Pour les spécialistes ou les insomniaques :

**Résumé de sa thèse**

**Production et caractérisation d’un substitut dermique humain pour étudier la réponse de la matrice extracellulaire dans les phénomènes d’électroporation**

L'électroporation est une méthode physique utilisant le champ électrique pour perméabiliser transitoirement la membrane plasmique afin de faciliter l'entrée de molécules d'intérêt thérapeutique dans les tissus ciblés. La principale application clinique est l'électrochimiothérapie (ECT), un traitement anticancéreux local utilisé pour traiter les tumeurs primaires et métastases. La seconde application est l'électrotransfert de gène (EGT), une méthode pour introduire des acides nucléiques à l'intérieur des cellules. Enfin, l’électroporation irréversible (IRE) est une méthode utilisée pour tuer les cellules grâce à la perméabilisation permanente des membranes plasmiques. Même si les mécanismes *in vitro* sont de mieux en mieux compris, l’efficacité *in vivo* est variable selon le tissu cible. En effet, bien que l'électrotransfert d'ADN soit très efficace *in vitro* sur des cultures en deux dimensions (2D), il est souvent beaucoup moins efficace *in vivo,* ce qui limite ses applications cliniques.

L'organisation du tissu *in vivo* est plus complexe que la culture cellulaire *in vitro* car les cellules développent des jonctions intercellulaires et une matrice extracellulaire (MEC). Des études *in vivo* ontdémontré que la composition de la MEC module la biodistribution de l'ADN dans le tissu et donc l'efficacité de l'électrotransfert de gène. La réponse de la MEC à l'application de champ électrique dans ce processus reste encore à définir afin d’améliorer l'efficacité de cette méthode.
Les modèles classiques en 2D ne possèdent pas cette organisation architecturale tridimensionnelle (3D) leur permettant d'être physiologiquement comparable au  tissu natif. Afin d'étudier les mécanismes d'électrotransfert d'ADN à l'échelle des tissus, nous avons utilisé un modèle de peau humaine 3D pour imiter et prédire les situations *in vivo*. Les objectifs de ce travail étaient d'étudier le rôle et la réponse de la MEC cutanée lors de l'électrotransfert de gène à l'échelle du tissu.
La première partie de ce projet a été de caractériser la MEC du substitut dermique reconstruit par ingénierie tissulaire. La MEC a été caractérisé par microscopie électronique, coloration  histologique et génération de seconde harmonique (SHG). Pour évaluer si ce modèle imite efficacement la réponse *in vivo* observée lors de l'électroporation, une gamme de voltage utilisant des paramètres électriques ECT ou EGT a été appliquée et la perméabilisation cellulaire ainsi que l'expression du plasmide ont été analysées sur tissu frais.
Dans la deuxième partie, nous avons étudié les effets directs et indirects du champ électrique pulsé sur les collagènes fibrillaires. Les paramètres de champs électriques ECT, EGT et IRE ont été appliqués directement sous le microscope à deux photons afin de visualiser les modifications de la SHG en direct.
En conclusion, des substituts dermiques humains riches en MEC endogène ont été produits selon l'approche d'auto-assemblage. Notre étude montre que les cellules de ce modèle 3D sont efficacement électroperméabilisées. Un gène rapporteur a été électrotransféré avec succès dans ce modèle 3D et les cellules transfectées se trouvaient uniquement à la surface du tissu, en contact avec la solution d'ADN plasmidique. En outre, nous avons montré que le succès de l'électrotransfection dépend de la mobilité des plasmides dans les tissus riches en collagènes. L'ingénierie tissulaire produit un outil biologique valide pour l'étude *in vitro* des mécanismes d'électrotransfert de gène dans la peau humaine. Enfin, nous avons observé que les paramètres électriques classiquement utilisés en ECT et EGT ne modifient pas l'organisation des collagènes fibrillaires à la fois dans des tissus vivants et décellularisés, contrairement à ceux utilisés en IRE qui diminuent de manière significative et stable l'intensité de SHG dans les tissus frais, très probablement à cause d'une importante libération de métalloprotéinases (MMPs) actives. Les collagènes fibrillaires sont donc affectés indirectement par l’application d’impulsions électriques IRE.