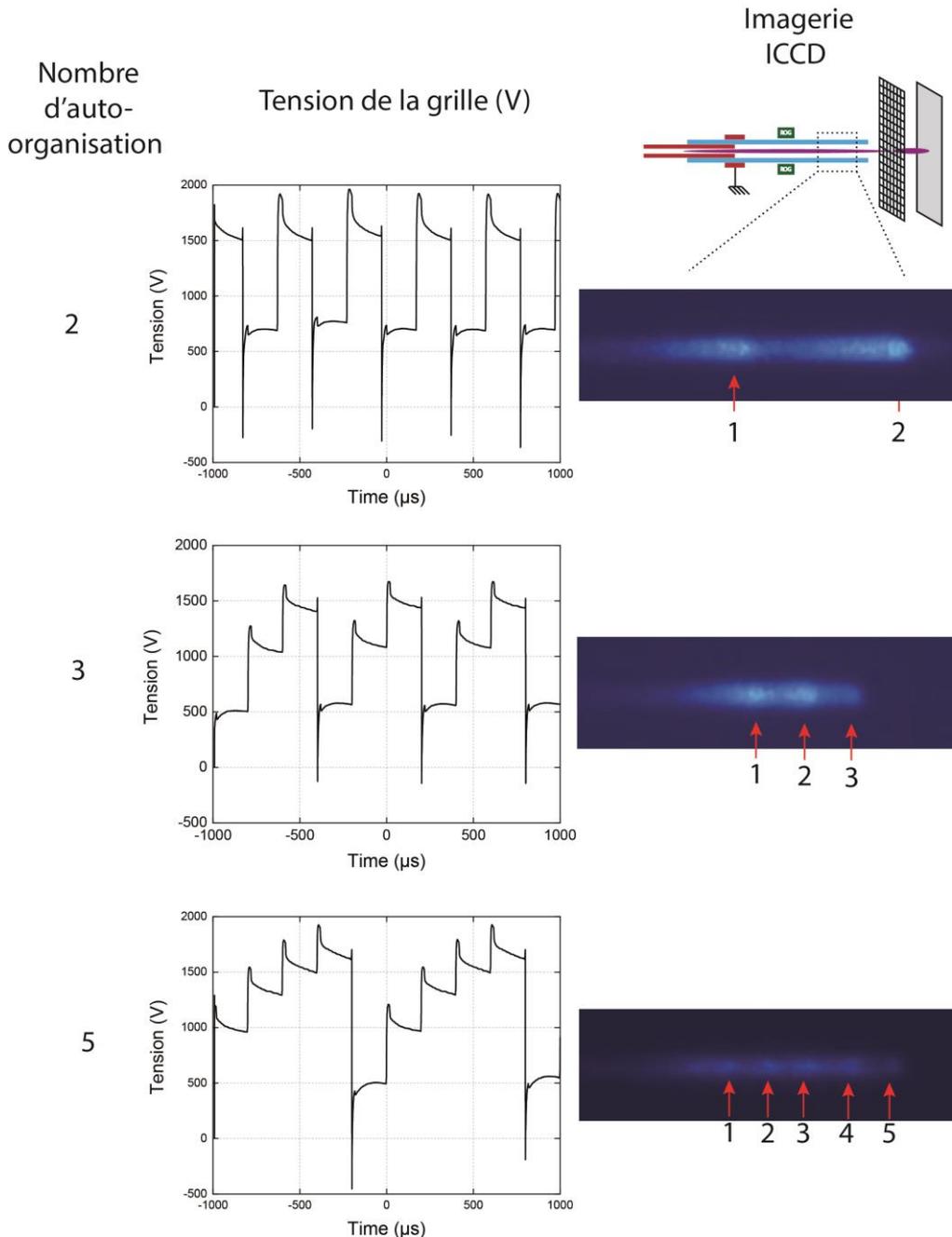


Figure IV.8 : Comparaison entre le nombre de périodes de la tension de la plaque et le nombre de streamers visibles avec la caméra ICCD

La Figure IV.8 présente trois cas de chargement capacitif de la grille résultant de l'auto-organisation de 2, 3 ou 5 streamers guidés se propageant dans le capillaire et collectés par la grille à potentiel flottant. Le Tableau IV.1 présente les paramètres électriques impulsionsnels ayant permis d'obtenir l'auto-organisation de 1 à 6 streamers.

Ordre d'auto-organisation	Amplitude	Fréquence de répétition	Rapport cyclique
1	6kV	5,0kHz	15%
2	5,5 kV	5,0 kHz	15%
3	5,0 kV	5,0 kHz	10%
4	4,7kV	5,0kHz	10%
5	4,5 kV	5,0 kHz	10%
6	4,3kV	5,0kHz	10%

Tableau IV.1 : Ordre d'auto-organisation en fonction de l'amplitude, de la fréquence et du rapport cyclique donné en consigne au générateur

L'auto-organisation des streamers guidés suit de manière synchrone la fréquence de répétition des impulsions ($f = 5 \text{ kHz}$), comme cela est représenté par les flèches rouges sur la Figure IV.8. Pour $N_{\text{SGAO}} = 2$, les deux temps caractéristiques de charge sont directement corrélés aux deux streamers observés par imagerie ICCD rapide. Il en est de même pour $N_{\text{SGAO}} = 3$ et 5.

Pour $N_{\text{SGAO}} = 2$, le profil de tension présente deux états : un état bas à environ 700V et un état haut à environ 1700V. Pour $N_{\text{SGAO}} = 3$, il existe trois états : bas, intermédiaire et haut. Pour $N_{\text{SGAO}} = 5$, cinq états sont relevés. On peut distinguer :

- Etats de décharge : ils correspondent au phénomène de décharge capacitive de la grille vers la plaque résistive. Cet état apparaît lorsque la tension de la grille passe un seuil critique qui la ferait monter au-dessus de 2000V. On remarque que l'état de décharge est similaire pour $N_{\text{SGAO}} = 1$ à 6.
- Etats sans décharge : ils correspondent au phénomène de chargement capacitif de la grille. Leur profil ressemble aux phénomènes de charge et décharge d'un condensateur. La valeur de la charge de la grille est proportionnelle à la tension fournie par le générateur (1250V de gain de tension lorsque la période est égale à 2 contre seulement 500V quand la période est égale à 5).

c. Caractérisation optique du plasma entre les deux cibles

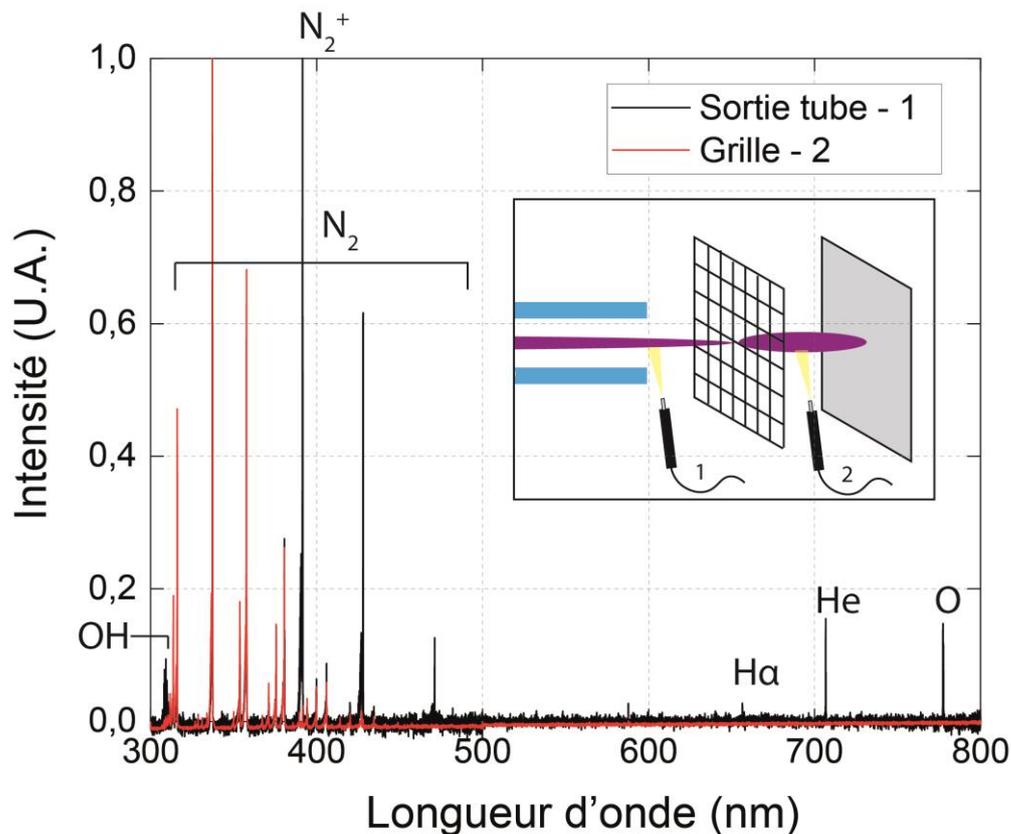


Figure IV.9: Spectre d'émission optique du plasma froid confiné soit dans l'espace capillaire-grille, soit dans l'espace grille-plaque.

La plume de plasma émise par le capillaire a été analysée par spectroscopie d'émission optique. La Figure IV.9 présente deux spectres d'émission s'étendant de 300 à 800 nm : le premier concerne la région capillaire-grille et est très différent du second obtenu à partir de la région grille-plaque. Les espèces émissives sont plus nombreuses en sortie du capillaire, comme en attestent les raies et bandes rovibrationnelles de N_2 , OH, $H\alpha$, He et O (triplet). En revanche, la région grille-plaque est caractérisée par un spectre qui ne laisse apparaître que les bandes de l'azote moléculaire. L'émission de l'ion N_2^+ est particulièrement visible dans cette région, à l'inverse de la région capillaire-grille.

3. Discussion

a. Influence de la polarisation de la grille sur la vitesse du streamer guidé

A partir de la Figure IV.5, il est possible de déterminer la vitesse de propagation de chacun des 3 streamers guidés atteignant successivement la grille : $v_{str,1} = 87 \text{ km. s}^{-1}$, $v_{str,2} = 84 \text{ km. s}^{-1}$ et $v_{str,3} = 80 \text{ km. s}^{-1}$. En d'autres termes, le premier streamer guidé est le plus rapide tandis que celui qui arrive en 3^{ème} position est le plus lent. Ces différences de vitesse sont faibles mais restent néanmoins significatives pour ne pas les attribuer à des incertitudes de mesure. Le premier streamer qui quitte le capillaire arrive sur la grille qui n'est pas encore polarisée. Le passage de ce premier streamer laisse alors sur la grille une charge positive résiduelle qui est toujours présente lorsqu'un deuxième streamer guidé l'atteint. L'interaction résultant de ces deux éléments chargés positivement (le streamer guidé et la charge résiduelle) est de nature répulsive, et conduit naturellement à un ralentissement de la propagation du second streamer. Lorsque celui-ci atteint la grille, il laisse à son tour une nouvelle charge positive résiduelle qui s'ajoute au reliquat de la première. Cette nouvelle charge positive résiduelle est donc plus grande que la première et est toujours présente lorsque le troisième et dernier streamer guidé se propage en direction de la grille. Là encore, l'interaction est de nature répulsive (puisque entre deux charges positives), entraînant *de facto* un ralentissement du troisième streamer guidé. D'une manière générale, plus la grille porte une charge positive élevée, plus la tension entre la grille et l'électrode HV est faible. Le streamer unique qui se propage de la grille à la plaque est déclenché quand le troisième streamer issu du capillaire est entré en collision avec la grille. L'écart temporel qui sépare d'une part ce troisième streamer issu du capillaire et d'autre part le streamer unique confiné dans la région grille-plaque à une valeur inférieure à 100 ns.

b. Streamer guidé dans la région grille-plaque

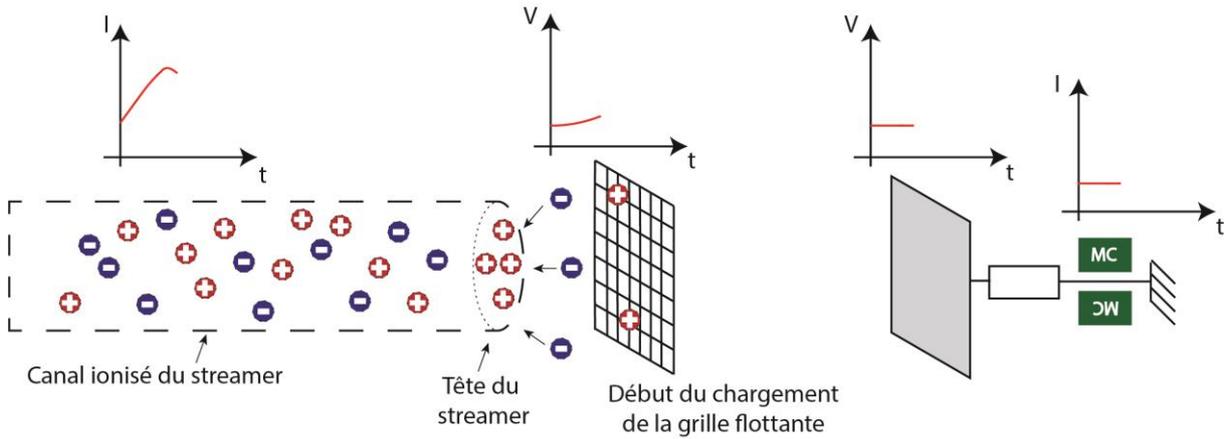
La Figure IV.6 montre qu'à l'instant $t = 1620 \mu\text{s}$ une émission lumineuse localisée apparaît au centre de la région grille-plaque. Ce « diffuse speck » apparaît dès lors que le champ électrique est suffisamment intense pour ioniser localement le gaz confiné dans cette région. Les Figures IV.13 et IV.14 représentent une explication du phénomène se déroulant lors de l'interaction du streamer entre la plaque et la grille. L'étape 1 est similaire entre les deux figures – elle n'est pas représentée sur la figure IV.10. Le streamer arrive et commence à charger positivement la grille. Deux cas se présentent ensuite :

- Une décharge n'a pas lieu dans cet espace, ce cas est représenté par la Figure IV.10, le streamer arrive sur la grille et continue de la charger positivement (Etape 2). Le champ électrique n'étant pas assez intense entre la grille et la plaque métallique, le potentiel d'ionisation n'est pas atteint. La contre-propagation a ensuite lieu comme montré dans (Decauchy, 2022).
- Une décharge a lieu dans l'espace grille-plaque métallique, ce phénomène est représenté par la Figure IV.11. Dans ce cas le champ électrique est suffisant pour

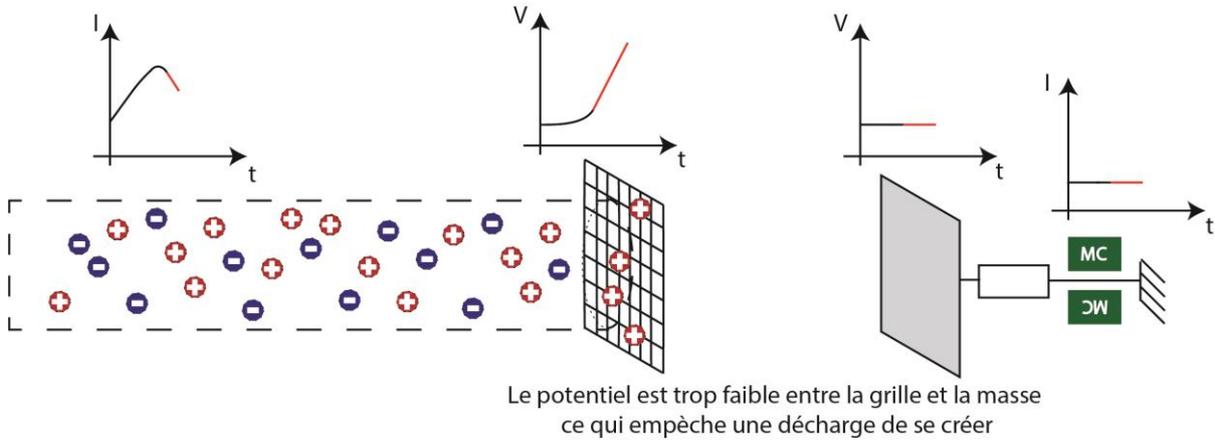
entraîner des avalanches électroniques dans l'espace entre la grille et la plaque. Comme montré dans la Figure IV.6, un streamer se crée premièrement au milieu de cet espace à 1620ns. Ce streamer est représenté dans l'étape 2 de la Figure IV.11. Dès que ce streamer est créé il se dirige directement vers la plaque et l'atteint en moins de 10ns (Figure IV.6). Simultanément, un autre streamer est créé au niveau de la grille métallique comme représenté dans l'étape 3. Après sa création il rejoint de même la plaque et forme un plasma. Son intensité se renforce pendant environ 50ns avant de diminuer progressivement pour finalement s'éteindre (étape 4). La durée totale du phénomène (~350ns) est en adéquation avec les observations issues des sondes de courant et de tension au niveau de la plaque.

Ainsi les deux précédentes figures expliquent en quoi l'ajout de la grille perturbe le système jet-cible. Tant que la grille n'atteint pas le seuil déclenchant la décharge celle-ci remplace la plaque et devient une sorte de « cible secondaire ». Des électrons sont arrachés à cette grille entraînant la création d'une forte charge surfacique positive. La grille se comporte comme un condensateur se chargeant au fur et à mesure (Figure IV.3). Lorsque le streamer arrive et que le seuil permettant la décharge est atteint, un phénomène lumineux apparaît dans l'espace grille-plaque. Comme vu dans la Figure IV.3, lors du claquage, la tension au niveau de la grille n'est pas la plus élevée relevée par la sonde de tension au niveau de la grille.

Etape 1 : Arrivée du streamer sur la cible flottante



Etape 2 : Chargement de la grille métallique



Etape 3 : Le streamer se contrepropage

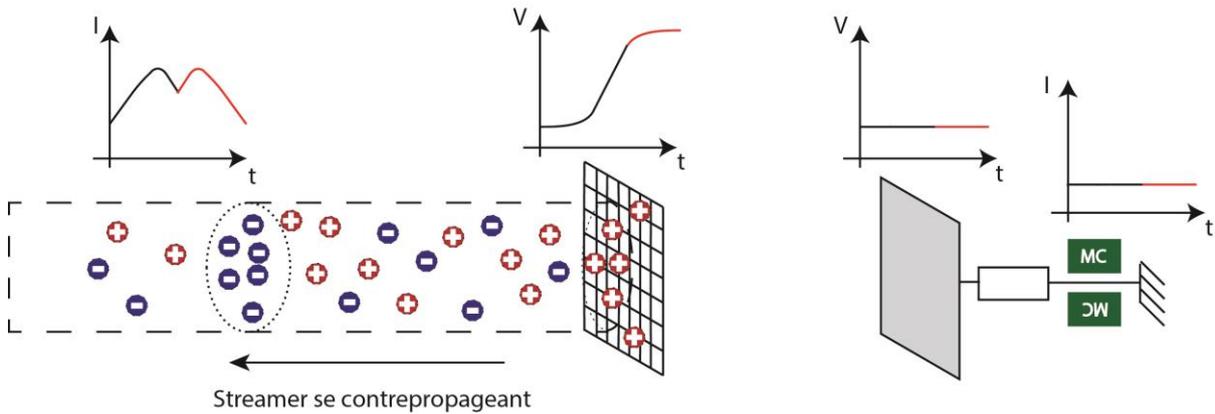
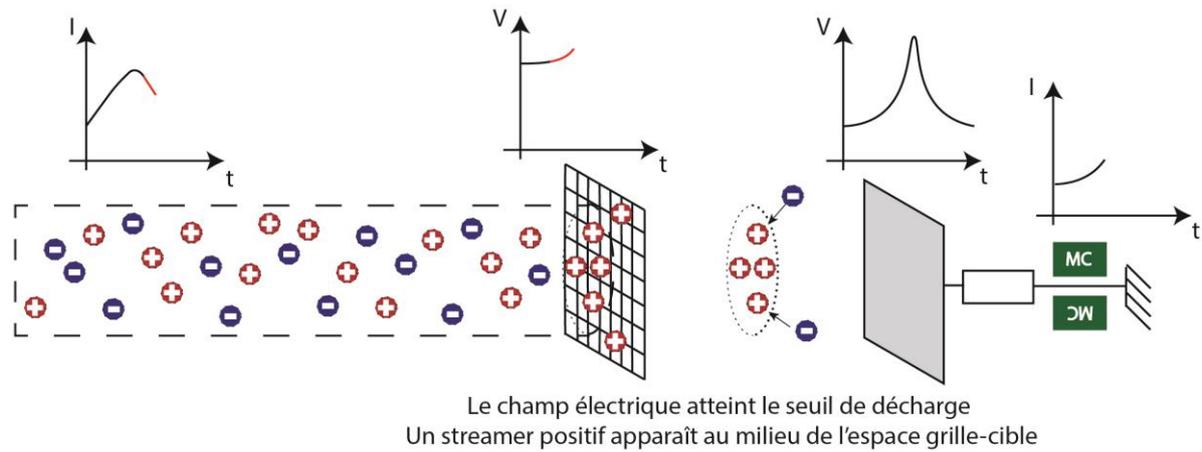
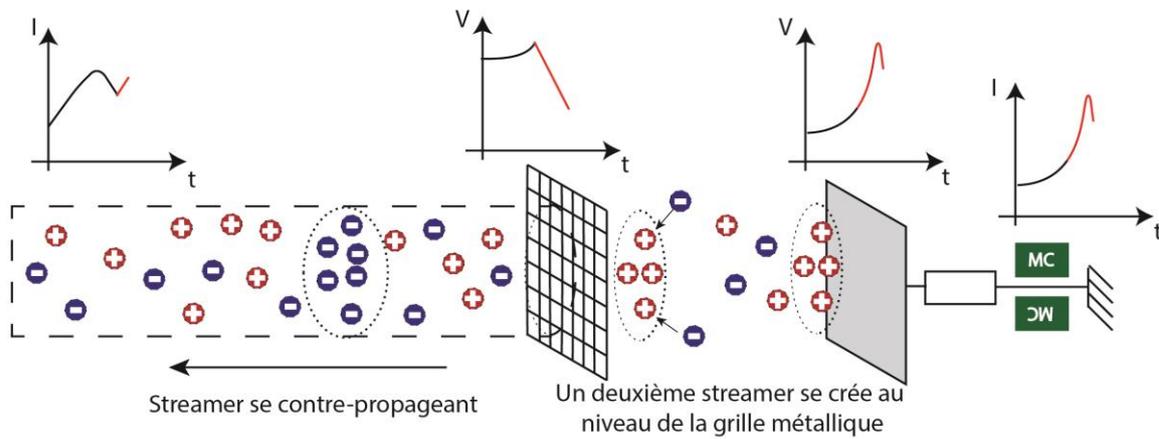


Figure IV.10 : Schéma explicatif des phénomènes se déroulant au niveau de l'interface grille-cible dans le cas où la décharge ne se déclenche pas entre la grille et la cible

Etape 2 : Chargement de la grille flottante



Etape 3 : Formation du second streamer



Etape 4 : Fin de la décharge

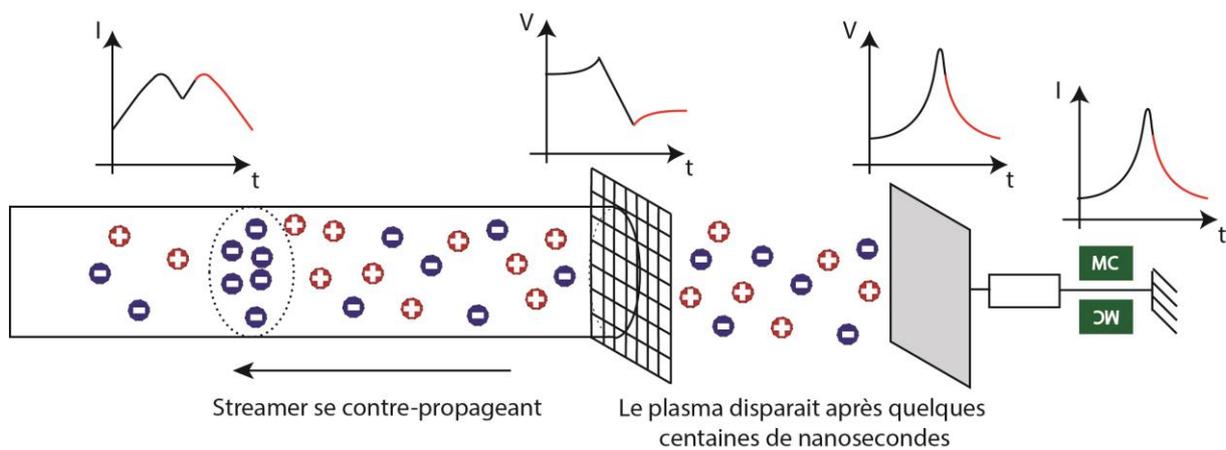


Figure IV.11 : Schéma explicatif des phénomènes se déroulant au niveau de l'interface grille-plaque dans le cadre où la décharge se déclenche entre la grille et la plaque – l'étape 1 est similaire à celle de la Figure IV.10.

c. Périodicité de la décharge

D'après le tableau IV.1, si la valeur de la tension du générateur fournie à l'électrode est inférieure à un seuil donné (6000V), la décharge entre la grille et la plaque se réalise de façon périodique. Comme montré dans la figure IV.8, les périodes sont similaires entre elles et ce dans tous les cas de N_{SGAO} présentés.

La forte stabilité de cette périodicité peut s'expliquer par les électrons germes apportés par le streamer et la création d'une fenêtre de décharge. Lorsque le streamer arrive il amène, sur la grille, un gaz ionisé émettant un rayonnement intense, pouvant ioniser par photo-ionisation. Lors de son arrivée se crée une fenêtre durant laquelle la décharge est facilitée par l'apport d'électrons germes au niveau de l'espace grille-plaque métallique pendant quelques centaines de nanosecondes.

Si le seuil d'ionisation n'est pas atteint durant cette période critique, la grille peut continuer à se charger lors de la contre-propagation à des valeurs supérieures à celles normalement nécessaires pour amorcer la décharge comme montré dans la Figure IV.3. Cette hypothèse est appuyée par la tension maximale atteinte par la tension de la grille qui peut être atteinte jusqu'à 2000V dans le cas de la période 2 mais ne peut dépasser les 1600V au moment même où le streamer atteint celle-ci. Cette fenêtre d'ionisation permet la stabilité de la décharge, celle-ci pouvant accepter un léger sur-chargement, et donc permet un nombre fixé de cycles de chargement avec une décharge dès que le streamer impacte la grille chargée.

4. Conclusion

Dans cette partie, l'imagerie ICCD, la spectrométrie d'émission optique et les diagnostics électriques ont permis de montrer que la présence d'une grille servant d'électrode flottante impacte la dynamique de propagation d'un streamer entre un jet et une plaque métallique reliée à la masse. Une auto-organisation de streamers guidés est observée : pour N streamers arrivant à la grille seulement 1 décharge est observée au niveau de la plaque métallique. Il a été émise l'hypothèse que cette auto-organisation est due principalement à la création d'une fenêtre d'ionisation permettant à la grille d'accepter un cycle fixe de chargement et de se décharger dès que le streamer arrive sur celle-ci. La décharge entre la grille et la plaque a été aussi modélisée au vu des données des sondes de tensions, des sondes de courant et de la vitesse des streamers étudiés en fonction de la valeur de tension de la grille.

Les chapitres 3 et 4 étaient consacrés à la physique fondamentale et plus particulièrement à l'interaction streamer-cible. L'expertise acquise dans les interactions plasma-cibles a permis de concevoir un dispositif endoscopique pouvant traiter les voies biliaires humaines.

Chapitre V - Application du plasma froid au cholangiocarcinome

Table des matières

1. Etude de faisabilité/risques : application endoscopique du plasma froid aux voies biliaires.....	124
a. Rôle du fil auxiliaire dans le cathéter à plasma transféré	124
b. Cathéter à plasma transféré appliqué au modèle de l'arbre biliaire humain artificiel (ABHA).....	126
1. Propriétés électriques (cathéter opérant en dehors du duodéroscope) ...	126
2. Propriétés thermiques (cathéter opérant en dehors du duodéroscope) ..	128
c. Cathéter à plasma transféré dans le duodéroscope appliqué au modèle post-mortem de l'arbre biliaire porcin (ABPP).....	129
1. Cadre expérimental	129
2. Propriétés électriques	131
3. Propriétés thermiques	138
2. Etude <i>in vivo</i> : effets anti-tumoraux sur modèle murin	141
a. Effet du traitement plasma sur un modèle murin <i>in vivo</i>	141
b. Le plasma froid induit l'apoptose des cellules de cholangiocarcinome.....	142
3. Mécanistique de la mort cellulaire induite par milieu activé au plasma froid (MAP)	143
a. Sélectivité biologique induite par le MAP.....	143
b. Arrêt du cycle cellulaire des cellules de cholangiocarcinome	145
c. Apoptose des cellules de cholangiocarcinome	147
d. Modification du phénotype des macrophages associés aux tumeurs.....	148
4. Conclusion	150
Bibliographie.....	151

Ce chapitre présente les résultats obtenus sur le traitement par plasma froid du cholangiocarcinome (CCA) dans le cadre d'une collaboration entre le LPP et le CRSA : le Centre de Recherche de l'hôpital Saint-Antoine, à Paris. Dans une première partie nous nous intéresserons aux effets du plasma froid sur des modèles murins porteurs de tumeurs de cholangiocarcinome et la mécanistique du PFA (Plasma Froid Atmosphérique) sur les cellules. Des traitements *in vivo* montrent l'effet antitumoral du

PFA et permettront d'identifier des modes d'actions cellulaires. Ceux-ci seront confirmés lors d'expériences *in vitro* et un mode d'action sera explicité par la suite.

1. Etude de faisabilité/risques : application endoscopique du plasma froid aux voies biliaires

Cette section commence par une caractérisation physique du cathéter à plasma transféré (voir Section chap2.I.b.iii) pour expliquer comment le plasma froid peut se propager sur de longues distances malgré des tensions de seulement quelques kV. Dans un deuxième temps, le cathéter est appliqué sur le modèle ABHA (Arbre Biliaire Humain Artificiel), sans être inséré dans le duodénolescope. Cette étude vise à valider l'absence de risques électriques et thermiques susceptibles d'invalider la configuration retenue. Dans un troisième temps, le cathéter à plasma transféré est introduit dans le canal opérateur du duodénolescope, l'ensemble étant inséré dans le modèle ABPP (Arbre biliaire Post-mortem Porcin). Ce modèle anatomique porcin, plus proche d'un cas réel de patient, fait l'objet d'une nouvelle étude de faisabilité-risque. Dans un quatrième temps, l'efficacité thérapeutique de l'endoscopie par plasma froid est démontrée sur des cellules de CCA dans le cadre d'une campagne expérimentale *in vitro*. Pour rappel, l'efficacité antitumorale ne peut pas être démontrée sur des modèles porcins vivants, une telle approche n'existant pas dans le cas du CCA.

a. Rôle du fil auxiliaire dans le cathéter à plasma transféré

Le cathéter à plasma comporte un long fil auxiliaire courant le long de son capillaire, une extrémité étant en contact avec le plasma dans la chambre principale et l'autre avec le panache de plasma. La Figure V.1a montre les profils de tension mesuré aux extrémités proximale et distale du fil auxiliaire pendant le fonctionnement du plasma ($V_{\text{Géné}} = 10 \text{ kV}$, $R_{\text{cyclique}} = 1\%$, $f_{\text{rep}} = 10 \text{ kHz}$, $\Phi_{\text{He}} = 1 \text{ slm}$). Une différence importante d'amplitude est observée entre les extrémités proximales (1400V) et distales (350V). Le courant a toujours le même profil, que ce soit à l'extrémité proximale, à l'extrémité distale (données non présentées) ou à mi-longueur (Figure V.1b). Par conséquent, la puissance diminue depuis l'extrémité proximale (0,67W) jusqu'à l'extrémité distale (0,25W), soit une perte de 63 %. En outre, l'impédance du fil auxiliaire peut être obtenue à l'aide de l'équation {V.1} et tracée en fonction du temps sur la Figure V.1c. Une valeur moyenne de $80 \text{ k}\Omega$ est obtenue.

$$Z_{\text{fil}} = \frac{V_{\text{fil,pr}} - V_{\text{fil,dist}}}{I_{\text{fil,mil}}} \text{ \{V. 1\}}$$

Chapitre V - Application du plasma froid au cholangiocarcinome

Etude de faisabilité/risques : application endoscopique du plasma froid aux voies biliaires

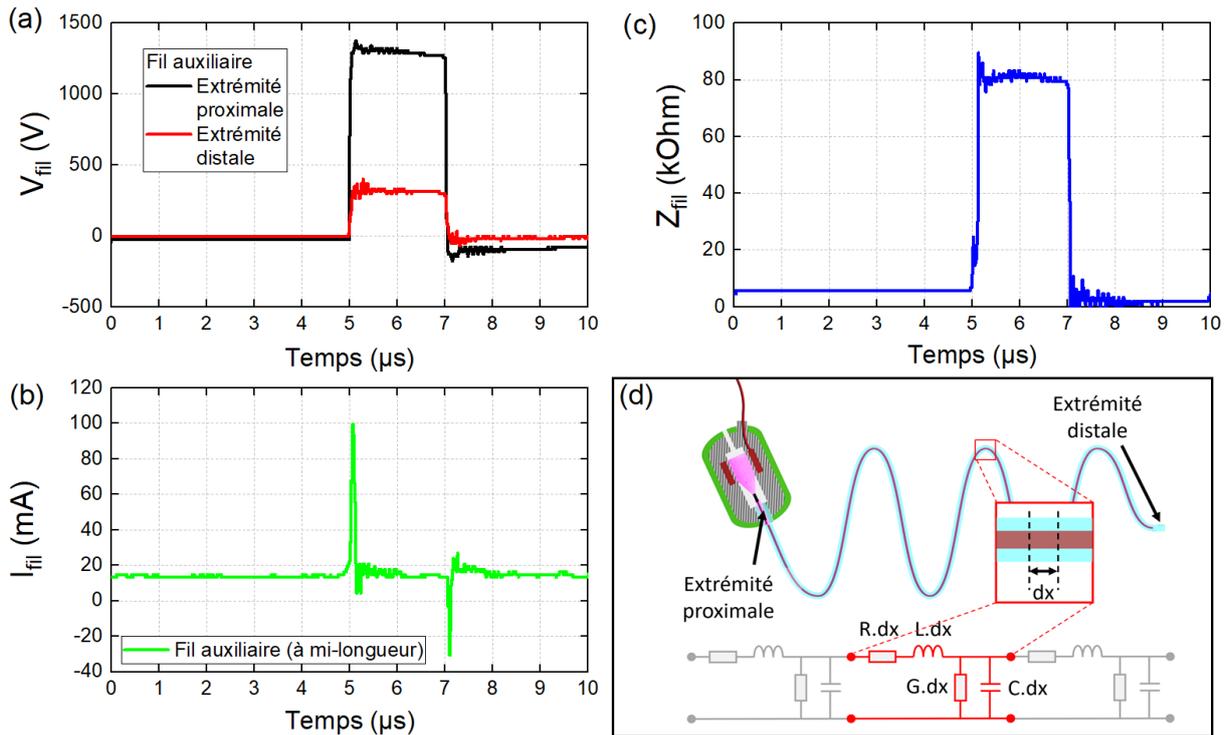


Figure V.1: (a) Profil temporel de la tension mesurée aux extrémités proximale et distale de la ligne de transmission, (b) Profil temporel du courant mesuré à mi-longueur de la même électrode. Dans les deux cas, le cathéter à plasma transféré n'est pas inséré dans le duodénolescope ($R_{cyclique} = 1\%$, $f_{rep} = 5$ kHz, débit He = 1 slm). (c) Impédance du fil auxiliaire, (d) Représentation schématique des composants élémentaires d'une ligne de transmission.

La compréhension de ces résultats repose sur le principe que le fil auxiliaire peut se comporter soit comme une électrode flottante, soit comme une ligne de transmission selon que sa longueur (L_{fil}) est négligeable par rapport à la période spatiale du signal de tension qui le traverse. Cette période spatiale (λ) est définie comme le rapport de la vitesse de propagation du streamer (v) par sa fréquence de répétition temporelle (f_{rep}), comme indiqué dans la relation {V.2} :

$$\lambda = \frac{v}{f_{rep}} \quad \{V.2\}$$

Ici, comme le plasma se propage à environ 100 km.s^{-1} et que la fréquence du signal est de 10 kHz, on estime que λ est proche de 10 m. Cette valeur est probablement surestimée car la décomposition en série de Fourier du signal impulsionnel montre la présence d'harmoniques à des fréquences beaucoup plus élevées en raison du front montant très rapide de la tension (30 ns). Par conséquent, si $L_{fil} \ll 10$ m (c'est-à-dire quelques centimètres), le fil auxiliaire se comporte comme une électrode flottante : le potentiel électrique est uniforme en tout point et invariable dans le temps. En revanche, si L_{fil} a une valeur significativement proche de 10 cm ou même supérieure à 10 cm, alors le fil auxiliaire se comporte comme une ligne de transmission (ou guide d'ondes). Dans ce dispositif, puisque $L_{fil} = 2$ m, le fil auxiliaire peut être modélisé comme une ligne de transmission, comme l'ont déjà suggéré Bastin et al. (Bastin, 2020). Afin de comprendre ces résultats, le cathéter est modélisé comme une série infinie de composants élémentaires à deux ports, chacun représentant un segment infiniment court de la ligne

Chapitre V - Application du plasma froid au cholangiocarcinome

Etude de faisabilité/risques : application endoscopique du plasma froid aux voies biliaires

de transmission dont la section transversale est considérée comme constante sur toute sa longueur. Ces composants élémentaires à deux ports sont détaillés dans le Tableau V.1 et un schéma de leur disposition est proposé dans le modèle électrique équivalent de la Figure V.1d. Les inductances en série peuvent être négligées car le profil de tension de la Figure V.1a et le profil de courant de la Figure V.1b ne présentent pas de déphasage significatif. En revanche, les résistances shunt doivent être prises en compte. En effet, lorsque le cathéter est alimenté, on peut observer du plasma de manière non uniforme le long du capillaire flexible, comme le montre la Figure V.1b. Ainsi, les régions émissives qui indiquent la présence de plasma, peuvent être modélisées par une résistance, tandis que les régions non émissives indiquent la présence d'hélium non ionisé et peuvent donc être modélisées par un condensateur. Le cathéter se comporte comme une ligne de transmission caractérisée par d'importantes pertes d'énergie résultant de la présence de régions de plasma tout au long du cathéter. Enfin, il convient de souligner que la terminologie d'« électrode flottante » est inappropriée dans notre étude pour au moins deux raisons : tout d'abord le fil auxiliaire est traversé par un gradient de potentiel (alors que par définition, la tension est uniforme au sein d'une même électrode) et son impédance est de $80 \text{ k}\Omega$ (alors que par définition, elle doit être nulle dans toute électrode).

Mesurandes	Composants	Symboles	Unités
Résistance des conducteurs le long de la ligne	Résistance en série	R	$\Omega \cdot m^{-1}$
Inductance le long de la ligne résultant du champ magnétique associé à la propagation des streamers.	Inductance en série	L	$H \cdot m^{-1}$
Capacité entre le fil auxiliaire et les parois extérieures du cathéter	Condensateur en parallèle	C	$F \cdot m^{-1}$
Conductance du gaz entre le fil auxiliaire et les parois du cathéter	Résistance en parallèle	G	$S \cdot m^{-1}$

Tableau V.1 : Composants élémentaires de la ligne de transmission

b. Cathéter à plasma transféré appliqué au modèle de l'arbre biliaire humain artificiel (ABHA)

1. Propriétés électriques (cathéter opérant en dehors du duodéroscope)

Le cathéter à plasma transféré est placé dans le modèle ABHA de sorte que la distance entre son extrémité distale et l'insert de tumeur électrique équivalent soit de 10 mm. Les profils temporels de la tension et du courant déposés sur l'insert tumoral électrique équivalent sont présentés respectivement dans les Figure V.2a et b. Il s'avère que les valeurs maximales sont d'environ 40 V et 10 mA. Considérant que les signaux sont

Chapitre V - Application du plasma froid au cholangiocarcinome

Etude de faisabilité/risques : application endoscopique du plasma froid aux voies biliaires

proches des profils d'impulsion, leurs valeurs RMS peuvent être déduites de la relation {V.3} et ne correspondent qu'à 3,98 V et 1,19 mA respectivement. Ensuite, la puissance électrique dissipée dans l'insert de tumeur électrique équivalent est évaluée à l'aide de la relation {V.4} :

$$V_{RMS} = V_{max} \cdot \sqrt{R_{cyclique}} \quad \{V.3\}$$

$$P_{Déposée} = f_{rep} \cdot \int_T I_{Déposé}(t) \cdot V_{Déposée}(t) \cdot dt \quad \{V.4\}$$

Comme le montre la Figure V.2c, l'influence de la tension du générateur de 5,5 kV à 8,0 kV ainsi que l'influence de la fréquence de répétition de 1 à 10 kHz conduisent à des valeurs de puissance toujours inférieures à 5 mW, ce qui - en première approximation - correspond à des densités de puissance proches de 10 mW.cm⁻³ dans les canaux biliaires. Il est intéressant de noter que la Figure V.2d indique que cette puissance électrique a une dépendance non linéaire avec l'écart entre la sortie du capillaire et la tumeur. Alors que P_{Déposée} reste toujours inférieure à 2 mW pour des écarts supérieurs à 3 mm, P_{Déposée} atteint une valeur aussi élevée que 40 mW pour un écart de 3mm. Pour cette raison, le gap est un paramètre stratégique qui doit être finement contrôlé lors d'interventions telles que la CPRE. En variant cet écart, il est possible de contrôler la puissance déposée et donc la température des tissus exposés, comme nous le verrons dans la section suivante. Enfin, il faut souligner que ces profils sont obtenus lorsque le cathéter est à l'extérieur du duodénolescope. Par la suite, nous verrons comment la configuration "cathéter dans le duodénolescope" modifie significativement les caractéristiques électriques du plasma.

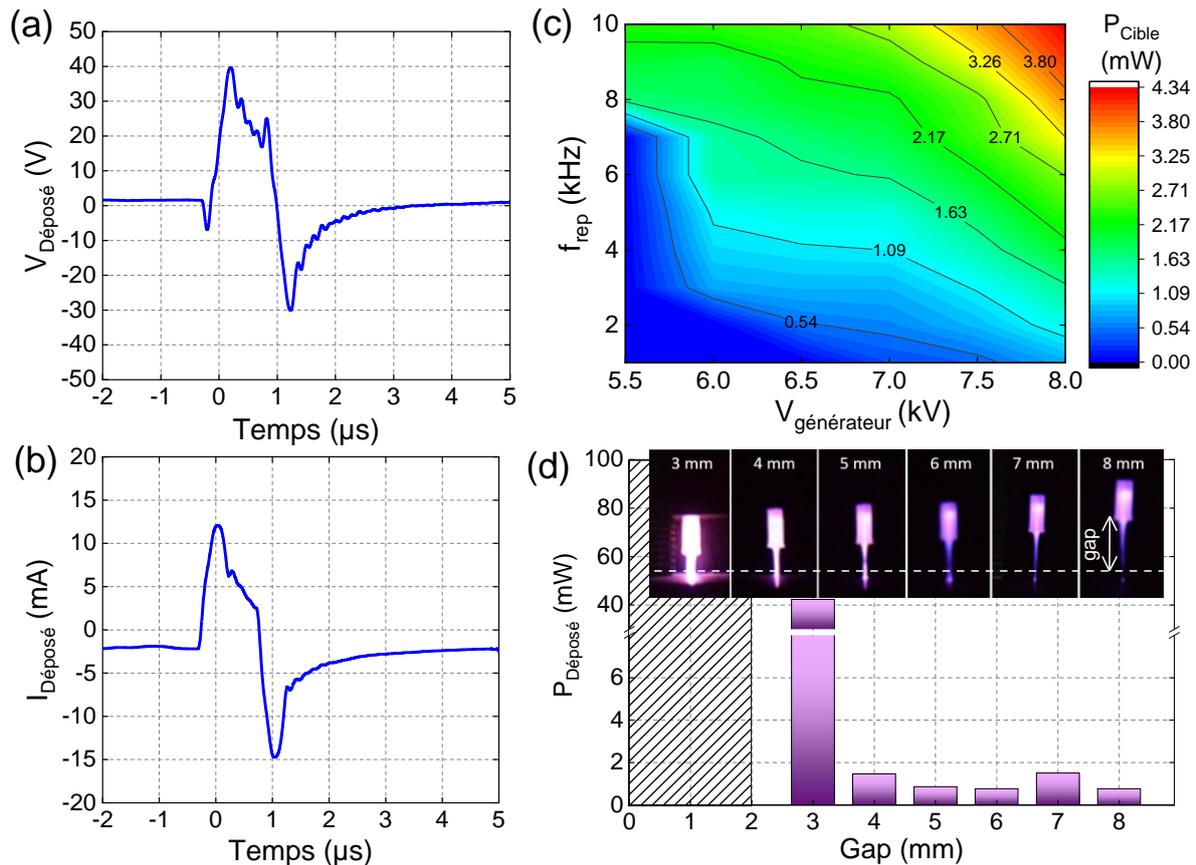


Figure V.2 : (a) Profil temporel de la tension mesurée sur l'insert tumoral ABHA, (b) profil temporel du courant mesuré sur l'insert tumoral ABHA, (c) puissance dissipée dans l'insert tumoral ABHA en fonction de la tension délivrée par le générateur et de sa fréquence de répétition, (d) puissance mesurée dans l'insert tumoral ABHA en fonction de l'écart. Dans tous les cas, le cathéter à plasma transféré n'est pas inséré dans le duodélescope ($R_{\text{cyclique}} = 1\%$, $f_{\text{rep}} = 10$ kHz, $\Phi_{\text{He}} = 1$ slm, gap = 10 mm).

2. Propriétés thermiques (cathéter opérant en dehors du duodélescope)

La Figure V.3 montre des photographies infrarouges d'une partie du modèle ABHA où le cathéter à plasma transféré est en fonctionnement. Les photographies sont prises à 1 min et 10 min après l'allumage du plasma froid, sans/avec le couvercle de protection transparent et plusieurs observations sont à noter :

(i) Les valeurs de température sont tout à fait compatibles avec l'application médicale visée puisque le seuil de 40°C n'est jamais dépassé.

(ii) A l'intérieur des voies biliaires, la température passe d'environ 22°C à 24°C après 1 min pour se stabiliser à une valeur maximale de 28°C après 10 minutes de fonctionnement.

(iii) Sur la Figure V.3a, l'effluent gazeux se propage préférentiellement dans le "canal biliaire droit" dont les parois internes sont chauffées par le panache de plasma. Néanmoins, ce même effluent se propage également de manière isotrope sur des

Chapitre V - Application du plasma froid au cholangiocarcinome

Etude de faisabilité/risques : application endoscopique du plasma froid aux voies biliaires

distances plus courtes sans être ionisé, conduisant à un refroidissement très localisé des parois internes mais tout de même significatif puisqu'une valeur d'environ $-1,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ est obtenue (la caméra infrarouge ayant une sensibilité thermique de $0,05\text{ }^{\circ}\text{C}$).

(iv) L'ajout du couvercle de protection (1 cm d'épaisseur) illustre qualitativement la diffusion de la chaleur émise par le plasma dans les tissus adjacents. La température passe de $22\text{ }^{\circ}\text{C}$ à $24\text{ }^{\circ}\text{C}$ après 1 min d'exposition, pour atteindre $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ après 10 min. Les températures maximales obtenues dans les Figure V.3c et d ne présentent pas d'écarts significatifs.

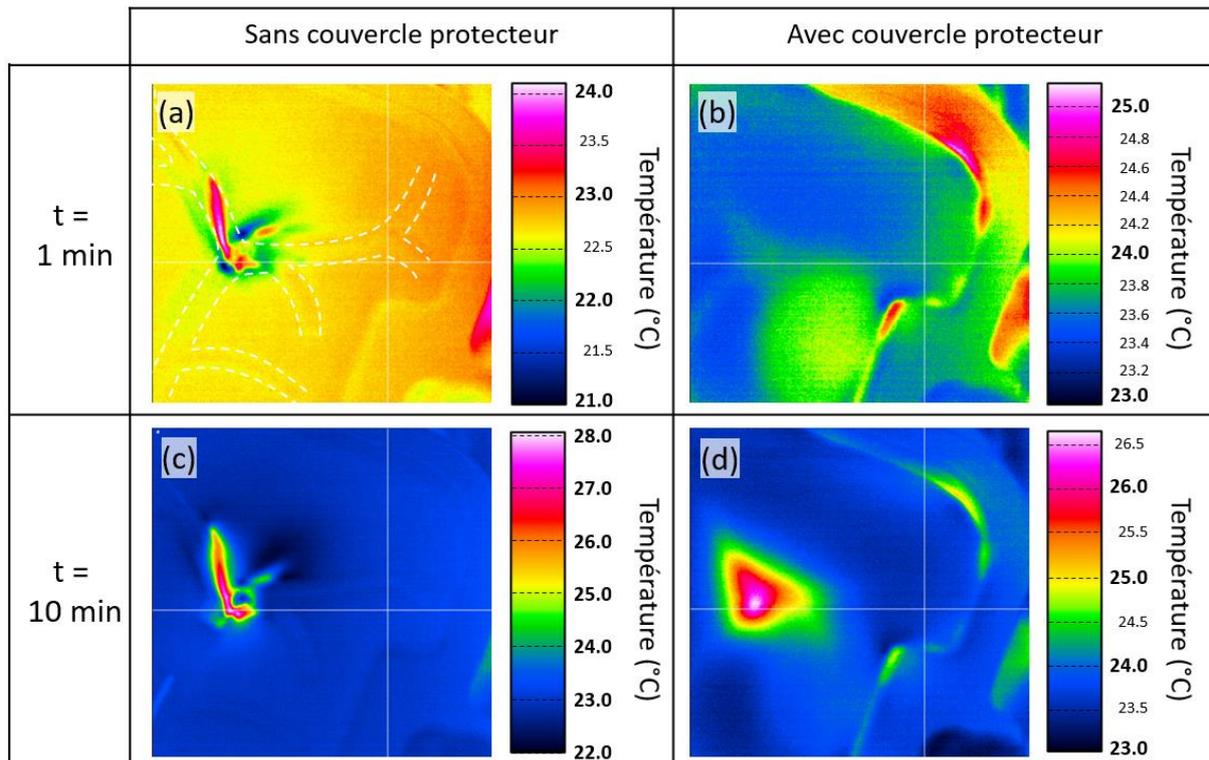


Figure V.3: Images infrarouges du modèle ABHA où le plasma froid est délivré dans le canal biliaire droit. Le cathéter à plasma transféré fonctionne à $V_{\text{Générateur}} = 7\text{ kV}$, 10 kHz , $\Phi_{\text{He}} = 1\text{ slm}$. Les photos sont prises à $t = 1\text{ min}$ et $t = 10\text{ min}$ après l'exposition au plasma avec couverture protectrice transparente pour (b) et (d), ou sans pour (a) et (c).

c. Cathéter à plasma transféré dans le duodéroscope appliqué au modèle post-mortem de l'arbre biliaire porcin (ABPP)

1. Cadre expérimental

La faisabilité technique du cathéter à plasma transféré a été démontrée sur un modèle reproduisant la topographie des voies biliaires tout en maîtrisant les risques électriques et thermiques. Nous proposons maintenant d'utiliser un modèle plus proche de l'humain, dans la perspective de mener des recherches cliniques dans un futur proche. La photographie de la Figure V.4a montre l'environnement expérimental dans lequel cette nouvelle étude est réalisée : le modèle ABPP est placé dans l'EASIE-RTM sur une table de radiologie. Le duodéroscope est relié à la colonne d'endoscopie interventionnelle qui gère les fluides entrants/sortants, la source lumineuse du duodéroscope et le système vidéo en temps réel (pour l'acquisition et le traitement des données). Un imageur à rayons X est également utilisé pour effectuer un contrôle radiographique en temps réel des outils

Chapitre V - Application du plasma froid au cholangiocarcinome

Etude de faisabilité/risques : application endoscopique du plasma froid aux voies biliaires

endoscopiques (cathéter, duodéroscope, instruments, etc.) dans les cavités du modèle ABPP.

Avant d'insérer le cathéter à plasma transféré dans le duodéroscope pour traiter les voies biliaires, une manœuvre préliminaire est réalisée par voie percutanée, c'est-à-dire sans utiliser le duodéroscope. Pour cela, une fine incision chirurgicale est réalisée dans le duodénum pour introduire le cathéter dans les voies biliaires. La Figure V.4b est une photographie qui montre que la partie du cathéter laissée à l'extérieur du modèle porcin présente à la fois des régions émissives (indiquant la présence de plasma) et des régions sombres (indiquant la présence d'hélium non ionisé). Les paramètres électriques et thermiques ayant montré des valeurs proches de celles obtenues dans la section précédente, une intervention endoscopique conventionnelle peut maintenant être réalisée en suivant une séquence de 4 étapes :

(i) Le cathéter à plasma transféré est introduit dans le canal de travail du duodéroscope qui reste à l'extérieur du modèle ABPP. Le cathéter est alimenté à 10 kV afin de garantir qu'un panache de plasma puisse être généré. La configuration " cathéter + duodéroscope " est validée, comme en témoigne la Figure V.4c puisque le panache est visible et peut atteindre une longueur d'environ 1 cm. Ensuite, le plasma est éteint.

(ii) Le duodéroscope est introduit dans l'œsophage, l'estomac puis le duodénum pour atteindre la papille qui marque l'entrée de l'arbre biliaire.

(iii) A l'aide d'un fil guide, l'endoscopiste fait glisser le cathéter jusqu'à ce qu'il traverse la papille. Le cathéter est introduit dans le canal cholédoque pour remonter jusqu'au canal hépatique commun.

(iv) Le cathéter est mis en marche pendant une vingtaine de minutes au cours desquelles des mesures électriques et thermiques sont effectuées. La Figure V.4c est une photographie du modèle ABPP qui montre le plasma froid illuminant le canal biliaire de l'intérieur.

Chapitre V - Application du plasma froid au cholangiocarcinome

Etude de faisabilité/risques : application endoscopique du plasma froid aux voies biliaires

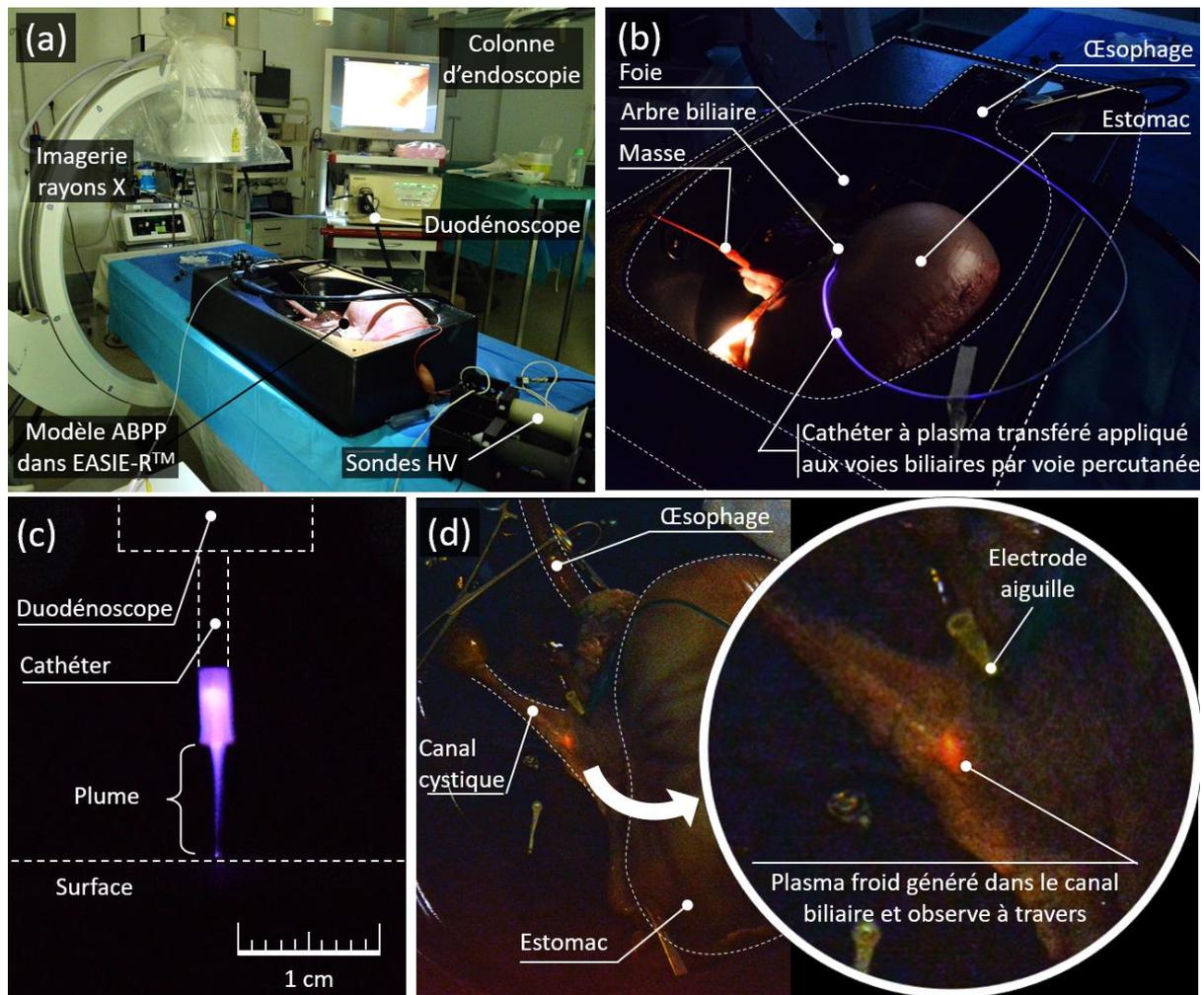


Figure V.4: (a) Photographie de la salle d'opération où un modèle d'arbre biliaire de porc post-mortem est contenu dans EASIE-RTM avec des équipements d'endoscopie et de plasma, (b) Photographie du modèle ABPP dans lequel une fine incision chirurgicale est réalisée dans le duodénum pour insérer le cathéter de plasma transféré directement dans le canal biliaire sans avoir à utiliser le duodénolescope, (c) Photographie de la plume de plasma émise par le cathéter de plasma transféré inséré dans le duodénolescope (d) Photographie du modèle ABPP où le plasma froid est délivré dans le canal biliaire et observé à travers celui-ci.

2. Propriétés électriques

Pour vérifier l'absence de risques électriques inhérents à la procédure d'endoscopie au plasma froid, le courant, la tension et la puissance déposés dans les voies biliaires sont mesurés à l'aide du dispositif illustré à la Figure V.5a. Lorsque le panache de plasma froid est généré dans le canal biliaire commun au point A, une électrode aiguille est placée dans le tissu adjacent à environ 20 mm (point B). Cette électrode est ensuite connectée au modèle électrique équivalent (résistance de 1,5 k Ω en parallèle avec un condensateur de 100 pF). La Figure V.5b montre les valeurs $P_{\text{Modèle}}$ mesurées pour $V_{\text{Générateur}}$ entre 8 et 10 kV et un f_{rep} réglé entre 5 et 10 kHz. A travers ces 5 conditions expérimentales, il apparaît que la puissance électrique varie typiquement entre 250 et 500 mW : des valeurs supérieures à celles obtenues lorsque le cathéter fonctionne en dehors du duodénolescope mais qui conduisent à un échauffement raisonnable. En amont de ces valeurs de puissance électrique, il est important de regarder les profils temporels de tension et de courant dissipés dans le modèle ABPP. Alors que la Figure V.5c rappelle le profil temporel de la

Chapitre V - Application du plasma froid au cholangiocarcinome

Etude de faisabilité/risques : application endoscopique du plasma froid aux voies biliaires

tension délivrée par le générateur ($V_{\text{Générateur}} = 10 \text{ kV}$, $f_{\text{rep}} = 10 \text{ kHz}$, $R_{\text{cyclique}} = 1\%$), les Figure V.5d et e représentent les profils temporels de $V_{\text{Déposée}}$ et $I_{\text{Déposé}}$. La tension et le courant atteignent des valeurs maximales d'environ 200 V et 1 A respectivement et des valeurs RMS de 20 V et 100 mA respectivement. La valeur RMS du courant est surestimée car les pics de courant n'ont pas une amplitude constante de 1A pendant la largeur d'impulsion de 1 μs . Un calcul plus précis indique une valeur efficace de 32 mA. Bien qu'il soit courant d'évaluer les risques électriques par le biais de ces paramètres RMS, leur utilisation ici n'est pas pertinente, comme cela est détaillé plus loin (Figure V.7), à la lumière des normes régissant la sécurité des dispositifs médicaux délivrant des impulsions de courant de courte durée.

A ce stade, trois questions se posent légitimement : pourquoi l'intensité absolue du courant est-elle multipliée par un facteur de $1/0,012 = 80$ (selon que le cathéter est inséré ou non dans le duodéno-scopie) ? Quels types d'effets électromagnétiques indésirables peuvent résulter de l'excitation nanopulsée de plasmas froids ? Les paramètres électriques sont-ils sûrs pour un patient soumis à une telle procédure endoscopique au plasma ? Les réponses à ces questions sont discutées ci-dessous.

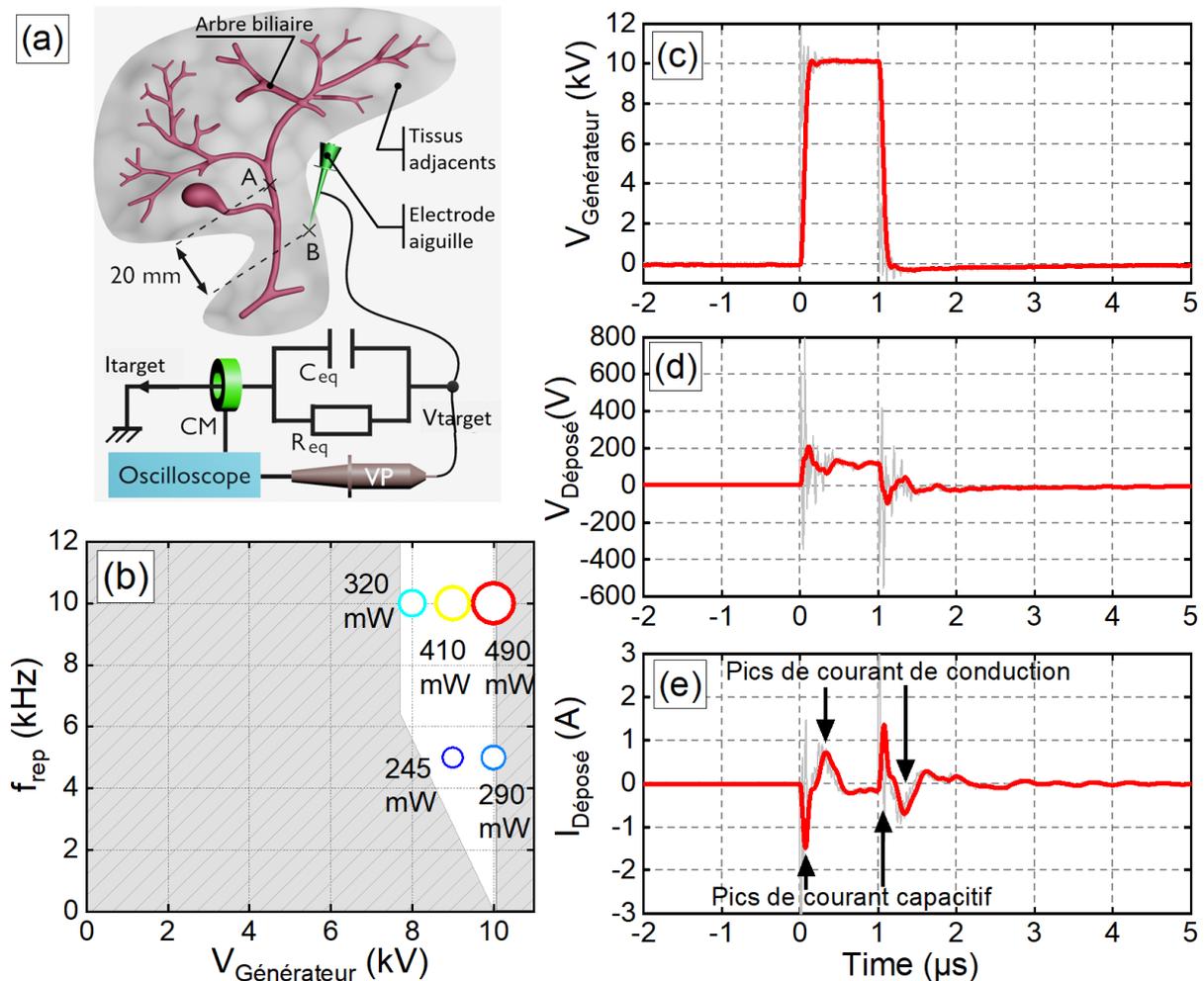


Figure V.5: (a) Schéma montrant comment la tension et le courant sont mesurés dans le corps du porc, (b) Puissance électrique déposée par le plasma froid dans les canaux biliaires en fonction de l'amplitude de la tension et de la fréquence de la tension ($R_{\text{cyclique}} = 1\%$, $\Phi_{\text{He}} = 1 \text{ slm}$), (c) Profil temporel de la tension appliquée pour une amplitude de 10 kV, $R_{\text{cyclique}} = 1\%$ et $f_{\text{rep}} = 10 \text{ kHz}$, (d) Profil temporel de la tension mesurée dans la ABPP, (e) Profil temporel du courant mesuré dans la ABPP.

(a) Pourquoi le courant augmente-t-il si le cathéter est inséré dans le duodéroscope ?

Tout d'abord, la Figure V.6a rappelle que le gaz confiné dans le capillaire diélectrique n'est ionisé qu'à certains endroits. Le fil auxiliaire se comporte comme une ligne de transmission dont les conductances (G_{dx}) et les capacités (C_{dx}) élémentaires correspondent respectivement à ces régions de gaz ionisé et non ionisé, comme le montre la Figure V.6b. Cette modélisation est complétée par $C_{Catheter}$ et C_{Canall} qui correspondent respectivement à la capacité du cathéter (plus précisément l'épaisseur diélectrique de son capillaire) et à la capacité de l'environnement gazeux au sein du canal de travail. Cet ensemble est relié électriquement aux tissus biologiques modélisés par la mise en parallèle de R_{eq} et C_{eq} . Lorsque le cathéter fonctionne à l'extérieur du duodéroscope, le potentiel V_B (Figure V.6b) est flottant, de sorte que les courants de fuite passant par le $C_{Catheter}$ sont relativement faibles. Comme ils ne peuvent pas contribuer à un transfert de charge vers le stylo plasma, ils peuvent également être appelés "courants de perte". En revanche, lorsque le cathéter se trouve dans le duodéroscope, le potentiel V_B n'est plus flottant. En effet, le cathéter est inséré dans le canal opérateur du duodéroscope, dont les parois internes sont à certains endroits métalliques et reliées à la terre. Par conséquent, V_B est mis à la terre, ce qui conduit à des valeurs ($V_A - V_B$) supérieures à celles obtenues dans la configuration simple du cathéter, et donc à des courants de fuite beaucoup plus élevés. Ces courants de fuite ne sont pas perdus : ils sont transférés aux tissus à traiter par simple contact avec le duodéroscope. Ces courants de fuite peuvent donc contribuer à augmenter significativement la valeur de $I_{Déposé}$, comme le montre la Figure V.5e.

(b) Effets électromagnétiques indésirables

Des bruits électromagnétiques sont émis par le générateur HT pendant la procédure endoscopique, créant des interférences sur les systèmes de communication et d'affichage (caméra CCD embarquée dans le duodéroscope, moniteurs de la colonne endoscopique, ...). Les images transmises en temps réel sont altérées par l'apparition de motifs parasites régulièrement espacés, ce qui peut perturber le travail d'analyse des endoscopistes, notamment lors du traitement de patients présentant des complications pathologiques ou anatomiques (ex : sténose). L'élimination du bruit électromagnétique est donc une question importante qui devra être traitée pour faire de l'endoscopie par plasma froid une technologie à la fois fiable et conforme aux attentes des endoscopistes.

Un autre effet secondaire attendu est l'apparition de courants de Foucault si le cathéter à plasma est alimenté par une excitation nanoimpulsionnelle. Comme le montre la Figure V.6c, le courant circulant dans le fil auxiliaire crée une induction magnétique $\vec{B}(r, t) = B(r, t)\vec{e}_\theta$. Ses lignes de champ circulaires peuvent traverser les structures internes du duodéroscope, notamment les contours métalliques fermés qui sont à la fois nombreux et entrecroisés. Par souci de clarté, on considère sur la Figure V.6c un seul contour conducteur fermé, constitué de deux fils d'angulation parallèles et des éléments métalliques proximaux/distaux intégrés au duodéroscope. Ce contour est associé à une

Chapitre V - Application du plasma froid au cholangiocarcinome

Etude de faisabilité/risques : application endoscopique du plasma froid aux voies biliaires

surface orientée $\vec{S} = \int \int dS \cdot \vec{n}$ et le produit scalaire $\vec{B} \cdot \vec{S}$ correspond au flux magnétique $\Phi(t)$ donné par la relation {V.5}. Selon la loi de Lenz-Faraday, une variation temporelle de $\Phi(t)$ à travers le contour de la résistance R, génère une force électromotrice $e_{ind}(t)$ aux bornes de ce contour qui est créée pour s'opposer à la variation de $\Phi(t)$. Comme indiqué dans l'équation {V.6}, $e_{ind}(t)$ est associé à un courant induit $i_{ind}(t)$ qui est appelé "courant de Foucault" s'il circule dans un contour métallique fermé. Ce type de courant peut avoir plusieurs effets indésirables, notamment la perte de puissance et l'échauffement de certains conducteurs (dissipation d'énergie par effet Joule).

$$\Phi(t) = \int \int_{\Sigma} \vec{B}(t) \cdot dS \cdot \vec{n} \quad \{V.5\}$$

$$i_{ind}(t) = \frac{e_{ind}(t)}{R} = -\frac{1}{R} \cdot \frac{d\Phi}{dt} \quad \{V.6\}$$

Chapitre V - Application du plasma froid au cholangiocarcinome

Etude de faisabilité/risques : application endoscopique du plasma froid aux voies biliaires

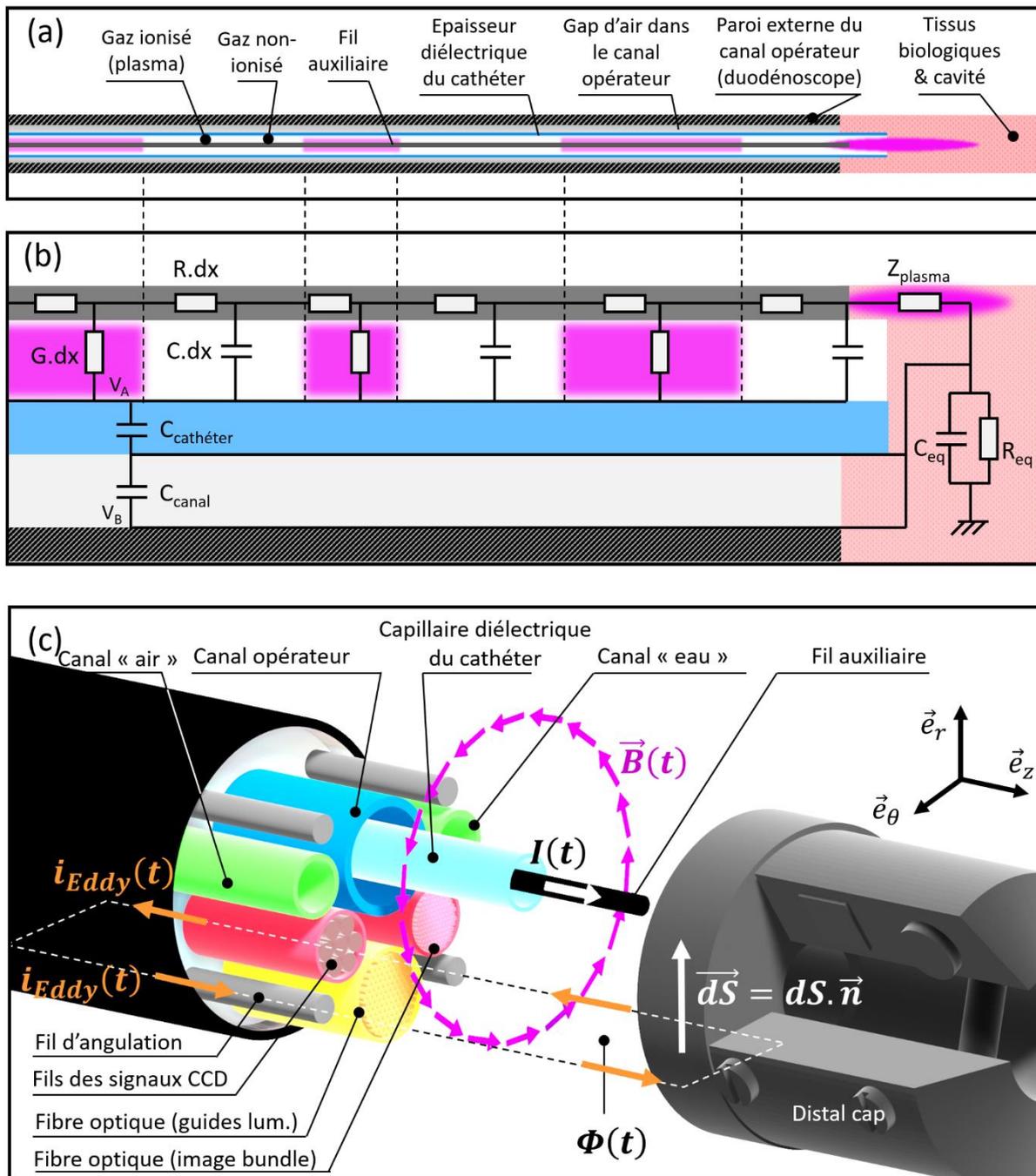


Figure V.6: (a) Schéma du cathéter à plasma transféré interagissant avec les tissus biologiques, (b) Modèle électrique équivalent de l'ensemble "cathéter dans duodéno-scopie dans le canal biliaire", (c) Schéma expliquant la génération de courants de Foucault dans l'ensemble précité.

(c) Sécurité des paramètres électriques

Les risques liés au courant électrique dans le cadre d'une procédure d'endoscopie par plasma froid doivent être clairement identifiés. Il est connu que la mort par choc électrique résulte principalement d'une fibrillation ventriculaire et secondairement d'une asphyxie ou d'un arrêt cardiaque. Le Tableau V.2 rappelle les effets du courant alternatif à 50-60 Hz sur le corps humain (IEC, 2005). Il s'avère que les risques deviennent importants lorsque des valeurs aussi élevées que 20 mA sont atteintes pour des temps de contact de 1 min, conduisant à une tétanisation de la cage thoracique. Par conséquent, et

Chapitre V - Application du plasma froid au cholangiocarcinome

Etude de faisabilité/risques : application endoscopique du plasma froid aux voies biliaires

à première vue, la valeur de 1 Ampère obtenue dans la Figure V.5e pourrait suggérer que l'endoscopie par plasma froid n'est pas adaptée à l'homme. Cette conclusion est erronée, d'une part parce que les effets rapportés dans le Tableau V.2 ne concernent que les courants alternatifs de 50-60 Hz, et d'autre part parce que les effets biologiques de l'électricité ne dépendent pas uniquement de la fréquence du courant : le type de courant (AC, DC, etc.) et le profil d'onde ont une importance majeure.

Pour les courants alternatifs de fréquence supérieure à 50-60 Hz, le seuil de fibrillation ventriculaire s'éloigne au fur et à mesure que la fréquence du courant augmente. Ce phénomène peut être compris en définissant un facteur de fréquence (ψ) comme dans l'équation {V.7} et en le traçant en fonction de la fréquence, comme le montre la Figure V.8a selon la norme IEC TS 60479-1.

$$\psi = \frac{\text{Seuil de fibrillation à } f_x(\text{Hz})}{\text{Seuil de fibrillation à 50 (ou 60)Hz}} \quad \{V.7\}$$

$$w_{pulse} = \frac{D_{cycle}}{f_{rep}} \quad \{V.8\}$$

Par exemple, il est connu que les effets physiologiques d'un courant de 20 mA à 50 Hz correspondent à une tétanisation de la cage thoracique. Si l'on cherche à obtenir le même effet physiologique à 1000 Hz, alors l'intensité du courant devra être plus grande. Pour connaître cette valeur, on se réfère à la Figure V.7a, qui indique que $\psi = 14$ pour $f_x = 1000$ Hz. En d'autres termes, le même effet physiologique sera déclenché par un courant de fréquence 1000 Hz que si son amplitude est de $20 \times 14 = 280$ mA. De même, si un courant sinusoïdal à 10 kHz est délivré, ce seuil passe à 2,8 A. Le corps humain peut donc supporter des valeurs de courant plus élevées lorsque sa fréquence augmente. Dans le cadre de nos expériences, la tension (et donc le courant) est délivrée à 10 kHz bien que son profil ne soit pas sinusoïdal mais pulsé. Cela signifie que le profil du courant doit être considéré en plus de la fréquence, en particulier la largeur des pics de courant. La largeur d'impulsion (w_{pulse}) est définie par l'équation {III.8} et a une valeur de $1\% / 10 \text{ kHz} = 1 \mu\text{s}$, comme le confirme graphiquement la Figure V.5e. Pour savoir s'il est dangereux d'exposer un corps humain à des impulsions de courant (1 A ; 1 μs), il est nécessaire de se conformer aux normes de la CEI sur les équipements électriques médicaux (IEC, 2005). Pour les impulsions courtes, la norme indique que l'énergie est le principal facteur permettant de déterminer si une fibrillation peut se produire. Par conséquent, pour les impulsions de différents profils (rectangulaire, demi-cycle sinusoïdal, exponentielle décroissante), les paramètres clés sont la valeur de crête en courant continu (impulsion rectangulaire), la valeur efficace et la valeur de crête (impulsion sinusoïdale), la valeur efficace calculée sur 3τ et la valeur de crête (impulsion exponentielle).

Selon les normes IEC, les risques de fibrillation peuvent être classés en quatre catégories : zéro, faible, moyen et élevé. Ils peuvent être représentés par 4 zones sur un graphique représentant la durée des impulsions de courant (entre 0,1 et 100 A) en fonction de leur intensité (entre 0,1 et 10 ms), comme proposé sur la Figure V.7b. Le courant pulsé mesuré

Chapitre V - Application du plasma froid au cholangiocarcinome

Etude de faisabilité/risques : application endoscopique du plasma froid aux voies biliaires

sur le modèle ABPP de la Figure V.5e peut être reporté sur la Figure V.7b comme un point unique dont les coordonnées sont (1 A ; 1 μ s). Même si ce point se situe en dehors de ces 4 zones, la sécurité du courant mesuré peut être évaluée sans ambiguïté. En effet, la Figure V.7b montre clairement que les impulsions de 1 A et de 1 ms de largeur sont totalement inoffensives. Par conséquent, des impulsions de 1 μ s, donc 1000 fois plus courtes, seront totalement négligeables. Cela signifie que le cathéter à plasma transféré peut être utilisé en toute sécurité dans les conditions expérimentales testées.

Amplitude du courant	Temps de contact	Effets
0,5 – 1,0 mA	-	Seuil de perception
8 mA	-	Choc au toucher, réactions réflexes
10 mA	4 min	Contraction des muscles des membres et secousses musculaires de longue durée
20 mA	60 s	Début de tetanisation de la cage thoracique
30 mA	30 s	Paralysie ventilatoire
40 mA	3 s	Fibrillation ventriculaire
75 mA	1 s	Fibrillation ventriculaire
300 mA	110 ms	Paralysie ventilatoire
500 mA	100 ms	Fibrillation ventriculaire
1000 mA	25 ms	Arrêt cardiaque

Tableau V.2 : Effets physiologiques du courant alternatif à 50-60 Hz sur le corps humain (pour différentes amplitudes de courant et temps de contact).

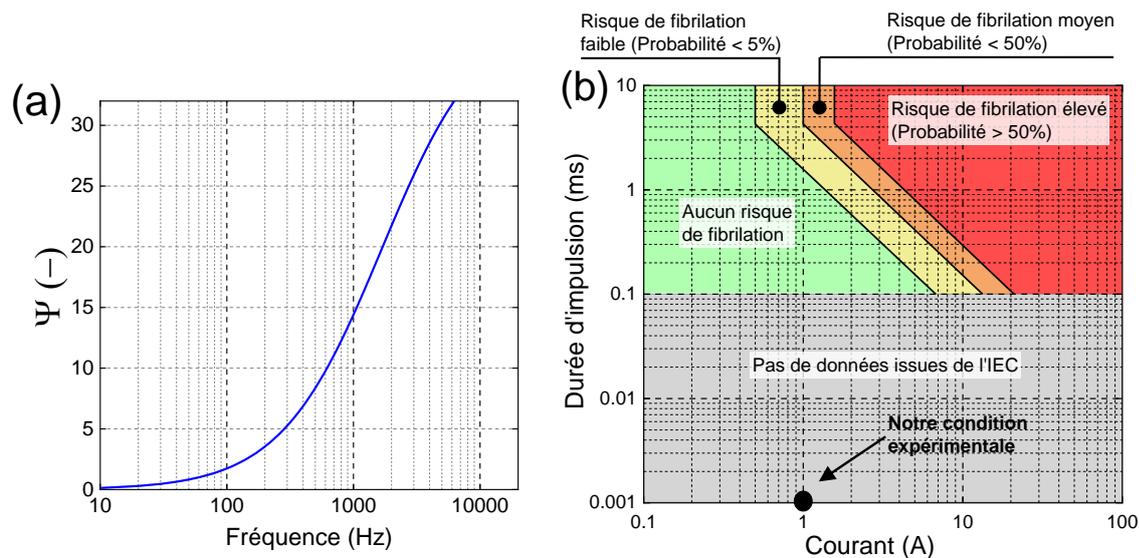


Figure V.7 : Seuils de fibrillation ventriculaire déterminés grâce à deux graphiques : (a) Facteur de fréquence en fonction de la fréquence d'un courant périodique appliqué au corps humain (b) Durée d'impulsion d'un courant périodique en fonction de son intensité pour mettre en évidence les risques de fibrillation.

3. Propriétés thermiques

La puissance électrique déposée dans le modèle ABPP étant de quelques centaines de mW (et non de quelques mW comme dans le modèle ABHA), on peut se demander si la conversion de la puissance électrique en puissance calorifique n'augmente pas de manière trop excessive la température des tissus internes. Pour vérifier cette hypothèse, nous nous concentrons sur la région du modèle ABPP comprenant le canal biliaire commun et le cholédoque (Figure V.8a). L'imagerie thermographique est réalisée en temps réel sur cette région avec le cathéter inséré dans le canal biliaire et dans lequel l'hélium circule sans être ionisé. L'image infrarouge de la Figure V.8b montre que la température globale de l'arbre biliaire est d'environ 16,5 °C. Cette valeur est légèrement inférieure à la température ambiante (19 °C) car le modèle ABPP a été sorti du congélateur (- 20 °C) seulement 12 heures avant l'expérience. Les pinces crocodiles métalliques sont à des températures légèrement plus élevées car elles sont en équilibre thermique avec l'environnement. La zone de 14°C correspond à un refroidissement local du flux d'hélium non ionisé dans les tissus internes.

La variation de la température externe des voies biliaires peut être suivie avant, pendant et après l'exposition au plasma froid, comme le montre la Figure V.8c. Cette température est mesurée en un point précis de la carte infrarouge et qui correspond aux conditions de chauffage les plus pénalisantes. Il s'avère que :

(i) Avant l'exposition au plasma, la température du tissu est de 16,5°C.

(ii) Pendant un temps d'exposition au plasma de 10 min, la température augmente de 4°C et est donc tout à fait supportable par le corps humain. Cette augmentation n'est pas linéaire : elle commence brusquement dans les premières minutes et se poursuit de manière asymptotique. Comme cette température est mesurée à l'extérieur (et non à

Chapitre V - Application du plasma froid au cholangiocarcinome

Etude de faisabilité/risques : application endoscopique du plasma froid aux voies biliaires

l'intérieur) des voies biliaires, elle peut être considérée comme sous-estimée. Cependant, ces écarts thermiques sont négligeables puisque l'épaisseur d'un canal biliaire n'est que de 1,5mm.

(iii) Après l'exposition au plasma ($t \geq 13,3$ min), une baisse immédiate et significative de la température des tissus est mesurée. Ainsi, une décroissance de 3 °C est atteinte en moins de 3 minutes, de sorte que la température est ensuite stabilisée à une valeur proche de 17°C.

Afin de s'assurer que l'exposition au plasma froid n'induit pas d'effets délétères dans les canaux biliaires, l'aspect de leurs parois internes peut être comparé en les coupant longitudinalement avec un scalpel. Deux cas sont considérés : Le modèle ABPP non exposé au plasma (Figure V.8d) et le modèle ABPP après 20 minutes d'exposition au plasma (Figure V.8e). Dans les deux cas et de manière très qualitative, les tissus conservent le même aspect brillant. De plus, il n'y a pas de zone sèche, ablatée, rougie ou noircie : aucun dommage n'est visible à l'œil nu.

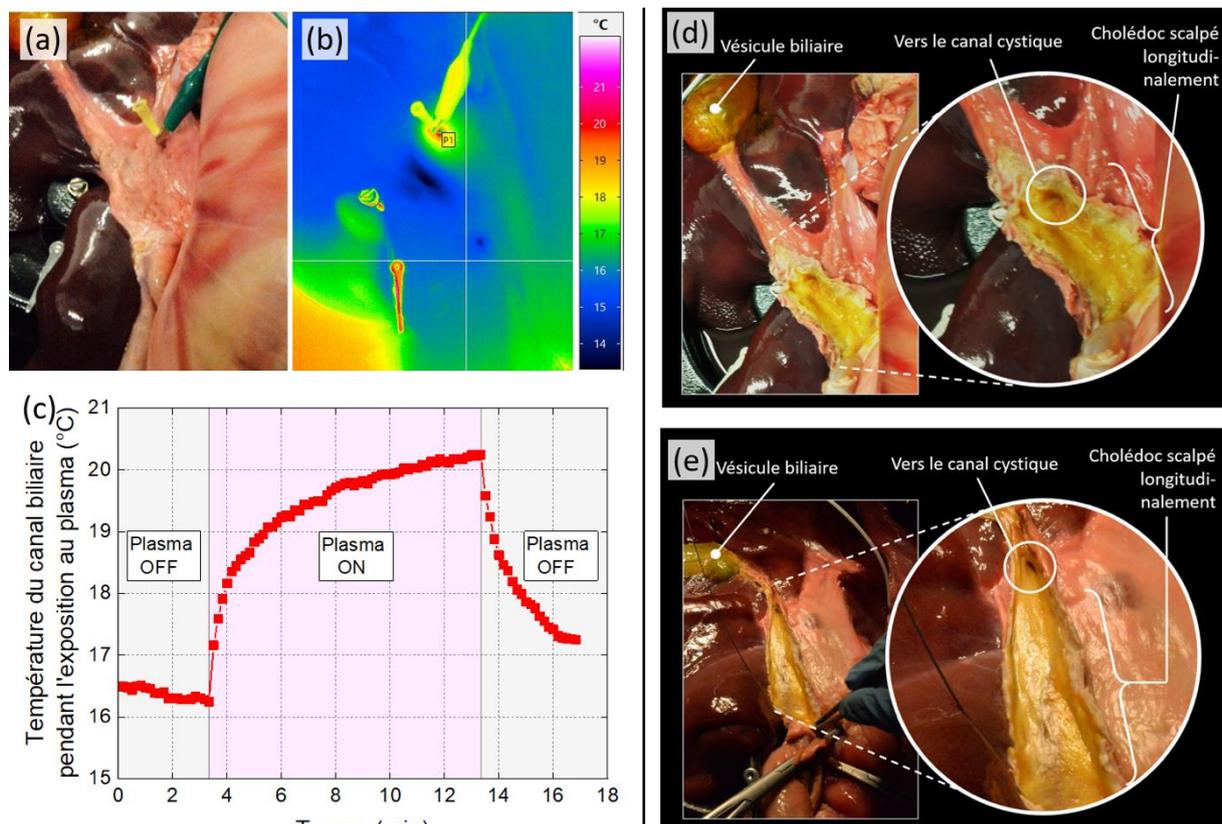


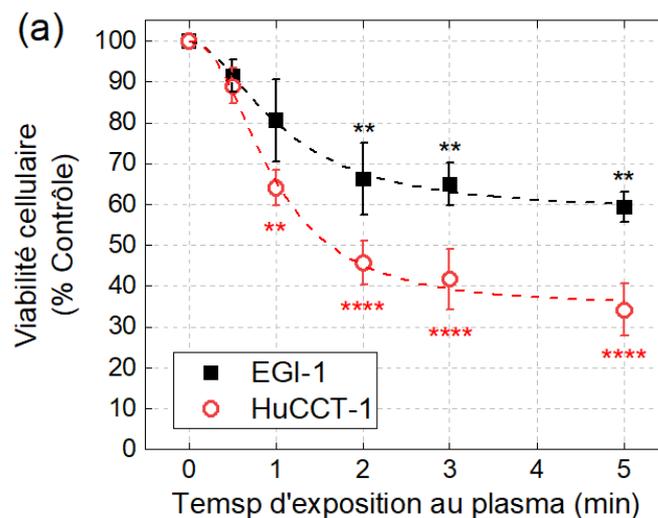
Figure V.8: (a) Photographie d'une partie de l'arbre biliaire du porc (b) Image infrarouge de (a) montrant l'absence de régions surchauffées après 1 min d'exposition au plasma, (c) Température de la paroi externe du canal biliaire en fonction du temps. Le contrôle est réalisé avant, pendant et après l'exposition au plasma, (d) photographie et vue agrandie de canaux biliaires sains provenant d'un modèle porcin, scalpés longitudinalement pour révéler l'état de surface des parois internes sans exposition au plasma, (e) après exposition au plasma (20 minutes).

Enfin, nous avons réalisé des études in vitro sur des cellules humaines de CCA afin d'analyser les effets antitumoraux du cathéter à plasma. Pour cela, nous avons évalué les effets de l'exposition au PFA sur la viabilité de deux lignées cellulaires humaines de CCA, EGI-1 et HuCCT-1. Brièvement, les cellules ont été directement traitées au PFA pendant

Chapitre V - Application du plasma froid au cholangiocarcinome

Etude de faisabilité/risques : application endoscopique du plasma froid aux voies biliaires

0.5, 1, 2, 3 et 5 min et la viabilité cellulaire a été évaluée 72 heures après le traitement. Nous remarquons qu'un tel traitement induit une diminution significative de la viabilité des cellules de CCA et cet effet devient plus fort pour des temps d'exposition au plasma plus longs pour les deux lignées cellulaires (Figure V.9a). A titre d'exemple, la Figure V.9b montre des photographies des cellules tumorales HuCCT-1 prises 72 heures après plusieurs temps d'exposition au plasma. Dans l'ensemble, ces résultats démontrent que le cathéter à plasma froid peut induire des effets antitumoraux sur des modèles expérimentaux *in vitro* de CCA humain. Ce résultat est cohérent avec les travaux que nous avons déjà publiés sur le CCA traité avec des sources de plasma non endoscopiques, que ce soit sur des modèles *in vitro* ou *in vivo* (Judée, 2019) (Vaquero, 2020).



(b)

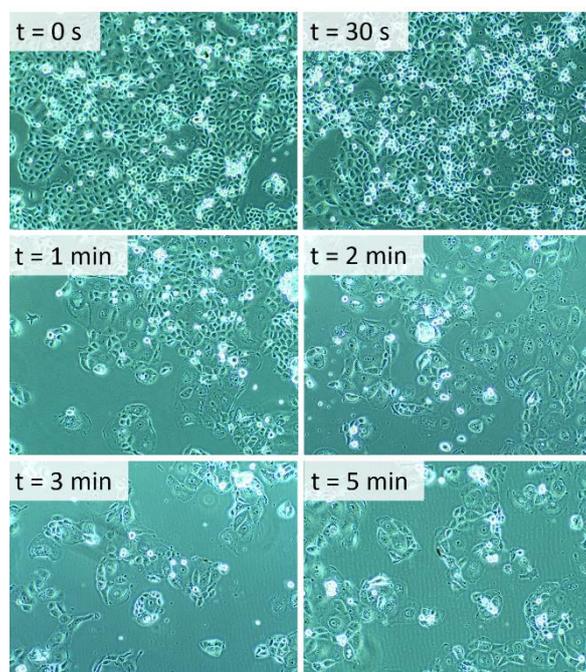


Figure V.9: (a) Effets du PFA sur la viabilité des cellules EGI-1 et HuCCT-1 de CCA. Les cellules de CCA ont été exposées au PFA pendant 0,5, 1, 2, 3 et 5 minutes et la viabilité cellulaire a été mesurée 72 heures après le traitement à l'aide du test au cristal violet. Les valeurs sont exprimées en tant que moyennes \pm SEM d'au moins 3 expériences. *, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; ***, $p < 0,001$; ****, $p < 0,0001$; par rapport aux cellules CCA non traitées. SEM, erreur standard de la moyenne, (b) Photographies des cellules tumorales HuCCT-1 prises 72h après l'exposition au plasma (Grossissement X10).

2. Etude in vivo : effets anti-tumoraux sur modèle murin

a. Effet du traitement plasma sur un modèle murin in vivo

Les résultats de cette section ont été obtenus par J. Vaquero (CRSA) avec l'aide F. Judée (LPP) avant la réalisation de cette thèse ; ils sont rappelés pour contextualiser l'étude mécanistique qui a été réalisée dans le cadre de ce projet doctoral.

Un modèle de xénogreffe sous-cutanée de CCA a été exposé au Plasma Tesla Jet (PTJ). Des cellules humaines de CCA EGI-1 ont été injectées dans le flanc de souris immunodéficientes pour induire des tumeurs et une fois que celles-ci ont atteint un volume arbitraire de 200 mm³, elles ont été traitées au plasma froid (Figure V.10). Le traitement a été réalisé deux fois par semaine pendant 3 semaines (voir flèches grises dans la Figure V.10). Les animaux ont été sacrifiés 2 heures après le dernier traitement. (Judée, 2019).

L'article de Vaquero va plus loin d'une part en comparant le traitement par plasma avec le traitement par gemcitabine et d'autre part en démontrant l'absence de risques systémiques (analyse de sang des modèles murins).

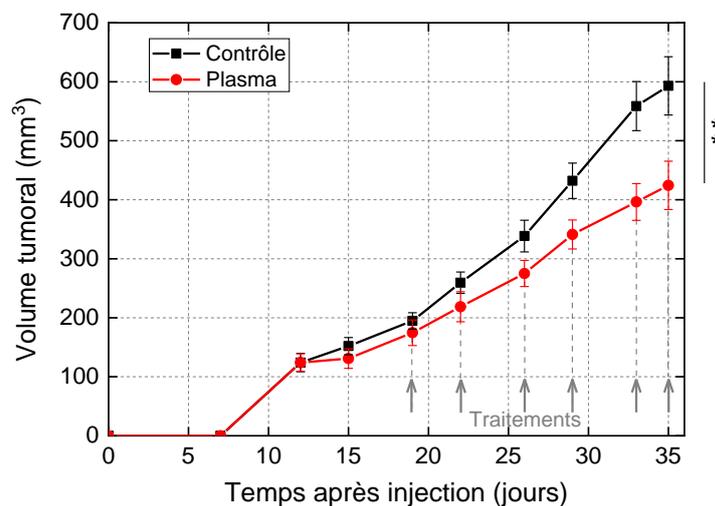


Figure V.10: Volume tumoral de souris porteuses de CCA développé à partir de cellules EGI-1 traitées avec de la gemcitabine (120 mg/kg, cercles noirs), PFA (1 min à 9kV d'amplitude, fréquence=30kHz, rapport cyclique=14%, écart =10 mm) ou non traitées. Les valeurs sont exprimées en moyennes \pm SEM. *, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; ***, $p < 0,001$; ****, $p < 0,0001$.

b. Le plasma froid induit l'apoptose des cellules de cholangiocarcinome

L'apoptose, le principal type de mort cellulaire lié au PFA, a été étudiée en réalisant un immunomarquage de la caspase-3 clivée (cCaspase-3), un exécuteur critique de l'apoptose qui est responsable du clivage de nombreuses protéines clés. Comme le montre la Figure V.11, les tumeurs traitées par PFA présentaient un marquage intense de la cCaspase-3 dans certaines zones des tumeurs par rapport aux témoins.

L'un des principaux effets du plasma froid étant la production de RONS, la présence de composants cellulaires altérés a été évaluée. Dans le cadre de cette étude, nous avons réalisé un immunomarquage de la 8-oxoguanine qui est l'un des principaux produits de l'oxydation de l'ADN ; un événement susceptible de dérégler les voies de signalisation conduisant à la mort cellulaire par apoptose. Comme le montre la Figure V.11, le traitement par PFA induit une oxydation importante de l'ADN. De plus, il est intéressant de noter que ces altérations étaient colocalisées avec les zones positives pour la caspase-3 clivée (panneaux de gauche). Ce chevauchement parfait nous permet de faire le lien entre les lésions de l'ADN et l'apoptose cellulaire.

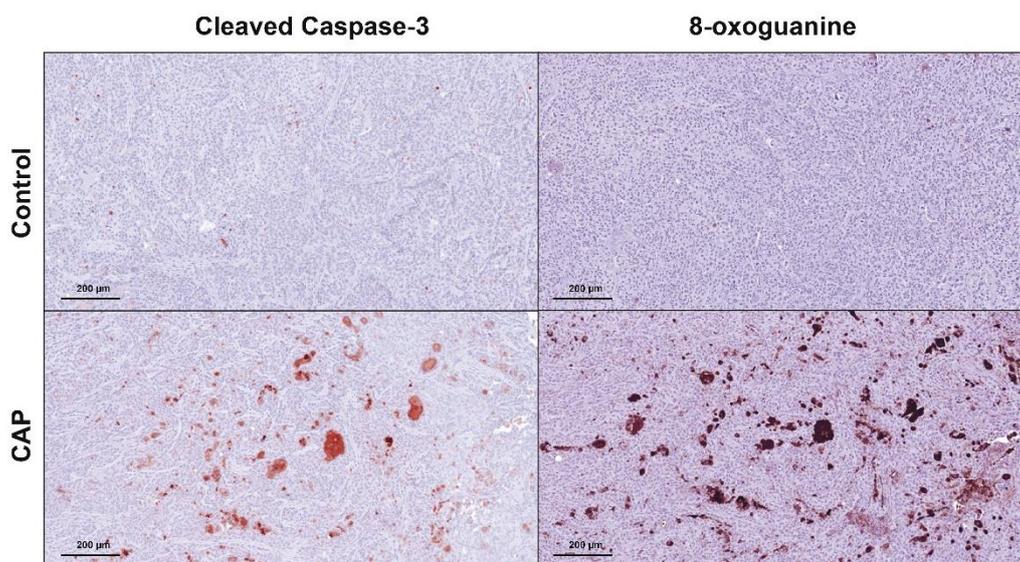


Figure V.11: Coloration IHC représentative de la caspase-3 clivée et de la 8-oxoguanine dans les tumeurs de xénogreffes du groupe contrôle ou du groupe traité au plasma. Grossissement, x250. Échelle : 200 µm.

3. Mécanistique de la mort cellulaire induite par milieu activé au plasma froid (MAP)

a. Sélectivité biologique induite par le MAP

S'il est bien établi que les milieux activés par plasma froid (MAP) peuvent induire la mort cellulaire, la littérature reste encore peu documentée quant aux effets que peut induire un même MAP sur divers types cellulaires. Pour apporter des éléments de réponse à cette question, les effets du MAP ont été évalués sur la viabilité des cellules de CCA et des cellules saines humaines :

- EGI-1 (la lignée cellulaire utilisée pour la campagne *in vivo* précédente)
- HuCCT1
- Hépatocytes primaires non malins considérés comme sains : ils représentent le type cellulaire le plus abondant du foie. Pour l'étude, ils ont été isolés à partir de patients (par le Dr. Lynda Aoudjehane sur la Plateforme ICAN BioCell Human Liver Biology).

Cette approche permet d'étudier la sélectivité du MAP, i.e. sa capacité à inactiver/détruire les cellules cancéreuses sans endommager les cellules saines. L'expérience a consisté à traiter par plasma un volume standard de milieu de culture frais (3 mL) dans une plaque de 6 puits pour des temps de traitement compris entre 30 s et 10 min. Puis, ce milieu activé par plasma (MAP) est transféré sur des cultures de lignées cellulaires humains de CCA ou d'hépatocytes humains. La Figure V.12 montre qu'un traitement par MAP de 10 minutes permet de réduire la viabilité des cellules de CCA EGI-1 et HuCCT1 de 50% et 70 %, respectivement. En revanche, aucun effet n'a été observé sur la viabilité des hépatocytes humains sains. Cela démontre qu'il existe un effet sélectif du plasma froid sur les cellules tumorales par rapport aux cellules hépatiques non malignes.

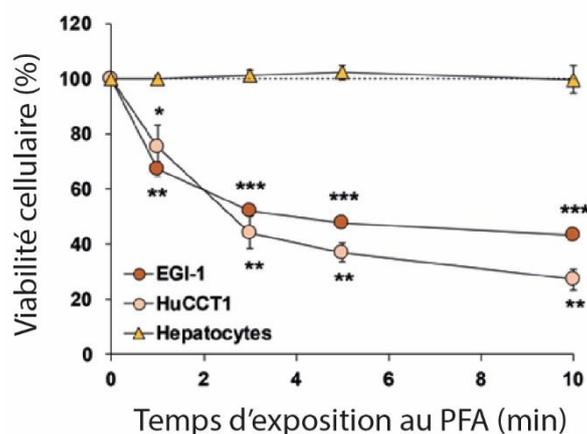


Figure V.12. Effet du plasma froid sur la viabilité des cellules EGI-1 et HuCCT1 de CCA et des hépatocytes primaires humains. La viabilité des cellules a été mesurée après incubation pendant 72 heures avec un milieu de culture préalablement traité pendant 1, 3, 5 et 10 min par plasma froid (9kV, 30kHz, 14%, gap de 7 mm). Valeurs exprimées comme moyennes \pm SEM d'au moins 3 expériences indépendantes. *, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; ***, $p < 0,001$; par rapport aux cellules non traitées (0 min).

Les lignées cellulaires de CCA et les hépatocytes primaires ont besoin de milieux de culture différents. Dans ces milieux, le plasma froid produit des RONS, en particulier NO_2^- et H_2O_2 dont les concentrations ont été mesurées. Comme le montre la Figure V.13a, la production de NO_2^- reste globalement la même au cours du temps dans les deux milieux. En revanche, la Figure V.13b montre que la production de H_2O_2 est environ 6 fois plus faible dans le milieu des CCA que dans celui des hépatocytes.

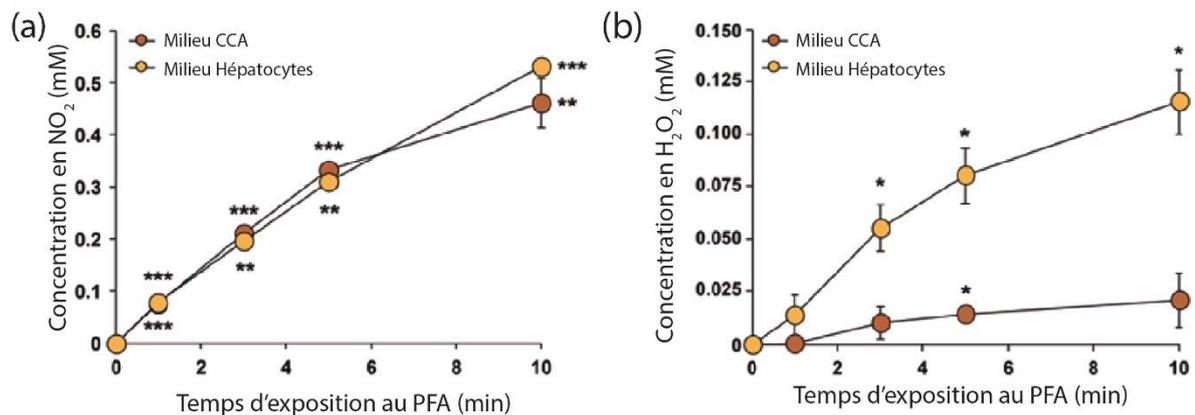


Figure V.13: (a) Détermination des concentrations de NO_2^- et (b) de H_2O_2 dans les milieux de culture des cellules de CCA et des hépatocytes primaires. Valeurs exprimées comme moyennes \pm SEM d'au moins 3 expériences indépendantes. *, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; ***, $p < 0,001$; par rapport aux cellules non traitées (0 min).

La production de ROS (et donc de H_2O_2) a été déterminée dans les lysats cellulaires des cellules de CCA et des hépatocytes exposés au MAP. D'après la Figure V.14a, la production de H_2O_2 est augmentée dans les cellules de CCA exposées au MAP, alors qu'elle reste inchangée dans les hépatocytes. Cela suggère que les hépatocytes ont des mécanismes de défense contre les ROS, i.e. qu'ils possèdent ou produisent des enzymes capables de piéger les ROS. Pour vérifier cette hypothèse, les deux lignées tumorales et les hépatocytes ont été traités avec du MAP puis des analyses biologiques ont été réalisées afin de quantifier l'expression de 6 enzymes connues pour piéger les ROS, notamment la superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion réductase. D'après la Figure V.14b, l'expression de l'ARNm de ces enzymes est bien plus importante dans les hépatocytes par rapport aux deux lignées cellulaires de CCA.

Chapitre V - Application du plasma froid au cholangiocarcinome

Mécanistique de la mort cellulaire induite par milieu activé au plasma froid (MAP)

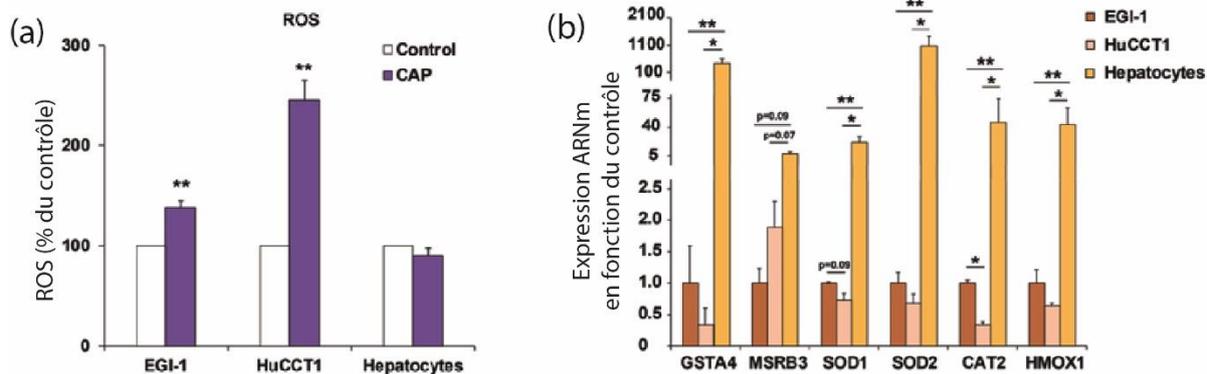


Figure V.14 : (a) Détermination des concentrations de H_2O_2 dans les lysats cellulaires des cellules de CCA et des hépatocytes primaires exposés au MAP pendant 3 minutes. (b) Expression de GSTA4, MSR3, SOD1, SOD2, CAT2 et HMOX1 au niveau de l'ARNm dans les cellules de CCA et les hépatocytes. Valeurs exprimées comme moyennes \pm SEM d'au moins 3 expériences indépendantes. *, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; ***, $p < 0,001$; par rapport aux cellules non traitées (0 min).

b. Arrêt du cycle cellulaire des cellules de cholangiocarcinome

Un MAP de 3 minutes a été synthétisé puis ajouté aux cellules EGI-1 et HuCCT1. Pour chacune d'elles, l'analyse par cytométrie en flux de la distribution du cycle cellulaire a montré des changements dans les différentes phases, comme le montre la Figure V.15. Ainsi, la proportion de cellules dans les phases G0/G1 et S diminue tandis qu'une hausse de la proportion de cellules dans les phases G2/M est constatée. Le fait que les cellules s'accumulent en phase G2/M signifie qu'elles ne parviennent pas à franchir le point de contrôle G2/M des dommages à l'ADN : ces cellules présentent des dommages à l'ADN qui les empêchent d'entrer dans la phase M. En conséquence, ces cellules arrêtent le cycle cellulaire.

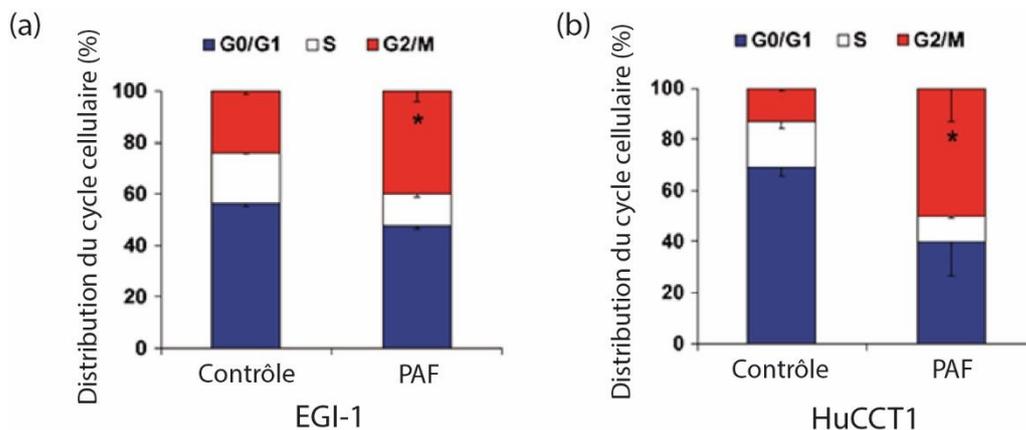


Figure V.15: Distribution du cycle cellulaire des cellules EGI-1 (a) et HuCCT1 (b) de CCA après 24h d'exposition au MAP (3 min, 9kV, 30kHz, 14%, écart de 7 mm). Valeurs exprimées comme moyennes \pm SEM d'au moins 3 expériences indépendantes. *, $p < 0,05$; comparé aux cellules témoins.

A ce stade, on peut donc supposer que les RONS du MAP peuvent entraîner l'arrêt du cycle cellulaire, consécutivement à des dommages de l'ADN. Pour aller plus loin, des analyses par immunofluorescence et Western Blot ont été réalisées afin d'étudier l'expression protéique de marqueurs de dommages de l'ADN et de mort :

Chapitre V - Application du plasma froid au cholangiocarcinome

Mécanistique de la mort cellulaire induite par milieu activé au plasma froid (MAP)

- H2AX : Une des protéines les plus importantes requises pour l'arrêt du cycle cellulaire médié par le point de contrôle et la réparation de l'ADN après des cassures d'ADN double brin. Les lésions de l'ADN causées par le stress oxydatif entraînent une phosphorylation rapide de H2AX (nommée H2AX), ce qui conduit au recrutement de plusieurs protéines en réponse aux lésions de l'ADN.
- cPARP : Marqueur d'apoptose cellulaire
- CHK et p53 : Kinases dirigeant les cascades de signalisation permettant de bloquer la progression vers la mitose et donc d'interrompre le cycle cellulaire une fois que les dommages à l'ADN sont détectés.

Les analyses par immunofluorescence et Western Blot ont permis de démontrer :

- Une forte expression de la phospho-histone H2AX dans les cellules EGI-1 (à 24h, 48h et 72h) par rapport aux cellules non traitées (Figure V.16a), le signal le plus élevé ayant été observé après 72h dans les cellules EGI-1, comme l'a confirmé l'analyse par Western blot (Figure V.16b-c). Des cassures double brin de l'ADN ont donc été observées dans les cellules de CCA mais aussi une réponse à ces lésions.
- Une corrélation entre l'augmentation de la phosphorylation de l'histone H2AX et le clivage de PARP (Figure V.16b-c).
- Une forte phosphorylation de CHK1 et de p53 dès 24h. Cela suggère que le cycle cellulaire est arrêté peu de temps après l'exposition au MAP, lorsque les dommages à l'ADN sont détectés pour la première fois. Néanmoins, l'apoptose ne peut être induite que s'il y a eu une accumulation des dommages à l'ADN, c'est-à-dire 72h après l'exposition au MAP.

La sur-concentration de RONS dans les cellules de CCA est à l'origine d'un stress oxydatif qui endommage l'ADN (phosphorylation de l'histone H2AX), déclenchant des voies de signalisation (e.g. dirigées par CHK et p53) qui conduisent à la mort des cellules cancéreuses.

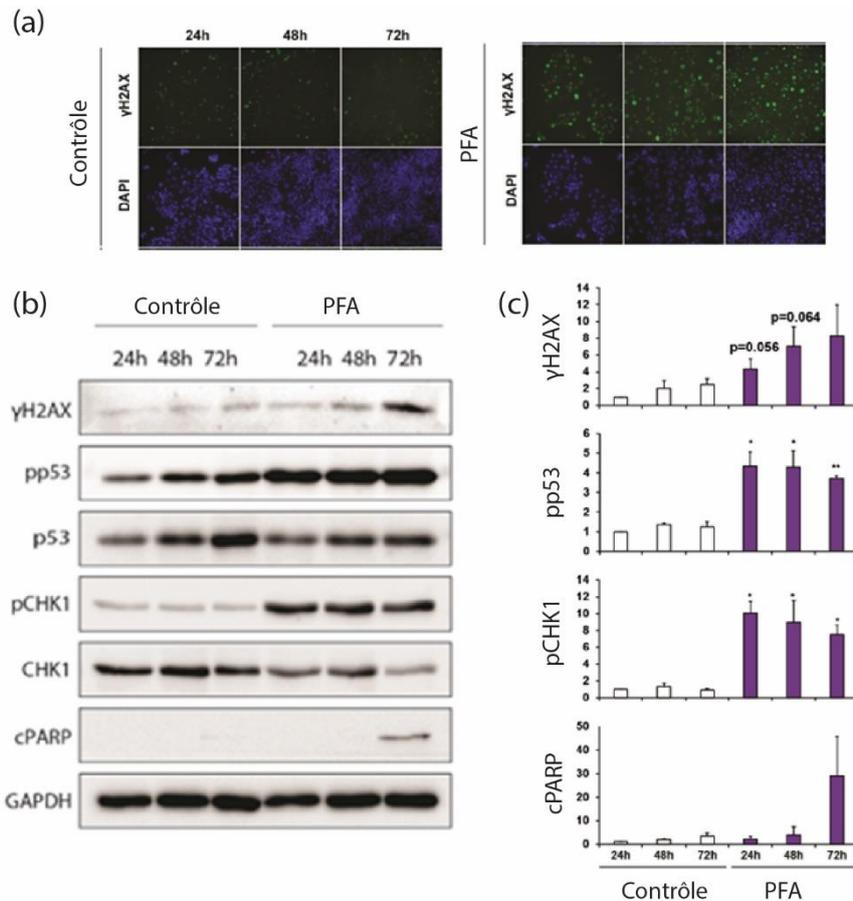


Figure V.16: (a) Images représentatives de H2AX phosphorylée (H2AX) analysée par immunofluorescence dans les cellules EGI-1 de CCA après 24, 48h et 72h d'exposition au MAP pendant 3 min (9kV, 30kHz, 14%, écart de 7 mm). Grossissement, $\times 10$. (b) Images représentatives de l'analyse par western blot de la PARP clivée, de la p53 phosphorylée et totale, de la CHK1 phosphorylée et totale et de la H2AX phosphorylée dans les cellules EGI-1. (c) Analyse densitométrique du western blot de PARP clivé, p53 phosphorylé, CHK1 phosphorylé et H2AX phosphorylé. Valeurs exprimées comme moyennes \pm SEM de 3 expériences indépendantes. *, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; par rapport aux cellules témoins.

L'exposition des hépatocytes au MAP a montré une expression réduite de CHK1 et de p53 par rapport aux cellules de CCA, probablement en raison de la faible capacité proliférative de ces cellules. De plus, aucun changement dans la phosphorylation de H2AX ou le clivage de PARP n'a été observé. Cela indique que le MAP n'endommage pas l'ADN et n'a pas d'impact sur la survie des hépatocytes ou sur les voies de signalisation régulatrices de l'apoptose, contrairement aux lignées cellulaires de CCA.

c. Apoptose des cellules de cholangiocarcinome

L'analyse immunohistochimique de la caspase-3 clivée a permis de confirmer que le MAP activait des voies de signalisation impliquées dans la mort cellulaire, et plus particulièrement induisait l'apoptose des cellules tumorales.

Le MAP réduit la viabilité cellulaire des EGI-1 et HuCCT1. Pour vérifier si la mort cellulaire est de l'apoptose, une quantification de l'Annexin V-7AAD a été réalisée par cytométrie en

Chapitre V - Application du plasma froid au cholangiocarcinome

Mécanistique de la mort cellulaire induite par milieu activé au plasma froid (MAP)

flux 48h après mélange au MAP, la Figure V.17a montre une augmentation des populations dans les quadrants correspondant aux cellules apoptotiques tardives et aux cellules nécrotiques. Ces résultats corroborent le fait que l'apoptose n'est pas induite avant que l'accumulation de dommages à l'ADN ne soit suffisamment forte, c'est-à-dire 72h après l'exposition au MAP dans les cellules EGI-1.

Bien que le MAP ait diminué la survie cellulaire de deux lignées de CCA avec une efficacité similaire, l'induction de l'apoptose est plus faible dans les cellules EGI-1 que dans les cellules HuCCT1.

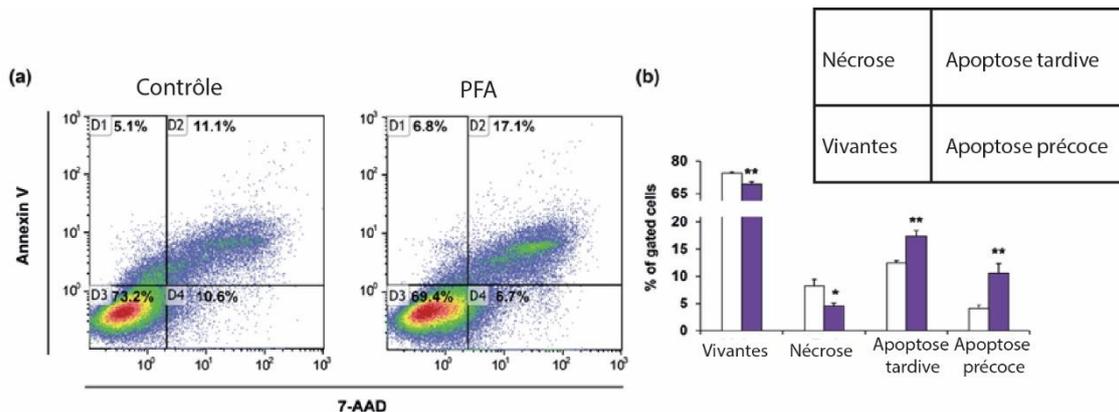


Figure V.17: Images représentatives (a) et quantification (b) de l'apoptose par analyse cytométrique en flux de l'Annexin V/7AAD dans les cellules EGI-1 de CCA après 48 h d'exposition au MAP pendant 3 min (9kV, 30kHz, 14%, écart de 7 mm). Valeurs exprimées comme moyennes \pm SEM d'au moins 3 expériences indépendantes. *, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; par rapport à la condition de contrôle.

d. Modification du phénotype des macrophages associés aux tumeurs

Une tumeur est constituée de plusieurs types de cellules, incluant les cellules tumorales mais aussi les CAF (Cancer Associated fibroblasts), EC (Endothelial Cells) et TAM (Tumor Associated Fibroblasts) qui sont dans ce modèle d'origine murine car recrutées par les cellules cancéreuses (d'origine murine) lors de la formation de la tumeur. L'examen histologique des tumeurs de CCA chez la souris a révélé que le stroma fibrotique n'était pas affecté par le MAP. Grâce au modèle de xénogreffe sous-cutanée, nous avons mis à profit les différences d'origine entre les cellules cancéreuses et stromales pour analyser l'expression de gènes spécifiques de chaque type de cellules stromales.

Nous avons ainsi analysé l'ARNm de différents marqueurs spécifiques des cellules stromales murines :

- Fibroblastes associés au cancer (CAF) (Acta2, codant pour l'alpha-SMA)
- Cellules endothéliales (EC) (Pecam1, codant pour le CD31)
- Macrophages associés à la tumeur (TAM) (Adgre1, codant pour le F4/80).

D'après la Figure V.18, le MAP n'induit pas de changement significatif de l'expression de Acta2 ou de Pecam1. Cependant, l'expression d'Adgre1 est significativement augmentée dans les tumeurs ayant été exposées au plasma froid, ce qui suggère une augmentation

Chapitre V - Application du plasma froid au cholangiocarcinome

Mécanistique de la mort cellulaire induite par milieu activé au plasma froid (MAP)

potentielle du recrutement et/ou de la prolifération et/ou un changement phénotypique des TAMs dans les tumeurs traitées.

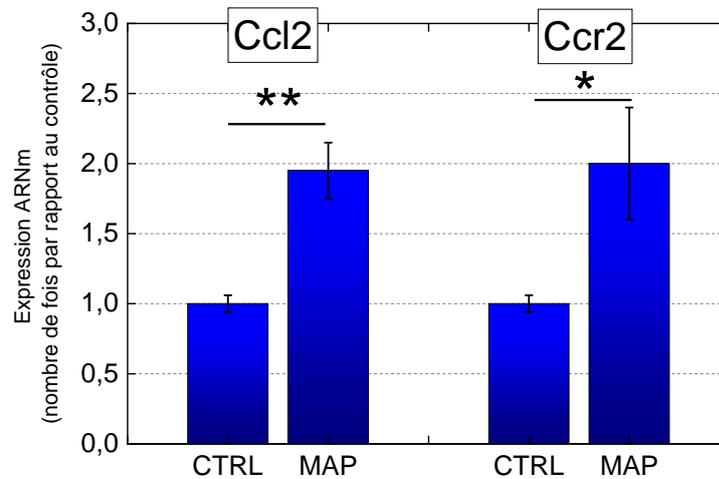


Figure V.18: Changements dans l'expression de l'ARNm des marqueurs de type cellulaire (*Acta2*/*-SMA*, un marqueur des fibroblastes associés au cancer CAFs, *Pecam1/CD31*, un marqueur des cellules endothéliales (EC) et *Adgre1/F4/80*, un marqueur des macrophages associés à la tumeur (TAM) dans des tumeurs xéno greffées traitées par MAP ou non traitées. Valeurs exprimées en moyennes \pm SEM. *, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; ***, $p < 0,001$)

Le changement phénotypique des macrophages a ensuite été analysé. L'expression de plusieurs cytokines qui sont associées au phénotype antitumoral des macrophages et qui sont impliquées dans l'induction de l'apoptose a été étudié. La Figure V.19 présente : *Tnfa* (codant *Tnf*), *Tnfsf1* (codant TNF-related apoptosis-inducing ligand (Trail)) et *Il1b* (codant *Il1 β*).

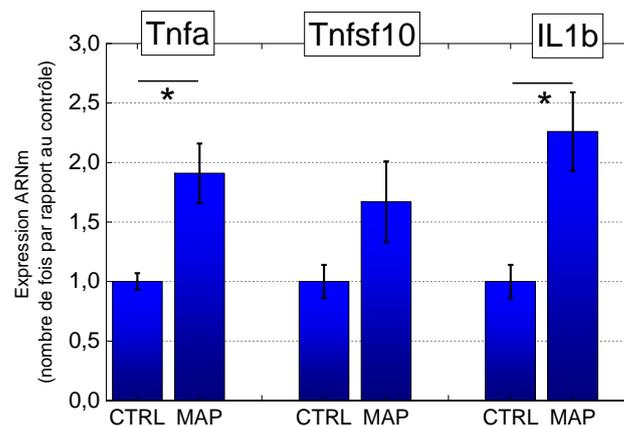


Figure V.19. Changements dans l'expression de l'ARNm des cytokines pro-apoptotiques (*Tnfa/Tnf*, *Tnfsf1/Trail* et *Il1b/Il1 β*) dans les xéno greffes de tumeurs traitées par MAP ou non-traitées. Valeurs exprimées en moyennes \pm SEM. *, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; ***, $p < 0,001$)

Notre analyse sur les xéno greffes tumorales a montré des changements dans l'expression des marqueurs liés au phénotype TAM, suggérant un changement potentiel vers un phénotype anti-tumoral des TAM. L'augmentation de la fonction des macrophages pro-inflammatoires peut aider à contrôler la tumorigenèse causée par une réponse

immunitaire compromise (Kaushik, 2019). Pour ces raisons, le MAP pourrait permettre d'activer la réponse immunitaire anti-tumorale.

4. Conclusion

Une deuxième campagne expérimentale a été réalisée à l'Ecole de Chirurgie de Paris dans des conditions conventionnelles de CPRE afin de se rapprocher le plus possible d'un cas clinique. Le cathéter à plasma froid a été placé dans un duodéscope conventionnel qui était lui-même inséré dans un nouveau modèle : un modèle d'arbre biliaire de porc post-mortem (ABPP). Le Plasma-ERCP a été réalisé par le Dr Marine Camus, endoscopiste professionnelle à l'hôpital Saint-Antoine. Cette étude de faisabilité a montré que les tissus internes directement exposés au plasma ne subissent aucun dommage thermique, l'augmentation maximale de température étant de seulement 4°C avant/pendant l'exposition au plasma. L'analyse électrique montre des valeurs de courant et de tension d'environ 1 A et 200 V respectivement. Si ces valeurs semblent trop élevées pour une application chez l'homme, il faut cependant souligner que ces signaux correspondent à des impulsions très courtes (largeur de 1 μ s), ce qui signifie qu'ils n'induisent pas les mêmes effets physiologiques sur le corps humain que les courants alternatifs habituels à 50-60 Hz. Ici, les normes IEC montrent que les valeurs de courant mesurées sur le modèle ABPP entrent dans la catégorie de risque zéro, (c'est-à-dire absence de fibrillation ventriculaire, de fibrillation cardiaque, etc.) de sorte que le traitement serait totalement sans danger.

Enfin, les effets antitumoraux du cathéter à plasma transféré ont été démontrés dans une étude *in vitro* réalisée sur des lignées cellulaires humaines de CCA. La viabilité des cellules tumorales a diminué d'environ 50% pour un temps d'exposition au plasma de seulement 5 minutes.

Cette étude méthodologique nous a permis de poser des jalons importants dans la perspective d'utiliser l'endoscopie au plasma froid comme une future option thérapeutique conventionnelle pour traiter le cholangiocarcinome chez les patients. D'ici là, d'autres étapes seront franchies, notamment des campagnes expérimentales sur des modèles porcins vivants suivies d'une étude clinique.

Après avoir évalué les performances et les limites des options thérapeutiques actuellement utilisées pour traiter le cholangiocarcinome, nous avons montré l'existence d'une niche technologique pour l'approche "plasma froid", à condition d'innover des sources de plasma *ad hoc*. Parmi les différentes configurations de cathéter qui peuvent être appliquées par voie endoscopique chez l'homme, le cathéter à plasma transféré a été sélectionné en raison de sa conception simple et de sa facilité d'utilisation. La particularité de ce dispositif est que le plasma froid est généré dans une chambre principale (située à l'extérieur du sujet à traiter) puis transféré le long d'un grand capillaire flexible contenant un fil auxiliaire. Ainsi, le plasma peut se propager jusqu'à l'extrémité distale du cathéter pour former un panache de plasma de quelques mm-cm. Nous avons démontré que ce fil auxiliaire se comporte comme une ligne de transmission d'impédance 80k Ω et non

comme une électrode flottante car sa longueur ($L_{fil} = 2 \text{ m}$) n'est pas négligeable par rapport à la période spatiale du signal de tension ($\lambda = 10 \text{ m}$).

Le cathéter à plasma transféré ne pouvant pas être appliqué directement sur un patient, plusieurs étapes intermédiaires ont été réalisées dans ce travail. Dans une première campagne expérimentale, le dispositif a été appliqué à un modèle artificiel d'arbre biliaire humain (ABHA) complété par un insert tumoral ayant les mêmes caractéristiques topographiques et électriques qu'une tumeur solide de cholangiocarcinome. Alors que le plasma froid est confiné dans un arbre biliaire artificiel, nous avons mesuré des valeurs de tension et de courant aussi faibles que 3,98 VRMS et 1,19 mARMS respectivement. Par ailleurs, les tissus directement exposés au plasma présentaient une température ne dépassant jamais 28 °C. Cette première campagne expérimentale a démontré que le plasma froid peut être appliqué en toute sécurité sur le modèle ABHA, sans risques électriques ou thermiques.

Bibliographie

Bastin, O. T. (2020). Optical and electrical characteristics of an endoscopic DBD plasma jet. *Plasma Medicine*, 10(2).

IEC. (2005). IEC Technical specification TS 60479-1. *Basic safety publication*.

Judée, F. V. (2019). Atmospheric pressure plasma jets applied to cancerology: correlating electrical configuration with in vivo toxicity and therapeutic efficiency. *Journal of physics D: Applied physics*, 52(24), 245201.

Kaushik, N. K. (2019). Preventing the solid cancer progression via release of anticancer-cytokines in co-culture with cold plasma-stimulated macrophages. *Cancers*, 11(6), 842.

Vaquero, J. J. (2020). Cold-Atmospheric Plasma Induces Tumor Cell Death in Preclinical In Vivo and In Vitro Models of Human Cholangiocarcinoma. *Cancers*, , 12(5), 1280.

Chapitre VI - Application du plasma froid au cancer du poumon non à petites cellules

Table des matières

1. Campagne expérimentale dédiée à l'innocuité des sources plasma appliquées sur modèles murins.....	153
a. Présentation & Conditions expérimentales	153
b. Température des tissus exposés au plasma froid.....	154
c. Identification des conditions permettant de s'affranchir des effets délétères du plasma froid sur la peau	156
d. Discussion	158
2. Effets du plasma froid sur des tumeurs ectopiques du cancer du poumon non à petites cellules	160
a. Efficacité antitumorale du plasma froid sur les sites tumoraux primaires	160
b. Efficacité antitumorale du plasma froid sur les sites tumoraux secondaires (métastases).....	163
c. Persistance de l'effet antitumoral induit par plasma froid (ou effet mémoire)....	167
d. Déclenchement de l'effet abscopal par plasma froid	170
i. Présentation.....	170
ii. Etude via le protocole par injections simultanées	172
iii. Etude via le protocole par injections séquencées	175
3. Conclusion	177
Bibliographie.....	178

Dans le Chapitre V, des tumeurs de cholangiocarcinome ont été traitées par l'ORJET (dielectric capillary with Outer Ring electrodes, generating a plasma JET) utilisé en modalité statique (ORJET_σ). Quelques incréments technologiques ont conduit à sa miniaturisation sous forme d'un cathéter à plasma transféré (TPC). A présent, le chapitre VI est dédié à l'application thérapeutique du plasma froid au cancer du poumon non à petites cellules, également appelé en anglais « non-small cell lung carcinoma » (NSCLC). Ce chapitre vise à démontrer l'existence d'effets antitumoraux déclenchés par le plasma froid sur le NSCLC à partir de deux sources de plasma froid : l'ORJET utilisé selon la modalité statique (ORJET_σ) ou en mouvement (ORJET_μ) ainsi qu'un dispositif à barrière diélectrique permettant l'écoulement du gaz à travers une contre-électrode grille, appelé en anglais « Dielectric Barrier Device with gas flowing through Mesh counter-ElectroDe »

(DBD'Med). Dans l'intégralité de ce Chapitre VI, les sources de plasma froid ont été utilisées dans les conditions expérimentales du Tableau VI.1:

	Paramètres électriques			Gaz plasmagène		Gap
	Amplitude	F _{rep}	D _{Cycle}	Nature	Débit	
ORJET	5 kV	10 kHz	1%	He	1 slm	≈ 1cm
DBD'Med	3 kV	20 kHz	1%	He	1 slm	0 cm

Tableau VI.1. Conditions expérimentales des sources de plasma froid ORJET et DBD'Med.

Pour l'ORJET comme pour le DBD'Med, les éléments de mécanistique biologique ne sont pas développés dans ce chapitre ; ils font l'objet d'une thèse menée en parallèle par Solenne MARMIER sous la direction de Pr. Isabelle CREMER (Sorbonne Université, Centre de Recherche des Cordeliers). Le cathéter à plasma transféré utilisé sur le cholangiocarcinome (Chapitre V) dans le cadre de la collaboration LPP-CRSA mais pas sur le NSCLC dans la mesure où ce type de cancer entre dans le cadre de la collaboration LPP-CRC qui a commencé plus tardivement. Néanmoins, le recours à l'endoscopie par plasma froid est programmé sur le NSCLC dès 2023 dans le cadre d'un projet fédérateur réunissant les 3 équipes (LPP, CRSA et CRC).

1. Campagne expérimentale dédiée à l'innocuité des sources plasma appliquées sur modèles murins

a. Présentation & Conditions expérimentales

Pour vérifier l'absence de risques électriques et thermiques inhérents au ORJET et au DBD'Med, une étude d'innocuité est réalisée sur n = 15 souris saines (i.e. souris sans tumeurs). Toutes les souris sont rasées sur une grande partie du dos afin d'établir un contact direct entre le plasma et leur peau (Figure VI.1). Deux temps d'exposition au plasma sont étudiés : 5 et 10 minutes. De plus, chaque souris fait l'objet de deux traitements : un sur le flanc droit, l'autre sur le flanc gauche. Les deux sources de plasma froid précédemment décrites sont utilisées, le ORJET fonctionnant selon deux modalités (statique ou mobile) comme précisé dans le Tableau VI.2 :

Sources de plasma froid	Temps d'exposition au plasma			Nb. de souris
	0 min (Ctrl)	5 min	10 min	
ORJET ORJET _σ : en position statique (la source est placée à 1cm de la peau de la souris, en un point fixe)	1 souris	2 souris	2 souris	5

	ORJET _μ : en mouvement (la source est placée à environ 1 cm de la peau de la souris et balaye une zone d'environ 1 cm ²)	1 souris	2 souris	2 souris	5
DBD'Med	La source possède une surface de contact d'environ 1 cm ² : elle est donc directement accolée à la souris et traite 1 cm ² de peau.	1 souris	2 souris	2 souris	5

Tableau VI.2. Modalités pratiques de la campagne expérimentale visant à vérifier l'innocuité des sources de plasma froid ORJET et DBD'Med. Le nombre de souris total utilisé à été de n=15 souris.

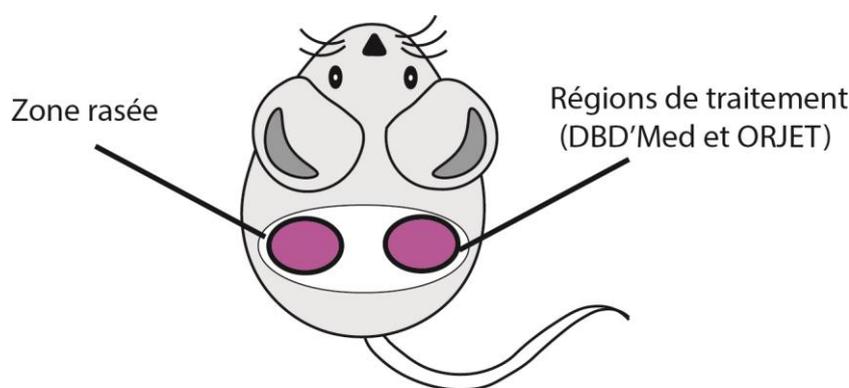


Figure VI.1: Schéma indiquant la zone rasée et les régions exposées au plasma froid (flancs droit et gauche)

Dans un premier temps, la température des tissus exposés au plasma froid est évaluée par imagerie thermographique infrarouge pour des temps d'exposition de 5 et de 10 minutes. Dans un second temps, les zones exposées au plasma froid au jour J0, sont analysées à J1, J3 et J7, soit pendant une semaine, en effectuant un bilan photographique.

b. Température des tissus exposés au plasma froid

Afin d'évaluer la température des tissus exposés au plasma froid, une caméra thermographique infrarouge est utilisée au cours des campagnes expérimentales *in vivo*.

Dans le cas de l'ORJET_μ, la Figure VI.2a présente une souris anesthésiée dont le flanc droit est exposé à un jet de plasma froid. La Figure VI.2b représente un thermogramme du même jet lors de son interaction avec la peau (cf. encadré noir). La température maximale mesurable dans cette zone est suivie pendant 10 minutes, comme le montre la Figure VI.2c qui représente l'évolution temporelle de la peau exposée au plasma pendant 10 minutes. Comme le dispositif est mobile et tenu à la main par l'opérateur, la distance qui sépare la souris de la sortie du tube diélectrique n'est pas tout à fait constante. C'est pourquoi ces mesures ont été effectuées sur 5 souris afin de pouvoir obtenir une température moyenne. Durant ces expériences et après 10 minutes de fonctionnement du plasma, le tube en

quartz atteint une température de 44°C, sans jamais être au contact avec la peau de la souris. La température de la peau exposée au plasma reste toujours à des valeurs inférieures à 39 °C, la valeur moyenne enregistrée étant de 36 °C.

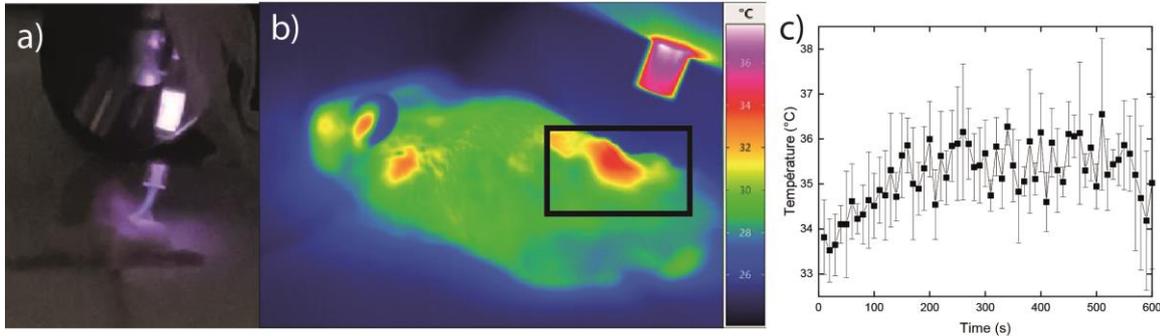


Figure VI.2: (a) Photographie de l'ORJET émettant une plume de plasma froid au contact d'un modèle murin, (b) Thermogramme de (a) montrant une zone d'échauffement local à $T < 36$ °C sur le modèle murin, (c) Courbe représentant l'évolution temporelle de la température maximale mesurée sur la peau du modèle murin.

Dans le cas du DBD'Med, il est possible de mesurer directement la température de la contre-électrode grille portée à la masse (Figure VI.3a). La caméra infrarouge fournit alors un profil spatial thermique comme indiqué sur la Figure VI.3b. Les valeurs de température les plus élevées sont au centre de la grille et atteignent des valeurs proches de 33 °C, la valeur maximale enregistrée étant de 36,5 °C. Comme reporté sur la Figure VI.3c, ces valeurs se stabilisent dès les premières 60 secondes de fonctionnement du plasma et n'augmentent pas davantage.

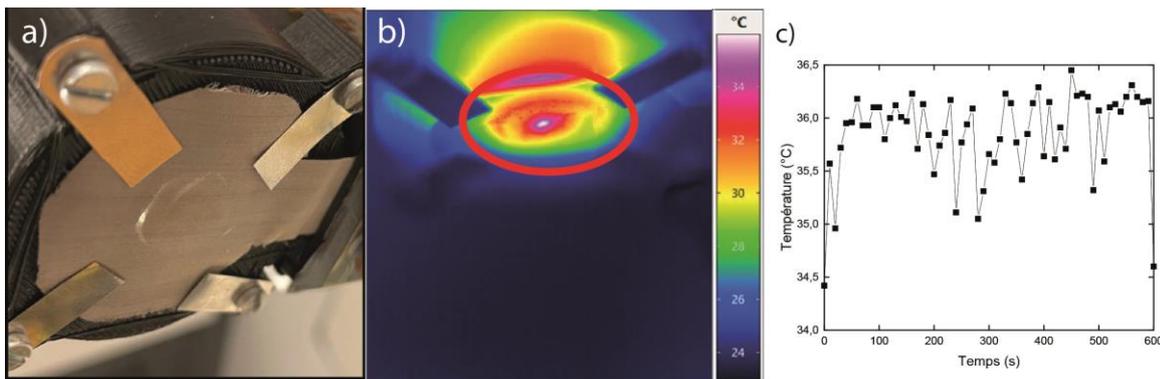


Figure VI.3: (a) Photographie de la contre-électrode grille du DBD'Med, (b) Thermogramme de la contre-électrode grille du DBD'Med en fonctionnement dans l'air, l'ovale rouge représente la zone d'intérêt thermique (c) Courbe représentant l'évolution de la température maximale atteinte au centre de la contre-électrode grille pendant 10min.

c. Identification des conditions permettant de s'affranchir des effets délétères du plasma froid sur la peau

Suite aux traitements effectués pendant 5-10 minutes par ORJET σ , ORJET μ et DBD'Med sur le tissu cutané des souris, un rapport photographique a été établi.

L'utilisation du ORJET selon la modalité statique (ORJET σ) conduit à l'apparition de brûlures dès le jour suivant l'exposition au plasma froid, comme indiqué par les cercles rouges de la Figure VI.4. Ces traces de brûlures sont particulièrement prononcées à J3 avant de disparaître progressivement au 7^{ème} jour. Il s'agit de brûlures superficielles qui ne mettent aucunement la vie des souris en danger. Néanmoins, le ORJET σ reste une modalité d'opération qu'il faut éviter si l'on souhaite traiter des modèles murins sur des temps longs, i.e. de l'ordre de 10 minutes.

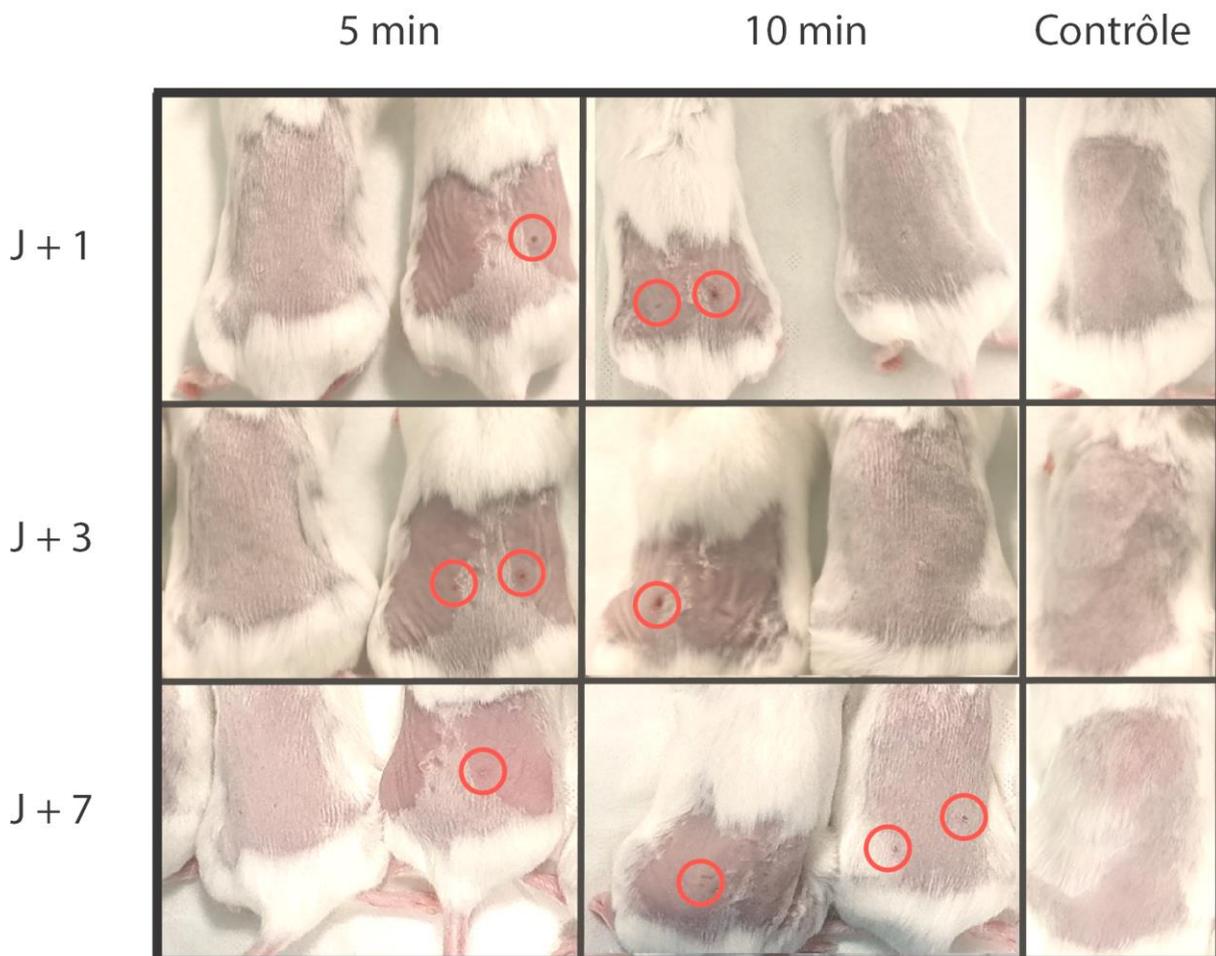


Figure VI.4: Photographies des peaux des souris après traitement par Plasma Tesla Jet en modalité statique (ORJET σ) pour des durées de 5 et 10min. Les cercles rouges indiquent une brûlure superficielle de la peau

Ce constat a motivé l'idée d'utiliser le ORJET selon une autre modalité afin de conserver des temps de traitement de 10 minutes, modalité consistant à déplacer la plume du ORJET au contact de la peau. Sur le plan expérimental, cela revient à créer un boîtier *ad hoc* qui permet à l'utilisateur de prendre le ORJET en main pour qu'il puisse lui-même déplacer la

plume de plasma sur le volume tumoral. C'est ce que l'on appelle le ORJET_μ : l'utilisation du *Plasma Tesla Jet* selon la modalité « mobile ». Le traitement par ORJET_μ des flancs droits et gauches des modèles murins a également été réalisé pour des temps d'exposition de 5 et de 10 minutes. Comme indiqué sur la Figure VI.5, aucune brûlure est détectée sur les peaux des souris, leur apparence est identique à la souris non-exposée au plasma (Contrôle). Grâce à modalité ORJET_μ, la plume de plasma ne reste jamais plus de 3 secondes au même endroit, limitant *de facto* un échauffement localisé des tissus. Cette modalité a donc été retenue pour l'étude des effets thérapeutiques, permettant par ailleurs de traiter l'ensemble du volume tumoral visible et non un point fixe.

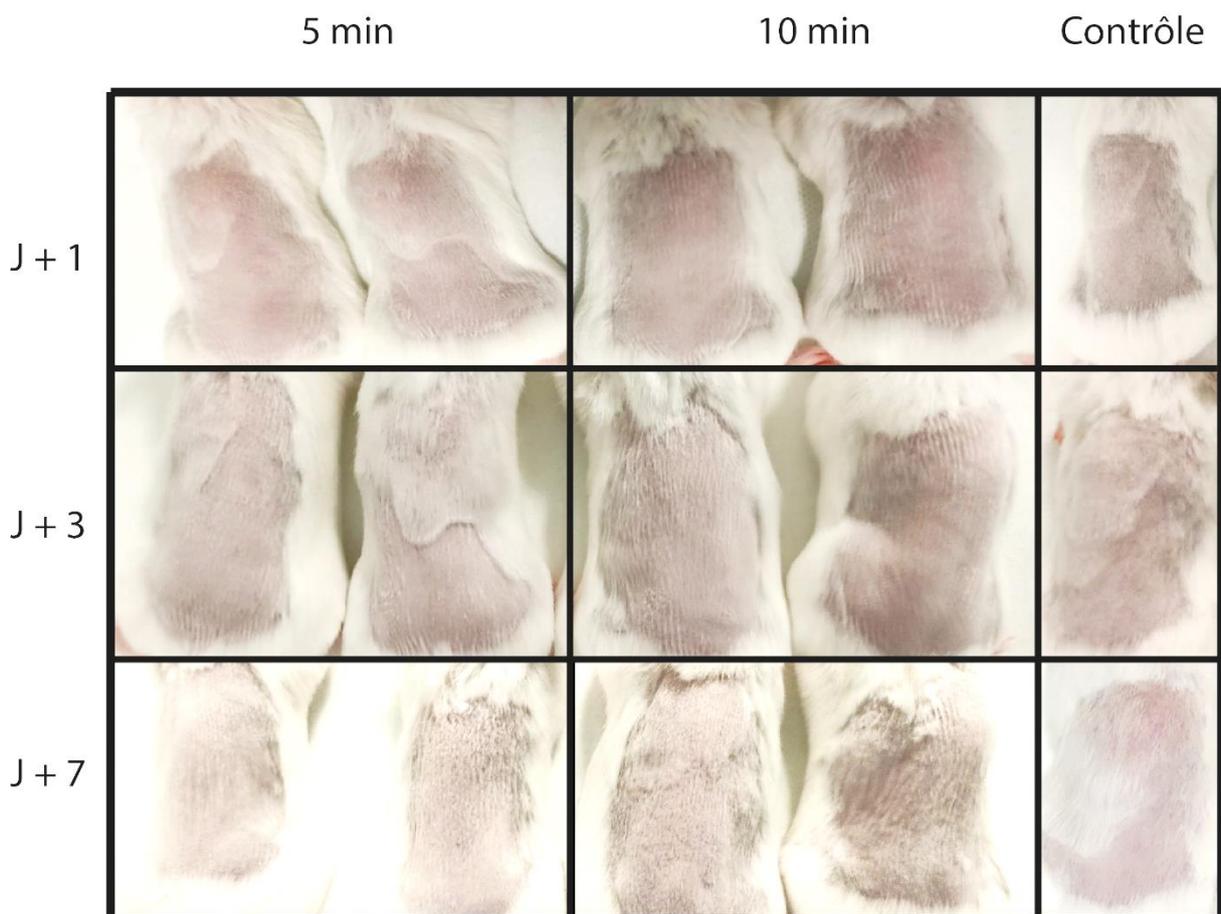


Figure VI.5: Photographies des peaux des souris après traitement des flancs par *Plasma Tesla Jet* en mouvement (ORJET_μ)

Enfin, l'innocuité du plasma froid généré par DBD'Med a également été étudiée sur n=5 souris. La zone de peau exposée au plasma est de 1 cm² pour une durée de 5 ou 10 minutes, comme indiqué sur la Figure VI.6. On constate alors l'absence totale de brûlures que ce soit à J1, J3 ou J7.

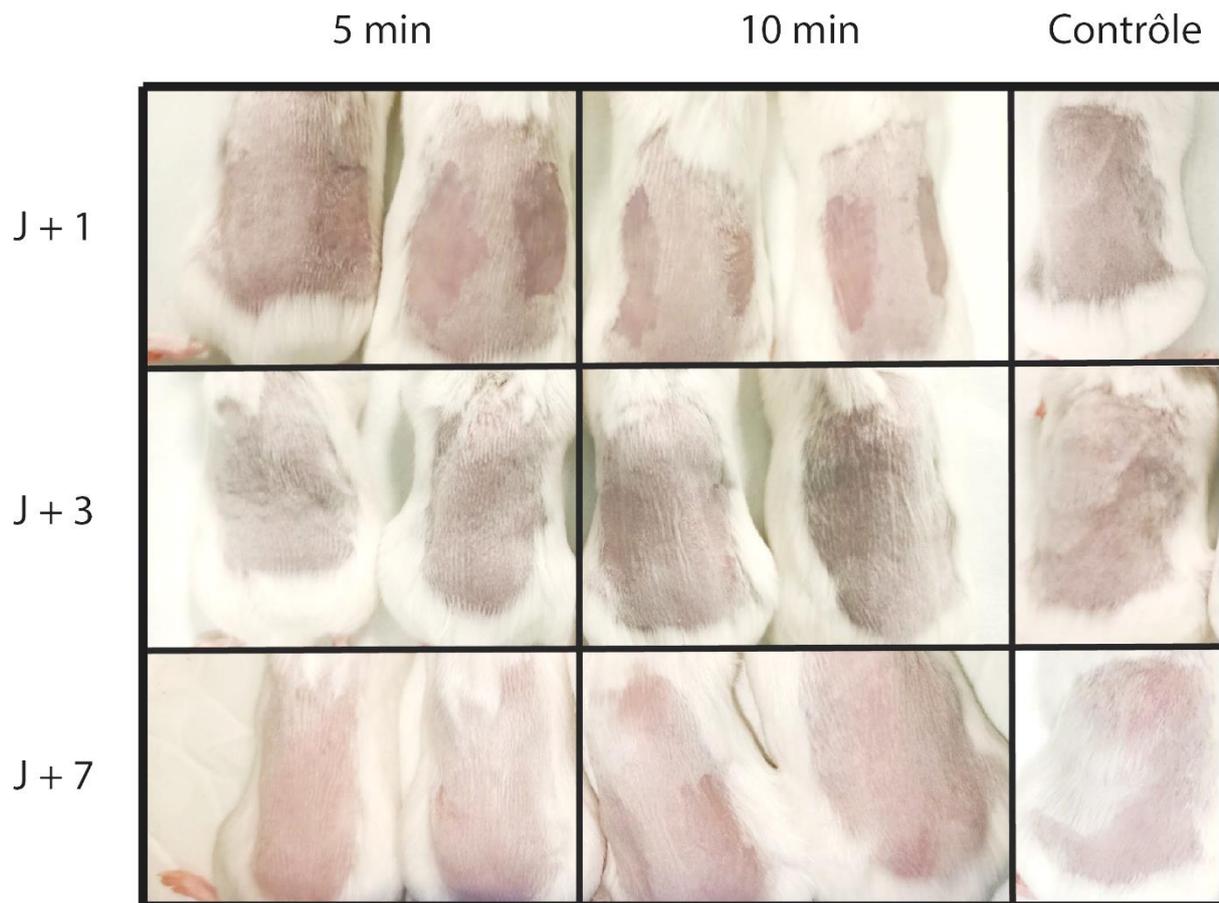


Figure VI.6: Résultats du traitement des flancs par DBD'Med pendant 5 et 10min

d. Discussion

Sur le plan configurationnel, l'ORJET comme le DBD'Med ont un point commun : le plasma froid n'est jamais au contact direct de l'électrode polarisée à la haute tension puisqu'une barrière diélectrique les sépare toujours, contrairement à d'autres configurations comme le plasma gun. Par conséquent, le risque éventuel d'avoir un passage au régime d'arc est nul pour l'ORJET comme pour le DBD'Med. Cela rend ces sources particulièrement fiables pour des applications médicales, en particulier s'il s'agit de les appliquer sur des modèles vivants (souris, cochons, humains).

Sur le plan des risques électriques :

- L'ORJET possède un capillaire en quartz d'épaisseur 1 mm ; deux électrodes annulaires externes étant apposées sur les parois externes de ce capillaire. En conséquence, ce dispositif présente une barrière diélectrique double dont l'épaisseur est ici de 2 mm. Pour plus de sûreté, la contre-électrode de masse correspond à l'anneau métallique situé le plus proche de la sortie du capillaire (Judée, 2019).

- Le DBD'Med possède non seulement une barrière diélectrique entre l'électrode polarisée et le plasma formé (ce qui empêche la formation d'un régime d'arc) mais présente également deux atouts supplémentaires : (i) la cible biologique à traiter (e.g. tissu biologique d'un humain ou d'un modèle porcin vigile) est au contact de la contre-électrode qui est à la masse, rendant ainsi impossible le passage d'un courant vers l'organisme à traiter, (ii) cette contre-électrode est une grille métallique qui laisse passer les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote et – dans une moindre mesure – les propriétés de rayonnement et de température du gaz plasmagène.

Sur le plan des risques thermiques, il convient de souligner trois points essentiels :

- Les campagnes expérimentales réalisées sur modèles murins font l'objet de protocoles éthiques très stricts. Parmi les nombreuses conditions fixées par ces protocoles, les dispositifs expérimentaux générant de la chaleur ne peuvent être utilisés que s'ils exposent les tissus de la cible biologique à des températures inférieures à 40 °C.
- Dans la Communauté Plasma Froids, il est commun de mesurer la température gazeuse du plasma par spectroscopie d'émission optique (SEO). Si cette technique est utilisée avec succès pour des applications telles que la propulsion spatiale ou le traitement de matériaux par torche thermique, elle reste néanmoins très limitée pour les applications où la température du gaz est inférieure à 100 °C. La raison est que les incertitudes liées à cette technique sont toujours de l'ordre de $\pm 20^\circ\text{C}$. Naturellement, ces incertitudes sont inacceptables pour les applications médicales en particulier en oncologie où les températures doivent rester inférieures à 40 °C, et typiquement varier entre 20°C et 30°, avec des incertitudes de $\pm 0,5^\circ\text{C}$. Comme la mesure de température du plasma froid importe moins que la mesure de la température des tissus exposés, il est donc préférable de se limiter à la mesure de la température de ces tissus par imagerie thermographique infrarouge.
- La condition de 40 °C fixée par les protocoles éthiques repose sur l'idée d'utiliser des dispositifs expérimentaux générant un flux de chaleur homogène. Néanmoins, sa pertinence est discutable à deux égards :
 - o Dans la perspective d'un transfert de la technologie « plasma froid » vers l'humain. Rappelons qu'il existe de nombreuses situations où le corps humain peut s'exposer à des températures supérieures à 40 °C sans pour autant avoir de brûlures. A titre d'exemple, la température des hammams plafonne aux alentours de 55 °C (pour une humidité relative de 100 %) tandis que la température des saunas est de 70-100 °C (pour une humidité relative de 3-20%). Dans les deux cas, l'utilisateur peut rester entre 15 et 30 minutes sans risque de brûlure.
 - o Le plasma froid est un système « hors équilibre thermodynamique ». En première approximation, cela signifie qu'il est composé d'électrons, d'ions positifs et d'espèces neutres (e.g. ROS, RNS), chacun de ces types de particules possédant sa propre température. Ainsi, alors que la température gazeuse (ou des espèces neutres) est de l'ordre de 20-30 °C et respecte la condition des protocoles éthiques, la température électronique est quant à elle de l'ordre de 0,1-1 eV, soit 1000 à 10 000 °C. Sur de courtes

périodes temporelles ($<1s$), la densité électronique étant faible ($10^{12} e \cdot cm^{-3}$), le nombre d'électrons atteignant la cible biologique par seconde peut être négligé, d'où une température ressentie qui reste proche de la température des espèces neutres, i.e. e l'ordre de 20-30 °C. Néanmoins, lorsqu'un jet de plasma froid atteint le tissu biologique lors d'un traitement de plusieurs minutes, on ne pas exclure que des électrons viennent impacter le tissu biologique à des températures extrêmement élevées sans pourtant pouvoir être détectés à la caméra infrarouge, la résolution spatiale de ce diagnostic étant au mieux de 100 μm . L'hypothèse selon laquelle les électrons incidents peuvent être responsables d'effets délétères – en l'occurrence de brûlures – est donc tout à fait possible même si la température ressentie est inférieure à 40 °C. Des dommages cutanés mineurs et superficiels ont ainsi pu être observés pour certains jets de plasma malgré des températures moyennes inférieures à 40 °C (Judée, 2019).

2. Effets du plasma froid sur des tumeurs ectopiques du cancer du poumon non à petites cellules

a. Efficacité antitumorale du plasma froid sur les sites tumoraux primaires

L'efficacité antitumorale des deux sources plasma a été évaluée sur des modèles murins immunocompétents auxquels des cellules de NSCLC ont été inoculées en sous-cutané. Les injections des cellules cancéreuses dans les modèles murins ont été réalisées le jour J0 et les premiers traitements au jour J15. Pendant ce laps de temps de 2 semaines, les cellules tumorales injectées ont ainsi pu se multiplier pour former un amas tumoral palpable, i.e. dont le volume est estimé à une valeur comprise entre 50 et 200 mm^3 . Les tumeurs peuvent ainsi être mesurées avec une précision correcte ($<1 mm^3$) à l'aide d'un pied coulisse.

Trois groupes de souris porteuses de volumes tumoraux ont été suivis : souris non-exposées au plasma (Contrôle), souris exposées au *Plasma Tesla Jet* utilisé selon la modalité « mobile » (ORJET $_{\mu}$) et souris exposées au dispositif à barrière diélectrique dont la contre-électrode est une grille métallique (DBD'Med). Le Tableau VI.3 rappelle que 120 souris ont été utilisées afin de réaliser l'expérience en 4 réplicas, à raison de 10 souris par groupe. Pour chaque groupe et pour chaque jour, un volume tumoral moyen (\bar{V}_{tum}) est donc obtenu à partir des volumes tumoraux de chaque réplica : $V_{tum}^{(1)}$, $V_{tum}^{(2)}$, $V_{tum}^{(3)}$ et $V_{tum}^{(4)}$. De plus, pour faciliter la comparaison d'un groupe à une autre, on s'intéresse à une valeur moyenne normalisée par rapport à un jour de référence. Ce jour de référence correspond à celui où le premier traitement plasma est effectué. Cela signifie que pour chaque groupe de cette étude, on s'intéresse à l'évolution du rapport de $\bar{V}_{tum}(J)$ par $\bar{V}_{tum}(J15)$ où J15 est le jour du premier traitement par plasma. Pour ces raisons, le volume tumoral moyen normalisé à J15 est de 100% pour les trois groupes.

Chapitre VI - Application du plasma froid au cancer du poumon non-à-petites cellules

Effets du plasma froid sur des tumeurs ectopiques du cancer du poumon non à petites cellules

	Réplica #1	Réplica #2	Réplica #3	Réplica #4
Contrôle	10	10	10	10
ORJET_μ	10	10	10	10
DBD'Med	10	10	10	10

Tableau VI.3. Modalités pratiques de la campagne expérimentale visant à évaluer l'efficacité thérapeutique du plasma froid sur des tumeurs de NSCLC en sous-cutané chez la souris

La Figure VI.7 représente l'évolution temporelle des volumes tumoraux moyens normalisés. Les flèches noires indiquent les jours où sont réalisés les traitements au plasma froid (ORJET_μ ou DBD'Med). De J15 à J26, soit en une dizaine de jours, le volume tumoral moyen du groupe Contrôle passe de 100 % à 730 %. A l'inverse, les volumes tumoraux moyens exposés au plasma passent de 100 % à 300 % pour le ORJET_μ et de 100 % à 350 % pour le DBD'Med. L'efficacité antitumorale des deux sources plasma est importante puisque les volumes tumoraux obtenus à J26 sont de l'ordre de 325 mm³ : une valeur 2,2 fois plus faible que les volumes tumoraux non-exposés au plasma froid (730 mm³). Il faut par ailleurs souligner l'excellente significativité statistique entre d'une part les volumes tumoraux du groupe Contrôle et d'autre part ceux des groupes plasma puisque les p-valeurs sont inférieures à 0,0001 (i.e. 4 étoiles).

Cette expérience a donc permis de démontrer l'efficacité antitumorale des deux sources plasma sur des tumeurs de cancer du poumon non à petites cellules. A ce stade, il est important de souligner qu'il existe une différence essentielle entre les deux sources plasma : alors que l'ORJET_μ génère une plume de plasma capable de se propager au-delà de l'espace interélectrode, le DBD'Med, lui, ne génère pas de plasma au-delà de sa contre-électrode « grille à la masse » ; il s'agit donc d'un traitement par post-décharge où, l'on peut raisonnablement supposer que seules les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote sont responsables de l'effet antitumoral.

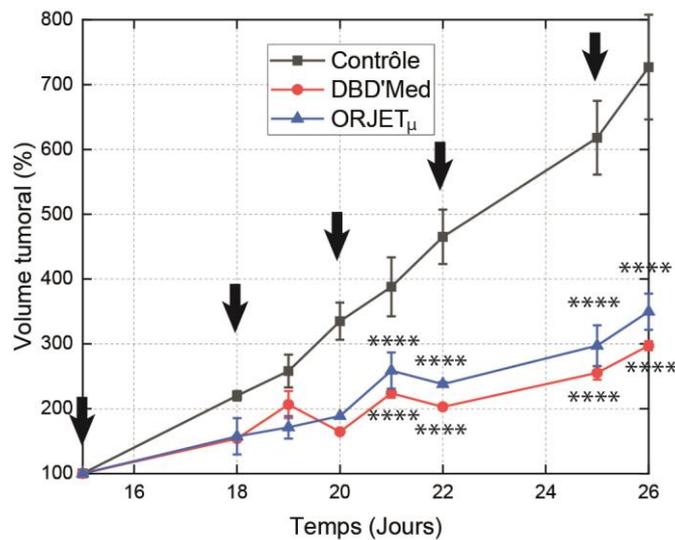


Figure VI.7: Evolution temporelle des volumes tumoraux moyens normalisés de NSCLC inoculées en sous-cutané à des souris immunocompétentes. Les volumes tumoraux sont normalisés par rapport au Contrôle à J15, date du premier traitement. Trois groupes sont considérés : Contrôle, traitement par ORJET_μ et traitement par DBD'Med. Chaque flèche correspond à un traitement de 10min avec le dispositif indiqué. Valeurs exprimées en moyenne \pm SEM. (*, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; ***, $p < 0,001$; ****, $p < 0,0001$)

Pour vérifier la précision des mesures réalisées au pied à coulisse sur les volumes tumoraux, les masses des tumeurs ont également été mesurées en les extrayant de leurs hôtes le jour de leur euthanasie (J28). Alors que la masse moyenne des tumeurs du groupe Contrôle est de 420 mg, celle du groupe ORJET_μ est de 120 mg et celle du groupe DBD'Med de 130 mg, comme indiqué sur la Figure VI.8. L'exposition au plasma froid a donc permis de réduire les masses tumorales par un facteur d'environ $\frac{420mg}{125mg} \times 100 = 3,4$. Cette valeur corrobore celle comparant les volumes tumoraux à J28 et qui était de 2,2. Enfin, il faut également préciser que les écarts entre d'une part les masses tumorales du groupe Contrôle et d'autre part les masses tumorales des groupes plasma, sont statistiquement très différentes puisque qu'une p-valeur inférieure à 10^{-4} a été obtenue.

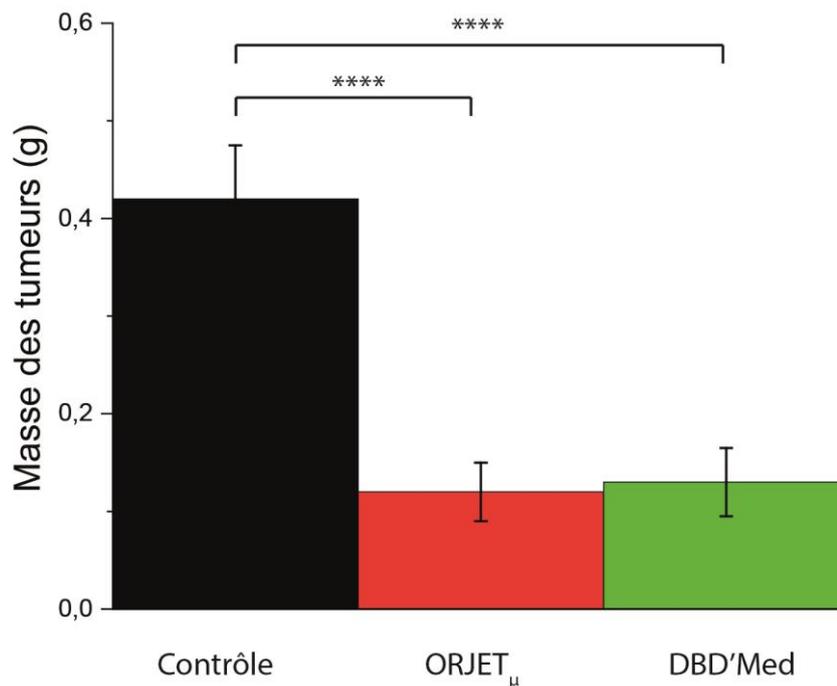


Figure VI.8: Masse des tumeurs (retirées de leurs hôtes en fin d'expérience) pour les groupes Contrôle, ORJET_μ et DBD'Med. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. Les valeurs sont exprimées en moyennes \pm SEM. *, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; ***, $p < 0,001$; ****, $p < 0,0001$

b. Efficacité antitumorale du plasma froid sur les sites tumoraux secondaires (métastases)

Dans le cas du cancer du poumon non à petites cellules inoculé en sous-cutané (modèle ectopique) à des souris immunocompétentes, nous avons démontré que le plasma froid permettait de réduire les volumes et les masses des sites tumoraux primaires. Sans entrer dans la mécanistique biologique qui fait l'objet d'une thèse conjointe à celle-ci (thèse de Solenne Marmier dirigée par Pr. Isabelle Cremer), il apparaît opportun de vérifier si le traitement au plasma froid des sites tumoraux primaires peut avoir ou non un effet antitumoral sur les sites tumoraux secondaires : les métastases.

Pour répondre à cette question, une campagne expérimentale a été menée sur $n = 30$ souris auxquelles des lignées tumorales de NSCLC sont inoculées au jour J0. Deux semaines après, les tumeurs se sont suffisamment développées pour devenir palpables. Trois groupes sont alors constitués à raison de 10 souris/groupe : un groupe Contrôle, un groupe « Traitement au ORJET_μ » et un groupe « traitement au DBD'Med » comme précisé dans le Tableau VI.4.

Chapitre VI - Application du plasma froid au cancer du poumon non-à-petites cellules

Effets du plasma froid sur des tumeurs ectopiques du cancer du poumon non à petites cellules

	Réplica #1
Contrôle	10
ORJET _μ	10
DBD'Med	10

Tableau VI.4. Modalités pratiques de la campagne expérimentale visant à évaluer l'efficacité thérapeutique du plasma froid sur des tumeurs de NSCLC en sous-cutané chez la souris

Comme indiqué sur la Figure VI.9, le volume tumoral moyen normalisé de chaque groupe est étudié sur une période de 26 jours, J15 marquant la date du premier traitement plasma et J42 la date d'euthanasie des modèles murins et de l'extraction de leurs poumons. Cinq traitements ont été effectués pour des durées d'exposition au plasma de 10 minutes aux dates J14, J18, J20, J22 et J25. Au 25^{ème} jour, on peut ainsi clairement voir un effet du plasma froid sur le volume tumoral. En effet, que ce soit par ORJET_μ ou par DBD'Med, un volume tumoral moyen normalisé de 180% est mesuré contre presque 400% pour le groupe Contrôle. Pour pouvoir étudier l'effet antitumoral du plasma froid sur les métastases, les souris continuent d'être placées en observation pendant plus de 2 semaines sans bénéficier d'aucun type de traitement, plasma ou non. Pendant ce laps de temps, les métastases peuvent ainsi se développer jusqu'au jour où la limite sacrificielle impose l'arrêt de l'expérience (J42).

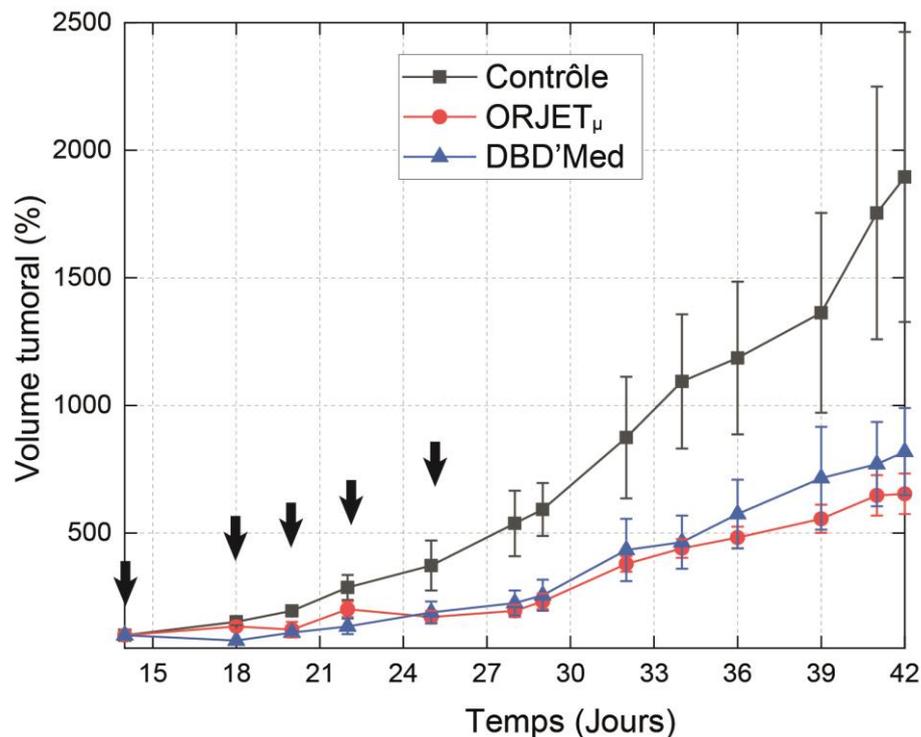


Figure VI.9: Evolution temporelle des volumes tumoraux moyens normalisés de souris appartenant au groupe Contrôle, ORJET μ et DBD'Med. La période étudiée s'étend de J15 (1^{er} traitements au plasma froid) à J42 (jour d'euthanasie des modèles murins). Chaque flèche marque le jour d'un traitement au plasma (ORJET μ ou DBD'Med). Les volumes tumoraux sont normalisés par rapport au Contrôle à J15. Valeurs exprimées en moyenne \pm SEM.

Alors que la quantification des volumes tumoraux primaires peut être réalisée à l'aide d'un pied à coulisse de J14 à J42 (Figure VI.9), la quantification des sites tumoraux secondaires – ou métastases – nécessite d'avoir recours à une alternative. Dans notre cas, les deux méthodes suivantes ont été utilisées :

- Méthode de l'Encre de Chine injectée dans modèle post-mortem » : à l'issue du jour de (J42), les poumons sont extraits de leurs hôtes afin d'y injecter un volume de 2 mL d'encre de Chine. Au bout de quelques heures, l'encre de Chine parvient à diffuser à travers les tissus non-tumoraux. Comme l'illustre la Figure VI.10a, il devient alors possible de distinguer à l'œil nu les zones métastasées (pas de coloration à l'encre de Chine) des zones saines (coloration à l'encre de Chine). Bien que facile, peu onéreuse et rapide à mettre en œuvre, cette approche reste cependant qualitative en raison de la difficulté à estimer avec précision les volumes métastasés qui – de surcroît – sont très petits (<1mm³). Il est donc souhaitable de compléter cette technique par une approche quantitative de comptage, décrite ci-après.
- Méthode de la « Luciférase injectée dans modèle vigile » : au cours de l'expérience, de la luciférase est injectée aux souris. Seules les cellules tumorales répondent à cette enzyme en émettant un rayonnement fluorescent, lequel peut alors être

observé et quantifié à l'IVIS (In Vivo Imaging System, modèle Lumina II de la compagnie Perkin-Elmer). La Figure VI.10b présente une photographie de souris observée à l'IVIS, à partir de laquelle on peut distinguer nettement la présence de deux sites tumoraux : le site primaire (correspondant au flanc droit de la souris où ont été injectées en sous-cutané les lignées de cellules tumorales à J0) et le site secondaire (correspondant aux métastases régio-localisées aux poumons). La Figure VI.10c est une photographie IVIS de trois souris dont la partie inférieure des corps est masquée par un cache pour mieux détecter les métastases pulmonaires.

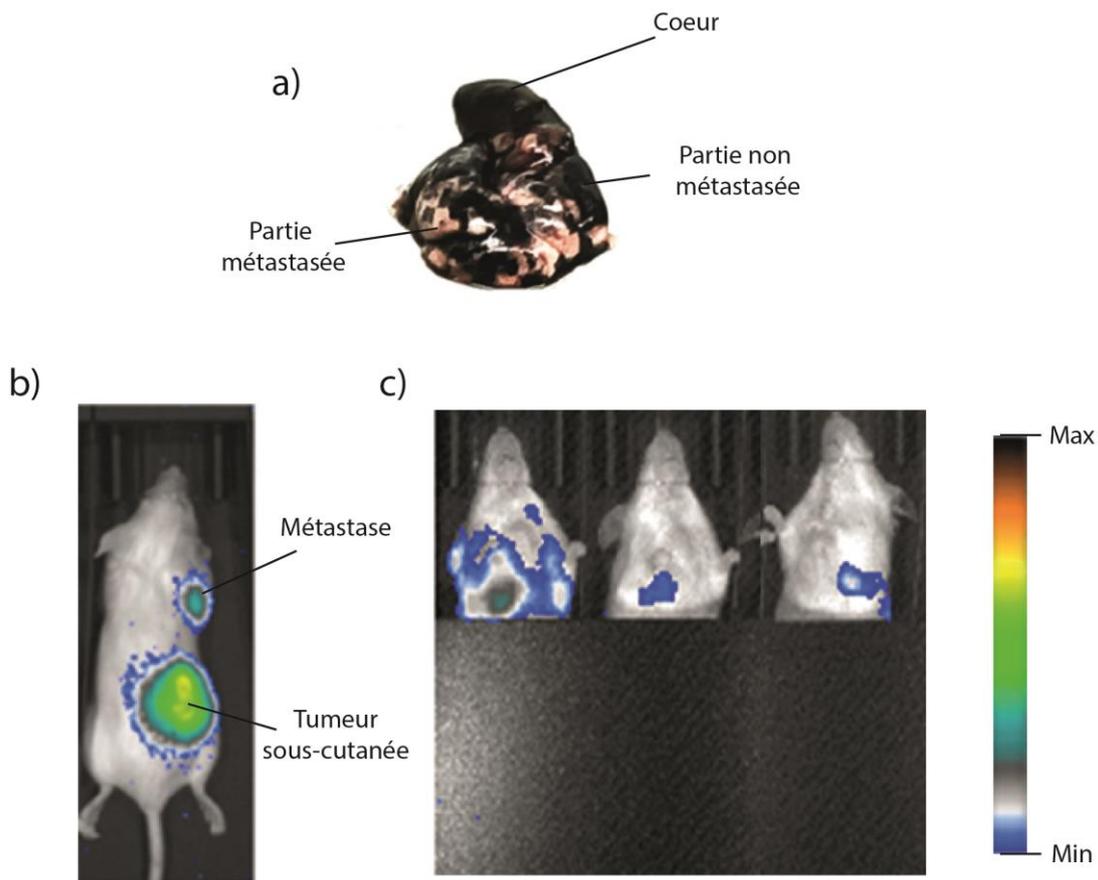


Figure VI.10: a) Image d'un poumon de souris perfusé à l'encre de chine présentant des métastases b) Image par IVIS d'une souris entière c) Image par IVIS de métastases pulmonaires chez la souris

Les deux techniques de comptage précédentes ont été utilisées afin de mesurer le taux de métastases au dernier jour de l'expérience (J42). La Figure VI.11a présente les résultats issus de la technique « Encre de Chine dans modèle post-mortem » et permet d'évaluer à l'œil nu un nombre de métastases sur les poumons. Alors que le nombre moyen de métastases détecté dans le groupe Contrôle est de 36, le traitement par ORJET_μ permet de réduire ce nombre à 12 et à seulement 4 pour le traitement par DBD'Med. Les p-valeurs de ces deux traitements sont inférieures à 10⁻⁴ par rapport au groupe Contrôle, indiquant ainsi le caractère statistiquement significatif des résultats obtenus. La Figure VI.11b présente les résultats obtenus à partir de la technique « Luciférase dans modèle vigile ». Ici, il n'est plus question de compter le nombre de métastases sur l'organe extrait mais plutôt le flux radiatif des émis par les métastases. Alors que ce paramètre présente une

valeur de $3,9 \times 10^6$ photons/s pour le groupe Contrôle, le groupe ORJET $_{\mu}$ comme le groupe DBD'Med présentent des valeurs inférieures à $1,0 \times 10^6$ photons/s. Cela signifie que les deux sources à plasma froid induisent une efficacité thérapeutique importante sur les métastases, avec des p-valeurs inférieures à 10^{-4} (4 étoiles). Cette efficacité est donc démontrée avec les sources ORJET $_{\mu}$ comme DBD'Med, que ce soit par la technique utilisant l'encre de Chine comme la technique basée sur la Luciférase.

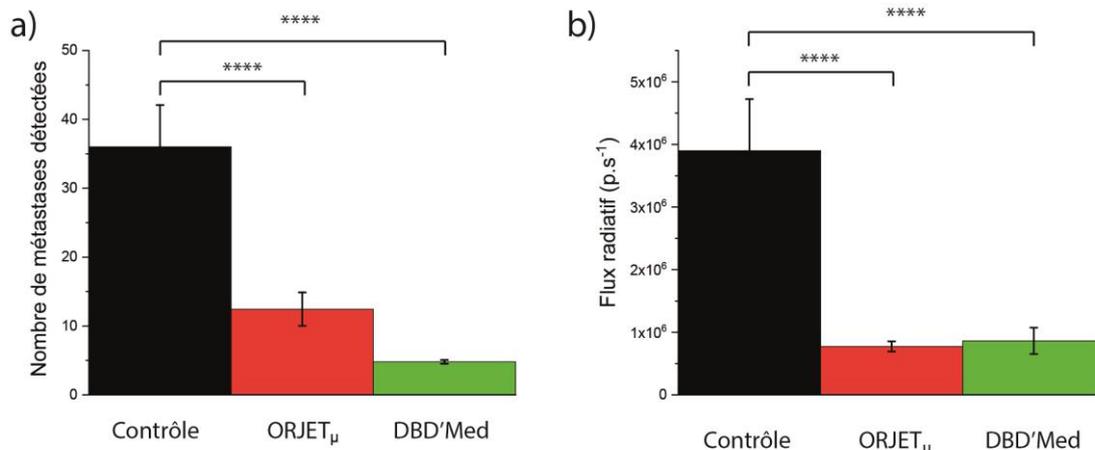


Figure VI.11: a) Nombre de métastases mesurées en fonction du dispositif de traitement des souris : Contrôle, ORJET $_{\mu}$ et DBD'Med. b) Flux mesuré au niveau des poumons des souris des groupes Contrôle, ORJET $_{\mu}$ et DBD'Med à J+42. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. *, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; ***, $p < 0,001$; ****, $p < 0,0001$

c. Persistance de l'effet antitumoral induit par plasma froid (ou effet mémoire)

Après avoir démontré l'efficacité antitumorale des deux sources de plasma froid (ORJET et DBD'Med) à la fois sur les sites tumoraux primaires et secondaires (ou métastases), nous nous sommes interrogés sur la persistance de l'effet antitumoral induit par plasma froid. En d'autres termes, dans le cas de modèles murins porteurs de tumeurs NSCLC ayant bénéficié d'un traitement thérapeutique au plasma froid, combien de temps les effets antitumoraux peuvent-ils perdurer dans le temps ?

Cet « effet mémoire » a été étudié dans le cadre d'une campagne expérimentale menée sur 40 modèles murins immunocompétents, porteurs de tumeurs de NSCLC. Le protocole d'inoculation tumorale est identique à celui suivi dans les sections précédentes. 5 groupes de souris ont été constitués incluant un groupe « contrôle » et quatre groupes « test » :

- Un groupe de souris ne bénéficiant d'aucun traitement (Groupe Contrôle)
- Un groupe de souris ayant bénéficié de 5 traitements à l'ORJET utilisé selon la modalité mobile (Groupe ORJET $_{A5B0}^{\mu}$)
- Un groupe de souris ayant bénéficié de 8 traitements à l'ORJET utilisé selon la modalité mobile (Groupe ORJET $_{A5B3}^{\mu}$)
- Un groupe de souris ayant bénéficié de 5 traitements au DBD'Med (Groupe DBD $_{A5B0}^{Med}$)

Chapitre VI - Application du plasma froid au cancer du poumon non-à-petites cellules

Effets du plasma froid sur des tumeurs ectopiques du cancer du poumon non à petites cellules

- Un groupe de souris ayant bénéficié de 8 traitements au DBD'Med (Groupe DBD_{A5B3}^{Med})

Les traitements se déroulent en deux phases :

- Au cours de la phase A (de J15 à J24) :
 - o Toutes les souris des 4 groupes « test » sont exposées au plasma froid à raison de 5 traitements espacés de 2 à 3 jours. Chaque traitement a une durée de 10 minutes, quelle que soit la source plasma utilisée.
 - o Les souris issues des groupes $ORJET_{A5B0}^{\mu}$ et $ORJET_{A5B3}^{\mu}$ reçoivent le même nombre de traitements et peuvent donc être réunies au sein d'un groupe unifié nommé $ORJET_A^{\mu}$. Le nombre de souris au sein de ce groupe unifié est donc de $8 + 7 = 15$.
 - o Les souris issues des groupes DBD_{A5B0}^{Med} et DBD_{A5B3}^{Med} reçoivent le même nombre de traitements et peuvent donc être réunies au sein d'un groupe unifié nommé DBD_A^{Med} . Le nombre de souris au sein de ce groupe unifié est donc de $8 + 7 = 15$.
- Au cours de la phase B (de J24 à J31) :
 - o Seules les souris appartenant aux groupes $ORJET_{\mu}^{5,3}$ et DBD_{A5B3}^{Med} font l'objet de 3 traitements supplémentaires de 10 minutes chacun.
 - o Les souris issues des groupes $ORJET_{A5B0}^{\mu}$ et DBD_{A5B0}^{Med} ne sont pas exposés au plasma froid.

Le Tableau VI.5 synthétise le plan d'expériences précédemment décrit, avec mention du nombre de souris par groupe :

Sources de plasma froid	Groupes	Nombre de souris par groupe	Nombre de traitements au plasma froid reçus par chaque souris		
			Phase A	Phase B	Phase A + Phase B
-	Contrôle	10	5	3	8
ORJET	$ORJET_{A5B0}^{\mu}$	8	5	0	5
	$ORJET_{A5B3}^{\mu}$	7	5	3	8
DBD'Med	DBD_{A5B0}^{Med}	8	5	0	5
	DBD_{A5B3}^{Med}	7	5	3	8

Tableau VI.5. Modalités pratiques de la campagne expérimentale visant la persistance des effets antitumoraux induits par plasma froid sur des tumeurs de NSCLC inoculées en sous-cutané chez des modèles murins immunocompétents.

La Figure VI.12a représente l'évolution temporelle du volume tumoral moyen normalisé pour chaque groupe de souris, de J15 à J24. Sur cet intervalle de temps, chaque souris des 4 groupes test a été exposé 5 fois au plasma, comme indiqué par les flèches. Au bout de 5 traitements, les volumes tumoraux traités au plasma froid ont sensiblement la même valeur : environ 190 %, contre près de 280 % pour le groupe Contrôle. L'ORJET comme le DBD'Med ont donc la même efficacité antitumorale. Lors de la phase B qui démarre à J24 et se termine à J31, seuls les groupes $ORJET_{A5B3}^{\mu}$ et DBD_{A5B3}^{Med} reçoivent 3 traitements

supplémentaires. La Figure VI.12b montre l'évolution temporelle de ces volumes tumoraux ainsi que ceux des groupes où le plasma n'est plus appliqué : $ORJET_{A5B0}^{\mu}$ et DBD'_{A5B0}^{Med} . Que ce soit à J26, J29 ou J31, il n'existe pas de différence statistiquement significative entre les groupes # et *, c'est-à-dire entre ceux ayant reçu 5 ou 8 expositions au plasma froid. Cela nous amène donc à conclure deux choses :

- Le traitement par plasma froid induit des effets antitumoraux significatifs dès sa 4^{ème} application (J22 sur la Figure VI.12a) sur le long terme.
- Des traitements supplémentaires peuvent être délivrés aux sites tumoraux mais il n'existe alors plus de différence significative avec ceux qui ne sont plus traités par plasma (Figure VI.12b).
- Dans la mesure où les volumes tumoraux des 4 groupes test restent bien inférieurs aux volumes tumoraux du groupe Contrôle, il est donc possible de confirmer l'effet mémoire. Néanmoins, cet effet pourrait être davantage renforcé lors de la phase A en effectuant des traitements plasma plus longs, plus rapprochés et plus nombreux.

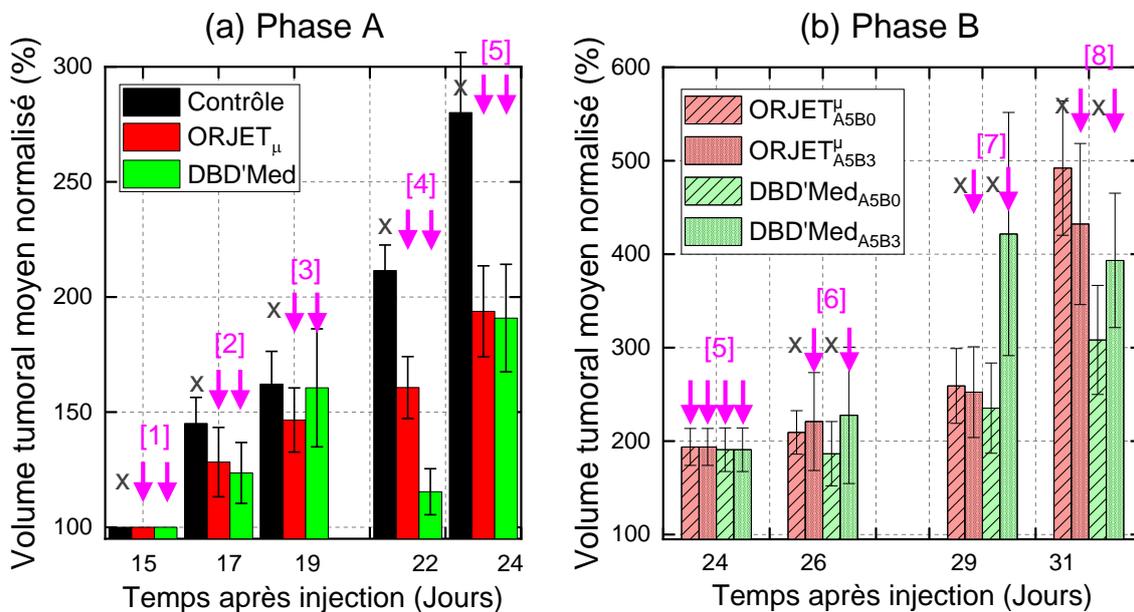


Figure VI.12: Evolution temporelle des volumes tumoraux des groupes Contrôle, $ORJET_{\mu}$ et DBD'_{Med} (a) lors de la phase A, (b) lors de la phase B. Les volumes tumoraux sont normalisés par rapport au Contrôle à J15. Chaque flèche correspond à un traitement par plasma de 10min selon le dispositif indiqué. Valeurs exprimées : moyennes \pm SEM.

Les modèles murins des 5 groupes sont euthanasiés à J31 et leurs poumons extraits afin de quantifier les métastases. La Figure VI.13 représente le nombre de métastases pulmonaires déterminé en utilisant la méthode de l'encre de Chine injectée dans les poumons. Alors qu'une moyenne de 36 métastases pulmonaires est dénombrée par souris du groupe Contrôle, le traitement à l'ORJET fait chuter ce nombre à environ 10 métastases et le traitement au DBD'Med à moins de 10. Ces résultats sont donc cohérents avec les mesures des volumes tumoraux moyens normalisés : l'ORJET comme le DBD'Med ont des effets thérapeutiques significatifs à la fois sur les sites primaires et secondaires (métastases). De plus, il n'y a pas de différence significative entre une séquence de 5

traitements ou une séquence de 8 traitements, et ce quelle que soit la source utilisée. Enfin, si l'on se réfère aux données du groupe Contrôle jusqu'au jour de l'euthanasie (J31), les effets du plasma restent très significatifs en termes de réduction des volumes tumoraux primaires (Figure VI.12) comme du nombre de métastases (Figure VI.13), validant ainsi le fait que le plasma froid peut induire des effets antitumoraux persistants. Cet effet mémoire ouvre la voie à un nouveau volet de recherche : l'immunologie déclenchée par plasma froid.

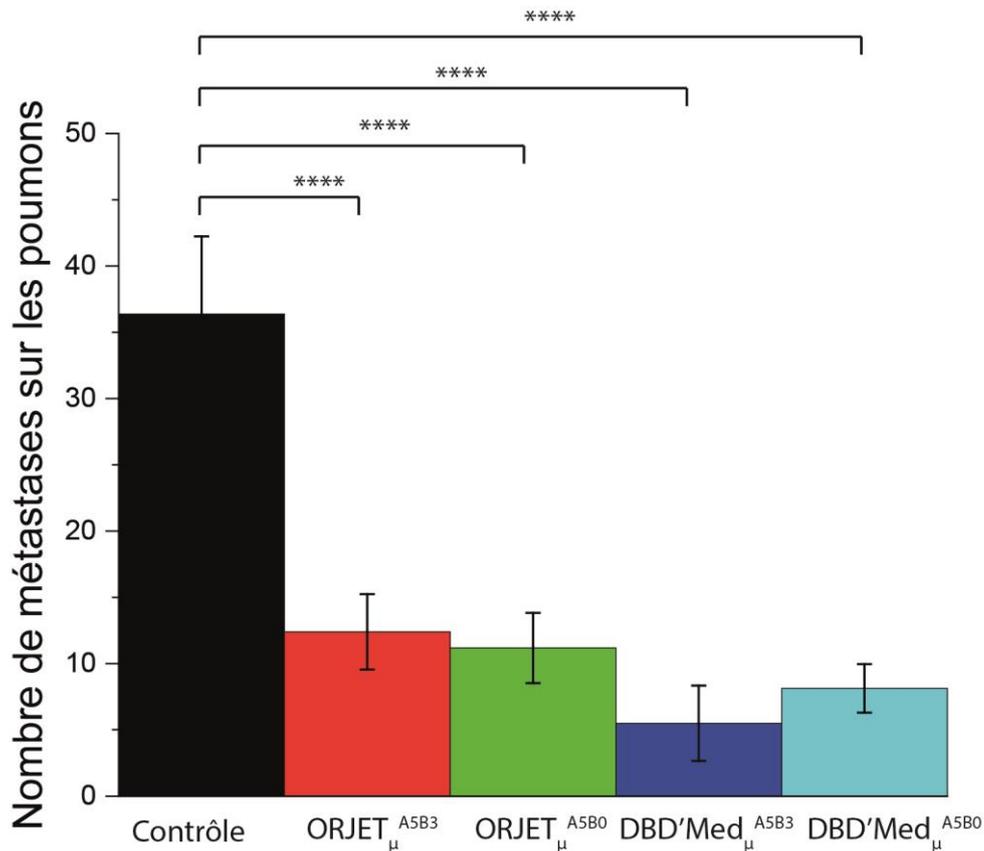


Figure VI.13: Nombre de métastases sur les poumons en fonction des différents groupes. Les valeurs sont exprimées en moyennes ± SEM. *, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; ***, $p < 0,001$; ****, $p < 0,0001$

d. Déclenchement de l'effet abscopal par plasma froid

i. Présentation

Le NSCLC étant un cancer asymptomatique, il est souvent détecté à un stade avancé, caractérisé par la présence de métastases. Dans les sections précédentes, nous avons vu que les deux options « plasma froid » proposées avaient des effets antitumoraux sur les sites primaires et secondaires (métastases). Pour aller plus loin, il faut à présent s'intéresser à l'effet abscopal. Cet effet correspond au phénomène de régression d'une

métastase suite à une exposition thérapeutique par plasma froid visant une autre métastase ou tumeur primitive. Parmi les explications possibles de ce phénomène, l'une des plus probable pourrait être une immunité naturelle induite par l'exposition au plasma froid. L'inflammation sur le site exposé, en détruisant les cellules tumorales, pourrait favoriser la présence d'antigènes et la production de cellules dendritiques capables d'agir à distance.

Deux protocoles ont été mis en œuvre afin de démontrer l'effet abscopal induit par plasma froid :

- Protocole par injections simultanées (Figure VI.14a):
 - Une même souris se voit injecter simultanément deux doses de cellules tumorales : une dans le flanc gauche et l'autre dans le flanc droit.
 - On attend environ deux semaines pour que deux volumes tumoraux palpables puissent se former sur chaque flanc.
 - Puis, une thérapie plasma (ou séquence de plusieurs traitements par plasma froid) est réalisée sur un seul des deux sites tumoraux, par exemple la tumeur du flanc droit. Le flanc gauche est donc jamais exposé au plasma.
- Protocole par injections séquencées (Figure VI.14b) :
 - Dans un premier temps, une même souris se voit injecter une dose de cellules tumorales uniquement dans un de ces flancs, par exemple le flanc droit.
 - On attend environ deux semaines pour que ce volume tumoral apparaisse et devienne palpable. Une thérapie plasma est alors initiée, typiquement 2 traitements au plasma froid
 - Dans un second temps, la même souris se voit injecter dans son flanc gauche une dose de 1×10^6 cellules de même lignée que la précédente.
 - L'évolution des volumes tumoraux sur les deux flancs est suivie sur environ 2 semaines.

Chapitre VI - Application du plasma froid au cancer du poumon non-à-petites cellules

Effets du plasma froid sur des tumeurs ectopiques du cancer du poumon non à petites cellules

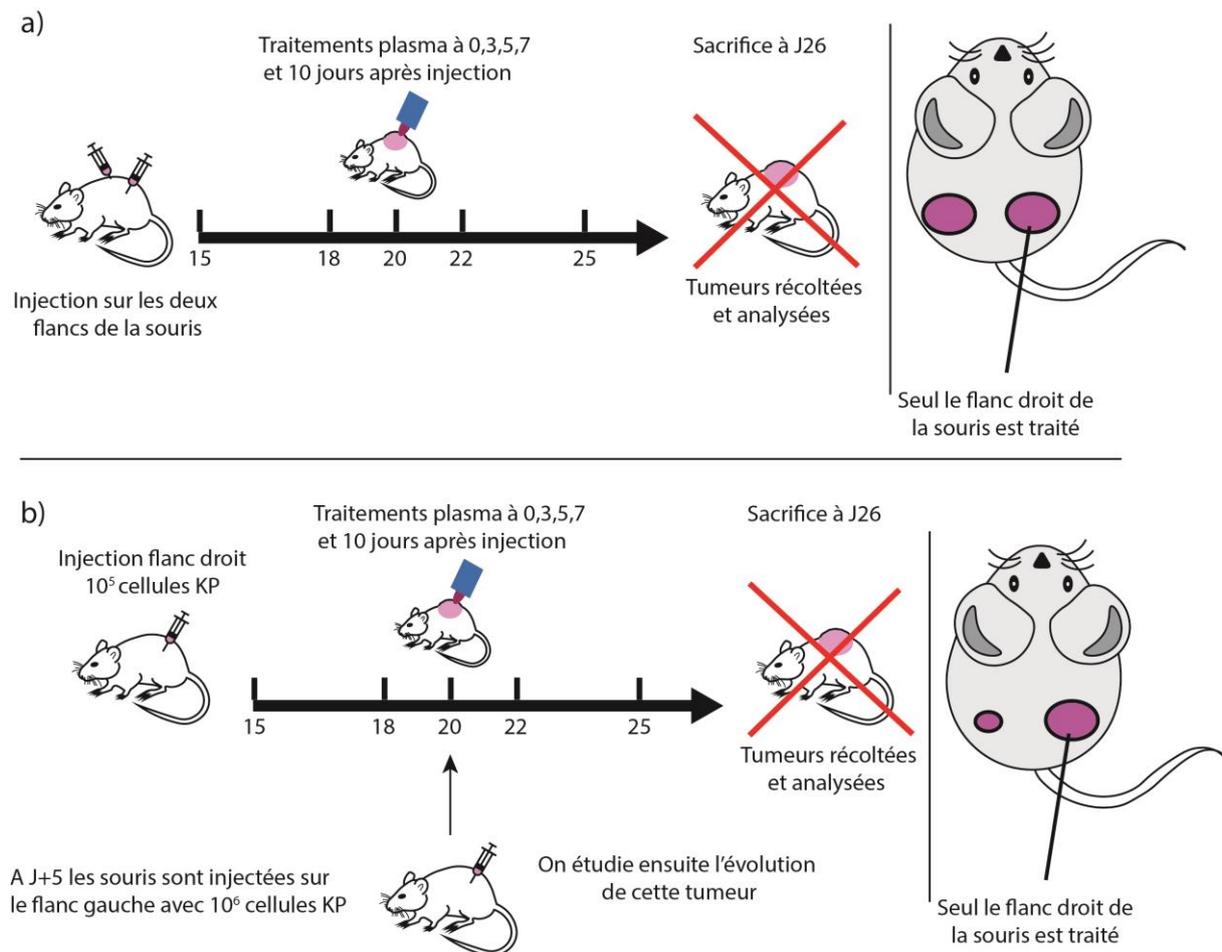


Figure VI.14: Représentation schématique des protocoles de traitements afin de tester l'abscopalité du traitement plasma

ii. Etude via le protocole par injections simultanées

Afin de vérifier si le plasma froid peut induire un effet abscopal suivant le protocole par injections simultanées, une campagne expérimentale a été réalisée sur $n = 30$ souris auxquelles des tumeurs de NSCLC sont inoculées à raison de 1 sur le flanc droit et 1 sur le flanc gauche à J0. Puis, les 30 souris sont réparties équitablement en nombre entre trois groupes : le groupe Contrôle (aucun traitement délivré aux modèles murins), le groupe ORJET (seules les tumeurs du flanc droit sont traitées au plasma froid) et le groupe DBD'Med (seules les tumeurs du flanc droit sont traitées au plasma froid). Le Tableau VI.6 précise les modalités pratiques de l'étude.

	Nombre de souris	Nombre d'injections de lignées cellulaires tumorales par souris à J0	Nombre de tumeurs primaires par souris pour J>J0
Contrôle	10	2 (1 flanc droit, 1 flanc gauche)	2
ORJET_μ	10	2 (1 flanc droit, 1 flanc gauche)	2
DBD'Med	10	2 (1 flanc droit, 1 flanc gauche)	2

Tableau VI.6. Modalités pratiques de la campagne expérimentale visant à évaluer l'effet abscopal via le protocole par injections simultanées (tumeurs syngéniques de NSCLC en greffées en sous-cutané chez modèles murins immunocompétents).

La Figure VI.15 montre l'évolution temporelle des volumes tumoraux moyens normalisés, en distinguant d'une part les tumeurs du flanc droit et celles du flanc gauche. On constate alors que les tumeurs exposées au plasma froid (donc sur le flanc droit des souris) voient leurs volumes tumoraux croître très lentement par rapport à ceux du groupe Contrôle. Par exemple, à J22, alors que les tumeurs du flanc droit du groupe Contrôle enregistrent une valeur de l'ordre de 530 %, celles traitées par les sources ORJET ou DBD'Med présentent des valeurs de 250 % et 315 % respectivement. Il existe donc des différences importantes selon les sites tumoraux traités au plasma et non-traités, résultat attendu au vu de ceux obtenus dans les sections précédentes de ce chapitre. Néanmoins, on constate également que les tumeurs situées sur les flancs gauches des souris – donc jamais exposées au plasma froid – suivent la même cinétique que les tumeurs du flanc droit exposées au plasma. Si l'on se place par exemple dans la situation d'un traitement par DBD'Med à J25, on constate sur la Figure VI.15 que le volume tumoral moyen normalisé atteint une valeur de 315% sur le flanc droit (exposé au plasma froid) contre à peine 300 % sur le flanc gauche (non-exposé au plasma froid).

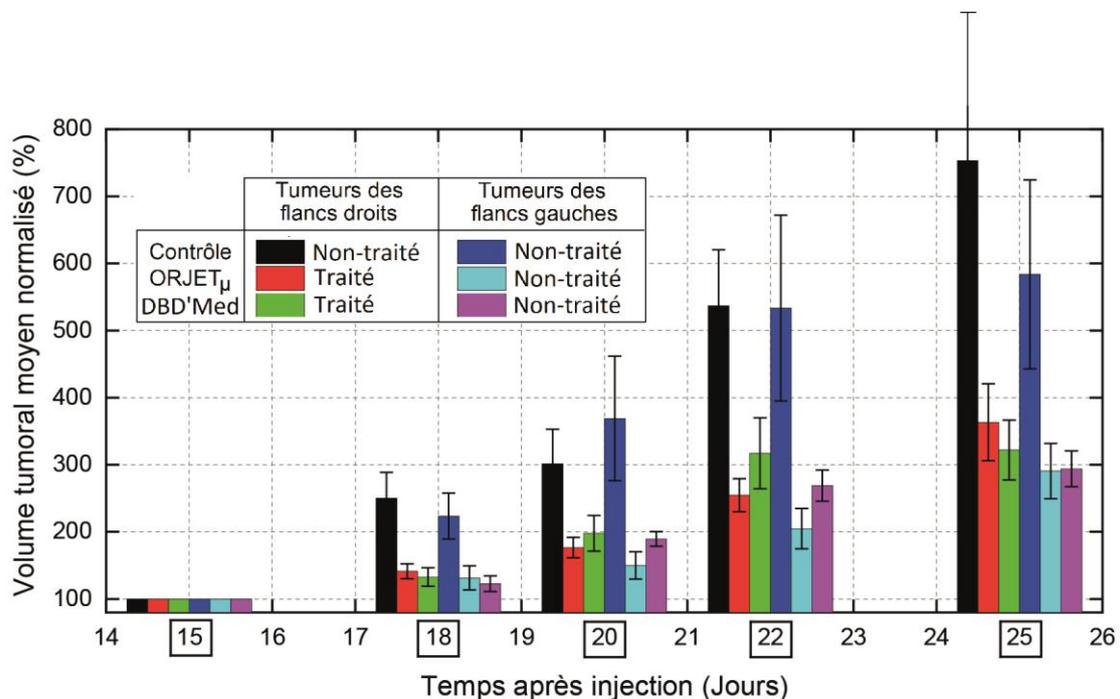


Figure VI.15: Evolution temporelle des volumes tumoraux moyens normalisés. Les tumeurs sont mesurées sur les flancs droits et gauches des souris, lesquelles sont réparties en trois groupes : Contrôle (aucune tumeur exposée au plasma), ORJET (seules les tumeurs des flancs droits sont exposées au plasma froid) et DBD'Med (seules les tumeurs des flancs droits sont exposées au plasma froid). Les volumes tumoraux sont normalisés par rapport au Contrôle à J15. Chaque flèche correspond à un traitement plasma de 10min selon le dispositif indiqué. Valeurs exprimées en moyenne \pm SEM.

Pour consolider ces résultats fondés sur des mesures de volumes tumoraux au pied à coulisse, les masses tumorales ont également été mesurées à la fin de l'expérience (J25). La Figure VI.16 montre que les souris non traitées au plasma froid présentent une masse tumorale moyenne de 735 mg (souris du groupe Contrôle). Pour les deux autres groupes de souris (qui ont donc bénéficié d'une exposition locale au plasma froid), les tumeurs présentent toutes des masses au moins trois fois plus légères. Ainsi, les masses situées sur

les flancs droits – et ayant donc été exposées au plasma froid – présentent des masses inférieures à 200 mg quelle que soit la source plasma utilisée. De même, les tumeurs situées sur les flancs gauches et n’ayant pas été exposées au plasma froid présentent aussi des masses du même ordre de grandeur : 200 mg.

L’effet abscopal semble donc être démontré, d’autant que les résultats obtenus sont statistiquement significatifs, que ce soit par des mesures de volume tumoral ou de masse tumorale. Toutefois, cette interprétation pourrait être remise en cause en opposant un « effet proximal » à l’effet abscopal. L’effet proximal repose sur l’idée que même si un seul site tumoral est exposé au jet de plasma froid, ce dernier peut générer dans la partie non-visible du jet de plasma froid, i.e. dans son voisinage, un champ électrique ainsi que des espèces réactives capables de se propager jusqu’au site tumoral sensé ne bénéficier d’aucun traitement. Pour lever toute ambiguïté, l’effet abscopal a été de nouveau testé via le protocole par injections séquencées.

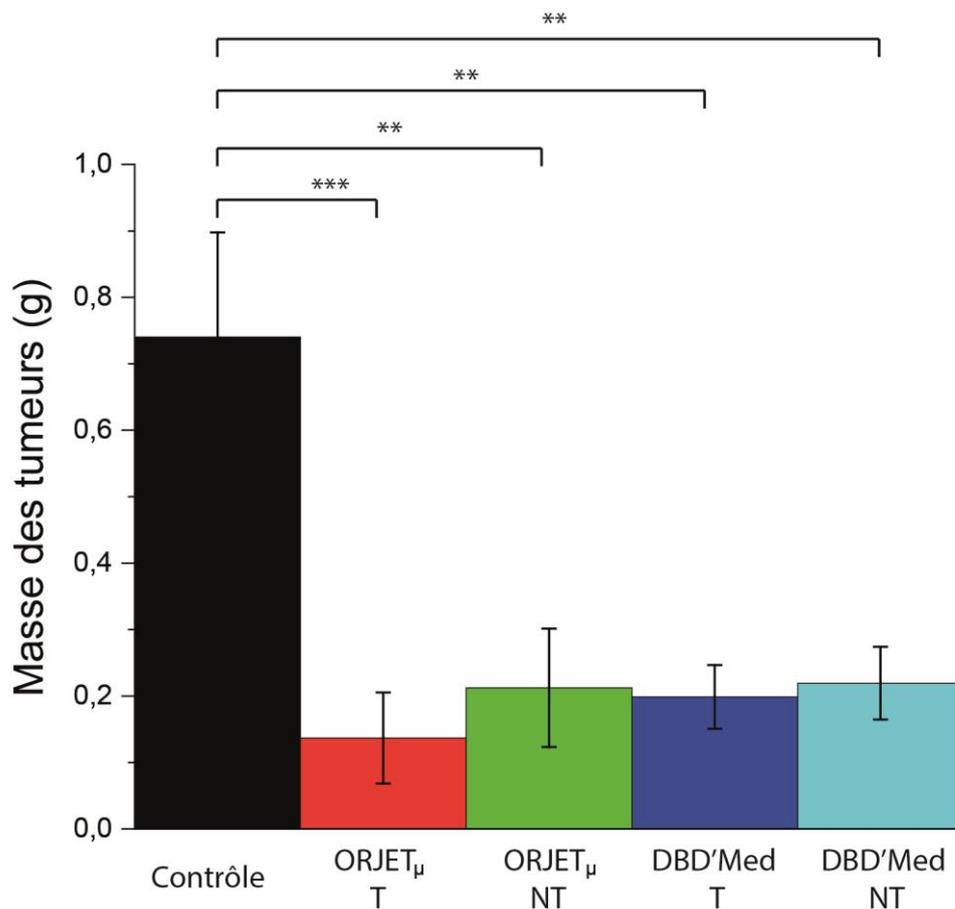


Figure VI.16: Nombre de métastases sur les poumons en fonction des différents groupes. NT signifie Non Traité et T Traité
Les valeurs sont exprimées en moyennes \pm SEM. *, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; ***, $p < 0,001$; ****, $p < 0,0001$

iii. Etude via le protocole par injections séquencées

Pour consolider les résultats de la section précédente, en éliminant notamment l'hypothèse de l'effet proximal, une nouvelle campagne expérimentale a été réalisée sur $n = 30$ souris, chaque souris se voyant injecter sur le flanc droit une dose de 1×10^5 cellules de la lignée tumorale KP à J0. Après avoir attendu deux semaines que les volumes tumoraux deviennent palpables, les souris sont réparties équitablement en nombre sur trois groupes : Contrôle, traitement à l'ORJET μ et traitement au DBD'Med, comme indiqué dans le Tableau VI.7.

Groupes	Nombre de souris	Nombre d'injections de lignées cellulaires tumorales par souris		Nombre total de sites tumoraux primaires par souris à J25
		J0	J20	
Contrôle	10	1 sur le flanc droit	2	2
ORJET μ	10	1 sur le flanc droit	2	2
DBD'Med	10	1 sur le flanc droit	2	2

Tableau VI.7. Modalités pratiques de la campagne expérimentale visant à évaluer l'effet abscopal via le protocole par injections séquences (tumeurs syngéniques de NSCLC en greffées en sous-cutané chez modèles murins immunocompétents).

J15 correspond au jour où le premier traitement par plasma froid est délivré aux souris des groupes test. Les volumes tumoraux des jours suivants sont donc divisés par les volumes tumoraux mesurés à J15 afin de normaliser les volumes moyennés. Un second traitement est réalisé à J18 et, d'après la Figure VI.17a, il est d'ores et déjà possible de constater des effets antitumoraux puisque le volume tumoral du groupe contrôle atteint une valeur de 280 % contre seulement 160% et 150% avec l'ORJET μ et le DBD'Med respectivement.

A J20, une nouvelle dose de cellules KP (lignée tumorale) est injectée sur le flanc gauche de chaque souris, quel que soit son groupe d'appartenance. Pour vérifier que l'effet abscopal supposé est significatif, la dose injectée est 10 fois plus importante qu'à J0 dans le flanc droit, soit une dose de 1×10^6 cellules KP. Un troisième traitement par plasma est alors effectué sur les tumeurs des flancs droits avec l'ORJET et le DBD'Med puis deux traitements supplémentaires sont ensuite réalisés à J22 et J25. Pour tous ces traitements, les flancs gauches des souris ne bénéficient d'aucune exposition au plasma froid. Alors que les tumeurs des flancs droits se stabilisent vers des volumes de l'ordre de 200 %, les volumes des flancs gauches, même s'ils ne sont pas exposés au plasma, restent si faibles qu'il n'est pas possible de les exprimer sous forme de volumes tumoraux moyens normalisés. En effet, l'étape de normalisation suppose d'avoir un volume tumoral palpable donc suffisamment grand à une date de référence, ce qui n'est jamais arrivé au cours de la présente expérience. Comme représenté sur la Figure VI.17b à J25 (dernier jour de l'expérience), le groupe Contrôle est caractérisé par un volume tumoral moyen d'environ 18 mm³ (contre environ 36 mm³ lors de l'inoculation des tumeurs sur le flanc droit) ce qui rend la tumeur difficilement mesurable et palpable. La Figure VI.17b montre également que les tumeurs des flancs gauches associées aux groupes ORJET μ et DBD'Med présentent des volumes encore plus petits, de l'ordre de 2-3 mm³ alors qu'elles n'ont

jamais été directement exposées au plasma froid. On peut toutefois imaginer que l'effet proximal est toujours plausible même s'il est fortement minoré du fait qu'il ne peut avoir lieu que deux fois, lors des traitements se déroulant à J22 et J25. Cette expérience pourra de nouveau être réalisée selon le protocole par injections séquences, à la différence qu'à l'issue de la 2^{ème} injection de cellules tumorales sur le flanc gauche, il n'y aura plus de plasma froid délivré sur aucun des flancs.

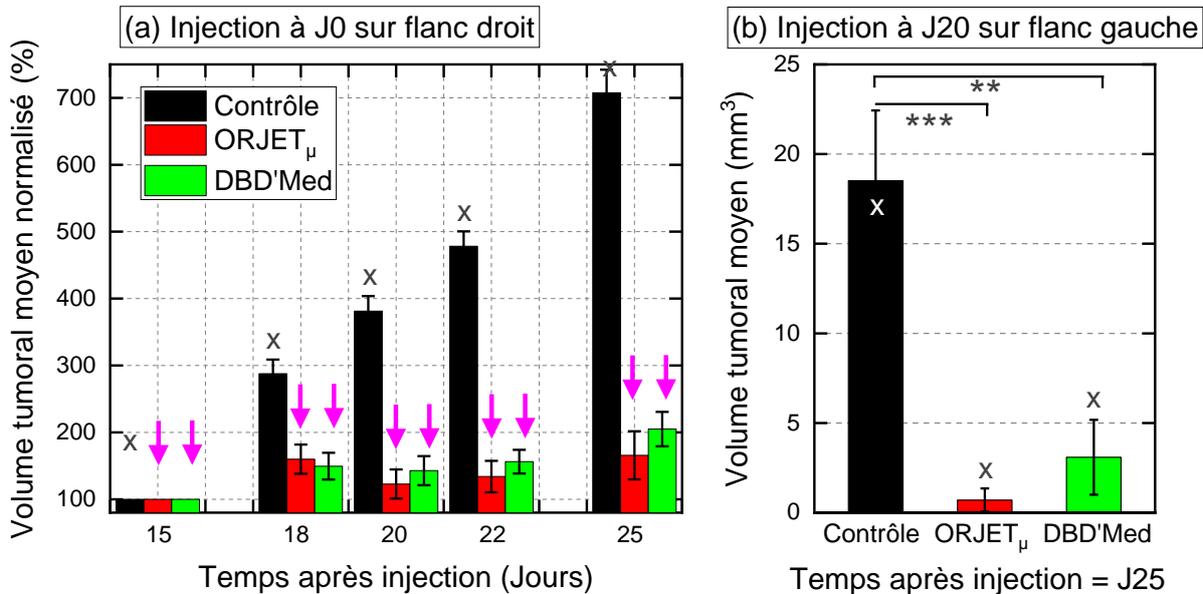


Figure VI.17: a) Evolution temporelle des volumes tumoraux moyens normalisés pour trois groupes de souris: Contrôle, traitement par ORJET_μ et traitement par DBD'Med. Seules les tumeurs injectées à J0 sont exposées au plasma froid dans ces deux derniers groupes, b) Volumes tumoraux moyens situés sur les flancs gauches des modèles murins et mesurés au 25^{ème} jour pour chaque groupe de souris. Chaque flèche indique un traitement plasma de 10min, chaque croix indique l'absence d'exposition au plasma. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (*, p < 0,05 ; **, p < 0,01 ; ***, p < 0,001 ; ****, p < 0,0001)

Le 25^{ème} jour correspond à la fin de l'expérience et donc à l'euthanasie des modèles murins. A l'issue de cette étape, les tumeurs des flancs droits et gauches sont récupérées et leurs masses mesurées, comme indiqué sur la Figure VI.18a pour les tumeurs injectées à J0 sur le flanc droit et la Figure VI.18b pour les tumeurs injectées à J20 sur le flanc gauche. Les résultats sont conformes à ceux présentés sur la Figure VI.18. En effet, pour les groupes ORJET_μ et DBD'Med :

- Le flanc droit présente des tumeurs (exposées au plasma froid) qui ont des masses trois fois plus petites que celles du groupe Contrôle.
- Le flanc gauche ne présente pas de tumeur pouvant être analysée ensuite. Elles sont inexistantes ou si petites qu'on ne peut pas les retirer.

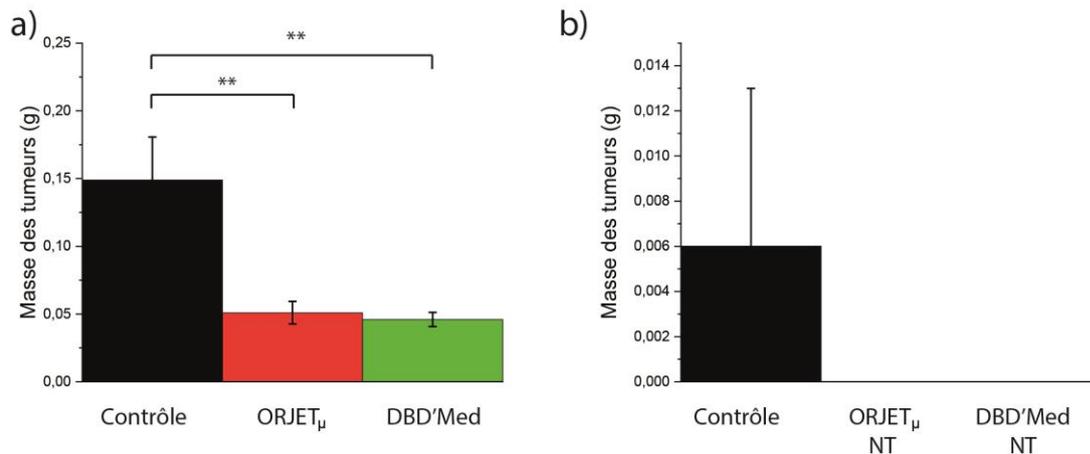


Figure VI.18: Poids des tumeurs en fonction des différents groupes : en a) sont représentés les tumeurs du flanc droit traitées et en b) les tumeurs du flanc gauche non traitées. Les valeurs sont exprimées en moyennes \pm SEM. *, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; ***, $p < 0,001$; ****, $p < 0,0001$

3. Conclusion

Ce Chapitre a permis de mettre en évidence les effets du plasma froid sur le modèle du cancer du poumon non à petites cellules (NSCLC) à travers une série de campagnes expérimentales menées sur des modèles murins immunocompétents. Les effets obtenus par plasma froid ont tous été très significatifs au sens où l'on a assisté à des réductions de volumes tumoraux importantes avec des p-valeurs comprises entre 10^{-4} et 10^{-3} .

Sur le plan de l'ingénierie des sources de plasma froid, il a été montré que l'ORJET pouvait être utilisé sans induire d'effets délétères sur les cibles biologiques traitées en l'utilisant selon la modalité « mobile/mouvement ». Cette modalité permet ainsi de balayer la surface d'un volume tumoral sans induire d'effets thermiques local et par la même occasion d'augmenter les temps de traitement et donc les effets antitumoraux. Le DBD'Med présente une surface de traitement de 1 cm^2 , ce qui permet de traiter le site tumoral sans avoir à le balayer. De plus, il présente l'avantage de ne pas chauffer les tissus exposés. La différence essentielle qui existe entre ces deux sources de plasma est que l'ORJET délivre un jet de plasma froid au sein duquel un champ électrique peut se développer, tandis que le DBD'Med délivre à la cible biologique une post-décharge sans champ électrique. Rappelons en effet que la cible biologique (e.g. site tumoral) est au contact direct de la contre-électrode grille qui est portée au potentiel de masse. A travers les expériences réalisées dans ce chapitre, il est donc intéressant de constater que les effets antitumoraux obtenus sont assez similaires, ce qui tendrait à penser que le champ électrique n'est pas une composante essentielle dans l'induction des effets thérapeutiques escomptés. Le DBD'Med peut en effet se limiter à n'être qu'une source d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote et en cela se suffit pour induire des effets antitumoraux significatifs.

Sur le plan biologique, ces résultats montrent que le plasma froid peut induire des effets biologiques qui ne se limitent pas qu'au seul site exposé, typiquement des tumeurs injectées en sous-cutané. Il a été démontré que mêmes des métastases distantes et non-exposées au plasma réduisaient en nombre et en taille, ouvrant l'hypothèse de voies de signalisation déclenchées par plasma faisant intervenir les cellules de l'immunité. Cette hypothèse est apparue d'autant plus plausible que l'effet mémoire et l'effet abscopal ont été démontrés. Ces résultats montrent donc que le plasma froid peut induire des effets antitumoraux indirects, i.e. en faisant intervenir des cellules du micro-environnement tumoral et plus largement de l'immunité. La mécanistique biologique sous-jacente fait à présent l'objet d'une thèse d'immunologie réalisée par Solenne MARMIER sous la direction de Pr. Isabelle CREMER. Des analyses transcriptomiques, d'immunophénotypage et de RNAseq seront ainsi réalisées, tandis qu'une nouvelle stratégie thérapeutique combinant l'approche « plasma froid » et l'approche « immunothérapie conventionnelle » sera étudiée.

Bibliographie

Judée, F. V. (2019). Atmospheric pressure plasma jets applied to cancerology: correlating electrical configuration with in vivo toxicity and therapeutic efficiency. *Journal of physics D: Applied physics*, , 52(24), 245201.

Conclusion & Perspectives

Cette thèse a été rythmée par l'obtention de résultats marquants tant en physique fondamentale des streamers guidés et des plasmas froids qu'en ce qui concerne leur application à l'oncologie. Les chapitres dédiés à la physique fondamentale ont permis de mieux comprendre les propriétés de propagation des streamers guidés en interaction avec diverses cibles métalliques (anneaux, grilles et plaques) susceptibles d'être utilisées en physique médicale. Ces cibles peuvent effectivement constituer des pièces essentielles entrant dans la conception de dispositifs médicaux à jet de plasma froid, notamment dans l'innovation de sources *ad hoc* comme des cathéters à plasma froid mais aussi être utilisés comme supports au contact desquels les patients sont placés lors d'une plasma-thérapie.

Dans une première partie (Chapitre III et Chapitre IV) axée sur la physique de propagation des ondes d'ionisation, un dispositif « plasma gun » a été utilisé afin d'étudier des trains de streamers guidés positifs mis en interaction avec trois types de cible : (i) une contre-électrode annulaire coaxiale au travers de laquelle le streamer se propage, (ii) une contre-électrode plaque à la masse placée en sortie de capillaire et (iii) une contre-électrode grille portée à un potentiel flottant mise en parallèle avec une contre-électrode plane mise à la masse. En croisant des techniques de caractérisation du plasma reposant sur des principes de mesures différents, (caractérisation électrique, imagerie ICCD rapide et spectrométrie d'émission optique), il a été possible de découvrir de nouveaux phénomènes physiques, de démontrer par l'expérience des résultats obtenus jusqu'alors qu'en simulation numérique et de corroborer des résultats obtenus par d'autres collègues expérimentateurs. Ainsi, il apparaît que :

- Les streamers guidés peuvent être réfléchis par impact direct sur cible métallique à la masse ou encore sur grille métallique portée à un potentiel flottant. Ils peuvent aussi être réfléchis sans impact direct sur une cible matérielle, c'est notamment le cas des streamers guidés passant au travers d'une électrode annulaire portée à la masse.
- Le couplage de deux moniteurs de courant au plasma gun alimenté par des impulsions de haute tension positive, a permis de démontrer que les streamers guidés incidents portant une charge positive, pouvaient être réfléchis contre une cible métallique à la masse, les streamers guidés réfléchis portant alors une charge négative.
- Les streamers guidés en contre-propagation (donc réfléchis) sont plus rapides que les streamers en propagation (incidentes ou transmis), en particulier si la réflexion est consécutive à une interaction avec une plaque métallique à la masse. Des vitesses aussi élevées que 3000 km/s ont ainsi été obtenues. Quel que soit le type d'électrode distante mise à la terre, l'amplitude des streamers réfléchis décroît exponentiellement.
- Un phénomène d'auto-organisation des streamers guidés a été démontré dans une configuration où le plasma gun interagit avec deux cibles métalliques en parallèles : la grille portée à un potentiel flottant puis la plaque portée à la masse.

Conclusion & Perspectives

- L'arrivée d'un streamer guidé sur la grille permet de diminuer la valeur de tension nécessaire à la création d'une décharge entre les deux cibles métalliques (grille flottante et plaque à la masse).

Les discussions des chapitres III et IV ont été enrichies à l'aide de schémas électriques équivalents qui constituent des modèles simples mais pédagogiques pour expliquer les phénomènes mis en lumière lors des expériences. Le plasma gun a été utilisé car son émission optique est bien plus grande que celle des autres dispositifs à jet de plasma froid, en particulier l'ORJET. Néanmoins, les conclusions relatives aux propriétés de propagation et de contre-propagation des streamers guidés seraient les mêmes avec le plasma gun ou avec l'ORJET en interaction avec les cibles métalliques étudiées. Les chapitres V et VI reposent donc sur l'utilisation de l'ORJET dans la mesure où des expériences antérieures ont montré que ce dispositif était plus sécurisé, la configuration des électrodes étant telle que le plasma froid ne peut jamais directement lier l'électrode polarisée à la haute tension à la cible biologique à traiter dans la mesure où il existe toujours au moins une barrière diélectrique qui évite le passage au régime d'arc.

Dans une seconde partie (Chapitre V et Chapitre VI) axée sur la physique appliquée à l'oncologie et plus particulièrement à deux modèles de tumeurs solides (le cholangiocarcinome et le cancer du poumon non à petites cellules), plusieurs résultats notables ont aussi obtenus :

- Un cathéter à plasma transféré a été conçu, caractérisé et appliqué à des modèles topographiques de voies biliaires pour simuler le traitement du cholangiocarcinome sur site. Ce cathéter a été testé dans un endoscope afin d'effectuer une CPRE. Il a été possible de démontrer que le cathéter pouvait être utilisé en toute sécurité par une endoscopiste professionnelle assistée de l'aide d'un physicien, que ce soit dans un modèle d'arbre biliaire artificiel humain ou dans un modèle d'arbre biliaire post-mortem porcin. Aucun dommage thermique n'a été relevé et les valeurs de tension et de courant circulant dans ces modèles étaient en accord avec les normes de sécurité européennes régissant le marché des dispositifs médicaux.
- Dans le cadre d'une collaboration LPP-CRSA, le chapitre V a également permis de démontrer l'efficacité antitumorale du plasma froid à travers une expérience *in vivo* menée sur modèles murins puis de comprendre des éléments de mécanistique biologique obtenus sur des cultures de lignées cellulaires tumorales *in vitro*. Un modèle d'action biologique a ainsi été proposé : les ROS et les RNS générés par le plasma froid sont à l'origine d'un stress oxydatif qui, à son tour, peut entraîner des dommages à l'ADN des cellules cancéreuses. Ces dommages forcent la cellule à produire des protéines mutées. Au bout d'un certain temps, l'accumulation de ces protéines est remarquée par la cellule qui s'autodétruit à travers un mécanisme de mort cellulaire appelé l'apoptose.
- Dans le cadre d'une collaboration LPP-CRC, le chapitre VI a permis de démontrer que l'efficacité antitumorale du plasma froid ne se limitait pas qu'au CCA : des

Conclusion & Perspectives

effets antitumoraux majeurs ont ainsi été obtenus sur des tumeurs du poumon non à petites cellules. Les recherches de physique fondamentale menées dans les chapitres III et IV et les caractérisations de paramètres physiques menées sur l'ORJET du Chapitre VI ont permis de démontrer qu'une manière simple d'obtenir des effets antitumoraux importants consistait à utiliser l'ORJET dans sa variante « mobile », i.e. en déplaçant l'ORJET sur le volume tumoral tout au long de son traitement. Ainsi, il a été possible de passer à des temps de traitements de 1 min pour le CCA à 10 min pour le NSCLC. Déplacer l'ORJET sur le volume tumoral empêche tout échauffement local sur une zone de quelques mm² susceptible d'induire des brûlures sur le long terme mais aussi d'uniformiser l'interface de contact plasma-tumeur afin d'assurer une pénétration/diffusion plus homogène des espèces réactives dans les tissus du microenvironnement tumoral. A l'issue de 5 séances de plasma-thérapie à raison de 10 min/séance/souris, les tumeurs ectopiques de NSCLC portées par les souris exposées au plasma froid peuvent ainsi avoir des volumes près de 3 fois plus petits que les souris du groupe contrôle, avec des p-valeurs inférieures à 0,0001 (n = 120 souris). Il a été de plus démontré que le plasma possède un effet abscopal, c'est-à-dire que le plasma traite de façon systémique toutes les tumeurs présentes dans le corps de la souris. Un effet anti métastatique a aussi été démontré. L'effet mémoire du traitement plasma a été démontré mais sa persistance temporelle doit encore être augmenté.

Les résultats obtenus par traitement plasma sur les deux souches tumorales sont très encourageants. Les résultats obtenus sont encore plus spectaculaires sur le NSCLC et sont du même ordre d'efficacité que certaines immunothérapies.

Dans l'ensemble ce projet doctoral a permis d'apporter une contribution significative dans les domaines de la physique des plasmas froids, de l'oncologie et de la physique médicale, rapprochant ainsi des chercheurs, enseignants-chercheurs, techniciens, ingénieurs, doctorants et post-doctorants issus de disciplines différentes mais unis pour faire des plasma froids une option thérapeutique efficace. Ce projet doctoral agrège donc des compétences multiples et a permis de poser la première pierre d'un édifice plus grand, permettant à présent de s'intéresser à de nouveaux challenges afin de mener à terme des essais cliniques :

- S'il a été démontré que le plasma froid était efficace sur le plan biologique, en particulier pour traiter des tumeurs ectopiques il reste cependant plusieurs points à étudier :
 - Démontrer que le plasma froid peut avoir un effet sur les tumeurs orthotopiques. Ces modèles sont naturellement plus pertinents en raison de leur micro-environnement tumoral. Pour cela, des modèles de greffes orthotopiques de CCA et de NSCLC seront à prévoir sur modèles murins, dans les voies biliaires et dans les voies bronchiques respectivement.
 - Comprendre les mécanismes immunologiques induits par le plasma froid sur les tumeurs, qu'il s'agisse des effets directs ou indirects sur la mort cellulaire via les cellules de l'immunité.
 - Comprendre comment une source comme le DBD'Med qui transfère à la cible biologique (e.g. tumeur) un champ électrique nul ou extrêmement

Conclusion & Perspectives

faible, peut induire des effets antitumoraux aussi significatifs que ceux obtenus avec l'ORJET.

- Obtenir un marquage CE (Certification Européenne) sur le dispositif endoscopique permettant de traiter à la fois les tumeurs pulmonaires et aussi les tumeurs situées dans les voies biliaires.
- Sur le plan de la physique fondamentale :
 - Si le comportement des streamers a été compris au contact de cibles métalliques, il faut maintenant élargir l'étude à des cibles caractérisées par des conductivités moins importantes ou à des cibles liquides qui existent dans le corps humain (sang, lymphe, bile, ...) et qui peuvent modifier les propriétés antitumorales de la plasma-thérapie ou exiger des précautions supplémentaires pour garantir l'absence de risques électriques et thermiques.
 - La chimie de l'interaction plasma-liquide avec la création de RO(N)S et la sélectivité de certaines sources de plasma froid reste à quantifier pour pouvoir délivrer aux patients une plasma-thérapie personnalisée.

Bonne chance à Manon, Korentin, Allan, Solenne, Laura, Isabelle, Thierry et à toutes les autres forces vives pour la suite du projet !

Publications

Publications dans un journal scientifique à comité de lecture

- 1 - Vaquero, J., Judée, F., Vallette, M., **Decauchy, H.**, Arbelaiz, A., Aoudjehane, L., ... & Fouassier, L. (2020). Cold-atmospheric plasma induces tumor cell death in preclinical in vivo and in vitro models of human cholangiocarcinoma. *Cancers*, 12(5), 1280.
- 2 – **Decauchy, H.**, Pavy, A., Camus, M., Fouassier, L., Dufour, T., Cold plasma endoscopy applied to biliary ducts: feasibility risk assessment on human-like and porcine models for the treatment of cholangiocarcinoma, *Journal of Physics D.: Applied Physics*, 55(45), 455401
- 3 – **Decauchy, H.**, Dufour, T., Transmission and multiple reflection mechanisms of guided streamers propagating through grounded annular electrode and interacting with grounded surface electrode, *Plasma Sources Science and Technology*, 31(11), 115017
- 4 – **Decauchy, H.**, Dufour, T., Deciphering the fundamental mechanisms of self-organised guided streamers interacting with metal targets, *Plasma Sources Science and Technology* (Manuscrit en preparation)
- 5 – Pavy, A., **Decauchy, H.**, Soulier, M., Lekbahy, B., Aoudjehane, L., Fouassier, L., Dufour, T., Remodeling of cholangiocarcinoma microenvironment by cold atmospheric plasma through *in vitro* and *in vivo* approaches (A soumettre)
- 6 – Marmier, S., **Decauchy, H.**, Soulier, M., Dufour, T., Cremer, I., Studying the effects of cold plasma strategies on immunology mechanisms on Non-Small Cell Lung Cancer (A soumettre)

Brevets

- 1 – T. Dufour, **H. Decauchy**, M. Camus, L. Fouassier. France Brevet PCT/FR2021/000041. 2021

Conférences

- 1 – GDR Happybio, Caractérisation physique d'APPJ et utilisation pour le traitement in vitro de lignées tumorales de cholangiocarcinome, **Decauchy, H.***, Vaquero, J., Judée, F., Fouassier-Hucko, L., Dufour, T., Novembre 2019
- 2 – GDR Happybio, Traitement par jet de plasma froid du cholangiocarcinome (in vitro): Sélectivité et effets sur le microenvironnement tumoral, **Decauchy, H.***, Pavy, A., Aoudjehane, L., Dufour, T., Fouassier-Hucko, L., Novembre 2021 – Prix du jury

Publications

3 – IWPCT, Evidencing therapeutic selectivity of cold plasma through in vivo & in vitro experiments – Application to the cholangiocarcinoma, Dufour, T., Vaquero, J., **Decauchy, H.***, Judée, F., Vallette, M., Arbelaiz, A., Aoudjehane, L., Gonzalez-Sanchez, E., Augustin, J., Fouassier, L., June 2021

4 – ICPM 9, Pavy, A.*, **Decauchy, H.**, Lekbaby, B., Laroche, S., Vallette, M., Aoudjehane, L., Pol, J., Camus, M., Dufour, T., Fouassier, L., Remodeling of Cholangiocarcinoma microenvironment by cold atmospheric plasma through in vitro approach, June 2022

5 – ICPM 9, **Decauchy, H.**, Pavy, A., Laroche, S., Vallette, M., Aoudjehane, L., Camus, M., Fouassier, L., Dufour, T.*, Cold plasma endoscopy applied to Cholangiocarcinoma: therapeutic study & feasibility study on porcine anatomical models, June 2022

6 – EASL, Pavy, A*., **Decauchy, H.**, Laroche, S., Vallette, M., Aoudjehane, L., Pol, J., Camus, M., Dufour, T., Fouassier, L., Direct and indirect antitumoral effects of cold atmospheric plasma: a disruptive technological approach for the local treatment of Cholangiocarcinoma, Fevrier 2022

7- ENSCCA, Pavy, A.*, **Decauchy, H.**, Lekbaby, B., Laroche, S., Vallette, M., Aoudjehane, L., Pol J., Camus, M., Dufour, T., Fouassier, L., Direct and indirect antitumoral effects of Cold Atmospheric Plasma: a disruptive technological approach in the local treatment of Cholangiocarcinoma