



Université Claude Bernard



Lyon 1

DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **20 septembre 2021**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Madame GOODARZI Saba**

Titre de la thèse : « *Modèle de tumeur sphéroïde multicellulaire pour l'évaluation de l'efficacité de l'administration de médicaments à base de nanoparticules* »

Résumé



Malgré les progrès réalisés en matière de stratégies thérapeutiques et de compréhension de la biologie des cellules cancéreuses, seule une très faible proportion des thérapies prometteuses in vitro atteint l'utilisation clinique. Pour le dépistage des médicaments, on utilise généralement des modèles de cancer in vitro en deux dimensions (2D) et modèles animaux in vivo.

L'absence de contexte physiologique a empêché de faire des prévisions fiables sur le trajet et l'accumulation de ces nanoparticules dans les modèles animaux. Plusieurs modèles de culture de tumeurs en 3D, notamment des modèles à base d'échafaudages tumoraux, des modèles microfluidiques, des modèles bioprimés en 3D, des organoïdes et des sphéroïdes tumoraux multicellulaires. Les sphéroïdes, en particulier, ont acquis une certaine popularité en tant que modèle 3D in vitro. Les sphéroïdes, dont le diamètre varie de 200 à 500 μm , créent des gradients chimiques d'oxygène, de nutriments et de métabolites, ainsi que des caractéristiques physiques et fonctionnelles semblables à celles des tumeurs. Par conséquent, par rapport aux cultures de cellules monocouches, les essais basés sur le modèle des sphéroïdes sont plus prédictifs du succès in vivo des nanothérapies. Les sphéroïdes peuvent être fabriqués à l'aide d'une variété de techniques qui permettent aux cellules individuelles de s'auto-assembler et de former finalement des agrégats multicellulaires. Néanmoins, les méthodes classiques de production de sphéroïdes souffrent d'un faible rendement, d'une mauvaise reproductibilité et d'un long processus, tandis que les configurations de sphéroïdes sur puce établies jusqu'à présent nécessitent des connaissances pratiques en microfluidique qui sont difficiles à transposer dans un laboratoire de biologie cellulaire.

Des microsystèmes innovants à base d'hydrogel ont été développés récemment dans l'équipe biophysique de l'ILM pour relever ce type de défis liés à la préparation des sphéroïdes, au maintien de la culture et à l'étude ultérieure.

Dans cette étude, j'ai utilisé des micropuits à base d'agarose pour générer des sphéroïdes de HCT-116. Le but de ce projet était de valider un modèle 3D in vitro composé de sphéroïdes dans des micropuits à base d'agarose pour le criblage à haut débit de nanothérapies, ce qui comprenait la caractérisation de l'absorption, de la pénétration, de la distribution et de la localisation cellulaires des nanoparticules à l'aide de techniques de microscopie optique, ainsi que l'évaluation des effets thérapeutiques des nanoparticules dans cette méthode 3D in vitro.

Les nanoparticules AGuiX[®], composée de polysiloxane et entourée de chélates de gadolinium, développées par l'équipe FENEC de l'ILM ont été utilisées comme preuve de concept dans cette étude. Des essais cliniques sont actuellement en cours pour ces nanoparticules. Les nanoparticules AGuiX[®] ont été conjuguées au fluorophore Cy5.5 pour être utilisées en microscopie confocale.

Dans un premier temps, j'ai utilisé la microscopie confocale à fluorescence pour analyser la cinétique de pénétration et la distribution des nanoparticules AGuiX[®]- Cy5.5 ainsi que leur localisation extracellulaire et intracellulaire au sein des sphéroïdes. Les images acquises ont été analysées à l'aide d'un code développé sur Matlab. L'effet de ces nanoparticules sur la prolifération cellulaire et la croissance sphéroïdale a été étudié par microscopie optique, ce qui a ouvert la possibilité d'évaluer l'efficacité thérapeutique des nanoparticules AGuiX[®]- Cy5.5 en combinaison avec la radiothérapie. L'efficacité thérapeutique de ces nanoparticules en radiothérapie des cellules HCT-116 a ensuite été évaluée en utilisant en tandem le test de survie clonogénique et la microscopie optique.

Selon les résultats de cette étude, la pénétration des nanoparticules AGuiX[®]- Cy5.5 dans les sphéroïdes est dépendante du temps et de la concentration. Alors que les nanoparticules ont été observées dans l'espace extracellulaire et intracellulaire des sphéroïdes, la localisation intracellulaire dominante des nanoparticules AGuiX[®]- Cy5.5 était dans les lysosomes ; les endosomes précoces et les mitochondries, par contre, ont montré une certaine colocalisation avec AGuiX[®]. Lorsque la localisation des nanoparticules AGuiX[®]- Cy5.5 dans les sphéroïdes et la culture cellulaire 2D a été comparée, la différence dans la localisation des nanoparticules en 2D et en 3D a mis en évidence les avantages de l'utilisation de ce modèle in vitro 3D pour le criblage des nanothérapies en raison de sa capacité à récapituler les caractéristiques tumorales influençant l'internalisation des nanoparticules et leur destin intracellulaire. Le modèle in vitro 3D développé s'est avéré bénéfique pour l'évaluation de la thérapie associée à la radiothérapie, car les cellules dans les structures 3D ont montré une plus grande radiosensibilité que les cellules dans la culture cellulaire 2D, indiquant que ce modèle in vitro 3D peut être utilisé pour évaluer l'efficacité thérapeutique des nanoparticules et des médicaments dans une configuration plus réaliste. Comme prévu, les nanoparticules AGuiX[®]- Cy5.5 ont augmenté la radiosensibilité et amélioré la réponse à la radiothérapie des cellules HCT-116, ce qui est cohérent avec les études précédentes sur AGuiX[®].

En résumé, ce projet a permis de valider un modèle in vitro 3D innovant pour le criblage à haut débit des nanoparticules, depuis les interactions cellule-nanoparticule jusqu'à leur efficacité thérapeutique, en utilisant des essais biologiques et des techniques de microscopie.