



THESIS / THÈSE

MASTER EN SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Les nanovecteurs au service de l'administration pulmonaire dans le traitement de la mucoviscidose.

Voué, Pauline

Award date:
2022

Awarding institution:
Universite de Namur
Université Catholique de Louvain

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Faculté de Médecine

Département de Pharmacie

Les nanovecteurs au service de l'administration pulmonaire dans le traitement de la mucoviscidose.

Auteur : Pauline VOUE

Promoteur : Prof. Anna LECHANTEUR

Année académique 2021-2022

Intitulé du master et de la finalité : Master en Sciences Pharmaceutiques à
finalité spécialisée

ATTESTATION DE NON-PLAGIAT

Je soussigné(e)

Pauline Voué
.....

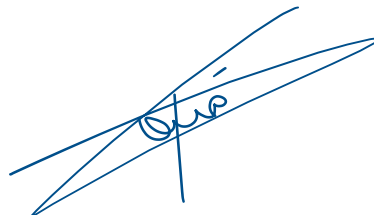
déclare être pleinement conscient(e) que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés sous toute forme de support, y compris internet, constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce rapport ou mémoire intitulé :

Les nanovecteurs au service de l'administration pulmonaire dans le traitement de la mucoviscidose.
.....

Je suis conscient(e) que le fait de ne pas citer une source ou de ne pas la citer clairement et complètement est constitutif de plagiat, que le plagiat est considéré comme une faute grave au sein de l'Université et qu'il peut être sévèrement sanctionné.

Fait à Yvoir....., le 06 / 02 /20 22.....

Signature de l'Etudiant,



Remerciements

Tout d'abord, je voudrais remercier ma promotrice Madame Lechanteur pour son dévouement et sa réactivité tout au long de l'écriture de ce mémoire. Merci pour le temps que vous m'avez accordé via vos relectures et vos précieux conseils qui m'ont permis d'arriver à la finalisation de ce travail.

Je voudrais remercier également Monsieur Siriez pour son investissement tout au long de nos études. Votre présence dans nos cours, au sein du département, ainsi que vos encouragements m'ont donné la force d'arriver au bout de ce travail, et je l'espère au bout de mes études.

Ensuite, je voudrais remercier mes parents pour leur soutien sans limite. Votre écoute, vos conseils, le don de votre temps, et vos encouragements sont les cadeaux les plus précieux que vous m'avez donnés pour m'accompagner dans l'écriture de ce travail. Un merci spécifique à mon papa, Michel Voué, pour les nombreuses relectures et corrections, mais aussi son accompagnement dans la compréhension du monde scientifique qui nous lie tous les deux.

J'adresse également un mot particulier à ma sœur, Caroline, et à mon amie proche, Jeanne Burgraff. Vous m'avez toujours offert une épaule sur laquelle m'appuyer lorsque mon moral était au plus bas. Votre soutien m'a donné du courage, et votre constante bonne humeur m'a transmis la force nécessaire à la finalisation de ce mémoire.

Enfin, je remercie également la promotion namuroise des pharmaciens 2021-2022 avec qui j'ai eu la chance de passer de merveilleuses années d'études. Déjà amis, c'est avec plaisir que bientôt nous pourrions tous nous considérer comme collègues.

Table des abréviations

ADNc	ADN complémentaire
ARNm	ARN messenger
CFTR	Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator Régulateur de la conductance transmembranaire de la fibrose kystique
DMPG	Dimyristoyl phosphatidyl-glycérol
DPI	Dry powder inhaler Inhalateur à poudre sèche
DPPC	Dipalmitoyl-phosphatidylcholine
MDI	Metered-dose inhaler Inhalateur doseur pressurisé
NLC	Support lipidique nanostructuré
PA	Pseudomonas Aeruginosa
PAMAM	Polyamidoamine
PEG	Polyéthylène glycol
PLGA	Acide poly-lactique-co-glycolique
siARN	Small interfering RNA ARN interférent
SLN	Nanoparticule solide lipidique
VEMS	Volume expiratoire maximal

Table des figures

Figure 1 - Mécanisme de la protéine CFTR défectueuse (d'Angelo et al., 2014).....	10
Figure 2 - Physiopathologie de la mucoviscidose (Gbian et Omri 2021)	11
Figure 3 - Différentes méthodes de thérapie génique (Velino et al. 2019)	14
Figure 4 - Principe de fonctionnement d'un nébuliseur pneumatique (Coste 2019)	17
Figure 5 - Principe de fonctionnement d'un nébuliseur ultrasonique (Coste 2019)	18
Figure 6 - Schéma d'un MDI (Khan et al. 2013)	19
Figure 7 - Schéma d'un DPI (Khan et al. 2013)	19
Figure 8 - Déposition particulaire (Khan et al. 2013)	20
Figure 9 - Classification des nanoparticules (Menezes et al. 2021)	24
Figure 10 - Avantages et inconvénients des nanoparticules organiques étudiées dans la mucoviscidose (Velino et al. 2019).....	25
Figure 11 - Variétés de structure d'un liposome (Khan et al. 2013).....	28
Figure 12 - Distribution des liposomes selon l'administration (Kuzmov et Minko 2015).....	28
Figure 13 - Structures des SLN et NLC (Baldim et al. 2020)	32
Figure 14 - Distribution des NLC selon l'administration (Kuzmov et Minko 2015)	32
Figure 15 - Schéma de la structure d'un dendrimère (Menezes et al. 2021)	35
Figure 16 - Structure d'une nanoparticule polymérique (Gagliardi et al. 2021)	38

Table des matières

1. Introduction	9
1.1. Physiopathologie de la mucoviscidose	10
1.2. Evolution des traitements contre la mucoviscidose	12
2. Administration pulmonaire	16
2.1. Enjeux pharmaceutiques liés à l'administration pulmonaire	16
2.2. Dispositifs existants	16
2.2.1. Nébuliseur	17
2.2.2. Inhalateur doseur pressurisé	18
2.2.3. Inhalateur à poudre sèche	19
2.3. Barrières biologiques	20
2.3.1. Déposition particulaire	20
2.3.2. Perméabilité à travers le mucus	21
2.3.3. Interaction avec la cible cellulaire	22
2.3.4. Macrophages alvéolaires	23
3. Nanovecteurs	24
3.1. Généralités	24
3.2. Intérêt de la nanotechnologie au sein de la mucoviscidose	25
3.3. Nanovecteurs à base de lipides	26
3.3.1. Liposomes	27
3.3.2. Nanoparticules solides lipidiques	31
3.4. Nanovecteurs à base de polymères	34
3.4.1. Dendrimères	35
3.4.2. Nanoparticules polymériques	37
4. Discussion	41
5. Conclusion	45

6. Approche méthodologique	46
7. Bibliographie	47

1. Introduction

Au cours des dernières années, depuis la découverte du gène CFTR qui code pour la mucoviscidose en 1989, de nombreuses études ont vu le jour cherchant toutes à améliorer la qualité de vie ou l'espérance de vie des patients victimes de cette maladie génétique. En Belgique, selon Sciensano, la mucoviscidose touche une personne sur 3000 (Sciensano 2022). Une simple recherche sur différents sites majeurs de publications scientifiques permet de comprendre l'ampleur des recherches établies depuis 1989 au sujet de la fibrose kystique. Pour les mots clés « cystic fibrosis », à partir de 1989 jusqu'à aujourd'hui, Pubmed nous propose environ 5000 résultats. ScienceDirect quant à lui nous propose 116000 références. D'autre part, l'univers de la nanotechnologie est actuellement en plein essor. Depuis les années 2000, Pubmed ressece plus de 27000 publications, et ScienceDirect environ 520000 résultats, pour une recherche sur le mot clé « nanoparticle ». Il est par conséquent aisé de penser que deux domaines en pleine expansion puissent être amenés à se coupler dans certaines applications.

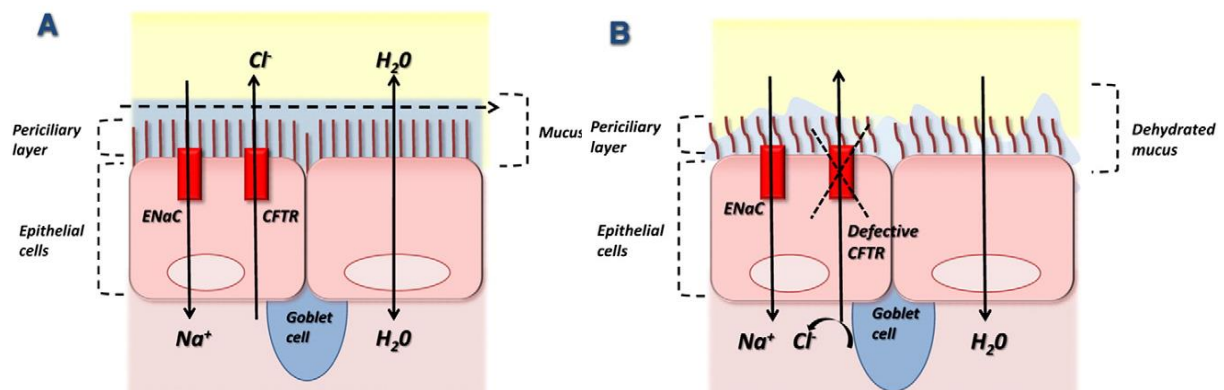
Ce mémoire vise à rencontrer deux objectifs. Le premier est de comprendre quelles sont les difficultés liées à la mucoviscidose, et quels enjeux elle impose lors du développement de nouveaux traitements. C'est pourquoi, l'introduction prendra en compte tout le contexte de la maladie et des traitements déjà existants. Par la suite, une partie du mémoire discutera les différentes raisons pour lesquelles une administration pulmonaire pourrait résoudre les problèmes rencontrés avec les traitements actuels proposés aux patients. Les divers dispositifs utilisés seront dès lors décrits, ainsi que les barrières biologiques qui challengent l'administration pulmonaire. Le deuxième objectif de ce mémoire vise à définir si les avancées effectuées dans le domaine des nanoparticules organiques peuvent être appliquées à la maladie génétique. Dès lors, les nanoparticules seront envisagées comme nouvelle stratégie pour aider à l'administration pulmonaire des traitements symptomatiques ou génétiques dans le contexte de la mucoviscidose. Pour cela, chaque nanovecteur discuté sera expliqué puis mis en situation via des exemples d'études cliniques réalisées pour la fibrose kystique. La discussion de ce mémoire visera alors à déterminer si, compte tenu de l'état de l'art et malgré le nombre restreint d'études sur ce sujet, les nanoparticules sont capables de remplir le rôle de transporteur et quel pourrait être l'avenir de cette nouvelle approche pour le traitement de la mucoviscidose.

1.1. Physiopathologie de la mucoviscidose

La mucoviscidose, également appelée fibrose kystique, est une maladie génétique récessive causée par la mutation du gène CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator). Ce gène code pour la production d'une protéine CFTR au niveau apical dans les cellules épithéliales. Elle se comporte comme un canal anionique ayant pour fonction de transporter les ions chlorures et bicarbonates et de bloquer l'afflux de sodium dans les cellules épithéliales. Ainsi, au niveau pulmonaire, cette protéine est responsable de la bonne hydratation du mucus respiratoire. Dès lors, une mutation du gène induit un dysfonctionnement de la protéine CFTR, et des troubles dans les poumons mais aussi le foie, le pancréas, le système reproducteur et digestif. La diminution de la faculté pulmonaire des patients atteints de la mucoviscidose est en grande partie responsable du taux de mortalité associé à la maladie (Gbian et Omri 2021).

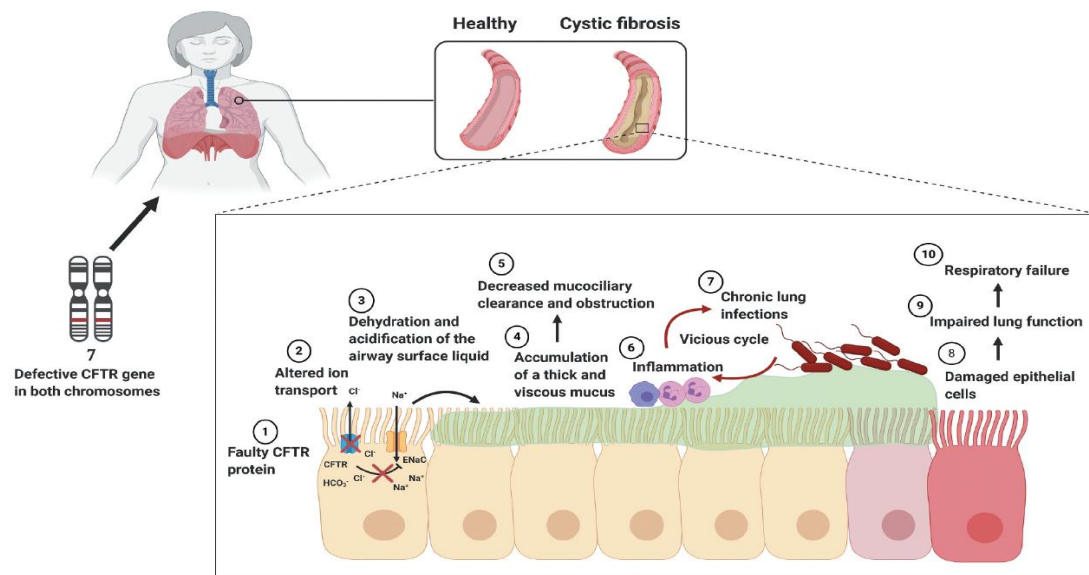
Il existe plus de 2000 mutations capable de provoquer une altération du fonctionnement de la protéine CFTR. Pour mieux comprendre comment fonctionne chaque mutation, elles ont été classées dans 6 catégories en fonction de leur mécanisme. La classe 1 rassemble des mutations non-sens, menant à des protéines non fonctionnelles. La classe 2 reprend une des mutations la plus courante chez les patients atteints de mucoviscidose. Il s'agit de la délétion de la phénylalanine 508 (F508del), provoquant un repliement erroné de la protéine. Cette erreur est dès lors détectée par le corps humain comme étrangère, et est par la suite dégradée par le réticulum endoplasmique. Ces deux premières classes sont responsables des phénotypes les plus sévères de la maladie. Les mutations de classe 3 vont altérer le déclenchement du canal CFTR alors que les mutations de classe 4 vont altérer la conductance du canal. La classe 5 interfère avec l'activité du promoteur du gène. Les mutations de classe 6 diminuent la stabilité de la protéine et augmentent sa vitesse d'élimination (Ponzano et al. 2018).

Figure 1 - Mécanisme de la protéine CFTR défectueuse (d'Angelo et al., 2014)



De façon plus précise, la **figure 1** montre l'impact du dysfonctionnement du canal CFTR sur les mouvements sodiques, ainsi que sur la répartition des molécules d'eau de part et d'autre de la membrane cellulaire. En A est représenté le transport des électrolytes chez un individu sain. Le transport du sodium est assuré par le canal sodique épithélial, alors que le transport des ions chlorure est assuré par le canal CFTR. Les molécules d'eau passent à travers la membrane ciliée et se répartissent de chaque côté. En B est représenté le cas des patients atteints de mucoviscidose. Le canal CFTR étant défectueux, il ne peut pas remplir sa fonction de transporteur. Le transport de sodium étant toujours actif, les molécules d'eau vont cette fois-ci rester dans la cellule. Par conséquent, le mucus pulmonaire va se déshydrater et diminuer la fonction mucociliaire (d'Angelo et al. 2014).

Figure 2 - Physiopathologie de la mucoviscidose (Gbian et Omri 2021)



La **figure 2** explique les conséquences globales de la mutation du gène CFTR au niveau pulmonaire. L'altération du transport anionique à travers la protéine CFTR provoque une déshydratation et une acidification du mucus présent dans l'arbre bronchique. L'accumulation de ce mucus épais diminue la fonction mucociliaire aboutissant à une obstruction des voies respiratoires. Par conséquent, le patient souffre d'une maladie présentant une importante composante inflammatoire et infectieuse. En effet, de multiples pathogènes se développent et forment un ensemble infectieux au sein des poumons. Ce regroupement de bactéries, champignons et virus, augmente considérablement la difficulté qu'ont les chercheurs à trouver un traitement efficace chez les patients atteints de mucoviscidose. La nature des bactéries peut varier en fonction de l'âge des patients. Les enfants seront plutôt atteints par *Haemophilus*

influenzae et *Staphylococcus aureus* alors que les adultes montreront des colonies de *Burkholderia cepacia complex* et *Pseudomonas aeruginosa* (PA). Ce dernier reste néanmoins le pathogène le plus fréquemment croisé dans les cas de mucoviscidose. Il est le responsable d'un biofilm bactérien mélangé au mucus et résistant à certains antibiotiques tels que la tobramycine. In fine, les cellules épithéliales finissent par être endommagées, diminuant la fonction pulmonaire et les capacités respiratoires du patient (Moreau-Marquis, Stanton, et O'Toole 2008; Høiby, Ciofu, et Bjarnsholt 2010; Gbian et Omri 2021).

1.2. Evolution des traitements contre la mucoviscidose

A l'origine, les traitements utilisés dans le cadre de la fibrose kystique étaient d'ordre symptomatique. Ils agissaient sur l'inflammation, les infections et l'obstruction des voies respiratoires. Leur but était d'améliorer la qualité de vie du patient, mais ils n'étaient pas capables de soigner la cause sous-jacente de la maladie. Parmi ces médicaments, il est donc possible de retrouver des antibiotiques, des anti-inflammatoires, des mucolytiques et des bronchodilatateurs (d'Angelo et al. 2014; Velino et al. 2019; Gaspar et al. 2013).

La tobramycine est une molécule antibiotique appartenant à la famille des aminoglycosides. Son spectre d'action est surtout intéressant pour les bactéries GRAM négatif. Elle est donc particulièrement utilisée dans le cas de la mucoviscidose, puisqu'une proportion non négligeable de PA se retrouve dans la population microbienne pulmonaire. D'autres molécules antibiotiques peuvent aussi être administrées, comme la colistine ou les fluoroquinones (Velino et al. 2019; Gaspar et al. 2013).

Les corticostéroïdes sont des molécules administrées auparavant aux patients atteints de la mucoviscidose. Elles sont utilisées pour combattre l'inflammation des voies aériennes. Malheureusement, elles sont également responsables de nombreux effets secondaires. Dès lors, les chercheurs se sont tournés vers l'administration d'ibuprofène, un anti-inflammatoire non-stéroïdien. L'inconvénient de cette molécule est que le dosage doit être équilibré et précis. Un sous-dosage n'aurait aucun effet dans le cadre d'un patient atteint de fibrose kystique, mais un surdosage peut rapidement lui provoquer des effets toxiques (Velino et al. 2019).

La N-acétylcystéine est un agent mucolytique qui vise à diminuer la viscosité du mucus pulmonaire. Elle va augmenter les expectorations et libérer ainsi les voies respiratoires. En parallèle, les médicaments agonistes β_2 adrénergiques sont des molécules ayant une activité

bronchodilatatrice. Par exemple, le salmétérol est utilisé pour relaxer l'arbre bronchique et améliorer la respiration du patient (Velino et al. 2019).

Il est évident que ces molécules dont le but est uniquement de soigner les symptômes de la maladie, ne sont en aucun cas capables de traiter véritablement les patients atteints de mucoviscidose. Ainsi, la recherche tente aujourd'hui de développer toute une série de stratégies médicamenteuses qui permettraient d'agir sur la composante génétique de la fibrose kystique (d'Angelo et al. 2014).

En 1989, les chercheurs ont été capables d'isoler et d'identifier le gène codant pour la protéine CFTR. Ainsi, le clonage du gène qui s'en est suivi en 1998 a permis d'améliorer les connaissances sur le dysfonctionnement du canal CFTR. Grâce à cela, les traitements symptomatiques laissent leur place à l'élaboration de stratégies permettant d'agir directement sur le gène (Velino et al. 2019; d'Angelo et al. 2014).

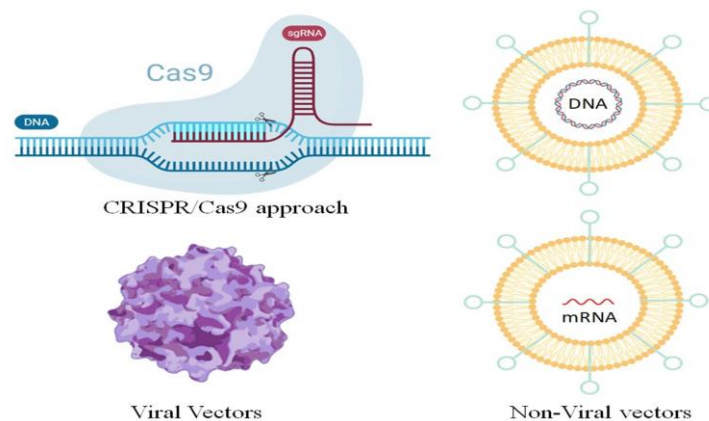
Les scientifiques travaillent notamment sur l'élaboration de modulateurs CFTR capables d'améliorer la fonction de la protéine CFTR mutée. Il existe 5 types de modulateurs qui visent à augmenter l'activité du canal CFTR : les potentialisateurs, les correcteurs, les stabilisateurs, les agents de lecture et les amplificateurs.

La FDA est la première administration qui a permis la mise sur le marché en 2012 d'un potentialisateur du CFTR connu sous la dénomination commune internationale de ivacaftor. Cette molécule active est capable d'augmenter l'ouverture du canal situé sur la membrane apicale des cellules épithéliales et d'augmenter par conséquent le passage des ions chlorure à l'intérieur du canal CFTR. Cette molécule a été développée pour soigner les patients atteints de la mutation G551D, qui correspond à la mutation de classe III la plus fréquente. De plus, l'ivacaftor montre aussi une bonne efficacité dans le cadre d'autres mutations. Les correcteurs sont capables de stabiliser la forme initiale de la protéine CFTR, permettant son transport jusqu'à la membrane plasmique. En 2015, la FDA approuve la mise sur le marché du lumacaftor. Il est administré dans le cadre des mutations de classe II. Son action permet d'augmenter la maturation de la protéine CFTR lui permettant alors d'accéder à la membrane cellulaire pour transporter les ions chlorure. Les stabilisateurs sont eux aussi utilisés pour la stabilisation du canal. Néanmoins, ils agissent au niveau de l'ancrage du canal à la membrane plasmique, diminuant alors le nombre de canaux CFTR dégradés. Les agents de lecture sauvent la synthèse des protéines. Enfin, les amplificateurs cherchent à augmenter le taux de protéines

CFTR à la surface de la cellule. Ainsi, les potentialisateurs et les correcteurs peuvent agir sur une plus grande quantité de substrat (Lopes-Pacheco 2016; Turcios 2020).

Une autre stratégie prometteuse dans le traitement de la mucoviscidose consiste à remplacer ou réprimer un gène à l'aide d'acides nucléiques. Il s'agit de la thérapie génique. Comme expliqué plus haut, la fibrose kystique est une maladie génétique où le gène CFTR est altéré. Ce gène étant le seul impliqué, la maladie a été une des premières à bénéficier des recherches sur la thérapie génique, puisque la correction d'un seul allèle était suffisante pour restaurer la fonction génétique (Velino et al. 2019; Gaspar et al. 2013). Comme le montre la **figure 3**, il existe plusieurs types de thérapie génique étudiés dans le cadre la fibrose kystique.

Figure 3 - Différentes méthodes de thérapie génique (Velino et al. 2019)



Les vecteurs viraux ont été les premiers étudiés, en 1993, dans le cadre la mucoviscidose. Les essais cliniques réalisés par Zabner et al cherchaient à évaluer si un adénovirus était capable de corriger le défaut de transport en ions chlorure en exprimant la protéine CFTR au niveau des cellules épithéliales des voies aériennes. Ces études ont été réalisées sur de l'épithélium nasal, qui est de même composition que l'épithélium des voies respiratoires mais qui a l'avantage d'être plus accessible. Les résultats ont montré une correction du canal chlorure efficace, sans apparition d'effet secondaire grave et ce malgré un nombre restreint de sujets. Par la suite, d'autres études cliniques ont montré l'apparition d'une réponse inflammatoire de l'hôte (Zabner et al. 1993; Velino et al. 2019).

Après les vecteurs viraux sont apparus les vecteurs non viraux. Constitués d'un plasmide portant l'ADN complémentaire (ADNc) du canal CFTR et d'une molécule porteuse se liant à l'ADN, ils offrent, en plus d'être moins couteux, deux avantages majeurs par rapport aux vecteurs viraux : une meilleure stabilité et une plus grande sécurité (Velino et al. 2019).

Enfin, il existe le système CRISPR/Cas9. Cette approche est basée sur le système immunitaire bactérien, capable de s'adapter et de résister aux attaques extérieures. Les CRISPR sont des séquences d'ADN qui composent le génome bactérien. Ils sont issus de restants de fragments d'ADN viral ayant infectés auparavant la cellule bactérienne. Ainsi, cela permet à la bactérie d'empêcher ces infections virales. L'enzyme Cas9 quant à elle, utilise les séquences CRISPR pour reconnaître les brins spécifiques d'ADNc à cliver. Après avoir clivé cette séquence d'ADN par une cassure double brin, la cellule peut alors remplacer le défaut génétique par une séquence correcte (Velino et al. 2019; Graham et Hart 2021).

Le système CRISPR/Cas9 est donc une stratégie qui permet de créer des gènes dans lesquels la partie initialement mutée ou défectueuse sera corrigée grâce aux changements d'ADN. Une maladie peut alors bénéficier d'un changement permanent des défauts génétiques d'origine. Même si cette approche peut sembler prometteuse, des craintes subsistent lors de son application au niveau pulmonaire. En effet, l'utilisation de Cas9 serait potentiellement immunogène due à son origine bactérienne. Le complexe serait également à risque d'être détruit par le système immunitaire humain (Velino et al. 2019; Graham et Hart 2021).

Les premières études qui ont essayé d'appliquer cette approche à la mucoviscidose ont été réalisées en 2013 par Scwank. Le premier objectif de cette étude était de tester si cette stratégie permettait de récupérer une protéine CFTR fonctionnelle à partir d'organes intestinaux obtenus chez des patients atteints de mucoviscidose. Le deuxième était de démontrer si la mutation originale avait pu être réparée au niveau du locus CFTR grâce à l'édition de gène utilisée par l'approche CRISPR/Cas9 (Velino et al. 2019).

2. Administration pulmonaire

2.1. Enjeux pharmaceutiques liés à l'administration pulmonaire

Comme expliqué plus haut, les connaissances sur la maladie ont pendant des années limité le choix des traitements administrables aux patients. Des régimes quotidiens ainsi que des traitements non médicamenteux, comme de la kinésithérapie respiratoire par exemple, étaient également obligatoires pour diminuer la progression de la maladie et améliorer la qualité de vie des malades. Grâce l'avancée de la recherche, les nouveaux traitements ciblant directement la cause sous-jacente de la maladie laissent espérer à une véritable guérison des patients. Cependant, un des inconvénients associés à ces médications systémiques est le risque élevé d'être soumis à des effets indésirables important. Cela diminue fortement la compliance des patients au traitement, et provoque alors une diminution de leur qualité de vie (Newman 2017).

Afin de résoudre ces différents problèmes, les chercheurs sont en train de travailler sur la possibilité d'administrer topiquement les molécules via la voie pulmonaire. Ainsi, cette approche permet de limiter la distribution ubiquitaire des molécules, administrées à l'origine de façon systémique et chronique. De plus, ce type d'application offre de nouveaux avantages tels qu'un ciblage pharmacologique maximal menant directement à une meilleure efficacité thérapeutique. L'intérêt de cette méthode réside aussi dans l'amélioration de l'effet thérapeutique en gardant des doses médicamenteuses faibles dans les sites non ciblés (Newman 2017).

Malheureusement, l'administration pulmonaire n'est pas aussi facile à mettre en place qu'un traitement per os ou à administration parentérale. Il a donc fallu développer des dispositifs capables de délivrer les principes actifs jusque dans le poumon profond. De plus, les résultats cliniques sont dépendants de la capacité du médicament à rejoindre sa cible. De nombreux obstacles se trouvent sur le chemin des principes actifs avant même de savoir s'il sera efficace en application par voie pulmonaire (Newman 2017).

2.2. Dispositifs existants

Comme le souligne le point 2.1 de ce mémoire, le développement de nouveaux dispositifs adaptés à l'administration pulmonaire est essentiel pour envisager des traitements pulmonaires. Ces dispositifs ont été fabriqués dans le cadre de plusieurs maladies pulmonaires telles que la mucoviscidose ou encore l'asthme et la bronchopneumopathie chronique obstructive. Il s'agit principalement des nébuliseurs, des inhalateurs doseurs pressurisés (MDI) et des inhalateurs de

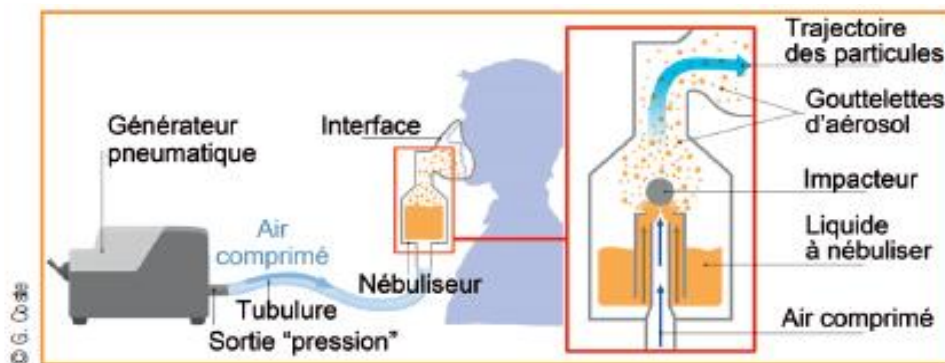
poudre sèches (DPI). Même si ces appareils permettent une amélioration de la compliance du patient, une mauvaise utilisation de ces dispositifs reste tout de même un frein à la bonne administration des molécules actives. Il faut donc rester vigilant quant à la bonne utilisation de ces différents procédés (Newman 2017).

2.2.1. Nébuliseur

Un nébuliseur est un appareillage qui délivre un aérosol à partir d'une préparation liquide. Un avantage primordial de cette stratégie est que le patient ne doit pas être en coordination avec le déclenchement de l'aérosol. De plus, ils ont la capacité de délivrer une plus grande dose d'aérosol même si le temps d'administration est par conséquent plus long. Les fines gouttelettes contenues dans l'aérosol sont produites de différentes façon en fonction du type de nébuliseur. En effet, il existe deux sortes de dispositifs : pneumatique ou à ultrason (Ibrahim, Verma, et Garcia-Contreras 2015; Pathak et Islam 2021; Coste 2019).

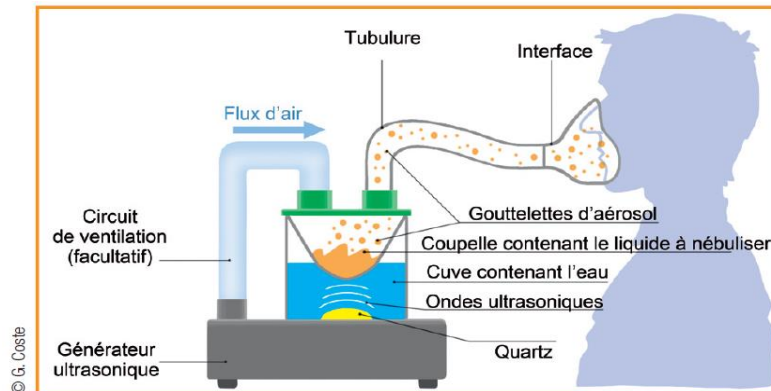
Le nébuliseur pneumatique (**Figure 4**) repose sur le principe de l'effet Venturi, qui définit que la pression d'un fluide diminue à mesure qu'il traverse une section étroite, ou à mesure que la vitesse d'écoulement augmente. Ainsi la préparation liquide est envoyée à grande vitesse à travers un tube, ce qui provoquera une dépression. Au moment de l'impact de la solution sur un déflecteur, les grosses gouttelettes vont se briser en petites gouttelettes. De plus, ce déflecteur va diminuer la vitesse de propagation de l'aérosol, ce qui va permettre de réduire le phénomène d'impact des particules qui sera expliqué au point 2.3.1 de ce mémoire. L'inconvénient majeur de cette méthode est la nécessité d'utiliser un compresseur souvent encombrant et bruyant. Il est donc difficilement transportable (Ibrahim, Verma, et Garcia-Contreras 2015; Pathak et Islam 2021; Coste 2019).

Figure 4 - Principe de fonctionnement d'un nébuliseur pneumatique (Coste 2019)



Le nébuliseur à ultrasons (**Figure 5**) est basé sur un système de vibrations émises grâce à des cristaux piézoélectriques à haute fréquence, provoquant la division de la préparation liquide en de fines gouttelettes. De nouveau, ces dispositifs ne sont pas portables car ils demandent une alimentation électrique. De plus, ils sont moins économiques et provoquent une augmentation de la température pouvant être incompatible avec certains principes actifs thermosensibles (Ibrahim, Verma, et Garcia-Contreras 2015; Pathak et Islam 2021; Coste 2019).

Figure 5 - Principe de fonctionnement d'un nébuliseur ultrasonique (Coste 2019)



2.2.2. Inhalateur doseur pressurisé

Les inhalateurs doseurs pressurisés, ou metered-dose inhaler (MDI), sont des dispositifs qui utilisent une préparation liquide (**Figure 6**). Ils sont constitués de trois parties principales : un réservoir, une valve doseuse et un système d'activation. La préparation liquide médicamenteuse, en suspension ou non dans un gaz propulseur, est maintenue dans le réservoir. Lors de l'activation de la valve doseuse, celle-ci libère une quantité connue du contenu du réservoir. Le système d'activation contient l'orifice de sortie et la canule. Une fois le déclenchement réalisé par le patient, la préparation passe d'un milieu pressurisé à un milieu ambiant, elle subit donc une dépression, permettant de mettre en suspension les gouttelettes de principe actif et de produire la nébulisation (Ibrahim, Verma, et Garcia-Contreras 2015; Pathak et Islam 2021; Khan et al. 2013).

Il existe de nouveau deux types de MDI en fonction du gaz utilisé. Premièrement, les MDI à base de diazote sont des inhalateurs à gaz comprimés. A chaque utilisation, une vidange de gaz se réalise, ce qui diminue au fur et à mesure la qualité de la dépression, faisant varier la dimension des particules et influençant directement les performances du dispositif. Deuxièmement, les inhalateurs à base de gaz hydrofluoroalcanes sont appelés MDI à gaz liquéfiés. Dans ceux-ci, le principe actif est mélangé au gaz propulseur liquide grâce à des

tensioactifs. La différence de pression permet le passage de l'état liquide à l'état gazeux (Ibrahim, Verma, et Garcia-Contreras 2015; Pathak et Islam 2021; Khan et al. 2013).

Les MDI sont facilement transportables et sont légers. Malheureusement ils demandent une bonne coordination main/poumon de la part du patient et laissent de nombreux dépôts dans la cavité buccale. Pour les personnes aux capacités respiratoires réduites, il est donc nécessaire d'accompagner ce dispositif d'une chambre d'inhalation (Ibrahim, Verma, et Garcia-Contreras 2015; Pathak et Islam 2021; Khan et al. 2013).

Figure 6 - Schéma d'un MDI (Khan et al. 2013)

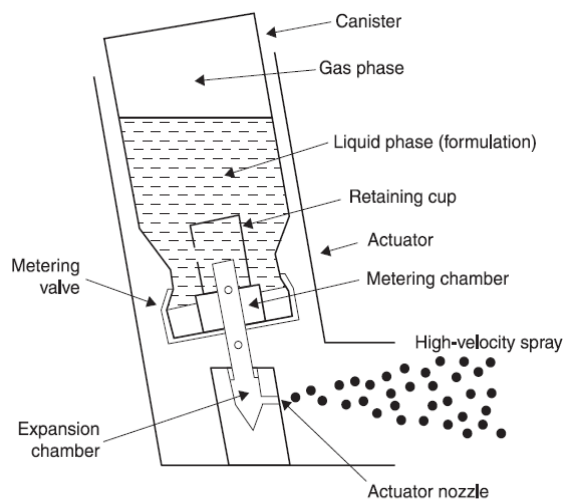
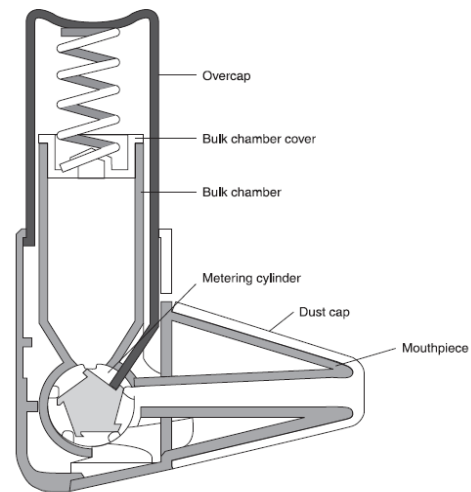


Figure 7 - Schéma d'un DPI (Khan et al. 2013)



2.2.3. Inhalateur à poudre sèche

Les inhalateurs à poudre sèche, ou dry powder inhaler (DPI), sont des dispositifs qui utilisent des formulations solides (**Figure 7**). La dose de poudre est maintenue dans un réservoir, dans une gélule ou dans un blister. Les avantages de cette stratégie sont l'augmentation de la stabilité des principes actifs par rapport aux préparations liquides, sa facilité de transport et sa plus grande déposition pulmonaire par rapport aux autres dispositifs à inhalation. Pour l'utilisation des DPI, il faut néanmoins une bonne capacité pulmonaire, une coordination main/respiration, ainsi qu'une bonne tolérance aux substances de charge utilisées pour transporter les molécules actives au sein du dispositif. En effet, ces excipients de support aident à diminuer les forces de cohésion entre les particules, diminuant ainsi la formation d'agrégats, et améliorant l'écoulement des poudres. Cependant, certains excipients peuvent être sujets à des intolérances tels que le lactose (Ibrahim, Verma, et Garcia-Contreras 2015; Pathak et Islam 2021; Khan et al. 2013).

2.3. Barrières biologiques

Depuis plusieurs années, le développement de cette nouvelle méthode d'administration se révèle prometteuse pour les maladies respiratoires aiguës ou chroniques. Elle a l'avantage d'offrir une grande surface d'échange allant jusqu'à 100m^2 et dont l'épaisseur de la membrane cellulaire est extrêmement fine ($0,1$ à $0,2\ \mu\text{m}$). Ainsi, cela augmente considérablement les chances d'obtenir un passage systémique des molécules actives. De plus, grâce à cette absorption directement de la région alvéolaire à la circulation sanguine, l'effet de premier passage hépatique peut être évité, ainsi que la désactivation du principe actif (Khan et al. 2013).

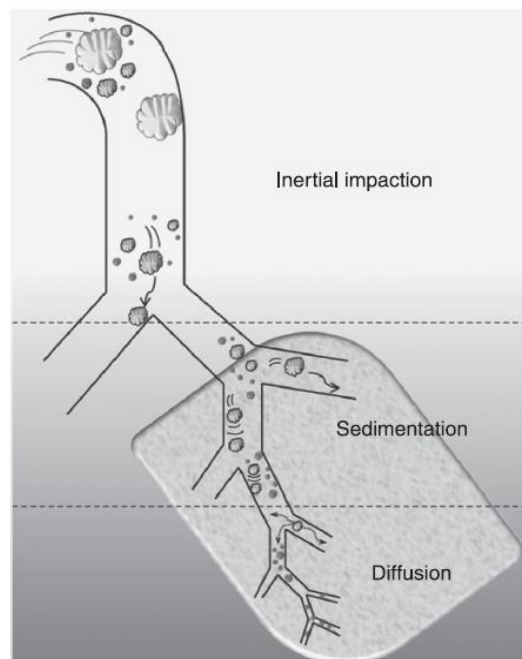
L'administration pulmonaire dépend fortement des barrières biologiques que les médicaments doivent traverser avant de pouvoir atteindre leur cible. Il est important de comprendre les épreuves à surmonter pour trouver les meilleures stratégies d'approche et augmenter la capacité d'administration du médicament. Ainsi, les étapes à franchir sont : la déposition du médicament dans les poumons, la perméabilité dans le mucus, l'interaction avec la cible cellulaire et le contact avec les macrophages (Ruge, Kirch, et Lehr 2013).

2.3.1. Déposition particulaire

La déposition particulaire se traduit comme la manière qu'ont les particules actives de se déposer dans les voies aériennes. Cette déposition est directement en relation avec la taille des particules. Elle se fait au fur et à mesure du trajet des particules au sein de l'arbre bronchique. La **figure 8** illustre les trois principaux phénomènes en lien avec la taille particulaire (Khan et al. 2013; Pathak et Islam 2021; Gaspar et al. 2013).

Le phénomène d'impaction concerne les particules ayant un diamètre aérodynamique supérieur à $5\ \mu\text{m}$. En effet, lors de la respiration, les particules entrent à grande vitesse dans l'arbre bronchique et ne sont pas capables de modifier leur trajectoire. Dès lors, la déposition se produit lorsqu'elles rentrent en collision avec les bifurcations des voies aériennes supérieures. Plus la particule est grande et dense, plus sa vitesse à la

Figure 8 - Déposition particulaire (Khan et al. 2013)



sortie de l'aérosol sera grande. Cela augmente alors la probabilité de dépôt par inertie dans les voies supérieures. La déposition dépend donc de la taille de la particule mais aussi de sa masse (Khan et al. 2013; Pathak et Islam 2021; Gaspar et al. 2013).

Les patients atteints de mucoviscidose doivent faire face à un taux de déposition plus important que les individus sains. En effet, la diminution de la distance ainsi que l'augmentation des turbulences au niveau des voies respiratoires restreintes, facilitent le dépôt des particules sur les parois bronchiques (Labiris et Dolovich 2003; d'Angelo et al. 2014).

Le phénomène de sédimentation correspond au dépôt particulaire engendré par la gravité. En effet, les forces gravitationnelles et la résistance de l'air finissent par annuler la flottabilité des particules qui se déposent alors dans les petites voies respiratoires et les cavités alvéolaires. Cela concerne essentiellement les particules entre 0,5 et 5 μm . De plus, ce processus dépend également des mouvements d'air. Ainsi, l'arrêt de la respiration favorise le dépôt par sédimentation (Khan et al. 2013; Pathak et Islam 2021).

Enfin, la diffusion brownienne, ou le mouvement aléatoire des particules, explique que les petites molécules de moins de 0,5 μm se comportent comme des molécules de gaz. Le dépôt qui s'en suit se fait donc de façon aléatoire. Ce phénomène est le plus important au sein des voies aériennes inférieures fines ainsi qu'au niveau des alvéoles. L'inconvénient majeur de ces petites particules et leur capacité à ressortir des poumons lors de l'expiration, puisqu'elles ont la capacité de se déplacer aléatoirement comme des molécules de gaz. La seule solution pour diminuer ce processus est de retenir sa respiration (Khan et al. 2013; Pathak et Islam 2021; Gaspar et al. 2013).

En conclusion, le diamètre aérodynamique des particules utilisées dans les traitements à inhalation doit répondre à des normes strictes. Il est indispensable que la taille des particules soit comprise entre 1 et 5 μm afin d'atteindre le poumon profond. Effectivement, les particules de grandes tailles se déposent au niveau des voies aériennes supérieures. Les particules entre 0,5 et 5 μm vont sédimenter. Les particules de moins de 0,5 μm sont exhalées (Pathak et Islam 2021).

2.3.2. Perméabilité à travers le mucus

Le couche de mucus est une barrière physique installée sur les cils de cellules épithéliales du nez jusqu'aux bronchioles terminales. Elle affecte directement le ciblage des médicaments et leur biodisponibilité (Sanders et al. 2009; d'Angelo et al. 2014).

Chez un individu sain, le mucus a pour fonction de protéger l'appareil respiratoire des éléments extérieurs. Grâce aux cellules ciliées de l'épithélium respiratoire et au mucus, un nettoyage est réalisé et permet d'éliminer les matières étrangères. Le mucus, mené par les cils, réalise un mouvement ascendant permettant d'extraire les molécules insolubles piégées depuis le pharynx (Sanders et al. 2009; d'Angelo et al. 2014; Pathak et Islam 2021).

Dans un contexte pathologique, comme dans la mucoviscidose, le mucus est altéré. Sa composition est caractérisée par une diminution de la quantité en eau et en mucine, ainsi que par une augmentation d'ADN et d'actine. Ces biopolymères sont issus de neutrophiles, de cellules épithéliales et d'agents pathogènes morts. A cause d'un phénomène de réticulation, la formation d'un gel d'ADN ou d'actine change la consistance du mucus, et augmente sa viscoélasticité. L'ADN et les mucines sont chargées négativement, pouvant provoquer deux sortes d'interactions : une liaison avec des molécules chargées positivement, ou une répulsion des molécules chargées négativement. Enfin, les biopolymères forment un réseau de fibres hydrophobes dont les mailles sont comprises entre 100 et 1000nm (Sanders et al. 2009; Lai et al. 2009).

Plusieurs inconvénients majeurs sont attribués à ce changement de composition. Une aide mécanique, telle que la toux, est nécessaire pour palier la diminution de la clairance ciliaire. Le patient éprouve de la difficulté à dégager ses voies respiratoires. Les matières étrangères, telles que des substances toxiques ou des agents pathogènes ne sont plus évacuées, provoquant des infections et des inflammations chroniques. Enfin, les molécules médicamenteuses sont enfermées dans ce mucus et sont incapables de rejoindre leur cible (Sanders et al. 2009; d'Angelo et al. 2014; Pathak et Islam 2021).

2.3.3. Interaction avec la cible cellulaire

Chez les patients atteints de mucoviscidose, un biofilm bactérien produit principalement par le PA est mélangé au mucus bronchique. Ces communautés bactériennes s'attachent à des surfaces vivantes et sont entourées d'une matrice extracellulaire composée de polysaccharides, d'ADN et de protéines. Les antibiotiques ont un intérêt certain à pouvoir cibler ce biofilm puisqu'il est responsable de l'infection et de l'inflammation chronique pulmonaire. Néanmoins, au cours du temps une résistance aux antibiotiques s'est installée et diminue l'efficacité de certaines molécules telle que la tobramycine. Le biofilm, encastré dans le mucus, est à cause de sa localisation un obstacle supplémentaire à franchir pour les molécules médicamenteuses avant

de pouvoir atteindre leur cible (Moreau-Marquis, Stanton, et O'Toole 2008; Høiby, Ciofu, et Bjarnsholt 2010; Gaspar et al. 2013).

Une fois les barrières extracellulaires franchies, le médicament doit être capable d'interagir avec sa cible. Certaines molécules utilisées dans la thérapie génique doivent traverser la membrane cellulaire pour rejoindre le cytoplasme ou le noyau. Une macromolécule chargée négativement telle qu'un ARN interférent (siARN) sera incapable de traverser la membrane cellulaire naturellement chargée négativement. Afin d'y arriver, il sera indispensable qu'un transporteur l'accompagne. Dans le cas contraire, jamais la thérapie génique ne se montrera efficace (Lam, Liang, et Chan 2012).

En résumé, certains médicaments dont la nature ne leur permet pas d'accéder facilement à leur cible ont besoin d'une aide supplémentaire. Il s'agit alors d'utiliser un transporteur capable d'aider le principe actif à arriver à destination soit pour qu'il puisse résister à une éventuelle résistance, soit pour qu'il puisse traverser la membrane plasmique (d'Angelo et al. 2014; Lam, Liang, et Chan 2012; Ong et al. 2019).

2.3.4. Macrophages alvéolaires

Au sein du poumon profond se trouvent des macrophages alvéolaires participant à la clairance pulmonaire. Les macrophages sont des phagocytes mononucléaires qui constituent une défense contre les agents extérieurs ou les particules qui atteignent les voies respiratoires inférieures. Contrairement à une situation classique dans laquelle les macrophages sont matures et assez grands, les cas de mucoviscidose présentent des macrophages principaux de petite taille. Ceci explique qu'ils se situent essentiellement au sein des alvéoles. Ces macrophages dégradent les particules de 1 à 5 μm , ce qui correspond malheureusement aux molécules actives capables d'atteindre le poumon profond, comme le décrit le point 2.3.1 de ce mémoire. Ainsi, il est possible que les macrophages s'attaquent aux principes actifs avant même qu'ils n'aient eu le temps d'exercer leur action pharmaceutique. De plus, l'éveil des macrophages initie une réponse immunitaire plus large, notamment en libérant des substances pro-inflammatoires déclenchant des cascades inflammatoires au niveau alvéolaire (Nicod 2005; Wright et al. 2009; Kubczak et al. 2021).

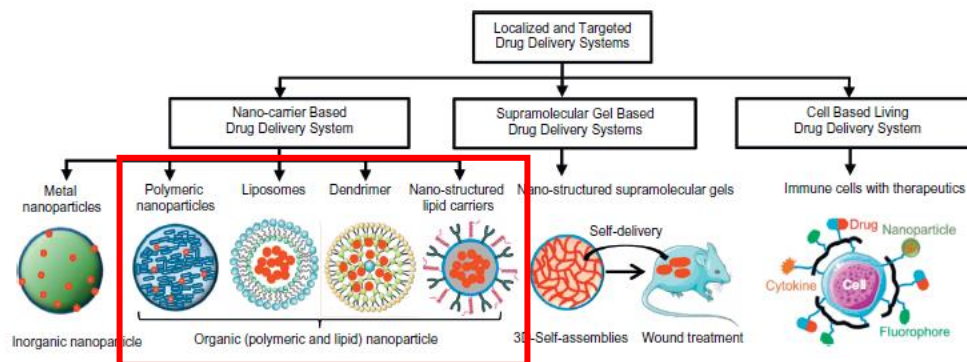
3. Nanovecteurs

3.1. Généralités

Les nanovecteurs ou nanoparticules sont des vecteurs dont la taille se situe entre 20nm et 20µm. Ces transporteurs sont au centre des études depuis maintenant plus d'une dizaine d'années. Cette nouvelle technologie est particulièrement recherchée en tant que système de d'administration (Yhee, Im, et Nho 2016).

Le terme nanovecteur est en réalité un terme générique et comprend plusieurs types de nanoparticules de natures différentes. Comme illustré sur la **figure 9**, le système d'administration des médicaments basé sur des nanovecteurs (ou nano-transporteurs) est composé de particules inorganiques ou organiques. Dans le cadre de ce mémoire, seules les particules organiques seront abordées. Quatre classes seront donc distinguées : les liposomes et les nanoparticules solides lipidiques (SLN), faisant tous deux partie de la famille des particules lipidiques. Les nanoparticules polymériques et les dendrimères, classifiés dans la famille des transporteurs à base de polymères (Majumder, Taratula, et Minko 2019; Menezes et al. 2021).

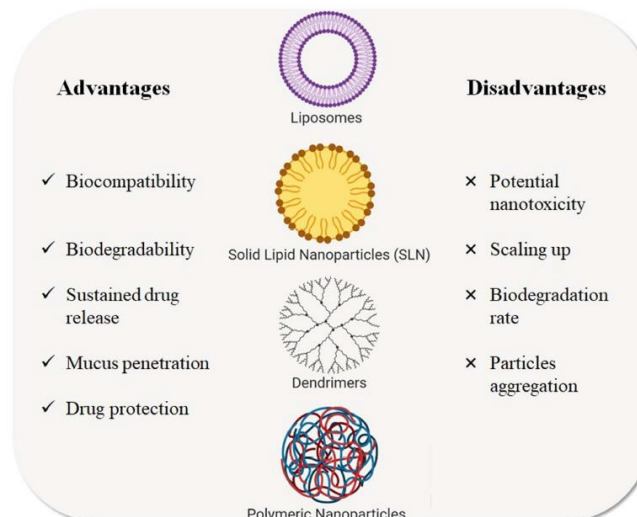
Figure 9 - Classification des nanoparticules (Menezes et al. 2021)



Les nanoparticules confèrent aux traitements concernés certains avantages non négligeables comparés aux autres systèmes d'administration classiques. Leur fonction principale est d'aider au transport des particules en encapsulant les principes actifs. Cette enveloppe apporte également une protection contre les éventuelles dégradations auxquelles sont sensibles le principe actif. Les nanovecteurs permettent d'améliorer le ciblage des principes actifs au niveau tissulaire ou cellulaire et ils constituent également une stratégie de défense contre les résistances aux médicaments. Les nanoparticules comportent néanmoins certains inconvénients. Elles peuvent présenter une potentielle nanotoxicité et nécessitent une mise à l'échelle. Leur taux de biodégradation n'est pas favorable et les particules sont sujettes au

phénomène d'agrégation. (Anselmo et Mitragotri 2014; Yhee, Im, et Nho 2016; Velino et al. 2019; Menezes et al. 2021). La **figure 10** représente les différents avantages et inconvénients qui concernent les nanoparticules organiques les plus étudiées dans la fibrose kystique.

Figure 10 - Avantages et inconvénients des nanoparticules organiques étudiées dans la mucoviscidose (Velino et al. 2019)



3.2. Intérêt de la nanotechnologie au sein de la mucoviscidose

Au cours du point 2.3 de ce mémoire, les principaux obstacles rencontrés dans le cadre de la fibrose kystique séparant le principe actif de sa cible ont été décrits. Il est maintenant intéressant de comprendre quel est l'intérêt d'utiliser les nanovecteurs organiques pour traverser ces barrières biologiques.

Tout d'abord, la possibilité de contrôler la taille et le diamètre aérodynamique des nanoparticules est un facteur déterminant dans l'élaboration de traitements contre la mucoviscidose. Ces deux paramètres influencent directement la déposition pulmonaire. Pour rappel, il est nécessaire que les particules inhalables soient suffisamment petites que pour atteindre le poumon profond mais également assez grandes que pour éviter la clairance par les macrophages. Il ne faut cependant pas oublier que les nanoparticules doivent avoir la capacité de contenir un principe actif en quantité suffisante que pour obtenir un effet thérapeutique (d'Angelo et al. 2014).

Ensuite, le mucus pulmonaire, éternel obstacle de la mucoviscidose, lié au biofilm bactérien, réduit considérablement les possibilités d'accès aux cellules épithéliales. L'utilisation des nanoparticules dans ce contexte permet l'obtention de particules suffisamment

petites que pour éviter l'obstruction stérique. La capacité de modelage de la surface des nanovecteurs permet également d'adapter sa charge en fonction de la barrière à traverser. Dans le cas de la mucoviscidose, le mucus est particulièrement chargé négativement par les mucines MUC5AC et MUC5B et les molécules d'ADN. C'est pourquoi l'administration des nanovecteurs est réalisée en modifiant leur surface afin qu'elle soit la plus neutre possible. Pour se faire une des stratégies les plus communes est de greffer des polyéthylènes glycols (PEG) de bas poids moléculaire à leur surface, éliminant alors les interactions électrostatiques et hydrophobes (Sanders et al. 2009; Savla et Minko 2013; Ong et al. 2019).

Enfin, en étant encapsulés ou accrochés aux nanoparticules, les molécules actives bénéficient d'un meilleur ciblage au site d'action. La modification de la surface des nanoparticules peut être utilisée pour améliorer leur ciblage. Pour cela, des protéines, des peptides, des polymères, des oligosaccharides ou d'autres molécules peuvent être greffés à l'extérieur de l'enveloppe particulaire. Cela permet donc de limiter les effets secondaires qui sont à l'origine du manque de compliance des traitements classiques. Aussi, plusieurs études confirment que les traitements par inhalation deviennent plus efficaces, et montrent un effet thérapeutique meilleur avec des doses plus faibles de principes actifs (da Silva et al. 2017; Menezes et al. 2021).

En conclusion, le choix du nanotransporteur dépend essentiellement de l'effet thérapeutique recherché. La mucoviscidose impose de nombreux critères à la formulation des nanovecteurs, ce qui complique leur développement.

3.3. Nanovecteurs à base de lipides

Ce type de nanovecteurs est particulièrement apprécié car les lipides et les surfactants qui les composent sont physiologiques, biodégradables et biocompatibles. Les phospholipides et le cholestérol sont majoritairement utilisés dans la conception des nanoparticules à base de lipides car ils confèrent plusieurs avantages dans le cadre d'une administration pulmonaire. En effet, ils sont bien tolérés et constitue une proportion importante de la réserve naturelle pulmonaire. De plus, leur nature hydrophile permet de diminuer les phénomènes d'agrégation et d'adhésion responsable d'une mauvaise administration des petites particules pulmonaires. Les liposomes sont essentiellement étudiés dans le but d'encapsuler des antibiotiques pour cibler le biofilm bactérien. Quant aux SLN, elles sont encore en plein développement (Pilcer et Amighi 2010).

3.3.1. Liposomes

Les liposomes sont des vésicules sphériques formées par une membrane bicouche de molécules lipidiques amphiphiles. Leur taille se situe entre 20nm et 20µm. En étant amphiphile, ils ont la capacité soit d'intégrer un principe actif hydrophile au centre du noyau aqueux, soit d'intégrer un principe actif lipophile au sein de la bicouche membranaire. Appréciés pour leur polyvalence, ils ont déjà été largement étudié comme système d'administration par inhalation dans le cadre de différentes pathologies (Kuzmov et Minko 2015).

La classification des liposomes peut se faire selon leur composition ou selon leur taille. La bicouche lipidique est composée de matériel biodégradable et biocompatible puisqu'il s'agit de phospholipides naturels ou synthétiques, contenant également d'autres composants tels que le cholestérol et des lipides conjugués à des polymères hydrophiles. Une variation de la composition de la bicouche est directement responsable de changements dans les paramètres physicochimiques du nanovecteur. En effet, la fluidité de la membrane, la densité de charge, l'encombrement stérique ou encore la perméabilité sont des facteurs déterminants les interactions entre le liposome et les tissus. Dès lors, la formulation du liposome sera directement influencée par le mode d'administration. Ainsi, il existe 5 types de liposomes classifiés selon la composition : les liposomes conventionnels, les liposomes sensibles au pH, les liposomes cationiques, les immunoliposomes et les liposomes à longue circulation (Sharma 1997).

Cependant, d'un point de vue de la taille du liposome et du nombre de bicouche qu'il contient, plusieurs configurations sont possibles. Il existe donc 4 catégories : les petites vésicules unilamellaire (25 nm), les larges vésicules unilamellaires (0,1 à 1 µm), les vésicules multilamellaires (0,1 à 20 µm) et les liposomes multivésiculaires. Le terme unilamellaire fait référence à des vésicules composée d'une seule bicouche, alors que le terme multilamellaire correspond à des vésicules composées de plusieurs bicouches. La **figure 11** représente la structure des liposomes en fonction de la nature de leur vésicule (Khan et al. 2013).

Par rapport à une administration parentérale ou orale, utiliser une administration locale, telle que l'administration pulmonaire, va modifier la distribution des molécules actives dans l'organisme. Avec une administration systémique, il semble que la majorité des particules s'accumulent in fine dans le foie, les reins et la rate. En effet, seuls 25% des particules injectées se retrouvent réellement dans les poumons. Dans le cas d'une administration par inhalation, les particules bénéficient d'un ciblage passif, et s'accumulent en majorité directement sur le site d'intérêt. L'ajout d'un ciblage actif par des molécules greffées à la surface des liposomes

pourraient en effet améliorer la distribution pulmonaire par administration systémique, mais ne sera pas capable de dépasser les avantages que procurent l'administration locale pulmonaire des nanoparticules. Comme le montre la **figure 12**, la répartition entre les lieux de distribution des principes actifs dans les différents organes est largement différente en fonction de la voie d'administration utilisée. La voie systémique sera dès lors moins efficace, plus propice à des effets indésirable et nécessitera des doses plus élevées que la voie locale (Kuzmov et Minko 2015).

Figure 11 - Variétés de structure d'un liposome (Khan et al. 2013)

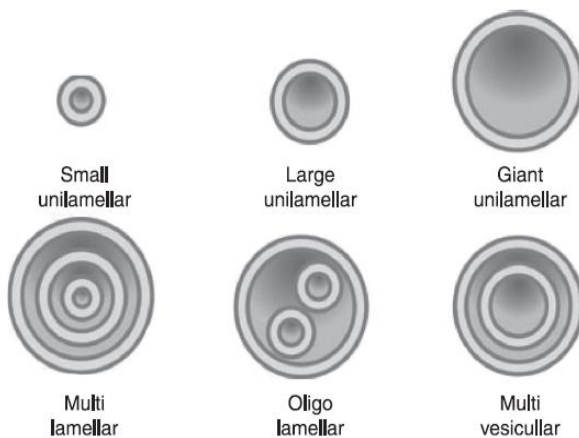
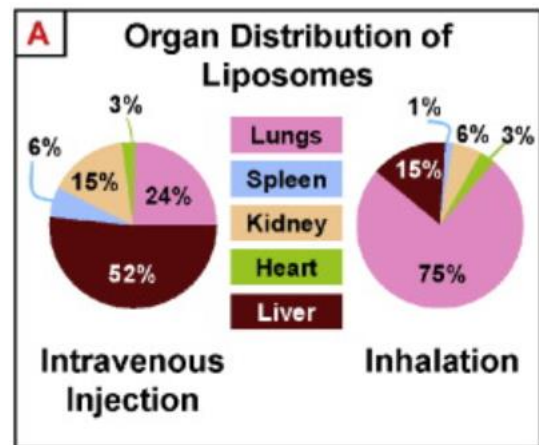


Figure 12 - Distribution des liposomes selon l'administration (Kuzmov et Minko 2015)



Durant les années 90, plusieurs chercheurs ont lancé les premières études cliniques concernant les liposomes. Celles-ci se concentraient essentiellement sur l'administration d'antibiotique, afin de combattre la cause infectieuse responsable de la morbidité des cas de mucoviscidose.

Omri et Beaulac publient en 1994 et 1996 les résultats de leurs recherches portant sur l'étude de l'efficacité et de la toxicité de la tobramycine encapsulée dans des liposomes administrés directement au niveau pulmonaire. Les études sont à l'époque réalisées sur des rats sains et des rats infectés par le PA. Dans leurs travaux, les liposomes sont constitués de disteoyl phosphatidylcholine et de dimyristoyl phosphatidyl-glycérol (DMPG). Les études permettent de comparer le temps de rétention pulmonaire des préparations de tobramycine seule face aux préparations de tobramycine liposomale. Elles observent également l'éventuelle influence d'une infection pulmonaire sur la rétention tissulaire de la tobramycine encapsulée. Les résultats montrent que l'antibiotique est toujours actif puisqu'il a pu être détecté. De plus, le temps de rétention de la forme liposomale est supérieur au temps de rétention de la forme

classique. La présence de l'infection n'a pas diminué le temps de rétention de la forme liposomale, mais a par contre restreint la quantité de principe actif dans les poumons. Cette diminution s'expliquerait par le passage de l'antibiotique à travers les tissus suite à une vasodilatation du tissu pulmonaire infecté et enflammé. Ces études permettent de conclure que l'administration locale de tobramycine encapsulée dans des liposomes permet d'atteindre de haute concentration locale en principe actif, chez les individus sains, mais aussi chez les individus infectés. Enfin, le faible taux d'antibiotique retrouvé au niveau rénal indique une diminution de la néphrotoxicité du traitement liposomale par rapport à sa forme classique. Dès lors, ces études signent le début des recherches sur les patients atteints de mucoviscidose (Omri et al. 1994; Beaulac et al. 1996).

Par la suite, Magabe, en faisant des études avec la gentamicine, confirme que l'encapsulation d'un antibiotique au sein de liposomes, même avec plusieurs associations de phospholipides différents, permet d'augmenter l'efficacité du traitement face aux formes libres dans l'éradication du PA isolés de patients atteints de fibrose kystique (Mugabe, Azghani, et Omri 2005).

Drulis-Kawa ainsi que Messian et leurs équipes démontrent que des liposomes cationiques contenant un antibiotique confèrent une efficacité antibactérienne plus grande grâce à leurs interactions électrostatiques avec le biofilm bactérien. La libération du principe actif se ferait dès lors à proximité de PA (Drulis-Kawa et al. 2006; Messiaen et al. 2013). Cependant, les liposomes chargés positivement se sont révélés plus toxiques pour les cellules pulmonaires humaines par rapport aux systèmes neutres. Dès lors, pour diminuer les dommages sur les cellules pulmonaires humaines, de nouvelles formulations de liposomes doivent être étudiées (Kuzmov et Minko 2015).

En 2018, la FDA a approuvé une nouvelle formulation Arikayce® délivrée via un nébuliseur. La molécule active concernée est un antibiotique nommé amikacine. Elle a été encapsulée dans un liposome à base de dipalmitoyl-phosphatidylcholine (DPPC) et de cholestérol puis administrée via un nébuliseur. Cette étude de phase III a été complétée en 2013 et récemment mis à jour en 2020 (Insméd Incorporated 2020). Bien que l'activité d'Arikayce® contre les infections pulmonaires soit avérée, l'EMA n'a pas reconnu cette nouvelle formulation comme indiquée contre les patients atteints de la mucoviscidose. Néanmoins, Arikayce® a obtenu son autorisation de mise sur le marché le 27 octobre 2020 avec comme indication le

traitement des infections pulmonaires chez les patients non atteints de mucoviscidose et dont les possibilités de traitements sont limitées (EMA 2020).

En parallèle, les recherches voudraient déterminer s'il est possible d'encapsuler deux molécules actives dans un seul liposome. Pour cela, l'équipe de Halwani publie en 2008 une étude durant laquelle ils ont encapsulé de la gentamicine et du gallium dans des liposomes, en vue d'améliorer l'activité bactérienne de l'antibiotique contre le PA. En effet, l'utilité du gallium réside dans sa capacité à inhiber la croissance du PA et la formation du biofilm bactérien. En perturbant le métabolisme du fer, le gallium augmente la vulnérabilité des bactéries. Le liposome utilisé est composé de phospholipides DPPC et DMPG (10 :1). L'utilisation de DPPC permet d'obtenir une meilleure stabilité car sa capacité de liaison à des protéines est réduite par rapport à d'autres phospholipides. Après des manipulations in vitro, l'étude conclut que la formulation gentamicine/gallium dans un seul liposome augmente l'efficacité du traitement antibactérien par rapport aux formes libres de gentamicine, de gallium ou d'une combinaison de gentamicine et gallium sans liposome. Grâce à cette co-encapsulation, l'action de la gentamicine est optimisée, et la toxicité du gallium est réduite, ce qui permet de réduire la formation du biofilm tout en combattant la résistance des PA. Cependant, même si cette étude in vitro est concluante, il faut confirmer ces résultats sur des modèles animaux et humains avant de pouvoir conclure que cette nouvelle stratégie est fiable pour les patients atteints de mucoviscidose (Halwani et al. 2008).

Les liposomes ont aussi été utilisés pour le transport d'acides nucléiques dans le cadre de la thérapie génique. Manunta et son équipe ont créé en 2017 un nano système constitué d'un liposome, d'un peptide de ciblage épithélial et d'un siARN. Ce système était dirigé contre le canal sodique épithélial ENaC. L'objectif du liposome était de diminuer l'expression de ce canal dans les voies respiratoires des patients atteints de fibrose kystique afin de réduire l'hyperabsorption de sodium et de réguler l'hydratation des voies respiratoires ainsi que la fonction mucociliaire. L'étude permet de conclure que d'une part, l'utilisation d'un siARN aboutit à un haut niveau d'extinction notamment dans les cellules épithéliales primaires. D'autre part, l'utilisation d'un nébuliseur n'entrave pas les propriétés biophysiques du liposome et conserve l'efficacité de transport. Les données in vivo qui ont été récoltées laissent penser que cette approche à la capacité de faire taire l'expression du gène qui code pour le canal sodique épithélial, ce qui permet d'en moduler l'activité. Il est donc probable que cette nouvelle stratégie soit prometteuse pour le traitement de la mucoviscidose (Manunta et al. 2017).

En poursuivant sur la même idée, Tagalakis et al ont en 2018, produit un complexe liposomal ciblé sur les récepteurs à base de lipides cationiques, d'un peptide de ciblage et d'un siARN. Ce nanocomplexe a pour objectif de diminuer l'expression du gène qui code pour le ENaC. Il en résulte que l'administration de ces ARN grâce aux liposomes est capable de corriger les défauts mucociliaires dus aux ENaC dans les cellules humaines atteintes de fibrose kystique. Les liposomes sont donc capables d'offrir un transport efficace, pendant que le siARN est capable de réduire l'expression du gène ciblé (Tagalakis et al. 2018).

Enfin, une dernière étude est intéressante à relever. Elle a été réalisée par Alton et al. en 2015, et vise à tester l'efficacité d'un complexe ADN plasmique pGM169 avec un liposome chez des patients atteints de mucoviscidose. Cette étude de phase II est un essai randomisé en double aveugle contrôlé par un placebo. Une dernière mise à jour a été publiée en janvier 2020 (Imperial College London 2020). Dans cet article publié en 2015, il est indiqué que le complexe a été administré chez le groupe malade une fois par mois pendant un an à l'aide d'un nébuliseur. Le groupe témoin a reçu une solution saline placebo à la même fréquence. Les résultats montrent que le volume expiratoire maximal (VEMS) est significativement augmenté chez le groupe malade ayant reçu le complexe liposome-ADN par rapport au groupe contrôle. La fonction pulmonaire s'étant stabilisée, cette nouvelle stratégie semble par conséquent une alternative prometteuse pour le transport de gènes par vecteurs non-viraux (Alton et al. 2015).

3.3.2. Nanoparticules solides lipidiques

Peu après le développement des liposomes, c'est un autre système lipidique qui a attiré les chercheurs. Il s'agit des nanoparticules solides lipidiques (en anglais solid lipid nanoparticles SLN). Contrairement aux liposomes qui possèdent une bicouche lipidique, les SLN sont des particules sphériques composées de matrices lipidiques solides à température ambiante et corporelle. Les principaux lipides solides utilisés pour la formulation des SLN sont les acides gras, les stéroïdes, les triglycérides, les phospholipides et les cires. Leur diamètre moyen est de 40 à 1000 nm. Elles sont étudiées comme système d'administration et confèrent plusieurs avantages : la libération contrôlée des médicaments, une faible cytotoxicité et une meilleure stabilité chimiques des principes actifs encapsulés. La principale limitation de ces structures est leur faible capacité de chargement en molécule active suite à la rigidité de la matrice lipidique au moment du remplissage (Mueller, Maeder, et Gohla 2000; Zhang et al. 2010; Weber, Zimmer, et Pardeike 2014; Baldim et al. 2020).

Dès lors, pour contrecarrer ces limitations, une deuxième génération de SLN a vu le jour. Connue sous le nom de support lipidique nanostructuré (en anglais « nanostructured lipid carrier » ou NLC), ce nouveau système est cette fois-ci composé d'un mélange entre un lipide solide et un lipide liquide huileux, amenant à une structure semi-cristalline (**figure 13**). Celle-ci se voit alors plus flexible que les SLN, ce qui permet d'augmenter leur capacité de stockage en principe actif. Ainsi, en évitant les limitations des SLN de première génération, les NLC sont capables de profiter des mêmes avantages. De plus, par rapport aux liposomes, les deux générations de SLN profitent d'une production à grande échelle simple et moins coûteuse (Weber, Zimmer, et Pardeike 2014; Baldim et al. 2020).

Figure 13 - Structures des SLN et NLC (Baldim et al. 2020)

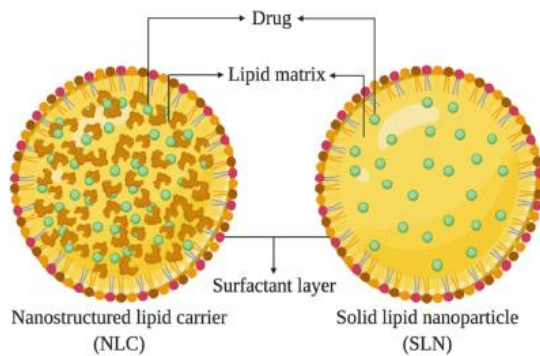
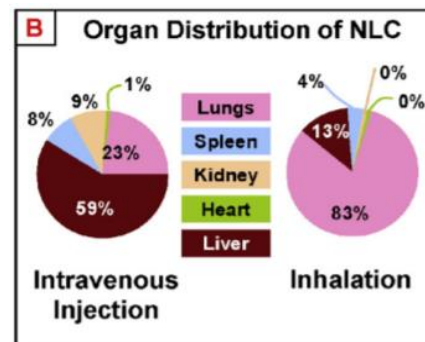


Figure 14 - Distribution des NLC selon l'administration (Kuzmov et Minko 2015)



L'utilisation de cette nanotechnologie a déjà été étudiée auparavant dans des cas d'administration orale, mais son utilisation avec une administration pulmonaire reste récente. Tout comme les liposomes, l'administration pulmonaire des NLC (**figure 14**) permettrait d'accéder à une meilleure distribution des principes actifs au niveau local, diminuant les risques d'effets secondaires sur les autres organes (Kuzmov et Minko 2015). Les SLN sont prioritairement développés dans des solutions aqueuses pour nébulisation même si une minorité des études essayent le dispositif DPI (Mueller, Maeder, et Gohla 2000).

Les SNL étant une nouvelle nanotechnologie, il existe encore trop peu de connaissances que pour cibler les recherches sur les cas de fibrose cystique spécifiquement. Ainsi, d'un point de vue général, certains essais ont été réalisés avec du budésonide encapsulé dans des SLN. D'autres ont choisi de commencer par l'encapsulation de ciprofloxacine (Velino et al. 2019).

En 2010, Varshosaz a travaillé sur une formulation d'amikacine, un antibiotique aminoside, chargée dans des SLN. Dans un premier temps, il a fallu déterminer la morphologie et la taille des particules à utiliser. Pour cela, trois facteurs déterminants ont été identifiés : le

rapport entre le principe actif et le lipide, le volume de phase aqueuse et la quantité de phase lipidique. Finalement l'équipe de recherche a sélectionné des particules sphériques ayant comme propriétés un rapport de 0,5 entre le médicament et le lipide, un volume de phase aqueuse de 229mL et une quantité de phase lipidique de 314mg. Ainsi, les particules ont acquis une taille de 149nm et une capacité de chargement de 88% (Jaleh Varshosaz et al. 2010).

Dans un deuxième temps, en 2013, Varshosaz continue ses recherches et désire définir la biodistribution de ces nanoparticules d'amikacine suite à une administration pulmonaire. Pour cela, il compare les SLN chargées en amikacine par rapport au médicament sous forme libre, l'objectif final de l'étude étant d'augmenter les concentrations en antibiotique au sein des poumons afin de lutter contre les infections rencontrées chez un patient atteint de mucoviscidose. Ainsi, dans ces travaux, cette formulation d'amikacine a été administrée chez l'animal (rats) par voie pulmonaire et par voie intraveineuse en vue de comparer les distributions. Il en résulte que la concentration obtenue suite à l'administration pulmonaire est supérieure à celle obtenue par la voie intraveineuse. De plus, a contrario de la voie parentérale, la voie pulmonaire permet la diminution des concentrations rénales en principe actif, limitant par conséquent la néphrotoxicité et augmentant l'efficacité du médicament. Dès lors, l'étude semble conclure que cette formulation permet l'administration de doses plus faibles d'amikacine, ou bien une diminution de la fréquence d'administration (J. Varshosaz et al. 2013).

Du côté de la thérapie génique, les travaux sur de l'ADN n'était pas concluant suite à la taille du gène CFTR, aux vecteurs viraux et non viraux non adaptés, et du potentiel mutagène. Dès lors, les études se portent maintenant sur de l'ARN messenger (ARNm). L'utilisation de la thérapie génique à base d'ARNm permet d'éviter les erreurs de translocation au niveau nucléaire puisqu'ils sont destinés au cytosol. Néanmoins, les ARNm doivent tout de même traverser une membrane plasmique, ce qui est naturellement compromis par opposition électrostatique. Ils demandent alors l'assistance des nanovecteurs pour pouvoir accéder au cytosol. C'est pourquoi, en 2018, Robinson et son équipe ont étudié une formulation de SLN composé d'un lipide ionisable, de phospholipides et de cholestérol, ainsi que de lipides liés à des PEG. L'ARNm caché à l'intérieur est par conséquent protégé de la réponse immunitaire de l'hôte, et bénéficie d'une bonne stabilité et d'un temps de circulation prolongé. Durant cette étude, une partie in vitro a été réalisé sur des cellules de l'épithélium bronchique malades et une autre partie utilise des souris sous une administration nasale. Premièrement, les résultats

montrent que les cellules malades *in vitro* récupèrent leur fonction protéique CFTR suite à l'utilisation de SLN chargé en ARNm. L'efflux net de chlorure devient comparable à l'efflux des cellules épithéliales bronchiques saines. Deuxièmement, les souris ayant bénéficié de l'apport en SLN chargé en ARNm par voie nasale montrent une correction de la défaillance en protéine CFTR. L'ampleur de la réponse obtenue serait comparable aux réponses obtenues avec des modulateurs CFTR comme l'ivacaftor. Attention tout de même qu'il s'agit ici d'une administration nasale et non pulmonaire. De nombreuses recherches doivent encore être réalisées pour s'assurer qu'une administration pulmonaire de SLN chargés en acides nucléiques puisse être prometteuse (Robinson et al. 2018).

Plus récemment encore, Garbuzenko et son équipe ont utilisé en 2019 les NLC pour encapsuler deux modificateurs CFTR, l'ivacaftor et le lumacaftor, pour une administration par inhalation. Cette formulation a été étudiée *in vitro* avec des cellules épithéliales bronchiques humaines normales et malades (fibrose kystique) ainsi que *in vivo* sur des souris possédant la mucoviscidose. L'objectif de cette étude était de montrer que les NLC sont capables d'offrir une protection contre les dégradations prématurées des molécules actives, leur élimination rapide ou toutes autres dégradations auxquelles elles seraient sensibles. Pour cela, la surface des NLC a été chargée avec des PEG afin de diminuer les interactions entre le mucus et la surface du nanovecteur, améliorant l'insertion des NLC au sein de la barrière biologique. Les résultats obtenus pour l'analyse *in vitro* indiquent que les nanocomplexes présentent un meilleur transport ionique par rapport au médicament sous sa forme libre. Ainsi, cette stratégie de délivrance permet d'acquérir une pénétration cellulaire supérieure des molécules actives, ivacaftor et lumacaftor, par rapport à une administration classique. Quant aux résultats de l'étude *in vivo*, ils ont été interprétés à partir d'images des poumons des souris avant et après le traitement. Il en résulte une diminution de la maladie dans les régions concernées par l'utilisation de la stratégie ivacaftor et lumacaftor dans des NLC. Ce système de délivrance serait donc capable de transmettre les deux molécules actives au niveau des poumons, et promet donc d'être actif contre la mucoviscidose (Garbuzenko et al. 2019).

3.4. Nanovecteurs à base de polymères

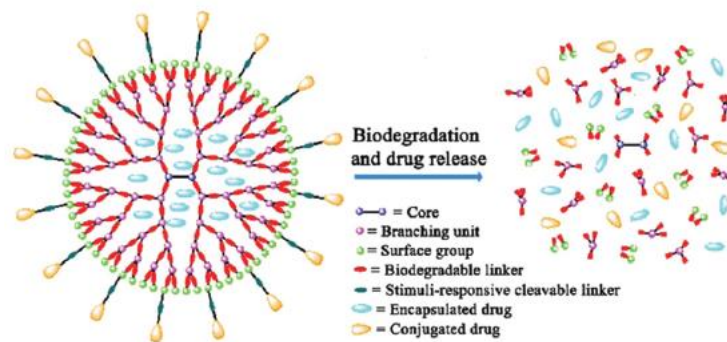
Les nanotransporteurs à base de polymères ont déjà été étudiés dans les années 1990. Récemment, de nombreux chercheurs portent un intérêt particulier à les développer dans le cadre de maladies chroniques pulmonaires. Pour cause, la caractéristique majeure de cette

stratégie, connue également avec les liposomes, est sa faculté à produire une libération prolongée du médicament. Grâce à cela, la compliance des patients se voit considérablement augmentée puisque le nombre d'administration est diminué (Rytting et al. 2008).

3.4.1. Dendrimères

Comme le montre la **figure 15**, les dendrimères sont des macromolécules ramifiées dont l'architecture est monodispersée. Ils possèdent 3 constituants bien distincts : un noyau, des couches internes d'unités répétitives et des groupes terminaux fonctionnels (Mehta et al. 2019). Les principes actifs y seront conjugués (c'est-à-dire attachés aux extrémités du dendrimère) ou encapsulés (compris au centre du dendrimère) (Menezes et al. 2021).

Figure 15 - Schéma de la structure d'un dendrimère (Menezes et al. 2021)



En 1980, la méthode utilisée pour construire les dendrimères est la méthode divergente, qui consiste à partir du noyau pour ajouter petit à petit de nouvelles branches à chaque ramification. Cette technique est limitée par des défauts dans la ramification. A contrario, en 1990, la méthode convergente devient une nouvelle approche de synthèse. Celle-ci commence par les bords et forment des dendrons, qui seront par la suite attachés au noyau du dendrimère. Cependant, cette méthode montre une faible efficacité de réaction suite à un encombrement stérique élevé (Hawker et Fréchet 1990). En raison de cette structure, les dendrimères sont propices à un large panel de modifications chimiques. L'aspect ramifié de leur composition leur donne aussi l'avantage d'avoir un rapport surface/taille élevé, adapté à l'incorporation de molécules actives (Mehta et al. 2019).

Différentes générations de dendrimères ont été développées. Tout d'abord, les dendrimères polyamidoamine (PAMAM) synthétisés en 1985 qui sont actuellement les dendrimères les plus étudiés et utilisés. Les polyétherhydroxylamine, les polypropylénimine et les dendrimères polyéthers possèdent des propriétés physicochimiques, mécaniques et

biologiques particulières. Ainsi, ils font partie intégrante des nanovecteurs utilisés pour l'administration pulmonaire d'agents antibiotiques ou de gènes (Mehta et al. 2019).

De plus, les dendrimères comportent plusieurs avantages par rapport aux autres nanovecteurs. Grâce à la grande capacité de modification au niveau structural, les dendrimères sont capables d'améliorer la fonctionnalité du médicament par l'effet de multivalence (gain d'affinité). Ainsi, l'efficacité d'absorption et la biodisponibilité des médicaments encapsulés sont améliorées suite à une facilité de pénétration des barrières biologiques (Menjoge, Kannan, et Tomalia 2010).

Les dendrimères sont particulièrement étudiés dans le cadre de maladies pulmonaires tels que le cancer du poumon, la BPCO ou l'asthme. Actuellement peu de travaux se consacrent à l'utilisation de dendrimères spécifiquement dans le cadre de la fibrose kystique. En effet, la priorité est donnée au cancer du poumon pour lequel les dendrimères sont utilisés pour transporter des ARN au niveau pulmonaire. Les dendrimères de type PAMAM sont constitués de groupes amines ce qui leur permet de former des complexes avec les acides nucléiques par interaction électrostatique. Dès lors, ils facilitent l'absorption cellulaire tout en protégeant les acides nucléiques des nucléases (Agnoletti et al. 2017; Bardoliwala et al. 2019; Kubczak et al. 2021). Par ailleurs Conti et al. (2014) ont réalisé une étude sur le mode d'administration de ces dendrimères associés à un siARN. Pour cela, ils ont utilisé des préparations à base de mannitol et d'hydrofluoroalcane utilisées dans un MDI en vue d'une administration pulmonaire ciblée sur les cellules de l'épithélium. Il en résulte que cette formulation liée à un MDI permet le dépôt des gènes dans le poumon profond. De plus, l'étude montre que pour la première fois, les dendrimères PAMAM associés à un siARN peuvent cibler les cellules épithéliales pulmonaires et ainsi faire taire les gènes anormaux. Le gène encapsulé n'est donc pas altéré et garde son intégrité et sa bioactivité (Conti et al. 2014).

Comme expliqué précédemment, actuellement les études qui portent sur les dendrimères sont soit ciblées sur le cancer du poumon, soit englobent toutes les pathologies pulmonaires chroniques sans spécification pour la mucoviscidose. Cependant il existe tout de même une étude réalisée en 2017 qui s'intéresse aux dendrimères spécifiquement dans le cadre de la mucoviscidose. Brockman et al (2017) désirent trouver une nouvelle stratégie qui permet d'améliorer la biodisponibilité et l'administration ciblée de cystéamine lors d'une mutation $\Delta F508$ -CFTR. La cystéamine est la forme réduite de la cystamine. Elle a été approuvée par la FDA grâce à ses propriétés antioxydantes, mucolytiques et anti-biofilm. La cystéamine

augmente la fonction pulmonaire et diminue l'inflammation des patients atteints de mucoviscidose. Elle agit en rétablissant l'autophagie, processus altéré par la mucoviscidose et qui a initialement pour but de protéger les cellules des composants du cytosol. Une fois l'autophagie rétablie, la protéine CFTR sous sa forme mature peut rejoindre la membrane plasmique. De plus, suite à ses propriétés antibactériennes et anti-biofilm, la cystéamine peut directement agir sur l'infection PA. Les dendrimères utilisés dans cette étude sont des dendrimères cationiques avec des groupes amines terminaux permettant d'optimiser au maximum les propriétés mucolytiques et antimicrobiennes de la cystéamine chargée sur le dendrimère. Les auteurs de l'étude signalent qu'une formulation orale à base de cystéamine appelée Lynovex® a passé les essais cliniques de phase II chez des patients humains atteints de mucoviscidose. Néanmoins, ils maintiennent également que l'administration pulmonaire par inhalation de la cystéamine propose un ciblage sur l'épithélium amenant une meilleure efficacité thérapeutique tout en diminuant l'inflammation pulmonaire chronique et l'infection par le PA, ainsi qu'en rétablissant le phénomène d'autophagie. En effet, les résultats de l'étude appuient cette hypothèse, puisque le groupe PAMAM-dendrimère montre une diminution significative d'activité bactérienne par rapport au groupe témoin. Le PAMAM-dendrimère serait alors capable d'améliorer la biodisponibilité de la cystéamine. Les chercheurs s'intéressent également au passage obligatoire de la couche de mucus. La stratégie adoptée avec les dendrimères est de conserver l'activité mucolytique de la cystéamine en la greffant aux extrémités du dendrimère. Ainsi, le mucus se voit dissout, ce qui permet une augmentation directe de l'absorption de la molécule active. Il restera tout de même à évaluer si la forme cystéamine-dendrimère montre une activité anti-biofilm semblable à la cystéamine à administration orale déjà connue (Brockman et al. 2017).

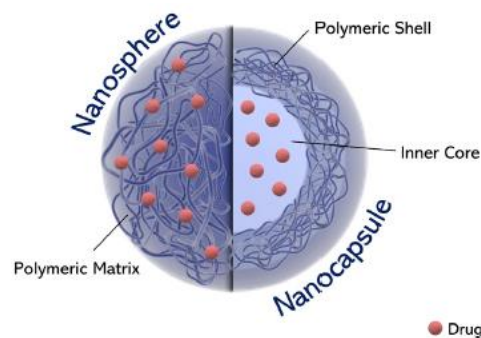
3.4.2. Nanoparticules polymériques

Formés à base de polymères naturels ou synthétiques, les nanoparticules polymériques (**Figure 16**) constituent la dernière nanotechnologie abordée au cours de ce mémoire. Leur utilisation dépend notamment des propriétés morphologiques, de la surface, de la taille et du potentiel zêta qui les caractérisent. Le potentiel zêta correspond à la mesure de la répulsion/attraction électrostatique ou électrique avec les particules environnantes. Tous ces paramètres apportent aux nanoparticules polymériques une grande polyvalence, ajustable en modifiant les longueurs des polymères utilisés, ou en ajoutant des tensioactifs et des solvants

au moment de la synthèse. L'ajout de groupes fonctionnels spécifiques, de fragments de médicaments ou de ligands à la surface de ces nanovecteurs permet également d'adapter leurs propriétés (Cryan 2005; Gagliardi et al. 2021).

Ainsi, ils ont souvent été utilisés pour différentes voies d'administration mais seulement certains systèmes polymériques sont adaptés à l'application locale pulmonaire (Kuzmov et Minko 2015). Les polymères synthétiques tels que l'acide poly-lactique et l'acide poly-lactique-co-glycolique (PLGA) possèdent une bonne biocompatibilité et biodégradabilité. Ces polymères sont responsables de la libération sur le long court ou non du système. En outre, la

Figure 16 - Structure d'une nanoparticule polymérique (Gagliardi et al. 2021)



libération du médicament est dépendante de deux facteurs. Localisé dans la matrice de PLGA, le principe actif utilise le phénomène de diffusion pour sortir du nanovecteur, mais profite également de la dégradation du polymère. Cette biodégradation est elle-même dépendante de la composition du polymère et de son poids moléculaire. Ainsi, les nanoparticules polymériques à base de PLGA sont particulièrement intéressantes dans le cas de maladies chroniques comme la mucoviscidose puisqu'un contrôle d'une libération prolongée est possible. Cela permet de diminuer le nombre d'administration des traitements et par conséquent, d'augmenter la compliance du patient (Anderson et Shive 1997; Rytting et al. 2008).

Différentes études ont déjà été réalisées à propos des nanoparticules polymériques au sein de la mucoviscidose. Dans un premier temps, les chercheurs se sont intéressés à l'encapsulation de molécules antibiotiques afin de combattre l'infection pulmonaire de PA. Voici deux exemples d'études réalisées avec des agents antibactériens encapsulés au sein des nanoparticules polymériques.

En 2017, Günday Türeli utilise de la ciprofloxacine, une fluoroquinone, comme agent antibactérien encapsulé dans des nanovecteurs à base de PLGA via l'administration pulmonaire. Il en ressort que les nanovecteurs polymériques semblent prometteurs pour combattre les infections dues à la fibrose kystique. En effet, les PLGA chargés en

ciprofloxacine montrent une charge médicamenteuse élevée et des propriétés adaptées à la pénétration dans le mucus épais. Les études *in vitro* présentent une libération contrôlée de l'antibactérien à partir des particules dans les 8 heures qui suivent l'administration pulmonaire. De plus, la concentration locale en principe actif étant augmentée grâce aux nanoparticules, cette nanotechnologie promet une diminution des doses ainsi que des effets secondaires. Dans un contexte où l'application locale a été étudiée, les chercheurs ont relevé que les nanoparticules polymériques possèdent un profil sûr et non toxique à l'égard des cellules épithéliales bronchiques saines ou malades, et ce même à des concentrations supérieures aux concentrations de ciprofloxacine utilisées *in vivo* dans les poumons (Günday Türeli et al. 2017).

Afin de confirmer ces résultats, Ernst et son équipe réalise en 2018 une étude similaire mais en utilisant de la tobramycine. Ils ont synthétisé des nanoparticules polymériques à base de PGLA mélangées (ratio 2 :3) à un copolymère de PGLA associé à des PEG (capables de diminuer les interactions entre la surface du nanovecteurs et les charges du mucus dans lequel siègent les bactéries PA). Cette combinaison permet l'encapsulation du principe actif mais également la pénétration du biofilm bactérien présent dans le mucus. L'étude visait à améliorer l'efficacité du traitement et à surmonter les barrières biologiques dans des conditions dynamiques plus physiologiques. Les résultats obtenus se révèlent encourageants. En effet, la libération du médicament s'est réalisée sur 24h. Le profil de libération s'est montré biphasique, les premières heures étant plus rapides. De plus, les nanoparticules, dans des conditions proches des conditions physiologiques des patients malades, permettent une augmentation de l'efficacité par rapport au traitement classique. Les particules n'ont pas complètement détruit le biofilm, mais ont éradiqué les bactéries qui y étaient incrustées. Enfin, il semble que dans les conditions physico-chimiques qu'impose la fibrose kystique, les polymères PGLA associés aux PEG soient plus adaptés en raison de leur diffusion plus homogène dans le biofilm (Ernst et al. 2018).

Comme expliqué au point 3.3.2 de ce mémoire, les recherches sur la thérapie génique sont tournées vers l'utilisation d'ARNm car ils ne doivent pas intégrer le noyau mais visent plutôt le cytosol. Encore une fois, les recherches ne portent pas encore sur l'administration pulmonaire spécifiquement, mais cherchent tout d'abord à savoir si l'encapsulation d'acides nucléiques dans des nanovecteurs est une issue favorable à la mucoviscidose. Cette fois-ci, en 2018, Haque et al préparent des nanoparticules polymériques biodégradables (PLGA) recouvertes de chitosan qui contiennent un ARNm. L'objectif de cette étude est de déterminer

si cette nouvelle formulation permet de restaurer la fonction pulmonaire dans un cas de fibrose kystique. Cette étude a été réalisée sur des souris, présentant une déficience du gène CFTR. Deux modes d'administration sont utilisés : intraveineux et intra-trachéal. Les souris montrent une réduction significative de la sécrétion de chlorure ainsi qu'une restauration de la fonction pulmonaire altérée par la mucoviscidose. En effet, le VEMS est habituellement réduit chez les patients malades. Cependant les souris traitées dans cette étude par les nanoparticules polymériques chargées en ARNm montrent une amélioration du VEMS. Une partie de l'étude s'est également passée in vitro et permet de confirmer les résultats obtenus par d'autres chercheurs. L'utilisation de nanovecteurs pour transporter et protéger les acides nucléiques de type ARNm aboutit à une augmentation de l'expression du gène CFTR, permettant aux cellules étudiées de retrouver une activité protéique CFTR favorable (Haque et al. 2018).

4. Discussion

La mucoviscidose est une maladie génétique complexe pour laquelle de nombreuses recherches sont réalisées chaque jour. Puisqu'elle peut être causée par plusieurs mutations différentes du même gène, les traitements génétiques mis en place dépendent de la mutation responsable de la maladie chez chaque patient respectivement. Ainsi, les nouvelles molécules médicamenteuses tels que les modulateurs CFTR ne sont pas effectives dans tous les cas de mucoviscidose, obligeant les chercheurs à trouver de nouvelles solutions thérapeutiques. En parallèle, les traitements symptomatiques tels que les antibactériens sont encore largement utilisés afin d'améliorer la qualité de vie des patients. Malheureusement, les modes d'administration utilisés ne sont pas encore suffisamment optimisés pour certaines molécules, ce qui contraint le patient à suivre un schéma médicamenteux lourd et complexe. Il est donc primordial de développer une stratégie permettant d'alléger les traitements déjà connus, ainsi qu'une stratégie applicable aux traitements génétiques visant la cause primaire de la maladie chez chaque patient.

L'opportunité de développer des formulations administrables par voie pulmonaire est une révélation dans les études pharmaceutiques ciblées sur la mucoviscidose. En effet ce type d'administration répond à plusieurs demandes spécifiques de la maladie. Plus spécialement, comparé aux traitements administrés per os, elle offre la possibilité de diminuer les doses en principe actifs ce qui conduit à une diminution des effets secondaires, tout en augmentant l'efficacité des molécules actives. Cependant, les prouesses de l'administration pulmonaire ne s'arrêtent pas là, puisqu'elle permet également un ciblage direct des cellules épithéliales endommagées par la fibrose kystique. Bien que possible avec une administration systémique suite à des molécules de ciblage, le ciblage direct dont bénéficie l'application locale de la voie pulmonaire augmente considérablement les chances de réussite des traitements.

Cependant, même après la création de dispositifs compétents pour inhalation (nébuliseur, DPI et MDI), ce type d'administration se révèle plus compliqué chez les patients atteints de mucoviscidose que chez les patients sains. Effectivement, les changements physiologiques induits par la maladie conduisent à des barrières biologiques difficilement franchissables par des molécules médicamenteuses sous forme libre.

L'obstacle le plus compliqué à franchir spécifique de la mucoviscidose est probablement le mucus pulmonaire. Sa composition étant plus riche en mucines et en ADN, il devient épais et visqueux, diminuant l'espace praticable entre les enchevêtrements de mucines pour atteindre

les cellules épithéliales. De plus, la clairance mucociliaire étant diminuée suite à la modification de la composition du mucus, les bactéries s'accumulent dans les voies respiratoires, provoquant l'apparition d'un biofilm bactérien au sein de la couche de mucus.

Les antibiotiques, tels que l'amikacine ou la tobramycine, ont tout intérêt à cibler ce mucus, pour pénétrer à l'intérieur et attaquer directement le biofilm bactérien qui s'y trouve. Malheureusement, pour se faire, les molécules doivent combattre les forces électrostatiques engendrées par les molécules chargées négativement qui composent le mucus. Pour les traitements qui visent à entrer dans la cellule épithéliale, comme les acides nucléiques dans le cas de la thérapie génique, il est important que les molécules soient capables de traverser ce mucus sans être altérées pour in fine rejoindre le cytosol ou le centre nucléaire.

Enfin, pour bénéficier d'une déposition pulmonaire efficace, les molécules doivent correspondre à des paramètres de taille spécifiques pour arriver au sein du poumon profond. Cependant, la taille et le diamètre des particules sont également des conditions déterminant leur élimination via les macrophages développés par le système immunitaire du patient. En résumé, malgré les grands espoirs placés dans l'administration pulmonaire, cette stratégie à elle seule n'est pas suffisante pour combler les besoins engendrés par la fibrose kystique.

Dès lors, l'idée d'utiliser des nanovecteurs dans le cadre de maladies pulmonaires est accueillie à bras ouvert par les chercheurs spécialisés dans la mucoviscidose. Dans le cadre de ce mémoire, quatre classes de nanoparticules organiques ont été décrites et illustrées par des exemples d'études cliniques réalisées pour la fibrose kystique.

Les liposomes sont étudiés depuis plus de 20 ans maintenant, ce qui a permis d'établir un grand panel de connaissances à ce propos. Ils sont particulièrement appréciés pour leur composition naturelle et biodégradable. Dès lors, ils sont facilement acceptés par le corps humain et ne provoquent pas de réaction immunogène. Un des premiers objectifs associés aux liposomes est leur fonction de transporteur pour des molécules antibactériennes. Les études réalisées à ce sujet s'alignent sur les résultats obtenus. Les liposomes, dont la composition est variable en fonction des paramètres voulus par les chercheurs, sont compétents pour le transport des molécules antimicrobiennes tout en possédant une stabilité suffisante pour survivre face aux conditions imposées par la mucoviscidose. De plus, l'utilisation de liposomes cationiques semblait prometteuse car l'association des charges positives du liposome face aux charges négatives du mucus, augmentait les interactions entre la molécule active et sa cible. Cependant, les chercheurs s'accordent pour conclure que cette solution n'étant pas correctement tolérée,

elle nécessite de plus amples études avant d'être définitivement concluante. Une autre raison pour laquelle les liposomes sont particulièrement intéressants est la capacité d'encapsuler plusieurs principes actifs au sein d'un même complexe. Bien que peu d'études n'ont été réalisées à ce sujet, il ne faut pas exclure cette opportunité qui pourrait être particulièrement utile en cas de résistance microbienne aux traitements. Enfin, les liposomes sont aussi étudiés pour le transport de la thérapie génique. Les différentes études qui ont utilisé ce transporteur arrivent à la même conclusion. Les liposomes sont prometteurs mais de plus amples travaux sont nécessaires pour utiliser cette stratégie sans risque. Elle possède néanmoins un meilleur avenir que les vecteurs viraux dont la balance bénéfico-risque était défavorable.

Les SLN sont capables de proposer aux chercheurs une libération contrôlée de la molécule active. De plus, tout comme les liposomes, elles sont composées de molécules naturelles facilement tolérées par le corps humain. Ainsi, elles sont particulièrement prometteuses et montrent une bonne efficacité dans leur rôle de transporteurs de molécules antimicrobiennes. Cependant, cette technologie étant beaucoup plus récente que les liposomes, le nombre d'études réalisées est assez restreint, empêchant par conséquent d'affirmer que cette solution est fiable. Il faudra encore attendre quelques années pour s'assurer de la sécurité de ce type d'approche. C'est également pour cette raison que les études impliquant les SLN comme vecteurs pour des acides nucléiques ou des modulateurs CFTR ne sont pas encore assez nombreuses, ce qui entrave à la bonne interprétation globale des résultats.

Les dendrimères sont des nanoparticules à base de polymères connues depuis plusieurs dizaines d'années mais dont l'utilisation pour la fibrose kystique n'est pas encore établie. Les études réalisées pour le cancer du poumon montrent néanmoins que les polymères PAMAM utilisés dans la majorité des études sur les dendrimères à application pulmonaire sont correctement tolérés et sont biodégradables. Actuellement, seule l'extrapolation des résultats obtenus pour le cancer du poumon peut être réalisée pour obtenir des réponses sur une éventuelle utilisation des dendrimères comme vecteurs de molécules génétiques pour la mucoviscidose. En se fiant à cela, les dendrimères sont prometteurs, et sont capables en théorie de vectoriser des siARN au sein du poumon profond. Pour l'administration de traitement symptomatique, les dendrimères font également leurs premiers pas. Il a fallu attendre 2017 pour obtenir une première étude sur la cystéamine. A première vue, les résultats semblent concluants.

Les nanoparticules polymériques possèdent un avantage non négligeable par rapport aux dendrimères. Elles sont en effet capables de contrôler la libération de leur contenu suite à la dégradation des polymères qui les composent. De cette façon, l'administration des traitements peut se faire à fréquence plus basse puisque les molécules encapsulées au sein des nanoparticules se voient libérées sur un plus grand laps de temps. Ainsi, dans le cadre de la mucoviscidose, les nanoparticules polymériques ont éveillé l'attention des chercheurs plus rapidement que les dendrimères. C'est pourquoi plusieurs études sont disponibles, que ce soit pour les traitements symptomatiques ou les traitements à base génétique. Dès lors, même si différents obstacles ont été rencontrés lors de leurs premières utilisations, des stratégies d'adaptation comme l'utilisation de PEG pour limiter les interactions électrostatiques sont intervenues rapidement. Ainsi, les résultats des dernières études sont concluants et laissent à penser que ces nanoparticules ont leur place dans l'avenir des traitements contre la mucoviscidose.

Pour tous les nanovecteurs, certaines informations importantes sont à prendre en compte avant de poser un avis général sur l'efficacité des nanovecteurs dans l'administration pulmonaire des traitements contre la mucoviscidose. Tout d'abord, il faut savoir que ce concept est encore nouveau et par conséquent, ne bénéficie pas encore d'assez de recul et d'expérience pour valider les résultats obtenus. Il faut garder un esprit critique quant aux études cliniques réalisées. Beaucoup d'informations ne sont obtenues qu'après des études *in vitro*, ce qui n'est pas suffisant pour décréter avec assurance que les nanovecteurs sont fiables. De plus, l'objectif de ce mémoire était également d'envisager que les nanovecteurs aident à l'administration pulmonaire des traitements. Force est de constater que l'avancement des recherches n'est pas encore suffisant que pour trouver systématiquement des études qui prennent en compte conjointement la maladie, le nanovecteur et l'administration pulmonaire.

Ainsi, les nanovecteurs semblent faire partie de l'avenir des traitements contre la mucoviscidose. Il semble également que leur utilisation pour aider à l'administration pulmonaire soit favorable. Néanmoins, il est nécessaire de poursuivre les recherches afin de trouver des formulations applicables aux dispositifs à inhalation actuellement utilisés pour la voie pulmonaire. Même si les nanovecteurs offrent une opportunité exceptionnelle d'améliorer la qualité de vie des patients atteints de mucoviscidose, la route est encore longue avant d'obtenir la commercialisation de médicaments sous forme nanostructurés.

5. Conclusion

La mucoviscidose est une maladie génétique qui touche majoritairement les poumons des patients. De ce fait, l'administration pulmonaire devient un axe de recherche primordial car elle propose de nombreux avantages par rapport à une administration per os classique. Cependant, les barrières biologiques modifiées par la pathologie entravent l'accès des molécules actives administrées par inhalation aux cellules épithéliales bronchiques. Dès lors, la nanotechnologie est envisagée pour pallier les dysfonctionnements de l'administration pulmonaire des médicaments sous forme libre.

Les nanoparticules organiques sont composées de plusieurs classes dont quatre ont été abordées au cours de ce mémoire : les liposomes, les SLN, les dendrimères et les nanoparticules polymériques. Il en résulte que les liposomes et les nanoparticules polymériques sont les mieux étudiés au cours des dernières années. Dès lors, ils semblent prometteurs car plusieurs études ont démontré qu'ils confèrent aux molécules actives une meilleure stabilité que leur forme libre. De plus, les nanoparticules remplissent leur fonction de vecteur, et sont capables d'amener leur chargement à la cible déterminée. Les nanoparticules polymériques ont également l'avantage de fournir une libération contrôlée des molécules actives ce qui constitue un élément important pour la prise en charge future des patients avec ce type de nanovecteur. Les dendrimères et les SLN étant plus récents, il est encore difficile de se positionner sur leur réelle efficacité dans l'administration pulmonaire des traitements contre la mucoviscidose.

Malgré le nombre d'étude déjà réalisées sur le sujet des nanovecteurs, le nombre de référence qui prennent en compte la maladie, l'administration pulmonaire et les nanovecteurs en même temps est très faible. Ainsi, il est encore trop tôt pour affirmer avec certitude que les nanovecteurs sont efficaces et aident réellement l'administration pulmonaire. Il est préférable de conclure que les nanovecteurs semblent être une voie prometteuse dans la prise en charge des patients atteints de fibrose kystique mais qu'il est nécessaire de continuer les recherches à ce sujet. De nombreuses études in vitro et in vivo doivent être réalisées avant de passer aux essais cliniques sur les humains. L'accès à l'autorisation de mise sur le marché de ce type de dispositif n'est donc pas encore envisageable avant plusieurs années. Néanmoins, la perspective d'arriver un jour à soigner la mucoviscidose en développant des médicaments à administration pulmonaire vectorisés par des nanovecteurs est réelle.

6. Approche méthodologique

Afin de réaliser ce mémoire, différents sites de recherches scientifiques ont été utilisés. Dans un premier temps, la consultation du site Pubmed avec les mots clés « nanoparticules », « pulmonary administration » et « cystic fibrosis » m'a permis d'accéder à une série d'articles portant sur les sujets combinés. Par la suite, après avoir pris connaissance d'une dizaine de publications, les sites Pubmed et Sciencedirect m'ont apporté de plus amples informations sur des sujets restreints. Les mots clés utilisés étaient alors ciblés sur des points spécifiques (ex « liposome », « solid lipid nanoparticle », « dry powder inhaler »). J'ai également été attentive aux articles qui ont cité les publications importantes déjà reprises et datant de quelques années. D'autres sites ont également été consultés tels que ClinicalTrials, EMA et Scopus. En revanche, Google Scholar ne m'a pas été utile.

La pertinence de ce mémoire étant dépendante des articles récents qui concernent la mucoviscidose et les nanoparticules simultanément, les recherches de références ont été généralement réalisées à partir des années 2010. Cependant, certains sujets, tel que l'utilisation des traitements symptomatiques, étant plus anciens, certains articles ont été volontairement recherchés avant les années 2000.

7. Bibliographie

- Agnoletti, Monica, Adam Bohr, Kaushik Thanki, Feng Wan, Xianghui Zeng, Johan Peter Boetker, Mingshi Yang, et Camilla Foged. 2017. « Inhalable siRNA-Loaded Nano-Embedded Microparticles Engineered Using Microfluidics and Spray Drying ». *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics: Official Journal of Arbeitsgemeinschaft Fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V* 120: 9-21. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2017.08.001>.
- Alton, Eric W. F. W., David K. Armstrong, Deborah Ashby, Katie J. Bayfield, Diana Bilton, Emily V. Bloomfield, A. Christopher Boyd, et al. 2015. « Repeated Nebulisation of Non-Viral CFTR Gene Therapy in Patients with Cystic Fibrosis: A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled, Phase 2b Trial ». *The Lancet Respiratory Medicine* 3: 684-91. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(15\)00245-3](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(15)00245-3).
- Anderson, James M, et Matthew S Shive. 1997. « Biodegradation and Biocompatibility of PLA and PLGA Microspheres ». *Advanced Drug Delivery Reviews*, 20. [https://doi.org/10.1016/s0169-409x\(97\)00048-3](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(97)00048-3).
- Angelo, Ivana d', Claudia Conte, Maria Immacolata La Rotonda, Agnese Miro, Fabiana Quaglia, et Francesca Ungaro. 2014. « Improving the Efficacy of Inhaled Drugs in Cystic Fibrosis: Challenges and Emerging Drug Delivery Strategies ». *Advanced Drug Delivery Reviews* 75: 92-111. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2014.05.008>.
- Anselmo, Aaron C., et Samir Mitragotri. 2014. « An Overview of Clinical and Commercial Impact of Drug Delivery Systems ». *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society* 190: 15-28. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.03.053>.
- Baldim, Iara, Wanderley P. Oliveira, Varsha Kadian, Rekha Rao, Nitesh Yadav, Sheefali Mahant, Massimo Lucarini, et al. 2020. « Natural Ergot Alkaloids in Ocular Pharmacotherapy: Known Molecules for Novel Nanoparticle-Based Delivery Systems ». *Biomolecules* 10: E980. <https://doi.org/10.3390/biom10070980>.
- Bardoliwala, Denish, Vivek Patel, Ankit Javia, Saikat Ghosh, Akanksha Patel, et Ambikanandan Misra. 2019. « Nanocarriers in Effective Pulmonary Delivery of siRNA: Current Approaches and Challenges ». *Therapeutic Delivery* 10: 311-32. <https://doi.org/10.4155/tde-2019-0012>.
- Beaulac, C., S. Clément-Major, J. Hawari, et J. Lagacé. 1996. « Eradication of Mucoïd Pseudomonas Aeruginosa with Fluid Liposome-Encapsulated Tobramycin in an Animal Model of Chronic Pulmonary Infection ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 40: 665-69. <https://doi.org/10.1128/AAC.40.3.665>.
- Brockman, Scott Mackenzie, Manish Bodas, David Silverberg, Ajit Sharma, et Neeraj Vij. 2017. « Dendrimer-Based Selective Autophagy-Induction Rescues Δ F508-CFTR and Inhibits Pseudomonas Aeruginosa Infection in Cystic Fibrosis ». *PLoS ONE* 12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184793>.
- Conti, Denise S., Daniel Brewer, Jordan Grashik, Sumant Avasarala, et Sandro R. P. da Rocha. 2014. « Poly(amidoamine) Dendrimer Nanocarriers and Their Aerosol Formulations for siRNA Delivery to the Lung Epithelium ». *Molecular Pharmaceutics* 11: 1808-22. <https://doi.org/10.1021/mp4006358>.
- Coste, Grégory. 2019. « Les Techniques d'Aérosolthérapie par Nébulisation ». *Actualités Pharmaceutiques* 58: 49-53. <https://doi.org/10.1016/j.actpha.2018.12.012>.
- Cryan, Sally-Ann. 2005. « Carrier-Based Strategies for Targeting Protein and Peptide Drugs to the Lungs ». *The AAPS Journal* 7: E20-41. <https://doi.org/10.1208/aapsj070104>.

- Drulis-Kawa, Zuzanna, Jerzy Gubernator, Agata Dorotkiewicz-Jach, Włodzimierz Doroszkiewicz, et Arkadiusz Kozubek. 2006. « In Vitro Antimicrobial Activity of Liposomal Meropenem against *Pseudomonas Aeruginosa* Strains ». *International Journal of Pharmaceutics* 315 (1-2): 59-66. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.02.017>.
- EMA, Elena Kostadinova. 2020. « Arikayce Liposomal ». Text. European Medicines Agency. 21 juillet 2020. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/arikayce-liposomal>. Consulté le 25 janvier 2022.
- Ernst, Julia, Mareike Klinger-Strobel, Kathrin Arnold, Jana Thamm, Anita Hartung, Mathias W. Pletz, Oliwia Makarewicz, et Dagmar Fischer. 2018. « Polyester-Based Particles to Overcome the Obstacles of Mucus and Biofilms in the Lung for Tobramycin Application under Static and Dynamic Fluidic Conditions ». *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics: Official Journal of Arbeitsgemeinschaft Fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V* 131: 120-29. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2018.07.025>.
- Gagliardi, Agnese, Elena Giuliano, Eeda Venkateswararao, Massimo Fresta, Stefania Bulotta, Vibhudutta Awasthi, et Donato Cosco. 2021. « Biodegradable Polymeric Nanoparticles for Drug Delivery to Solid Tumors ». *Frontiers in Pharmacology* 12: 601626. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.601626>.
- Garbuzenko, O.B., N. Kbah, A. Kuzmov, N. Pogrebnyak, V. Pozharov, et T. Minko. 2019. « Inhalation treatment of cystic fibrosis with lumacaftor and ivacaftor co-delivered by nanostructured lipid carriers ». *Journal of Controlled Release* 296: 225-31. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.01.025>.
- Gaspar, M. C., W. Couet, J.-C. Olivier, A. A. C. C. Pais, et J. J. S. Sousa. 2013. « *Pseudomonas Aeruginosa* Infection in Cystic Fibrosis Lung Disease and New Perspectives of Treatment: A Review ». *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 32: 1231-52. <https://doi.org/10.1007/s10096-013-1876-y>.
- Gbian, Douweh Leyla, et Abdelwahab Omri. 2021. « Current and Novel Therapeutic Strategies for the Management of Cystic Fibrosis ». *Expert Opinion on Drug Delivery* 18: 535-52. <https://doi.org/10.1080/17425247.2021.1874343>.
- Graham, Carina, et Stephen Hart. 2021. « CRISPR/Cas9 Gene Editing Therapies for Cystic Fibrosis ». *Expert Opinion on Biological Therapy* 21: 767-80. <https://doi.org/10.1080/14712598.2021.1869208>.
- Günday Türeli, Nazende, Afra Torge, Jenny Juntke, Bianca C. Schwarz, Nicole Schneider-Daum, Akif Emre Türeli, Claus-Michael Lehr, et Marc Schneider. 2017. « Ciprofloxacin-Loaded PLGA Nanoparticles against Cystic Fibrosis *P. Aeruginosa* Lung Infections ». *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 117: 363-71. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2017.04.032>.
- Halwani, M., B. Yebio, Z. E. Suntres, M. Alipour, A. O. Azghani, et A. Omri. 2008. « Co-Encapsulation of Gallium with Gentamicin in Liposomes Enhances Antimicrobial Activity of Gentamicin Against *Pseudomonas Aeruginosa* ». *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 62: 1291-97. <https://doi.org/10.1093/jac/dkn422>.
- Haque, A. K. M. Ashiqul, Alexander Dewerth, Justin S. Antony, Joachim Riethmüller, Georg R. Schweizer, Petra Weinmann, Ngadhnjim Latifi, et al. 2018. « Chemically Modified HCFTR MRNAs Recupérate Lung Function in a Mouse Model of Cystic Fibrosis ». *Scientific Reports* 8: 16776. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34960-0>.

- Hawker, C., et J.M.J. Fréchet. 1990. « A New Convergent Approach to Monodisperse Dendritic Macromolecules ». *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1010-13. <https://doi.org/10.1039/C39900001010>.
- Høiby, Niels, Oana Ciofu, et Thomas Bjarnsholt. 2010. « Pseudomonas Aeruginosa Biofilms in Cystic Fibrosis ». *Future Microbiology* 5: 1663-74. <https://doi.org/10.2217/fmb.10.125>.
- Ibrahim, Mariam, Rahul Verma, et Lucila Garcia-Contreras. 2015. « Inhalation drug delivery devices: technology update ». *Medical Devices (Auckland, N.Z.)* 8: 131-39. <https://doi.org/10.2147/MDER.S48888>.
- Imperial College London. 2020. « Evaluation of Safety and Gene Expression With a Single Dose of pGM169/GL67A Administered to the Nose and Lung of Individuals With Cystic Fibrosis ». Clinical trial registration study/NCT00789867. clinicaltrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT00789867>. Consulté le 23 janvier 2022.
- Insmed Incorporated. 2020. « Randomized, Open-Label, Active-Controlled, Multicenter Study to Assess the Efficacy, Safety and Tolerability of Arikayce™ in Cystic Fibrosis Patients With Chronic Infection Due to Pseudomonas Aeruginosa ». Clinical trial registration NCT01315678. clinicaltrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01315678>. Consulté le 04 janvier 2022.
- Khan, Iftikhar, Abdelbary Elhissi, Mahmood Shah, Mohamed Albed Alhnan, et Waqar Ahmed. 2013. « Liposome-Based Carrier Systems and Devices Used for Pulmonary Drug Delivery ». In *Biomaterials and Medical Tribology*, 395-443. Elsevier. <https://doi.org/10.1533/9780857092205.395>.
- Kubczak, Małgorzata, Sylwia Michlewska, Maria Bryszewska, Achim Aigner, et Maksim Ionov. 2021. « Nanoparticles for Local Delivery of SiRNA in Lung Therapy ». *Advanced Drug Delivery Reviews* 179: 114038. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.114038>.
- Kuzmov, Andriy, et Tamara Minko. 2015. « Nanotechnology Approaches for Inhalation Treatment of Lung Diseases ». *Journal of Controlled Release, Drug Delivery Research in North America – Part I*, 219: 500-518. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.07.024>.
- Labiris, N R, et M B Dolovich. 2003. « Pulmonary Drug Delivery. Part I: Physiological Factors Affecting Therapeutic Effectiveness of Aerosolized Medications ». *British Journal of Clinical Pharmacology* 56: 588-99. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2125.2003.01892.x>.
- Lai, Samuel K., Ying-Ying Wang, Denis Wirtz, et Justin Hanes. 2009. « Micro- and Macrorheology of Mucus ». *Advanced Drug Delivery Reviews* 61: 86-100. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2008.09.012>.
- Lam, Jenny Ka-Wing, Wanling Liang, et Hak-Kim Chan. 2012. « Pulmonary Delivery of Therapeutic SiRNA ». *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2012 Editors' Collection, 64: 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2011.02.006>.
- Lopes-Pacheco, Miquéias. 2016. « CFTR Modulators: Shedding Light on Precision Medicine for Cystic Fibrosis ». *Frontiers in Pharmacology* 7: 275. <https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00275>.
- Majumder, Joydeb, Oleh Taratula, et Tamara Minko. 2019. « Nanocarrier-Based Systems for Targeted and Site Specific Therapeutic Delivery ». *Advanced Drug Delivery Reviews, NanoDDS 2018: Engineering the next wave of nanomedicine and drug delivery systems*, 144: 57-77. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2019.07.010>.

- Manunta, Maria D. I., Aristides D. Tagalakis, Martin Attwood, Ahmad M. Aldossary, Josephine L. Barnes, Mustafa M. Munye, Alexander Weng, Robin J. McAnulty, et Stephen L. Hart. 2017. « Delivery of ENaC siRNA to Epithelial Cells Mediated by a Targeted Nanocomplex: A Therapeutic Strategy for Cystic Fibrosis ». *Scientific Reports* 7: 700. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-00662-2>.
- Mehta, Piyush, Shivajirao Kadam, Atmaram Pawar, et C. Bothiraja. 2019. « Dendrimers for Pulmonary Delivery: Current Perspectives and Future Challenges ». *New Journal of Chemistry* 43: 8396-8409. <https://doi.org/10.1039/C9NJ01591D>.
- Menezes, Beatriz Rossi Canuto de, Karla Faquine Rodrigues, Vanessa Modelski Schatkoski, Raíssa Monteiro Pereira, Renata Guimarães Ribas, Thaís Larissa do Amaral Montanheiro, et Gilmar Patrocínio Thim. 2021. « Current Advances in Drug Delivery of Nanoparticles for Respiratory Disease Treatment ». *Journal of Materials Chemistry B* 9: 1745-61. <https://doi.org/10.1039/D0TB01783C>.
- Menjoge, Anupa R., Rangaramanujam M. Kannan, et Donald A. Tomalia. 2010. « Dendrimer-Based Drug and Imaging Conjugates: Design Considerations for Nanomedical Applications ». *Drug Discovery Today* 15: 171-85. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2010.01.009>.
- Messiaen, Anne-Sophie, Katrien Forier, Hans Nelis, Kevin Braeckmans, et Tom Coenye. 2013. « Transport of Nanoparticles and Tobramycin-Loaded Liposomes in Burkholderia Cepacia Complex Biofilms ». *PloS One* 8: e79220. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079220>.
- Moreau-Marquis, Sophie, Bruce A. Stanton, et George A. O'Toole. 2008. « Pseudomonas Aeruginosa Biofilm Formation in the Cystic Fibrosis Airway ». *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics*, Special Section: Cystic Fibrosis Symposia, 21: 595-99. <https://doi.org/10.1016/j.pupt.2007.12.001>.
- Mueller, Rainer H, Karsten Maeder, et Sven Gohla. 2000. « Solid Lipid Nanoparticles (SLN) for Controlled Drug Delivery ± a Review of the State of the Art ». *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 17. [https://doi.org/10.1016/s0939-6411\(00\)00087-4](https://doi.org/10.1016/s0939-6411(00)00087-4).
- Mugabe, Clement, Ali O. Azghani, et Abdelwahab Omri. 2005. « Liposome-Mediated Gentamicin Delivery: Development and Activity against Resistant Strains of Pseudomonas Aeruginosa Isolated from Cystic Fibrosis Patients ». *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 55: 269-71. <https://doi.org/10.1093/jac/dkh518>.
- Newman, Stephen P. 2017. « Drug Delivery to the Lungs: Challenges and Opportunities ». *Therapeutic Delivery* 8: 647-61. <https://doi.org/10.4155/tde-2017-0037>.
- Nicod, L. P. 2005. « Lung Defences: An Overview ». *European Respiratory Review* 14: 45-50. <https://doi.org/10.1183/09059180.05.00009501>.
- Omri, A., C. Beaulac, M. Bouhajib, S. Montplaisir, M. Sharkawi, et J. Lagacé. 1994. « Pulmonary Retention of Free and Liposome-Encapsulated Tobramycin after Intratracheal Administration in Uninfected Rats and Rats Infected with Pseudomonas Aeruginosa ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 38: 1090-95. <https://doi.org/10.1128/AAC.38.5.1090>.
- Ong, Victor, Vincent Mei, Lin Cao, Kiana Lee, et Eun Ji Chung. 2019. « Nanomedicine for Cystic Fibrosis ». *SLAS TECHNOLOGY: Translating Life Sciences Innovation* 24: 169-80. <https://doi.org/10.1177/2472630318824334>.
- Pathak, Yashwant, et Nazrul Islam. 2021. *Handbook of Lung Targeted Drug Delivery Systems: Recent Trends and Clinical Evidences*. CRC Press.

- Pilcer, Gabrielle, et Karim Amighi. 2010. « Formulation Strategy and Use of Excipients in Pulmonary Drug Delivery ». *International Journal of Pharmaceutics* 392: 1-19. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.03.017>.
- Ponzano, Stefano, Giulia Nigrelli, Laura Fregonese, Irmgard Eichler, Fabio Bertozzi, Tiziano Bandiera, Luis J. V. Galiotta, et Marisa Papaluca. 2018. « A European Regulatory Perspective on Cystic Fibrosis: Current Treatments, Trends in Drug Development and Translational Challenges for CFTR Modulators ». *European Respiratory Review* 27. <https://doi.org/10.1183/16000617.0124-2017>.
- Robinson, Ema, Kelvin D. MacDonald, Kai Slaughter, Madison McKinney, Siddharth Patel, Conroy Sun, et Gaurav Sahay. 2018. « Lipid Nanoparticle-Delivered Chemically Modified mRNA Restores Chloride Secretion in Cystic Fibrosis ». *Molecular Therapy* 26: 2034-46. <https://doi.org/10.1016/j.yymthe.2018.05.014>.
- Ruge, Christian A, Julian Kirch, et Claus-Michael Lehr. 2013. « Pulmonary Drug Delivery: From Generating Aerosols to Overcoming Biological Barriers—Therapeutic Possibilities and Technological Challenges ». *The Lancet Respiratory Medicine* 1: 402-13. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(13\)70072-9](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(13)70072-9).
- Rytting, Erik, Juliane Nguyen, Xiaoying Wang, et Thomas Kissel. 2008. « Biodegradable Polymeric Nanocarriers for Pulmonary Drug Delivery ». *Expert Opinion on Drug Delivery* 5: 629-39. <https://doi.org/10.1517/17425247.5.6.629>.
- Sanders, Niek, Carsten Rudolph, Kevin Braeckmans, Stefaan C. De Smedt, et Joseph Demeester. 2009. « Extracellular Barriers in Respiratory Gene Therapy ». *Advanced Drug Delivery Reviews* 61: 115-27. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2008.09.011>.
- Savla, Ronak, et Tamara Minko. 2013. « Nanotechnology Approaches for Inhalation Treatment of Fibrosis ». *Journal of Drug Targeting* 21: 914-25. <https://doi.org/10.3109/1061186X.2013.829078>.
- Sciensano. 2022. « Registre belge de la mucoviscidose ». Text. [sciensano.be](https://www.sciensano.be). 2022. <https://www.sciensano.be/fr/projets/registre-belge-de-la-mucoviscidose>. Consulté le 25 janvier 2022.
- Sharma, A. 1997. « Liposomes in Drug Delivery: Progress and Limitations ». *International Journal of Pharmaceutics* 154: 123-40. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(97\)00135-X](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(97)00135-X).
- Silva, Adriana Lopes da, Fernanda Ferreira Cruz, Patricia Rieken Macedo Rocco, et Marcelo Marcos Morales. 2017. « New Perspectives in Nanotherapeutics for Chronic Respiratory Diseases ». *Biophysical Reviews* 9: 793-803. <https://doi.org/10.1007/s12551-017-0319-x>.
- Tagalakis, Aristides D., Mustafa M. Munye, Rositsa Ivanova, Hanpeng Chen, Claire M. Smith, Ahmad M. Aldossary, Luca Z. Rosa, et al. 2018. « Effective Silencing of ENaC by siRNA Delivered with Epithelial-Targeted Nanocomplexes in Human Cystic Fibrosis Cells and in Mouse Lung ». *Thorax* 73: 847-56. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2017-210670>.
- Turcios, Nelson L. 2020. « Cystic Fibrosis Lung Disease: An Overview ». *Respiratory Care* 65: 233-51. <https://doi.org/10.4187/respcare.06697>.
- Varshosaz, J., S. Ghaffari, S. F. Mirshojaei, A. Jafarian, F. Atyabi, F. Kobarfard, et S. Azarmi. 2013. « Biodistribution of Amikacin Solid Lipid Nanoparticles after Pulmonary Delivery ». *BioMed Research International* 2013: 136859. <https://doi.org/10.1155/2013/136859>.
- Varshosaz, Jaleh, Solmaz Ghaffari, Mohammad Reza Khoshayand, Fatemeh Atyabi, Shirzad Azarmi, et Farzad Kobarfard. 2010. « Development and Optimization of Solid Lipid

- Nanoparticles of Amikacin by Central Composite Design ». *Journal of Liposome Research* 20: 97-104. <https://doi.org/10.3109/08982100903103904>.
- Velino, Cecilia, Francesca Carella, Alessio Adamiano, Maurizio Sanguinetti, Alberto Vitali, Daniele Catalucci, Francesca Bugli, et Michele Iafisco. 2019. « Nanomedicine Approaches for the Pulmonary Treatment of Cystic Fibrosis ». *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* 7: 406. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00406>.
- Weber, S., A. Zimmer, et J. Pardeike. 2014. « Solid Lipid Nanoparticles (SLN) and Nanostructured Lipid Carriers (NLC) for Pulmonary Application: A Review of the State of the Art ». *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 86: 7-22. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2013.08.013>.
- Wright, Adam K. A., Satish Rao, Simon Range, Christiane Eder, Thomas P. J. Hofer, Marion Frankenberger, Lester Kobzik, Chris Brightling, Jonathan Grigg, et Loems Ziegler–Heitbrock. 2009. « Pivotal Advance: Expansion of Small Sputum Macrophages in CF: Failure to Express MARCO and Mannose Receptors ». *Journal of Leukocyte Biology* 86: 479-89. <https://doi.org/10.1189/jlb.1108699>.
- Yhee, Ji Y., Jintaek Im, et Richard S. Nho. 2016. « Advanced Therapeutic Strategies for Chronic Lung Disease Using Nanoparticle-Based Drug Delivery ». *Journal of Clinical Medicine* 5. <https://doi.org/10.3390/jcm5090082>.
- Zabner, Joseph, Larry A. Couture, Richard J. Gregory, Scott M. Graham, Alan E. Smith, et Michael J. Welsh. 1993. « Adenovirus-Mediated Gene Transfer Transiently Corrects the Chloride Transport Defect in Nasal Epithelia of Patients with Cystic Fibrosis ». *Cell* 75: 207-16. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)80063-K](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)80063-K).
- Zhang, L., D. Pornpattananangku, C.-M. J. Hu, et C.-M. Huang. 2010. « Development of Nanoparticles for Antimicrobial Drug Delivery ». *Current Medicinal Chemistry* 17: 585-94. <https://doi.org/10.2174/092986710790416290>.

Depuis la découverte du gène CFTR codant pour la mucoviscidose, les recherches sur cette maladie, également appelée fibrose kystique, sont en pleine recrudescence. Alors que cette pathologie génétique est actuellement incurable, plusieurs pistes de traitements sont intéressantes, mais aucune d'entre elles n'est réellement efficace sans une technologie d'administration adaptée. Dès lors, en raison des nombreux avantages qu'elle confère, l'administration pulmonaire devient petit à petit la voie d'administration la plus prometteuse pour les patients atteints de fibrose kystique. Cette nouvelle stratégie impose néanmoins des règles strictes aux molécules actives nécessitant dès lors l'aide d'un transporteur.

Simultanément, la technologie des nanovecteurs prend de plus en plus d'ampleur au sein des recherches médicales. Ainsi, la catégorie des nanoparticules organiques, et plus particulièrement les liposomes, les nanoparticules solides lipidiques, les dendrimères et les nanoparticules polymériques, est actuellement étudiée pour la vectorisation de principes actifs en cas d'administration pulmonaire.

Au cours de ce mémoire, après avoir expliqué quels sont les enjeux liés à la pathologie mais également au style d'administration pulmonaire, différents exemples d'études portées sur les nanovecteurs dans le contexte de la fibrose kystique sont décrits. De cette façon, ce mémoire permettra de déterminer si compte tenu de l'état de l'art et malgré le nombre restreint d'études sur ce sujet, les nanoparticules sont capables de remplir le rôle de transporteur et quel pourrait être l'avenir de cette nouvelle approche pour le traitement de la mucoviscidose.

Since the discovery of the CFTR gene coding for cystic fibrosis, research into this disease, also known as cystic fibrosis, has been on the rise. While there is currently no cure for this genetic disorder, there are several interesting treatment options, none of which are truly effective without the appropriate delivery technology. Therefore, due to its many advantages, pulmonary delivery is gradually becoming the most promising delivery route for cystic fibrosis patients. However, this new strategy imposes strict rules on the active molecules that require the help of a carrier.

At the same time, nanovector technology is gaining momentum in medical research. Thus, the category of organic nanoparticles, and more specifically liposomes, solid lipid nanoparticles, dendrimers and polymeric nanoparticles, is currently being studied for the delivery of active ingredients for pulmonary administration.

In this thesis, after having explained the issues related to the pathology but also to the style of pulmonary administration, different examples of studies on nanovectors in the context of cystic fibrosis are described. In this way, this thesis will determine whether, given the state of the art and despite the limited number of studies on this subject, nanoparticles are capable of fulfilling the role of transporter and what the future of this new approach for the treatment of cystic fibrosis might be.