

Année Universitaire : 2014-2015

HABILITATION A DIRIGER DES RECHERCHES

DISCIPLINE : SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE

*Méthodes Physiques pour la Délivrance Locale de
Molécules Thérapeutiques*

-

de l'Electroperméabilisation aux Ultrasons

Présentée et soutenue publiquement par :

JEAN-MICHEL ESCOFFRE

le 30/11/2015

JURY

M. Ayache Bouakaz

Mme Lori Bridal

M. Igor Chourpa

M. Cyril Lafon

M. Chrit Moonen

Mme Anne-Catherine Prats

Directeur de Recherche

Directeur de Recherche

Professeur des Universités

Directeur de Recherche

Professeur

Directrice de Recherche

INSERM - Université de Tours

CNRS - UPMC de Paris

Université de Tours

INSERM – Université Lyon 1

UMC Utrecht, Pays-Bas

Université de Toulouse

Résumé

Malgré le développement de nouveaux médicaments et l'avènement des thérapies ciblées pour le traitement de diverses pathologies, les progrès thérapeutiques restent encore modestes. L'une des limitations majeures réside en effet dans l'absence de délivrance spécifique des médicaments dans les tissus pathologiques. De plus, bien qu'ils conservent leur efficacité, la majorité de ces médicaments provoque des effets indésirables sur les tissus sains. Une autre limitation est la présence de barrières biologiques qui limite le passage de ces molécules du sang vers le tissu cible, restreignant ainsi leur efficacité thérapeutique. La notion de délivrance active prend tout son intérêt car cela implique à la fois une formulation efficace et une meilleure délivrance à l'endroit désiré. L'acheminement spécifique de médicaments vers le tissu pathologique continue à constituer un défi majeur pour le traitement de diverses pathologies. Ainsi le développement de méthodes alternatives demeure indispensable. Parmi ces méthodes, l'électroporation et les ultrasons (*i.e.*, sonoporation, hyperthermie ultrasonore) présentent de grandes potentialités d'application aussi bien pour le transfert d'acides nucléiques thérapeutiques que pour la délivrance de médicaments. Cependant leur utilisation rationnelle nécessite l'élucidation de leurs mécanismes d'action et le développement de protocoles thérapeutiques.

L'électrotransfert de plasmide *in-vitro* consiste à soumettre des cellules à des impulsions électriques, en présence de plasmide. Les travaux de recherche, que j'ai supervisés, ont démontré que la topologie du plasmide affecte l'interaction du plasmide avec la membrane électroporeabilisée et l'efficacité de l'électrotransfert de plasmide *in-vitro*. De plus, ces travaux apportent la première preuve expérimentale montrant l'implication de l'endocytose dans l'électrotransfert de plasmide *in-vitro*.

La sonoporation des cellules repose quant à elle sur l'application d'impulsions ultrasonores sur des cellules en présence de microbulles de gaz. L'oscillation de ces dernières à proximité de la membrane plasmique des cellules permet d'augmenter leur perméabilité. L'étude des conséquences membranaires de la sonoporation révèle que l'endocytose dépendante des cavéoles est impliquée dans le transfert de petites molécules par sonoporation. La destruction et l'atténuation des microbulles jouent un rôle majeur dans l'efficacité du transfert de plasmide par sonoporation. De plus, cette dernière dépend de la concentration de sérum utilisée lors de la sonoporation. Cette méthode facilite l'internalisation de la doxorubicine libre dans les cellules cancéreuses augmentant ainsi son activité cytotoxique. Elle permet d'accroître l'efficacité thérapeutique de l'irinotécan dans un modèle murin de glioblastome sous-cutané.

L'utilisation d'une microbulle comme vecteur de médicaments (e.g., doxorubicine) permet d'envisager la délivrance *in-vivo* de ces derniers par sonoporation sous le contrôle de l'imagerie de contraste ultrasonore.

L'hyperthermie ultrasonore consiste à induire un échauffement local par le dépôt d'une intensité acoustique élevée dans le volume focal. Une hyperthermie moyenne (42°C-45°C) est utilisée comme stimulus externe pour induire la libération de médicaments contenus dans des nanoparticules thermosensibles. Grâce à un dispositif ultrasonore *in-vitro*, de nouvelles nanoparticules thermosensibles contenant des marqueurs fluorescents (calcéine) ou des médicaments anti-cancéreux (doxorubicine, 5-fluorouracil) ont été caractérisées et évaluées. Ces études révèlent que les propriétés pharmacologiques de ces médicaments ne sont pas modifiées par l'hyperthermie ultrasonore.

Bien que des données précliniques demeurent encore limitées, la délivrance de médicaments par sonoporation paraît être une méthode prometteuse pour optimiser les thérapies actuelles (*i.e.*, chimiothérapie, immunothérapie). Dans ce contexte, mon projet adresse des besoins cliniques en développant de nouvelles technologies de délivrance de molécules thérapeutiques par sonoporation guidées par imagerie de contraste ultrasonore. Néanmoins, l'utilisation rationnelle de cette approche nécessite (1) l'élucidation des phénomènes moléculaires sous-jacents et ses conséquences physiologiques, (2) le développement de technologies pour des protocoles de thérapies et (3) la validation et la valorisation de ces protocoles.

Le premier objectif de mon projet vise à obtenir une description moléculaire et cellulaire des mécanismes biophysiques de l'interaction ultrasons/microbulles/cellule (ou tissus) grâce à l'utilisation de modèles d'étude de complexité croissante et d'outils d'imagerie et de biophysique pour une visualisation directe des phénomènes engendrés. Le deuxième objectif de mon projet consiste à développer des alternatives technologiques et protocoles thérapeutiques en matière de microbulles de gaz, de séquences ultrasonores et de transducteurs. Ces développements technologiques sont indispensables pour la mise en place de protocoles thérapeutiques efficaces, sûrs, non-invasifs et localisés. Enfin, mon troisième et dernier objectif vise à évaluer l'efficacité et l'innocuité de la délivrance ciblée de molécules thérapeutiques par sonoporation guidée par imagerie de contraste ultrasonore dans des modèles animaux de pathologies néoplasiques, neurodégénératives et pneumologiques.