

**MEMOIRE
POUR LE DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
EN INNOVATION PHARMACEUTIQUE ET RECHERCHE**

**Soutenu publiquement le 1^{er} Mars 2022
Par M^r BRINKHUIZEN Clément**

**Conformément aux dispositions réglementaires en vigueur tient lieu de
THESE EN VUE DU DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Des nanoparticules dans nos médicaments :
Revue systématique et Exemple des Anthracyclines**

Membres du jury :

Président :

Madame le Professeur Delphine ALLORGE
Professeur des Universités à la Faculté de Pharmacie de Lille
Praticien Hospitalier en Toxicologie au CHU de Lille

Directeur de thèse :

Madame le Professeur Sophie GAUTIER
Professeur des Universités à la Faculté de Médecine de Lille
Praticien Hospitalier au CRPV de Lille

Assesseurs :

Madame le Docteur Isabelle DAGRENAT
Pharmacien Hospitalier au CH de Compiègne-Noyon

Monsieur le Docteur Rodolphe CARPENTIER
Ingénieur de Recherche dans l'Unité INFINITE à Lille

Monsieur le Docteur Etienne BROCHOT
Maitre de Conférences des Universités à la Faculté de Pharmacie d'Amiens
Praticien Hospitalier en Virologie au CHU d'Amiens

**MEMOIRE
POUR LE DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
EN INNOVATION PHARMACEUTIQUE ET RECHERCHE**

**Soutenu publiquement le 1^{er} Mars 2022
Par M^r BRINKHUIZEN Clément**

**Conformément aux dispositions réglementaires en vigueur tient lieu de
THESE EN VUE DU DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Des nanoparticules dans nos médicaments :
Revue systématique et Exemple des Anthracyclines**

Membres du jury :

Président :

Madame le Professeur Delphine ALLORGE
Professeur des Universités à la Faculté de Pharmacie de Lille
Praticien Hospitalier en Toxicologie au CHU de Lille

Directeur de thèse :

Madame le Professeur Sophie GAUTIER
Professeur des Universités à la Faculté de Médecine de Lille
Praticien Hospitalier au CRPV de Lille

Assesseurs :

Madame le Docteur Isabelle DAGRENAT
Pharmacien Hospitalier au CH de Compiègne-Noyon

Monsieur le Docteur Rodolphe CARPENTIER
Ingénieur de Recherche dans l'Unité INFINITE à Lille

Monsieur le Docteur Etienne BROCHOT
Maitre de Conférences des Universités à la Faculté de Pharmacie d'Amiens
Praticien Hospitalier en Virologie au CHU d'Amiens



Faculté de Pharmacie de Lille

du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX

☎ 03.20.96.40.40 - 📠 : 03.20.96.43.64

<http://pharmacie.univ-lille2.fr>



Université de Lille

Président :	Jean-Christophe CAMART
Premier Vice-président :	Nicolas POSTEL
Vice-présidente formation :	Lynne FRANJIÉ
Vice-président recherche :	Lionel MONTAGNE
Vice-président relations internationales :	François-Olivier SEYS
Vice-président stratégie et prospective	Régis BORDET
Vice-présidente ressources	Georgette DAL
Directeur Général des Services :	Pierre-Marie ROBERT
Directrice Générale des Services Adjointe :	Marie-Dominique SAVINA

Faculté de Pharmacie

Doyen :	Bertrand DÉCAUDIN
Vice-doyen et Assesseur à la recherche :	Patricia MELNYK
Assesseur aux relations internationales :	Philippe CHAVATTE
Assesseur aux relations avec le monde professionnel :	Thomas MORGENROTH
Assesseur à la vie de la Faculté :	Claire PINÇON
Assesseur à la pédagogie :	Benjamin BERTIN
Responsable des Services :	Cyrille PORTA
Représentant étudiant :	Victoire LONG

Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
M.	DEPREUX	Patrick	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie

Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire

Liste des Professeurs des Universités

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique et Laboratoire d'application de RMN
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences Végétales et Fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences Végétales et Fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique et application de RMN
Mme	DEPREZ	Rebecca	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	DEPREZ	Benoît	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences Végétales et Fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique
Mme	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie industrielle
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique

M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie thérapeutique
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Législation et Déontologie pharmaceutique
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SERGHERAERT	Éric	Législation et Déontologie pharmaceutique
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle
M.	WILLAND	Nicolas	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants

Liste des Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie

Liste des Maîtres de Conférences

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale

M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie - Virologie
M.	BELARBI	Karim-Ali	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique et Laboratoire d'application de RMN
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie
M.	BOSC	Damien	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale
Mme	CHARTON	Julie	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL

M.	FLIPO	Marion	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique
Mme	LEHMANN	Hélène	Législation et Déontologie pharmaceutique
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences Végétales et Fongiques
M.	MORGENROTH	Thomas	Législation et Déontologie pharmaceutique
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique

Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Biochimie
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique
M.	POURCET	Benoît	Biochimie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / service innovation pédagogique
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	WELTI	Stéphane	Sciences Végétales et Fongiques
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques

Professeurs Certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeur Associé - mi-temps

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants

M.	DHANANI	Alban	Législation et Déontologie pharmaceutique
----	---------	-------	---

Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	GILLOT	François	Législation et Déontologie pharmaceutique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

AHU

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière

ATER

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	GHARBI	Zied	Biomathématiques
Mme	FLÉAU	Charlotte	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
Mme	N'GUESSAN	Cécilia	Parasitologie - Biologie animale
M.	RUEZ	Richard	Hématologie

M.	SAIED	Tarak	Biophysique et Laboratoire d'application de RMN
Mme	VAN MAELE	Laurye	Immunologie

Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière

Faculté de Pharmacie de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX
Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.

REMERCIEMENTS

A Madame le Professeur Delphine ALLORGE,

Vous avez toujours pris le temps de répondre à mes interrogations durant ces 5 années d'internat ; ces réponses ont influencé mon parcours. Je vous remercie pour le temps que vous m'avez accordé et de me faire l'honneur de présider cette soutenance.

A Madame le Professeur Sophie GAUTIER,

Je vous remercie d'avoir encadré ce travail, nos échanges sur la dernière partie m'ont permis d'entrevoir un versant intéressant de notre travail que je ne soupçonnais pas et qui orientera par la suite mon projet professionnel.

A Monsieur le Docteur Etienne BROCHOT,

Je vous remercie d'être présent pour juger ce travail, soyez assuré de toute ma reconnaissance.

A Madame le Docteur Isabelle DAGRENAT,

Mon année à Compiègne fut une excellente expérience et votre tutelle y était pour beaucoup. Je suis très heureux que vous ayez accepté de faire partie de mon jury trois années après mon départ, soyez assurée de mon profond respect.

A Monsieur le Docteur Rodolphe CARPENTIER,

Un immense merci d'avoir accepté d'être mon directeur de thèse de Sciences. Beaucoup d'étudiants souhaiteraient avoir un chef tel que toi. Tu es toujours de bon conseil, nous pouvons discuter de tout et cela amène à des questionnements scientifiques pertinents. Merci infiniment d'avoir relu et donné ton avis sur les parties purement « nano » de cette thèse, cette relecture a permis d'éviter quelques écueils.

A Madame le Docteur Claire PINCON,

Un immense merci pour tes vérifications, cela m'a permis d'être sûr de ce que j'écrivais. Merci de m'avoir donné envie de me former bien plus sur la statistique, domaine qui maintenant me passionne. Je prêcherai dès à présent la bonne parole à coup de régressions multivariées !

A Caroline, ma Chérie,

Une pierre de plus à ajouter à l'édifice que nous avons commencé à ériger il y a bientôt 7 ans. Tu as souvent dû me gronder pour avancer mais voici ce manuscrit achevé pour enfin porter le titre de « Docteur ». Jamais je n'en serai là sans ton soutien indéfectible dès la préparation au concours. Ta patience, tes relectures et ton avis m'ont aidé à écrire ce mémoire et à être fier de mon travail. Aucun mot ne serait assez fort pour te remercier pour tout ce que tu as fait mais je t'en serai éternellement reconnaissant. Ce dévouement que tu as eu à mon égard transparait dans ta pratique professionnelle, je suis très fier d'avoir épousé une pharmacienne aussi géniale ! Je t'aime et je nous souhaite tout le bonheur du monde !

A mes Parents,

Maman, Papa, aujourd'hui je passe une étape supplémentaire. Je pense que vous serez aussi fiers de moi que je le suis de vous avoir comme parents. Merci pour votre soutien infaillible et de m'avoir toujours poussé à donner le meilleur de moi-même. Merci d'avoir toujours stimulé ma curiosité, ce trait de personnalité a sans doute contribué à ce choix de carrière. Pour finir, un gigantesque merci de nous avoir élevés tous les trois dans l'amour, la bienveillance et de nous avoir inculqué des valeurs que je tente de mettre en pratique au quotidien. Je vous aime infiniment !

A Loulou et Toto, mes deux petits frères adorés,

Merci d'être présents aujourd'hui, comme vous l'avez toujours été dans les moments importants de ma vie. Merci pour tous ces fous rires, ces moments de partage et cette vie de famille que nous savons si chère à nos cœurs. Enfin par pitié, ne faites pas venir une moulinoune ou un camion poubelle pour me ramener à la maison après ma soutenance, je me contenterai de ma voiture 😊

A ma Grand-mère, mamie Christiane,

Voilà mamie, il ne restera que la thèse de Sciences et la boucle qui a commencé chez toi il y a 11 ans avec des pleurs sera bouclée. Je ne te remercierai jamais assez pour tout ce que tu as fait pour moi depuis mon entrée en PACES. Cela a mis du temps mais voici enfin le résultat de tes conduites au métro à 6h du matin !

A toute ma famille et ma belle-famille,

Merci d'avoir été présents durant toutes ces années.

A mes amis pharma : Elodie, Marine, Claire, Elise, Caroline et William,

Un immense merci pour nos moments partagés passés et ceux à venir. Notre cohésion nous a permis de garder le sourire et d'avancer ensemble dans l'adversité de nos études.

Aux amis d'enfance : Clément, Arnaud, Timothée et Estelle,

Merci de m'avoir accompagné depuis plus de 20 ans pour certains. Votre amitié m'a toujours été très précieuse et m'a fait grandir dans la joie et la bonne humeur.

SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS	1
INTRODUCTION.....	3
I. Historique	3
II. La nanomédecine	5
1. Modification de la pharmacocinétique	5
2. Nouveaux vecteurs vaccinaux	6
3. Thérapie génique.....	6
4. Accroissement de la résolution en imagerie.....	6
5. Reconstruction tissulaire.....	7
III. Objectifs de cette thèse	8
1^{ERE} PARTIE : CLASSIFICATION, INTERETS ET TOXICITE DES NANOPARTICULES	9
I. Classification des nanoparticules	9
II. Intérêts de la vectorisation	13
1. Hydrophobicité.....	13
2. Pharmacocinétique	14
3. Délivrance sélective.....	14
3.1. Les NPs conventionnelles.....	15
3.2. Les NPs furtives.....	16
3.3. Les NPs ciblées.....	17
3.4. Les NPs multifonctionnelles.....	17
III. Toxicités biologiques des nanoparticules	18
2^{NDE} PARTIE : REVUE SYSTEMATIQUE DES NANOPARTICULES EMPLOYEES DANS LES ESSAIS CLINIQUES DEPUIS 2001	21
I. Introduction	21
II. Matériel et Méthodes	23
1. Algorithme de recherche	23
2. Extraction des publications et notation des études.....	23
3. Analyse statistique	24
III. Résultats	24
1. Caractéristiques des études	24
2. Champs d'applications	32
3. Nanoparticules évaluées	32
4. Conclusion des études.....	34

IV. Discussion	34
1. Inclusion des articles	34
2. Représentativité des nanoparticules	35
3. Efficacité	37
V. Conclusion.....	39

3^{EME} PARTIE : LES PRINCIPALES FAMILLES DE NANOPARTICULES PRESENTES EN RECHERCHE ET SUR LE MARCHE FRANCAIS.....41

I. Les Liposomes	41
1. Historique, description et composition.....	41
2. Caractéristiques des liposomes.....	42
2.1. <i>Température de transition de phase (TC)</i>	43
2.2. <i>Charge de surface et groupement de tête</i>	43
2.3. <i>Degré de saturation</i>	44
3. Méthodes employées dans la fabrication des liposomes	44
3.1. <i>Hydratation de film lipidique</i>	46
3.2. <i>Elimination de détergent</i>	46
3.3. <i>Injection de Solvants Organiques</i>	46
3.4. <i>Sonication</i>	47
3.5. <i>Extrusion</i>	47
3.6. <i>Microfluidisation</i>	48
4. Conservation des Liposomes.....	49
4.1. <i>Stabilité des liposomes</i>	49
4.2. <i>Lyophilisation des liposomes</i>	50
5. Domaines d'application des liposomes.....	52
5.1. <i>Oncologie</i>	52
5.2. <i>Infectiologie</i>	53
5.3. <i>Immunologie</i>	53
5.4. <i>Analgesie</i>	53
5.5. <i>Imagerie</i>	54
5.6. <i>Thérapie génique</i>	54
II. Les Nanocristaux	55
1. Historique et description.....	55
2. Intérêts de ces nanoparticules	55
3. Méthodes employées dans la fabrication des nanocristaux	56
3.1. <i>Dispositif « Top-Down » : broyage</i>	57
3.2. <i>Dispositif « Top-Down » : homogénéisation à haute pression</i>	58
3.3. <i>Dispositif « Bottom-Up » : la précipitation contre solvant</i>	59
4. Conservation des nanocristaux	60
5. Domaines d'applications des nanocristaux.....	60
5.1. <i>Oncologie</i>	61
5.2. <i>Immunosuppresseurs</i>	61
5.3. <i>Néphrologie</i>	62

4^{EME} PARTIE : L'INTERET DE LA VECTORISATION, L'EXEMPLE DES ANTHRACYCLINES65

I. Introduction 65

1. Les spécialités à base de Doxorubicine 65

2. Caractéristiques de l'anthracycline 66

2.1. *La Doxorubicine* 66

2.2. *La forme liposomale pegylée*..... 66

2.3. *Les indications de la Doxorubicine et du CAELYX®* 67

2.4. *Les profils pharmacocinétiques des deux médicaments* 68

2.5. *Pharmacodynamie de la Doxorubicine*..... 69

2.6. *Comparaison des Effets Indésirables*..... 70

II. Matériel et Méthodes 71

1. Source de données 71

2. Design de l'étude..... 71

3. Analyse statistique 72

III. Résultats 73

1. Description de la cohorte étudiée..... 73

2. Variables corrélées aux notifications 76

3. Analyses de disproportionnalité des effets indésirables 77

4. Facteurs de risque de survenue des cardiomyopathies 78

IV. Discussion 79

1. Design de l'étude et données épidémiologiques..... 80

2. Notifications des effets indésirables 81

3. Risque cardiovasculaire..... 81

V. Conclusion..... 84

CONCLUSION.....85

ANNEXES.....87

LISTE DES FIGURES93

LISTE DES TABLEAUX94

BIBLIOGRAPHIE95

LISTE DES ABREVIATIONS

ADME : Administration, Distribution, Métabolisation, Excrétion
ADN : Acide DésoxyriboNucléique
AMM : Autorisation de Mise sur le Marché
ARN : Acide RiboNucléique
ASMR : Amélioration du Service Médical Rendu
ATU : Autorisation Temporaire d'Utilisation
AUC : Aire sous la Courbe
BCG : Bacille de Calmette et Guérin
CFTR : Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator
CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité
CONSORT : CONSolidated Standards of Reporting Trials
CPAg : Cellules Présentatrices d'Antigènes
CPPS : Cell Penetrating Proteins and Peptides
DMI : Dispositif Médical Implantable
EGF : Epidermal Growth Factor
EI : Effets Indésirables
EPA : Environmental Protection Agency
EPP : Erythrodysesthésie palmo-plantaire
EPR : Enhanced Permeability and Retention
EVA : Echelle Visuelle Analogique
FDA : Food and Drug Administration
HAS : Haute Autorité de Santé
HSV : Herpes Simplex Virus
IRM : Imagerie par Résonance Magnétique
IV : IntraVeineuse.
LNH : Lymphome Non Hodgkinien
LUV : Large Unilamellar Vesicle
MedDRA : Medical Dictionary for Regulatory Activities
MeSH : Medical Subject Headings
MLV : Multilamellar Vesicle
MPQ : MacGill Pain Questionnaire
MVV : Multivesicular Vesicle
NOS : Newcastle Ottawa Scale
NP : NanoParticules
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
OR : Odds Ratio
PA : Principe Actif
PEG : PolyÉthylène Glycol
PSQI : Index de Qualité du Sommeil de Pittsburg
RCP : Résumé des Caractéristiques du Produit
SARS CoV-2 : Severe Acute Respiratory Syndrome CoronaVirus 2
SUV : Small Unilamellar Vesicle

TAT : Trans-Activator of Transcription
TC : Température de transition de phase
TEP : Tomodensitométrie à Emission de Positrons
TLR : Toll Like Receptor
UV : UltraViolet
VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

INTRODUCTION

La pandémie de Covid-19 que nous traversons a mis en lumière la nécessité d'obtenir une vaccination polyvalente, produisible à large échelle et rapidement modifiable. Différentes approches ont été tentées mais les vaccins à ARN vectorisés par des liposomes restent à ce jour la meilleure tentative pour endiguer la propagation du coronavirus. Dans ce contexte, les nanoparticules nécessaires à l'efficacité de ces vaccins passant jusqu'alors inaperçues ont été propulsées sur le devant de la scène internationale.

Réalisant actuellement une thèse de Sciences dans ce domaine, je me suis donc questionné sur la représentativité et l'utilité des nanoparticules dans les disciplines médicales. Ces premières pages introduisent succinctement les intérêts de la vectorisation par nanoparticules et les objectifs de cette thèse.

I. Historique

Bien qu'une définition précise des nanotechnologies n'ait été formulée qu'au cours des dernières décennies, l'usage des nanoparticules remonte à plusieurs siècles. Historiquement, l'or colloïdal mélangé dans les pigments appliqué sur les poteries pendant la dynastie Ming en Chine furent les premiers emplois de cette technologie encore méconnue (1). Plus récemment, les travaux de Michael FARADAY publiés en 1857 sont les premiers décrivant les propriétés de ces matériaux (2).

Suite au discours du prix Nobel de physique Richard FEYNMAN, l'élan de recherche sur cette thématique commença, donnant lieu à la première définition par Norio TANIGUCHI en 1974 « La nanotechnologie consiste en la séparation, la consolidation et la déformation de matériel par un atome ou une molécule ». Cette description sera à l'origine du principe Top-Down qui prône la réduction de taille des structures existantes pour atteindre celle souhaitée.

Les années 80 furent assez riches en innovations avec la création du microscope à effet tunnel (3) par Gerd BINNIG et Heinrich ROHRER dès le début de la décennie puis le développement du microscope à force atomique. Ces avancées permirent la visualisation des premières images de la matière à l'échelle atomique et le déplacement atome par atome ouvrant ainsi le champ d'étude à l'échelle nanométrique. Grâce à cette nouvelle technologie, Eric DREXLER théorise la possibilité d'une approche Bottom-Up s'opposant à celle précédemment citée où la nanoparticule serait synthétisée par agglomération d'atomes unitaires afin d'atteindre l'échelle moléculaire (4).

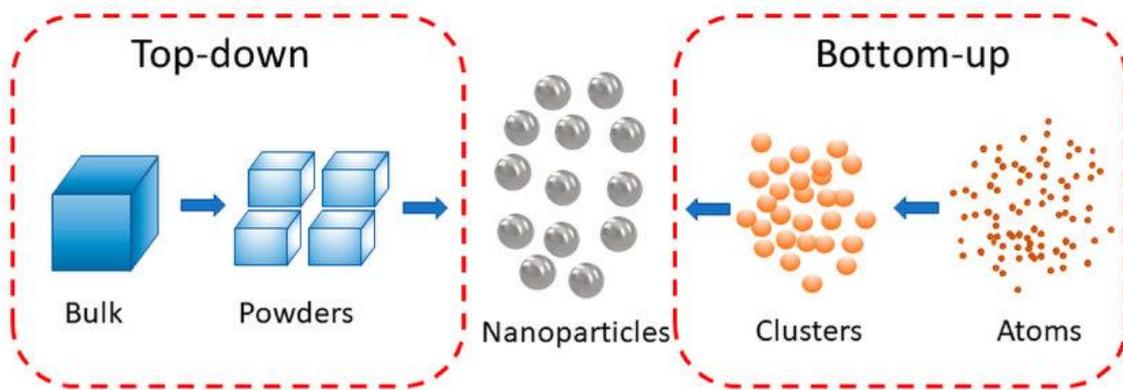


Figure 1. Approches descendante et ascendante permettant la synthèse de nanoparticules.

S'en suivit la découverte des nanostructures de carbone tel que le Fullerène (5) qui valut le prix Nobel de chimie aux D^{rs} KROTO, CURL et SMALLEY puis des nanotubes.

Pionnier dans le domaine, l'informatique fut le fer de lance du déploiement des nanotechnologies dans les autres secteurs industriels. Et pour cause, cette technologie a permis de faire perdurer la « loi de MOORE » plusieurs années malgré sa fin prédite en 2010. Cette loi écrite en 1965 par Gordon E MOORE, prédisait que le nombre de transistors gravés sur une puce de silicium doublait tous les deux ans augmentant progressivement la puissance des systèmes informatiques. Alors que le premier processeur d'Intel[®] commercialisé en 1971 possédait 2 300 transistors gravés à l'épaisseur de 10 μ m, la dernière génération contient 4,3 milliards de transistors pour une finesse de gravure de 5nm.

Cependant, la gravure à l'échelle nanométrique arrivant à ses limites, des alternatives provenant des nanotechnologies furent présentées récemment : les transistors à nanotube de carbone à effet de champs (6), preuve que les innovations dans ce domaine sont toujours envisageables.

Depuis les années 2000, une multitude d'inventions et d'échanges dans ces domaines eurent lieu, largement favorisés par les programmes de financement portés par les Etats-Unis (7) et l'Union Européenne. Accroître les performances des transistors informatiques, limiter les déformations des matériaux de construction impactés lors des séismes ou encore augmenter l'efficacité des batteries et des cellules photovoltaïques sont autant de prouesses que les nano matériaux peuvent apporter à ces secteurs.

Ces découvertes arrivèrent ensuite en cosmétologie : citons pour exemple les nanoparticules d'oxyde de zinc et de dioxyde de titane reflétant les rayons UV ajoutées dans les photo-protecteurs (8). Par la suite, cette technologie arriva peu à peu dans les produits de grandes consommations (nanoparticules de silicones E551 adoptées comme épaississants) (9). Enfin, les propriétés novatrices de la nanotechnologie furent mises à profit dans les domaines médicaux.

II. La nanomédecine

Suite à la découverte de l'Arsphénamine (SALVARSAN®) attaquant spécifiquement *Treponema Pallidum*, agent responsable de la syphilis, Paul EHRLICH imagine le concept de « balle magique ». Son idée était de repérer des principes actifs (PA) touchant sélectivement les pathogènes ou les cellules malades des patients tout en épargnant les cellules saines. Cette notion sera le point de départ de la nanomédecine dès 1908 et aiguillera une grande partie des recherches sur les anti-infectieux et les chimiothérapies du siècle dernier (10).

Parmi les avancées dérivant de cette théorie, soulignons la découverte des pénicillines bouleversant le traitement des maladies infectieuses mais aussi l'invention des anti-métabolites, des analogues de l'ADN, des anti-aromatases. Plus récemment, l'avènement de la médecine de précision avec les Inhibiteurs de Tyrosine Kinase et enfin la révolution apportée par les anticorps monoclonaux dans le traitement des cancers.

Bien que les premiers médicaments sous forme de nanoparticules telles que nous le définirons dans la première partie ne fussent commercialisés qu'à la fin des années 80 en grande partie dû à des limitations techniques, la diversité des applications et les nombreuses possibilités sont telles que maintes recherches fondamentales sont menées dans ce secteur.

Pour illustrer ce propos, nous relevons ici succinctement les multiples domaines touchés par la nanomédecine ; ces notions seront pour certaines approfondies par la suite.

1. Modification de la pharmacocinétique

Recourir à une nanoparticule modifie le profil ADME (Administration, Distribution, Métabolisation, Excrétion) du principe actif administré.

L'amélioration de l'une de ces 4 phases pharmacocinétiques en utilisant des nanoparticules lipidiques ou des nano cristaux a pour but d'augmenter l'efficacité du médicament. Les nanoparticules peuvent limiter la clairance ou la dégradation biologique du principe actif ou s'accumuler au sein d'un tissu pour y enrichir la fraction thérapeutique, ce qui revient à augmenter son efficacité pour une dose donnée. Dans certains cas, cette forme vectorisée est développée dans le but de diminuer les quantités administrées aux patients limitant d'autant plus l'incidence ou la gravité des effets indésirables classiquement rencontrés lors de l'administration de forme libre.

L'exemple de l'AMBISOME® sur le marché pharmaceutique incarne depuis plus de 20 ans cette efficacité : en adoptant une forme liposomale pour véhiculer l'amphotéricine B, le laboratoire GILEAD a permis d'améliorer la survie des patients atteints d'infections fongiques tout en diminuant drastiquement la survenue d'insuffisance rénale chez les patients traités par cette molécule (11,12).

2. Nouveaux vecteurs vaccinaux

Développer notre arsenal vaccinal est un enjeu crucial comme nous avons pu le constater durant ces deux dernières années. Bien que la pandémie de Covid-19 soit préoccupante, d'autres maladies touchant principalement les pays en voie de développement telles que la tuberculose ou les fièvres hémorragiques sont tout aussi inquiétantes. On constate d'ailleurs que la plupart des vaccins en phase pré clinique ou clinique à l'encontre de *Mycobacterium Tuberculosis* ne sont à ce jour pas beaucoup plus efficaces que le BCG.

En faisant appel à des nanoparticules lipidiques, virales (virosoles) ou encore polymériques, on observe une amélioration significative de la présentation antigénique accroissant la protection des sujets vaccinés. Les exemples sont multiples : le virosome INFLEXAL V[®] a montré une réponse prolongée contre les virus grippaux durant les 3 premières années de vie des enfants vaccinés (13). Quant à l'EPAXAL[®] protégeant contre le virus de l'hépatite A, son immunogénicité est identique à l'HAVRIX[®] classiquement administré pour un coût de fabrication moindre (14). Pour finir, le vaccin VAXZEVRIA[®] d'ASTRA ZENECA a été administré dans près de 180 pays et permet encore à ce jour de défendre de nombreuses personnes contre le SARS-CoV2.

De plus, la flexibilité de ces plateformes permet d'imaginer d'autres modes d'administration plus simples comme la voie mucoale (15) ou encore nécessitant des conditions de stockage moins strictes intéressantes lors de l'approvisionnement de certaines régions du monde.

3. Thérapie génique

Grâce à leur bio compatibilité, les liposomes sont des nanoparticules de choix dans les opérations de thérapie génique. Peu d'essais sont menés mais en déployant de nombreux plasmides sur le site d'intérêt tout en limitant la survenue de chocs cytokiniques, l'utilisation de liposomes donne des données intéressantes présumant des recherches à venir dans ce domaine.

En témoigne la stabilité de la fonction pulmonaire des patients atteints de mutation du gène CFTR après administration de ces nanoparticules contenant le gène pGM169/GL67A (16).

4. Accroissement de la résolution en imagerie

Développés initialement comme agents de contraste, les quantum dots, nano cristaux et nanoparticules d'oxydes de fer étaient produits dans un but diagnostique. Leurs capacités à absorber les rayons électromagnétiques leur conféraient des propriétés intéressantes en imagerie par résonance magnétique (IRM) permettant d'augmenter la résolution des images capturées (17) et de détecter plus précocement les pathologies.

Toutefois, presque toutes les spécialités ayant reçu des AMM en France pour ces applications ont été retirées progressivement du marché au cours de ces 10 dernières années. On les retrouve maintenant dans d'autres catégories comme la délivrance de gènes, d'ADN ou de protéines.

5. Reconstruction tissulaire

Très présente en chirurgie orthopédique, la notion de réactivité de surface est à considérer dans la reconstruction tissulaire car celle-ci est responsable des propriétés biologiques des dispositifs médicaux implantables (DMI). Comme nous le verrons dans la partie suivante, la taille des nanomatériaux leur confère des interactions extrêmement importantes avec le milieu environnant.

L'organisation des DMI à l'échelle nanométrique pouvant même induire des propriétés cellulaires différentes : on relève ainsi pour un même matériel une prolifération de cellules souches en contact avec des nanotubes de carbone de 15 nm et un phénomène d'apoptose avec un diamètre de 100nm (18). De même, ces structures influencent leur différenciation (19) mais aussi l'effet anti bactérien (20) du matériel très recherché lors de ce type de chirurgie.

Enfin l'adjonction de cellules souches au sein de ces bio matériaux est un axe de recherche intéressant pour faciliter la reconstruction de certains tissus voire de mimer les fonctions physiologiques de celui-ci.

De façon non exhaustive, nous avons tenté de répertorier les différentes nanoparticules employées ainsi que leurs champs d'applications (Tableau I).

Tableau I. Types de nanoparticules et applications.

Type	Taille	Applications
Nanotubes de carbone	< 100 nm de diamètre < 1000 nm de longueur	Délivrance de gènes et de peptides
Quantum dots	< 10 nm	Hybridation d'ADN, immunomarquage
NPs d'Oxyde de fer	< 50 nm	IRM
NPs de Silice	< 50 μ m	Hybridation d'ADN
NPs Métalliques	< 100 nm	Sensibilité importante en diagnostic
Nano cristaux	< 1 000 nm	Forme à libération prolongée ou contrôlée Agents de contraste
Dendrimères	< 10 nm	Forme à libération prolongée ou contrôlée Ciblage d'organes
Nano émulsions	< 100 nm	
NPs polymériques	< 1 000 nm	Forme à libération prolongée Délivrance de gènes, de peptides et de médicaments
Liposomes	< 200 nm	

III. Objectifs de cette thèse

Malgré l'ampleur des recherches menées à travers le monde, des sources conséquentes de financement sur ces thématiques et des annonces régulières notifiées dans la presse scientifique, peu de résultats concluants et d'avancées dans le secteur biomédical sont relatés.

Partant de ce bilan, je me suis interrogé sur la raison de l'absence de résultats. Cette thèse est le fruit de ce questionnement ; je souhaitais par ce travail analyser l'état de l'art concernant cette thématique, répertorier le marché des nano médicaments et évaluer les perspectives de recherches à venir.

Pour ce faire, la classification des nanoparticules et l'intérêt de la vectorisation débiteront cette thèse. La seconde partie sera constituée d'une revue systématique de la littérature portant sur les essais cliniques incluant des nanoparticules durant les vingt dernières années.

Les conclusions de cette recherche bibliographique nous permettront de détailler dans la partie suivante les nanoparticules les plus fréquemment rencontrées en recherche clinique mais aussi sur le marché pharmaceutique français.

Pour finir, nous illustrerons notre sujet avec l'exemple de la vectorisation des anthracyclines en comparant le profil de sécurité des formes libres de la Doxorubicine et celles vectorisées par des liposomes pegylés.

1^{ERE} PARTIE : CLASSIFICATION, INTERETS ET TOXICITES DES NANOPARTICULES

I. Classification des nanoparticules

Devant cette effervescence d'idées, il a été nécessaire de définir scrupuleusement les nanoparticules afin d'homogénéiser les pratiques. Malgré une première définition relativement simple de la nanotechnologie : « Science qui étudie les matériaux à l'échelle du nanomètre », classifier les nanoparticules n'est pas aisé et l'on peut tenter de les organiser selon leur taille, forme, composition ou origine puis en intégrant leurs caractéristiques physico-chimiques.

Plusieurs définitions ont par conséquent été éditées selon les organismes officiels (Tableau II) avec plus ou moins de précision. De plus, il est important de considérer que l'objet d'étude est à mi-chemin entre les objets du quotidien soumis aux lois de la mécanique classique et les atomes soumis à la mécanique quantique complexifiant fortement la compréhension des phénomènes rapportés.

Tableau II. Définitions des Nanoparticules.

Normes	Définitions
ISO (International Organisation for Standardisation)	Une particule de taille de 1 à 100nm en diamètre
ASTM (American Society of Testing and Materials)	Une particule ultrafine dont la longueur à 2 ou 3 endroits est de 1 à 100nm
NIOSH (National Institute of Occupational Safety and Health)	Une particule de diamètre entre 1 et 100nm, ou une fibre de taille entre 1 à 100nm
SCCP (Scientific Committee On Consumer Products)	Au moins une dimension est de l'ordre du nanomètre
BAuA (Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin)	Toutes les dimensions ou diamètres sont de l'ordre du nanomètre

Pour illustrer cette difficulté, prenons pour exemple les nanotubes de carbone composés de graphène replié sur lui-même dont le diamètre varie entre 0,4 et 100 nm. Bien que ce matériau soit 6 fois plus léger que l'acier, il est 100 fois plus résistant que ce dernier (21). De même, les nanoparticules d'or de plus de 20 nm de diamètre ont une température de fusion 2 fois supérieure à celle de 5 nm (22).

Ce changement de propriétés est dû en partie à l'augmentation du rapport surface / volume total observé lors de l'amointrissement de la taille de chaque unité

composant l'agglomérat secondaire (Tableau III et Figure 2). En prenant pour exemple un cube d'1 cm de côté ayant donc un volume d'1 cm³ et une surface de 6 cm², on obtient une surface 10⁷ fois plus importante pour 10²¹ cubes de 1 nm de côté représentant toujours un volume identique. Cela augmente indéniablement l'activité de surface et donc l'impact sur les cellules rencontrées dans le cadre médical.

Tableau III. Comparaison des surfaces selon la taille des particules examinées.

Taille	Nombre	Aire Totale
1 cm	1	6 cm ²
1 mm	1 000	60 cm ²
1 μm	10 ¹²	6 000 cm ²
1 nm	10 ²¹	6 .10 ⁷ cm ²

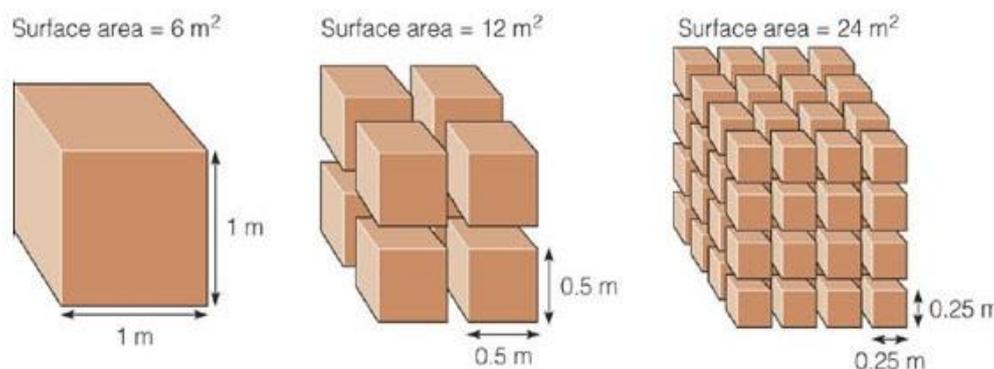


Figure 2. Corrélation entre taille des particules et surface totale.

Comme expliqué avec les applications orthopédiques, les interactions de surfaces avec le milieu peuvent totalement modifier le microenvironnement. Si l'on passe maintenant d'un matériau agencé en plusieurs milliers de nanotubes de carbone à une nanoparticule seule, on augmente à nouveau cette réactivité car la taille subcellulaire (Figure 3) de celle-ci lui octroie la possibilité d'interagir directement avec certains organites intracellulaires (23) ou encore de pénétrer entre les jonctions serrées intercellulaires afin d'atteindre les tissus plus profondément.

Bien que cette faculté soit mise à profit dans les recherches portant sur la 4^{ème} génération de nanoparticules, ces propriétés peuvent être aussi problématiques quand il s'agit de gérer la toxicité de ce nano objet.

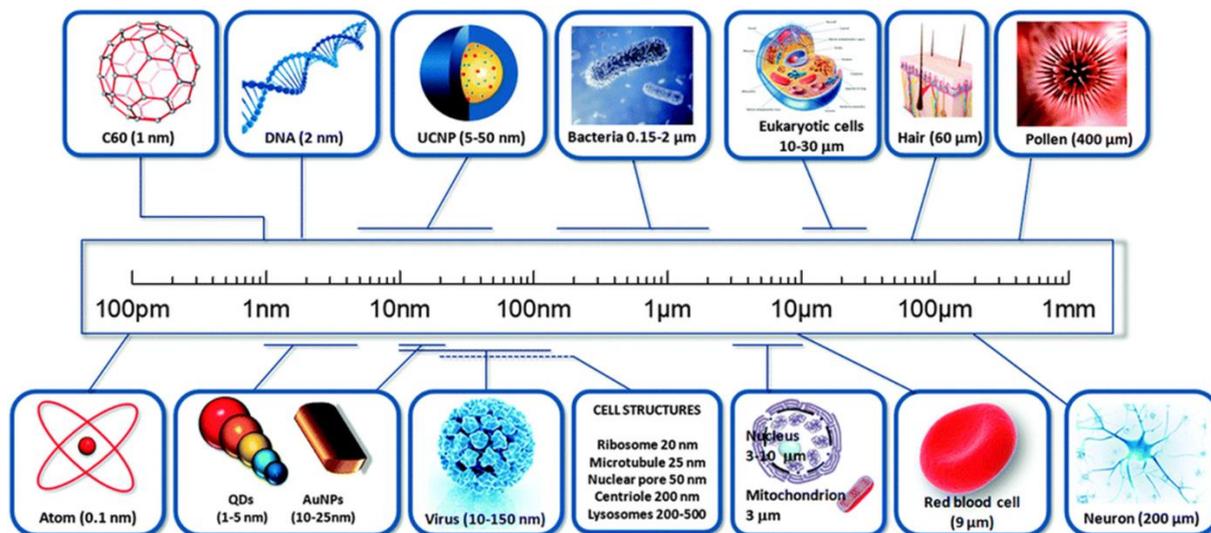


Figure 3. Echelle de taille des structures biologiques et des nanoparticules. (24)

En complément des études de tailles des particules, il est important de considérer d'autres paramètres : l'hydrophobicité et la charge électrique de surface aussi appelée potentiel zêta, qui définissent les propriétés d'interactions des nanoparticules avec les surfaces rencontrées. On portera une attention particulière lors de la conception des nanoparticules en biologie car les membranes cellulaires sont majoritairement composées de phospholipides et de protéines transmembranaires anioniques sur leur versant extracellulaire. Il est donc logique de constater une adhésion plus importante des nanoparticules cationiques aux cellules (25).

La configuration tri dimensionnelle de l'objet peut aussi agir sur ces propriétés. Classiquement, les nanoparticules sont visibles en 3 dimensions de formes plus ou moins aléatoires, les plaques sont observables en 2 dimensions alors que les nano fibres n'ont qu'une seule dimension considérée (Figure 4). De plus, l'observation sous forme unitaire alors appelée « primaire » ou d'agglomérats « secondaires » modifient les caractéristiques physicochimiques des nano objets.

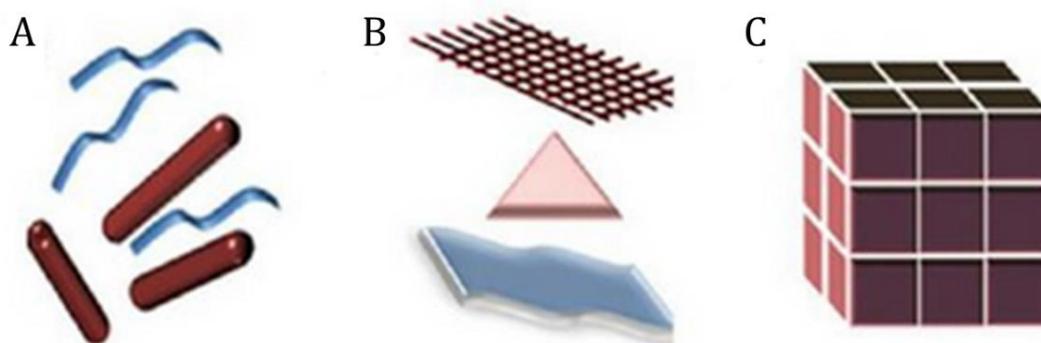


Figure 4. Classification des nano objets selon leurs dimensions. Fibres à 1 dimension (A), Plaques en 2 dimensions (B) et Particules en 3 dimensions (C).

Enfin, il est important de considérer dans ce classement les matériaux composants ces nanoparticules (Figure 5) car ceux-ci influenceront grandement les attributs de chaque nanoparticule. On retrouve donc :

- Les lipidiques (A).
- Les polymériques (B, C).
- Les particules virales.
- Les métalliques (E, F).
- Les nanocristaux.
- Les nanotubes de carbone (H).

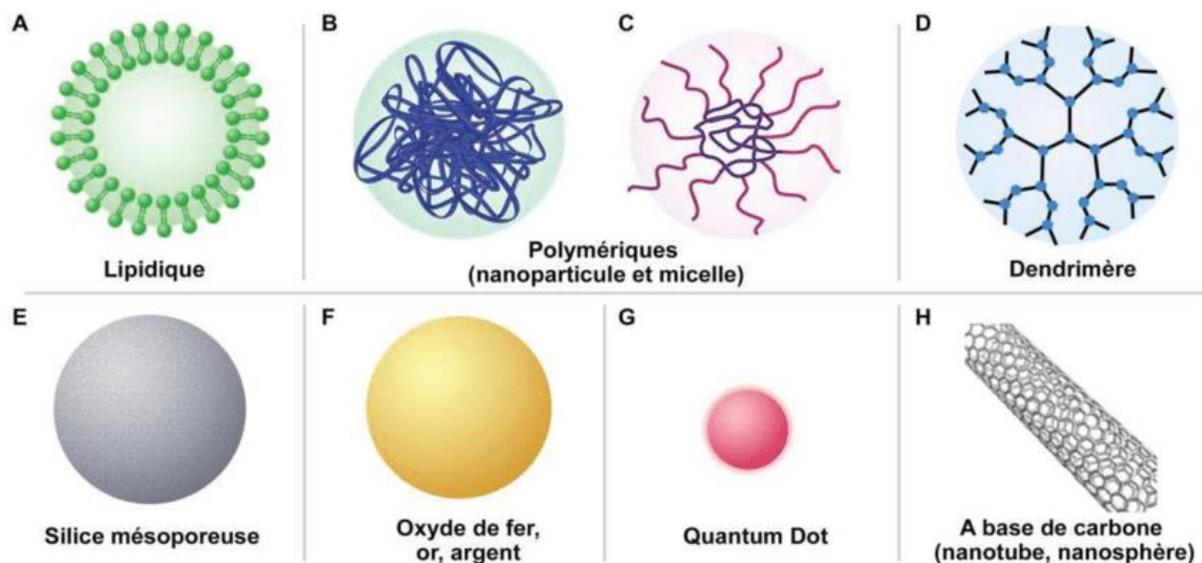


Figure 5. Famille de nanoparticules.

Pour compléter ce premier classement, il est aussi possible de séparer les nanoparticules en deux grandes familles selon leurs origines (26). En premier lieu, on retrouve les nanoparticules naturelles fabriquées par biogénèse (virus, protéines), par géogénèse (séisme, érosion) ou pyrogénèse (activité volcanique, feux de forêt) donnant lieu à des nanoparticules inorganiques.

La seconde catégorie concerne les nanoparticules anthropogéniques produites par l'homme. Cette production peut être intentionnelle en cosmétique ou agro-alimentaire, dans le génie civil ou encore dans l'industrie pharmaceutique pour une application médicale. L'action humaine peut aussi conduire à la création involontaire de nanoparticules résultant souvent de la combustion de divers matériaux (organiques, métalliques, polymères) ; la source principale de ces nanoparticules étant la sidérurgie (27). Cette source anthropogénique involontaire constitue la base de la pollution atmosphérique nanoparticulaire (chauffage, centrale électrique au charbon, suie de combustion des hauts fourneaux, trafic routier).

II. Intérêts de la vectorisation

Bien que les techniques de criblage à haut débit dont nous disposons permettent encore à ce jour la découverte de nouveaux candidats médicaments, cette méthode a aussi amené son lot de problèmes : durant ces dernières années, la plupart des principes actifs nouvellement découverts présentait de nombreux soucis de solubilité due en grande partie à l'hydrophobicité de la molécule.

L'usage de forme vectorisée à l'aide de nanocapsule (principe actif contenu dans une cavité entourée d'une membrane) ou nanosphère (principe actif dispersé uniformément dans la matrice) permettrait d'outrepasser ces soucis de pharmacocinétique et de sélectivité (Tableau IV). De plus, ces propriétés étant souvent étroitement liées à la pharmacodynamie des médicaments, l'amélioration de la forme galénique conduira inexorablement à une augmentation d'efficacité du principe actif vectorisé.

Tableau IV. Description des problématiques rencontrées lors de la formulation (28,29).

Problèmes	Description	Action des nanoparticules	Effet constaté
PA hydrophobe	Précipitation du PA	Présence de poches hydrophobes	Augmentation de la solubilité des PA (28)
Mauvaise distribution	Distribution des PA à tout l'organisme limitant l'impact sur les tissus ciblés	Diminution du volume de distribution	Réduction des doses, des fréquences d'administration, de la variabilité inter individuelle
Dégradation du PA	Perte de l'activité pharmacologique par métabolisation rapide	Protection du PA vis-à-vis des enzymes	Augmentation de l'observance des patients
Clairance rapide	Eliminations hépatique et rénale du PA	Augmentation du temps de résidence	
Absence de sélectivité	Survenue d'effets indésirables et effet thérapeutique moindre	Libération à un site spécifique (tissus, cellules, organites)	Augmentation de l'effet pharmacologique Diminution des effets indésirables

1. Hydrophobicité

Concernant les problèmes de solubilité régie par l'équation de Noyes et Withney : le passage sous forme de nanocristaux du médicament libre permet d'augmenter fortement la surface totale du principe actif « S » en contact avec le milieu biologique ce qui facilitera sa dissolution et donc sa biodisponibilité.

L'activité pharmacologique d'un médicament étant liée à sa capacité à se fixer à sa cible et la quantité de principe actif disponible pour effectuer cette liaison étant corrélée à la vitesse de dissolution : il est donc normal de constater un accroissement

de la réponse pharmacologique si la quantité de principe actif sous forme libre est plus importante due à une dissolution facilitée (30).

$$V = \frac{dm}{dt} = k \times S \times (C_s - C)$$

V = Vitesse de dissolution

k = constante de vitesse de dissolution dépendante de la molécule

S = surface totale de la forme à dissoudre

C_s = Concentration du médicament à saturation

C = Concentration du médicament dans le milieu

2. Pharmacocinétique

La métabolisation des médicaments peut être un obstacle majeur à l'efficacité de celui-ci. Dans le but de rendre le principe actif plus hydrosoluble et faciliter ainsi son élimination, celui-ci va subir au niveau plasmatique différentes actions enzymatiques. Qu'il s'agisse de réactions de phase I comme la métabolisation par oxydation via les cytochromes P450 ou des réactions de conjugaison de phase II, ces modifications aboutiront à la formation de métabolites hydrosolubles facilement éliminables au niveau rénal.

A cause de cette dégradation, l'efficacité peut être en deçà de celle escomptée, pouvant nécessiter le recours à des doses plus fortes ou une administration répétée. La protection par les nanoparticules permet par conséquent de limiter ces activités enzymatiques avant la délivrance du principe actif au site ciblé et réduit aussi les variabilités interindividuelles résultant de l'action de ces enzymes. Etant inaccessible, les inhibitions et inductions enzymatiques résultant de l'administration simultanée d'autres médicaments, la sénescence des enzymes due à l'âge et les conséquences génétiques (métaboliseurs lents ou rapides) n'ont que peu d'effet sur la concentration plasmatique du médicament.

Enfin, la clairance rénale élevée de certains médicaments oblige une administration plus rapprochée du médicament ce qui peut être un frein à la bonne observance des patients. A l'image de principes actifs fortement métabolisés, l'encapsulation dans une nanoparticule peut modifier ce profil et ralentir l'élimination du médicament par relargage contrôlé du principe actif dans le compartiment plasmatique (31).

3. Délivrance sélective

Idéalement, pour qu'un médicament soit efficace, sa biodisponibilité doit être la plus élevée possible, être métabolisé rapidement sous forme active et atteindre sa cible pour un effet pharmacologique optimal. Cet effet doit être persistant dans le

temps afin d'éviter les prises répétées et se limiter aux tissus malades ce qui évite les dommages collatéraux en touchant les cellules saines.

Il est actuellement impossible d'atteindre cet optimum et l'on constate régulièrement l'apparition d'effets indésirables survenant lors de l'administration de médicaments, preuve qu'aucun principe actif ne soit totalement sélectif de sa cible. Cependant, cette notion de sélectivité pour un tissu voire une cellule particulière est souvent abordée dans la littérature, on parle alors de ciblage. Communément classés en 4 générations, le design des nanoparticules des plus simples aux plus complexes permettent de fonctionnaliser ces vecteurs et d'optimiser la délivrance de médicament au site souhaité (Figure 6).

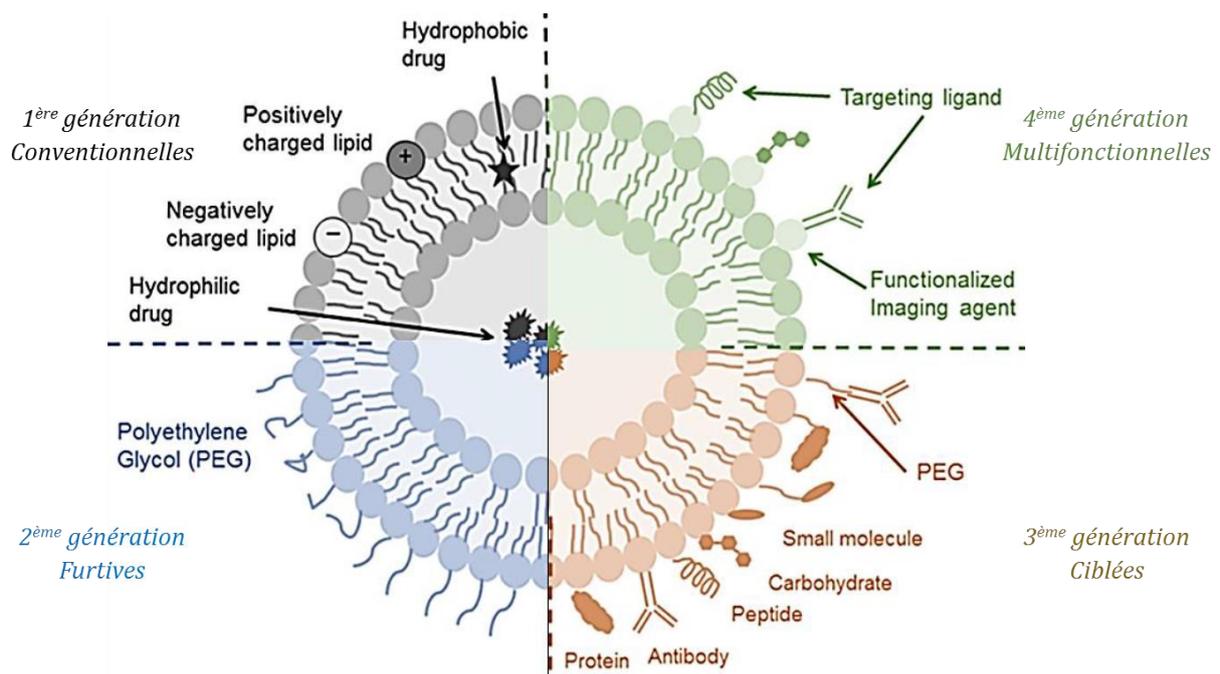


Figure 6. Générations de nanoparticules.

3.1. Les NPs conventionnelles

La première génération de nanoparticules, dites « conventionnelles » procède à un ciblage passif. La taille, la charge de surface et la forme sont prévues dès la conception de celle-ci et vont influencer sur leurs comportements.

Néanmoins, la demi-vie de ces nanoparticules lors du passage dans le compartiment plasmatique soit après administration parentérale, soit par passage à travers les muqueuses est très courte. Formant rapidement des agrégats puis reconnues par le système immunitaire après opsonisation (32), celles-ci sont éliminées en quelques heures.

3.2. Les NPs furtives

Ayant pour but d'outrepasser cette reconnaissance par le système immunitaire, l'évolution de conception aboutit aux nanoparticules furtives dites de seconde génération.

Dans un premier temps, les paramètres précédemment cités furent scrupuleusement ajustés : pour exemple, une nanoparticule inférieure à 100nm permet de traverser les jonctions communicantes de l'endothélium vasculaire des cellules tumorales. En effet, la taille de ces jonctions variant de 100 à 800nm leur octroie cette capacité tout en limitant leur capture par les macrophages hépatiques.

Puis, l'ajout de polymères hydrophiles par greffage à la surface des nanoparticules tels que l'acide folique (33) ou le polyéthylène glycol permirent de limiter le phénomène d'opsonisation (34) et de clairance par le système immunitaire (35). En conséquence, cette furtivité allongea la demi-vie plasmatique des médicaments vectorisés permettant même un effet rémanent bien longtemps après son administration.

De plus, ce design fut mis à profit pour atteindre des zones biologiques habituellement inatteignables devenant accessibles suite à un remodelage pathologique. C'est le cas lors d'une inflammation locale exacerbée conduisant à une modification tissulaire ou lors de la survenue d'un processus tumoral modifiant par induction de l'angiogenèse le microenvironnement de cet espace. Ce phénomène appelé « Effet de perméabilité et de rétention renforcées » (EPR) augmente la perméabilité vasculaire des régions touchées et permet l'accumulation de nanoparticules dans les tissus malades (Figure 7) (36).

Malgré de nombreuses recherches menées sur cet effet durant ces dernières années, la délivrance de principe actif grâce à l'effet EPR n'est pas encore totalement élucidée. Voilà pourquoi certains articles ont récemment émis l'hypothèse que les mécanismes mis en jeu lors de cette délivrance au sein des tumeurs ne pouvaient s'affranchir de phénomènes actifs et ce indépendamment de la perméabilité endothéliale (37).

Cette accumulation au sein des tumeurs est aussi visible avec des nanoparticules construites à partir de matériaux sensibles au pH. Les cellules cancéreuses ont en effet une croissance anarchique rapide nécessitant d'importants apports nutritifs. Pour se diviser, elles pratiquent une glycolyse inépuisable générant un environnement plus acide que le milieu physiologique. Ainsi, en utilisant des nano sphères stables en pH neutre mais se dégradant au contact d'un milieu acide, on procéderait à une délivrance uniquement près de la tumeur.

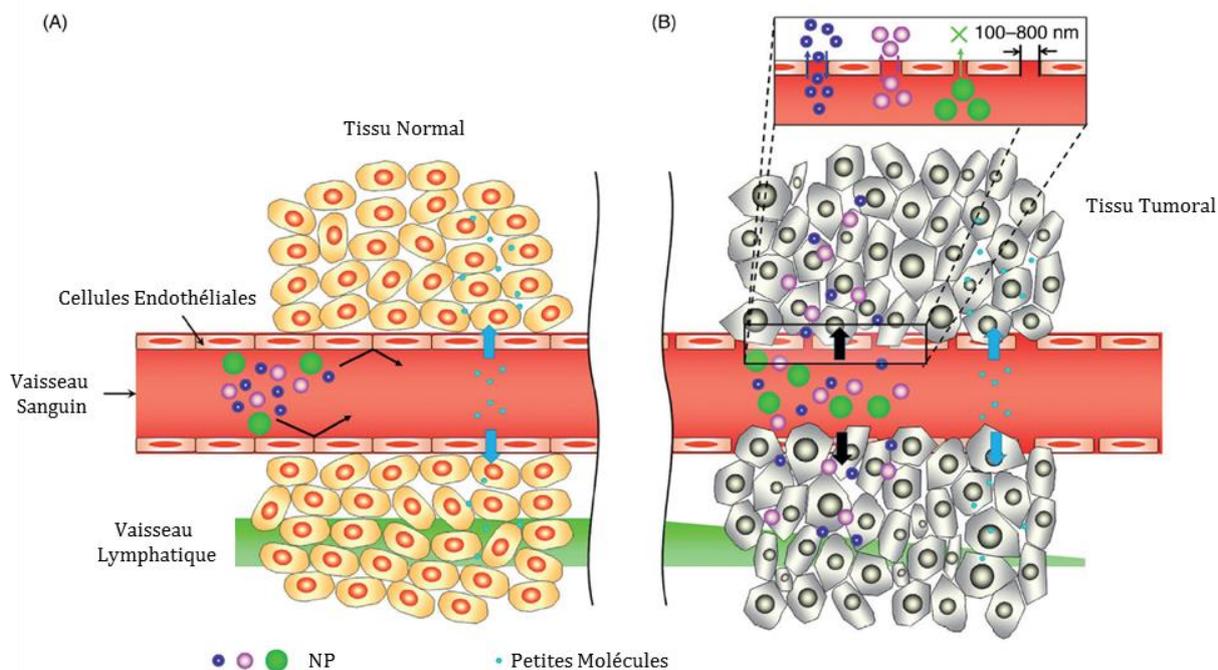


Figure 7. Effet de perméabilité et de rétentions renforcées (38).

3.3. Les NPs ciblées

Toutefois, cette vectorisation passive n'est pas des plus efficaces et les nanomédicaments ne touchent bien souvent que la périphérie de la tumeur limitant leur efficacité. C'est pourquoi le greffage en surface de différentes molécules pouvant reconnaître spécifiquement un récepteur ou un antigène a été tenté afin d'obtenir des nanoparticules de troisième génération « ciblée » permettant une délivrance contrôlée du principe actif.

Développées initialement pour l'oncologie en greffant des anticorps dirigés contre des récepteurs à l'EGF, ou à la transferrine surexprimés dans de nombreuses tumeurs (39) ; cette technologie est aussi envisagée pour cibler les tissus sains à l'aide de fragments Fc reconnaissant les entérocytes. Ce faisant, le passage entéral des médicaments habituellement hydrolysés dans le tube digestif sera facilité. Cette alternative permettrait à terme d'envisager le remplacement de certaines administrations parentérales par du *per os* moins contraignant pour le patient.

3.4. Les NPs multifonctionnelles

Pour finir, les nanoparticules « multifonctionnelles » sont l'utopie de cette technologie. L'idée guidant leur développement étant de synthétiser des vecteurs capables de cibler une cellule particulière puis de délivrer le médicament vectorisé dans un compartiment cellulaire précis.

On peut conférer cette faculté aux nanoparticules en leur greffant à la surface entre autres des protéines CPPS (Cell Penetrating Proteins and Peptides). De natures diverses, certaines sont étudiées depuis de nombreuses années telles que les TAT peptides composés de 11 acides aminés riches en arginine correspondant à un

domaine d'une protéine de transduction (40). Il a ainsi été démontré que l'ajout de cette protéine TAT à la surface de liposomes permettait une internalisation de ceux-ci après contact avec la surface cellulaire (41). De façon intéressante, ces nanoparticules s'accumulaient préférentiellement dans des cellules tumorales (42).

L'endocytose étant la principale source d'internalisation des constituants extérieurs à la cellule et les mécanismes mis en jeu dans ce processus étant très variés, il est donc extrêmement difficile de prévoir le comportement qu'adoptera chaque vecteur. De plus, les mécanismes mis en jeu conduisent à des compartiments intracellulaires différents, ce qui augmente d'autant plus la difficulté de compréhension de ces phénomènes.

III. Toxicités biologiques des nanoparticules

L'étude des toxicités des nanoparticules débute en 2004 suite à l'émergence des nanomatériaux (43,44). Plusieurs programmes de recherches ont alors vu le jour aux Etats-Unis sous la tutelle de l'Environmental Protection Agency (EPA) afin de l'évaluer et rassurer les utilisateurs quant à leur usage dans les secteurs agroalimentaires et médicaux (45). Les propriétés des nanomatériaux (46) confèrent à chaque nanoparticule une toxicité qui lui est propre obligeant les organismes de sécurité sanitaire à les contrôler au cas par cas.

Parmi les caractéristiques énumérées ci-dessus, la taille modifie les phases de distribution et d'élimination des nanoparticules, pouvant même provoquer une accumulation de celles-ci dans les cellules et devenant alors fortement toxiques par défaut d'excrétion (23). De plus, ce phénomène peut être aggravé par l'induction d'une inflammation persistante au niveau des sites de contact et provoquer des cassures de l'ADN par production d'espèces réactives de l'oxygène *in situ*. Pour exemple, les nanoparticules de dioxyde de titane ont des effets pro-inflammatoires lors de l'administration pulmonaire chez les rats inversement corrélés à leur taille.

La charge de surface est aussi à considérer car elle influence les interactions avec les surfaces cellulaires. Comme indiqué en partie 1, les nanoparticules cationiques sont plus réactives vis-à-vis des phospholipides et des protéines transmembranaires anioniques, pouvant augmenter le risque de rupture de la membrane plasmique par liaisons électrostatiques (47).

Enfin des interférences avec les milieux biologiques rencontrés peuvent survenir et modifier les paramètres intrinsèques aux nanomatériaux altérant les caractéristiques physicochimiques de ceux-ci (48).

Tenter de lister les effets indésirables par organe est par conséquent relativement ambitieux car dépendant de la dose d'exposition mais aussi des propriétés de chaque nanoparticule (49). Néanmoins, certaines toxicités sont régulièrement relatées.

Etant la voie d'exposition majeure des nanomatériaux environnementaux, les voies respiratoires sont souvent impactées. Il a été montré que toutes particules de diamètre supérieur à 2.5µm sont arrêtées dans les voies aérodigestives supérieures afin d'être excrétées grâce à la clairance muco ciliaire ; mais sont déposées au sein des régions alvéolaires dès lors que ce diamètre est inférieur à cette valeur (50). Par défaut d'excrétion, ces particules provoquent une inflammation chronique pro-fibrosante pouvant initier un processus tumoral.

La sphère cardio-vasculaire est elle aussi très exposée suite à l'inhalation de particules et l'on relate que cette toxicité est fortement liée à la charge de surface des particules : les charges cationiques telles que le polystyrène et les sels d'or sont ainsi très réactives avec les facteurs de coagulation. Quant aux particules dérivées de la combustion du diesel omniprésentes en milieu urbain, il a été montré que celles-ci provoquaient une vasodilatation importante chez les sujets touchés (51).

Suite à une exposition chronique, l'apparition de maladies neuro dégénératives peut aussi être relatée. Par deux mécanismes distincts, à savoir l'endocytose par les neurones après passage de la barrière hématoencéphalique mais aussi le transport trans-synaptique à travers l'épithélium olfactif suite à l'inhalation (passage nez-cerveau), on rapporte la production de corps radicalaires pouvant provoquer au long cours une toxicité sur le système nerveux central (52).

Pour finir, l'excrétion des nanoparticules par les macrophages hépatiques contribue à la sécrétion régulière de cytokines pro-inflammatoires conduisant à une altération des tissus et à l'augmentation du risque oncogène.

Malgré de nombreuses perspectives, il est important de souligner qu'aucune nanoparticule plus aboutie que les 1^{ère} et 2^{nde} générations n'est à ce jour commercialisée témoignant de la difficulté d'élaborer et d'industrialiser des nanoparticules plus complexes.

Et pour cause, plus ces vecteurs sont difficiles à concevoir, plus les problèmes peuvent survenir compromettant leur fabrication à grande échelle. Ainsi, on rapporte des soucis de stabilité avec des risques d'agrégation rendant la lyophilisation impossible ce qui limite grandement leur temps de conservation. Des difficultés d'incorporation des médicaments dans la matrice de ces nanoparticules sont aussi décrites. Des problématiques de ciblage peuvent être constatées lors des essais cliniques, de biocompatibilité ou de toxicités cumulatives pouvant induire des effets indésirables dramatiques pour les patients (23).

Enfin, il est aussi important de mentionner que la diversité des nanoparticules présentes dans le milieu de la recherche disperse le travail mené sur la sécurité de leurs emplois rendant difficile leur contrôle.

2^{NDE} PARTIE : REVUE SYSTEMATIQUE DES NANOPARTICULES EMPLOYEES DANS LES ESSAIS CLINIQUES DEPUIS 2001

I. Introduction

De par des limitations technologiques et ce, malgré une incitation dès la fin des années 50 par le physicien Richard Philips FEYNMAN dans son discours « There's plenty of room at the bottom » (53) à innover à l'échelle nanométrique, les premières avancées dans ce secteur ne virent le jour que 20 ans plus tard.

Toutefois, la promesse d'un marché fortement lucratif aux applications multiples a exacerbé l'engouement et les investissements dans ce domaine provoquant une avancée au rythme exponentiel. Ainsi, la Commission Européenne a estimé le marché des nanotechnologies tous secteurs confondus à 40 milliards de dollars en 2001 (54) passant à près de 3 000 milliards de dollars (dont 1 400 milliards pour les transistors informatiques) en 2015. Le marché médical avait même été estimé à lui seul à 1 300 milliards de dollars en 2020 (55).

D'une manière plus vaste, on remarque que le nombre de produits accrédités pour le marché mondial concerne de nombreuses disciplines, regroupant près de 9 000 produits (56) répartis sur 62 pays. Néanmoins, eu égard aux règles plus ou moins restrictives des différents pays concernés, le nombre de produits commercialisés varie à travers le monde. Certaines banques de données telles que « stat nano » tentent de répertorier les nombreux produits présents sur chaque marché national mais il est à ce jour difficile d'effectuer une liste exhaustive de ceux-ci. Pour exemple, le marché Français contenant 28 médicaments sous forme nanoparticulaire dont 3 eurent leurs AMM abrogées depuis 2018.

Rétrospectivement, il est observé un triplement des publications sur cette thématique entre l'avant dernière décennie et les dix dernières années témoignant du désir d'explorer ce sujet. Fortement aidés par les investissements issus du « National Nanotechnology Initiative » voté en 2000, les Etats Unis restent à ce jour le premier pays publiant dans ce domaine, suivi par la Chine et l'Europe propulsée par l'Allemagne (57).

Mais alors, ces avancées seraient-elles la panacée tant espérée ? Cette alternative permettrait-elle de résoudre les problèmes rencontrés lors de la formulation de médicaments ?

Bien que ces procédés permettent de répondre à certaines problématiques, il est tout de même important de nuancer ce discours : les recherches fondamentales sont certes conséquentes, en témoignent les 150 000 articles répertoriés sur MEDLINE avec le seul terme MeSH « Nanoparticle » mais ce nombre d'articles s'effondre à 583 dès que l'on ajoute à cette équation de recherche la restriction aux

seuls essais cliniques randomisés ou non. Cette constatation démontre à elle seule les difficultés rencontrées lors du passage en recherche appliquée transversale.

Partant de ce bilan, je me suis interrogé sur la dynamique de recherches concernant les nanoparticules. Pour ce faire, j'ai effectué une revue bibliographique portant sur les nanoparticules en essais cliniques pouvant donner lieu à l'émergence de futurs médicaments.

Dans cette revue systématique, mon questionnement sera triple : tout d'abord, nous étudierons les domaines de recherches proactifs dans l'utilisation de nanoparticules. Dans un second temps, nous analyserons les différentes classes de nanoparticules employées et enfin, nous nous intéresserons aux résultats de ces articles afin d'évaluer l'efficacité des nanoparticules à visée biomédicale.

II. Matériel et Méthodes

1. Algorithme de recherche

D'Avril à Mai 2021, une revue de la littérature scientifique a été effectuée en suivant les recommandations de la check list PRISMA (58).

A cette fin, une requête a été soumise aux moteurs de recherche Medline, Web of science et la librairie Cochrane. Les termes MeSH « Nanoparticles », « Vaccine » et « Drugs » ont été combinés dans les 3 systèmes de recherche selon l'algorithme décrit dans l'organigramme de la figure 8.

Nous avons limité notre champ d'investigation aux articles anglais datant de moins de 20 ans traitant des essais cliniques randomisés ou non et présentant au moins un groupe contrôle contre traitement de référence ou placebo. De plus, les évaluations pharmacocinétiques ont été exclues.

La méthodologie et la pertinence des objectifs ne furent pas des critères d'exclusion. Enfin, notre question principale étant d'évaluer la disparité des nanoparticules dans les essais cliniques, nous n'avons pas souhaité ajouter d'autres termes MeSH identifiant clairement une nanoparticule afin de ne pas biaiser notre réponse.

2. Extraction des publications et notation des études

L'ensemble des articles extraits suite à notre requête a été répertorié selon différents paramètres : le type d'essai, l'effectif de la cohorte, la pathologie étudiée, le principe actif vectorisé, la nanoparticule adoptée et les conclusions de l'étude.

La qualité des études a été évaluée à l'aide de scores obtenus de 2 façons différentes et convertis en pourcentage de façon à critiquer ce paramètre sur l'ensemble des articles.

- Les essais randomisés furent cotés par les 25 items du CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials) (annexe 1) (59) dont la finalité est de vérifier la qualité de la méthodologie et la validité des conclusions obtenues.
- L'échelle NOS (Newcastle Ottawa Scale) (annexe 2) (60) fut adoptée pour noter les essais non randomisés à l'aide de ses 9 items. Ceux-ci sont regroupés selon 3 thématiques : la représentativité des patients, la comparabilité avec les groupes témoins et la qualité des mesures effectuées.

En vue d'extraire les disciplines médicales fortement innovantes dans la nanomédecine, une classification a été effectuée selon la pathologie étudiée. Puis une pondération en fonction du principe actif vectorisé a été exécutée pour ne pas

surexposer les domaines dans lesquels des repositionnements de molécules sont opérés.

3. Analyse statistique

L'hétérogénéité des études et des critères principaux ne permet pas de mener de méta-analyses. Toutefois l'analyse de la distribution paramétrique du score de qualité a été effectuée par le test de Shapiro Wilk et la vérification des coefficients de Skewness et de Kurtosis : cette variable est représentée par sa moyenne et son écart type.

Les graphiques et tableaux sont issus du logiciel EXCEL (Microsoft, Etats-Unis) et GraphPAD Prism 6 (GraphPAD Software, Etats-Unis).

III. Résultats

1. Caractéristiques des études

Au total, 309 articles ont été intégrés dans notre champ de recherche : 121 publications proviennent du moteur de recherche Medline, 122 articles de Web Of Science et 66 publications sont issues de la Librairie Cochrane. En définitive, nous avons sélectionné 48 études dans cette revue systématiques suite aux différentes étapes d'exclusion présentées dans la figure 3.

Au sein de notre sélection, 36 études (75%) sont randomisées (Tableau V) contre 12 (25%) observationnelles (Tableau VI) et une seule (2%) est rétrospective. Les stades d'étude sont homogènes avec 14 de phases I et III contre 20 de phase II. Les effectifs des cohortes s'étalent de 6 à 4 636 patients concentrant majoritairement les plus gros effectifs pour les essais de phase III même si étonnamment, deux études de phase I présentent des effectifs de plus de 100 patients.

Enfin le score de qualité est de $71 \pm 14\%$ allant de 40 à 93% pour les études randomisées et de 56 à 100% pour les études observationnelles. L'échelle NOS étant plus permissive que les critères CONSORT, il n'est pas étonnant d'avoir un score inférieur dans les essais randomisés. De plus, la mise à jour de ces guidelines ayant eu lieu en 2010, il n'est pas anormal que certains articles antérieurs à celle-ci ne puissent satisfaire l'entièreté des items recommandés.

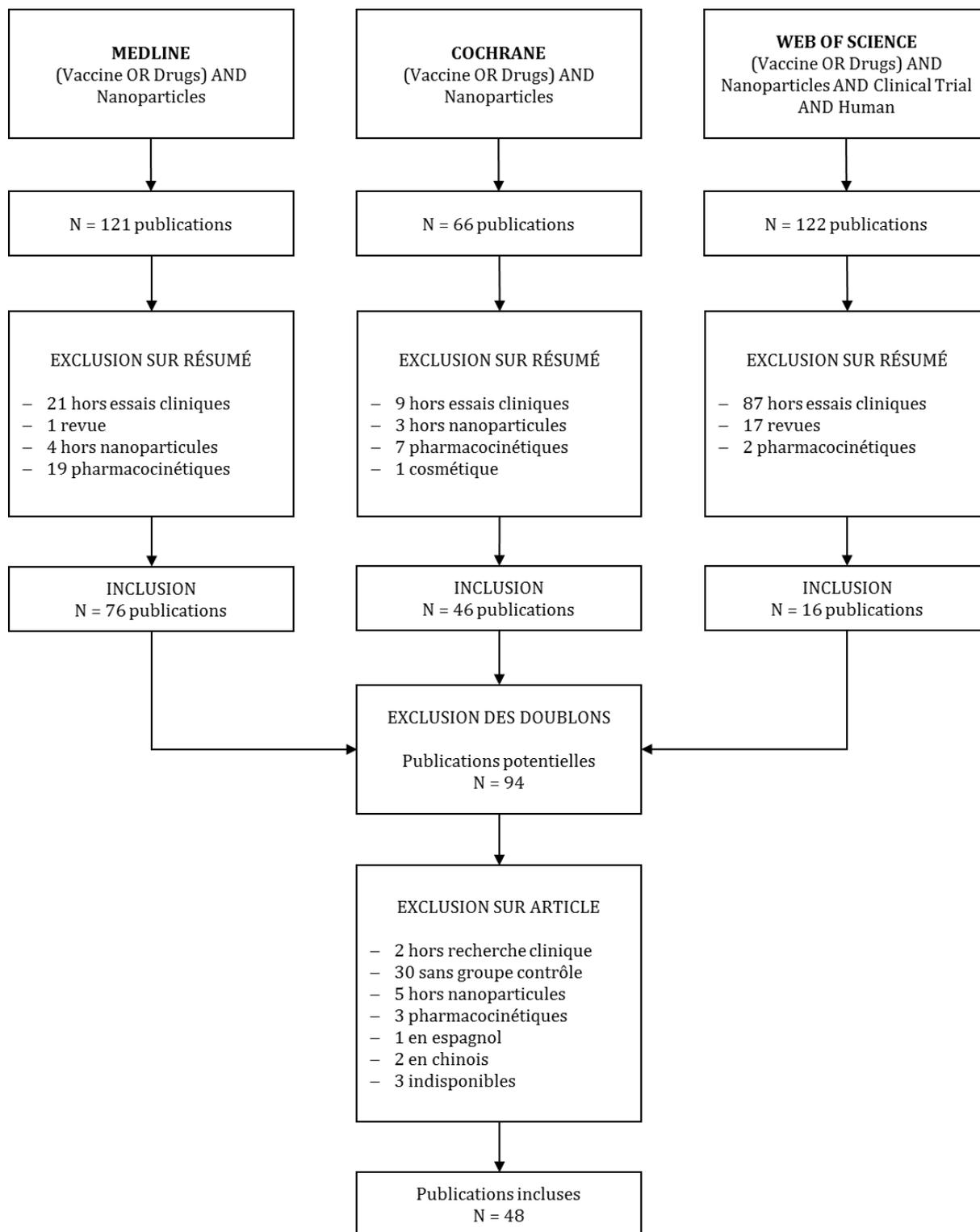


Figure 8. Organigramme des études sélectionnées.

Mots clés employés :

Medline : (Vaccine OR Drugs) AND Nanoparticles ; limites : 2001 à 2021, anglais, français, humains, Clinical Trial, Randomized Controlled Trial.

Cochrane Library : (Vaccine OR Drugs) AND Nanoparticles ; limites : 2001 à 2021, Trials.

Web Of Science : (Vaccine OR Drugs) AND Nanoparticles AND Clinical Trial AND Human ; limites : Anglais, Articles.

Tableau V. Liste des essais cliniques randomisés prospectifs.

Auteurs	Schéma des essais	Phase	Effectif	Pathologie	Principe actif	Nanoparticule	Conclusion	Qualité (%)
Orsini <i>et al.</i> (61)	DA contre traitement de référence	II	70	Hypersensibilité gingivale	Hydroxyapatite	Nanocristal	Diminution de la sensibilité gingivale.	73%
Waldbaum <i>et al.</i> (62)	DA contre placebo	II	132	Infection génitale	SPL 7013	Dendrimère	Diminution de la prévalence de vaginoses bactériennes.	84%
Cohen <i>et al.</i> (63)	DA contre placebo	I	54	/	SPL 7013	Dendrimère	Prévalence identique des effets indésirables.	84%
Roy <i>et al.</i> (64)	Ouvert contre traitement de référence	II	168	Cancer gastro-oesophagien	Irinotécan	Liposome	Aucune différence avec l'Irinotécan ou le Docétaxel.	73%
Glenn <i>et al.</i> (65)	Ouvert contre placebo	III	330	Infection à VRS	/	Nanoparticule virale	Augmentation de l'immunogénicité.	71%
M. Y. Chen <i>et al.</i> (66)	DA contre placebo	I	36	/	SPL 7013	Dendrimère	Prévalence identique des effets indésirables.	81%
Asadi <i>et al.</i> (67)	Ouvert contre placebo	II	80	Diabète	Curcumine	Nanosphère	Diminution de la dépression et de l'anxiété.	93%
Gianni <i>et al.</i> (68)	Ouvert contre traitement de référence	III	695	Cancer du sein	Paclitaxel	Nanoparticule d'Albumine	Aucune différence avec le Paclitaxel.	91%
Javadi <i>et al.</i> (69)	Ouvert contre placebo	II	65	Polyarthrite rhumatoïde	Curcumine	Nanomicelle	Aucun effet antalgique.	79%
McGowan <i>et al.</i> (70)	DA contre placebo	I	61	/	SPL 7013	Dendrimère	Prévalence identique des effets indésirables.	88%
Keech <i>et al.</i> (71)	DA contre placebo	I / II	131	Infection à SARS-CoV2	Matrix M	Nano émulsion	Prévalence identique des effets indésirables.	91%

J. Chen <i>et al.</i> (72)	Ouvert contre traitement de référence	II	120	Brûlure	Argent	Nanoparticule métallique	Aucune différence avec les particules d'argent.	60%
Fries <i>et al.</i> (73)	SA contre placebo	I	230	Infection à Ebola	/	Nanoparticule virale	Prévalence identique des effets indésirables.	79%
Gobbato <i>et al.</i> (74)	DA contre placebo	III	120	/	Lidocaïne / Prilocaine	Nanosphère	Diminution du score EVA.	86%
Wang <i>et al.</i> (75)	Ouvert contre traitement de référence	III	239	Cancer colorectal	Carbone	Nanoparticule métallique	Augmentation du nombre de ganglions résequés.	74%
Jurairattanapo rn <i>et al.</i> (76)	DA contre traitement de référence	III	64	Eruption acnéiforme	Argent	Nanoparticule métallique	Aucune différence des lésions acnéiformes.	72%
Pan-In <i>et al.</i> (77)	DA contre placebo	I	10	Eruption acnéiforme	Mangostine	Nanosphère	Diminution du score de sévérité de l'acné.	40%
Moddaresi <i>et al.</i> (78)	SA contre placebo	I	14	/	Vitamine E	Nanomicelle	Augmentation de l'hydratation cutanée.	45%
Simon (79)	DA contre placebo	III	200	Troubles du climatère	Œstradiol	Nano émulsion	Diminution des symptômes vasomoteurs.	54%
Kang <i>et al.</i> (80)	DA contre traitement de référence	II	40	Syndrome de Sjögren	Ciclosporine	Nano émulsion	Diminution du score de coloration de la cornée.	81%
El-Housiny <i>et al.</i> (81)	DA contre traitement de référence	II	30	<i>Pytirisias</i> <i>Versicolor</i>	Fluconazole	Nanoparticule Lipide - Solide	Diminution des lésions cutanées.	53%
Gudmundsdot tir <i>et al.</i> (82)	SA contre placebo	II	17	Hypertension intraoculaire	Dorzolamide	Nanosphère	Aucune différence avec le Dorzolamide.	57%

Ulmer <i>et al.</i> (83)	DA contre traitement de référence	II	12	/	Polihexanide	Nano émulsion	Diminution du nombre d'UFC recolonisante.	45%
Moscicki <i>et al.</i> (84)	DA contre placebo	I	54	/	SPL 7013	Dendrimère	Augmentation des cytokines pro inflammatoires.	55%
Chavoustie <i>et al.</i> (85)	DA contre placebo	III	501	Infection génitale	SPL 7013	Dendrimère	Diminution de la prévalence de vaginoses bactériennes.	83%
Zhang <i>et al.</i> (86)	DA contre placebo	III	225	Amyloïdose à transthyrétine	Patirisan	Nanomicelle	Diminution de la transthyrétine sérique.	73%
Van der Valk (87)	DA contre placebo	II	30	Athérosclérose	Prednisolone	Liposome	Aucune différence avec le placebo.	67%
Salem <i>et al.</i> (88)	SA contre traitement de référence	II	120	Syndrome des Ovaires polykystiques	Progestérone	Transethosome	Augmentation de la progestérone sérique.	70%
Pelzer <i>et al.</i> (89)	DA contre traitement de référence*	III	236	Cancer pancréatique	Irinotécan	Liposome	Augmentation du score Q-TWiST	63%
Madhi <i>et al.</i> (90)	SA contre placebo	III	4636	Infection à VRS	/	Nanoparticule Virale	Aucune différence avec le placebo.	85%
Coelho <i>et al.</i> (91)	SA contre placebo	I	49	Amyloïdose à transthyrétine	ALN-TTR01 ALN-TTR02	Liposome	Diminution de la transthyrétine sérique.	62%
Glenn <i>et al.</i> (92)	SA contre placebo	I	150	Infection à VRS	/	Nanoparticule Virale	Augmentation de l'immunogénicité.	63%
O'Loughlin <i>et al.</i> (93)	DA contre placebo	I	37	Infection génitale	SPL 7013	Dendrimère	Prévalence identique des effets indésirables.	58%
Sabouri <i>et al.</i> (94)	SA contre traitement de référence	I	10	Eruption acnéiforme	Acide Rétinoïque	Nano émulsion	Diminution du nombre de lésions acnéiformes.	53%

Ohira <i>et al.</i> (95)	Ouvert contre traitement de référence	III	22	Œdème maculaire	Dexaméthasone	Cyclodextrine	Non infériorité vis-à-vis du Triamcinolone.	64%
Abdolahi <i>et al.</i> (96)	DA contre placebo	III	80	Migraine	Curcumine	Nanosphère	Aucune différence avec le placebo.	62%

DA : Double Aveugle, SA : Simple Aveugle, * : essai rétrospectif, gris = multicentrique

Tableau VI. Liste des essais cliniques non randomisés prospectifs.

Auteurs	Schéma des essais	Phase	Effectif	Pathologie	Principe actif	Nanoparticule	Conclusion	Qualité (%)
Shiozaki <i>et al.</i> (97)	Ouvert contre groupe témoin	II	19	Athérosclérose	Paclitaxel	Nano émulsion	Aucune différence avec le groupe témoin.	67%
De Moraes <i>et al.</i> (98)	Ouvert contre technique de référence	I	8	Extraction dentaire	Chlorure d'aluminium de phthalocyanine	Nano émulsion	Aucune différence avec la technique de référence sur l'expression de VEGF.	78%
Venkatraman <i>et al.</i> (99)	Ouvert contre traitement de référence	I	22	Paludisme	Matrix M	Nano émulsion	Aucune différence d'immunogénicité.	56%
Gagliano-Jucá <i>et al.</i> (100)	DA contre placebo	III	95	/	Lidocaïne / Prilocaine	Nanosphère	Diminution du score EVA.	78%
Bruce <i>et al.</i> (101)	Ouvert contre traitement de référence	II	12	Cancer du rein	2-methoxy estradiol	Nanocrystal	Progression de la maladie tumorale.	67%
Takashima <i>et al.</i> (102)	DA contre traitement de référence	III	483	Cancer gastrique	Paclitaxel	Nanoparticule d'Albumine	Augmentation de la survie globale.	100%
Geho <i>et al.</i> (103)	SA contre placebo	I	6	Diabète	Insuline	Liposome	Diminution de la glycémie post prandiale.	78%
Sobhi et Sobhi (104)	SA contre traitement de référence	II	14	Mélasma	Vitamine C	Liposome	Aucune différence du score MASI.	89%
Mahmoud <i>et al.</i> (105)	Ouvert contre traitement de référence	II	28	Infection fongique cutanée	Oxiconazole	Lipidique solide	Diminution du score de gravité des lésions cutanées.	67%

Khalifa <i>et al.</i> (106)	SA contre traitement de référence	II	40	Insomnie	Zalepton	Nano émulsion	Diminution du score PSQI	56%
Shamma <i>et al.</i> (107)	DA contre traitement de référence	II	15	Eruption acnéiforme	Acide rétinoïque	Nano émulsion	Aucune différence avec l'Isotrétinoïne.	78%
Kouchak <i>et al.</i> (108)	DA contre traitement de référence	II	20	Glaucome à angle ouvert et Hypertension intraoculaire	Dorzolamide	Liposome	Diminution de la pression intra oculaire.	78%

DA : Double Aveugle, SA : Simple Aveugle, gris = multicentrique

2. Champs d'applications

Les études cliniques testant les nanoparticules touchent pratiquement toutes les spécialités médicales. Toutefois, la dermatologie, l'infectiologie, l'oncologie, la neurologie et l'ophtalmologie concentrent plus des deux tiers des articles de notre revue.

En appliquant une pondération par principe actif (PA) vectorisé, la représentativité de chaque domaine reste inchangée excepté la gynécologie très présente avant cette balance qui se retrouve alors déçue et ne constitue que 6% des études (Figure 9). Cette diminution est due aux essais débutés en 2006 du médicament SPL7013 en cours de positionnement et qui n'a à ce jour pas encore achevé ses tests cliniques (62,63,66,70,84,85,93).

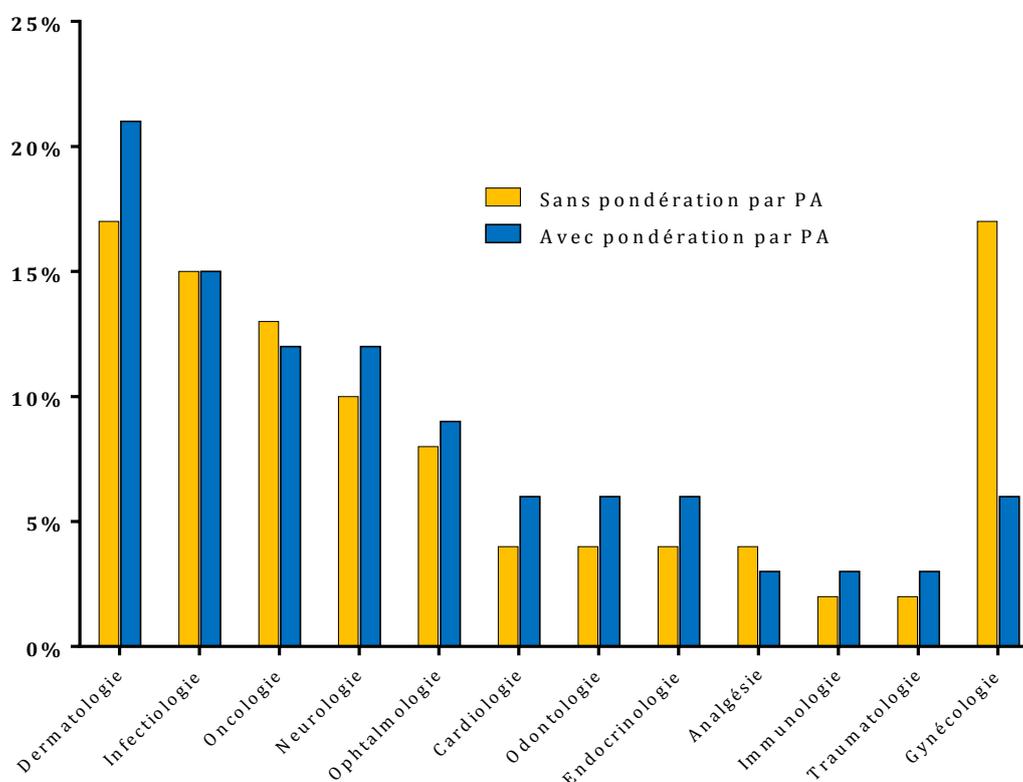


Figure 9. Histogramme des domaines médicaux concernés par la nanomédecine dans notre revue.

3. Nanoparticules évaluées

La famille des nanoparticules lipidiques est largement majoritaire avec près de 62% des essais répertoriés (Figure 10), cette catégorie ne présente pas d'attrait pour une spécialité médicale particulière. Non seulement, elle se retrouve dans différents domaines mais aussi selon différents modes d'administrations : topique, *per os* ou encore parentérale.

Arrivent ensuite les catégories plus spécifiques : en premier lieu, les nanoparticules polymériques suivies des nanoparticules virales adoptées uniquement pour des applications vaccinales. Puis en quatrième position, les nanoparticules métalliques développées pour faciliter les diagnostics en imagerie médicale. Enfin, les nanoparticules d'Albumine exploitées en oncologie pour la stabilisation du Paclitaxel et commercialisées sous le nom de Nab-Paclitaxel (ABRAXANE®) ne se trouvent qu'en dernier accompagnant les nano cristaux.

En dissociant la famille des nanoparticules lipidiques (Figure 5) par chacun de ses constituants, on observe que les trois quarts sont représentés par les émulsions, les liposomes et les dendrimères. Néanmoins, la proportion d'études employant ces derniers est à nuancer car elle ne concerne que les essais du SPL7013 et augmente artificiellement son utilisation de la même façon que précédemment.

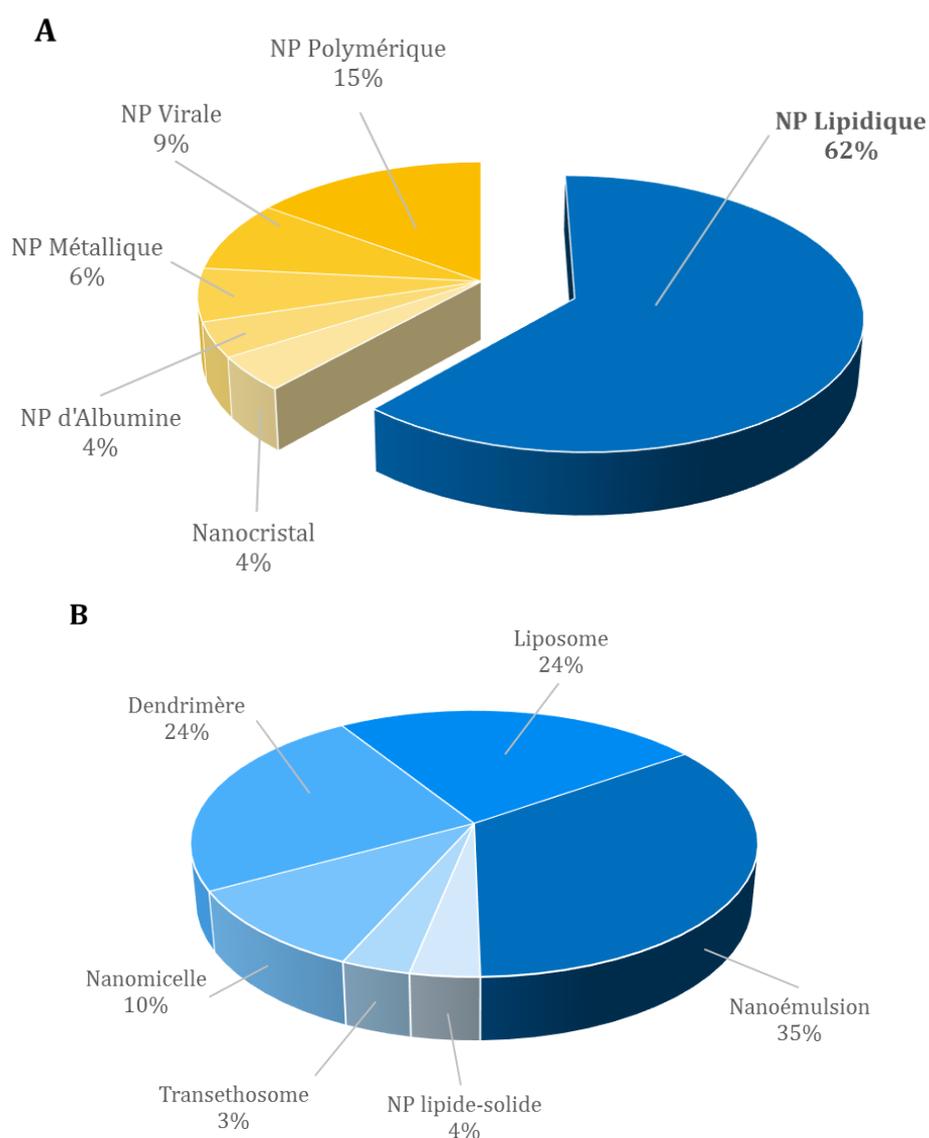


Figure 10. Diagramme en secteur des familles de nanoparticules (A) et détail des nanoparticules lipidiques (B) répertoriées dans notre revue.

4. Conclusion des études

A travers nos essais sélectionnés, nous observons une majorité d'essais de supériorité. En effet, 41 d'entre eux (85%) suivaient cette méthodologie contre 7 formulés selon le principe de non-infériorité.

Concernant la seconde catégorie, 6 essais (63,66,70,71,73,93) démontraient l'absence de différence quant à la survenue d'effets indésirables vis-à-vis du placebo.

Le dernier essai (95) avait pour but de justifier la non-infériorité de la Dexaméthasone vectorisée par des nanoparticules de cyclodextrine sur l'œdème maculaire constaté lors de la maladie diabétique. Opposée à l'injection de Triamcinolone dans la région sous tenon de l'œil, ce candidat médicament avait l'avantage d'une administration quotidienne par le patient à son domicile, évitant ainsi une hospitalisation de jour.

A propos des essais de supériorité, 25 (52%) (61,62,65,67,74,75,77–81,83,85,86,88,89,91,92,94,100,102,103,105,106,108) confirmaient une différence statistiquement significative en faveur des nanoparticules.

Sur les 16 restants, 14 (29%) (64,68,69,72,76,82,87,90,96–99,104,107) ne pouvaient conclure à une différence significative vis-à-vis du groupe contrôle.

Enfin, 2 essais attestaient d'une différence en défaveur des nanoparticules. Dès lors, on constatait une progression de la maladie tumorale à l'emploi de 2-méthoxyestradiol sous forme de nano cristaux dans le cancer du rein de stade avancé (101). Dans une moindre mesure, l'application du dendrimère vectorisant le SPL7013 (84) augmentait la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires au niveau vaginal des sujets traités.

IV. Discussion

1. Inclusion des articles

Malgré l'engouement pour les nanotechnologies, cette revue systématique n'a permis de sélectionner que 48 essais cliniques contenant au moins un groupe contrôle.

La première raison de cette restriction est l'algorithme de recherche adopté. En souhaitant ne privilégier aucune famille de nanoparticules, de nombreux articles traitant des nanoparticules lipidiques furent exclus. Pour exemple, la substitution du terme MeSH « Nanoparticle » par « Liposome » dans l'algorithme de Medline conduit à un résultat brut de 571 articles contre 121 inclus dans notre revue tout en conservant les mêmes critères de sélection qu'auparavant.

Ainsi, en nommant expressément le type de vecteur exploité dans leurs travaux, les auteurs s'inscrivent dans des thématiques fortes. Et pour cause, dans certains secteurs porteurs tels que l'oncologie, des repositionnements de spécialités déjà commercialisées contenant des nanoparticules sont en cours. Citons

l'ONIVYDE® (Irinotécan) (109,110), le CAELYX® / MYOCET® (Doxorubicine) (111,112) ou encore l'ABRAXANE® (Nab-Paclitaxel) (113,114) dont les études sont nombreuses afin d'étendre l'AMM à d'autres applications.

Suivant cette ligne directrice, les vaccins contenant des liposomes à l'encontre du SARS Cov-2 sont absents de notre revue systématique, notamment les vaccins à ARNm sous licence Pfizer-BioNtech (BNT162b2) (115,116) et Moderna (mRNA-1273) (117). La pandémie étant un terme extrêmement fort si bien que l'on ne retrouve dans aucun article les termes MeSH en référence aux vecteurs utilisés.

Dans une moindre mesure, de nombreux articles ont été exclus à défaut de groupes contrôles. Ceux-ci concernent principalement les maladies tumorales. De par la fragilité des patients et la perte de chance potentielle, des schémas contre placebo ne sont jamais envisagés : on retrouve donc dans notre revue uniquement des articles opposant la molécule testée au traitement de référence.

En conséquence, on retrouve de multiples essais d'escalades de doses de manière à vérifier l'optimum administrable (118,119) ou encore des mesures de survie globale (120,121) ou de réponse tumorale (122) consécutive au schéma employé.

2. Représentativité des nanoparticules

Notre travail nous a permis de mettre en évidence que la majorité des essais portent sur les nanoparticules lipidiques, secteur actuellement très actif de recherches. On remarque d'ailleurs dans cette revue que le liposome est la forme la plus représentée à l'image des médicaments administrés en France puisque 13 médicaments sur 28 font partie de cette catégorie bien que 3 formes liposomales eurent leurs AMM abrogées récemment.

En revanche, peu de principes actifs sous forme de nanocristaux sont présents dans les articles sélectionnés ce qui diverge du marché pharmaceutique moderne puisque qu'un quart des AMM octroyées dans notre pays portent sur ce type de design (Tableau VII). De même, l'absence des médicaments pegylés par ajout de polyéthylène glycol de divers poids moléculaires sont absents de notre revue. Cette constatation peut s'expliquer par des procédés de fabrication des nanocristaux et des médicaments pegylés plus simples que ceux utilisés pour les liposomes. L'effort de recherche a donc été moindre permettant un développement plus rapide de ces formes et l'acquisition plus aisée de leurs AMM.

Toutefois, il est important de noter que les liposomes de première génération tels que l'AMBISOME® et le CAELYX® ont tout de même été commercialisés dès la fin des années 90 et sont encore à ce jour énormément prescrits.

Tableau VII. Liste des nano médicaments en France.

Nom de Marque	DCI	Nanoparticule	Date d'obtention de l'AMM
ABELCET	Amphotericine-B	Nano émulsion	1997
ABRAXANE	Paclitaxel	Polymère	2008
ADAGEN	Pegademase	Médicament pegylé	<i>Sous ATU</i>
AMBISOME	Amphotericine-B	Liposome	1999
CAELYX	Doxorubicine	Liposome	1998
CIMZIA	Certolizumab	Médicament pegylé	2009
CLEVIPREX	Clévidipine	Nano émulsion	2012
COMINARTY	ARNm	Liposome	2020
COPAXONE	Glatiramer acetate	Polymère	2004
DAUNOXOME	Daunorubicine	Liposome	Arrêt en 2018
DEPOCYTE	Cytarabine	Liposome	Arrêt en 2018
DIPRIVAN	Propofol	Nano émulsion	1996
EMEND	Aprepitant	Nanocristal	2003
ETOMIDATE	Etomidate	Nano émulsion	2000
INVEGA	Paliperidone	Nano émulsion	2007
MACUGEN	Pegaptanib	Médicament pegylé	2006
MEGACE	Megestrol acetate	Nanocristal	1993
MYOCET	Doxorubicine	Liposome	Arrêt en 2020
NEULASTA	Filgastrim	Médicament pegylé	2002
ONCASPAR	Peg-L-asparaginase	Médicament pegylé	2016
ONIVYDE	Irinotécan	Liposome	2016
PEGASYS	Peginterferon alfa 2a	Médicament pegylé	2002
RAPAMUNE	Sirolimus	Nanocristal	2001
RENAGEL	Sevelamer	Nanocristal	2001
RITALIN LP	Methylphenidate	Nanocristal	2003
SOMAVERT	Pegvisomant	Médicament pegylé	2002
SPIKEVAX	ARNm	Liposome	2020
VIDUSYNE	Verteprorfine	Liposome	2000

Rouge : arrêt de commercialisation.

3. Efficacité

L'épopée du SPL7013 cristallise à elle seule les difficultés rencontrées lors du développement des nanoparticules à visée thérapeutique. Malgré 11 essais enregistrés sur www.clinicaltrials.gov depuis 2006 et terminés fin 2017, aucun dossier d'AMM n'a jusqu'alors été déposé auprès des organismes responsables.

En cause, des résultats peu convaincants démontrant majoritairement une fréquence identique d'effets indésirables comparativement au placebo. Déployé au départ pour la prévention de la transmission du VIH et d'HSV lors de rapports sexuels, les tentatives des dernières années avaient pour finalité de prouver son efficacité dans le traitement des vaginoses bactériennes (85).

A ce constat peu concluant s'ajoutent les 2 essais aux conclusions délétères et les 14 n'ayant pu mettre en lumière de différence significative entre le groupe contrôle et la forme vectorisée. Si bien que seulement la moitié de nos essais concluait à une différence en faveur des nanoparticules.

De plus, certains critères principaux retenus dans nos articles restants nous paraissent critiquables car totalement subjectifs apportant un important biais de contexte. En effet, la mesure de la sensibilité gingivale (61), du ressenti de la douleur par mesure sur l'échelle EVA sans recours à des méthodes complémentaires (74,100), de la dépression éprouvée par le patient (67) ou de la survenue de troubles du climatère chez les patientes ménopausées (79) limitent toute conclusion. Bien que l'échelle EVA soit classiquement adoptée en médecine pour mesurer l'efficacité de l'analgésie, elle est souvent couplée à d'autres outils tels que le questionnaire MPQ (123) ou la mesure quantitative de la prise d'antalgiques (124) afin d'augmenter l'objectivité des données rapportées.

De même, nous pouvons pointer la conclusion plutôt mensongère du score PSQI (106). On ne constate ici aucun changement du score global d'efficacité avec uniquement une diminution dans la sous-partie subjective complétée par le patient.

Après analyse de la méthodologie des articles restants, il apparaît que 4 articles possèdent un score aux items CONSORT inférieur à 60% (77,78,81,83,94). Ce score relativement bas est dû en partie à un souci de présentation des articles, n'influençant pas leurs conclusions. Cependant, l'absence de rationnel et de calculs pour déterminer l'effectif nécessaire, le manque d'explication concernant la méthodologie de randomisation et les effectifs très faibles peuvent altérer considérablement les conclusions relatées.

En conséquence, nous pouvons admettre objectivement que 14 des articles (62,65,75,80,85,86,88,89,91,92,102,103,105,108) intégrés à notre revue systématique concluent à l'efficacité des nanoparticules étudiées.

Sans surprise il s'agit d'essais traitant de l'utilité des nanoparticules lipidiques ou de l'ABRAXANE® administrés à visée thérapeutique.

Néanmoins, on remarque que 2 articles portent sur les nanoparticules virales. Bien que cette catégorie ne comporte à ce jour pas de spécialité à destination des

patients, elle présente un intérêt certain pour une application vaccinale. En effet, la diversité des virus à disposition comportant des tailles et des formes différentes octroie une modularité considérable à cette plateforme (125). L'idée dirigeant leur développement est le mimétisme d'une infection contractée naturellement au contact du sujet. Cette technologie permet l'infection des cellules de l'hôte afin de présenter via les CMH (Complexe Majeur d'Histocompatibilité) les antigènes vectorisés aux cellules immunitaires. Leurs constituants membranaires et les protéines virales leur confèrent ainsi une configuration spatiale propre optimisant fortement l'immunogénicité de l'épitope transporté.

Pour finir, le dernier article démontre la capacité d'une nanoparticule métallique à être captée par les ganglions sentinelles malades présents autour de la tumeur retirée et ainsi faciliter l'exérèse chirurgicale. Développées depuis des années, ces nanoparticules d'oxydes de fer ont été très efficaces dans la détection de maladie tumorale en imagerie par résonance magnétique. Des spécialités tels que le CLIAVIST® ou le l'ENDOREM® ont vu le jour mais furent retirées en 2011 et 2014.

V. Conclusion

L'effervescence autour des nanoparticules et leurs multiples possibilités théorisées dès les années 60 ont conduit à un développement très rapide dans de nombreux secteurs. Qu'il s'agisse de l'informatique, du génie civil, de l'aéronautique ou des produits du quotidien, les nanoparticules ont fait irruption dans notre monde de façon exponentielle ces 30 dernières années.

Bien que cette irruption soit plus perceptible dans les domaines cités ci-dessus, la pratique médicale a elle aussi été touchée. Ainsi, on retrouve de nombreux médicaments sous formes nanoparticulaires administrés majoritairement à but curatif. Toutefois, en listant ces médicaments en France, on constate que les AMM furent pour la plupart octroyées avant 2010 et que seulement 5 médicaments ont été nouvellement acceptés témoignant d'un ralentissement des innovations dans le domaine biomédical.

Partant de ce constat, notre revue systématique des nanoparticules testées en essais cliniques de 2001 à 2021 a mis en lumière un changement de conception des nouvelles nanoparticules. Etant donné que peu de nano cristaux étaient relevés dans notre étude, il semblerait que la dynamique de recherches soit maintenant tournée vers les formulations lipidiques.

Il est tout de même intéressant de noter que deux constats s'opposent concernant les nano cristaux : on retrouve peu de développement car les formes les plus simples sont d'ores et déjà commercialisées. D'autre part, les scientifiques se heurtent à l'impasse des quantum dots : une importante toxicité de cette famille de particules est relatée ne permettant pas d'envisager d'essais cliniques.

Malgré certaines déconvenues, l'avenir des nanoparticules lipidiques sera sans doute à suivre dans les années à venir. Citons pour exemple l'efficacité des vaccins contenant des liposomes encapsulant des ARNm dirigés contre la protéine Spike du SARS Cov-2. Les performances de ce nouveau modèle n'étant plus à prouver, il permettra sans doute un déploiement de cette stratégie à d'autres pathologies.

Pareillement, nous avons relevé plusieurs tests de nanoparticules virales mises à profit dans cet objectif vaccinal. En dépit de résultats peu convaincants dans nos articles, cet axe de recherche n'est qu'aux prémices de son développement et autorisera sans doute un accroissement de l'arsenal vaccinal dans les prochaines années, en témoigne la commercialisation de VAXZEVRIA®. Bien que son efficacité soit légèrement inférieure aux vaccins à ARNm, l'adénovirus délivrant la protéine Spike reste à ce jour un excellent modèle vaccinal.

De plus, nous avons par ce travail évalué la diversité des domaines médicaux impliqués dans ces recherches. Il est vrai que certaines spécialités se détachent telles que l'oncologie, l'infectiologie, la dermatologie ou la neurologie, ce qui est étroitement lié au marché actuel des médicaments nano particulaires. Toutefois, beaucoup d'autres domaines sont présents témoignant des diverses applications possibles.

Pour finir, l'évaluation de l'efficacité des produits testés furent notre dernier questionnement et nous avons relevé 29% d'articles permettant de conclure à l'intérêt de la vectorisation dans notre revue. Lors de notre étude, nous avons relevé 26 médicaments nano particuliers possédant une AMM à ce jour ; ce qui est relativement faible comparativement au marché global pharmaceutique français. Au vu des nombreuses propriétés intéressantes des nanoparticules décrites en première partie, nous pouvons raisonnablement affirmer que de multiples possibilités de développement sont encore envisageables.

Partant de ce constat, nous pouvons émettre deux hypothèses. Soit les conclusions des essais cliniques menées ne permettent pas d'admettre l'efficacité des molécules testées. Soit les recherches cliniques conduites sont insuffisantes freinant la commercialisation de nouveaux médicaments de cette famille. Nous pouvons apporter une réponse partielle à notre première hypothèse car le nombre d'essais cliniques en faveur de la vectorisation dans notre revue est assez limité. Bien que ce bilan ne soit que le reflet de notre étude portant sur 48 essais, cet argument est malheureusement en défaveur de l'intérêt de la vectorisation. Les essais cliniques étant coûteux, chronophages et incertains, l'inefficacité relatée dans les études antérieures pourrait être la raison du peu d'essais cliniques menés à ce jour avec des nanoparticules.

Il me paraît important de nuancer ces données : nos résultats ne concernent qu'une part minime des études menées sur les nanoparticules. Comme expliqué précédemment, l'utilisation de mots clés nommant spécifiquement une famille de particules auraient permis d'augmenter l'inclusion d'articles, ce qui potentiellement modifierait ce paramètre.

En dépit d'un résultat pouvant paraître décevant, il est à noter que ceux-ci peuvent permettre des avancées majeures dans le traitement de certaines maladies. Pour exemple les articles traitant de l'amyloïdose à transthyréine montrant une diminution significative de la transthyréine ou encore l'augmentation de la survie globale des patients atteints d'un cancer du sein métastatique sous ABRAXANE®.

Suite à cette revue systématique, nous avons pu mettre en évidence que peu de nanoparticules se retrouvent en essais cliniques et que la plupart des articles répertoriés s'articulent autour d'études fondamentales, pré cliniques ou de domaines hors médicaux. Nous avons de même remarqué l'omniprésence actuelle des particules lipidiques dans ces études, accompagnées des nano cristaux sur le marché pharmaceutique.

Dans la partie suivante, nous aborderons l'historique, les caractéristiques, et les procédés de fabrication. Pour finir, les applications des liposomes et des nanocristaux seront discutés.

3^{EME} PARTIE : LES PRINCIPALES FAMILLES DE NANOPARTICULES PRESENTES EN RECHERCHE ET SUR LE MARCHE FRANCAIS

I. Les Liposomes

1. Historique, description et composition

Lors de ses observations des phospholipides présents dans la lécithine d'œuf, le Dr Alec Douglas BANGHAM (126) découvre ces particules en 1965. Ses études décrivent la formation spontanée d'une bicouche lipidique visible uniquement avec les liposomes. Cette caractéristique est due à l'orientation des parties hydrophobes vers l'intérieur des membranes devenant inaccessibles pour l'eau et des têtes polaires vers le solvant (Figure 11). Il remarquera par la suite que ces vésicules sont capables d'inclure dans leur compartiment aqueux divers principes actifs.

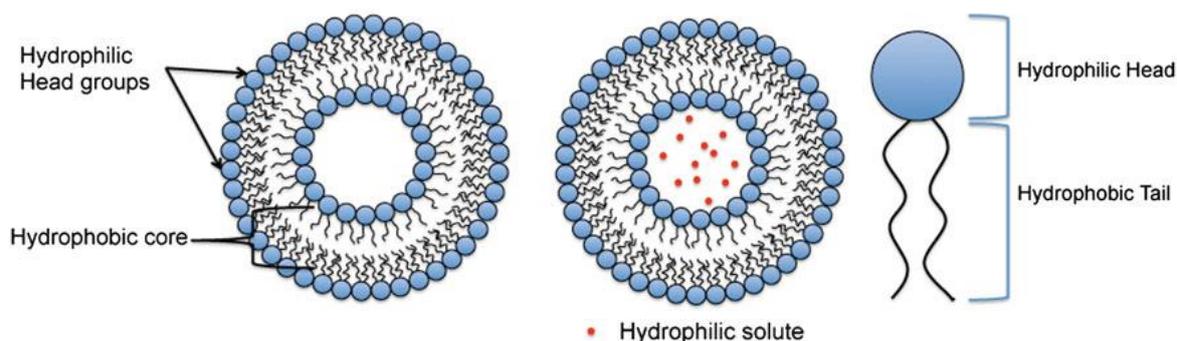


Figure 11. Représentation schématique de liposomes.

Décrites comme des particules de formes irrégulières (sphériques, tubulaires ou ovoïdes) et de tailles variables allant de 30 nm à 10 μ m, celles-ci diffèrent des micelles (monocouche de phospholipides) de bas poids moléculaire de par la formation d'une vésicule fermée composée d'une bicouche phospholipidique entre 2 compartiments aqueux.

Les différents types de liposomes sont caractérisés par la structure de leurs membranes : une seule bicouche pour les SUV (Small Unilamellar Vesicle) et les LUV (Large Unilamellar Vesicle) ou plusieurs bicouches consécutives soit ordonnées pour les MLV (Multilamellar Vesicle) soit désordonnées avec les MVV (Multivesicular Vesicle) (Figure 12).

Cette structure particulière constitue un excellent vecteur médical (127) que le principe actif soit hydrophile ou hydrophobe. En effet, le compartiment aqueux au centre des vésicules ou la bicouche phospholipidique en périphérie rendent possible la vectorisation quelles que soient les propriétés chimiques des médicaments.

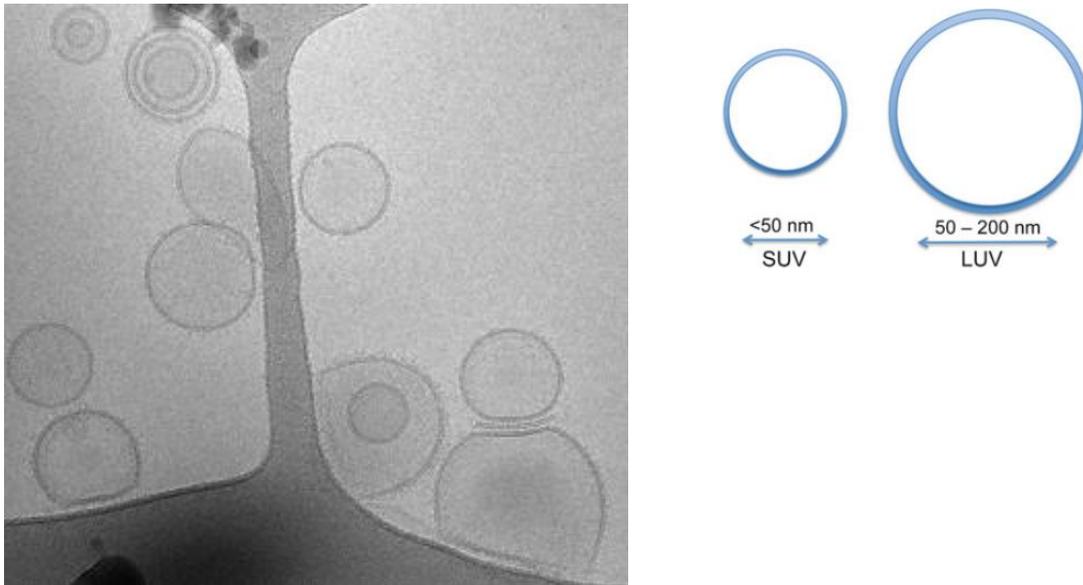


Figure 12. Observation en cryomicroscopie électronique et représentation schématique des différents types de liposomes.

Historiquement composés de phospholipides tel que la phosphatidylcholine provenant de l'œuf ou du soja, des optimisations sont apparues au fur et à mesure avec en premier lieu la substitution par des lipides semi-synthétiques utilisés dans le domaine médical comme le 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DPPC), le 1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DSPC), ou encore le 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DOPC).

A ces phospholipides peut être intercalé entre les chaînes hydrophobes du cholestérol afin de stabiliser la membrane lors du contact avec le compartiment plasmatique. De plus, ce dernier optimise les facultés d'encapsulation de principes actifs (127). Il existe toutefois des liposomes élaborés sans cholestérol donnant de bons résultats (128).

Pour finir, beaucoup de liposomes en cours de développement ou sur les marchés ne peuvent être resuspendus après lyophilisation. L'ajout de poly(éthylène-glycol) ou de lipides pegylés limite l'agrégation des liposomes (129) et présente donc un intérêt certain concernant la logistique de ces médicaments.

2. Caractéristiques des liposomes

Schématisés sur la figure 13, les phospholipides employés font partie de la famille des phosphoglycérides et contiennent une queue apolaire ainsi qu'une tête polaire.

La queue hydrophobe est composée d'un squelette de glycérol invariable et de deux acides gras de longueur variable allant majoritairement de 14 à 18 carbones non nécessairement identiques en position 1 et 2 du glycérol. On retrouve en position 3 la tête hydrophile constituée d'un phosphate estérifié par des groupements polaires divers telles que la choline, l'éthanolamine, la sérine, le glycérol ou encore l'inositol.

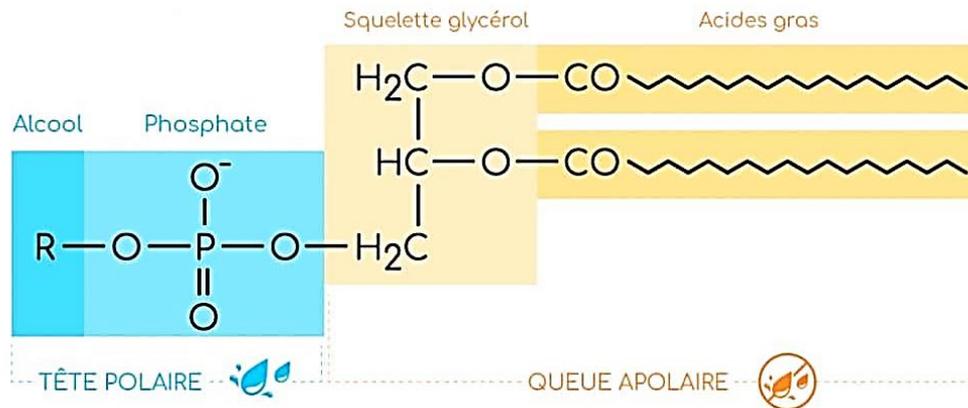


Figure 13. Schéma des phospholipides.

Lors de la synthèse du liposome, il sera accordé un soin particulier au choix du phospholipide majoritaire. Sa composition chimique, la longueur des chaînes des acides gras et le nombre d'insaturations influenceront fortement la température de transition de phase ce qui modifiera les conditions de synthèse.

De plus, ce choix façonnera les propriétés finales de la particule, notamment le potentiel zêta de surface des liposomes, paramètre non négligeable lors des interactions cellulaires. Les alternatives proposées permettront d'envisager le ciblage de certaines populations cellulaires ou auront un usage plus propice à certaines applications.

2.1. Température de transition de phase (TC)

La température de transition de phase est un paramètre thermodynamique correspondant au point thermique au-dessus duquel le gel préparé passe d'un état ordonné à un état liquide désordonné. Celle-ci est dépendante de la taille de la chaîne d'acide gras (augmentant avec le nombre de carbones) et du degré d'insaturation (diminuant avec le nombre de doubles liaisons entre les carbones composant cette chaîne) (128).

Ce paramètre a toute son importance car il est impératif de conserver la température de la préparation au-dessus de la TC durant toute l'étape de synthèse. De plus, la TC influence aussi la libération du PA avec une tendance à la conservation lorsque la TC est élevée (129).

2.2. Charge de surface et groupement de tête

Différents groupements agissent sur le potentiel zêta des liposomes : neutres dans le cas de la phosphatidylcholine ou la phosphatidyléthanolamine ou négatifs avec la phosphatidylglycérol et phosphatidylsérine.

La phosphatidylsérine peut être reconnue par les cellules phagocytaires (130), faculté intéressante lorsque l'on choisit de cibler cette population cellulaire particulière. Il est toutefois remarqué que cet ajout peut induire de nombreux effets indésirables tels que vasoconstriction, hypertension artérielle pulmonaire, dyspnée, leucopénie,

thrombocytopénie (131). Ces observations toxicologiques peuvent être généralisées aux autres lipides anioniques.

Les lipides cationiques ne sont pas exempts de phénomènes toxiques souvent liés à la clairance de ces liposomes par les cellules immunitaires (132). Dans ce cadre, d'autres applications sont envisageables : les DOTMA (N-[1-(2, 3-dioleoyloxy) propyl]-N-trimethyl ammonium chloride) sont des lipides de synthèse spécialisés dans la vectorisation de gènes. En fusionnant facilement avec les membranes plasmiques ou endosomales, ces particules sont capables de déposer l'ADN ou les siRNA au niveau cellulaire (133).

Concernant ces toxicités, le recours aux PEG entourant les liposomes permet de limiter ces effets et de diminuer la clairance du liposome après une administration IV (135). Ces propriétés ont d'ailleurs déjà été mises à profit pour la vectorisation d'anthracyclines que nous étudierons dans la dernière partie.

2.3. Degré de saturation

Le degré de saturation est aussi à considérer car la stabilité du produit final diminue avec l'augmentation des insaturations des chaînes carbonées tout en augmentant le risque d'oxydation.

Dans le but de résoudre ces problèmes de stabilité, les lipides d'origine naturelle initialement sélectionnés dans l'élaboration des liposomes ont très rapidement été substitués par des lipides de synthèse présentant moins d'insaturations.

3. Méthodes employées dans la fabrication des liposomes

La fabrication des liposomes est constituée de 4 étapes (Figure 14) comprenant de multiples techniques possibles modifiant *in fine* les propriétés des nanoparticules obtenues.

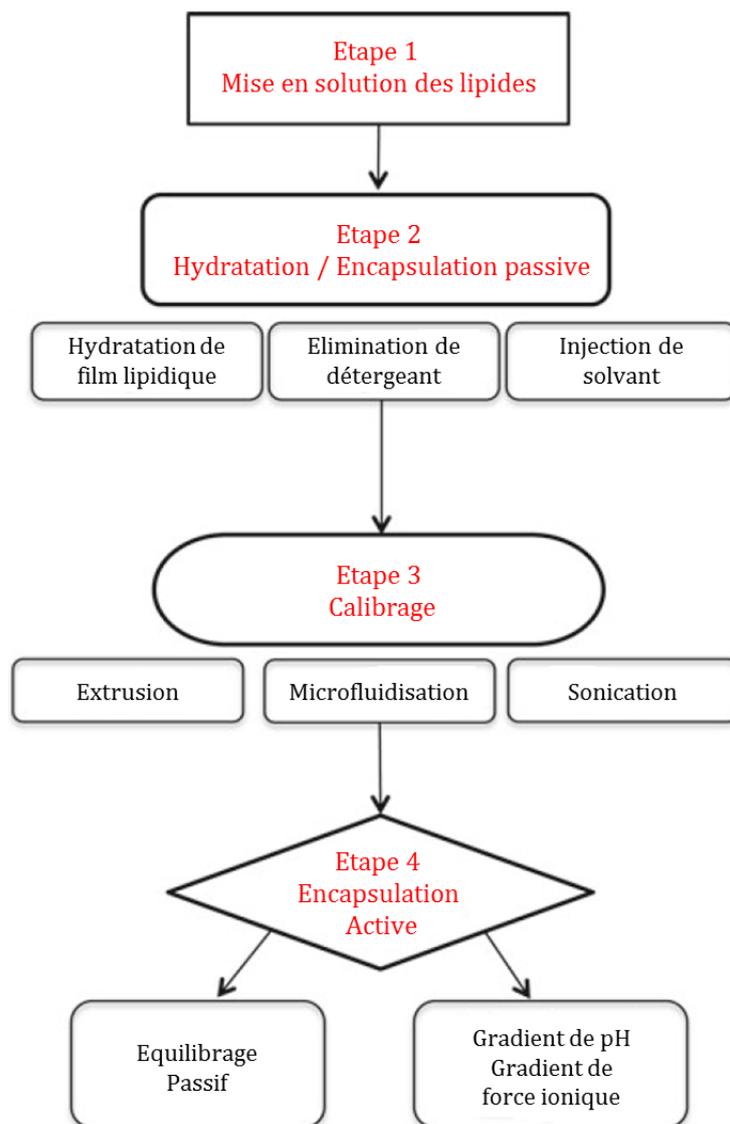


Figure 14. Techniques conventionnelles pour la fabrication des liposomes.

Selon la méthodologie choisie, les principes actifs sont encapsulés passivement avant que le liposome soit formé ou de façon active lorsque le liposome est déjà existant via la création de gradient de pH, de force ionique ou de concentration.

Les phénomènes actifs sont certes plus efficaces mais sont aussi beaucoup plus complexes et coûteux à mettre en place à l'échelle industrielle. C'est pourquoi nous retrouvons surtout des encapsulations passives dans les process industriels en ajoutant le médicament soit dans la phase aqueuse soit dans les lipides selon son hydrophobicité lors de la première étape ou de l'hydratation du film lipidique en seconde étape.

Plusieurs variables influencent la capacité d'encapsulation de chaque liposome et nécessitent une mise au point dès les étapes de fabrication.

Le volume d'encapsulation en lien avec la quantité de lipides présente en solution calculé en rapportant le diamètre de chaque vésicule au nombre de liposomes par μmol de lipides est un paramètre à ne pas sous-estimer.

La quantité de médicament contenue dans le liposome à la fin de l'opération sera inférieure à celle théorique due au fait que l'eau pénètre plus rapidement dans les vésicules en formation que le soluté (136). Enfin pour une meilleure distribution du soluté, on utilise la méthode de gel / dégel à répétition avec une température de dégel inférieur au TC du phospholipide majoritaire (137).

Pour la suite de cette partie nous détaillerons les différents processus d'hydratation et de calibrage les plus rencontrés dans la conception de liposomes.

3.1. Hydratation de film lipidique

La première étape consiste classiquement en la solubilisation de lipides anhydres dans un solvant organique comme le cyclohexane ou le chloroforme. Certains lipides nécessiteront l'ajout d'éthanol ou de méthanol pour obtenir une dissolution complète. Cette solution subira par la suite une étape d'évaporation permettant d'obtenir un film lipidique exploitable dans l'étape d'hydratation indispensable à la formation spontanée de liposomes.

En hydratant le film lipidique avec une phase aqueuse composée d'eau distillée ou de tampon particulier, on obtient spontanément des liposomes de morphologie variable lorsque la température est au-dessus de la TC. Contrôler la température, le temps d'hydratation, la vitesse d'agitation, le pH de la solution, la force ionique, la concentration et la charge des lipides est indispensable pour obtenir des MLV homogènes.

Pour exemple, une solution de lipides chargés produira naturellement des MLV de petites tailles pouvant même devenir des LUV après traitement mécanique lors de l'étape de calibrage (126).

3.2. Elimination de détergent

La solubilisation des phospholipides s'effectue ici grâce à des détergents tels que le Triton X-100 ou le Tween 20 permettant d'obtenir une solution limpide de lipides. La quantité introduite sera ajustée au-dessus de la concentration micellaire critique propre aux tensio-actifs conduisant à la formation de micelles (134).

En éliminant progressivement par évaporation le détergent, les micelles s'organisent, se chargent en phospholipides et forment des liposomes uni lamellaires. Contrairement au procédé d'hydratation de film lipidique, les étapes de calibrage ne sont pas obligatoires mais une dialyse ou une chromatographie d'exclusion est nécessaire pour éliminer les résidus de tensio-actifs (135,136).

3.3. Injection de Solvants Organiques

Dans cette méthode, la phase organique contenant les phospholipides dissous dans l'éthanol est introduite à l'aide d'une seringue dans de l'eau sous agitation (137). Lors de cette synthèse, la température doit être maintenue au-dessus de la TC pour

former par précipitation des fragments de bicouches lipidiques s'assemblant pour constituer des liposomes (138) puis une évaporation est opérée pour supprimer toute trace de solvant. De même que précédemment, ce processus ne nécessite pas d'étapes de sonication, d'extrusion ou de micro fluidisation.

La simplicité de ce système et sa polyvalence pour encapsuler de nombreuses substances hydrophobes ou hydrophiles sont des arguments en faveur de son utilisation. De plus, la reproductibilité des résultats obtenus, son faible coût et la possibilité d'un déploiement à l'échelle industrielle accentuent l'intérêt de cette technique.

3.4. *Sonication*

La sonication est un moyen très simple et couramment employé en laboratoire pour réduire la taille des MLV obtenus après hydratation du film lipidique. On utilise pour cela des ultrasons de fréquences comprises entre 40 et 500 KHz induisant une pression sur l'échantillon de liposomes. Cette force exercée de façon cyclique toutes les 20 secondes pendant 10 à 15 min sur les liposomes conduit à la cassure de ceux-ci en vésicules uni lamellaires de diamètre inférieur à 150 nm.

Dans cette optique, on recourt à 2 appareils : soit un bain à ultrasons dans lequel est déposé l'échantillon à sonicer, soit une sonde à ultrasons introduite dans la solution de MLV.

Le résultat final étant conditionné par la composition en lipides, leur concentration, la température, le volume d'échantillon, la durée des cycles de sonication, la fréquence des ultrasons appliquée (139) ; il n'est pas rare d'obtenir des échantillons légèrement différents d'une production à l'autre.

D'autres inconvénients sont à déplorer avec un risque de dégradation à la fois des phospholipides composant les liposomes mais aussi du PA encapsulé. De plus, recourir aux sondes à ultrasons composées de titane nécessite une filtration de l'échantillon à l'aide d'une membrane de 0,45 μm afin de s'assurer de l'absence de particules métalliques dans le produit commercialisé (140).

Enfin, l'hétérogénéité des populations de SUV dans la solution finale rend difficile l'estimation de la capacité d'encapsulation (141). Cette dernière étant corrélée au faible volume du compartiment aqueux des liposomes, elle peut donc être variable selon les échantillons.

3.5. *Extrusion*

L'extrusion est une alternative permettant la transformation de MLV en LUV ou SUV. Pour ce faire, deux dispositifs basés sur le même principe sont possibles.

Dans le premier cas, une suspension de liposomes traverse sous 10 à 20 bars de pression des membranes de polycarbonate permettant l'obtention des nanoparticules de taille avoisinant le diamètre des pores (139,142). En passant à travers des membranes successives de porosité décroissante, les vésicules se

rompent et se réarrangent spontanément conduisant à l'homogénéisation des liposomes en solution. L'inconvénient majeur est la faible capacité d'encapsulation pour les mêmes raisons que précédemment.

Dans la seconde possibilité, les MLV subissent de multiples cycles d'injection sous un gradient de pressions allant de 200 à 2000 bars dans une chambre de presse de diamètre calibré (143). Contrairement à la sonication, la presse de French ne dégrade pas les liposomes mais provoque une forte hausse de la température de l'échantillon lors de son extrusion ce qui peut être limitant pour les PA thermosensibles.

3.6. Microfluidisation

Le Microfluidizer® est une technologie plus récente dans lequel les MLV traversent un filtre de 5µm de diamètre sous 700 bars de pression. Le flux d'écoulement est ensuite guidé vers deux canaux en Y et aboutissent dans une chambre dans laquelle la haute vitesse des particules provoque des impacts entre liposomes (Figure 15). Ces interactions réduisent leurs tailles et forment de petites vésicules homogènes après de multiples passages (144).

La microfluidisation est bien plus onéreuse que les précédentes alternatives mais les avantages sont nombreux et les inconvénients très limités. De grands volumes de liposomes sont synthétisés dans des conditions stériles, de façon continue et reproductible. La taille moyenne des liposomes peut être ajustée selon le nombre de cycles sélectionné. Contrairement aux autres procédés, les solutés ne sont pas exposés aux ultrasons, ni aux détergents ou aux produits organiques pouvant les altérer (145). De plus les capacités d'encapsulation des PA sont parmi les meilleurs rendements relevés.

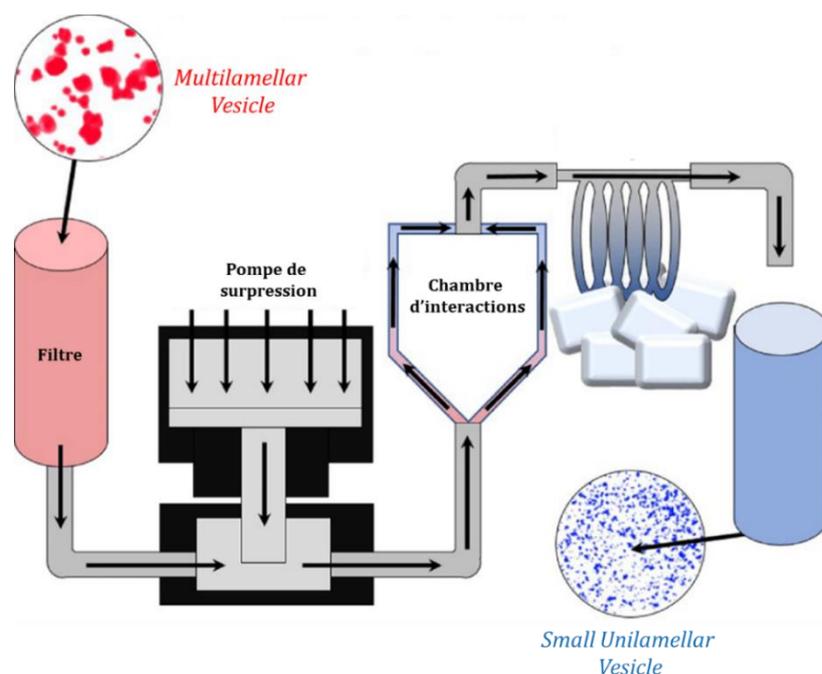


Figure 15. Schéma d'un Microfluidizer®.

4. Conservation des Liposomes

Lors de la phase de post production, ces nanoparticules sont soumises à des problématiques d'agrégation et de dégradation altérant l'intégrité des liposomes tant d'un point de vue physique que chimique. Pour contrecarrer ce souci, la conservation sous forme congelée ou lyophilisée fut envisagée.

4.1. Stabilité des liposomes

D'un point de vue physique, les forces de Van Der Waals provoquent la formation d'agrégats augmentant la taille et l'hétérogénéité des vésicules en solution. Afin de prévenir la manifestation de ce phénomène, l'emploi de phospholipides positifs ou négatifs augmente les charges électrostatiques répulsives entre chaque liposome (146) réduisant l'effet des forces attractives.

Pareillement, nous pouvons mentionner l'ajout de cholestérol ou de polymères de polyéthylène glycol à leur surface servant de stabilisant. En empêchant les contacts inter particulaires par encombrement stérique, ce greffage accroît non seulement la stabilité de la suspension mais limite aussi les interactions avec les molécules d'opsonines présentes dans le compartiment vasculaire ralentissant la clairance des liposomes pegylés (147,148).

La seconde problématique détectable concerne l'altération chimique des phospholipides bouleversant l'intégrité de la bicouche phospholipidique occasionnant la libération du PA encapsulé.

La peroxydation des phospholipides (Figure 16) est une réaction catalytique conduisant à la formation de corps radicalaires par oxydation des chaînes d'acides gras polyinsaturés. Pour réduire ces réactions, des chaînes d'acides gras saturés sont sélectionnées. Ces interactions étant activées par les rayons UV, en présence d'oxygène et de chaleur (149) ; les industriels conditionnent les produits sous argon et favorisent le stockage à 4°C à l'abri de la lumière.

Des réactions d'hydrolyse des liaisons esters peuvent survenir libérant dans le milieu l'acide gras et un lysophospholipide. Une seconde hydrolyse est possible au niveau de liaison ester entre le phosphate et la molécule polaire conduisant à la synthèse d'un acide glycérophosphorique (Figure 17) modifiant fortement la configuration du liposome (150). Cette réaction étant altérée par des changements de pH et de température, la stabilisation de la solution à un pH neutre et le stockage à 4°C limitent de la même façon que précédemment la survenue de ces réactions (151).

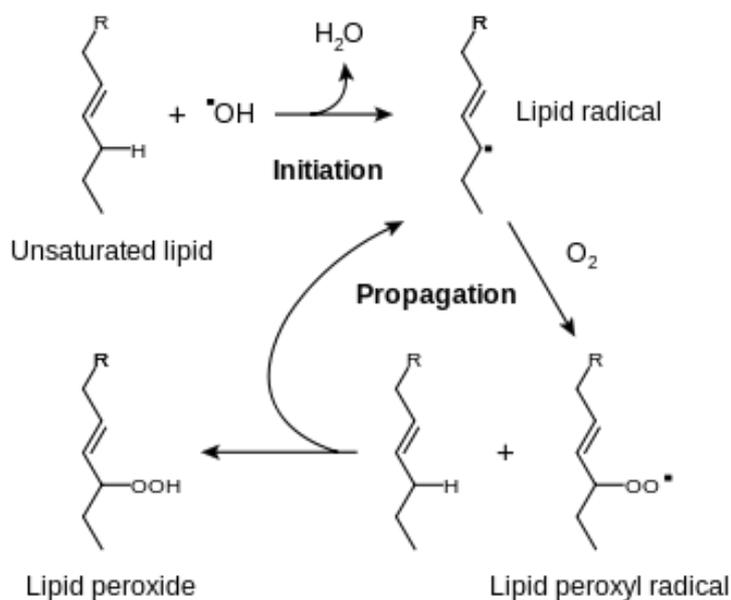


Figure 16. Réaction de peroxydation des acides gras.

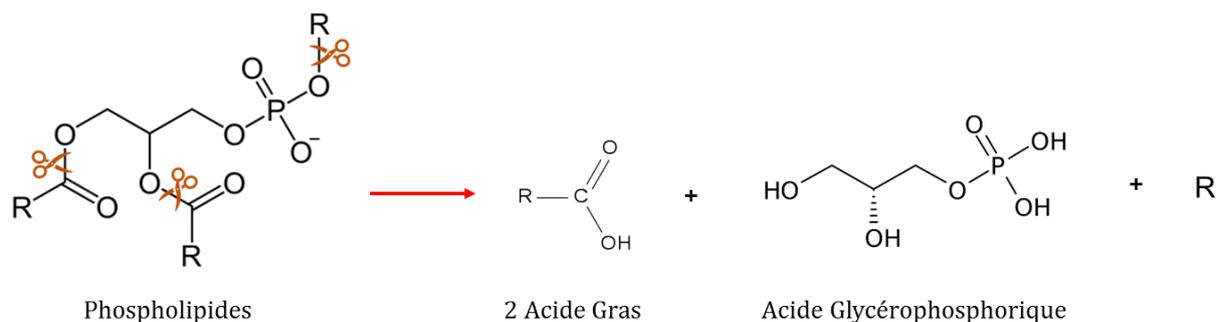


Figure 17. Réaction d'hydrolyse des phospholipides.

4.2. Lyophilisation des liposomes

Comme décrit dans le tableau VII, 6 médicaments sont actuellement sur le marché français sous forme liposomale. L'industrie pharmaceutique a donc dû garantir l'intégrité de ces médicaments sur les durées de stockage énoncées de sorte qu'il fut nécessaire d'apporter des réponses aux problématiques évoquées ci-dessus. Pour ce faire, des procédés de lyophilisation retirant l'eau contenue dans les produits en 3 étapes ont été évoqués (152).

La congélation est une phase de dessiccation obligatoire permettant de transformer l'eau de l'état liquide à solide. En passant à l'état cristallin, le solvant se sépare des liposomes pour former de la glace, le soluté se cryoconcentre alors au sein d'une phase visqueuse jusqu'à solidification complète. Cette partie implique une congélation lente dépendante des volumes, à une température précise comprise entre -80°C et -20°C selon un temps défini afin de ne pas dénaturer les produits.

A cette étape, l'eau encore présente dans l'échantillon doit être sublimée progressivement. Pour soustraire la glace du médicament, le lyophilisateur transforme

l'eau solide vers un état gazeux sans transition sous forme liquide en appliquant dans une chambre en basse pression une température négative. Lors de ce « séchage primaire », la température de la chambre est maintenue constamment en dessous de la température de collapse (153) pour ne pas effondrer la structure de la partie sèche devenue poreuse en soustrayant l'eau et ainsi maintenir son intégrité lors de la réhydratation.

A la fin de la sublimation, l'humidité est de l'ordre de 10 à 20% nécessitant une période de dessiccation secondaire aussi appelée « désorption ». L'objectif de cette étape étant de retirer l'eau liquide adsorbée à la surface des pores garantissant la stabilité du produit au long cours. A cet effet, la température des surfaces dans le lyophilisateur est augmentée graduellement en vue de se rapprocher de la température de collapse et ainsi éliminer l'humidité résiduelle (153). Bien que la sublimation puisse prendre plusieurs jours, le séchage secondaire est quant à lui plus rapide de l'ordre de quelques heures.

En traitant les suspensions liposomales par lyophilisation, nous outrepassons ces problématiques de conservation. Néanmoins, cette étape supplémentaire peut apporter d'autres problèmes.

L'étape de congélation est une phase critique du processus astreignant les industriels à d'abondantes mises au point. Mal conduite, celle-ci peut engendrer la formation de cristaux de glace au sein de la bicouche phospholipidique modifiant sa structure. Dans un second temps, la déshydratation peut être responsable de phénomène de fusions interparticulaires formant des agrégats et altérer ou provoquer un relargage du PA encapsulé.

Pour préserver les caractéristiques initiales des liposomes, l'ajout de cryoprotecteur comme des sucres (154) (tréhalose, mannitol, dextrose, saccharose) ou de glycérol (155) en amont de la lyophilisation atténue ces complications. Lors de l'étape de déshydratation les molécules d'eau comprises entre les têtes polaires des phospholipides sont lentement substituées par le cryoprotecteur (Figure 18.E) maintenant un espace entre chaque phosphate ce qui limite les forces de Van Der Waals. Lors de la reconstitution, les liposomes conserveront leurs aspects originels (Figure 18.F). Comparativement, la congélation sans ajout de polysides ne bloque pas les forces attractives (Figure 18.B) se traduisant par des défauts de conformation lors des étapes de séchage visible lors de la réhydratation du lyophilisat (Figure 18.C et D).

Cette alternative a d'ailleurs été envisagée lors de la recherche portant sur la vectorisation des anthracyclines par des liposomes afin de stabiliser le médicament lors de son stockage (156) abordé en 4^{ème} partie.

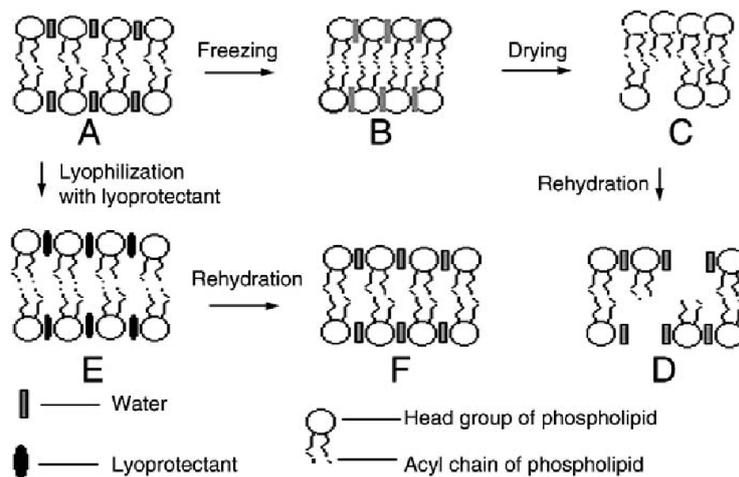


Figure 18. Schéma de la lyophilisation avec et sans cryoprotecteur (157).

5. Domaines d'application des liposomes

Malgré des débouchés dans diverses industries non médicales telles que l'agro-alimentaire pour optimiser la délivrance d'arômes, d'exhausteurs de goût (144) ou le textile pour maintenir plus longtemps les couleurs des tissus (158) ; les liposomes sont les nanoparticules les plus étudiées à ce jour dans la délivrance de PA. Les possibilités de cette plateforme abondent et avec uniquement 6 médicaments sur le marché Français, nous pouvons aisément affirmer que nous ne sommes qu'aux prémices de cette technologie.

Bien des difficultés sont à surmonter lors de ces recherches mais la propriété la plus intéressante est sans nul doute l'ajout de ligand ou de protéines sélectionnées à leur surface permettant des interactions avec des récepteurs préalablement choisis ou des cellules immunitaires présentes sur le site d'intérêt (159). La protection des PA encapsulés vis-à-vis de la dégradation prolongeant ainsi sa demi-vie ou encore la diminution d'évènements indésirables en limitant l'impact aux sites souhaités parachèveront ce tableau. Pour finir, l'extravasation préférentielle des LUV au niveau des réseaux vasculaires perturbés en font des armes particulièrement efficaces pour atteindre les tumeurs où l'angiogenèse est anarchique (160).

5.1. Oncologie

Très prometteuses, les recherches en oncologie ont d'ores et déjà abouti à la commercialisation de la Doxorubine liposomale sous forme non pegylée (MYOCET® dont l'AMM a été retirée en 2020) et pegylée (CAELYX®). Ce modèle particulier d'anthracycline a été mise sur le marché afin de diminuer le risque de cardiomyopathie induite par la délivrance du principe actif non vectorisé dans le myocarde (161).

Aux Etats-Unis, la Vincristine (OPTISOME®) a été approuvée par la FDA dans le traitement des Lymphomes Non Hodgkiniens et de la Leucémie Aigue Lymphoblastique. Il en est de même pour la Cisplatine (LIPOPLATIN®) qui présente

une efficacité supérieure dans le traitement des adénocarcinomes pulmonaires non à petites cellules tout en ayant un meilleur profil de sécurité (162).

5.2. Infectiologie

Les antiinfectieux sont aussi concernés avec l'exploitation de l'Amphotéricine B liposomale (AMBISOME®) à travers le monde depuis plus de 20 ans avec des résultats qui ne sont plus à démontrer.

Sous ATU depuis de nombreuses années, la Haute Autorité de Santé a émis un avis favorable cette année au remboursement de l'Amikacine (ARIKAYCE®) dans le traitement des infections pulmonaires causées par *Mycobacterium avium* chez l'adulte. Ce médicament était initialement développé pour les patients atteints de mucoviscidose infectés chroniquement par *Pseudomonas Aeruginosa* (163).

5.3. Immunologie

Lors de maladies auto-immunes, les cytokines pro inflammatoires augmentent la perméabilité capillaire au niveau des sites touchés rendant l'accumulation de liposomes possible. Cet effet délétère peut être mis à profit pour augmenter le temps de résidence des glucocorticoïdes vectorisés ce qui accroît inéluctablement l'action anti inflammatoire (164).

De plus, les liposomes anioniques adhèrent plus facilement au niveau des muqueuses enflammées, ce qui est un marqueur de choix pour les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (165).

Les propriétés décrites précédemment sont tout aussi intéressantes dans le domaine vaccinal. En ajoutant entre les phospholipides des ligands reconnaissables par les cellules présentatrices d'antigènes (CPAg), le temps de résidence de ces nanoparticules autour de ces cellules est augmenté et l'on dépose ainsi spécifiquement leur fraction antigénique au cœur même de la cellule initiatrice de l'immunité adaptative.

Pour parfaire cet effet, une action immunomodulatrice est aussi envisageable en sélectionnant certains lipides (166). Lors du contact avec les CPAg, les nanoparticules sont endocytées, dégradées dans les endosomes acides, puis le peptide cible est classiquement associé au complexe majeur d'histocompatibilité de type II pour être présenté aux lymphocytes T puis induire la réponse B mémoire. Suivant ce concept, l'EPAXAL (virus de l'hépatite A inactivé par la formaline) a été accepté par la FDA et présente 90% de séroprotection 2 semaines après une injection (167).

5.4. Analgésie

Dans le traitement de la douleur par opioïdes, on dénombre seulement 24 essais cliniques menés depuis 2010 portant principalement sur l'administration de Bupivacaine sous forme liposomale en post-opératoire. Malheureusement, les résultats de cette formulation sont controversés : certaines études affirment qu'une diminution de prise d'opioïdes est constatée en péri-opératoire comparativement au groupe traité par la forme non vectorisée (168) et d'autres démontrent le contraire (169).

5.5. Imagerie

Les liposomes peuvent aussi être envisagés pour délivrer des PA à but diagnostique. En imagerie, les liposomes pegylés ont de même été testés pour déployer des atomes métalliques dans les sites à marquer et ainsi accroître l'intensité et les contrastes des signaux détectés. Qu'il s'agisse de l'IRM (170) ou des analyses par TEP menées chez l'animal (171), ces alternatives présupposent des développements intéressants dans les années à venir en remplacement des nanocristaux d'oxydes de fer.

5.6. Thérapie génique

Dans notre première partie, nous avons évoqué la délivrance d'acides nucléiques par les liposomes. L'intérêt premier de cet emploi réside dans la pénétration cellulaire facilitée des liposomes tout en protégeant le matériel génétique des nucléases cytoplasmiques. De plus, les liposomes ne produisent pas de réactions pro inflammatoires, sont faciles à produire et encapsulent une grosse quantité d'acides nucléiques. Toutefois, l'association avec un acide nucléique peut induire une réponse via les TLR et recourir aux lipides cationiques réputés pour avoir la meilleure association est plus toxique.

Même si peu d'essais cliniques sont menés, les résultats peuvent être prometteurs concernant la mutation du gène CFTR dans la mucoviscidose (172), les déficiences en alpha1 anti trypsine (173), ou encore la délivrance de vecteurs d'expression de VEGF dans la revascularisation post angioplastie coronaire (174).

II. Les Nanocristaux

1. Historique et description

Les premières descriptions des nanocristaux furent publiées à la fin des années 70 par le Dr Alexey EKIMOV (175), pionnier des travaux portant sur les quantum dots. Initialement étudiés pour leurs propriétés optiques étonnantes à savoir que ces nanoparticules possèdent une fluorescence intrinsèque liée au diamètre de la particule (176) ; ce ne sera que plus tard que l'industrie pharmaceutique s'intéressera aux capacités de dissolution de cette forme.

Ces nanoparticules sont définies comme des structures organisées dont les 3 dimensions sont comprises entre 1 et 1 000 nm et de morphologie variable (sphérique, cylindrique, cubique, tubulaire, polygonale) leur conférant des propriétés physiques particulières.

Cependant, la majorité des médicaments sur le marché sont calibrés entre 200 et 500nm, ce paramètre étant en partie influencé par la voie d'administration et la cible du principe actif. Composés uniquement de principe actif non dispersé dans une matrice quelconque, les nanocristaux sont donc l'une des plus simples nanoparticules à synthétiser. Afin de consolider cet ensemble, des agents stabilisants tels que des polymères ou des surfactants peuvent être ajoutés en périphérie du cristal (177).

2. Intérêts de ces nanoparticules

Contrairement aux liposomes décrits précédemment, les possibilités de développement des nanocristaux sont relativement pauvres. Néanmoins, l'intérêt majeur de cette formulation réside dans l'augmentation de la solubilité du principe actif (177).

Depuis une trentaine d'années, l'industrie pharmaceutique a dû faire face à l'hydrophobicité des médicaments nouvellement découverts ; on estime que plus de 70% des principes actifs récents présentent une faible solubilité dans les solvants aqueux. Forte heureusement, ces découvertes sont pour la plupart classées en niveau II du système de classification biopharmaceutique correspondant à une faible solubilité mais une forte perméabilité. Par conséquent, en rendant la molécule soluble, on augmente conjointement la biodisponibilité du médicament ce qui en font des candidats parfaits à la formation de nanocristaux.

Contrairement aux médicaments de niveau II, les molécules de niveau IV présentent une faible perméabilité et une faible solubilité. Ces propriétés minimisent l'impact de la cristallisation car résoudre l'insolubilité n'augmente pas la biodisponibilité absolue.

Lors de ce changement de conformation, nous avons expliqué dans la première partie que la vitesse de dissolution était dépendante de la surface de contact

avec le solvant. Ce paramètre inversement corrélé à la surface de contact est régi par l'équation de Noyes et Whitney ; or celui-ci est représentatif de la physique des particules de taille supérieure à 200 nm. Pour des diamètres moyens avoisinant 100nm, l'augmentation de solubilité est fidèlement modélisée par l'équation de Freuchlich-Ostwald (178,179) et ce résultat est comparé avec le résultat obtenu avant le processus de nanonisation.

$$S = S_{\infty} \times e^{\frac{2\gamma M}{r\rho RT}}$$

S = Solubilité de la particule

S_{∞} = Solubilité de saturation d'un cristal de taille infinie

γ = tension de surface ($Kg.s^{-2}$)

M = masse molaire ($g.mol^{-1}$)

r = diamètre moyen de la particule (m)

ρ = densité

R = constante des gaz parfait ($J.mol^{-1}.K^{-1}$)

T = température (Kelvin)

Réduire la taille des principes actifs à l'échelle nanométrique augmente la dissolution de ce produit mais diminue de concert l'impact du bol alimentaire sur le profil pharmacocinétique des médicaments (180). Citons pour exemple le Fénofibrate dont la concentration plasmatique est habituellement dépendante du moment de prise et qui s'affranchit de ce paramètre lors de la nanonisation du principe actif (181).

De nombreux médicaments sont ainsi de bons candidats à la cristallisation : qu'ils s'agissent de principes actifs à faible marge thérapeutique comme les immunosuppresseurs ou encore de produits liposolubles nécessitant une administration lors de repas ; cette alternative minimise les variations plasmatiques à jeûn et post prandial.

Toutefois, cette technique n'est pas efficace pour tous les produits testés et de meilleurs gains de solubilité sont relatés quand ceux-ci possèdent un poids moléculaire élevé, une solubilité initiale inférieure à 200 $\mu g/ml$ et une stabilité importante marquée par une température de fusion la plus haute possible (182)

3. Méthodes employées dans la fabrication des nanocristaux

Différents procédés de synthèse sont possibles pour obtenir ces nanoparticules. Suivant le process de fabrication « Top Down », les industriels partent d'une grosse particule pour calibrer le produit final selon la taille souhaitée par broyage ou homogénéisation à haute pression. En opposition, la méthode « Bottom-Up » de la précipitation contre solvant permet de construire une structure complexe en partant d'une simple molécule.

3.1. Dispositif « Top-Down » : broyage

La technique d'origine utilisée pour obtenir des nanocristaux fut le broyage. Concept simpliste, ce traitement réduit la taille de grosses particules grâce à l'action d'une force mécanique exercée sur une solution contenant le principe actif solubilisé. Dans cette optique, le broyeur à billes (Figure 19) est le plus souvent adopté car le résultat obtenu avec cette alternative présente la granulométrie la plus faible possible (183).

Bien que ce processus soit facile à mettre en place et reproductible, de nombreuses données sont à évaluer pour recueillir le produit souhaité. Nous pouvons citer entre autres la concentration initiale en médicament, la quantité, la composition et le diamètre des billes introduites dans le mélange, la vitesse de rotation, la durée du broyage et la température de la chambre de broyage. Initialement, le broyage s'effectuait pendant plusieurs jours à des vitesses de l'ordre de 100 révolutions par minute (30) ; lors des productions actuelles, les délais sont raccourcis à quelques heures pour des vitesses possibles de plusieurs milliers de révolutions par minute (184).

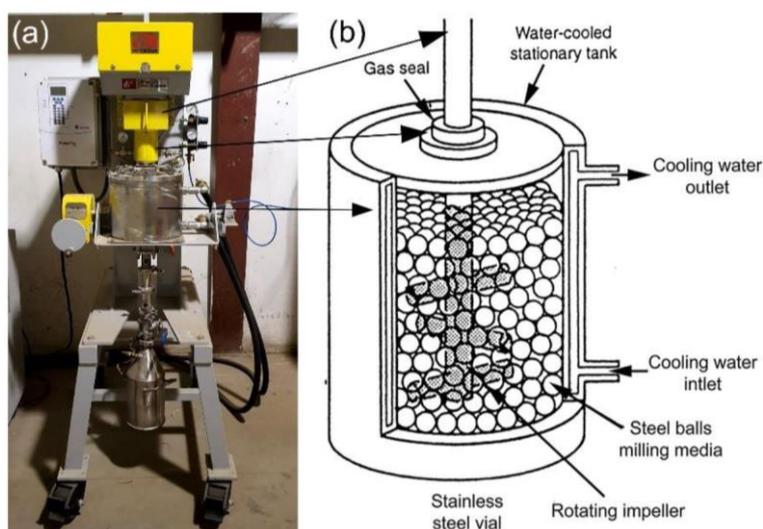


Figure 19. Broyeur à billes.

L'avantage principal de cette méthode est de s'affranchir de l'insolubilité des médicaments dans les solvants aqueux ou organiques.

Toutefois, cette technologie présente quelques inconvénients avec tout d'abord une taille limite des particules que le broyeur ne peut physiquement pas dépasser. Bien que cette difficulté n'en soit pas vraiment une pour la formulation de principe actif qui ne dépasse que rarement cette frontière ; cet obstacle est à prendre en compte pour les nanocristaux métalliques souvent de dimensions inférieures à 50nm.

De même, le phénomène de contamination par la cuve ou les billes peut survenir due à l'augmentation de la température et aux forces de cisaillement intervenant lors du broyage. Pour s'affranchir de cette dénaturation, des billes en

zirconium sont employées de nos jours et les cuves sont entourées d'une couche protectrice.

3.2. Dispositif « Top-Down » : homogénéisation à haute pression

A l'image de la presse de French calibrant les liposomes, l'homogénéisation à haute pression est un procédé mécanique permettant de réduire la taille des particules en solution en appliquant une forte pression.

Pour ce faire, une pression mécanique entre 1 000 et 4 000 bars est appliquée sur un piston connecté à un système clos (Figure 20) forçant le passage des particules à travers un orifice de faible diamètre. L'équation de Bernoulli ci-dessous précise que l'écoulement des fluides reste constant sur une même portion et que l'augmentation de la vitesse du fluide en un point s'accompagne de la diminution de pression en ce point.

$$\text{Constante} = gz + \frac{v^2}{2} + \frac{P}{\rho}$$

g = accélération de la pesanteur ($m.s^{-2}$)

z = altitude en un point (m)

v = vitesse du fluide en un point ($m.s^{-1}$)

P = pression en un point (Pa)

ρ = masse volumique en un point ($Kg.m^{-3}$)

Ainsi, lors de l'écoulement du fluide dans cette section, la diminution du diamètre du cylindre au niveau de la fenêtre d'homogénéisation induit une augmentation de pression dynamique ce qui produit une diminution de la pression statique. Cette force se retrouve alors inférieure à la pression de vapeur de l'eau, le solvant entre en ébullition formant ainsi des bulles d'air qui implosent lors du retour à la pression normale. Cette implosion à l'embouchure de la fenêtre d'homogénéisation crée une onde de choc provoquant des cassures des cristaux de leur fait mais aussi des collisions et des cisaillements entre les particules forçant le passage de principe actif sous la forme de cristaux (185).

Dans cette technologie, l'aspect du cristal recueilli est dépendant de la pression appliquée sur le piston mais aussi du nombre de cycles à travers la fenêtre d'homogénéisation et de la rigidité intrinsèque de la substance active.

Contrairement au broyeur à billes, ce système nécessite une solution dans laquelle le principe actif est soluble. Néanmoins, dans le cas où l'eau ne peut être employée, le solvant peut être remplacé par des huiles. Dans ces conditions, la solution ne peut bouillir et la nanonisation des particules survient uniquement grâce aux collisions et forces de cisaillement interparticulaires.

De la même façon que lors du broyage, le souci majeur reste la contamination par décharge de matière provenant de l'homogénéisateur.

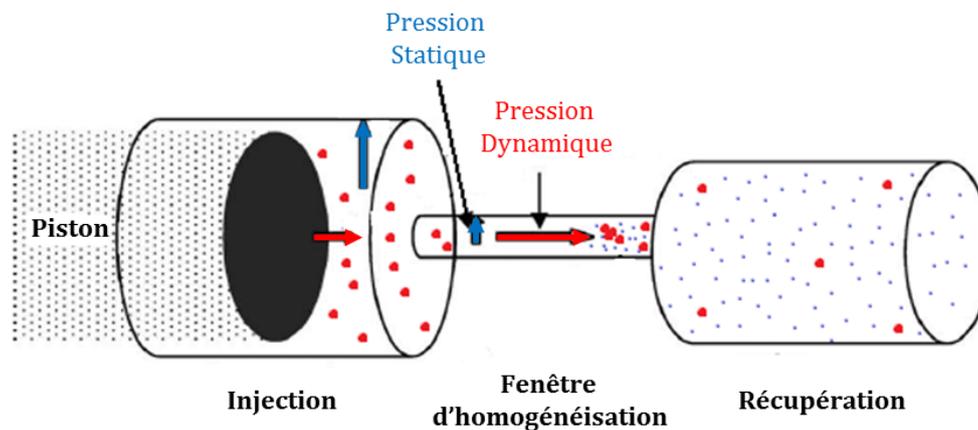


Figure 20. Homogénéisation à haute pression.

3.3. Dispositif « Bottom-Up » : la précipitation contre solvant

Les techniques de précipitation peuvent concernées à la fois la synthèse de nanocristaux contenant uniquement une substance active mais aussi la formation de nanoparticules polymériques. Le principe actif est alors dissous dans l'agent précipitant et le polymère (polyesters, polysaccharides, polypeptides) dans la phase saturée.

Ce procédé comporte plusieurs étapes conduisant à la formation de nanoparticules. La réaction débute avec l'ajout du soluté au-delà de la capacité de saturation du solvant puis se poursuit avec la phase de nucléation lors de laquelle un agent précipitant est ajouté pour réagir avec le principe actif et former spontanément une structure nanométrique (186). Pour finir, le soluté se diffuse dans cette nanoparticule nouvellement formée afin de faire croître celle-ci jusqu'aux dimensions désirées.

Concernant la formulation de cristaux, le principe actif est tout d'abord dissous dans un solvant organique soluble dans l'eau tel que des alcools ou cétones. Lors de la nucléation, un mélange à haute vitesse est opéré en introduisant une grande quantité d'eau dans le solvant ce qui provoque l'auto assemblage de nanoparticules. Pour finir, le solvant organique résiduel est retiré par évaporation puis une nébulisation peut survenir afin de calibrer uniformément les nanoparticules.

L'obtention de structures homogènes est fortement conditionnée par la nucléation lors de l'adjonction de l'agent précipitant. Lors de cette phase, la constance des paramètres de mélange durant toute l'injection permet d'obtenir une concentration équivalente en principe actif à la surface de chaque structure. Ceci permettra par la suite de faire croître les nanoparticules uniformément et d'obtenir une population homogène de cristaux dans le produit final.

La limitation majeure reste la solubilité initiale du principe actif qui peut être minimale à la fois dans l'eau mais aussi dans les solvants organiques traditionnels. D'autres solvants peuvent être employés mais leur élimination en fin de processus peut être problématique et les résidus de ceux-ci présentent souvent une forte toxicité

rendant le lot inutilisable chez l'homme. De plus, les difficultés rencontrées lors de la phase de nucléation due à cette faible solubilité impacte la qualité du produit final qui présente souvent une population hétérogène de nanocristaux.

4. Conservation des nanocristaux

La difficulté principale à laquelle doit faire face les industriels reste l'agrégation des nanoparticules obtenues après traitement. Pour remédier à cette complication, des stabilisants sont ajoutés lors des synthèses tels que des surfactants ou des polymères (187,188). Ceux-ci sont alors absorbés autour du cristal provoquant soit un encombrement stérique (pour les surfactants non chargés et les polymères) soit une diminution de la réactivité électronique en périphérie (pour les surfactants ioniques). Ces propriétés peuvent bien sûr être doubles pour certains surfactants.

L'un des points critiques lors de la formation de nanocristaux est donc l'habilité de la nanoparticule à absorber le stabilisant à sa surface afin de conserver son intégrité lors du stockage avant administration. Pour chaque process de fabrication, la quantité de stabilisant nécessaire, le rendement de cette association et la méthodologie diffèrent.

Ainsi, pour le broyage, le stabilisant doit être associé en amont de l'opération car des phénomènes d'agrégation peuvent survenir dès le début du procédé. Pour l'homogénéisation sous haute pression, le stabilisant n'a pas d'intérêt lors de la fabrication mais doit être ajouté après obtention des nanoparticules car celui-ci allongera la durée de stockage. Dans l'approche « Bottom-Up », le stabilisant joue un rôle très important puisqu'il permet non seulement de faciliter la nucléation mais il augmente aussi considérablement la stabilité du médicament. Il doit donc être dissout dans le solvant avec le principe actif dès le commencement de la nanonisation.

Les stabilisants ioniques sont les plus performants mais leur efficacité peut décroître en présence d'autres charges environnantes (189). De plus certains surfactants peuvent solubiliser le principe actif protégé et ainsi effondrer la structure de la nanoparticule (182). Utilisables en milieux aqueux, ceux-ci sont cependant moins efficaces pour les formes sèches, formulation la plus rencontrée pour ce type de nanoparticules.

En opposition la capacité à limiter l'agrégation des cristaux par les stabilisants non chargés est basée sur leur aptitude à encombrer le milieu environnant. Cet effet limite ainsi les interactions entre les particules en réduisant les forces attractives de Van Der Waals. Pour autant, ce groupe de stabilisant est bien plus sensible aux fluctuations de température, ce qui peut être limitant lors de la synthèse par les dispositifs Top-Down.

5. Domaines d'application des nanocristaux

Historiquement, les nanocristaux furent les premières nanoparticules commercialisées dès le début des années 90. Suite à cela, de nombreux essais

cliniques ont émergé permettant l'approbation de spécialités à travers le monde. Pour exemple, la FDA qui depuis les années 2000, approuva à la fois les médicaments que nous allons décrire ci-dessous mais de multiples autres principes actifs touchant la plupart des spécialités médicales (chimiothérapies, opioïdes, antipsychotiques, fibrates, immunosuppresseurs).

5.1. *Oncologie*

En France le Mégestrol (MEGACE®), progestatif indiqué dans le traitement palliatif des cancers génitaux hormonaux dépendants, obtint son AMM en 1993. Commercialisées initialement sous forme micronisée, ces particules de quelques micromètres n'étaient que peu absorbées et nécessitaient une prise alimentaire concomitante. Bien que cette recommandation soit facile à suivre lors de pathologies bénignes, l'altération de l'appétit et la survenue de mucites dans la maladie cancéreuse limitent la prise alimentaire et peuvent rendre inefficaces ces médicaments.

Cette difficulté fut surpassée en recourant à une forme nanonisée de l'acétate de Mégestrol. Dans les essais cliniques randomisés, la pharmacocinétique de cette forme n'était pas modifiée lors d'une administration post prandiale mais le pic plasmatique était fortement augmenté au profit du nanocristal à jeun (190).

L'Aprépitant (EMEND®) révolutionna les soins de support en oncologie en atténuant les nausées et vomissements des patients traités par chimiothérapie fortement émétisantes (Sels de Platine, Anthracyclines, Alkylants, et Analogues des bases Pyrimidiques). Ce nouveau principe actif soulageait en moyenne 1 patient sur 5 supplémentaire comparativement aux Sétrons dans les essais d'efficacité (191). A nouveau les nanocristaux rendent possible l'administration du médicament en dehors des repas, ce qui était inapplicable avec le médicament micronisé (192).

5.2. *Immunosuppresseurs*

La première forme de Sirolimus arriva sur le marché américain en 1999. Avec une solubilité initiale de 2,6 µg / ml bien inférieure au 1 mg / ml primordial au conditionnement, il fut essentiel de l'encapsuler dans une émulsion afin d'accroître ce paramètre. Composée de phosphatidylcholine, propylène glycol et de polysorbate, cette formulation était non seulement thermo et photo sensibles mais elle nécessitait l'usage d'une seringue dose poids lors de chaque administration afin de ne pas ingérer de produits de dégradations (193). De nombreuses plaintes concernant le goût de ce médicament furent également relatées par les patients. Bien que cette protestation puisse paraître absurde, l'administration journalière de Sirolimus à vie pour les personnes greffées peut être lassante et la saveur désagréable accroît le risque de non adhésion thérapeutique.

Cette solution fut remplacée par une forme sèche de nanocristaux (RAPAMUNE®) en 2007 obtenus après broyage du principe actif. Cette forme soluble

s'affranchissait non seulement du stockage à 4°C à l'abri de la lumière et de la saveur incommode mais avait aussi une biodisponibilité similaire à la solution (194). La réponse clinique était identique pour des doses de 3 à 12 mg / m² concernant le nombre de rejets de greffons et la survie globale des patients. Pour couronner ce succès, la variabilité pharmacocinétique inter individuelle de la forme sèche était inférieure à celle rapportée avec la solution (195).

5.3. *Néphrologie*

Commercialisé en France en 2001 sous forme de nanocristaux, le Sevelamer (RENAGEL®) est une résine échangeuse d'ions phosphates contre des ions chlorures. La formulation sous forme de nanocristaux fut obligatoire pour concentrer le principe actif dans la forme sèche et ainsi réduire les prises. La posologie usuelle des nano cristaux pouvant être de 5 comprimés par repas, il était primordial de recourir à cette technique pour ne pas multiplier à outrance le nombre de comprimés par prise.

Ce médicament est non absorbé au niveau intestinal (196) et permet de contrôler l'hyperphosphorémie chez le patient en insuffisance rénale chronique voire hémodialysé. Ce paramètre biologique est un facteur de risque majeur pour la survenue d'événements thromboemboliques car il augmente la menace de calcification des artères ; il est donc très important de normaliser sa concentration.

Lors des études menées avant AMM, la supériorité du Sevelamer vis-à-vis du traitement de référence par supplémentation calcique a été démontrée dans ces 2 stades de la maladie rénale (197,198). Les premières études garantissaient la diminution de ce risque (199) accompagnée d'une normalisation du bilan lipidique potentialisant cet effet bénéfique (200). Toutefois, l'étude CARE publiée en 2004 mit en avant un meilleur contrôle de la phosphorémie en recourant à la supplémentation calcique (201). Depuis, plusieurs essais cliniques (202) ou méta-analyses (203) ont été effectuées démontrant la supériorité ou non de ce type de chélateurs. Bien qu'étant régulièrement prescrits par les néphrologues, ce médicament fut classé en ASMR V par les autorités de santé et ne présente donc aucune amélioration vis-à-vis des autres spécialités équivalentes.

5.4. *Psychiatrie*

Plus récemment, le laboratoire NOVARTIS distribua le Methylphenidate (RITALINE LP®) en vue d'atténuer les troubles déficitaires de l'attention avec hyperactivité. Sous forme à libération immédiate, le Méthylphénidate doit être administré jusqu'à 3 fois par jour pour contrôler les symptômes. Cette modalité peut provoquer l'inobservance chez les enfants lors des prises du midi et impacter fortement leurs relations sociales et leur développement.

Pour répondre à cette problématique, les industriels ont développé une forme sèche particulière libérant la moitié de la dose sous forme nanonisée dès l'administration et le restant progressivement. L'avantage est double : ce profil de

libération mime deux administrations consécutives mais limite aussi les fluctuations journalières de concentrations plasmatiques (204).

4^{EME} PARTIE : L'INTERET DE LA VECTORISATION, L'EXEMPLE DES ANTHRACYCLINES

I. Introduction

1. Les spécialités à base de Doxorubicine

Bien que la première mention de la Doxorubicine remonte aux années 60, cette anthracycline ne fut acceptée comme chimiothérapie qu'en 1993 (ADRIBLASTINE®) puis génériquée par les laboratoires ARROW, ACCORD et TEVA. Dans un second temps, des formes innovantes assistées par des nanoparticules obtinrent leurs AMM en 1998 (CAELYX®, Doxorubicine liposomale pegylée) puis 3 années plus tard (MYOCET®, Doxorubicine liposomale). Cette dernière présentation fut malheureusement retirée du marché en 2020 ne laissant que les 2 formes précédentes administrables aux patients. Les renseignements administratifs de ces spécialités sont regroupés dans le Tableau VIII ci-dessous.

Tableau VIII. Renseignements administratifs des génériques de la Doxorubicine et du CAELYX® (205,206).

	DOXORUBICINE®	CAELYX®
DCI	Chlorhydrate de Doxorubicine	
Présentations	Solutions injectables pour perfusion à 2 mg/mL Flacons de 5, 50 ou 100 mL	Flacons de 10 ou 25 mL
Excipients	NaCl, HCl, Eau PPI	MPEG-DSPE, Phosphatidylcholine Cholestérol, (NH ₄) ₂ SO ₄ Saccharose, Histidine HCl, NaOH, Eau PPI
Contre Indications	Hypersensibilité au PA. Myélosuppression persistante. Insuffisance Hépatique. Traitements antérieurs par des anthracyclines à la dose maximale cumulative. Vaccins vivants atténués. Grossesse et allaitement.	Hypersensibilité au PA ou aux excipients. Syndrome de Kaposi traités par interféron α chez les patients séropositifs au VIH.
Conditions de prescription	Insuffisance Myocardique. Infarctus du Myocarde de moins de 6 mois. Arythmie sévère. Prescriptions restreintes aux services d'oncologie et d'hématologie.	
Coût au flacon	13,90 euros (100 mL)	320,65 euros (25 mL)
Coût pour 200 mg	13,90 euros	1282,6 euros

2. Caractéristiques de l'anthracycline

2.1. La Doxorubicine

La figure 21 présente la formule chimique de la Doxorubicine abrégée en $C_{27}H_{29}NO_{11}$ de masse molaire égale à 543 g/mol. Cette molécule composée d'Adriamycinone apolaire et d'une partie hydrosoluble, la Daunomasine en font une excellente candidate à la vectorisation par des liposomes. En effet, la partie liposoluble interagit facilement avec la bicouche phospholipidique tout en incorporant la partie polaire préférentiellement dans le cœur aqueux de la nanoparticule (207).

Le sel obtenu après synthèse est une poudre cristalline rouge nommée chlorhydrate de Doxorubicine. Ce principe actif est soluble à la fois dans l'eau, dans la solution salée isotonique utilisée lors des préparations de poches de chimiothérapie ainsi que dans les solvants alcooliques mais reste insoluble dans les autres solvants organiques (208).

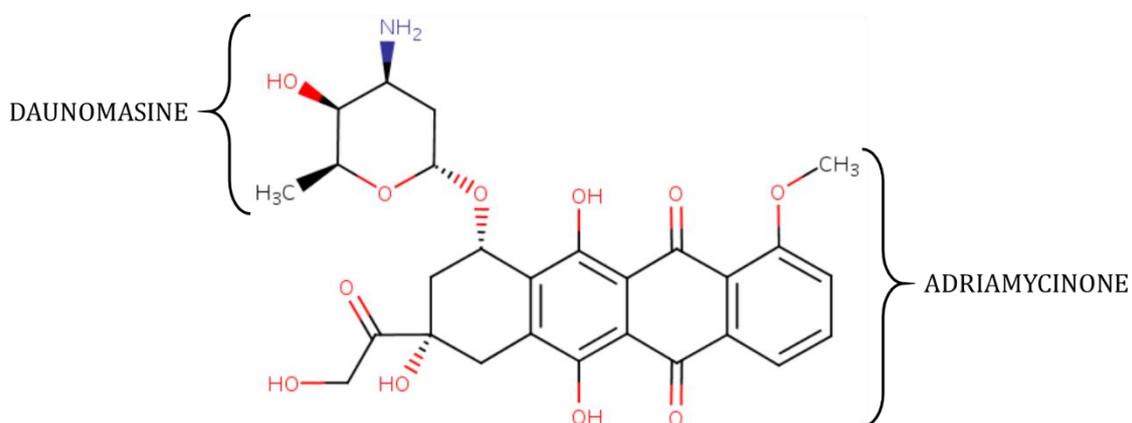


Figure 21. Structure chimique de la Doxorubicine.

2.2. La forme liposomale pegylée

Le CAELYX[®] est une forme vectorisée d'anthracyclines par des liposomes de seconde génération inférieurs à 100 nm de diamètre (Figure 22). Ce vecteur est classiquement constitué de phosphatidylcholine associé à du cholestérol puis recouvert de méthoxy-poly-éthylène-glycols (MPEG) conjugués à des distéaroylphosphatidyl-éthanolamines (DSPE) (209).

L'intérêt des MPEG est de protéger les liposomes des interactions avec les opsonines plasmatiques et de limiter sa clairance par les cellules immunitaires. De ce fait la dose de molécule encapsulée est ainsi réduite pour atteindre le site tumoral. De plus, cette configuration augmente considérablement le temps de résidence du principe actif dans le compartiment plasmatique ce qui prolonge l'effet cytotoxique souhaité à l'encontre des cellules cancéreuses. Pour greffer cette molécule, l'éthanolamine a été ajoutée dans le but d'obtenir un ancrage stable grâce à la formation de liaisons covalentes.

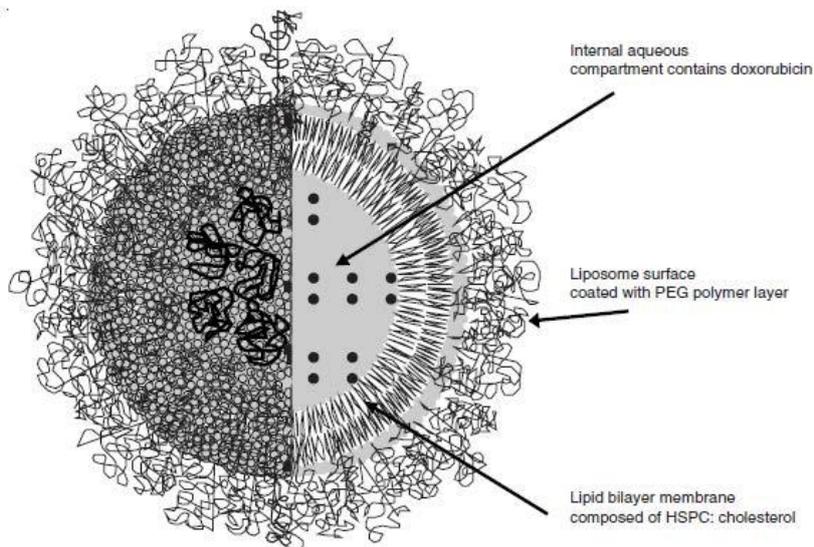


Figure 22. Représentation du liposome de CAELYX®.

L'encapsulation du principe actif de cette spécialité s'effectue de façon active par induction d'un gradient de pH sur les liposomes préformés. Pour ce faire, du sulfate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ est encapsulé dans le liposome lors de la synthèse, celui-ci se dissocie alors en SO_4^{2-} et NH_4^+ qui se stabilise en molécules d'ammoniac et un ion H^+ . Cet ion hydrogène se concentre au cœur des liposomes provoquant une acidification du cœur hydrophile de la nanoparticule. Par la suite, le chlorhydrate de Doxorubicine ($\text{DX-NH}_3\text{Cl}$) est ajouté dans la solution se dissociant de la même façon que le sulfate d'ammonium et diffuse à travers la membrane des liposomes. Le DX-NH_2 réagit avec les ions présents dans la partie polaire pour précipiter en $(\text{DX-NH}_3)_2\text{SO}_4$ permettant une encapsulation de l'ordre de 90% du principe actif correspondant à plus de 14 000 molécules de Doxorubicine par liposome (210).

2.3. Les indications de la Doxorubicine et du CAELYX®

Les indications de la Doxorubicine sont nombreuses (cancers du poumon, de la vessie, de l'ovaire, de l'estomac et du sein, sarcomes, maladie de Hodgkin, lymphomes non Hodgkinien, leucémies aiguës et chroniques) comparativement au CAELYX® (cancers du sein et ovarien, sarcome de Kaposi, myélome multiple). Cependant, de par l'évolution des protocoles de chimiothérapie, ce principe actif n'est plus retrouvé dans le traitement des cancers du poumon et des tumeurs infantiles.

Ce médicament étant le chef de file des anthracyclines, il fut commercialisé bien avant la forme liposomale expliquant la multiplicité de ces indications (Tableau IX et annexe 3). De plus, le coût insignifiant du médicament libre presque 100 fois moins cher que celui vectorisé favorise aussi la prescription de Doxorubicine. Ce constat se voit d'autant plus renforcé car peu de différences ont été observées sur la survie globale des patients dans ces différentes indications.

Tableau IX. Protocoles de chimiothérapies à base de Doxorubicine (211).

Cancers	DOXORUBICINE®	CAELYX®
Estomac	Protocole FAMTX : 30 mg/m ²	/
Ovaire	Protocole ACP : 45 mg/m ²	Protocole BC : 40 mg/m ²
	Protocole AP : 60 mg/m ²	Protocole CC : 30 mg/m ²
	Protocole CAP : 40 mg/m ²	Protocole TC : 30 mg/m ²
	Monothérapie : 60 mg/m ²	Monothérapie : 50 mg/m ²
Sein	Protocole AC : 60 mg/m ²	Monothérapie : 45 à 75 mg/m ²
	Protocole AT : 50 mg/m ²	
	Protocole FAC50 : 50 mg/m ²	
	Protocole TAC : 50 mg/m ²	
Sarcomes	Monothérapie : 75 mg/m ²	Monothérapie : 20 mg/m ²
	Protocole AI : 60 mg/m ²	
	Protocole AD : 15 mg/m ²	
	Protocole MAP : 75 mg/m ²	
Myélome Multiple	Monothérapie : 75 mg/m ²	Protocole BC : 30 mg/m ²
	Protocole VAD : 9 mg/m ²	
	Protocole VAMP : 9 mg/m ²	
Vessie	Protocole VBAP : 30 mg/m ²	/
	Protocole MVAC : 30 mg/m ²	
Maladie de Hodgkin	Protocole ABVD : 25 mg/m ²	/
	Protocole ABV : 35 mg/m ²	
	Protocole BEACOPP : 35 mg/m ²	
Lymphome non Hodgkinien	Protocole CHOP : 50 mg/m ²	/
	Protocole ACVBP : 75 mg/m ²	
Leucémie Aigue	Protocole CA : 40 à 60 mg/m ²	/

2.4. Les profils pharmacocinétiques des deux médicaments

Suite à la vectorisation, la pharmacocinétique de ce principe actif se voit totalement modifiée et les paramètres mesurables diffèrent grandement comparativement à la forme libre (Tableau X).

L'intérêt premier de ce liposome reste l'accumulation au niveau des sites tumoraux. Cette faculté est d'autant plus observable dans le traitement des sarcomes où le médicament se concentre entre 2 et 5 fois plus dans les cellules cancéreuses comparativement aux tissus sains (212). Ce constat visible en imagerie (209) est encore plus marqué lors des mesures des volumes de distribution de ces deux médicaments. Qu'ils s'agissent des données de la littérature (213) ou du RCP européen (214), ce paramètre est 100 à 400 fois plus élevé pour la forme libre. Le volume de distribution étant révélateur de la quantité de principe actif plasmatique, cette valeur élevée témoigne d'une concentration plasmatique très importante et d'un défaut de sélectivité pour les cellules cancéreuses. Cette différence s'explique par la conservation du principe actif dans le liposome jusqu'à son extravasation au site actif ce qui limite théoriquement l'apparition d'effets indésirables.

La Doxorubicine est un substrat des cytochromes P450 (3A4 et 2D6) qui transforment le principe actif originel en métabolite actif : le Doxorubicinol. De ce fait,

la variabilité génétique inter individuelle et l'adjonction de thérapies modifiant l'action des cytochromes doivent être prises en compte lors de la mise en place de ce traitement qu'il s'agisse de la forme libre ou vectorisée.

Pour finir, l'élimination de l'anthracycline s'effectue selon un cycle entéro-hépatique modélisée par une équation en 2 phases comportant une partie initiale de l'ordre de quelques minutes suivie de 36 heures pour la seconde phase. Comparativement, la forme liposomale possède une demi-vie moyenne d'élimination de l'ordre de 74 heures prolongeant ainsi considérablement l'effet de la molécule et donc l'AUC à dose équivalente. Toutefois, l'accroissement de ces paramètres sont fortement corrélés au risque de Syndrome d'érythrodysesthésie palmo-plantaire (209) dans le premier cas et à la toxicité hématologique pour l'AUC (215).

Tableau X. Paramètres PK des 2 formes galéniques.

	DOXORUBICINE®	CAELYX®
Concentration Plasmatique Maximale (µg/ml)	/	8,34 ± 0,49
Clairance Plasmatique (L/h/m ²)	27 ± 5,5	0,041 ± 0,004
Volume de Distribution (L/m ²)	839 ± 149	2,72 ± 0,120
AUC (µg/ml/h)	/	590 ± 58,7
λ ₁ demi-vie (h)	0,08	5,2 ± 1,4
λ ₂ demi-vie (h)	36	55,0 ± 4,8

2.5. Pharmacodynamie de la Doxorubicine

Ce groupe de principes actifs est actuellement constitué de l'Epirubicine, la Daunorubicine, l'Idarubicine, la Doxorubicine et possèdent une action cytotoxique importante grâce à leur pharmacodynamie complexe.

Cette molécule s'intercale entre les paires de bases composant la double hélice de l'ADN ce qui bloque les ADN polymérases lors de la réplication des acides nucléiques. L'ARN n'est alors pas transcrit interrompant le cycle cellulaire en phase S empêchant la mitose de la cellule touchée.

Dans un second temps, ce médicament cible les topo-isomérases de type II responsables de coupures transitoires de l'ADN en amont de l'hélicase, enzyme initiatrice de la séparation des brins d'ADN. En inhibant cette enzyme, des cassures vont apparaître dans la double hélice stoppant la réplication du génome et initiant les étapes de mort cellulaire.

Pour finir, les anthracyclines ont la faculté de se fixer au niveau membranaire et d'induire la peroxydation lipidique localement conduisant inexorablement à l'apoptose des cellules tumorales. Ce mécanisme génère des espèces réactives à l'oxygène à la fois au niveau mitochondrial mais aussi sur la membrane cellulaire provoquant ainsi des dommages irréversibles de l'ADN. Bien que cette propriété soit

intéressante pour combattre les cellules tumorales, ce mécanisme est aussi responsable de la toxicité cardiaque constatée avec cette classe de médicaments.

2.6. Comparaison des Effets Indésirables

En confrontant les données des RCP des deux spécialités (Annexe 4 et Tableau VIII), nous avons pu mettre en évidence des divergences concernant les profils de sécurité. Bien que certains écarts puissent paraître anodins dans les pathologies cancéreuses (constipation, toux, douleur), d'autres peuvent diminuer la survie du patient lors de sa phase de traitement (déséquilibres électrolytiques, perturbations des bilans hépatique et rénal) et à plus ou moins long terme amoindrir la qualité de vie des patients survivant à leur pathologie (neuropathies, céphalées, troubles de la fertilité).

Des méta-analyses plus récentes ont montré que les fréquences des neutropénies, d'effets indésirables digestifs et d'érythrodysesthésie palmo-plantaire (EPP) diminuaient avec le liposome (216) alors même que les analyses répertoriées dans le RCP contredisaient ce propos. A savoir que l'apparition des EPP et des mucites augmenteraient de façon dose dépendante.

Bien que de nombreux effets indésirables soient rapportés sous CAELYX[®], cette forme fut surtout développée pour diminuer le retentissement cardiaque des anthracyclines. Et pour cause, la Doxorubicine occasionne des cardiomyopathies gravissimes chez les patients traités. Cette affection cardiaque survenant dès lors que la dose cumulative administrée au patient dépasse 550 mg / m², la posologie maximale autorisée fut tout d'abord fixée à ce palier. Pourtant, malgré cette ligne de sécurité, les cardiomyopathies surviennent régulièrement chez les patients survivants même en deçà de cette dose.

Si l'on croise les éléments des RCP de ces 2 spécialités, on remarque d'une part que la cardio toxicité n'est pas exprimée de la même façon (Annexe 4). D'autre part, on observe que l'administration de la forme libre est contre indiquée chez les patients présentant une insuffisance myocardique, des arythmies sévères ou un infarctus du myocarde datant de moins de 6 mois alors qu'il n'en est rien pour la forme vectorisée. Cette diminution du risque est d'ailleurs soutenue initialement par l'essai de phase III réalisé chez des patientes atteintes de cancer du sein métastatique (217) et plus récemment par une méta analyse (216).

Partant de ce constat, nous nous sommes questionnés sur la fréquence d'administration très faible de cette nanoparticule. Depuis l'octroi de son AMM en 1998, peu d'extensions d'indication ont été envisagées et la forme libre reste à ce jour majoritaire dans la plupart des protocoles de chimiothérapie. Bien que la survie globale des patients ne soit pas augmentée, le bénéfice sur les événements cardiaques a été démontré dès l'étude pilote. Le CAELYX[®] a d'ailleurs reçu une ASMR V lors de son évaluation par la Haute Autorité de Santé justifiant ces extensions d'AMM pour supplanter la forme libre. A cette demande pourrait s'opposer le coût bien plus élevé

des nanoparticules qui au début des années 2000 serait recevable. Cependant, depuis 20 ans l'arrivée des anticorps monoclonaux et des CAR-T cells dans la prise en charge des pathologies cancéreuses a révolutionné ces traitements avec des montants de plusieurs milliers à quelques centaines de milliers d'euros par poche de chimiothérapie.

Cet argument étant maintenant irrecevable, nous souhaitons évaluer si les différences décrites initialement sur le profil de sécurité étaient encore visibles en population. Nous n'avons trouvé lors de nos recherches aucune étude publiée interrogeant les bases de pharmacovigilance. Dans cette dernière partie, nous souhaitons par une étude de disproportionnalité menée sur la base internationale de pharmacovigilance (VigiBase) évaluer le risque d'atteintes cardiaques sous les deux formes de Doxorubicine.

II. Matériel et Méthodes

1. Source de données

Les fichiers de notre étude proviennent de la base internationale de pharmacovigilance (VigiBase) gérée par l'Uppsala Monitoring Center (218). Ce projet à l'initiative de l'OMS a pour vocation de collecter et répertorier les potentiels effets indésirables notifiés par les professionnels de santé, les entreprises pharmaceutiques et les patients à travers le monde. Depuis sa création en 1968, 28 millions de rapports provenant des 149 états membres du WHO PIDM (World Health Organization Programme for International Drug Monitoring) ont été indexés faisant de cette banque de données le plus vaste réseau de pharmacovigilance.

Chaque rapport contient de nombreuses informations (âge, genre, historique médical, prise concomitante de médicaments) pouvant être étudiées afin d'extraire d'éventuels facteurs de risques. Lors de la classification de l'effet indésirable, celui-ci est codé en suivant les dictionnaires médicaux MedDRA, WHO Drug ET WHO ICD permettant une lisibilité mondiale.

2. Design de l'étude

Notre analyse est une étude rétrospective, observationnelle de pharmacovigilance bâtie sur une recherche de disproportionnalité des effets indésirables répertoriés dans VigiBase.

Pour ce faire, une requête a été formulée le 2 janvier 2022 sur Vigilyse concernant les affections cardiaques survenant lors des traitements par Doxorubicine ou sous CAELYX®. Lors de cette recherche le terme correspondant aux « affections cardiaques » référencé comme terme de haut niveau par le dictionnaire MedRA a été combiné pour extraire les dossiers. Par la suite, les effets indésirables ont été catégorisés selon les termes préférentiels dérivés.

Les données épidémiologiques des patients (âge, genre, poids, taille, année et pays de la notification, personne déclarante), ainsi que celles de l'effet indésirable

(type de cancer, effet indésirable rapporté, dose reçue pour chaque cure de chimiothérapie) ont été extraites. Pour finir les conséquences de l'effet indésirable (Anomalies congénitales, Décès, Engagement du pronostic vital, Incapacité permanente, Hospitalisation ou prolongement d'hospitalisation) ont été incluses dans cette requête.

L'analyse de disproportionnalité est une étude cas / témoin comparant la proportion des effets indésirables signalés pour un seul médicament à la proportion observée dans un groupe contrôle (autre médicament ou autre groupe de médicaments) selon la formule ci-dessous. Le rapport des côtes (ROR) calculé reflète ainsi la force de relation entre l'effet indésirable et le médicament incriminé (219).

Tableau XI. Tableau de contingence du rapport des côtes et formule dérivée du ROR (220).

$$ROR = \frac{a \times d}{b \times c}$$

	EI étudié	Autres EI	
DOXORUBICINE	a	b	a + b
CAELYX®	c	d	c + d
	a + c	a + d	N

3. Analyse statistique

La distribution paramétrique des variables quantitatives a été vérifiée graphiquement par le test de Shapiro Wilk puis complétée par la vérification des coefficients de Skewness et de Kurtosis. Les variables qualitatives sont dénombrées et exprimées en pourcentages (n, %).

Lors des statistiques descriptives, les variables quantitatives ont été comparées par les tests de Student et le χ^2 a été employé pour les variables qualitatives.

Dans l'étude de disproportionnalité, les ROR calculés sont considérés comme statistiquement significatifs si les intervalles de confiance ne comprennent pas la valeur 1.

Dans un premier temps, la différence de notifications des effets indésirables cardiovasculaires a été étudiée à l'aide d'une régression linéaire multivariée afin de séparer les variables influençant les notifications depuis 1995. Pour ce faire la forme du médicament, le type de cancer, le pays de notification, la personne déclarant l'effet indésirable, le genre et l'âge des patients ont été introduits dans le modèle.

Dans le but d'extraire les facteurs de risques des effets indésirables survenant sous Doxorubicine, une régression logistique multivariée a été envisagée selon une

procédure descendante. A savoir que les variables ayant une valeur de P inférieure à 0,05 lors des analyses univariées ont été incluses dans le modèle de régression final.

Les analyses ont été menées sur le logiciel SAS Studio (SAS Software, Etats-Unis) au risque de première espèce de 5%. Les graphiques et tableaux sont issus du logiciel EXCEL (Microsoft, Etats-Unis) et GraphPAD Prism 6 (GraphPAD Software, Etats-Unis).

III. Résultats

1. Description de la cohorte étudiée

Les différentes étapes d'exclusion de notre requête sont répertoriées dans l'organigramme ci-dessous (Figure 23). Initialement, 6 891 dossiers patients incriminant le CAELYX® et 59 571 concernant la Doxorubicine ont été récupérés.

Après sélection des effets indésirables cardiovasculaires puis retrait des doublons, des formes liposomales non pegylées (Myocet®) et des notifications antérieures à 1995 (date de commercialisation du DOXIL® aux Etats Unis), 3 553 dossiers patients furent sélectionnés soit 3 134 pour la Doxorubicine et 419 pour la forme vectorisée.

Les différentes données collectées sur notre cohorte sont regroupées dans le Tableau XI et l'on dénombre de nombreuses différences entre les deux groupes de traitement. La quantité d'informations collectables symbolisée par le score de remplissage étant supérieure chez les patients traités par CAELYX®, nous nous attendons à moins de données manquantes dans ces dossiers.

Concernant les données démographiques, les femmes sont plus représentées dans cette étude avec 2,9 fois plus de femmes dans le groupe sous CAELYX® contre 1,5 fois dans l'autre branche. Les sujets traités par nanoparticules sont plus âgés avec un âge médian de 64 ans soit 11 ans de plus que les patients sous Doxorubicine. Le groupe sous CAELYX® est statistiquement plus grand, plus lourd mais sont traités avec des doses d'anthracyclines par cure moins fortes. Ce propos est toutefois à nuancer car le taux de données manquantes pour ces 3 paramètres sont respectivement de 89, 76 et 74 % limitant nos interprétations pour la suite.

Les conditions d'application du test du χ^2 n'étant pas satisfaites pour les variables régions, personnes déclarantes et conséquences de l'effet indésirable, nous n'avons pas pu mener de comparaisons statistiques. Néanmoins, il semblerait que la différence de notifications entre les 2 formes réside dans les pays d'Amérique du Sud et d'Asie avec moins de relevés de pharmacovigilance pour le CAELYX®. Les conséquences de ces effets indésirables paraissent similaires si la modalité « autres » est exclue car présentant 10 fois plus de relevés dans le groupe Doxorubicine contre une moyenne de 7 fois plus pour les autres termes. Les déclarants d'effets indésirables forment 3 groupes distincts : les médecins en premier lieu puis les autres

professionnels de santé ainsi que les patients et enfin les pharmaciens qui notifient respectivement 6, 8 et 11 fois plus lorsque les patients sont sous Doxorubicine.

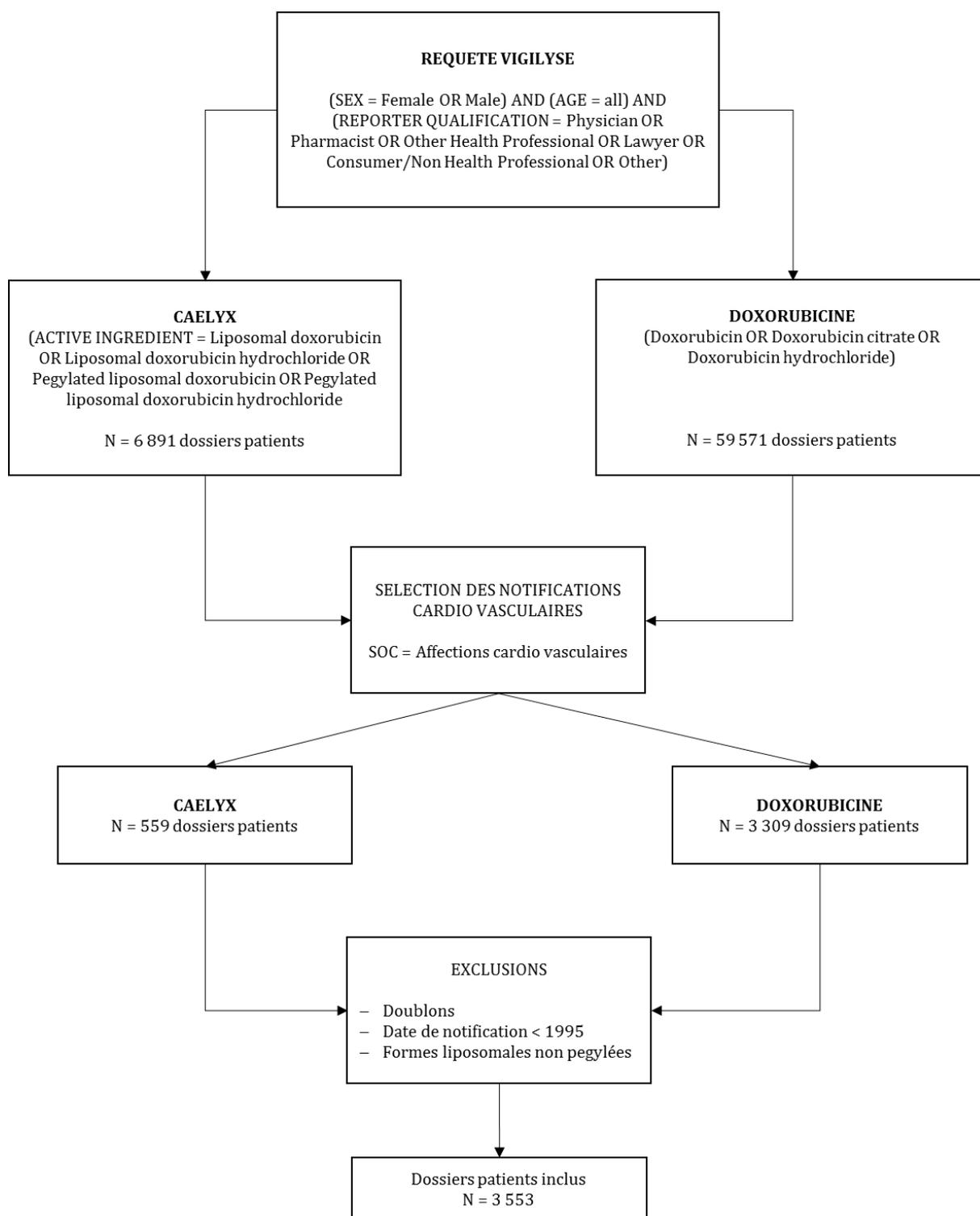


Figure 23. Organigramme des dossiers patients sélectionnés.

Pour terminer, les types de cancers déclarés sont hétérogènes avec 2 parties distinctes : d'une part les Leucémies aigües, LNH et Maladie de Hodgkin largement majoritaires dans le groupe sous Doxorubicine ; d'autre part les cancers des ovaires traités pour la plupart par CAELYX®.

Tableau XII. Description de la cohorte étudiée.

	DOXORUBICINE (n = 3134)	CAELYX® (n = 419)	Valeur de P
Remplissage des notifications (%)	45 [31,5 ; 70]	51 [34 ; 79,3]	0,0244
Genre n, (%)			
Femme	1886 (53,1)	313 (8,8)	< 0,0001
Homme	1248 (35,1)	106 (3)	
Age (années)	55 [39 ; 66]	64 [54 ; 71]	< 0,0001
Taille (cm)	163 [154 ; 170]	164 [159 ; 168]	< 0,0001
Poids (Kg)	67,9 ± 24,2	72 ± 16,5	0,0069
Dose par administration (mg)	80 [49 ; 99]	60,5 [40 ; 73,9]	< 0,0001
Régions n, (%)			NA
Afrique	24 (0,7)	2 (0,1)	
Amérique du Nord	1355 (38,1)	205 (5,8)	
Amérique du Sud	88 (2,5)	2 (0,1)	
Asie	564 (15,9)	22 (0,6)	
Europe de l'Est	118 (3,3)	19 (0,5)	
Europe de l'Ouest	950 (26,7)	164 (4,6)	
Océanie	35 (1)	5 (0,1)	
Déclarants n, (%)			NA
Autres professionnels de santé	722 (20,3)	83 (2,3)	
Avocats	18 (0,5)	0 (0)	
Médecins	1898 (53,4)	288 (8,1)	
Patients	144 (4,05)	17 (0,5)	
Pharmaciens	352 (9,9)	31 (0,9)	
Cancers n, (%)			< 0,0001
Autres	134 (5,1)	12 (0,5)	
Digestifs	77 (2,9)	13 (0,5)	
Leucémie Aigüe	123 (4,7)	4 (0,2)	
LNH	760 (30)	31 (1,2)	
Maladie de Hodgkin	207 (7,9)	7 (0,3)	
Myélome multiple	139 (5,3)	54 (2,1)	
Ovaire	48 (1,8)	90 (3,4)	
Sarcome	244 (9,3)	16 (0,6)	
Sein	541 (20,7)	74 (2,8)	
Utérus	29 (1,1)	16 (0,6)	
Conséquence n, (%)			NA
Données manquantes	448 (12,6)	75 (2,1)	
Anomalies congénitales	13 (0,4)	2 (0)	
Autres	727 (20,5)	69 (1,9)	
Décès	566 (15,9)	81 (2,3)	

Engagement du pronostic vital	301 (8,4)	36 (1)
Incapacité permanente	33 (0,9)	1 (0)
Prolongement ou hospitalisation	1046 (29,4)	155 (4,3)

NA : Non applicable

Rouge : Données manquantes > 70%

2. Variables corrélées aux notifications

Le nombre de dossiers de pharmacovigilance a fortement augmenté depuis 2014 (Figure 24 ; tendance générale à tous les médicaments) et l'on pourrait croire que cette augmentation soit différente selon la forme galénique de l'Anthracycline.

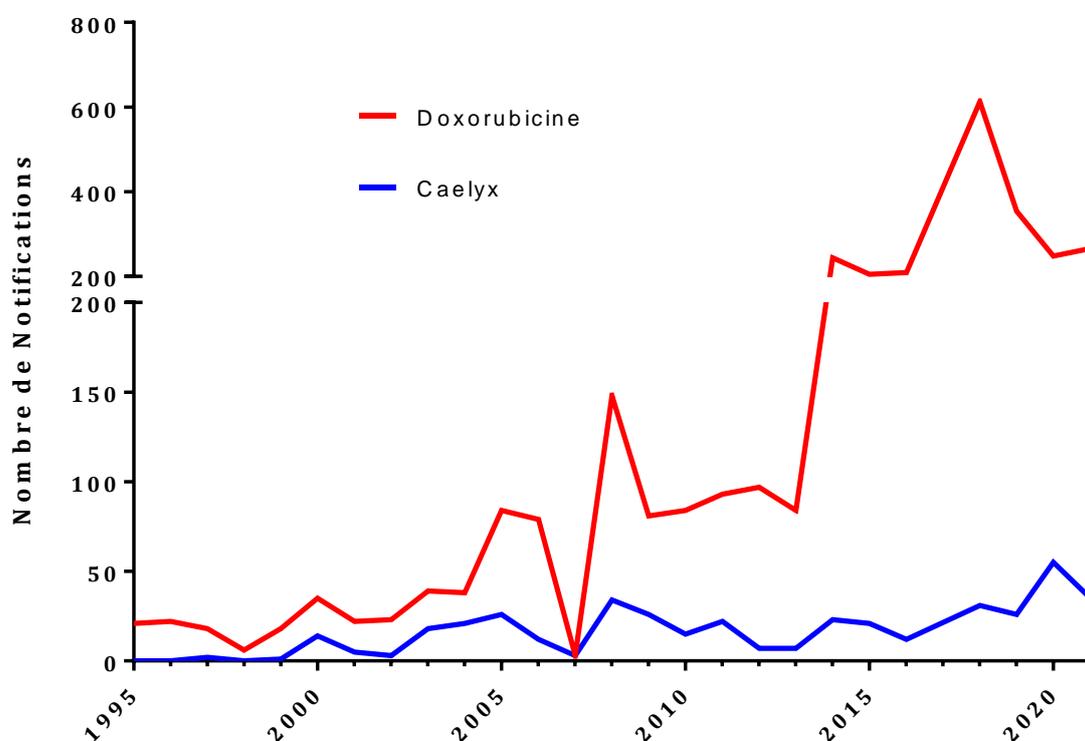


Figure 24. Graphique du nombre de notifications cardiovasculaires de pharmacovigilance comportant la Doxorubicine ou le Caelyx® depuis 1995.

Néanmoins, à l'aide d'une régression linéaire multivariée seuls le type de cancer, l'âge des patients, le déclarant et le pays de notification étaient significatifs pour expliquer cette différence, indépendamment de la forme galénique du médicament.

Tableau XIII. Régression linéaire multivariée expliquant la date de notification.

	Estimation	IC 95%	Valeur de P
β_0	2014	[2013 ; 2015]	< 0,0001

Forme galénique de l'Anthracycline			
Caelyx	Référence		
Doxorubicine	- 0,19	[-0,81 ; 0,41]	0,522
Cancers			
Sein	Référence		
Autres	1,97	[1,08 ; 2,85]	< 0,0001
Digestif	0,57	[-0,48 ; 1,62]	0,284
LNH	2,24	[1,70 ; 2,78]	< 0,0001
Leucémie aigue	2,17	[1,23 ; 3,10]	< 0,0001
Maladie de Hodgkin	2,58	[1,80 ; 3,34]	< 0,0001
Myélome multiple	-3,50	[-4,31 ; -2,69]	< 0,0001
Ovaire	0,61	[-0,30 ; 1,51]	0,188
Sarcome	2,01	[1,30 ; 2,73]	< 0,0001
Utérus	0,64	[-0,75 ; 2,03]	0,366
Genre			
Homme	Référence		
Femme	-0,04	[-0,46; 0,38]	0,849
Age			
	- 0,01	[-0,02 ; 0,003]	0,0094
Déclarants			
Médecin	Référence		
Patients	-0,92	[-1,77 ; -0,08]	0,033
Avocats	1,26	[-1,00 ; 3,52]	0,275
Autres professionnels de santé	2,08	[1,64 ; 2,51]	< 0,0001
Pharmacien	0,79	[0,19 ; 1,39]	0,010
Régions			
Amérique du Nord	Référence		
Afrique	2,48	[0,20 ; 4,75]	0,033
Amérique du Sud	2,13	[0,79 ; 3,48]	0,002
Asie	2,89	[2,36 ; 3,42]	< 0,0001
Europe de l'Est	2,45	[1,57 ; 3,34]	< 0,0001
Europe de l'Ouest	0,43	[-0,01 ; 0,86]	0,055
Océanie	-0,17	[-2,36 ; 2,02]	0,877

3. Analyses de disproportionnalité des effets indésirables

Lors des analyses de disproportionnalité (Tableau XIII), la Doxorubicine non vectorisée n'apparaît pas plus impliquée (voire serait même protectrice) dans la survenue d'affections cardiovasculaires dans son ensemble (OR = 0,86, P = 0,04).

L'analyse en sous-groupe confirme l'absence de surrisque entre les deux formes pour des termes particuliers : Arrêt cardiaque (OR = 0,66 ; P = 0,02), Fibrillation atriale (0,61 ; P = 0,003), Hypotension (0,62 ; P = 0,01), Infarctus du myocarde (OR = 0,48 ; P = 10⁻⁵), Tachycardie (0,45 ; P = 10⁻¹³). On ne peut conclure lorsqu'il s'agit de la Fraction d'éjection ventriculaire gauche diminuée, l'Insuffisance Cardiaque, la Myocardite ou encore la Péricardite.

Par contre, en ce qui concerne les cardiomyopathies, il existe une différence de risque très nette, en faveur de la forme liposomale ((OR = 2,74 ; P = 10⁻⁷).

Tableau XIV. Effets indésirables cardiovasculaires rapportés sous Doxorubicine ou Caelyx®.

	DOXORUBICINE (n = 59 571)	CAELYX® (n = 6 891)	ROR (IC 95%)
Affections cardiovasculaires	3134	419	0,86 [0,77 ; 0,95]
Arrêt Cardiaque	207	36	0,66 [0,47 ; 0,95]
Cardiomyopathie	681	29	2,74 [1,89 ; 3,97]
FA	222	42	0,61 [0,44 ; 0,85]
Fraction d'éjection diminuée	139	23	0,70 [0,45 ; 1,09]
Hypotension	189	35	0,62 [0,43 ; 0,90]
IC	823	95	1,00 [0,81 ; 1,24]
IDM	159	38	0,48 [0,34 ; 0,69]
Myocardite	28	2	1,62 [0,39 ; 6,80]
Péricardite	30	3	1,16 [0,35 ; 3,79]
Tachycardie	426	108	0,45 [0,37 ; 0,56]

Rouge : OR en faveur du CAELYX

Bleu : OR en faveur de la DOXORUBICINE

4. Facteurs de risque de survenue des cardiomyopathies

Dans la dernière étape de notre étude, nous voulions isoler les facteurs de risque des cardiomyopathies. Dans cette optique une régression logistique multivariée a été envisagée incluant les variables « DCI, Type de Cancer, Genre, Age, Poids, Taille, Dose administrée par cure ».

Le modèle de régression univariée exclut la Taille des patients (P = 0,288). Malgré des valeurs de P inférieures à 5%, la dose administrée par cure et le poids ont tous les deux été supprimés du modèle multivarié car l'addition de ces variables limitait le nombre de dossiers analysés à 354.

En passant par une analyse multivariée, nous avons pu montrer que l'occurrence des cardiomyopathies était influencée par la forme du médicament en défaveur de la Doxorubicine classique (OR = 3,12 ; P < 0,0001). Les patients les plus jeunes étaient plus à risque concernant cet effet indésirable (OR = 0,54 ; P = 0,016

pour les plus de 58 ans et OR = 0,46 ; P = 0,01 pour les plus de 74 ans). Mais leur genre n'était pas corrélé à cette variable (P = 0,072).

Pour terminer, certains cancers sont à risque accru d'apparition de cardiomyopathie : à savoir le lymphome non hodgkinien (OR = 2,69 ; P = < 0,0001), les sarcomes (OR = 3,29, P = < 0,0001), les cancers du sein (OR = 2,12 ; P = 0,01) et de l'utérus (OR = 3,29 ; P = 0,017).

Tableau XV. Analyses uni et multivariées des facteurs de risque de cardiomyopathie chez les patients traités par Anthracyclines.

	n	Analyse univariée		Analyse multivariée	
		OR (IC 95%)	Valeur de P	OR (IC 95%)	Valeur de P
Forme galénique					
Caelyx	3348	Référence			
Doxorubicine		4,02 [2,73 ; 5,91]	< 0,0001	3,12 [1,90 ; 5,12]	< 0,0001
Cancers					
Ovaire		Référence			
Autres		2,64 [0,94 ; 6,10]	0,584	1,49 [0,61 ; 3,63]	0,993
Digestif		1,71 [0,68 ; 4,29]	0,305	1,20 [0,46 ; 3,14]	0,471
Leucémie aigue		4,20 [1,90 ; 9,31]	0,004	1,80 [0,77 ; 4,22]	0,384
LNH	2451	4,00 [1,99 ; 8,03]	< 0,0001	2,69 [1,28 ; 5,68]	< 0,0001
Maladie de Hodgkin		1,26 [0,54 ; 2,95]	0,055	0,61 [0,25 ; 1,49]	0,091
Myélome multiple		0,53 [0,20 ; 1,40]	0,075	0,44 [0,16 ; 1,21]	0,145
Sarcome		6,41 [3,08 ; 13,32]	< 0,0001	3,29 [1,50 ; 7,19]	< 0,0001
Sein		3,75 [1,85 ; 7,61]	< 0,0001	2,12 [1,02 ; 4,42]	0,010
Utérus		3,67 [1,42 ; 9,49]	0,045	3,29 [1,24 ; 8,71]	0,017
Genre					
Femme	3348	Référence			
Homme		0,77 [0,65 ; 0,93]	0,005	0,79 [0,62 ; 1,02]	0,072
Age					
< 43 ans		Référence			
43 - 57 ans	3348	0,90 [0,72 ; 1,13]	0,003	0,80 [0,60 ; 1,09]	0,058
58 - 73 ans		0,58 [0,47 ; 0,73]	0,004	0,54 [0,40 ; 0,72]	0,016
> 74 ans		0,51 [0,37 ; 0,71]	0,002	0,46 [0,30 ; 0,70]	0,010
Poids	1191	0,99 [0,98 ; 0,99]	0,002		
Taille	379	0,99 [0,99 ; 1,01]	0,288		
Dose	910	0,99 [0,99 ; 0,99]	0,419		

IV. Discussion

1. Design de l'étude et données épidémiologiques

Nous avons étudié 3 553 dossiers patients permettant une estimation plutôt représentative de la réalité. Toutefois nous déplorons une grande disparité avec 7 fois plus de dossiers déclarés sur la Doxorubicine comparativement au CAELYX®. Nous ne pouvons à ce jour confronter ce chiffre au volume de vente des spécialités. Néanmoins, en croisant ces données avec les référentiels d'oncologie, nous constatons que les indications de la Doxorubicine sont nettement plus nombreuses ce qui pourrait expliquer cette différence.

De plus, nous mettons en évidence que cette classe de médicaments reste moins notifiée que d'autres spécialités ; constat pouvant être élargi à toutes les chimiothérapies. Les effets indésirables étant bien connus pour ces principes actifs, les professionnels de santé ont donc tendance à moins notifier la survenue de ces effets.

L'étude étant rétrospective non interventionnelle, une randomisation n'a pu être opérée expliquant les différences relevées entre les groupes de traitement. Afin d'affiner notre analyse et de lisser cette inégalité, un appariement par score de propension pourrait être envisagé. Pour ce faire, il serait nécessaire de récupérer des données plus précises en collectant directement les dossiers patients, ce qui serait extrêmement chronophage.

Notre population est majoritairement composée de femmes (62%), ce qui s'explique aisément par les indications principales d'utilisation de la doxorubicine : cancers du sein, de l'utérus et des ovaires, représentant 798 femmes sur 2 451 patients (en excluant les données manquantes) soit 1/3 de l'effectif.

On constate que les posologies médianes d'anthracyclines sont plus faibles lors de l'administration de CAELYX®. Cette information est corrélée au référentiel français où les doses de Doxorubicine sont en moyenne plus élevées dans les différentes indications (45 à 60 contre 40 à 50 mg/m² dans le cancer de l'ovaire, 15 à 75 mg/m² contre 20 mg/m² dans les sarcomes).

Les conséquences des effets indésirables pour les patients relevées dans nos dossiers sont équivalentes entre les 2 groupes exceptées pour le terme « autres » bien plus notifié. Les modalités de cette variable étant exhaustive, il serait intéressant de reprendre chaque dossier patient pour la recoder. Cette action nous permettrait une analyse plus fine en tentant d'expliquer ce résultat selon le profil de chaque patient (effet indésirable déclaré, dose reçue, paramètres biologiques).

Concernant les notifications, nous avons observé que les pays d'Amérique du Sud et d'Asie déclaraient bien plus d'effets indésirables relatifs à la Doxorubicine. Les AMM du CAELYX® ayant été majoritairement octroyées dans les pays riches, on peut s'attendre à des différences proportionnelles aux inégalités de prescription. De plus, le coût colossal de la nanoparticule renforce ces disparités dans les pays possédant un système de santé moins performant.

Pour finir, nous avons enregistré une différence de notifications en défaveur des pharmaciens. A savoir que nous déclarons bien plus d'effets indésirables lorsqu'il s'agit de la forme libre que de la liposomale. Néanmoins, vu l'organisation des soins pour ces traitements, il semble assez logique que les déclarations proviennent majoritairement des médecins qui constatent directement les effets.

2. Notifications des effets indésirables

La première analyse multivariée effectuée a permis d'extraire les facteurs corrélés aux notifications durant la période de notre étude. Bien que graphiquement, le nombre de notifications paraissait être lié au type de médicament, la modélisation a exclu cette variable ($P = 0,522$). *A contrario* les régions notifiantes, le type de cancer et les personnes déclarantes permettent d'expliquer les différences de notification.

Comparativement aux années antérieures à 2014 (β_0), les organismes situés en Amérique du Sud, en Afrique et en Europe de l'Est adressent plus de dossiers. Ce changement peut s'expliquer par l'entrée de nombreux pays de ces régions dans le dispositif Vigibase au début de la dernière décennie (221). Le délai entre l'entrée dans la banque de données et les premières notifications peut ainsi justifier cette année charnière en 2014.

Concernant les déclarants, nous avons observé que les autres professionnels de santé se détachent et ont un fort impact sur les déclarations récentes. Cette analyse démontre que les professionnels des secteurs paramédicaux ont pris une place importante dans le dispositif de déclaration de pharmacovigilance durant ces dernières années. Il en est de même pour les patients qui peuvent déclarer leurs effets indésirables depuis une dizaine d'années maintenant.

Enfin, les types de cancers retentissent aussi sur ce paramètre avec de nombreux patients atteints de myélomes multiples vers 2010 alors que les LNH, maladie de Hodgkin et leucémie aigüe font partie des dossiers plus récents. Plus précisément, 78% des notifications traitant des myélomes multiples datent d'avant 2014 coïncidant avec les premières années de déploiement du VELCADE® (Bortezomib) dans cette pathologie. En opposition, seulement 11% des LNH, maladie de Hodgkin et leucémie aigüe ont été dénombrés sur cette même période. Une hypothèse probable serait l'utilisation de MABTHERA® (Rituximab) dans ces maladies à partir de 2014 car ce médicament est prescrit à 16% des patients de notre cohorte.

3. Risque cardiovasculaire

Etonnamment, le risque cardiovasculaire global semble être moindre sous Doxorubicine ($OR = 0,86$, $P = 0,04$) avec une diminution d'apparition des arrêts cardiaques, fibrillation atriale, hypotension, infarctus du myocarde et tachycardie. Le

RCP de ce produit contre indiquant sa prescription chez les patients ayant eu un infarctus du myocarde dans les 6 derniers mois, il est donc normal de retrouver une diminution de ces évènements avec cette forme.

Pour autant recourir à la forme liposomale permet de restreindre le risque de cardiomyopathie chez les patients traités (OR = 2,75, P = 10⁻⁷). Cette donnée confirme le postulat initial qui a guidé le développement de ce liposome.

L'analyse de disproportionnalité via Vigilyse est intéressante car réalisée sur un grand nombre de notifications internationales. Il est cependant important de nuancer ces résultats. Le recodage des modalités des variables est tout d'abord fastidieux, soumis à l'appréciation personnelle de l'analyste. Les données manquantes sont nombreuses et il est impossible d'effectuer une analyse fine de chaque patient sans procéder à des récupérations de données au cas par cas.

Concrètement, lors des analyses des facteurs de risque de cardiomyopathie, nous n'avons pu inclure la dose totale d'anthracycline reçue alors que cette variable est reconnue comme étant corrélée de façon importante à cet effet. Ce défaut peut ainsi modifier notre modélisation et induire un biais de confusion dans notre analyse.

La dernière limite concerne la conception en elle-même du coefficient de disproportionnalité (Tableau XI). Dans cette étude les termes « a » et « b » correspondent à la fréquence d'apparition du terme MedDra dans notre cohorte. Ainsi, pour un même dossier, un patient peut présenter une « cardiomyopathie », une « hypotension » et un « arrêt cardiaque » soit pour une cohorte de 3 553 patients un nombre d'effets indésirables cardiovasculaire potentiellement supérieur. En opposition les termes « c » et « d » décrivent le nombre de dossiers patients incriminant ces médicaments sur la période étudiée. Par conséquent, ces deux termes se retrouvent sous évalués dans notre essai et limitent l'objectivité de nos résultats. Pour remédier à cette problématique et ainsi limiter le biais de sélection, nous devrions procéder à la récupération des 66 462 dossiers puis au recodage et au retrait des doublons ; action impossible sans une équipe de data manager.

Dans le but d'extraire les variables influençant la survenue de cardiomyopathie un modèle multi varié a été construit mettant surtout en évidence la forme libre comme facteur de risque (OR = 3,12).

Le risque de cardiomyopathie est moindre chez les personnes plus âgées (OR = 0,54 pour les 58 - 73 ans et 0,46 pour les plus de 73 ans). Cette observation est inattendue car les pathologies les plus à risque pour cet effet indésirable sont le cancer du sein (OR = 2,12), le LNH (OR = 2,69), les sarcomes et le cancer de l'utérus (OR = 3,29). L'âge médian de diagnostic se situant après 60 ans pour les 3 premiers et l'incidence des sarcomes étant fortement augmentée avec l'âge, on pourrait s'attendre à un sur risque chez les populations vieillissantes. Ce constat nous permet de réaffirmer le besoin de collecter d'autres données. D'autant que la sensibilité du modèle construit se maximise à 68% (Figure 25) démontrant l'oubli de variables majeures pour la détermination du risque de survenue des cardiomyopathies.

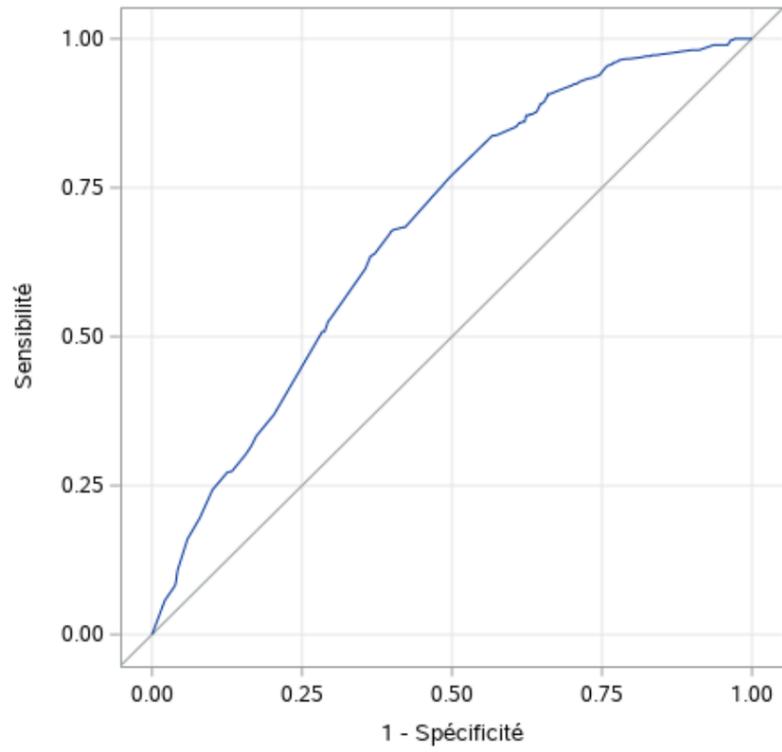


Figure 25. Courbe ROC de la régression logistique multivariée.

V. Conclusion

En se basant sur une analyse de disproportionnalité régulièrement employée par les centres de pharmacovigilance (219,222–224) nous avons étudié le retentissement cardiaque des anthracyclines sous forme libre ou liposomale. Aucune étude de ce format n'ayant pas encore été publiée sur ces deux médicaments, nous n'avons pu comparer nos résultats aux données de la littérature.

Bien que cette étude ne soit pas exempt de biais (données manquantes, sous notification des chimiothérapies, sur exposition des données cardiovasculaires lors des analyses du ROR) ; nous avons pu démontrer que la survenue de cardiomyopathie, objectif du développement de la nanoparticule, était bien réduit en données réelles avec 3 fois moins de risque lors de l'administration de CAELYX® comparativement à la Doxorubicine seule.

CONCLUSION

Le développement des nanoparticules dans tous les secteurs industriels a été fulgurant durant ces 3 dernières décennies. Avec près de 2 millions de produits vendus tous secteurs confondus à travers le monde, l'industrie pharmaceutique n'échappe pas à cette percée. A l'échelle nationale, le premier nano médicament fut le MEGACE® (Acétate de mégestrol) commercialisé en 1993 sous forme de nano cristaux. Initialement, cette forme fut imaginée pour outrepasser les problèmes de solubilité auquel les industriels devaient faire face suite à la découverte de nouveaux principes actifs. Mais les multiples possibilités (ciblage d'organes voire de cellules malades, potentialisation des principes actifs vectorisés, diminution des effets indésirables) ont permis aux chercheurs de créer d'autres formes de nanoparticules de complexité croissante.

Ce phénomène fut visible dans notre revue systématique sur les essais cliniques menés depuis 2001 évaluant des nanoparticules. Et pour cause, chaque nano objet est unique défini par sa taille, sa forme, son potentiel de surface résultant de procédés de synthèse pouvant être obscurs. Ce constat induit de nombreuses difficultés de conception et de compréhension des phénomènes physiques intrinsèques à chaque particule à la fois pour les industriels mais aussi pour les agences de contrôles. Il en résulte que sur l'arsenal thérapeutique français, peu de médicaments sous forme nanoparticulaire aient reçu une AMM avec majoritairement des nanocristaux (forme la plus simple à développer) et des liposomes (vecteurs les plus présents en essais cliniques). Pour finir, les secteurs les plus représentés dans les essais sont corrélés aux spécialités sur le marché pharmaceutique à savoir l'oncologie, l'infectiologie, la dermatologie et la neurologie.

Dans cette étude, nous avons observé que le traitement des cancers faisait partie des domaines pro actifs de recherche sur ce secteur. A ce jour, seulement deux médicaments ont une AMM dans notre pays à la fois pour une forme libre et vectorisée : l'AMBISOME® et le CAELYX®. La diminution du risque de néphrotoxicité n'étant plus à prouver sous Amphotéricine B liposomale, l'anthracycline a été sélectionnée pour une analyse des risques de survenue d'effets indésirables. Comme le montre les données du RCP et les articles publiés, le liposome a été développé pour réduire le risque de cardiomyopathie de la Doxorubicine mais il n'existe pas d'analyse des données de pharmacovigilance.

Pour démontrer l'efficacité du CAELYX®, une étude de disproportionnalité a été menée basée sur les dossiers patients contenus dans la banque de données de pharmacovigilance internationale VigiBase. Les résultats ont démontré que le risque de cardiomyopathie était en moyenne 3 fois plus important sous Doxorubicine comparativement à la forme vectorisée à la fois dans les calculs de ROR mais aussi dans le modèle multivarié.

ANNEXES

Annexe 1 : Echelle CONSORT.



Liste de contrôle CONSORT 2010 à inclure pour rendre compte d'un essai randomisé*

Section/sujet	Item N°	DESCRIPTION	Page N°
TITRE & RESUME			
	1a	Identification en tant qu' "essai randomisé" dans le titre	
	1b	Résumé structuré du plan d'essai, méthodes, résultats et conclusions (pour une aide spécifique voir CONSORT pour Abstract)	
INTRODUCTION			
Contexte et objectifs	2a	Contexte scientifique et explication du bien-fondé	
	2b	Objectifs spécifiques et hypothèses	
MÉTHODES			
Plan de l'essai	3a	Description du plan de l'essai (tel que : groupes parallèles, plan factoriel) en incluant les ratios d'allocation	
	3b	Changements importants de méthode après le début de l'essai (tel que les critères d'éligibilité), en expliquer la raison	
Participants	4a	Critères d'éligibilité des participants	
	4b	Structures et lieux de recueil des données	
Interventions	5	Interventions pour chaque groupe avec suffisamment de détails pour pouvoir reproduire l'étude, en incluant comment et quand elles ont été véritablement conduites	
Critères de jugement	6a	Critères "à priori" de jugement principal et secondaires entièrement définis, en incluant comment et quand ils ont été évalués	
	6b	Changement quelconque de critères de jugement après le début de l'essai, en expliquer la raison	
Taille de l'échantillon	7a	Comment la taille de l'échantillon a-t-elle été déterminé ?	
	7b	Quand cela est applicable, explication des analyses intermédiaires et des règles d'arrêt	
RANDOMISATION			
Production de la séquence	8a	Méthode utilisée pour générer la séquence d'allocation par tirage au sort	
	8b	Type de randomisation, en incluant les détails relatifs à une méthode de restriction (comme par ex. : par blocs, avec la taille des blocs)	
Mécanisme d'assignation secrète	9	Mécanisme utilisé pour mettre en œuvre la séquence d'allocation randomisée (comme par exemple : l'utilisation d'enveloppes numérotées séquentiellement), en décrivant chaque mesure prise pour masquer l'allocation jusqu'à l'assignation des interventions.	
Mise en œuvre	10	Qui a généré la séquence d'allocation, qui a enrôlé les participants et qui a assigné les participants à leurs groupes	
Aveugle	11a	Au cas où, décrire qui a été en aveugle après l'assignation des interventions (par exemple, les participants, les administrateurs de traitement, ceux qui évaluent les résultats) et comment ont-ils été empêchés de savoir	
	11b	Si approprié, description de la similitude des interventions	
Méthodes statistiques	12a	Méthodes statistiques utilisées pour comparer les groupes au regard des critères de jugement principal et secondaires	
	12b	Méthodes utilisées pour des analyses supplémentaires, telles que des analyses de sous-groupes ou des analyses ajustées	

Liste de contrôle CONSORT 2010

Page 1/2

Section/sujet	Item N°	DESCRIPTION	Page N°
RESULTATS			
Flux des participants (un diagramme est fortement conseillé)	13a	Pour chaque groupe, le nombre de participants qui ont été assignés par tirage au sort, qui ont reçu le traitement qui leur était destiné, et qui ont été analysés pour le critère de jugement principal	
		Pour chaque groupe, abandons et exclusions après la randomisation, en donner les raisons	
Recrutement	14a	Dates définissant les périodes de recrutement et de suivi	
	14b	Pourquoi l'essai a-t-il pris fin ou a été interrompu	
Données initiales	15	Une table décrivant les caractéristiques initiales démographiques et cliniques de chaque groupe	
Effectifs analysés	16	Nombre de participants (dénominateur) inclus dans chaque analyse en précisant si l'analyse a été faite avec les groupes d'origine	
Critères de jugement et estimations	17a	Pour chaque critère de jugement principal et secondaire, donner les résultats pour chaque groupe, et la taille estimée de l'effet ainsi que sa précision (comme par ex. : intervalles de confiance à 95%)	
	17b	Pour les variables binaires, une présentation de la taille de l'effet en valeurs absolues et relatives est recommandée	
Analyses accessoires	18	Résultats de toute analyse supplémentaire réalisée, en incluant les analyses en sous-groupes et les analyses ajustées, et en distinguant les analyses spécifiées a priori des analyses exploratoires	
Risques	19	Tous les risques importants ou effets secondaires inattendus dans chaque groupe (pour un conseil détaillé voir 'CONSORT for harms')	
DISCUSSION			
Limitations	20	Limitations de l'essai, en tenant compte des sources de biais potentiels ou d'imprécision, et au cas où, en tenant compte de la multiplicité des analyses	
"Généralisabilité"	21	"Généralisabilité" (validité externe, applicabilité) des résultats de l'essai	
Interprétation	22	Interprétations/conclusions cohérentes avec les résultats, en tenant compte du ratio bénéfices/risques et de possibles autres faits pertinents	
INFORMATIONS SUPPLEMENTAIRES			
Enregistrement	23	Numéro d'enregistrement de l'essai en précisant le registre utilisé	
Protocole	24	Où le protocole complet de l'essai peut-il être consulté, si possible	
Financement	25	Sources de financement et autres ressources (par ex. : fourniture de médicaments), rôle des donateurs	

* Il est instamment recommandé de lire cette liste CONSORT 2010 à l'aide du document 'CONSORT 2010 Explanation and Elaboration' pour mieux comprendre les clarifications apportées à cette nouvelle version. Si opportun, il est aussi recommandé de lire les extensions CONSORT pour les essais en groupes randomisés, les essais de non-infériorité et d'équivalence, les interventions à base d'herbes, les essais pragmatiques. D'autres futures extensions sont attendues. Pour ces extensions et pour des références récentes en rapport avec cette liste CONSORT 2010, aller à : <http://www.consort-statement.org/consort-statement/overview/>

Traduction originale de la liste CONSORT 2010 issue de l'article de: Schulz KF, Latman DG, Moher D. CONSORT 2010 Statement: Updated Guidelines for Reporting Parallel Group Randomised Trials. PLoS Med. 2010;7(3): e1000251. doi:10.1371/journal.pmed.1000251, et d'après la traduction originale de la liste CONSORT 2001 par Pauline Brindel, Caroline Tournoux, Jean-Philippe Jais et Paul Landais, 2006, consultable en version interactive sur <http://eb.medecine.univ-paris5.fr/moodle/courseview.php?id=2>

Revue d'Odonto-Stomatologie Février 2010 pp 32-36
 extrait de : Cannac C, Viargnes P, Dot D. L'écriture scientifique: approche et discussion. Rev Odont Stomat 2010;39:3-75

Liste de contrôle CONSORT 2010

Page 2/2

Annexe 2 : Echelle NOS.

Tableau I. Traduction française de la Newcastle-Ottawa Scale.

Catégories d'items	Items	Cotation
Sélection (maximum 4 étoiles)	Représentativité des sujets exposés (maximum 1 étoile)	(1 étoile) Vraiment représentatif de la population cible en moyenne dans la communauté (1 étoile) Un peu représentatif de la population cible en moyenne dans la communauté (0 étoile) Groupe d'utilisateurs sélectionné (infirmiers, volontaires, etc.) (0 étoile) Pas de description de la constitution de la cohorte
	Sélection des sujets non exposés (maximum 1 étoile)	(1 étoile) Issus de la même communauté que les sujets exposés (0 étoile) Issus d'une source différente (0 étoile) Pas de description de la constitution des groupes des sujets non exposés
	Détermination de l'exposition (maximum 1 étoile)	(1 étoile) Dossier fiable (comme les dossiers chirurgicaux) (1 étoile) Entretien structuré (0 étoile) Auto-déclaration écrite (0 étoile) Pas de description
	Démonstration que le critère de jugement d'intérêt était absent au début de l'étude (maximum 1 étoile)	(1 étoile) Oui (0 étoile) Non
Comparabilité (maximum 2 étoiles)	Comparabilité des sujets exposés et non exposés sur la base du schéma d'étude ou de l'analyse	(1 étoile) L'étude contrôle le facteur le plus important (1 étoile) L'étude contrôle tout facteur supplémentaire (ce critère pourrait être modifié pour indiquer un contrôle spécifique d'un deuxième facteur important)
Critère de jugement (maximum 3 étoiles)	Évaluation du critère de jugement (maximum 1 étoile)	(1 étoile) Évaluation indépendante en aveugle (1 étoile) Chainage des données (0 étoile) Auto-évaluation/déclaration (0 étoile) Pas de description
	Le suivi a-t-il été suffisamment long pour que le critère de jugement se produise ? (maximum 1 étoile)	(1 étoile) Oui (choisir une période de suivi adéquate pour le critère d'intérêt) (0 étoile) Non
	Adéquation du suivi des sujets (maximum 1 étoile)	(1 étoile) Suivi complet – tous les sujets ont été suivis (1 étoile) Perdus de vue peu susceptibles d'introduire un biais (peu de perdus de vue, pourcentage de suivi adéquat (et préciser le taux jugé adéquat) ou description des perdus de vue fournis) (0 étoile) Taux de perdus de vue supérieur au taux adéquat et absence de description des perdus de vue (0 étoile) Aucune information rapportée

Annexe 3 : Liste des protocoles de chimiothérapies incluant la Doxorubicine libre ou liposomale pegylée.

ABV : Doxorubicine / Bléomycine / Vinblastine

ABVD : Doxorubicine / Bléomycine / Vinblastine / Dacarbazine

AC : Doxorubicine / Cyclophosphamide

ACP : Doxorubicine / Cisplatine / Paclitaxel

ACVBP : Doxorubicine / Cyclophosphamide / Eldésine / Bléomycine / Prednisone

AD : Doxorubicine / Dacarbazine

AI : Doxorubicine / Ifosfamide

AP : Doxorubicine / Cisplatine

AT : Doxorubicine / Taxotere

BC : Bevacizumab / Caelyx

BC : Bortezomib / Caelyx

BEACOPP : Bléomycine / Etoposide / Doxorubicine / Cyclophosphamide / Vincristine / Procarbazine / Prednisone

CA : Cytarabine / Doxorubicine

CAP : Cyclophosphamide / Doxorubicine / Cisplatine

CC : Carboplatine / Caelyx

CHOP : Cyclophosphamide / Doxorubicine / Vincristine / Prednisone

FAC 50 : 5 Fluoro Uracile / Doxorubicine / Cyclophosphamide

FAMTX : 5 Fluoro Uracile / Doxorubicine / Methotrexate

MAP : Methotrexate / Doxorubicine / Cisplatine

MVAC : Methotrexate / Vinblastine / Doxorubicine / Cisplatine

TAC : Docetaxel / Adriamycine / Cyclophosphamide

TC : Trabectedine / Caelyx

VAD : Vincristine / Doxorubicine / Dexaméthasone

VAMP : Vincristine / Doxorubicine / Methylprednisolone

VBAP : Vincristine / Carmustine / Doxorubicine / Prednisone

Annexe 4 : Liste des effets Indésirables de la Doxorubicine et du CAELYX®.

Effets Indésirables	Doxorubicine®	CAELYX®
Affections Hématologiques et du système lymphatique	Leucopénie Neutropénie Anémie Thrombopénie	
Infections et infestations	Infections Septicémie	
Tumeurs bénignes, malignes	Leucémies secondaires	Syndrome myélodysplasique Tumeurs de la cavité buccale
Affections gastro-intestinales	Nausées Vomissements Stomatite/ulcération buccale Diarrhée Douleurs abdominales Oesophagite Gastrite	
	Colite Hémorragie	Constipation
Affections de la peau et du tissu sous-cutané	Alopécie Démangeaisons Syndrome d'érythrodysesthésie palmo-plantaire Hypersensibilité de la peau irradiée Affections des ongles Troubles de la pigmentation	
	Photosensibilité	Sécheresse Cutanée
Affections des organes de reproduction et du sein	Aménorrhée Oligospermie Azoospermie	Douleur mammaire Vaginite
Troubles généraux et anomalies au site d'administration	Asthénie Fièvre Frissons Malaise	Douleur Céphalées Étourdissements Œdèmes
Affections du système immunitaire	Réaction allergique	
Affections vasculaires	Bouffées de chaleur Hypotension Phlébite	Hypertension
Affections cardiaques	Troubles du rythme cardiaque Diminution de la fraction d'éjection ventriculaire gauche	
	Insuffisance cardiaque congestive Cardiomyopathie	
Affections respiratoires, thoraciques et médiastinales		Dyspnée Epistaxis Toux

Affections du système nerveux	Neuropathies Névralgie Paresthésie Hypertonie Dysgueusie Somnolence Léthargie Syncope
Affections psychiatriques	Insomnie Anxiété Dépression Confusion
Affections musculosquelettiques et systémiques	Douleurs squelettiques Myalgie Crampes
Affections hépatobiliaires	Augmentation des transaminases Augmentation des PAL Augmentation de la BT
Affections du rein et des voies urinaires	Coloration en rouge des urines Dysurie Augmentation de la créatininémie
Troubles du métabolisme et de la nutrition	Anorexie Déshydratation Hyperuricémie Hyponatrémie Hypokaliémie Hyperkaliémie Hypomagnésémie Hypocalcémie
Affections oculaires	Conjonctivite Larmoiements Rétinite Vision trouble

PAL : Phosphatase Alcaline

BT : Bilirubine Total

Rouge : Effets Indésirables rapportés sous Doxorubicine

Bleu : Effets Indésirables rapportés sous CAELYX®

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1. APPROCHES DESCENDANTE ET ASCENDANTE PERMETTANT LA SYNTHÈSE DE NANOPARTICULES.	4
FIGURE 2. CORRELATION ENTRE TAILLE DES PARTICULES ET SURFACE TOTALE.	10
FIGURE 3. ECHELLE DE TAILLE DES STRUCTURES BIOLOGIQUES ET DES NANOPARTICULES. (24)	11
FIGURE 4. CLASSIFICATION DES NANO OBJETS SELON LEURS DIMENSIONS. FIBRES A 1 DIMENSION (A), PLAQUES EN 2 DIMENSIONS (B) ET PARTICULES EN 3 DIMENSIONS (C).....	11
FIGURE 5. FAMILLE DE NANOPARTICULES.	12
FIGURE 6. GENERATIONS DE NANOPARTICULES.	15
FIGURE 7. EFFET DE PERMEABILITE ET DE RETENTIONS RENFORCEES (38).	17
FIGURE 8. ORGANIGRAMME DES ETUDES SELECTIONNEES.	25
FIGURE 9. HISTOGRAMME DES DOMAINES MEDICAUX CONCERNES PAR LA NANOMEDICINE DANS NOTRE REVUE.	32
FIGURE 10. DIAGRAMME EN SECTEUR DES FAMILLES DE NANOPARTICULES (A) ET DETAIL DES NANOPARTICULES LIPIDIQUES (B) REPERTORIEES DANS NOTRE REVUE.	33
FIGURE 11. REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LIPOSOMES.	41
FIGURE 12. OBSERVATION EN CRYOMICROSCOPIE ELECTRONIQUE ET REPRESENTATION SCHEMATIQUE DES DIFFERENTS TYPES DE LIPOSOMES.	42
FIGURE 13. SCHEMA DES PHOSPHOLIPIDES.....	43
FIGURE 14. TECHNIQUES CONVENTIONNELLES POUR LA FABRICATION DES LIPOSOMES.	45
FIGURE 15. SCHEMA D'UN MICROFLUIDIZER®	48
FIGURE 16. REACTION DE PEROXYDATION DES ACIDES GRAS.	50
FIGURE 17. REACTION D'HYDROLYSE DES PHOSPHOLIPIDES.....	50
FIGURE 18. SCHEMA DE LA LYOPHILISATION AVEC ET SANS CRYOPROTECTEUR (157).	52
FIGURE 19. BROYEUR A BILLES.....	57
FIGURE 20. HOMOGENEISATION A HAUTE PRESSION.	59
FIGURE 21. STRUCTURE CHIMIQUE DE LA DOXORUBICINE.	66
FIGURE 22. REPRESENTATION DU LIPOSOME DE CAELYX®	67
FIGURE 23. ORGANIGRAMME DES DOSSIERS PATIENTS SELECTIONNES.	74
FIGURE 24. GRAPHIQUE DU NOMBRE DE NOTIFICATIONS CARDIOVASCULAIRES DE PHARMACOVIGILANCE COMPORTANT LA DOXORUBICINE OU LE CAELYX® DEPUIS 1995.....	76
FIGURE 25. COURBE ROC DE LA REGRESSION LOGISTIQUE MULTIVARIEE.	83

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU I. TYPES DE NANOPARTICULES ET APPLICATIONS.....	7
TABLEAU II. DÉFINITIONS DES NANOPARTICULES.....	9
TABLEAU III. COMPARAISON DES SURFACES SELON LA TAILLE DES PARTICULES EXAMINÉES.....	10
TABLEAU IV. DESCRIPTION DES PROBLÉMATIQUES RENCONTRÉES LORS DE LA FORMULATION (28,29).....	13
TABLEAU V. LISTE DES ESSAIS CLINIQUES RANDOMISÉS PROSPECTIFS.....	26
TABLEAU VI. LISTE DES ESSAIS CLINIQUES NON RANDOMISÉS PROSPECTIFS.....	30
TABLEAU VII. LISTE DES NANO MÉDICAMENTS EN FRANCE.....	36
TABLEAU VIII. RENSEIGNEMENTS ADMINISTRATIFS DES GÉNÉRIQUES DE LA DOXORUBICINE ET DU CAELYX® (205,206).....	65
TABLEAU IX. PROTOCOLES DE CHIMIOTHÉRAPIES À BASE DE DOXORUBICINE (211).....	68
TABLEAU X. PARAMÈTRES PK DES 2 FORMES GALÉNIQUES.....	69
TABLEAU XI. TABLEAU DE CONTINGENCE DU RAPPORT DES CÔTES ET FORMULE DÉRIVÉE DU ROR (220).....	72
TABLEAU XII. DESCRIPTION DE LA COHORTE ÉTUDIÉE.....	75
TABLEAU XIII. RÉGRESSION LINÉAIRE MULTIVARIÉE EXPLIQUANT LA DATE DE NOTIFICATION.....	77
TABLEAU XIV. EFFETS INDÉSIRABLES CARDIOVASCULAIRES RAPPORTÉS SOUS DOXORUBICINE OU CAELYX®.....	78
TABLEAU XV. ANALYSES UNI ET MULTIVARIÉES DES FACTEURS DE RISQUE DE CARDIOMYOPATHIE CHEZ LES PATIENTS TRAITÉS PAR ANTHRACYCLINES.....	79

BIBLIOGRAPHIE

1. Daniel M-C, Astruc D. Gold Nanoparticles: Assembly, Supramolecular Chemistry, Quantum-Size-Related Properties, and Applications toward Biology, Catalysis, and Nanotechnology. *Chem Rev.* 1 janv 2004;104(1):293-346.
2. The Bakerian Lecture: Experimental Relations of Gold (and Other Metals) to Light. 2021;38.
3. Binnig G, Rohrer H, Gerber Ch, Weibel E. Surface Studies by Scanning Tunneling Microscopy. *Phys Rev Lett.* 5 juill 1982;49(1):57-61.
4. Drexler KE. Molecular engineering: An approach to the development of general capabilities for molecular manipulation. *Proc Natl Acad Sci.* 1 sept 1981;78(9):5275-8.
5. Kroto HW, Heath JR, O'Brien SC, Curl RF, Smalley RE. C60: Buckminsterfullerene. *Nature.* nov 1985;318(6042):162-3.
6. Hills G, Lau C, Wright A, Fuller S, Bishop MD, Srimani T, et al. Modern microprocessor built from complementary carbon nanotube transistors. *Nature.* août 2019;572(7771):595-602.
7. Lok C. Nanotechnology: Small wonders. *Nature.* 2 sept 2010;467(7311):18-21.
8. Santos AC, Morais F, Simões A, Pereira I, Sequeira JAD, Pereira-Silva M, et al. Nanotechnology for the development of new cosmetic formulations. *Expert Opin Drug Deliv.* 3 avr 2019;16(4):313-30.
9. Pérez-Esteve E, Bernardos A, Martínez-Mañez R, Barat JM. Recent patents in food nanotechnology. *Recent Pat Food Nutr Agric.* sept 2011;3(3):172-8.
10. Strebhardt K, Ullrich A. Paul Ehrlich's magic bullet concept: 100 years of progress. *Nat Rev Cancer.* juin 2008;8(6):473-80.
11. Wingard JR, White MH, Anaissie E, Raffalli J, Goodman J, Arrieta A, et al. A randomized, double-blind comparative trial evaluating the safety of liposomal amphotericin B versus amphotericin B lipid complex in the empirical treatment of febrile neutropenia. L Amph/ABLC Collaborative Study Group. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* nov 2000;31(5):1155-63.
12. Prentice HG, Hann IM, Herbrecht R, Aoun M, Kvaloy S, Catovsky D, et al. A randomized comparison of liposomal versus conventional amphotericin B for the treatment of pyrexia of unknown origin in neutropenic patients. *Br J Haematol.* sept 1997;98(3):711-8.
13. Esposito S, Marchisio P, Montinaro V, Bianchini S, Weverling GJ, Pariani E, et al. The immunogenicity and safety of a single 0.5 mL dose of virosomal subunit influenza vaccine administered to unprimed children aged ≥ 6 to < 36 months: data from a randomized, Phase III study. *Vaccine.* 19 nov 2012;30(49):7005-12.
14. Hong SS, Choi UY, Ma SH, Lee SY, Han SB, Kim K-H, et al. Comparison of the immunogenicity and safety of 3 inactivated hepatitis A vaccines in Korean children aged

- 12 to 18 months: An open-label, randomized, prospective, multicenter study. *Medicine (Baltimore)*. févr 2019;98(6):e14364.
15. Ducournau C, Nguyen TT, Carpentier R, Lantier I, Germon S, Précausta F, et al. Synthetic parasites: a successful mucosal nanoparticle vaccine against *Toxoplasma* congenital infection in mice. *Future Microbiol*. avr 2017;12(5):393-405.
 16. Alton EFWF, Armstrong DK, Ashby D, Bayfield KJ, Bilton D, Bloomfield EV, et al. Repeated nebulisation of non-viral CFTR gene therapy in patients with cystic fibrosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2b trial. *Lancet Respir Med*. sept 2015;3(9):684-91.
 17. Wickline SA, Lanza GM. Molecular imaging, targeted therapeutics, and nanoscience. *J Cell Biochem*. 2002;87(S39):90-7.
 18. Park J, Bauer S, von der Mark K, Schmuki P. Nanosize and vitality: TiO₂ nanotube diameter directs cell fate. *Nano Lett*. juin 2007;7(6):1686-91.
 19. McNamara LE, Sjöström T, Burgess KEV, Kim JJW, Liu E, Gordonov S, et al. Skeletal stem cell physiology on functionally distinct titania nanotopographies. *Biomaterials*. oct 2011;32(30):7403-10.
 20. Puckett SD, Taylor E, Raimondo T, Webster TJ. The relationship between the nanostructure of titanium surfaces and bacterial attachment. *Biomaterials*. févr 2010;31(4):706-13.
 21. Lacerda L, Bianco A, Prato M, Kostarelos K. Carbon nanotubes as nanomedicines: from toxicology to pharmacology. *Adv Drug Deliv Rev*. 1 déc 2006;58(14):1460-70.
 22. Dick K, Dhanasekaran T, Zhang Z, Meisel D. Size-dependent melting of silica-encapsulated gold nanoparticles. *J Am Chem Soc*. 13 mars 2002;124(10):2312-7.
 23. de Jong. Drug delivery and nanoparticles: Applications and hazards. *Int J Nanomedicine*. juin 2008;133.
 24. Bayda S, Adeel M, Tuccinardi T, Cordani M, Rizzolio F. The History of Nanoscience and Nanotechnology: From Chemical-Physical Applications to Nanomedicine. *Mol Basel Switz*. 27 déc 2019;25(1):E112.
 25. Rancan F, Gao Q, Graf C, Troppens S, Hadam S, Hackbarth S, et al. Skin penetration and cellular uptake of amorphous silica nanoparticles with variable size, surface functionalization, and colloidal stability. *ACS Nano*. 28 août 2012;6(8):6829-42.
 26. Nowack B, Bucheli TD. Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. *Environ Pollut*. nov 2007;150(1):5-22.
 27. Tuominen M, Schultz E. Environmental aspects related to nanomaterials. :59.
 28. Parveen S, Misra R, Sahoo SK. Nanoparticles: a boon to drug delivery, therapeutics, diagnostics and imaging. *Nanomedicine Nanotechnol Biol Med*. févr 2012;8(2):147-66.
 29. Sahoo SK, Parveen S, Panda JJ. The present and future of nanotechnology in human health care. *Nanomedicine Nanotechnol Biol Med*. mars 2007;3(1):20-31.

30. Merisko-Liversidge EM, Liversidge GG. Drug nanoparticles: formulating poorly water-soluble compounds. *Toxicol Pathol.* janv 2008;36(1):43-8.
31. Wang AZ, Langer R, Farokhzad OC. Nanoparticle delivery of cancer drugs. *Annu Rev Med.* 2012;63:185-98.
32. Papini E, Tavano R, Mancin F. Opsonins and Dysopsonins of Nanoparticles: Facts, Concepts, and Methodological Guidelines. *Front Immunol.* 12 oct 2020;11:567365.
33. Zhang Y, Kohler N, Zhang M. Surface modification of superparamagnetic magnetite nanoparticles and their intracellular uptake. *Biomaterials.* avr 2002;23(7):1553-61.
34. Ryan SM, Mantovani G, Wang X, Haddleton DM, Brayden DJ. Advances in PEGylation of important biotech molecules: delivery aspects. *Expert Opin Drug Deliv.* avr 2008;5(4):371-83.
35. Owens DE, Peppas NA. Opsonization, biodistribution, and pharmacokinetics of polymeric nanoparticles. *Int J Pharm.* 3 janv 2006;307(1):93-102.
36. Sebak AA, El-Shenawy BM, El-Safy S, El-Shazly M. From Passive Targeting to Personalized Nanomedicine: Multidimensional Insights on Nanoparticles' Interaction with the Tumor Microenvironment. *Curr Pharm Biotechnol.* 2021;22(11):1444-65.
37. Izci M, Maksoudian C, Manshian BB, Soenen SJ. The Use of Alternative Strategies for Enhanced Nanoparticle Delivery to Solid Tumors. *Chem Rev.* 10 févr 2021;121(3):1746-803.
38. Alasvand N, Urbanska AM, Rahmati M, Saeidifar M, Gungor-Ozkerim PS, Sefat F, et al. Therapeutic Nanoparticles for Targeted Delivery of Anticancer Drugs. In: *Multifunctional Systems for Combined Delivery, Biosensing and Diagnostics [Internet]. Elsevier; 2017 [cité 27 oct 2021]. p. 245-59. Disponible sur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780323527255000137>*
39. Yameen B, Choi WI, Vilos C, Swami A, Shi J, Farokhzad OC. Insight into nanoparticle cellular uptake and intracellular targeting. *J Controlled Release.* sept 2014;190:485-99.
40. Schwarze SR, Hruska KA, Dowdy SF. Protein transduction: unrestricted delivery into all cells? *Trends Cell Biol.* juill 2000;10(7):290-5.
41. Torchilin VP, Levchenko TS, Rammohan R, Volodina N, Papahadjopoulos-Sternberg B, D'Souza GGM. Cell transfection in vitro and in vivo with nontoxic TAT peptide-liposome-DNA complexes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 18 févr 2003;100(4):1972-7.
42. Marty C, Meylan C, Schott H, Ballmer-Hofer K, Schwendener RA. Enhanced heparan sulfate proteoglycan-mediated uptake of cell-penetrating peptide-modified liposomes. *Cell Mol Life Sci CMLS.* juill 2004;61(14):1785-94.
43. Arora S, Rajwade JM, Paknikar KM. Nanotoxicology and in vitro studies: The need of the hour. *Toxicol Appl Pharmacol.* janv 2012;258(2):151-65.
44. Fischer HC, Chan WC. Nanotoxicity: the growing need for in vivo study. *Curr Opin Biotechnol.* déc 2007;18(6):565-71.

45. Santamaria A. Historical Overview of Nanotechnology and Nanotoxicology. In: Reineke J, éditeur. *Nanotoxicity* [Internet]. Totowa, NJ: Humana Press; 2012 [cité 12 juin 2020]. p. 1-12. (Methods in Molecular Biology; vol. 926). Disponible sur: http://link.springer.com/10.1007/978-1-62703-002-1_1
46. Lanone S, Boczkowski J. Biomedical Applications and Potential Health Risks of Nanomaterials: Molecular Mechanisms. *Curr Mol Med*. 1 sept 2006;6(6):651-63.
47. Goodman CM, McCusker CD, Yilmaz T, Rotello VM. Toxicity of Gold Nanoparticles Functionalized with Cationic and Anionic Side Chains. *Bioconjug Chem*. juill 2004;15(4):897-900.
48. Colvin VL. The potential environmental impact of engineered nanomaterials. *Nat Biotechnol*. oct 2003;21(10):1166-70.
49. Wani MY, Hashim MA, Nabi F, Malik MA. Nanotoxicity: Dimensional and Morphological Concerns. *Adv Phys Chem*. 8 mars 2011;2011:1-15.
50. Curtis J, Greenberg M, Kester J, Phillips S, Krieger G. Nanotechnology and Nanotoxicology. *Toxicol Rev*. 2006;16.
51. Hansen CS, Sheykhzade M, Møller P, Folkmann JK, Amtorp O, Jonassen T, et al. Diesel exhaust particles induce endothelial dysfunction in apoE^{-/-} mice. *Toxicol Appl Pharmacol*. févr 2007;219(1):24-32.
52. Jallouli Y, Paillard A, Chang J, Sevin E, Betbeder D. Influence of surface charge and inner composition of porous nanoparticles to cross blood-brain barrier in vitro. *Int J Pharm*. nov 2007;344(1-2):103-9.
53. Feynman RP. Plenty of Room at the Bottom. :7.
54. Gaffet E. Nanomatériaux : différentes voies de synthèse, propriétés, applications et marchés. :13.
55. Hobson DW. Commercialization of nanotechnology. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*. mars 2009;1(2):189-202.
56. Home | Nanotechnology Products Database | NPD [Internet]. [cité 2 juin 2020]. Disponible sur: <https://product.statnano.com/>
57. Shapira P, Wang J. Follow the money. *Nature*. 2 déc 2010;468(7324):627-8.
58. Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *Syst Rev*. déc 2021;10(1):89.
59. Schulz KF, Altman DG, Moher D, CONSORT Group. CONSORT 2010 statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *BMJ*. 23 mars 2010;340:c332.
60. Ottawa Hospital Research Institute [Internet]. [cité 10 août 2021]. Disponible sur: http://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.asp

61. Orsini G, Procaccini M, Manzoli L, Giuliadori F, Lorenzini A, Putignano A. A double-blind randomized-controlled trial comparing the desensitizing efficacy of a new dentifrice containing carbonate/hydroxyapatite nanocrystals and a sodium fluoride/potassium nitrate dentifrice: A new dentifrice desensitizing efficacy. *J Clin Periodontol.* juin 2010;37(6):510-7.
62. Waldbaum AS, Schwebke JR, Paull JRA, Price CF, Edmondson SR, Castellarnau A, et al. A phase 2, double-blind, multicenter, randomized, placebo-controlled, dose-ranging study of the efficacy and safety of Astodrimer Gel for the treatment of bacterial vaginosis. *Mendling W, éditeur. PLOS ONE.* 4 mai 2020;15(5):e0232394.
63. Cohen CR, Brown J, Moscicki A-B, Bukusi EA, Paull JRA, Price CF, et al. A Phase I Randomized Placebo Controlled Trial of the Safety of 3% SPL7013 Gel (VivaGel®) in Healthy Young Women Administered Twice Daily for 14 Days. *Kissinger P, éditeur. PLoS ONE.* 20 janv 2011;6(1):e16258.
64. Roy AC, Park SR, Cunningham D, Kang YK, Chao Y, Chen LT, et al. A randomized phase II study of PEP02 (MM-398), irinotecan or docetaxel as a second-line therapy in patients with locally advanced or metastatic gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma. *Ann Oncol.* juin 2013;24(6):1567-73.
65. Glenn GM, Fries LF, Thomas DN, Smith G, Kpamegan E, Lu H, et al. A Randomized, Blinded, Controlled, Dose-Ranging Study of a Respiratory Syncytial Virus Recombinant Fusion (F) Nanoparticle Vaccine in Healthy Women of Childbearing Age. *J Infect Dis.* 1 févr 2016;213(3):411-22.
66. Chen MY, Millwood IY, Wand H, Poynten M, Law M, Kaldor JM, et al. A Randomized Controlled Trial of the Safety of Candidate Microbicide SPL7013 Gel When Applied to the Penis. *JAIDS J Acquir Immune Defic Syndr.* avr 2009;50(4):375-80.
67. Asadi S, Gholami MS, Siassi F, Qorbani M, Sotoudeh G. Beneficial effects of nano-curcumin supplement on depression and anxiety in diabetic patients with peripheral neuropathy: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Phytother Res.* avr 2020;34(4):896-903.
68. Gianni L, Mansutti M, Anton A, Calvo L, Bisagni G, Bermejo B, et al. Comparing Neoadjuvant Nab-paclitaxel vs Paclitaxel Both Followed by Anthracycline Regimens in Women With *ERBB2/HER2* -Negative Breast Cancer—The Evaluating Treatment With Neoadjuvant Abraxane (ETNA) Trial: A Randomized Phase 3 Clinical Trial. *JAMA Oncol.* 1 mars 2018;4(3):302.
69. Javadi M, Khadem Haghghian H, Goodarzy S, Abbasi M, Nassiri-Asl M. Effect of curcumin nanomicelle on the clinical symptoms of patients with rheumatoid arthritis: A randomized, double-blind, controlled trial. *Int J Rheum Dis.* oct 2019;22(10):1857-62.
70. McGowan I, Gomez K, Bruder K, Febo I, Chen BA, Richardson BA, et al. Phase 1 randomized trial of the vaginal safety and acceptability of SPL7013 gel (VivaGel) in sexually active young women (MTN-004). *AIDS.* 15 mai 2011;25(8):1057-64.
71. Keech C, Albert G, Cho I, Robertson A, Reed P, Neal S, et al. Phase 1–2 Trial of a SARS-CoV-2 Recombinant Spike Protein Nanoparticle Vaccine. *N Engl J Med.* 10 déc 2020;383(24):2320-32.

72. Chen J, Han C, Su G, Tang Z, Su S, Lin X. Randomized controlled trial of the absorbency of four dressings and their effects on the evaporation of burn wounds: *Chin Med J (Engl)*. oct 2007;120(20):1788-91.
73. Fries L, Cho I, Krähling V, Fehling SK, Strecker T, Becker S, et al. Randomized, Blinded, Dose-Ranging Trial of an Ebola Virus Glycoprotein Nanoparticle Vaccine With Matrix-M Adjuvant in Healthy Adults. *J Infect Dis*. 23 juill 2020;222(4):572-82.
74. Gobbato C, Gobbato A, Magalhães TB, Mendes GD, Ilha JO, Moreno RA, et al. Randomized, double-blind, phase III clinical study of a novel nanotechnological topical anesthetic formulation containing lidocaine 25 mg/g and prilocaine 25 mg/g (nanorap) in skin phototypes I–III patients with ablative fractional CO₂ laser treatment indication in the forehead. *Lasers Surg Med*. sept 2019;51(7):609-15.
75. Wang J, Pan W, Wang Y, Lei W, Feng B, Du C, et al. Enhanced efficacy of curcumin with phosphatidylserine-decorated nanoparticles in the treatment of hepatic fibrosis. *Drug Deliv*. janv 2018;25(1):1-11.
76. Jurairattanaporn N, Chalermchai T, Ophaswongse S, Udompataikul M. Comparative Trial of Silver Nanoparticle Gel and 1% Clindamycin Gel when Use in Combination with 2.5% Benzoyl Peroxide in Patients with Moderate Acne Vulgaris. *J Med Assoc Thail Chotmaihet Thangphaet*. janv 2017;100(1):78-85.
77. Pan-In P, Wongsomboon A, Kokpol C, Chaichanawongsaroj N, Wanichwecharungruang S. Depositing α -mangostin nanoparticles to sebaceous gland area for acne treatment. *J Pharmacol Sci*. déc 2015;129(4):226-32.
78. Moddaresi M, Tamburic S, Williams S, Jones SA, Zhao Y, Brown MB. Effects of lipid nanocarriers on the performance of topical vehicles *in vivo*. *J Cosmet Dermatol*. juin 2009;8(2):136-43.
79. Simon JA. Estradiol in micellar nanoparticles: the efficacy and safety of a novel transdermal drug-delivery technology in the management of moderate to severe vasomotor symptoms. *Menopause*. mars 2006;13(2):222-31.
80. Kang M-J, Kim Y-H, Chou M, Hwang J, Cheon E-J, Lee H-J, et al. Evaluation of the Efficacy and Safety of A Novel 0.05% Cyclosporin A Topical Nanoemulsion in Primary Sjögren's Syndrome Dry Eye. *Ocul Immunol Inflamm*. 2 avr 2020;28(3):370-8.
81. El-Housiny S, Shams Eldeen MA, El-Attar YA, Salem HA, Attia D, Bendas ER, et al. Fluconazole-loaded solid lipid nanoparticles topical gel for treatment of pityriasis versicolor: formulation and clinical study. *Drug Deliv*. 1 janv 2018;25(1):78-90.
82. Gudmundsdottir BS, Petursdottir D, Asgrimsdottir GM, Gottfredsdottir MS, Hardarson SH, Jóhannesson G, et al. γ -Cyclodextrin Nanoparticle Eye Drops with Dorzolamide: Effect on Intraocular Pressure in Man. *J Ocul Pharmacol Ther*. févr 2014;30(1):35-41.
83. Ulmer M, Patzelt A, Vergou T, Richter H, Müller G, Kramer A, et al. In vivo investigation of the efficiency of a nanoparticle-emulsion containing polihexanide on the human skin. *Eur J Pharm Biopharm*. juin 2013;84(2):325-9.
84. Moscicki A-B, Kaul R, Ma Y, Scott ME, Daud II, Bukusi EA, et al. Measurement of Mucosal Biomarkers in a Phase 1 Trial of Intravaginal 3% StarPharma LTD 7013 Gel

- (VivaGel) to Assess Expanded Safety. *JAIDS J Acquir Immune Defic Syndr.* 1 févr 2012;59(2):134-40.
85. Chavoustie SE, Carter BA, Waldbaum AS, Donders GGG, Peters KH, Schwebke JR, et al. Two phase 3, double-blind, placebo-controlled studies of the efficacy and safety of Astodrimmer 1% Gel for the treatment of bacterial vaginosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* févr 2020;245:13-8.
 86. Zhang X, Goel V, Attarwala H, Sweetser MT, Clausen VA, Robbie GJ. Patisiran Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, and Exposure-Response Analyses in the Phase 3 APOLLO Trial in Patients With Hereditary Transthyretin-Mediated (hATTR) Amyloidosis. *J Clin Pharmacol.* janv 2020;60(1):37-49.
 87. van der Valk FM, van Wijk DF, Lobatto ME, Verberne HJ, Storm G, Willems MCM, et al. Prednisolone-containing liposomes accumulate in human atherosclerotic macrophages upon intravenous administration. *Nanomedicine Nanotechnol Biol Med.* juill 2015;11(5):1039-46.
 88. Salem HF, Kharshoum RM, Abou-Taleb HA, AbouTaleb HA, AbouElhassan KM. Progesterone-loaded nanosized transthyretinosomes for vaginal permeation enhancement: formulation, statistical optimization, and clinical evaluation in anovulatory polycystic ovary syndrome. *J Liposome Res.* 3 avr 2019;29(2):183-94.
 89. Pelzer U, Blanc J-F, Melisi D, Cubillo A, Von Hoff DD, Wang-Gillam A, et al. Quality-adjusted survival with combination nal-IRI+5-FU/LV vs 5-FU/LV alone in metastatic pancreatic cancer patients previously treated with gemcitabine-based therapy: a Q-TWiST analysis. *Br J Cancer.* mai 2017;116(10):1247-53.
 90. Madhi SA, Polack FP, Piedra PA, Munoz FM, Trenholme AA, Simões EAF, et al. Respiratory Syncytial Virus Vaccination during Pregnancy and Effects in Infants. *N Engl J Med.* 30 juill 2020;383(5):426-39.
 91. Coelho T, Adams D, Silva A, Lozeron P, Hawkins PN, Mant T, et al. Safety and Efficacy of RNAi Therapy for Transthyretin Amyloidosis. *N Engl J Med.* 29 août 2013;369(9):819-29.
 92. Glenn GM, Smith G, Fries L, Raghunandan R, Lu H, Zhou B, et al. Safety and immunogenicity of a Sf9 insect cell-derived respiratory syncytial virus fusion protein nanoparticle vaccine. *Vaccine.* janv 2013;31(3):524-32.
 93. O'Loughlin J, Millwood IY, McDonald HM, Price CF, Kaldor JM, Paull JRA. Safety, Tolerability, and Pharmacokinetics of SPL7013 Gel (VivaGel®): A Dose Ranging, Phase I Study. *Sex Transm Dis.* févr 2010;37(2):100-4.
 94. Sabouri M, Samadi A, Ahmad Nasrollahi S, Farboud ES, Mirrahimi B, Hassanzadeh H, et al. Tretinoin Loaded Nanoemulsion for Acne Vulgaris: Fabrication, Physicochemical and Clinical Efficacy Assessments. *Skin Pharmacol Physiol.* 2018;31(6):316-23.
 95. Ohira A, Hara K, Jóhannesson G, Tanito M, Ásgrímsdóttir GM, Lund SH, et al. Topical dexamethasone γ -cyclodextrin nanoparticle eye drops increase visual acuity and decrease macular thickness in diabetic macular oedema. *Acta Ophthalmol (Copenh).* nov 2015;93(7):610-5.

96. Abdolahi M, Jafarieh A, Sarraf P, Sedighiyan M, Yousefi A, Tafakhori A, et al. The Neuromodulatory Effects of ω -3 Fatty Acids and Nano-Curcumin on the COX-2/ iNOS Network in Migraines: A Clinical Trial Study from Gene Expression to Clinical Symptoms. *Endocr Metab Immune Disord - Drug Targets*. 3 sept 2019;19(6):874-84.
97. Shiozaki A, Senra T, Morikawa A, Deus D, Filho-Paladino A, Pinto I, et al. Treatment of patients with aortic atherosclerotic disease with paclitaxel-associated lipid nanoparticles. *Clinics*. 3 août 2016;71(8):435-9.
98. de Moraes M, de Vasconcelos RC, Longo JPF, Muehlmann LA, de Azevedo RB, Lemos TMAM, et al. Effects of photodynamic therapy mediated by nanoemulsion containing chloro-aluminum phthalocyanine: a histologic and immunohistochemical study in human gingiva. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. déc 2015;12(4):592-7.
99. Venkatraman N, Anagnostou N, Bliss C, Bowyer G, Wright D, Lövgren-Bengtsson K, et al. Safety and immunogenicity of heterologous prime-boost immunization with viral-vectored malaria vaccines adjuvanted with Matrix-MTM. *Vaccine*. oct 2017;35(45):6208-17.
100. Gagliano-Jucá T, Castelli MR, Mendes GD, Arruda AMM, Chen LS, de Oliveira MA, et al. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Evaluation of a Nanotechnological Topical Formulation of Lidocaine/Prilocaine (Nanorap) in Healthy Volunteers. *Ther Drug Monit*. juin 2015;37(3):362-8.
101. Bruce JY, Eickhoff J, Pili R, Logan T, Carducci M, Arnott J, et al. A phase II study of 2-methoxyestradiol nanocrystal colloidal dispersion alone and in combination with sunitinib malate in patients with metastatic renal cell carcinoma progressing on sunitinib malate. *Invest New Drugs*. avr 2012;30(2):794-802.
102. Takashima A, Shitara K, Fujitani K, Koeda K, Hara H, Nakayama N, et al. Peritoneal metastasis as a predictive factor for nab-paclitaxel in patients with pretreated advanced gastric cancer: an exploratory analysis of the phase III ABSOLUTE trial. *Gastric Cancer*. janv 2019;22(1):155-63.
103. Geho WB, Rosenberg LN, Schwartz SL, Lau JR, Gana TJ. A Single-blind, Placebo-controlled, Dose-ranging Trial of Oral Hepatic-directed Vesicle Insulin Add-on to Oral Antidiabetic Treatment in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus. *J Diabetes Sci Technol*. mai 2014;8(3):551-9.
104. Sobhi RM, Sobhi AM. A single-blinded comparative study between the use of glycolic acid 70% peel and the use of topical nanosome vitamin C iontophoresis in the treatment of melasma: Vitamin C nanosome iontophoresis melasma. *J Cosmet Dermatol*. mars 2012;11(1):65-71.
105. Mahmoud RA, Hussein AK, Nasef GA, Mansour HF. Oxiconazole nitrate solid lipid nanoparticles: formulation, in-vitro characterization and clinical assessment of an analogous loaded carbopol gel. *Drug Dev Ind Pharm*. 3 mai 2020;46(5):706-16.
106. Khalifa MKA, Salem HA, Shawky SM, Eassa HA, Elaidy AM. Enhancement of zaleplon oral bioavailability using optimized self-nano emulsifying drug delivery systems and its effect on sleep quality among a sample of psychiatric patients. *Drug Deliv*. 1 janv 2019;26(1):1243-53.

107. Shamma RN, Sayed S, Sabry NA, El-Samanoudy SI. Enhanced skin targeting of retinoic acid spanlastics: *in vitro* characterization and clinical evaluation in acne patients. *J Liposome Res.* 3 juill 2019;29(3):283-90.
108. Kouchak M, Malekahmadi M, Bavarsad N, Saki Malehi A, Andishmand L. Dorzolamide nanoliposome as a long action ophthalmic delivery system in open angle glaucoma and ocular hypertension patients. *Drug Dev Ind Pharm.* 3 août 2018;44(8):1239-42.
109. Elinzano H, Toms S, Robison J, Mohler A, Carcieri A, Cielo D, et al. Nanoliposomal Irinotecan and Metronomic Temozolomide for Patients With Recurrent Glioblastoma: BrUOG329, A Phase I Brown University Oncology Research Group Trial. *Am J Clin Oncol.* 1 févr 2021;44(2):49-52.
110. Sachdev JC, Munster P, Northfelt DW, Han HS, Ma C, Maxwell F, et al. Phase I study of liposomal irinotecan in patients with metastatic breast cancer: findings from the expansion phase. *Breast Cancer Res Treat.* févr 2021;185(3):759-71.
111. Fujiwara H, Ushijima K, Nagao S, Takei Y, Shimada M, Takano M, et al. A phase II randomized controlled study of pegylated liposomal doxorubicin and carboplatin vs. gemcitabine and carboplatin for platinum-sensitive recurrent ovarian cancer (GOTIC003/intergroup study). *Int J Clin Oncol.* oct 2019;24(10):1284-91.
112. Schneeweiss A, Möbus V, Tesch H, Hanusch C, Denkert C, Lübke K, et al. Intense dose-dense epirubicin, paclitaxel, cyclophosphamide versus weekly paclitaxel, liposomal doxorubicin (plus carboplatin in triple-negative breast cancer) for neoadjuvant treatment of high-risk early breast cancer (GeparOcto-GBG 84): A randomised phase III trial. *Eur J Cancer Oxf Engl 1990.* janv 2019;106:181-92.
113. Kawashima Y, Harada T, Fujita Y, Nakagawa T, Watanabe K, Morikawa N, et al. Randomized phase II trial of carboplatin + nab-paclitaxel versus cisplatin + gemcitabine for chemotherapy-naïve squamous cell carcinoma: North Japan lung cancer study group 1302. *Int J Clin Oncol.* mars 2021;26(3):515-22.
114. Shimoyama R, Omori S, Nomura S, Kenmotsu H, Takahashi T, Harada H, et al. A multi-institutional randomized phase III study comparing weekly carboplatin plus nab-paclitaxel and daily low-dose carboplatin as regimens for concurrent chemoradiotherapy in elderly patients with unresectable locally advanced non-small cell lung cancer: Japan Clinical Oncology Group Study JCOG1914. *Jpn J Clin Oncol.* 30 avr 2021;51(5):836-41.
115. Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, Lockhart S, et al. Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *N Engl J Med.* 31 déc 2020;383(27):2603-15.
116. Kadali RAK, Janagama R, Peruru S, Malayala SV. Side effects of BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine: A randomized, cross-sectional study with detailed self-reported symptoms from healthcare workers. *Int J Infect Dis IJID Off Publ Int Soc Infect Dis.* mai 2021;106:376-81.
117. Baden LR, El Sahly HM, Essink B, Kotloff K, Frey S, Novak R, et al. Efficacy and Safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine. *N Engl J Med.* 4 févr 2021;384(5):403-16.

118. Shi M, Sun J, Zhou J, Yu H, Yu S, Xia G, et al. Phase I dose escalation and pharmacokinetic study on the nanoparticle formulation of polymeric micellar paclitaxel for injection in patients with advanced solid malignancies. *Invest New Drugs*. avr 2018;36(2):269-77.
119. Mamot C, Ritschard R, Wicki A, Stehle G, Dieterle T, Bubendorf L, et al. Tolerability, safety, pharmacokinetics, and efficacy of doxorubicin-loaded anti-EGFR immunoliposomes in advanced solid tumours: a phase 1 dose-escalation study. *Lancet Oncol*. déc 2012;13(12):1234-41.
120. Robins DJ, Sui W, Matulay JT, Ghandour R, Anderson CB, DeCastro GJ, et al. Long-term Survival Outcomes With Intravesical Nanoparticle Albumin-bound Paclitaxel for Recurrent Non-muscle-invasive Bladder Cancer After Previous Bacillus Calmette-Guérin Therapy. *Urology*. mai 2017;103:149-53.
121. Akiyama N, Karayama M, Inui N, Yasui H, Hozumi H, Suzuki Y, et al. Switch maintenance therapy with S-1 after induction therapy with carboplatin and nanoparticle albumin-bound paclitaxel in advanced lung squamous cell carcinoma. *Invest New Drugs*. juin 2019;37(3):531-7.
122. Hu X, Wang B, Sun S, Tang L, Zhang J, Lv F, et al. Cisplatin improves antitumor activity of weekly nab-paclitaxel in patients with metastatic breast cancer. *Int J Nanomedicine*. mars 2014;1443.
123. Jun P, Han C-H, Yang CS, Kim MJ, Kim JS, Lee CI, et al. Efficacy and safety of thread embedding acupuncture on knee osteoarthritis: A randomized, controlled, pilot clinical trial. *Medicine (Baltimore)*. 4 sept 2020;99(36):e21957.
124. Cillo JE, Dattilo DJ. Pre-emptive analgesia with pregabalin and celecoxib decreases postsurgical pain following maxillomandibular advancement surgery: a randomized controlled clinical trial. *J Oral Maxillofac Surg Off J Am Assoc Oral Maxillofac Surg*. oct 2014;72(10):1909-14.
125. Yan D, Wei Y-Q, Guo H-C, Sun S-Q. The application of virus-like particles as vaccines and biological vehicles. *Appl Microbiol Biotechnol*. déc 2015;99(24):10415-32.
126. Bangham AD. Liposomes: the Babraham connection. *Chem Phys Lipids*. sept 1993;64(1-3):275-85.
127. Gregoriadis G. LIPOSOMES IN THERAPEUTIC AND PREVENTIVE MEDICINE: THE DEVELOPMENT OF THE DRUG-CARRIER CONCEPT. *Ann N Y Acad Sci*. juin 1978;308(1 Liposomes and):343-70.
128. Szoka F, Papahadjopoulos D. Comparative Properties and Methods of Preparation of Lipid Vesicles (Liposomes). *Annu Rev Biophys Bioeng*. juin 1980;9(1):467-508.
129. Kirby C, Clarke J, Gregoriadis G. Effect of the cholesterol content of small unilamellar liposomes on their stability in vivo and in vitro. *Biochem J*. 15 févr 1980;186(2):591-8.
130. Aramaki Y. Liposomes as immunomodulator--inhibitory effect of liposomes on NO production from macrophages. *Biol Pharm Bull*. nov 2000;23(11):1267-74.

131. Awasthi VD, Garcia D, Klipper R, Phillips WT, Goins BA. Kinetics of liposome-encapsulated hemoglobin after 25% hypovolemic exchange transfusion. *Int J Pharm.* sept 2004;283(1-2):53-62.
132. Maurer, N, Mori, A, Palmer, L, Monck, MA, Mok, KWC, Mui, B, et al. Lipid-based systems for the intracellular delivery of genetic drugs. *Mol Membr Biol.* janv 1999;16(1):129-40.
133. Wong FMP, Reimer DL, Bally MB. Cationic Lipid Binding to DNA: Characterization of Complex Formation †. *Biochemistry.* janv 1996;35(18):5756-63.
134. Akbarzadeh A, Rezaei-Sadabady R, Davaran S, Joo SW, Zarghami N, Hanifehpour Y, et al. Liposome: classification, preparation, and applications. *Nanoscale Res Lett.* 22 févr 2013;8(1):102.
135. Abeywardena MY, Allen TM, Charnock JS. Lipid-protein interactions of reconstituted membrane-associated adenosinetriphosphatases. Use of a gel-filtration procedure to examine phospholipid-activity relationships. *Biochim Biophys Acta.* 23 mars 1983;729(1):62-74.
136. Alpes H, Allmann K, Plattner H, Reichert J, Rick R, Schulz S. Formation of large unilamellar vesicles using alkyl maltoside detergents. *Biochim Biophys Acta BBA - Biomembr.* nov 1986;862(2):294-302.
137. Batzri S, Korn ED. Single bilayer liposomes prepared without sonication. *Biochim Biophys Acta.* 16 avr 1973;298(4):1015-9.
138. Lasic DD. The mechanism of vesicle formation. *Biochem J.* 15 nov 1988;256(1):1-11.
139. Cho N-J, Hwang LY, Solandt JJR, Frank CW. Comparison of Extruded and Sonicated Vesicles for Planar Bilayer Self-Assembly. *Mater Basel Switz.* 5 août 2013;6(8):3294-308.
140. Jesorka A, Orwar O. Liposomes: technologies and analytical applications. *Annu Rev Anal Chem Palo Alto Calif.* 2008;1:801-32.
141. Woodbury DJ, Richardson ES, Grigg AW, Welling RD, Knudson BH. Reducing Liposome Size with Ultrasound: Bimodal Size Distributions. *J Liposome Res.* janv 2006;16(1):57-80.
142. Berger N, Sachse A, Bender J, Schubert R, Brandl M. Filter extrusion of liposomes using different devices: comparison of liposome size, encapsulation efficiency, and process characteristics. *Int J Pharm.* 31 juill 2001;223(1-2):55-68.
143. Hamilton RL, Guo LSS. French Pressure Cell Liposomes: Preparation, Properties, and Potential. In: Gregoriadis G, éditeur. *Liposome Technology [Internet].* 1^{re} éd. CRC Press; 2019 [cité 2 nov 2021]. p. 37-49. Disponible sur: <https://www.taylorfrancis.com/books/9781351082556/chapters/10.1201/9781351074100-4>
144. Kim H-HY, Baianu IC. Novel liposome microencapsulation techniques for food applications. *Trends Food Sci Technol.* janv 1991;2:55-61.

145. Vemuri S, Yu C-D, Wangsatorntanakun V, Roosdorp N. Large-Scale Production of Liposomes by A Microfluidizer. *Drug Dev Ind Pharm.* janv 1990;16(15):2243-56.
146. Rand RP. Interacting phospholipid bilayers: measured forces and induced structural changes. *Annu Rev Biophys Bioeng.* 1981;10:277-314.
147. Allen C, Dos Santos N, Gallagher R, Chiu GNC, Shu Y, Li WM, et al. Controlling the Physical Behavior and Biological Performance of Liposome Formulations Through Use of Surface Grafted Poly(ethylene Glycol). *Biosci Rep.* 1 avr 2002;22(2):225-50.
148. Pozzi D, Colapicchioni V, Caracciolo G, Piovesana S, Capriotti AL, Palchetti S, et al. Effect of polyethyleneglycol (PEG) chain length on the bio-nano-interactions between PEGylated lipid nanoparticles and biological fluids: from nanostructure to uptake in cancer cells. *Nanoscale.* 7 mars 2014;6(5):2782-92.
149. Cillard J, Cillard P. Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. *Ol Corps Gras Lipides.* janv 2006;13(1):24-9.
150. Kensil CR, Dennis EA. Alkaline hydrolysis of phospholipids in model membranes and the dependence on their state of aggregation. *Biochemistry.* 13 oct 1981;20(21):6079-85.
151. Grit M, de Smidt JH, Struijke A, Crommelin DJA. Hydrolysis of phosphatidylcholine in aqueous liposome dispersions. *Int J Pharm.* févr 1989;50(1):1-6.
152. Adams G. The principles of freeze-drying. *Methods Mol Biol Clifton NJ.* 2007;368:15-38.
153. Tang X (Charlie), Pikal MJ. Design of Freeze-Drying Processes for Pharmaceuticals: Practical Advice. *Pharm Res.* févr 2004;21(2):191-200.
154. Crowe LM, Womersley C, Crowe JH, Reid D, Appel L, Rudolph A. Prevention of fusion and leakage in freeze-dried liposomes by carbohydrates. *Biochim Biophys Acta BBA - Biomembr.* 1986;861:131-40.
155. Ozaki K, Hayashi M. Effect of cyclinulohexaose with additives on the freeze-drying of liposome. *Int J Pharm.* janv 1998;160(2):219-27.
156. van Winden ECA, Crommelin DJA. Long term stability of freeze-dried, lyoprotected doxorubicin liposomes. *Eur J Pharm Biopharm.* juin 1997;43(3):295-307.
157. Chen C, Han D, Cai C, Tang X. An overview of liposome lyophilization and its future potential. *J Controlled Release.* mars 2010;142(3):299-311.
158. Barani H, Montazer M. A Review on Applications of Liposomes in Textile Processing. *J Liposome Res.* janv 2008;18(3):249-62.
159. Koren E, Torchilin VP. Cell-penetrating peptides: breaking through to the other side. *Trends Mol Med.* juill 2012;18(7):385-93.
160. Matsumura Y, Maeda H. A New Concept for Macromolecular Therapeutics in Cancer Chemotherapy: Mechanism of Tumoritropic Accumulation of Proteins and the Antitumor Agent Smancs. :7.

161. Waterhouse DN, Tardi PG, Mayer LD, Bally MB. A Comparison of Liposomal Formulations of Doxorubicin with Drug Administered in Free Form: Changing Toxicity Profiles. *Drug Saf.* 2001;24(12):903-20.
162. Xu B, Zeng M, Zeng J, Feng J, Yu L. Meta-analysis of clinical trials comparing the efficacy and safety of liposomal cisplatin versus conventional nonliposomal cisplatin in nonsmall cell lung cancer (NSCLC) and squamous cell carcinoma of the head and neck (SCCHN). *Medicine (Baltimore).* nov 2018;97(46):e13169.
163. Okusanya ÓO, Bhavnani SM, Hammel J, Minic P, Dupont LJ, Forrest A, et al. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Evaluation of Liposomal Amikacin for Inhalation in Cystic Fibrosis Patients with Chronic Pseudomonas Infection. *Antimicrob Agents Chemother.* sept 2009;53(9):3847-54.
164. van den Hoven JM, Van Tomme SR, Metselaar JM, Nuijen B, Beijnen JH, Storm G. Liposomal Drug Formulations in the Treatment of Rheumatoid Arthritis. *Mol Pharm.* août 2011;8(4):1002-15.
165. Schroeder A, Turjeman K, Schroeder JE, Leibergall M, Barenholz Y. Using liposomes to target infection and inflammation induced by foreign body injuries or medical implants. *Expert Opin Drug Deliv.* oct 2010;7(10):1175-89.
166. Torchilin VP. Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers. *Nat Rev Drug Discov.* févr 2005;4(2):145-60.
167. Bovier PA. Epaxal[®] : a virosomal vaccine to prevent hepatitis A infection. *Expert Rev Vaccines.* oct 2008;7(8):1141-50.
168. Dasta J, Ramamoorthy S, Patou G, Sinatra R. Bupivacaine liposome injectable suspension compared with bupivacaine HCl for the reduction of opioid burden in the postsurgical setting. *Curr Med Res Opin.* 1 oct 2012;28(10):1609-15.
169. Truong A, Fleshner PR, Mirocha JM, Tran HP, Shane R, Zaghiyan KN. A Prospective Randomized Trial of Surgeon-Administered Intraoperative Transversus Abdominis Plane Block With Bupivacaine Against Liposomal Bupivacaine: The TINGLE Trial. *Dis Colon Rectum.* 1 juill 2021;64(7):888-98.
170. Hossann M, Wang T, Syunyaeva Z, Wiggenhorn M, Zengerle A, Issels RD, et al. Non-ionic Gd-based MRI contrast agents are optimal for encapsulation into phosphatidylglycerol-based thermosensitive liposomes. *J Controlled Release.* févr 2013;166(1):22-9.
171. Krause W, Schönborn A, Rupp K. CT imaging with iopromide liposomes in a rabbit model. *J Liposome Res.* sept 2011;21(3):229-36.
172. Alton EFWF, Boyd AC, Porteous DJ, Davies G, Davies JC, Griesenbach U, et al. A Phase I/IIa Safety and Efficacy Study of Nebulized Liposome-mediated Gene Therapy for Cystic Fibrosis Supports a Multidose Trial. *Am J Respir Crit Care Med.* déc 2015;192(11):1389-92.
173. Mueller C, Flotte TR. Gene-Based Therapy for Alpha-1 Antitrypsin Deficiency. *COPD J Chronic Obstr Pulm Dis.* 7 mars 2013;10(sup1):44-9.

174. Laitinen M, Hartikainen J, Hiltunen MO, Eranen J, Kiviniemi M, Narvanen O, et al. Catheter-Mediated Vascular Endothelial Growth Factor Gene Transfer to Human Coronary Arteries after Angioplasty. *Hum Gene Ther.* 20 janv 2000;11(2):263-70.
175. Ekimov AI, Efros L, Onushchenko AA. QUANTUM SIZE EFFECT IN SEMICONDUCTOR MICROCRYSTALS. :4.
176. Pleskova S, Mikheeva E, Gornostaeva E. Using of Quantum Dots in Biology and Medicine. In: Saquib Q, Faisal M, Al-Khedhairi AA, Alatar AA, éditeurs. *Cellular and Molecular Toxicology of Nanoparticles* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2018 [cité 5 nov 2021]. p. 323-34. (Advances in Experimental Medicine and Biology; vol. 1048). Disponible sur: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-72041-8_19
177. Müller RH, Gohla S, Keck CM. State of the art of nanocrystals--special features, production, nanotoxicology aspects and intracellular delivery. *Eur J Pharm Biopharm Off J Arbeitsgemeinschaft Pharm Verfahrenstechnik EV.* mai 2011;78(1):1-9.
178. Ely DR, Edwin García R, Thommes M. Ostwald–Freundlich diffusion-limited dissolution kinetics of nanoparticles. *Powder Technol.* mai 2014;257:120-3.
179. Kesisoglou F, Wu Y. Understanding the Effect of API Properties on Bioavailability Through Absorption Modeling. *AAPS J.* déc 2008;10(4):516-25.
180. Tian Z, Mai Y, Meng T, Ma S, Gou G, Yang J. Nanocrystals for Improving Oral Bioavailability of Drugs: Intestinal Transport Mechanisms and Influencing Factors. *AAPS PharmSciTech.* 14 juin 2021;22(5):179.
181. Sauron R, Wilkins M, Jessent V, Dubois A, Maillot C, Weil A. Absence of a food effect with a 145 mg nanoparticle fenofibrate tablet formulation. *Int J Clin Pharmacol Ther.* févr 2006;44(2):64-70.
182. Lee J, Choi J-Y, Park CH. Characteristics of polymers enabling nano-comminution of water-insoluble drugs. *Int J Pharm.* 1 mai 2008;355(1-2):328-36.
183. El-Eskandarany MS, Al-Hazza A, Al-Hajji LA, Ali N, Al-Duweesh AA, Banyan M, et al. Mechanical Milling: A Superior Nanotechnological Tool for Fabrication of Nanocrystalline and Nanocomposite Materials. *Nanomater Basel Switz.* 24 sept 2021;11(10):2484.
184. Liu P, De Wulf O, Laru J, Heikkilä T, van Veen B, Kiesvaara J, et al. Dissolution Studies of Poorly Soluble Drug Nanosuspensions in Non-sink Conditions. *AAPS PharmSciTech.* juin 2013;14(2):748-56.
185. Bhuyan B, Rajak P, Nath LK. NANOCRYSTAL TECHNOLOGY AND DRUG DELIVERY. *World J Pharm Res.* 3(2):33.
186. Finney EE, Finke RG. Nanocluster nucleation and growth kinetic and mechanistic studies: A review emphasizing transition-metal nanoclusters. *J Colloid Interface Sci.* janv 2008;317(2):351-74.
187. Van Eerdenbrugh B, Vermant J, Martens JA, Froyen L, Van Humbeeck J, Augustijns P, et al. A screening study of surface stabilization during the production of drug nanocrystals. *J Pharm Sci.* juin 2009;98(6):2091-103.

188. Toziopoulou F, Malamataris M, Nikolakakis I, Kachrimanis K. Production of aprepitant nanocrystals by wet media milling and subsequent solidification. *Int J Pharm.* 30 nov 2017;533(2):324-34.
189. Sun W, Tian W, Zhang Y, He J, Mao S, Fang L. Effect of novel stabilizers--cationic polymers on the particle size and physical stability of poorly soluble drug nanocrystals. *Nanomedicine Nanotechnol Biol Med.* mai 2012;8(4):460-7.
190. Jang K, Yoon S, Kim S-E, Cho J-Y, Yoon SH, Lim KS, et al. Novel nanocrystal formulation of megestrol acetate has improved bioavailability compared with the conventional micronized formulation in the fasting state. *Drug Des Devel Ther.* juin 2014;851.
191. Olver I, Shelukar S, Thompson KC. Nanomedicines in the treatment of emesis during chemotherapy: focus on aprepitant. *Int J Nanomedicine.* mars 2007;2(1):13-8.
192. Roos C, Dahlgren D, Sjögren E, Sjöblom M, Hedeland M, Lennernäs H. Jejunal absorption of aprepitant from nanosuspensions: Role of particle size, prandial state and mucus layer. *Eur J Pharm Biopharm Off J Arbeitsgemeinschaft Pharm Verfahrenstechnik EV.* nov 2018;132:222-30.
193. Simamora P, Alvarez JM, Yalkowsky SH. Solubilization of rapamycin. *Int J Pharm.* 1 févr 2001;213(1-2):25-9.
194. Kelly P, Napoli KL, Kahan BD. COMPARISON OF THE PHARMACOKINETICS OF SIROLIMUS (RAPAMUNE®) IN RENAL TRANSPLANT RECIPIENTS FOLLOWING ADMINISTRATION OF THE LIQUID OR SOLID TABLET FORMULATIONS.: Abstract# 158 Poster Board #-Session: P5-I. *Transplantation.* avr 2000;69(Supplement):S154.
195. Mathew TH, Van Buren C, Kahan BD, Butt K, Hariharan S, Zimmerman JJ. A comparative study of sirolimus tablet versus oral solution for prophylaxis of acute renal allograft rejection. *J Clin Pharmacol.* janv 2006;46(1):76-87.
196. Pai AB, Shepler BM. Comparison of sevelamer hydrochloride and sevelamer carbonate: risk of metabolic acidosis and clinical implications. *Pharmacotherapy.* mai 2009;29(5):554-61.
197. Chertow GM, Burke SK, Lazarus JM, Stenzel KH, Wombolt D, Goldberg D, et al. Poly[allylamine hydrochloride] (RenaGel): a noncalcemic phosphate binder for the treatment of hyperphosphatemia in chronic renal failure. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* janv 1997;29(1):66-71.
198. Chertow GM, Dillon M, Burke SK, Steg M, Bleyer AJ, Garrett BN, et al. A randomized trial of sevelamer hydrochloride (RenaGel) with and without supplemental calcium. Strategies for the control of hyperphosphatemia and hyperparathyroidism in hemodialysis patients. *Clin Nephrol.* janv 1999;51(1):18-26.
199. Chertow GM, Burke SK, Raggi P, for the Treat to Goal Working Group. Sevelamer attenuates the progression of coronary and aortic calcification in hemodialysis patients. *Kidney Int.* juill 2002;62(1):245-52.

200. Hervás JG, Prados D, Cerezo S. Treatment of hyperphosphatemia with sevelamer hydrochloride in hemodialysis patients: A comparison with calcium acetate. *Kidney Int.* juin 2003;63:S69-72.
201. Qunibi WY, Hootkins RE, McDowell LL, Meyer MS, Simon M, Garza RO, et al. Treatment of hyperphosphatemia in hemodialysis patients: The Calcium Acetate Renigel Evaluation (CARE Study). *Kidney Int.* mai 2004;65(5):1914-26.
202. Russo D, Miranda I, Ruocco C, Battaglia Y, Buonanno E, Manzi S, et al. The progression of coronary artery calcification in predialysis patients on calcium carbonate or sevelamer. *Kidney Int.* nov 2007;72(10):1255-61.
203. Palmer SC, Gardner S, Tonelli M, Mavridis D, Johnson DW, Craig JC, et al. Phosphate-Binding Agents in Adults With CKD: A Network Meta-analysis of Randomized Trials. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* nov 2016;68(5):691-702.
204. Markowitz JS, Straughn AB, Patrick KS, DeVane CL, Pestreich L, Lee J, et al. Pharmacokinetics of Methylphenidate After Oral Administration of Two Modified-Release Formulations in Healthy Adults: *Clin Pharmacokinet.* 2003;42(4):393-401.
205. DOXORUBICINE TEVA 200 mg/100 ml sol inj - VIDAL eVIDAL [Internet]. [cité 8 déc 2021]. Disponible sur: https://evidal-vidal-fr.ressources-electroniques.univ-lille.fr/medicament/doxorubicine_teva_200_mg_100_ml_sol_inj-3590.html
206. CAELYX PEGYLATED LIPOSOMAL 2 mg/ml sol diluer p perf - VIDAL eVIDAL [Internet]. [cité 8 déc 2021]. Disponible sur: https://evidal-vidal-fr.ressources-electroniques.univ-lille.fr/medicament/caelyx_pegylated_liposomal_2_mg_ml_sol_diluer_p_perf-217792.html
207. Doxorubicin [Internet]. [cité 8 déc 2021]. Disponible sur: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00997>
208. PubChem. Doxorubicin [Internet]. [cité 8 déc 2021]. Disponible sur: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/31703>
209. Gabizon A, Shmeeda H, Barenholz Y. Pharmacokinetics of pegylated liposomal Doxorubicin: review of animal and human studies. *Clin Pharmacokinet.* 2003;42(5):419-36.
210. Abraham SA, Waterhouse DN, Mayer LD, Cullis PR, Madden TD, Bally MB. The liposomal formulation of doxorubicin. *Methods Enzymol.* 2005;391:71-97.
211. OncoClic [Internet]. [cité 8 déc 2021]. Disponible sur: <https://www.oncoclic.fr/protocoles-1>
212. Koukourakis Sofia Koukouraki, Alexa MI. High Intratumoral Accumulation of Stealth Liposomal Doxorubicin in Sarcomas: Rationale for Combination with Radiotherapy. *Acta Oncol.* janv 2000;39(2):207-11.
213. Linkesch W, Weger M, Eder I, Auner HW, Pernegg C, Kraule C, et al. Long-term pharmacokinetics of doxorubicin HCl stealth liposomes in patients after polychemotherapy with vinorelbine, cyclophosphamide and prednisone (CCVP). *Eur J Drug Metab Pharmacokinet.* sept 2001;26(3):179-84.

214. Anonymous. Caelyx pegylated liposomal [Internet]. European Medicines Agency. 2018 [cité 10 déc 2021]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/caelyx-pegylated-liposomal>
215. Xu L, Wang W, Sheng YC, Zheng QS. PHARMACOKINETICS: Pharmacokinetics and its relation to toxicity of pegylated-liposomal doxorubicin in chinese patients with breast tumours: PK and the relation to toxicity of PLD in Chinese patients. *J Clin Pharm Ther.* oct 2010;35(5):593-601.
216. Rafiyath SM, Rasul M, Lee B, Wei G, Lamba G, Liu D. Comparison of safety and toxicity of liposomal doxorubicin vs. conventional anthracyclines: a meta-analysis. *Exp Hematol Oncol.* déc 2012;1(1):10.
217. O'Brien MER, Wigler N, Inbar M, Rosso R, Grischke E, Santoro A, et al. Reduced cardiotoxicity and comparable efficacy in a phase III trial of pegylated liposomal doxorubicin HCl (CAELYX/Doxil) versus conventional doxorubicin for first-line treatment of metastatic breast cancer. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* mars 2004;15(3):440-9.
218. Centre UM. About Vigibase [Internet]. [cité 14 déc 2021]. Disponible sur: <https://who-umc.org/vigibase/>
219. Raschi E, Mazzarella A, Antonazzo IC, Bendinelli N, Forcesi E, Tuccori M, et al. Toxicities with Immune Checkpoint Inhibitors: Emerging Priorities From Disproportionality Analysis of the FDA Adverse Event Reporting System. *Target Oncol.* 1 avr 2019;14(2):205-21.
220. Montastruc J-L, Sommet A, Bagheri H, Lapeyre-Mestre M. Benefits and strengths of the disproportionality analysis for identification of adverse drug reactions in a pharmacovigilance database: Commentary. *Br J Clin Pharmacol.* déc 2011;72(6):905-8.
221. Centre UM. Members of the WHO Programme for International Drug Monitoring [Internet]. [cité 20 janv 2022]. Disponible sur: <https://who-umc.org/about-the-who-programme-for-international-drug-monitoring/member-countries/>
222. Bai X, Chen X, Wu X, Huang Y, Zhuang Y, Chen Y, et al. Immune checkpoint inhibitor-associated pituitary adverse events: an observational, retrospective, disproportionality study. *J Endocrinol Invest.* oct 2020;43(10):1473-83.
223. Mahé J, de Campaigno EP, Chené A-L, Montastruc J-L, Despas F, Jolliet P. Pleural adverse drugs reactions and protein kinase inhibitors: Identification of suspicious targets by disproportionality analysis from Vigibase: Pleural adverse drugs reactions and protein kinase inhibitors. *Br J Clin Pharmacol.* oct 2018;84(10):2373-83.
224. Perino J, Mottal N, Bohbot Y, Servant V, Berroneau A, Poustis P, et al. Cardiac failure in patients treated with azacitidine, a pyrimidine analogue: Case reports and disproportionality analyses in Vigibase. *Br J Clin Pharmacol.* mai 2020;86(5):991-8.

**DES INNOVATION PHARMACEUTIQUE ET RECHERCHE
DEMANDE D'AUTORISATION DE SOUTENANCE**

Nom et Prénom de l'étudiant : BRINKHUIZEN Clément INE : 0903044575R.....

Date, heure et lieu de soutenance :

Le |0|1| |0|3| |2|0|2|2| à 18h15 Amphithéâtre ou salle : Amphithéâtre Curie.....
 jour mois année

Engagement de l'étudiant - Charte de non-plagiat

J'atteste sur l'honneur que tout contenu qui n'est pas explicitement présenté comme une citation est un contenu personnel et original.

Signature de l'étudiant :



Avis du directeur de thèse

Nom : GAUTIER

Prénom : Sophie

Favorable

Défavorable

Motif de l'avis défavorable :

Date : 24/01/2022

Signature:



Avis du président du jury

Nom : ALLORGE

Prénom : Delphine

Favorable

Défavorable

Motif de l'avis défavorable :

Date : 24/01/2022

Signature:



Décision du Doyen

Favorable

Défavorable

Le .. 24/01/2022

Le Doyen

D. ALLORGE



Université de Lille
FACULTE DE PHARMACIE DE LILLE
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2021/2022

Nom : BRINKHUIZEN

Prénom : Clément

Titre de la thèse :

Des nanoparticules dans nos médicaments
Revue systématique et Exemple des Anthracyclines

Mots-clés : Nanoparticules, Revue, Pharmacovigilance, Chimiothérapie

Résumé :

Avec près de 9 000 produits commercialisés à travers le monde, les nanoparticules ont fait irruption dans notre quotidien. Bien qu'utilisés auparavant, l'arrivée des vaccins à ARNm a propulsé sur le devant de la scène internationale les nano vecteurs. Cette thèse a pour finalité de répondre aux questionnements soulevés par ce groupe de médicaments et d'illustrer leur intérêt. Pour ce faire, les paramètres généraux influençant les caractéristiques des nanoparticules ont été explicités. Ce relevé a été complété par une revue systématique de la littérature permettant d'extraire les vecteurs en essais cliniques depuis 2001 et de les détailler plus précisément par la suite. Pour terminer, l'intérêt de la vectorisation fut illustré en comparant le profil de sécurité de la Doxorubicine à celui du Caelyx® via l'analyse de la banque de pharmacovigilance internationale VigiBase.

Membres du jury :

Président :

Madame le Professeur Delphine ALLORGE
Professeur des Universités à la Faculté de Pharmacie de Lille
Praticien Hospitalier en Toxicologie au CHU de Lille

Directeur de thèse :

Madame le Professeur Sophie GAUTIER
Professeur des Universités à la Faculté de Médecine de Lille
Praticien Hospitalier au CRPV de Lille

Assesseurs :

Madame le Docteur Isabelle DAGRENAT
Pharmacien Hospitalier au CH de Compiègne-Noyon
Monsieur le Docteur Rodolphe CARPENTIER
Ingénieur de Recherche dans l'Unité INFINITE à Lille
Monsieur le Docteur Etienne BROCHOT
Maitre de Conférences des Universités à la Faculté de Pharmacie d'Amiens
Praticien Hospitalier en Virologie au CHU d'Amiens