



Transversale Santé de Paris Technopole

Synthèse de la Transversales Santé du 17 octobre 2006

La thérapeutique à l'heure des nouveaux matériaux

Intervenants : Laurent Feldman, Didier Letourneur, Benoit Dubertret, Laurent Levy

Grand Témoin : Clair Corot

Plus résistants, plus souples, plus biocompatibles, plus multifonctionnels... les « nouveaux matériaux », nés de l'alliance de la chimie, de la physique, de l'ingénierie et des biotechnologies laissent entrevoir de belles promesses, notamment en raison de leurs potentialités médicales. Leur miniaturisation, grâce aux nanotechnologies, ouvre encore le champ de leurs applications. Axé sur deux domaines thérapeutiques, le cardiovasculaire et le cancer, cette transversale a tenté d'illustrer quelques lignes de force d'un secteur scientifique et industriel en pleine expansion.

→ Les biomatériaux et la médecine

En médecine, l'ingénierie biologique a une carte maîtresse à jouer par sa capacité à conjuguer des savoir-faire issus de la chimie, de la biologie, de la clinique et de la science des matériaux. Le traitement des pathologies du cœur et des vaisseaux sanguins en est l'une des applications d'avenir.

1) Prévention des resténoses et de la rupture des plaques d'athérosclérose

L'athérosclérose et ses complications cardiaques et cérébrales constituent la principale cause de mortalité dans le monde, avec 10 millions de décès par an (plus de 20 % de la mortalité), rappelle **Laurent Feldman**, professeur de cardiologie à l'hôpital Bichat et membre de l'unité Inserm 698 « Hématologie, bioingénierie et remodelages cardiovasculaires ». Ce sera encore vrai dans les trente prochaines années.

Il existe deux cas de figure où la bioingénierie cardiovasculaire peut intervenir :

- La plaque d'athérosclérose, en réduisant la lumière d'une artère coronaire, entraîne une réduction du flux sanguin dans un territoire cardiaque, qui se traduit par l'angine de poitrine. Il faut alors revasculariser le vaisseau à l'aide de stents ou d'un pontage mais cette opération implique de prévenir les récurrences, appelées « resténoses ».
- Le deuxième cas de figure, plus pernicieux et difficile à appréhender, consiste à prévenir les catastrophes liées aux plaques non sténosantes mais vulnérables : l'athérosclérose n'est pas suffisante pour entraîner un obstacle hémodynamique jusqu'au jour où survient un infarctus du myocarde voire une mort subite : la plaque vulnérable se rompt et provoque la formation d'un caillot ou thrombus qui bouche subitement une artère. C'est un problème majeur de santé publique, impossible à prévenir actuellement car on ne sait pas identifier clairement ce type de plaque à risque.

* Revascularisation et prévention des resténoses

Il s'agit d'implanter des prothèses métalliques, les stents, dans l'artère coronaire affectée. Cela marche bien pour le court et moyen terme. Dans environ 20 % des cas, peut cependant survenir une récurrence de la sténose à l'intérieur même de la prothèse en raison de la prolifération de l'intima de la paroi artérielle. On a beaucoup avancé dans la prévention de ces resténoses, en particulier par la mise au point de stents métalliques « bioactifs » ou « actifs » utilisés en pratique quotidienne depuis deux à trois ans. Ces stents sont le fruit d'une recherche biomédicale qui a duré une quinzaine d'années, avec la contribution d'ingénieurs, qui ont développé les prothèses, de chimistes, qui ont créé des polymères biocompatibles, et de biologistes qui ont testé chez des modèles animaux des substances que l'on pouvait diluer dans ces polymères. Ces prothèses recouvertes d'un film polymérique sont capables de libérer localement des médicaments qui inhibent la prolifération de l'intima artérielle et ainsi les récurrences. Aujourd'hui, les revêtements peuvent être plus complexes, par exemple formés de réservoirs de polymères permettant de libérer des substances différentes.

De même, la thérapie génique artérielle, encore à l'état de recherche, vise à utiliser des stents actifs capables de libérer des petites molécules d'ADN ou d'ARN à des fins anti-thrombotiques, anti-inflammatoires ou pour inhiber la migration des cellules

musculaires lisses. Dans l'unité 698, la technique fait appel à des diverses expertises. Ainsi les chimistes de l'équipe de Didier Letourneur créent des polymères, en l'occurrence des polycations, qui permettent de complexer de façon efficace l'ADN et l'ARN, chargés négativement. Ce système est en train d'être testé chez l'animal. L'équipe de Bichat teste en particulier de petites molécules d'ARN, les siRNA (ARNi ou ARN interférents), qui permettent de bloquer l'expression de gènes impliqués dans la resténose ou dans la déstabilisation de la plaque d'athérosclérose.



Stent actif Endeavor™

© Medtronic

* L'identification des plaques vulnérables

L'angiographie, technique la plus utilisée pour visualiser l'athérosclérose, met en évidence la lumière artérielle et non la paroi artérielle qui est modifiée lors de la maladie. Elle ne permet donc pas de prévenir les accidents vasculaires dus à une plaque vulnérable. Les recherches actuelles visent à mettre au point une technique d'imagerie efficace pour « voir » la plaque. L'échographie peut donner des informations sur l'anatomie de la plaque : épaisseur de la paroi, existence d'un cœur lipidique et d'une chape fibreuse. Pour étudier la biologie de la plaque, on teste chez l'animal des techniques d'imagerie moléculaire (Pet-scan, IRM, scanner) qui pourraient mettre en évidence des marqueurs d'apoptose, d'inflammation ou d'activité anormale au sein de la plaque d'athérome.

Les agents de contraste de nouvelle génération pour l'imagerie moléculaire sont donc primordiaux. Ils sont constitués d'un ligand capable de détecter le marqueur, d'un transporteur (nanoparticules, polycations, etc.) et d'un émetteur de signal. Leur mise au point nécessite des partenariats entre laboratoires publics, recherche clinique et recherche industrielle, les médecins ayant un rôle majeur à jouer en assurant la liaison entre les partenaires pour répondre aux besoins réels des malades.

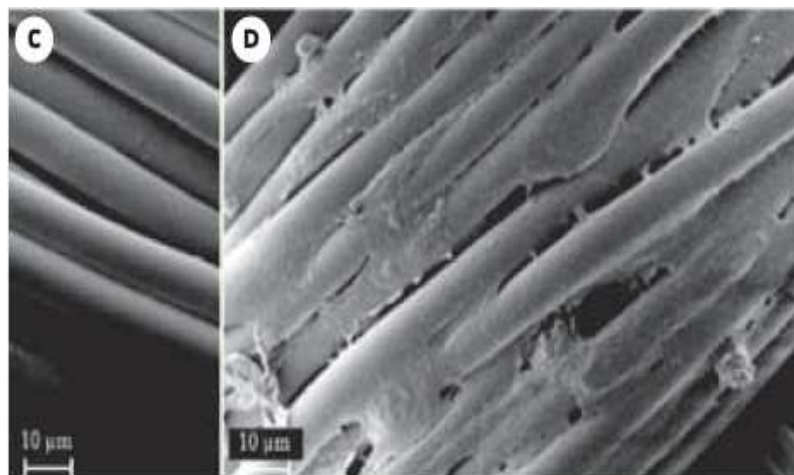
La stratégie de dépistage des plaques vulnérables devra être à la fois locale, en visant à détecter les plaques dont la rupture causerait le plus de dégâts, et globale,

car la maladie athéromateuse est diffuse et touche non seulement les coronaires mais aussi les carotides les artères rénales, etc.

2) Des polymères biocompatibles pour la revascularisation

Didier Letourneur, ingénieur en matériaux et chimiste, est directeur de recherche au CNRS. Il dirige le laboratoire Bio-ingénierie de Polymères Cardiovasculaires (LBPC), rattaché à l'Université Paris 13 (Institut Galilée, Villetaneuse) et l'une des composantes de l'unité Inserm 698 « Hématologie, bioingénierie et remodelages cardiovasculaires » à l'hôpital Bichat. Il explique les approches visant à mettre au point des vaisseaux sanguins à base de polymères.

Il existe depuis longtemps des prothèses constituées de fibres textiles en Dacron, recouvertes de protéines bovines pour les rendre étanches et qui servent à réaliser des pontages pour revasculariser une zone cardiaque. Le problème majeur de ces prothèses synthétiques est leur diamètre : celui-ci doit être supérieur à 6 millimètres pour éviter les risques de thrombose et elles ne sont donc pas adaptées au remplacement de petits vaisseaux. Une solution est de concevoir des prothèses par ingénierie tissulaire à partir des cellules du patient. L'unité Inserm 698 utilise des polymères biocompatibles à propriétés thérapeutiques. Leur composition chimique peut être modifiée pour favoriser le développement d'un type cellulaire donné, pour éviter le développement de biofilms bactériens ou l'adhérence de cellules musculaires lisses.



Microscopie électronique à balayage avant (C) et après (D) recouvrement d'une prothèse en Dacron® par des polymères et croissance *in vitro* de cellules endothéliales humaines

© Inserm 698

L'équipe travaille d'abord sur des polymères polysaccharidiques biodégradables auxquels elle donne des formes de disques ou de tubes de différents diamètres. Outre la fabrication de prothèses vasculaires implantables, les applications actuelles de ces matériaux sont la culture cellulaire en 3D et le transport des cellules et des organes, pour lesquelles l'unité Inserm 698 a déposé plusieurs brevets.

Seconde étape, on colonise la surface du matériau avec des cellules, par exemple des cellules souches embryonnaires, capables de se différencier en différents types cellulaires. En augmentant la porosité du polymère, on peut faire en sorte que les cellules colonisent l'intérieur du matériau.

Ces tubes de polymères ont été testés *ex vivo* et chez le rat pour optimiser leurs propriétés mécaniques. Ainsi des tubes de 2 mm de diamètre se sont révélés aptes à constituer un pontage durant plusieurs mois chez l'animal. Lorsqu'on explante une telle prothèse, on constate qu'un nouveau vaisseau s'est développé à l'intérieur. Les

résultats actuels démontrent donc la faisabilité technique de prothèses biocompatibles destinées au système cardiovasculaire. Dans ce type de recherches, les médecins interviennent dès la conception des projets et à toutes les étapes de leur développement et de leur évaluation.

En réponse à une question portant sur la biodégradabilité du polymère, **Laurent Feldman** précise que la biodégradabilité peut être étudiée *in vitro* et adaptée à l'objectif poursuivi, mais qu'il est difficile de la mesurer *in vivo*. On ne connaît pas par ailleurs les effets de la toxicité éventuelle des produits de dégradation des polymères.

Claire Corot, directrice de la recherche de la société Guerbet, à Aulnay-sous-Bois, souligne que la bioingénierie cardiovasculaire recouvre deux domaines : le domaine des « *devices* », des dispositifs médicaux (DM), et le domaine du médicament avec les agents de contraste pour l'imagerie. La validation réglementaire de ces produits est très différente : dans le cas des DM, on est dans une logique de marquage CE, alors que le médicament nécessite une AMM (autorisation de mise sur le marché), plus complexe et longue puisque l'on doit aller jusqu'à la preuve d'efficacité et de l'intérêt médical. Le « stent médicament » reste dans une définition du *device*, ce qui montre que les chercheurs disposent d'une certaine marge de manœuvre pour élaborer leurs produits.

➔ Des nanomatériaux à la thérapie anticancer

1) Les nanoparticules : un nouvel outil à l'interface entre la physico-chimie et la biologie

Les nanomatériaux, en « mettant en forme » les avancées les plus récentes de la physique, de la chimie et de la biologie, offrent aujourd'hui des moyens inédits d'analyse du vivant, de caractérisation des molécules, d'imagerie intracellulaire, de « délivrance » de principes actifs ou de mise au point de médicaments. Avec des incertitudes toutefois quant à la maîtrise de leur devenir et de leurs conséquences au sein des organismes.

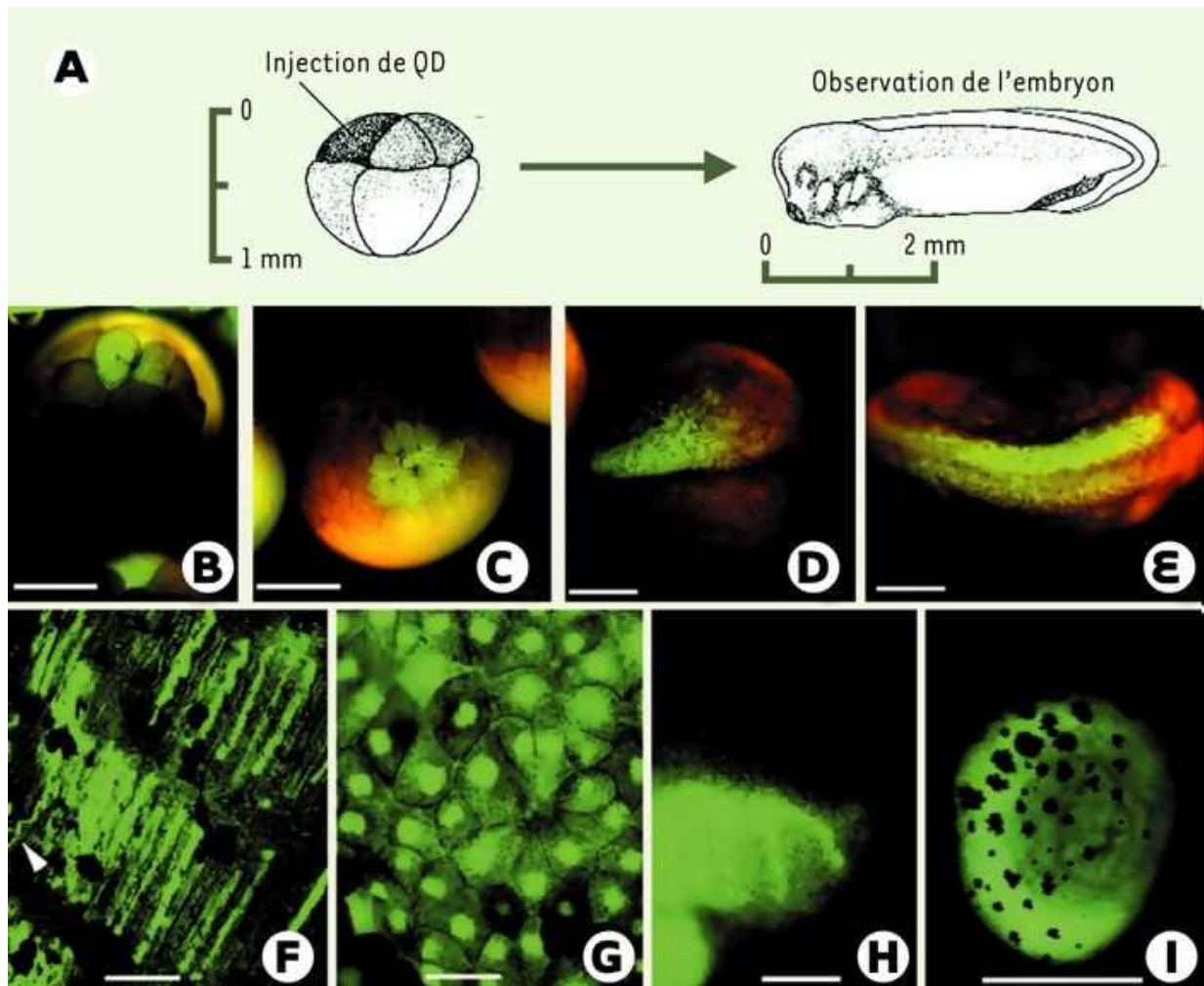
Benoit Dubertret, chercheur dans le laboratoire d'Optique physique (CNRS) au sein de l'Ecole supérieure de physique et de chimie industrielles (ESPCI) travaille sur les « boîtes quantiques » (*quantum dots*), nanocristaux de semi-conducteurs dont le diamètre varie entre 2 et 8 nanomètres. Ces nanoparticules ont été synthétisées pour la première fois en 1993 par le groupe de Mounji Bawendi, au MIT (Boston). A l'époque, on a prédit une révolution de l'imagerie médicale, annonce non encore confirmée par les faits.

Les *quantum dots* ont en effet deux propriétés intéressantes du point de vue biomédical : une excellente résistance au « photoblanchiment » (la perte d'émission de fluorescence après une certaine durée d'excitation) : on peut visualiser en fluorescence une unique nanoparticule pendant plusieurs heures alors que les fluorophores organiques sont rapidement dégradés et émettent de moins en moins de fluorescence ; leur longueur d'onde est de plus directement reliée à leur taille et leur composition : en changeant la taille ou la composition du nanomatériau on peut balayer tout le spectre d'émission dans le visible et le proche-infrarouge (de 400 à plus de 1 500 nanomètres).

Le groupe de Benoit Dubertret à l'ESPCI s'intéresse à la synthèse de ces nanomatériaux, à leur solubilisation et à leur chimie de surface afin de les rendre biocompatibles.

Ces nanoparticules de semi-conducteurs possèdent deux parties : le cœur, responsable de leurs propriétés optiques, et les ligands de surface. En 1996, Philippe Guyot-Sionnest, à l'université de Chicago, a eu l'idée d'envelopper des particules de CdSe (cadmium sélénium) dans une autre semi-conducteur, ce qui a permis d'obtenir des rendements quantiques supérieurs. Cependant, il a fallu attendre les années 2000 pour rendre ces nanomatériaux biocompatibles. Ils sont en effet recouverts, après leur synthèse, de ligands hydrophobes alors qu'ils doivent être solubles dans l'eau pour être biocompatibles. Une première stratégie consiste à échanger les ligands de surface avec des ligands ayant une partie hydrophile. L'équipe de Benoit Dubertret a quant à elle proposé une méthode désormais licenciée à l'une des entreprises qui commercialise les nanocristaux : on conserve les ligands hydrophobes en surface et l'on encapsule les nanocristaux dans des micelles constituées de polymères amphiphiles, des phospholipides pegylés (porteurs de groupements PEG ou polyéthylène glycol), le tout dans du chloroforme. Après évaporation, on obtient des micelles possédant chacune un unique nanocristal (*dot*) en son centre. En collaboration avec des chimistes, on peut coupler des groupements chimiques à ces nanoparticules et également les utiliser pour de l'imagerie *in vivo*.

Ainsi, en injectant de telles nanoparticules dans un embryon de xénope de 8 cellules, le groupe a pu suivre en fluorescence le développement embryonnaire jusqu'au stade du têtard. Les chercheurs travaillent en outre sur des billes de nanocristaux munies d'un « code barre » optique pour des détections multiplexées de molécules.



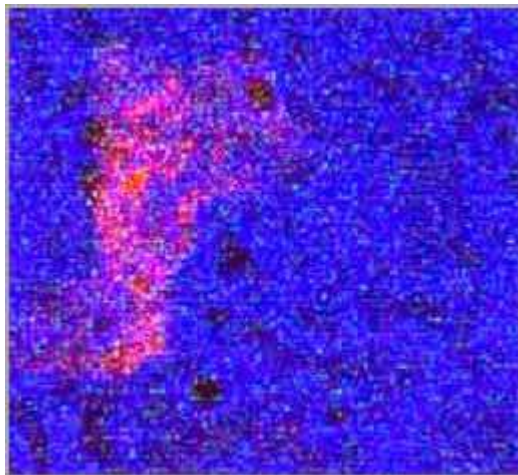
Marquage d'embryons de xénope à différents stades du développement avec des quantum dots (QD).
© Benoit Dubertret, ESPCI

2) Des nanoparticules activables contre le cancer

Les nanomatériaux ont des propriétés qui sont bien différentes de celles d'un matériau massif, explique **Laurent Lévy**, physicien et fondateur et le PDG de la société Nanobiotix, à Paris. Avec une taille nanométrique, leurs profils de biodistribution sont intéressants. De plus, aujourd'hui, on arrive grâce à des méthodes améliorées de fabrication à disposer en quantités contrôlées de « nano-objets » ayant plusieurs fonctions. Outre l'effet quantique de taille décrit par Benoit Dubertret, les nanomatériaux possèdent aussi des propriétés magnétiques différentes et des propriétés de conduction électrique variables selon la taille des nanocristaux. Si l'on ajoute à ces propriétés physico-chimiques dues au « confinement quantique » des propriétés biologiques comme la biocompatibilité, la spécificité d'activité, les aspects multifonctionnels, ces particules offrent un intérêt majeur pour des applications médicales.

La société Nanobiotix s'est focalisée sur le développement de traitements pour le cancer. Elle part du constat que toutes les approches classiques de la chimiothérapie anticancéreuse ciblent un mécanisme biologique lié au cancer. Comme il est impossible de cibler spécifiquement un mécanisme biologique, elles ne peuvent éviter les effets secondaires. Tout le jeu est alors de trouver un produit pas trop toxique et suffisamment efficace.

Nanobiotix utilise des « nanothérapeutiques », c'est-à-dire des nanoparticules d'une trentaine de nanomètres composées d'un cœur excitable par une source énergétique à distance. Ainsi excitées, elles génèrent un effet physique, comme de la chaleur ou l'émission de radicaux libres, qui détruit les cellules cancéreuses sans léser les tissus sains. Pour que ces particules soient biocompatibles et aient une pharmacocinétique acceptable, elles sont recouvertes d'un revêtement de silice, matériau contrôlable en terme d'épaisseur, de porosité, d'ajout de groupements chimiques fonctionnels. Les nanothérapeutiques sont injectées directement dans une tumeur ou en intraveineuse. Elles se distribuent alors préférentiellement dans la tumeur. Au bout d'un certain temps, l'accumulation est suffisante et l'on peut exposer la tumeur et les nanoparticules à un champ physique.



Nanothérapeutiques accumulées dans une tumeur
© Nanobiotix

Cette approche a été déclinée en quatre familles de produits correspondant à des nanomatériaux et des sources d'excitation différents : IRM, laser, rayons X et ultrasons. En fonction des produits et sources d'excitation, on peut cibler différents types de tumeurs.

Quel est alors le ratio bénéfice/risque ? Les chercheurs de Nanobiotix ont injecté chez l'animal jusqu'à 500 fois la dose thérapeutique envisagée chez l'homme (en équivalent animal). Quelle que soit la dose, ils ont observé une courbe de toxicité très différente de celle des cytotoxiques utilisés pour le traitement des cancers. Ce produit semble donc relativement bien toléré chez l'animal.

De plus, par comparaison avec des produits de référence, les nanothérapeutiques s'accumulent dans les tumeurs et peu dans les tissus sains. Cela est dû à l'effet EPR (*Enhanced Permeability and Retention*) : la vascularisation plus importante de la tumeur tend à y concentrer les nanoparticules. Selon l'« habillage » de la nanoparticule on peut aussi cibler davantage certains tissus.

Quant à l'efficacité, elle apparaît très bonne en comparaison d'un produit de référence : on arrive à détruire durablement 50 % des tumeurs. Le profil bénéfice/risque semble donc supérieur à celui du produit de référence.

Par ailleurs comme ces nanomatériaux absorbent de l'énergie, ils pourraient servir à l'imagerie moléculaire.

Pour **Claire Corot**, il faut bien distinguer les applications diagnostiques et les applications thérapeutiques des nanomatériaux. Pour le diagnostic, une difficulté est justement l'effet EPR qui fait que les tumeurs tendent à accumuler un peu tout ce qui passe dans la circulation. Il est alors difficile de démontrer *in vivo* que l'information que l'on obtient est vraiment spécifique d'un marquage tumoral et non

pas liée à la distribution des nanoparticules dans les tumeurs. On assiste actuellement dans la recherche au développement de technologies multimodales où l'on combine des particules que l'on peut repérer par IRM et par fluorescence, par exemple.

La toxicité est aussi à mettre en regard de l'objectif poursuivi. En diagnostic, on ne doit induire aucun effet toxique. L'accumulation des nanoparticules et leur devenir à long terme est de ce point de vue une question majeure qu'il faut aborder très tôt dans la conception des produits. Dans le domaine des nanotechnologies, la maîtrise des nano-objets et de leur devenir dans l'organisme sera capitale.

Une notion statistique importante en nanotechnologies est la « polydispersité » : on utilise un mélange de particules de différentes tailles. Cette polydispersité a des conséquences importantes sur la biodistribution et la localisation des particules dans l'organisme.

Guerbet, spécialiste de l'imagerie médicale développe des systèmes à base de nanoparticules d'oxyde de fer détectables par IRM. Le premier produit commercialisé, Endorem, est destiné à l'imagerie hépatique : les nanoparticules de 150 nm revêtues de dextran sont captées par les cellules de Küpfer, les macrophages hépatiques. Un deuxième produit, dont le dossier d'AMM sera déposé fin 2006, est destiné à l'imagerie des ganglions métastatiques du cancer de la prostate. Le produit est capté par les ganglions sains et pas par les ganglions métastatiques. En R&D, la société travaille sur des nanoparticules d'oxyde de fer sur lesquelles sont greffés des pharmacophores, des molécules de ciblage : sont ainsi visées la plaque d'athérome à risque – projet ATHIM du pôle de compétitivité Medicen – et diverses tumeurs.

Plus généralement, il faut insister sur la nécessaire interface avec les médecins, qu'il faut mettre en place très tôt dans les projets de R&D pour développer des produits répondant aux besoins des patients, conclut **Claire Corot**.

Prochaine Transversale
le 21 novembre
au Centre des Cordeliers

➤ **Regards transdisciplinaires et translationnels dans l'immunothérapie**

Inscrivez-vous sur le site internet de Paris Développement