

4^{ème} JOURNEES DU GDR HAPPYBIO
Journées conjointes GDR HappyBIO-SFPb-SFPMed
24 – 26 novembre 2021 Toulouse



Recueil des Résumés



Comité local d'organisation :

Patricia Vicendo
Nofel Merbahi
Marie-Pierre Rols



4^{ème} JOURNEES DU GDR HAPPYBIO

Journées conjointes GDR HappyBio-SFPb-SFPMed

PROGRAMME SCIENTIFIQUE JOURNEES DU 24 AU 26 NOVEMBRE

MERCREDI 24 NOVEMBRE

8H00-8H45 : Accueil des participants/Pauses Café/Contrôle pass sanitaire

8H45-9H05: Présentation de l'activité du GDR durant l'année 2021 et des journées conjointes GDR HappyBio-SFPb-SFPMed: **Eric ROBERT, Orléans.**

Traitement de la peau par des jets plasma et ou des champs électriques pulsés

9H05-9H30 : Evaluation des champs électriques pulsés combinés aux nanoparticules inorganiques : effets sur la structure du collagène et la viabilité cellulaire. **Jelena KOLOSNIJATABI, Toulouse.**

9H30-9H55 : Effet du plasma froid à pression atmosphérique sur le remodelage du collagène. **Aurélien MARCHES, Toulouse.**

9H55-10H15 : PAUSE-CAFE

Traitement des cellules ou de sphéroïdes. Réponse cellulaire

10H15-10H40: Oxydation lipidique et excitabilité cellulaire. **Aurianne RAINOT, Vandoeuvre-les-Nancy.**

10H40-11h05 : Oscillations Calciques dans les Cellules Souches Mésoenchymateuses en Différenciation : Analyse et Contrôle par des Champs Electriques Pulsés. **Leslie VALLET, Paris-Saclay.**

11H05-11H30: A subnanosecond PEF system for studying cells electropermeabilization: A study case **Njomza IBRAHIMI, Pau.**

11H30-11H55: Une nouvelle méthode d'imagerie en temps réel, non-invasive, pour évaluer les effets de l'électrochimiothérapie sur le mélanome murin. **Bastien JOUANMIQUEOU, Toulouse.**

11H55-12H05: Présentations « Flash » des Posters inscrits aux thématiques : Jets Plasma et application Biologiques, Champ électriques Pulsés et Applications Biologiques et Photobiologie

12H05-13H15: REPAS POSTER

Session Société Française de Photobiologie

13H15-13H40: Les photoproduits de l'ADN dans les spores bactériennes. **Thierry DOUKI, Grenoble.**

13H40-14H05: Activité anti-infectieuse synergique par administration successive de calix[4]arène polycationique et de MoS₂ à effet photothermique. **Isabelle TOUBIA, Vandoeuvre les Nancy.**

14H05-14H30: All-organic intrinsically stealth nanoparticles for single particle tracking and bioimaging. **Morgane ROSENDALE, Talence.**

14H30-14H55: Une nouvelle protéine fluorescente jaune pour l'imagerie de fluorescence : brillante, photostable et insensible au pH. **Marie ERARD, Paris Saclay**

14H55-15H15 : PAUSE-CAFE

Activité antibactérienne- Décontamination

15H15-15H40: Intérêt du couplage champs électriques pulsés et plasma froid pour la décontamination bactérienne. **Robin MENTHEOUR, Toulouse**

15H40-16H05 : Rotating magnetic silica-coated iron oxide nanochains potentiate the effect of methicillin in methicillin-resistant *S. epidermidis*. **Jelena KOLOSNAJ-TABI, Toulouse.**

16H05-16H30: Agar plate as an in vitro human model as applied to sterilization of non-healing bacterial wounds. **Inna OREL, Orléans.**

16H30-16H55: Production et suivi d'espèces actives dans les post décharges en flux à base d'azote. Application à la stérilisation du matériel médical. **Jean-Philippe SARRETTE, Toulouse.**

16H55-17H20: L'influence de la phase de croissance bactérienne sur l'efficacité de la décontamination des liquides par plasma. **Ibtissam COURTI, Albi.**

17H20-17H45: Response of Controlled Cell Load Biofilms to Cold Atmospheric Plasma Jet: Evidence of Extracellular Matrix Contribution. **Frédéric MARCHAL, Toulouse.**

17H45-18H10: Un jet plasma comme source de monoxyde de carbone (CO) en vue d'applications biomédicales. **Claire DOUAT, Orléans.**

PROGRAMME SCIENTIFIQUE JOURNÉES DU 24 AU 26 NOVEMBRE

JEUDI 25 NOVEMBRE

Journée Française sur la Thérapie Photodynamique

8h30-9h30 : Accueil des participants/Pauses Café/Contrôle pass sanitaire

9h30-9h45 : Introduction de la journée : Céline Frochot, Serge Mordon

La PDT dans le domaine de la Recherche

9h45-10h00 : 10 ans de thérapie photodynamique vectorisée : potentiel des nanovecteurs polymères. Laure Gibot, Toulouse

10h00-10h15 : Multifunctional platforms for PDT in Hypoxic environment: proof of concept. Céline Frochot, Nancy

10h15-10h30 : Photosensitizers coupled with poly or oligosaccharides for antimicrobial photodynamic therapy applications. Vincent Sol, Limoges

10h30-10h45 : Porphyrin and Phthalocyanine Derivatives as Two-photon Photosensitizers for photodynamic therapy. Christine Odile Paul-Roth, Rennes

10h45-11h00 : Réponse photoinduite des analogues biomimétiques de la cyclocurcumine: vers des thérapies assistées par la lumière. Jérémy Pecourneau, Nancy

11h00-11h15 : The synthesis and characterisation of lipid-porphyrin conjugates for the treatment of bacterial biofilms. Louis Bronstein, Paris

11h15-11h30 : Towards Selective Delivery of Novel Metal-based Photosensitizers for Anticancer Photodynamic Therapy. Gilles Gasser, Paris

11h30-11h45 : Utilisation de nanoscintillateurs composés de terres rares pour induire de la thérapie photodynamique à l'aide de rayons X. Clémentine Fulbert, Grenoble

11h45-12h00 : X-ray photodynamic therapy (X-PDT): state of the art, development and clinical application parameters. Batoul Dhaini, Nancy

12h00-12h15 : Radioluminescent nanoparticles and deep-tissue photodynamic therapy to enhance radiotherapy efficacy. Sarah Stelse-Masson, Saint-Martin-d'Hères

12h15-13h30 : Repas et posters

La PDT Pré-clinique

13h30-13h45 : Evaluation de l'efficacité de la PDT utilisant un nouveau photosensibilisateur couplé à l'Acide Folique (PSAF-PDT) dans des modèles d'organoïdes de cancers ovariens épithéliaux. **Léa Boidin, Lille**

13h45-14h00 : Evaluation pré-clinique de l'utilisation de la thérapie photodynamique médiée par l'acide 5-aminolévulinique dans les carcinomes hépatocellulaires. **Rémi Dast, Lille**

14h00-14h15 : Tricots lumineux pour la PDT in vitro : Caractérisation et application sur des lignées de cellules cancéreuses humaines. **Elise Thecua, Lille**

Clinique

14h15-14h30 : Carcinose péritonéale d'origine ovarienne : le scialytique de la salle d'opération pourrait-il induire une thérapie photodynamique ? **Anne-Sophie Vignion-Dewalle, Lille**

14h30-14h45 : Comment réaliser un traitement indolore des kératoses actiniques par thérapie photodynamique ? **Serge Mordon, Bordeaux**

14h45-15h00 : Indications résiduelles et modifications des protocoles de traitement par PDT en ophtalmologie en 2021. **Thomas Desmettre, Lille**

15h00 -15h15 : L'intérêt de la chirurgie guidée par la fluorescence et de la thérapie photodynamique pour le traitement des métastases péritonéales des cancers épithéliaux de l'ovaire. Principes cliniques et données précliniques. **Henri Azais, Paris**

15h15-15h30 : Interstitial photodynamic therapy for glioblastomas: a standardized procedure for clinical use. **Henri-Arthur Leroy, Lille**

15h30-15h45 : Is interstitial photodynamic therapy for brain tumors ready for clinical practice? A systematic review. **Henri-Arthur Leroy, Lille**

15h45 – 16h30 : Discussion - Bilan de la journée

PROGRAMME SCIENTIFIQUE JOURNÉES DU 24 AU 26 NOVEMBRE

VENDREDI 26 NOVEMBRE

8H30-9H00 : Accueil des participants/Pauses Café/Contrôle pass sanitaire

Plantes et germination

9H00-9H25 : Effets de traitements au plasma à barrière diélectrique dans l'air ambiant sur la germination et la surface de deux graines de Brassicacées : *Arabidopsis thaliana* et *Camelina sativa*. **Maxime BAFOIL, Toulouse**

9H25-9H50 : Optimisation des conditions d'éclairage favorisant la production de biomasse et la teneur en phycocyanine chez *Arthrospira platensis*. **Georges ZISSIS, Toulouse**

Jets plasma

9H50-10H15 : Mesure de densités absolues de radicaux OH par LIF dans un jet plasma d'hélium à la pression atmosphérique pour applications médicales. **Julien COSIMI, Toulouse.**

10H15-10H40 : Traitement par jet de plasma froid du cholangiocarcinome (in vitro): Sélectivité et effets sur le microenvironnement tumoral. **Henri DECAUCHY, Paris-Saclay.**

10H40-11H00: PAUSE-CAFE

PEF

11H00-11H25 : Modélisation d'émetteurs à effet de champ pour la génération de rayons X. **Benjamin SEZNEC, Paris XI.**

11H25-11H50 : Microsystème fluide pour la culture, l'étude et l'électroporation in vitro de structures cellulaires 3D type sphéroïdes : **Pauline BREGIGEON, Lyon.**

11H50-12H15 : Modélisation de croissance de sphéroïdes soumis à des champs impulsionnels de haute intensité. **Annabelle COLLIN, Talence.**

12H15-12H45 : Bilan et futur du GDR. Discussion

CLOTURE DES JOURNÉES CONJOINTES GDR HAPPYBIO-SFPb-SFPMed 2021

12H45 : REPAS

PROGRAMME SCIENTIFIQUE JOURNÉES DU 24 AU 26 NOVEMBRE

POSTERS Journée Française sur la Thérapie Photodynamique

Caractérisation de nanovecteurs à base de polyoxazoline pour des applications en Thérapie Photodynamique. *Orélia Cerlati, Alice Tosi, Barbara Lonetti, Francesca Baldelli Bombelli, Laure Gibot, Kadafi Belkir, Tarek Benkhalel, Diana Heaugwane, Alain Graillot, Camille Chatard, Pierre-Louis Brient, Patricia Vicendo, Vincent LAPINTE, Anne-Françoise Mingotaud.*

Photodynamic Carbonic anhydrase IX Inhibitors: Towards Synergistic Therapy against Hypoxic. *Amina Merabti, Sébastien Clément, Jean-Yves Winum, Sébastien Richeter, Claudiu T Supuran, Claudiu T Supuran.*

Ru(II)-polypyridyl complexes as linear and nonlinear photosensitizers in (a-)PDT. *Sylviane Chevreux, Raphaëlle Youf, Tony Le Gall, Franck Thetiot, Mareike Müller, Ulrich Jonas, Holger Schönherr, Tristan Montier, Gilles Lemerrier.*

Gel photoactif à base de talc synthétique et d'un complexe de rhénium(I) : vers un nouvel agent de photothérapie antimicrobienne. *Fery-Forgues Suzanne, Marie Goizet, Alexandre Piroit, Fernanda Gonçalves, Eric Benoist, François Martin, Pierre Micoud, Christophe Le Roux.*

Nancy PDTeam's projects. *Philippe Arnoux, Mathilde Achard, Samir Acherar, Jean-Claude André, Muriel Barberi-Heyob, Francis Baros, Cédric Boura, Joël Daouk, Alain Delconte, Batoul Dhaini, Céline Frochot, Valérie Jouan-Hureau, Stéphane Gorla, Hervé Schohn, Noémie Thomas.*

Neutral porphyrin coupled with oligosaccharides for antimicrobial photodynamic therapy. *Vincent Sol, Abdechakour ELkihel, Tan-sothéa Ouk.*

POSTERS HAPPYBIO

Etude des propriétés du pbs active par plasma froid pour des applications cosmétiques. *Zeineb Maaroufi, Augusto Stancampiano, Eric Robert, Catherine Grillon.*

Formation of dimer ions in cold plasmas using rare gases for biomedical applications. *Fresnelle Tenanguena Nongni.*

Photothermie des nano-formulations d'agrégats-J de vert d'indocyanine et de Calix[4]arène à but anti-carcinomes hypopharyngés. *Marie Millard, Yann Bernhard, Nadia Canilho, Stéphanie Grandemange, Stéphane Parant, Maxime Mourer, Henri-Pierre Lassalle, Andréea Pasc.*

REMERCIEMENTS



Hemerion sponsorise un Prix -PDT.



Quantel medical sponsorise financièrement la journée dédiée à la PDT.



PorphyChem sponsorise un Prix PDT.



L'université Toulouse III - Paul Sabatier accueille le colloque en mettant à disposition l'auditorium Marthe Condat et soutient financièrement son organisation.



Table des matières

Page_de_garde_book_of_abstracts_GRD_HappyBio.pdf	1
Programme_GDR_Happy_SFPb_SFPMed_24_26_nov_1.pdf	2
Jets plasma & applications en biologie	1
Un jet plasma comme source de monoxyde de carbone (CO) en vue d'applications biomédicales, Douat Claire [et al.]	1
Response of Controlled Cell Load Biofilms to Cold Atmospheric Plasma Jet: Evidence of Extracellular Matrix Contribution, Marchal Frédéric [et al.]	3
Production et suivi d'espèces actives dans les post décharges en flux à base d'azote. Application à la stérilisation du matériel médical., Sarrette Jean-Philippe [et al.]	4
Effet du plasma froid à pression atmosphérique sur le remodelage du collagène, Marches Aurélie [et al.]	5
Formation of dimer ions in cold plasmas using rare gases for biomedical applications, Tenanguena Nongni Fresnelle	6
Mesure de densités absolues de radicaux OH par LIF dans un jet plasma d'hélium à la pression atmosphérique pour applications médicales, Cosimi Julien [et al.] . .	7
L'influence de la phase de croissance bactérienne sur l'efficacité de la décontamination des liquides par plasma, Courti Ibtiassam	8
Agar plate as an in vitro human model as applied to sterilization of non-healing bacterial wounds, Orel Inna [et al.]	10
Effets de traitements au plasma à barrière diélectrique dans l'air ambiant sur la germination et la surface de deux graines de Brassicacées : Arabidopsis thaliana et Camelina sativa, Bafoil Maxime [et al.]	12

Intérêt du couplage champs électriques pulsés et plasma froid pour la décontamination bactérienne, Mentheour Robin [et al.]	13
Contrôle et asservissement in-situ de la puissance d'un jet micro-plasma RF à pression atmosphérique – paramètre clé pour les applications biologiques et la réponse cellulaire, Iséni Sylvain [et al.]	14
ETUDE DES PROPRIETES DU PBS ACTIVE PAR PLASMA FROID POUR DES APPLICATIONS COSMETIQUES, Maaroufi Zeineb [et al.]	15
Traitement par jet de plasma froid du cholangiocarcinome (in vitro): Sélectivité et effets sur le microenvironnement tumoral, Decauchy Henri [et al.]	16
Champs électriques & applications en biologie	17
Modélisation de croissance de sphéroïdes soumis à des champs impulsionnels de haute intensité., Bruhier Hadrien [et al.]	17
Microsystème fluide pour la culture, l'étude et l'électroporation in vitro de structures cellulaires 3D type sphéroïdes, Bregigeon Pauline [et al.]	19
Oxydation lipidique et excitabilité cellulaire, Rainot Aurianne [et al.]	20
A subnanosecond PEF system for studying cells electropermeabilization: A study case, Ibrahim Njomza [et al.]	21
Oscillations Calciques dans les Cellules Souches Mésenchymateuses en Différenciation : Analyse et Contrôle par des Champs Electriques Pulsés, Vallet Leslie [et al.]	22
EVALUATION DES CHAMPS ELECTRIQUES PULSES COMBINES AUX NANOPARTICULES INORGANQUES : EFFETS SUR LA STRUCTURE DU COLLAGENE ET LA VIABILITE CELLULAIRE, Kolosnjaj-Tabi Jelena	24
Modélisation d'émetteurs à effet de champ pour la génération de rayons X, Seznec Benjamin [et al.]	25
Une nouvelle méthode d'imagerie en temps réel, non-invasive, pour évaluer les effets de l'électrochimiothérapie sur le mélanome murin, Jouanmiquieu Bastien .	26
ROTATING MAGNETIC SILICA-COATED IRON OXIDE NANOCAINS POTENTIATE THE EFFECT OF METHICILLIN IN METHICILLIN-RESISTANT S. EPIDERMIDIS, Kolosnjaj-Tabi Jelena	28
Thérapie photodynamique	29

Towards Selective Delivery of Novel Metal-based Photosensitizers for Anticancer Photodynamic Therapy, Gasser Gilles	29
Indications résiduelles et modifications des protocoles de traitement par PDT en ophtalmologie en 2021, Desmettre Thomas	31
10 ans de thérapie photodynamique vectorisée : potentiel des nanovecteurs polymères, Till Ugo [et al.]	32
MULTIFUNCTIONAL PLATFORMS FOR PDT IN HYPOXIC ENVIRONMENT: PROOF OF CONCEPT, Frochot Celine [et al.]	33
Caractérisation de nanovecteurs à base de polyoxazoline pour des applications en Thérapie Photodynamique, Cerlati Orélia [et al.]	34
Comment réaliser un traitement indolore des kératoses actiniques par thérapie photodynamique ?, Mordon Serge	35
Réponse photoinduite des analogues biomimétiques de la cyclocurcumine: vers des thérapies assistées par la lumière, Pecourneau Jérémy [et al.]	37
Is interstitial photodynamic therapy for brain tumors ready for clinical practice? A systematic review., Leroy Henri-Arthur [et al.]	38
Evaluation de l'efficacité de la PDT utilisant un nouveau photosensibilisateur couplé à l'Acide Folique (PSAF-PDT) dans des modèles d'organoïdes de cancers ovariens épithéliaux, Boidin Léa [et al.]	39
EVALUATION PRE-CLINIQUE DE L'UTILISATION DE LA THERAPIE PHOTODYNAMIQUE MEDIEE PAR L'ACIDE 5-AMINOLEVULINIQUE DANS LES CARCINOMES HEPATOCELLULAIRES, Dast Rémi	42
Photosensitizers coupled with poly or oligosaccharides for antimicrobial photodynamic therapy applications, Sol Vincent [et al.]	44
X-ray photodynamic therapy (X-PDT): state of the art, development and clinical application parameters, Dhaini Batoul [et al.]	45
Neutral porphyrin coupled with oligosaccharides for antimicrobial photodynamic therapy., Sol Vincent [et al.]	46
Nancy PDTEAM'S PROJECTS, Arnoux Philippe [et al.]	47
Tricots lumineux pour la PDT in vitro : Caractérisation et application sur des lignées de cellules cancéreuses humaines, Thecua Elise [et al.]	48

THE SYNTHESIS AND CHARACTERISATION OF LIPID-PORPHYRIN CONJUGATES FOR THE TREATMENT OF BACTERIAL BIOFILMS., Bronstein Louis [et al.]	49
Efficacité de la chirurgie combinée à la thérapie photodynamique dans le traitement du glioblastome inuite par le rétablissement d'un environnement immunologique favorable, Grolez Guillaume [et al.]	50
Ru(II)-polypyridyl complexes as linear and nonlinear photosensitizers in (a-)PDT), Chevreux Sylviane [et al.]	51
Porphyrin and Phthalocyanine Derivatives as Two-photon Photosensitizers for photodynamic therapy, Paul-Roth Christine Odile [et al.]	52
Photodynamic Carbonic anhydrase IX Inhibitors: Towards Synergistic Therapy against Hypoxic, Merabti Amina [et al.]	53
Interstitial photodynamic therapy for glioblastomas: a standardized procedure for clinical use, Leroy Henri-Arthur [et al.]	54
Utilisation de nanoscintillateurs composés de terres rares pour induire de la thérapie photodynamique à l'aide de rayons X, Fulbert Clémentine [et al.]	55
Gel photoactif à base de talc synthétique et d'un complexe de rhénium(I) : vers un nouvel agent de photothérapie antimicrobienne, Suzanne Fery-Forgues [et al.]	56
Radioluminescent nanoparticles and deep-tissue photodynamic therapy to enhance radiotherapy efficacy, Stelse-Masson Sarah	57
Carcinose péritonéale d'origine ovarienne : le scialytique de la salle d'opération pourrait-il induire une thérapie photodynamique ?, Vignion-Dewalle Anne-Sophie [et al.]	58
Intérêt de la chirurgie guidée par la fluorescence et de la thérapie photodynamique pour le traitement des métastases péritonéales des cancers épithéliaux de l'ovaire. Principes cliniques et données précliniques., Azaïs Henri [et al.]	59
Photobiologie	60
All-organic intrinsically stealth nanoparticles for single particle tracking and bioimaging, Blanchard-Desce Mireille	60
Les photoproduits de l'ADN dans les spores bactériennes, Douki Thierry	62
Photothermie des nano-formulations d'agrégats-J de vert d'indocyanine et de Calix[4]arène à but anti-carcinomes hypopharyngés, Millard Marie [et al.]	63

Activité anti-infectieuse synergique par administration successive de calix[4]arène polycationique et de MoS ₂ à effet photothermique, Toubia Isabelle [et al.]	64
Optimisation des conditions d'éclairage favorisant la production de biomasse et la teneur en phycocyanine chez <i>Arthrospira platensis</i> , Zissis Georges	65
tdLanYFP, une nouvelle protéine fluorescente jaune pour l'imagerie de fluorescence : brillante, photostable et insensible au pH, Erard Marie	66
Liste des participants	67
Liste des sponsors	70
Liste des auteurs	71

Jets plasma & applications en biologie

Un jet plasma comme source de monoxyde de carbone (CO) en vue d'applications biomédicales

Claire Douat¹, Pablo Escot Bocanegra¹, Sébastien Dozias¹, Éric Robert¹, Roberto Motterlini²

¹ GREMI UMR7344 CNRS, Université d'Orléans, Orléans, France

² Inserm U955, Faculty of Health, University Paris Est, Créteil, France

E-mail: claire.douat@univ-orleans.fr

Les plasmas utilisés dans le domaine médical ou de la biologie ont l'avantage de générer diverses espèces réactives tout en produisant un champ électrique, des espèces chargées et des UV tout en gardant une température proche de la température du gaz, leur permettant ainsi d'interagir avec un tissu sans risque de le brûler. Actuellement, une partie de la communauté se focalise sur l'étude de la chimie générée par ces plasmas afin d'expliquer leurs différents effets positifs. Ces espèces sont principalement les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote, qui sont issues de l'interaction du plasma et de l'air environnant. Étonnamment, le monoxyde de carbone (CO), qui peut être produit aisément par la dissociation du CO₂ ambiant par plasma a complètement été omis [1]. Pourtant il est connu depuis longtemps que cette molécule est naturellement présente dans l'organisme et qu'elle joue un rôle clef contre le stress. C'est une molécule de signalisation, qui permet entre autres de diminuer l'inflammation et de réguler la dilatation des vaisseaux sanguins [2].

Cette présentation sera dédiée au développement d'un réacteur plasma afin de générer de façon contrôlée la production de CO. La géométrie du réacteur est basée sur une configuration de type DBD (Décharge à Barrière Diélectrique) jet plasma. Un flux d'hélium avec 1% de CO₂ passe à travers le réacteur. La concentration de CO produit est mesurée en phase gazeuse par un analyseur de gaz, et se situe entre 100 et 2000 ppm, alors que la quantité de CO absorbée par de l'hémoglobine de souris est quantifiée par spectroscopie d'absorption. Ces résultats préliminaires montrent que la production de CO par plasma affecte l'absorption du CO par l'hémoglobine [3].

- [1] E. Carbone and C. Douat, *Plasma Med.*, vol. 8, no. 1, pp. 93–120, 2018.
- [2] R. Motterlini and L. E. Otterbein, *Nat. Rev. Drug Discov.*, vol. 9, no. 9, pp. 728–743, Sep. 2010.
- [3] C. Douat, P. Escot Bocanegra, S. Dozias, É. Robert, and R. Motterlini, *Plasma Process. Polym.*, vol. 18, no. 9, p. 2100069, Sep. 2021.

TITRE

Response of Controlled Cell Load Biofilms to Cold Atmospheric Plasma Jet: Evidence of Extracellular Matrix Contribution

Maritxu Labadie¹, Frédéric Marchal², Nofel Merbahi, Catherine Fontagné-Faucher¹ et Claire-Emmanuelle Marcato-Romain¹

1 UPS, IUT "A", LBAE EA 4565 (Laboratoire de Biotechnologies Agroalimentaire et Environnementale), Université de Toulouse, IUT Site d'AUCH, 24 rue d'Embaquès, F-32000 Auch, France

2 UPS, INPT, CNRS, LAPLACE UMR 5213 (Laboratoire Plasma et Conversion d'Energie), Université de Toulouse, 118 Route de Narbonne, F-31062 Toulouse, France

*frederic.marchal@univ-tlse3.fr

Mots-clés : Plasma froid, décontamination, biofilm, matrice extracellulaire

Résumé :

Aim: Study of the biocidal effect of a cold atmospheric-pressure plasma in ambient air on single-species bacterial biofilms with controlled cell density, characterized by different extracellular matrices.

Methods and results: Two bacterial strains were chosen to present different Gram properties and contrasted extracellular matrices: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 (Gram-negative), and *Leuconostoc citreum* NRRL B-1299 (Gram-positive). *P. aeruginosa* biofilm exhibits a complex matrix, rich in proteins while *L. citreum* presents the specificity to produce glucan-type exopolysaccharides when grown in the presence of sucrose. Plasma was applied on both surface-spread cells and 24-h grown biofilms with controlled cell loads over 5, 10, or 20 min. Surface-spread bacteria showed a time dependent response, with a maximal bacterial reduction of 2.5 log after 20 min of treatment. On the other hand, in our experimental conditions, no bactericidal effect could be observed when treating biofilms of *P. aeruginosa* and glucan-rich *L. citreum*.

Conclusions: For biofilms presenting equivalent cell loads, the response to plasma treatment seemed to depend on the properties of the extracellular matrix characterized by infrared spectroscopy, scanning electron microscopy, or dry weight.

Significance and impact of study: Both cell load standardization and biofilm characterization are paramount factors to consider the biocide effect of plasma treatments. The extracellular matrix could affect the plasma efficacy by physical and/or chemical protective effects.

Production et suivi d'espèces actives dans les post-décharges en flux à base d'azote. Application à la stérilisation du matériel médical.

Jean Philippe Sarrette^{a*}, Valentin Ferrer^a, André Ricard^a, Frédéric Marchal^a, Jean Pierre Gardou^a

^a LAPLACE, Université de Toulouse, CNRS, INPT, UPS, Toulouse, France

* sarrette@laplace.univ-toulouse.fr

Mots-clés : Stérilisation; Post-décharge; Azote atomique ; Spectroscopie d'émission ; TALIF

Résumé :

Les post-décharges en flux à pression réduite ont démontré leur intérêt concernant la décontamination et la stérilisation de dispositifs médicaux à basse température (<60°C). [1-2] Exemptes d'espèces physiquement agressives (électrons, ions), elles transportent d'importantes concentrations d'espèces chimiques susceptibles d'éliminer les micro-organismes ou d'interagir avec des molécules d'intérêt biologique. [3]

Selon la nature du gaz plasmagène et les conditions opératoires utilisées (pression, débit de gaz, distance à la décharge,...), la nature et la concentration de ces espèces varie énormément. Parmi elles, l'azote atomique (N) a déjà été identifié comme une espèce permettant de réduire une population bactérienne en quelques dizaines de minutes d'exposition, sans avoir l'inconvénient d'oxyder les matériels sur lesquels se trouvent les bactéries. [2]

Le travail présenté ici montre qu'il est possible de suivre l'évolution de nombreuses concentrations d'espèces actives présentes dans les post-décharges d'azote par des méthodes de spectroscopie d'émission et d'absorption optique (TALIF). (Fig. 1) Il est également démontré que les mélanges d'azote et de gaz rare (Ar, He) permettent sous certaines conditions de doubler la concentration en atomes N alors que les mélanges N₂/H₂ génèrent de l'hydrogène atomique (H) en concentration équivalente à celle de l'azote atomique.

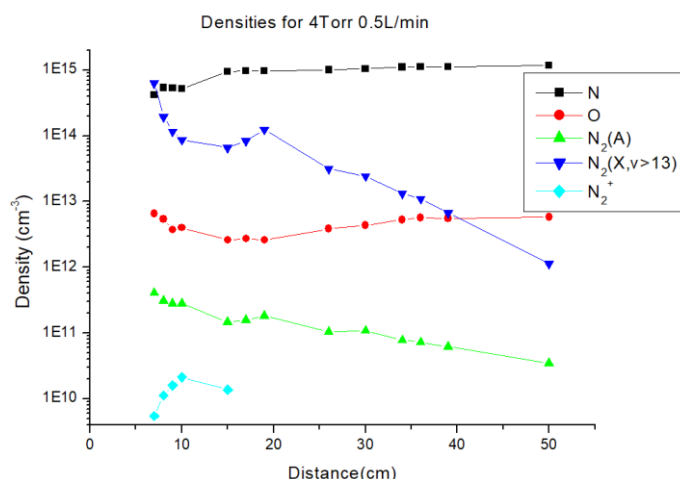


Fig.1 Evolution des concentrations en espèces actives d'une post-décharge d'azote en fonction de la distance à la décharge (4 Torr, 0.5 slm, 100 W)

Références :

- [1] : M. Moisan ; J. Barbeau ; S. Moreau ; J. Pelletier ; M. Tabrizian et L'H Yahia, *International Journal of Pharmaceutics*, 2001, **226**, 1-21
- [2] : S. Cousty ; S. Villeger ; J.P. Sarrette ; A. Ricard et M. Sixou, *Eur. Phys. J. Appl. Phys.*, 2006, **34**, 143-146
- [3] : H. Zerrouki ; V. Rizzati ; C. Bernis ; A. Nègre-Salvayre ; J.P. Sarrette et S. Cousty, *PLoS ONE*, 2015, e0116083

Effet du plasma froid à pression atmosphérique sur le remodelage du collagène

Sara Gouarderes¹, Aurélie Marches^{* 2,3}, Patricia Vicendo¹, Michel Simon², Nofel Merbahi³, Laure Gibot¹

1 Laboratoire des IMRCP, CNRS UMR 5623, Université Toulouse III - Paul Sabatier, France

2 Institut Toulousain des Maladies Infectieuses et Inflammatoires (Infinity), Université de Toulouse, CNRS, Inserm, Université Toulouse III - Paul Sabatier, France

3 Laplace UMR CNRS 5213, Université Toulouse III - Paul Sabatier, France

* aurelie.marches@inserm.fr

Mots-clés : plasma froid atmosphérique, matrice extracellulaire, collagène, ROS, modèle humain 3D dermique.

Résumé :

Le plasma froid à pression atmosphérique (CAP) est une technologie émergente dont les principales applications médicales sont la stérilisation des matériaux, la décontamination et le traitement du cancer [1]. Ces actions reposent en grande partie sur la capacité des CAPs à produire des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote [2]. Le CAP semble aussi favoriser la cicatrisation, les mécanismes biologiques mis en jeu étant cependant mal connus [3]. Notre étude vise à évaluer un possible effet du CAP sur le remodelage de la matrice extracellulaire (MEC), en particulier sur les collagènes.

Un dispositif plasma à jet d'hélium a été développé, et nous avons testé les effets du traitement direct par CAP pendant 30 et 120 secondes sur un modèle original de substitut dermique humain 3D fabriqué par auto-assemblage et riche en MEC endogène. Nous avons montré que notre dispositif génère des concentrations micromolaires d'ions nitrites et nitrates et de peroxyde d'hydrogène. Nous avons montré que dans le modèle de substitut dermique traité par CAP 1) la viabilité n'a pas été pas altérée, 2) la sécrétion de pro-collagène I n'a pas été modifiée pendant 48h après le traitement, 3) l'activité globale des métalloprotéases n'a pas été modulée pendant de 48h après le traitement, et 4) aucun changement dans la teneur en hydroxyproline n'a été observé pendant 5 jours après le traitement. Afin de confirmer l'efficacité de notre dispositif plasma, en utilisant un modèle 3D de sphéroïde cancéreux, nous avons montré que, dans les mêmes conditions, le milieu de culture activé par plasma induit l'apoptose cellulaire et un retard de croissance.

En conclusion, aucun effet du traitement direct par CAP n'a été observé sur la production et la dégradation de la MEC, ce qui indique que le CAP ne stimule pas le remodelage du collagène à l'échelle du tissu.

Références :

- [1] D. Braný, et al. Cold Atmospheric Plasma: A Powerful Tool for Modern Medicine, Int. J. Mol. Sci. 21 (2020). <https://doi.org/10.3390/ijms21082932>.
- [2] C. Dunnill, et al. Reactive oxygen species (ROS) and wound healing: the functional role of ROS and emerging ROS-modulating technologies for augmentation of the healing process, Int. Wound J. 14 (2017) 89–96. <https://doi.org/10.1111/iwj.12557>.
- [3] A. Privat-Maldonado et al., ROS from Physical Plasmas: Redox Chemistry for Biomedical Therapy, Oxid. Med. Cell. Longev., 2019,

Formation of dimer ions in cold plasmas using rare gases for biomedical applications

Fresnelle Tenanguena Nongni^{1,2}, Malika Benhenni¹, René Kalus²

¹ *Laboratoire Plasma et Conversion d'Energie, LAPLACE UMR5213 du CNRS, Université de Toulouse III Paul Sabatier, 118 route de Narbonne, F-31062 Toulouse Cedex, France*

fresnelle.tenanguena@laplace.univ-tlse.fr

² *IT4Innovations, VSB—Technical University of Ostrava, 17. listopadu 15/2172, 70800 Ostrava-Poruba, Czechia*

tenanguena.nongni.fresnelle.st@vsb.cz

Keywords: Dimer ions, cold plasmas, rare gases

Abstract:

The use of rare gases as carrier gases in cold plasma jet at atmospheric pressure for biomedical applications, is a well established field of research. In such plasma reactors, many active species (photons, radicals, charged particles, electric field, etc.) are produced and are the origin of the observed biological effects. One of the main challenges is then to quantify these active species and therefore control their production for a specific biomedical application. For this purpose, macroscopic model based on Poisson equation and charged particle conservation equations coupled to Navier Stokes equations have been developed but requires as input data the rate constants, often missing in the literature, of molecular ions that strongly participate in the kinetics of the plasma jet. In particular, rare gas dimer ions have a very important influence on the behavior of rare gas plasmas used in biomedical applications. Therefore, the analysis and understanding of their formation is of great importance for macroscopic modeling of charge distribution. The main objective of this work is to perform calculations of the rate constants of dimer ions formed in cold plasmas using rare gases (Ar, Xe, Kr) as carriers over a wide range of reduced electric fields.

Mesure de densités absolues de radicaux OH par LIF dans un jet plasma d'hélium à la pression atmosphérique pour applications médicales

Julien Cosimi*, Frédéric Marchal, Nofel Merbahi, Mohammed Yousfi

Université de Toulouse, UPS, INPT, LAPLACE UMR 5213 (Laboratoire Plasma et Conversion d'Energie), 118 route de Narbonne, F-31062 Toulouse Cedex 9, France

* cosimi@laplace.univ-tlse.fr

Mots-clés : Jet plasma, Fluorescence induite par laser (LIF), espèces radicalaires.

Résumé :

Les plasmas sont des milieux radiatifs, collisionnels et réactifs permettant la génération de différentes espèces chimiques telles que des espèces réactives de l'azote et de l'oxygène dans l'air ambiant (RONS) ou encore des espèces excitées. Les RONS en particulier sont connues pour leur haute réactivité, notamment lors de l'interaction avec des cellules. Les jets de plasma froid à la pression atmosphérique, fonctionnant à l'air ambiant et permettant la génération de RONS, sont donc des candidats idéaux dans le cadre de traitements de surfaces biologiques par plasma.

Dans un plasma certains paramètres peuvent être caractérisés par spectroscopie d'émission. Cependant, avec cette méthode, seules les espèces excitées radiatives peuvent être observées et il n'est pas possible de remonter à la densité absolue de certaines espèces réactives métastables ou à l'état fondamental. La fluorescence induite par laser (LIF) permet de mesurer des densités absolues d'espèce non radiatives en combinant la spectroscopie d'absorption et d'émission [1-2]. Dans ce travail, la LIF est utilisée pour mesurer les densités absolues de radicaux OH générés dans un jet plasma d'hélium à la pression atmosphérique en interaction avec différentes surfaces. Il est ainsi possible d'obtenir des cartographies 2D résolues temporellement de ces densités autour de la zone d'interaction entre le plasma et la surface traitée comme montré Figure 1. L'impact de différents paramètres sur la répartition et la densité absolue de OH, telles que la nature de la surface traitée, la tension appliquée ou encore le débit d'hélium injecté, sera présenté. Ces travaux ont pour but d'optimiser les traitements par jet de plasma et la production de RONS en fonction des paramètres et des conditions d'utilisation du dispositif.

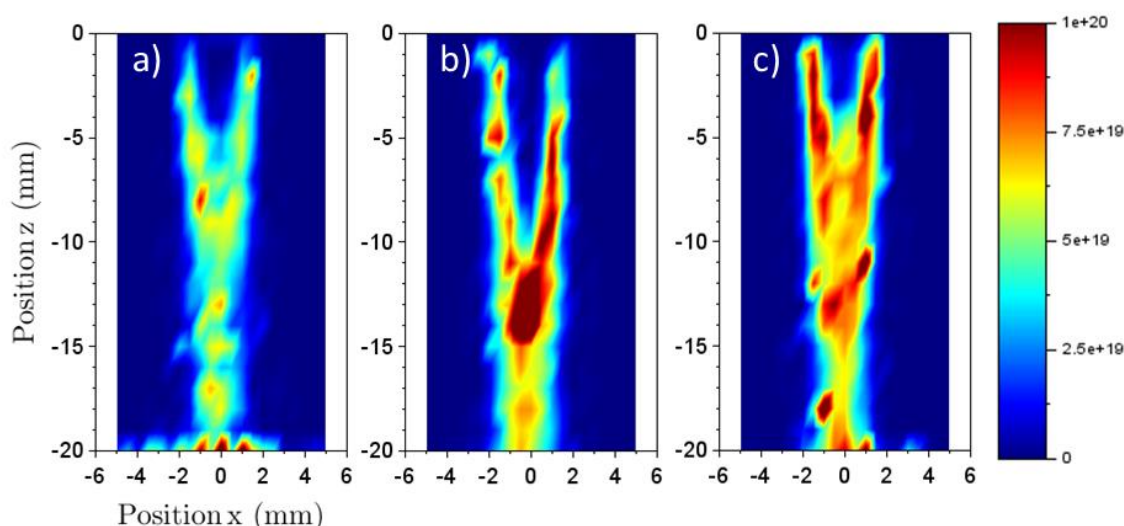


Figure 1 : Cartographie de la densité de OH fondamental (m^{-3}) dans le jet de plasma en interaction avec une surface diélectrique (a), une surface métallique (b) et une surface d'eau ultrapure (c) à 20 mm de la sortie du tube, 2 μs après le début de l'impulsion de tension.

Références :

- [1] : J Vorac ; P Dvorak ; V Prochazka ; J Ehlbeck et S Reuter, *Plasma Sources Sci. Technol.*, 2013, 22, 025016
- [2] : S Yonemori et R Ono, *J. Phys. D: Appl. Phys.*, 2014, 47, 125401

L'influence de la phase de croissance bactérienne sur l'efficacité de la décontamination des liquides par plasma

^aIbtissam Courti, ^aCristina Muja, ^aThomas Maho, ^aFlorent Saint, ^aPhilippe Guillot

^a Laboratoire Diagnostics des Plasmas Hors Equilibre (DPHE), Université de Toulouse, INU Champollion, Albi, France

ibtissam.courti@univ-jfc.fr

Mots-clés : Plasma multi-jet, phase de croissance bactérienne, *E. coli*, décontamination des liquides

Résumé :

Un jet de plasma génère plusieurs agents ayant un potentiel bactéricide, tels que, des espèces réactives d'oxygène et d'azote (RONS), des rayonnements ultraviolets (UV), des particules neutres, chargées et / ou excités. A l'heure actuelle les procédés plasmas sont de plus en plus étudiés pour la décontamination microbiologique des liquides. L'exposition d'un jet de plasma à la surface d'un liquide, entraîne de nombreuses réactions chimiques, qui se répartissent en trois phases : la phase plasma, l'interface plasma-liquide et la phase liquide ¹. La diffusion de ces espèces à travers la membrane cellulaire déclenche des processus biochimiques complexes entraînant des modifications physiques et chimiques chez les microorganismes comme : l'altération des protéines, des enzymes, des lipides et des acides nucléiques.

Outre que les conditions opérationnelles de la décharge plasma (e.g. configuration, tension, gaz, débits et volume traité, l'efficacité du processus de décontamination est influencée par la souche bactérienne, le type de la bactérie (Gram +/-), la densité cellulaire et l'état physiologique des bactéries. Plusieurs études ont souligné l'importance de la phase de croissance des bactéries dans les processus de décontamination utilisant des agents chimiques et physiques. Il est généralement considéré que les cellules en phase exponentielle sont plus sensibles aux processus de décontamination en comparaison avec ceux de la phase stationnaire. Cherchi et al ² ont montré la forte sensibilité d'*Escherichia coli* en phase exponentielle lors de l'exposition au chlore. De même, Alvarez et al ³ ont montré que les cellules de *Salmonella senftenberg* en phase exponentielle sont plus sensibles au traitement par champ électrique pulsé par rapport à celles en phase stationnaire.

Comprendre les mécanismes impliqués dans l'inactivation des bactéries par le plasma ainsi que les mécanismes subcellulaires mis en place pour la résistance aux effets du plasma sont essentiels afin d'optimiser le processus de décontamination. L'objectif de cette étude est d'examiner comment les phases de croissance bactérienne affectent l'efficacité de la décontamination microbiologique des liquides par plasma. Dans ce travail, un plasma multi-jet hélium- 0.2 % oxygène (6 kV, 20 kHz) est utilisé pour traiter une suspension bactérienne d'*Escherichia coli* K12, cultivée en phase mi-exponentielle de croissance et en phase stationnaire. Tout d'abord, la décharge plasma a été caractérisée par spectroscopie d'émission optique. Ensuite, les RONS formés dans le liquide traité ont été quantifiées par spectrophotométrie. Nous avons démontré que la phase de croissance dans laquelle se situent les bactéries influence l'efficacité du traitement. En effet, en phase exponentielle, les bactéries sont plus sensibles au traitement plasma. Les résultats de la viabilité bactérienne, après 30 min de traitement au plasma, montrent une réduction de -7 log pour les bactéries en phase exponentielle contre une réduction de -3 log pour celles en phase stationnaire. Les mesures de l'activité métabolique et de l'intégrité membranaire réalisées confirment la sensibilité accrue des bactéries en phase exponentielle, avec des différences significatives de $p < 0.001$ et $p < 0.01$, respectivement. Afin d'étudier les mécanismes impliqués dans le processus bactéricide et la défense cellulaire contre le stress oxydant dû au plasma, nous nous sommes intéressés, au taux des ROS intracellulaires et à la dégradation de l'ADN génomique. Les résultats montrent une différence significative des taux des ROS intracellulaire entre les deux phases de croissance $p < 0.01$. Cependant, l'électrophorèse de l'ADN ne relève pas de différences significatives. Ceci suggère que les mécanismes impliqués dans la dégradation du matériel génétique par plasma ne sont pas affectés par la phase de croissance.

Références :

1. Bruggeman PJ, Kushner MJ, Locke BR, et al. Plasma-liquid interactions: A review and roadmap. *Plasma Sources Sci Technol*. 2016;25(5). doi:10.1088/0963-0252/25/5/053002
2. Cherchi C, Gu AZ. Effect of bacterial growth stage on resistance to chlorine disinfection. *Water Sci Technol*. 2011;64(1):7-13. doi:10.2166/wst.2011.536
3. Álvarez I, Raso J, Palop A, Sala FJ. Influence of different factors on the inactivation of *Salmonella* senftenberg by pulsed electric fields. *Int J Food Microbiol*. 2000;55(1-3):143-146. doi:10.1016/S0168-1605(00)00173-2

Agar plate as an in vitro human model as applied to sterilization of non-healing bacterial wounds

Inna Orel^a, Fabienne Brulé-Morabito^b, Pablo Escot Bocanegra^a, Augusto Stancampiano^a, Sébastien Dozias^a, Jean-Michel Pouvesle^a, Eric Robert^{*a}

^a GREMI, UMR7344, CNRS/Université d'Orléans, 45067 Orléans CEDEX 2, France

^b Centre de Biophysique Moléculaire (CBM), CNRS UPR 4301, 45071 Orléans, France

* eric.robert@univ-orleans.fr

Mots-clés : chronic wound, in vitro model, cold plasma, kINPen, GREMI multi-jet

Résumé :

Chronic non-healing wounds affect millions of patients yearly. The course of the disease is associated with discomfort, pain and significant decrease in the patient's quality of life whilst conventional treatment is a long, laborious and costly process for the healthcare system. An open wound often becomes populated with resistant bacteria, rendering classic antibiotic therapy ineffective [1]. Thus, an alternative approach that breaks the vicious circle of establishing novel antimicrobial resistance is of high interest. The use of cold plasma in medicine is an interesting and widely researched opportunity that shows promising results both *in vitro* and *in vivo* models as well as if applied to patients [2][3]. Cold plasma jet technology uses electric discharge in noble gas to create a body temperature cocktail of excited and ionized particles that is flown on a target. As previously shown, cold plasma promotes wound sterilization and local administration of intercellular communication mediators, reactive oxygen and nitrogen species (RONS)[4], although the exact mechanism of plasma action is not yet fully understood. According to international safety protocols, the establishment of a medical device must be preceded by *in vitro* and *in vivo* tests that prove the efficacy of the device in question. In the case of sterilization studies, a typical model is an agar plate on which bacteria are seeded and then treated. However, plasma properties, such as the electric current and RONS density, strongly depend on the target and on its electrical load [5]. Thus, the aim of this work was to determine to what extent the target *in vitro* agar plate is representative of the human target. Two devices were used – a single jet kINPen® MED and a multi-jet GREMI, specifically designed to reduce bacterial load and accelerate chronic wound healing. Electrical current and emission spectrum acquired during plasma treatment of agar plates with different electrical loads were compared with those for human skin. Based on these data, a method of using agar plates is proposed in order to better match the properties of the plasma generated during human treatment.

I.O. is supported by 'PLASPECT' project funded through the 2nd French-German call for projects on antimicrobial resistance 2020 "One Health: AMR in environmental reservoirs and colonizing antibiotic-resistant bacteria.

Références :

- [1] : D. Campoccia, L. Montanaro, C. R. Arciola, *Biomaterials*, 2006, **27**, 2331-2339
- [2] : S. Bekeschus, A. Schmidt, K.-D. Weltmann, T. von Woedtke, *Clinical Plasma Medicine*, 2016, **4**, 19-28
- [3] : T. Maho, R. Binois, F. Brulé-Morabito, M. Demasure, C. Douat, S. Dozias, P. Escot Bocanegra, I. Goard, L. Hocqueloux, C. Le Helloco, I. Orel, J.-M. Pouvesle, T. Prazuck, A. Stancampiano, C. Tocaben, E. Robert, *Applied Sciences*, 2021, **11**, 9598
- [4] : I. Langner, A. Kramer, R. Matthes, F. Rebert, C. Kohler, I. Koban, N.-O. Hübner, T. Kohlmann, M. Patrzyk, *Plasma Processes and Polymers*, 2019, **16**, 1-9

[5] : A. Stancampiano, T.-H. Chung, S. Dozias, J.-M. Pouvesle, L. M. Mir, E. Robert, *IEEE Transactions on Radiation and Plasma Medical Sciences*, 2020, **4**, 335-342

Effets de traitements au plasma à barrière diélectrique dans l'air ambiant sur la germination et la surface de deux graines de Brassicacées : *Arabidopsis thaliana* et *Camelina sativa*

Maxime BAFOIL^{a*}, Christophe DUNAND^b, Nofel MERBAHI^a

^a LAPLACE, Université Toulouse III Paul Sabatier, UMR CNRS 5213, Toulouse, France

^b Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales, CNRS, UPS, Toulouse INP, Auzeville-Tolosane, France

* bafoil@laplace.univ-tlse.fr

Mots-clés : Plasma froid dans l'air ambiant ; Plasma-Agriculture ; Germination ; *Arabidopsis thaliana* ; Graines de Brassicaceae

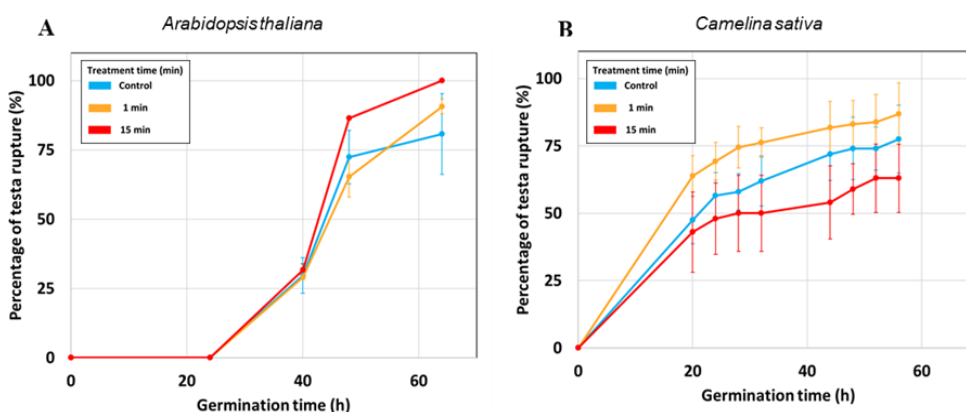
Résumé :

Nous avons étudié les effets du plasma à basse température sur deux graines de Brassicacées (*A. thaliana* et *C. sativa*) en utilisant une décharge à barrière diélectrique dans l'air ambiant [1]. Les comparaisons des traitements au plasma sur les graines ont montré une nette augmentation du taux et de la vitesse de germination. Le temps de traitement optimal donnant une meilleure germination est fixé à 15 min pour *A. thaliana* avec un pourcentage de rupture du testa de 114 % par rapport au témoin après 48 h de germination. Le temps de traitement optimal pour *C. sativa* est de 1 min avec une germination augmentée de 17% par rapport au témoin après 48 h de germination. De telles augmentations de germination sont associées à des changements morphologiques montrés par des observations au MEB de la surface des graines.

Pour une meilleure compréhension au niveau biochimique, les changements de composition lipidique sont mis en évidence avec l'analyse des surfaces des graines en utilisant la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Pour *C. sativa*, une diminution de tous les acides gras libres est notée après traitement au plasma. Pour les graines d'*A. thaliana*, une augmentation des acides gras insaturés (oléique et linoléique) est mise en avant ainsi qu'une diminution des saturées (palmitique et stéarique).

De telles modifications lipidiques, notamment une diminution des acides gras saturés hydrophobes, sont cohérentes avec les autres analyses (MEB, absorption d'eau et angle de contact). De plus, une augmentation en acide gras insaturé, considérés comme très réactifs, à la surface des graines d'*A. thaliana* neutralise probablement les effets RONS créés par plasma nécessitant ainsi un temps d'exposition au traitement plus long (15 min) pour atteindre une germination optimale.

Pour *C. sativa*, dont le temps optimal est de 1 min, la quantité d'acide linoléique insaturé devient plus faible après traitement ($1,2 \times 10^7$) par rapport aux graines d'*A. thaliana* traitées ($3,7 \times 10^7$).



Germination des graines d'*A. thaliana* et de *C. sativa* après deux temps d'exposition (1 et 15 min) au plasma d'air DBD en comparaison avec les graines sans traitement. Le graphique A montre la rupture du testa des graines d'*A. thaliana* et le graphique B montre la rupture du testa de *C. sativa*. La rupture du testa est évaluée en fonction

du temps de développement pour différents temps de traitement (0, 1 et 15 min). Les courbes bleues représentent les graines témoins, les courbes orange les graines traitées au plasma 1 min et les rouges les graines traitées 15 min.

Références :

[1] : M. Bafoil ; M. Yousfi ; C. Dunand ; N. Merbahi. "Effects of dielectric barrier ambient air plasma on two brassicaceae seeds: *Arabidopsis thaliana* and *Camelina sativa*". *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, **22**, 9923

Intérêt du couplage champs électriques pulsés et plasma froid pour la décontamination bactérienne

Robin Mentheour^{abc*}, Nofel Merbahi^a, Marie-Pierre Rols^b, Zdenko Machala^c

^a CNRS UMR 5213, Laboratoire des Plasmas et Conversion d'Énergie, Université Toulouse III- Paul Sabatier, LAPLACE, 118 Route de Narbonne-Bât, 3R3-31062 Toulouse, France

^b CNRS UMR 5089, Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale, IPBS, 205 Route de Narbonne, 31077 Toulouse, France

^c Division of Environmental Physics, Faculty of Mathematics, Physics and Informatics, Comenius University, Mlynska dolina, 84248 Bratislava, Slovakia

* robin.mentheour@gmail.com

Mots-clés : Plasma froid, Champs électriques pulsés, Effet Antibactérien, Espèces réactives à oxygène et azote, Électroporation.

Résumé :

Les contaminations bactériennes sont un problème économique et humain particulièrement dans les applications agroalimentaires ou médical. Par exemple en UE, on compte plus de 100 mille morts par an dus aux infections nosocomiales, un chiffre en augmentation en raison de l'apparition de souches résistantes aux antibiotiques. Il faut donc développer des méthodes de stérilisation bactérienne supplémentaires. Durant les dernières décennies, les champs électriques pulsés (PEF) et l'eau activée par plasmas froids (PAW) ont fait preuve de leur efficacité antibactérienne et peuvent être utilisés comme solution antibactérienne alternative [1,2,3]. Nous nous sommes penchés sur l'étude de traitement antibactérien de la souche *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984 couplé du PAW et une application de PEF.

Le PAW est généré par un plasma transitoire spark batch (TS) 1 kHz atmosphère fermée d'air par un générateur DC Technix SR20KV-600W qui délivre une tension de 20 kV à une électrode placée à une distance de 7 mm de la surface de 5 ml d'eau milliQ sous laquelle est plongée la masse. Le PEF est obtenu par application de 1000 impulsions électriques à une fréquence de 10 Hz de durée de 5 µs délivrées entre deux électrodes distancées de 1 mm. L'effet sur la viabilité des bactéries a été mesuré par mesure de CFU par incubation des bactéries traitées sur de l'agar. La microscopie à fluorescence par marqueur PI et SYTO-9 permet de mesurer la perméabilisation réversible et irréversible due aux traitements. Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (RONS), peroxyde d'hydrogène H₂O₂, nitrite NO₂⁻, du PAW ont été mesurées par spectromètre d'absorption dans UV-visible, ainsi que le pH.

Le couplage PEF+PAW permet d'augmenter de façon significative les effets antibactériens des deux traitements. De plus la compréhension des mécanismes mis en jeu dans les traitements PEF+PAW pourrait ouvrir d'autres possibilités d'utilisation de ces deux technologies dans le domaine médical : amélioration de la cicatrisation des plaies, simulation de la réponse immunitaire, traitement des cancers, et de l'industrie agroalimentaire : germination des graines, croissance des plantes, traitements des aliments. [3-4].

Ce travail a reçu le soutien de l'Agence universitaire de la Francophonie (AUF).

Références :

- [1] : Z. Machala, T. Barbora, K. Hensel, E. Spetlikova, L. Sikurova, et P. Lukes, *Plasma Processes and Polymers* **10** (7): 649–59.
- [2] : H. Jablonowski, et T. von Woedtke. 2015. *Clinical Plasma Medicine*, 2015, **3** (2): 42–52
- [3] : Q. Zhang, J. Zhuang, T. von Woedtke, JF. Kolb, J. Zhang, J. Fang, et KD. Weltmann, *Applied Physics Letters*, 2014, **105**, 10
- [4] : J. Chauvin, L. Gibot, E. Griseti, M. Golzio, MP. Rols, N. Merbahi, et P. Vicendo. 2019. *Scientific Reports*, 2019, **9**, 1-11

Contrôle et asservissement *in-situ* de la puissance d'un jet micro-plasma RF à pression atmosphérique – paramètre clé pour les applications biologiques et la réponse cellulaire

Sylvain ISÉNI^{a*}, Sander BEKESCHUS^b, Paul LÜTTJOHANN^c and Klaus-Dieter WELTMANN^b

^aGroupe de Recherches sur l'Énergétique des Milieux Ionisés (GREMI)-UMR7344 CNRS/Université d'Orléans, 45067 Orléans, France.

^bZIK plasmatis, Leibniz Institute for Plasma Science and Technology (INP), 17489 Greifswald, Germany.

^cneoplas GmbH, 17489 Greifswald, Germany.

*sylvain.iseni@univ-orleans.fr

Mots-clés : plasma froid ; micro-plasmas jet RF ; puissance électrique dissipée ; biologie ; viabilité cellulaire.

Résumé :

Les réacteurs micro-plasmas de type jet fonctionnant à la pression atmosphérique sont des sources plasmas hors-équilibres occupant une part de plus en plus large dans la communauté des plasmas froids [1]. Promis à de grands succès suite à une recherche très soutenue à travers le monde, les réacteurs micro-plasmas de type jet jouissent d'un large vivier d'applications telles que le traitement et l'activation de surface, le contrôle d'écoulement, l'activation de liquides... Ces dispositifs sont également impliqués dans des défis sociétaux actuels notamment pour des solutions innovantes dans le domaine biomédical comme la décontamination ou l'activation de mécanismes biologiques ou des traitements alternatifs prometteurs en oncologie.

S'il existe une multitude d'instruments mettant en œuvre des jets plasmas, the kINPen [2] est vraisemblablement une source micro-plasma de premier plan dans le domaine des plasmas appliqués à la biologie, de la science vétérinaire et de la médecine [3]. Bénéficiant d'une littérature très étendue sur ses capacités à produire des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (RONS) à température ambiante [2], le kINPen est une source polyvalente et disponible commercialement. Il n'en reste pas moins que le contrôle de la production de RONS est un facteur clé dans les procédés impliquant des micro-plasmas. Ce dernier est directement relié aux processus élémentaires de la décharge qui dépendent eux-mêmes de paramètres d'entrées comme le débit et le mélange de gaz, la géométrie, les propriétés électriques...

Cette étude porte sur le contrôle et l'asservissement de la puissance transmise à la décharge en fonction notamment de différents mélange gazeux contenant de l'oxygène, de l'azote et de l'eau. Si les conséquences sur la production de RONS ne sera pas ici étudiée directement dans la phase gaz mais dans le milieu de culture, la viabilité des cellules traitées sera analysée. Le kINPen est une source micro-plasma RF fonctionnant avec de l'argon et des précurseurs comme O₂, N₂ et H₂O, tous favorables à la production de RONS [2]. La mesure précise et fiable de la puissance dissipée dans le plasma est inspirée de la méthode proposée par Hofmann et al. [4]. Point important, dans notre étude, seule la tête du kINPen est utilisée ; le circuit d'alimentation électrique est quant à lui remplacé par un dispositif externe permettant d'ajuster chaque paramètre électrique individuellement. Une fois la méthode de mesure validée, les cellules mononucléées issues de sang humain seront traitées avec différentes conditions. L'analyse de la viabilité cellulaire est effectuée par une méthode de cytométrie en flux et les ROS produits dans le milieu de culture seront mesurées avec le kit « amplex ultra red ».

Les principaux résultats de cette étude qui seront présentés sont :

- Une méthode simple, fiable et pratique pour mesurer en temps réel la puissance dissipée dans le plasma en fonction du courant,
- La possibilité de fixer la puissance RF dissipée selon un point de fonctionnement de courant spécifique et ce quel que soit le mélange entre 0.0 % et 1.0 % de O₂ and N₂,
- La première expérience d'un système kINPen fonctionnant avec N₂ pur,
- L'impact direct sur la cytotoxicité d'un traitement avec plasma de Ar et N₂ pur à puissance constante.

Références :

- [1] I. Adamovich, S.D. Baalrud, A. Bogaerts, P.J. Bruggeman, et al, J. Phys. Appl. Phys. 50, 323001 (2017).
- [2] S. Reuter, T. von Woedtke, and K.-D. Weltmann, J. Phys. Appl. Phys. 51, 233001 (2018).
- [3] S. Bekeschus, A. Schmidt, K.-D. Weltmann, and T. von Woedtke, Clin. Plasma Med. 4, 19 (2016).
- [4] S. Hofmann, a F.H. van Gessel, T. Verreycken, and P. Bruggeman, Plasma Sources Sci. Technol. 20, 065010 (2011).
- [5] S. Bekeschus, S. Iseni, P. Lüttjohann, and K.-D. Weltmann, IEEE Trans. Plasma Sci. 1 (2021).

ETUDE DES PROPRIETES DU PBS ACTIVE PAR PLASMA FROID POUR DES APPLICATIONS COSMETIQUES

Zeineb MAAROUFI^a, Augusto STANCAMPIANO^b, Eric ROBERT^b, Catherine GRILLON^a

^a CBM, UPR 4301 CNRS Orléans, France

^b GREMI, UMR 7344 CNRS-Université d'Orléans, France

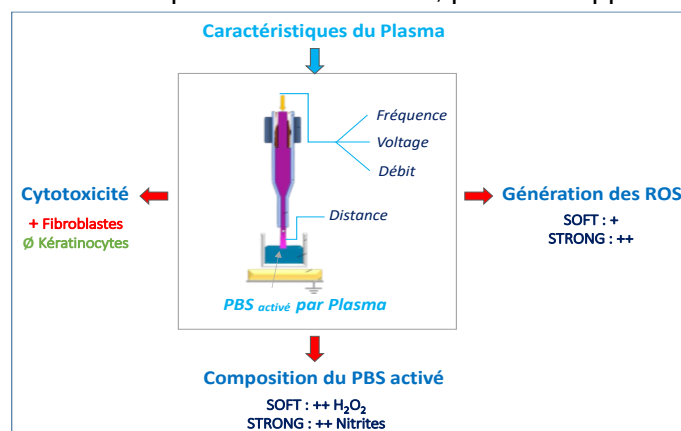
* zeineb.maaroufi@cnrs-orleans.fr

Mots-clés : Kératinocytes, Nitrites, Peroxyde d'hydrogène, Plasma froid, ROS.

Résumé : De nos jours, dans une société où l'aspect physique prend une place très importante, la lutte contre le vieillissement cutané est en demande grandissante. De ce fait, outre la recherche de nouvelles formulations bioactives, le développement de technologies innovantes représente un défi à relever pour répondre à ce besoin. Dans ce contexte, les plasmas froids ont été décrits pour leurs potentiels dans le domaine dermatologique pour la désinfection des plaies, la cicatrisation etc., et ils pourraient représenter une technique de choix pour des applications dermo-cosmétiques comme soin anti-âge [1]. En effet, selon le traitement appliqué, le plasma froid peut induire la stimulation des cellules, comme il peut, à fortes doses, les conduire en apoptose [2]. Dans la littérature, rares sont les études qui se sont intéressées aux effets bénéfiques du plasma froid sur les cellules. Dans notre laboratoire, des travaux ont déjà été menés sur l'effet du traitement direct par plasma jet à hélium (Plasma Gun) sur la structure de la peau et sa composante cellulaire. Dans ce projet, nous avons choisi d'étudier l'effet d'un traitement indirect par le plasma froid, et ce pour améliorer la pénétration des espèces réactives [2] et/ou d'actifs dans la peau.

Pour ce faire, nous avons choisi de traiter du tampon (PBS) avec deux conditions différentes de plasma, « soft » et « strong », en jouant sur la fréquence de la pulsation d'excitation. La caractérisation du PBS a été réalisée par dosage du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et des nitrites (NO_2^-), le jour du traitement (J0) et après 10 jours (J10). Les résultats montrent qu'à J0, le traitement « soft » favorise la génération des H_2O_2 (~120 μM), alors que pour le traitement « strong », NO_2^- sont préférentiellement générés (~40 μM). Par ailleurs, H_2O_2 ainsi que NO_2^- sont plus stables dans le PBS « strong » après 10 jours. La toxicité à 72 h des deux PBS traités a été réalisée sur des kératinocytes primaires (NHEK), la lignée HaCaT et des fibroblastes (HDF). Aucune toxicité n'a été remarquée pour les kératinocytes. Une diminution de la viabilité des fibroblastes a été montrée notamment pour le traitement « strong ». Après traitement extemporané par PBS activé, le dosage des espèces réactives de l'oxygène intracellulaires (ROS) a été réalisé pour les kératinocytes primaires (NHEK). Les résultats montrent que la production des ROS est plus importante lorsque les cellules sont traitées au PBS « strong ». Ceci est potentiellement dû à la présence des nitrites qui ont déjà été décrits comme étant « modulateur de ROS » [3].

Ces résultats mettent en évidence l'importance de l'optimisation des paramètres physiques du plasma froid permettant de moduler la production des ROS, pour une application cosmétique future.



Effet des caractéristiques du plasma froid à hélium sur les propriétés biologiques du PBS traité

Références :

- [1] : G. Busco et al., *Free Radical Biology and Medicine*, 2020, **161**, 290-304.
- [2] : M. Horiba et al., *Nature scientific reports*, 2017, **7**, 42208-42217.
- [3] : N.J.H.Raat et al., *Advanced drug delivery reviews*, 2009, **61(4)**, 339-350.

Traitement par jet de plasma froid du cholangiocarcinome (*in vitro*): Sélectivité et effets sur le microenvironnement tumoral

Henri DECAUCHY^{a#}, Allan PAVY^{b#}, Lynda AOUDJEHANE^b, Jonathan POL^c, Thierry DUFOUR^a, Laura FOUASSIER^b

^a Laboratoire de physique des plasmas (LPP), 4 place Jussieu 75252 PARIS

^b Centre de recherche Saint-Antoine (CRSA), 27 rue de Chaligny 75012 PARIS

^c Centre de recherche des Cordeliers, 12 rue de l'Ecole de Médecine, 75006 Paris

co-auteurs

* henri.decauchy@sorbonne-universite.fr

Mots-clés : plasma, jet, médecine, oncologie, cholangiocarcinome

Résumé : Un jet de plasma a été utilisé afin de traiter *in vitro* le microenvironnement tumoral du cholangiocarcinome (CCA) et de comprendre ses différents modes d'action biologiques. Le CCA est un cancer des voies biliaires possédant un pronostic à 5 ans très mauvais (< 20 %) et nécessitant de nouvelles options thérapeutiques [1]. Des cellules tumorales de CCA (HuCCT1 et EGI-1) ainsi que des cellules du microenvironnement tumoral comprenant des cellules endothéliales (HUVEC) et des myofibroblastes hépatiques (hTERT-HSC et LX2) ont été exposées directement au plasma pour des durées allant de 30 secondes à 5 minutes. Parallèlement des cellules épithéliales non tumorales saines (hépatocytes) ont été traitées.

Ces expériences *in vitro* ont mis en évidence une sélectivité du traitement plasma déjà démontrée dans [2]. Les hépatocytes sains sont moins affectés par l'exposition au plasma que les cellules tumorales et du microenvironnement dont la viabilité diminue sous l'effet du plasma. Dans les cellules tumorales, l'exposition au plasma est associée aux marqueurs de l'autophagie et du stress du réticulum, et à la libération d'ATP suggérant l'induction d'une mort cellulaire immunogène par le plasma. De plus, les cellules du microenvironnement perdent leurs caractéristiques phénotypiques après exposition au plasma comme les cellules endothéliales qui subissent une altération de leur profil angiogénique [Figure] et les cellules myofibroblastiques qui voient leur propriété migratoire diminuée.

En conclusion, l'exposition d'une tumeur au plasma pourrait affecter l'ensemble des populations cellulaires, cancéreuses et du microenvironnement.

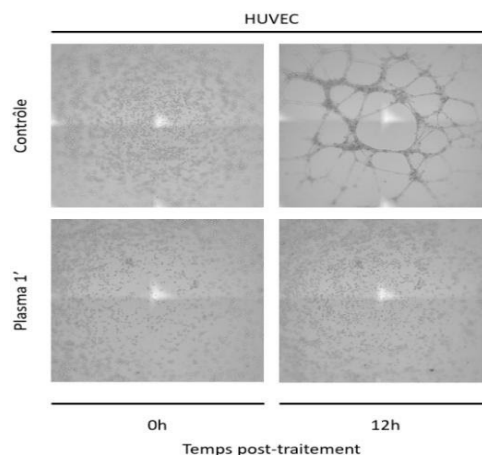


Figure : Inhibition du profil angiogénique des cellules endothéliales HUVEC après exposition au plasma (1 min)

Références :

[1] : Banales, J.M., Marin, J.J.G., Lamarca, A., Rodrigues, P.M., Khan, S.A., Roberts, L.R., Cardinale, V., Carpino, G., Andersen, J.B., Braconi, C., et al. (2020). Cholangiocarcinoma 2020: the next horizon in mechanisms and management. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 17, 557–588.

[2] : Vaquero, J., Judée, F., Vallette, M., Decauchy, H., Arbelaiz, A., Aoudjehane, L., Scatton, O., Gonzalez-Sanchez, E., Merabtene, F., Augustin, J., et al. (2020). Cold-Atmospheric Plasma Induces Tumor Cell Death in Preclinical In Vivo and In Vitro Models of Human Cholangiocarcinoma. *Cancers* 12, 1280.

Champs électriques & applications en biologie

Modélisation de croissance de sphéroïdes soumis à des champs impulsionnels de haute intensité.

Hadrien Bruhier^a, Jelena Kolosnjaj^b, Muriel Golzio^b, Marie-Pierre Rols^b, Clair Pognard^a
Annabelle Collin^{*a},

^a Univ. Bordeaux, CNRS, INRIA, Bordeaux INP, IMB, UMR 5251, F-33400 Talence, France

^b Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale, Université de Toulouse, CNRS, UPS, 31077 Toulouse, France

* annabelle.collin@inria.fr

Mots-clés : Electroporation, Croissance tumorale, Sphéroïdes

Résumé :

L'électroporation - utilisé pour le traitement du cancer - est une technique microbiologique qui consiste à appliquer un champ électrique sur les membranes cellulaires qui ainsi déstabilisées, augmentent leur perméabilité membranaire. Dans ce projet, nous avons cherché à améliorer la compréhension de ce phénomène en le modélisant à l'aide d'équations mathématiques.

Tout le projet s'appuie sur les données obtenues par l'équipe de Biophysique Cellulaire de l'IPBS qui a développé un protocole expérimental permettant de suivre la croissance de sphéroïdes HCT-116 soumis à des champs électriques pulsés de différentes intensités (0, 500, 1000 et 2000 V/cm). Une fois le sphéroïde formé, des mesures sont d'abord effectuées toutes les 6h pendant 48h. Ces mesures permettent d'obtenir les paramètres de croissance sans champ électrique. Puis, le sphéroïde est soumis aux champs électriques pulsés avec pour objectif d'évaluer l'impact du champ électrique sur la mort cellulaire. Au bout de 48h après le traitement, une mesure volumique est effectuée toutes les 24h pour voir l'effet à long terme du champ sur le sphéroïde.

Dans un premier temps, nous avons étudié l'évolution volumique des sphéroïdes à l'aide du modèle de Gompertz (en croissance libre $EF = 0$ V/cm et après électroporation) connu pour bien modéliser la croissance tumorale [1,2]. Des premiers résultats encourageants ont été obtenus. Cependant, des incohérences ont mis en évidence la limitation de cette approche et nous avons alors - dans un deuxième temps - proposé une modélisation basée sur un système d'équations aux dérivées partielles. S'inspirant d'un modèle de la croissance de sphéroïdes HCT116 soumis à différentes conditions d'apport en oxygène présenté dans [3], nous avons construit un système d'équations décrivant l'évolution des cellules prolifératives et des cellules quiescentes apparaissant au centre du sphéroïde à cause du manque d'oxygène. Cette dernière stratégie nous a permis de modéliser le phénomène d'électroporation et de comprendre comment le choc électrique impacte les cellules en fonction de son intensité. Les résultats très intéressants obtenus, voir la figure 1, seront présentés.

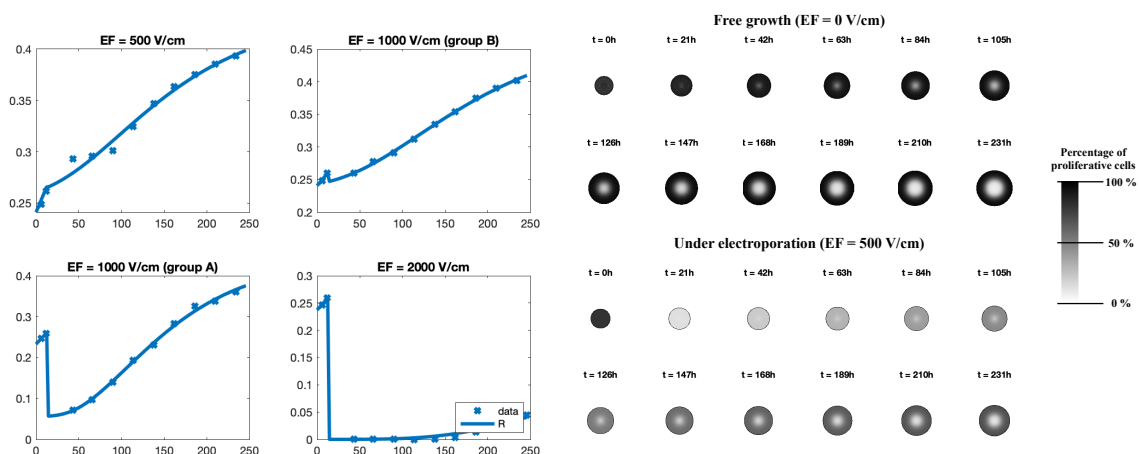


Figure 1 - Comparaison du modèle mathématique avec les données expérimentales. Gauche: Évolution volumique. Droite: Évolution spatiale (coupe 2D) dans le cas de croissance libre (haut) et dans le cas $EF = 500$ V/cm.

Références :

- [1] Spatial mechanistic modeling for prediction of the growth of asymptomatic meningiomas. Computer Methods and Programs in Biomedicine 199 (2021): 105829. Collin, Annabelle, et al.
- [2] Population modeling of tumor growth curves and the reduced Gompertz model improve prediction of the age of experimental tumors. PLoS computational biology 16.2 (2020): e1007178. Vaghi, Cristina, et al.
- [3] Mathematical modeling of the proliferation gradient in multicellular tumor spheroids. Journal of Theoretical Biology. 2018. Thomas Michel et al.

Microsystème fluide pour la culture, l'étude et l'électroporation *in vitro* de structures cellulaires 3D type sphéroïdes

Pauline Bregigeton^{a*}, Théo Le Berre^a, Julien Marchalot^a, Laure Franqueville^a, Christian Vollaïre^a, Charlotte Rivière^b et Marie Frénéa-Robin^a

^a Univ Lyon, Ecole Centrale de Lyon, INSA Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS, Ampère, UMR5005, 69130 Ecully, France

^b Université de Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS, Institut Lumière Matière, F-69622, Villeurbanne, France

* pauline.bregigeton@ec-lyon.fr

Mots-clés : électroporation sinusoïdale, sphéroïde, électro-chimiothérapie, hydrogel micro-structuré, système microfluidique.

Résumé :

L'électroporation réversible (EPN) est une méthode permettant d'introduire des molécules dans des cellules en perméabilisant leurs membranes grâce à l'application de champs électriques pulsés. Cette technique fait l'objet de nombreuses recherches, notamment dans le domaine de la cancérologie avec l'électro-chimiothérapie (ECT), puisqu'elle permet d'augmenter l'efficacité des traitements anti-cancéreux sur les tumeurs¹. Le développement de dispositifs d'étude *in vitro* de ces traitements basés sur l'EPN est donc nécessaire afin de mieux comprendre l'effet des champs électriques sur les tissus et de pouvoir exploiter tout leur potentiel. Les sphéroïdes, agrégats cellulaires 3D, ont été identifiés comme des modèles pertinents pour réaliser ces études, car ils permettent de mieux reproduire un micro-tissu, que les cultures cellulaires 2D classiquement utilisées *in vitro*², avec notamment la prise en compte des interactions entre cellules.

Dans la littérature, le protocole d'électroporation de sphéroïdes est fastidieux et comporte des étapes de manipulation qui peuvent les endommager. Il peut aussi conduire à une répartition aléatoire des sphéroïdes pouvant induire des différences de champ perçu par ces derniers et entraîner une non reproductibilité des conditions d'EPN.

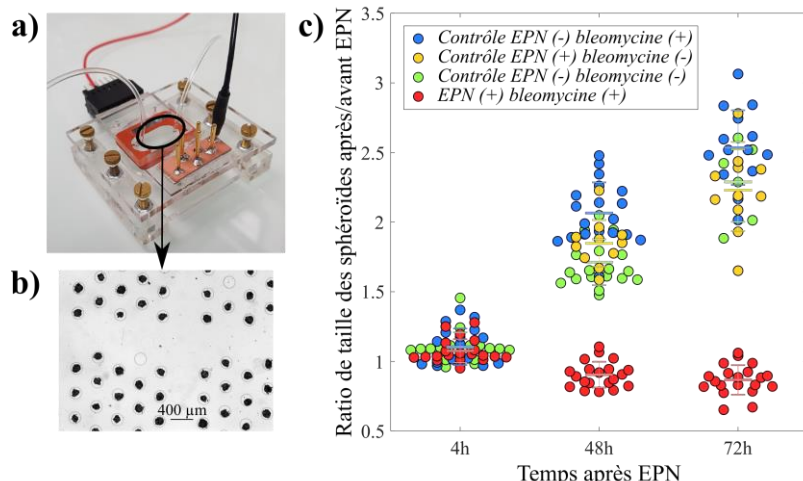


Figure 1 : (a) Photographie du microsystème développé. (b) Image microscopique (X2.5) de sphéroïdes de cellules HT29 après 4 jours de culture dans l'hydrogel micro-structuré. (c) Croissance des sphéroïdes après EPN pour différentes conditions. Point = valeur pour un sphéroïde. Ligne = moyenne et écart-type standard.

Nous avons conçu un microsystème (Figure 1a) permettant la culture, le suivi et l'électroporation de centaines de sphéroïdes de caractéristiques similaires (taille, forme, espacement) en parallèle (Figure 1b), avec un design assurant les mêmes conditions de champ électrique pour tous les sphéroïdes³. Le microsystème a été caractérisé électriquement et les paramètres d'EPN ont été calibrés par des méthodes de fluorescence. Nous avons démontré son utilisation en tant que plateforme de test de traitement d'ECT sur l'exemple de l'effet de la bléomycine sur des sphéroïdes de cellules de cancer colorectal (HT29). La figure 1c montre la réversibilité des conditions d'EPN et l'efficacité de cet

anti-cancéreux uniquement sur les sphéroïdes traités par EPN, avec une inhibition de leur croissance. Le microsystème offre également la possibilité de réaliser des mesures de bio-impédance permettant d'étudier en temps réel l'EPN des sphéroïdes et de suivre leur croissance.

Références :

- [1] : I. Edhemovic et al, *Technol. Cancer Res. Treat.*, 2011, **10**, 475–485.
- [2] : L. Gibot, L. Wasungu, J. Teissié and M.-P. Rols, *J. Controlled Release*, 2013, **167**, 138–147.
- [3] : Rivière, C., Prunet, A., Fuoco, L. & Delanoë-Ayari, H. *Plaque de micropuits en hydrogel biocompatible*. FR 1870349, 2020.

Oxydation lipidique et excitabilité cellulaire

Aurianne Rainot^a, Mounir Tarek^{*a}

^a Université de Lorraine, CNRS, LPCT, F-54000 Nancy, France

* adresse Email : mounir.tarek@univ-lorraine.fr (M. Tarek).

Mots-clés : Oxydation lipidique, Capacitance, Canaux ioniques, Simulations de dynamique moléculaire

Résumé :

Plusieurs études expérimentales ont montré que les champs électriques pulsés de l'ordre de la nanoseconde (nsPEFs) permettent de stimuler les cellules neuronales [1], [2]. La stimulation neuronale se traduit par une dépolarisation/repolarisation de la membrane de ces cellules excitables, appelé potentiel d'action, qui est dû à l'activation de canaux ioniques voltage-dépendants (Civd). Cette activation permet, par ouverture du canal interne, le passage d'ions de part et d'autre de la membrane. Ce phénomène est induit par un changement de potentiel transmembranaire et prend place dans des échelles de temps de l'ordre de la dizaine à la centaine de microsecondes. Le mécanisme d'activation par des nsPEFs, c'est à dire des impulsions de l'ordre de la nanoseconde, reste à ce jour difficile à imaginer à cause de la différence notoire des échelles de temps mis en jeu. Ainsi une activation directe des Civd par des impulsions nsPEFs semble peu probable.

La membrane cellulaire, isolant électrique, se comporte comme un condensateur. Le potentiel transmembranaire se trouve ainsi, fonction de la répartition de charges des deux côtés de la membrane et de sa capacitance. Cette dernière est une propriété intrinsèque à la membrane qui dépend en particulier de sa polarité, c'est-à-dire de sa composition lipidique. Or, les nsPEFs favorisent la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) [3], [4] et la présence de dommages oxydatifs de la membrane [5]. Nous sommes donc partis de l'hypothèse que les nsPEFs permettent l'oxydation des lipides insaturés via production de ROS et la formation des patchs de lipides oxydés par propagation de lésions radicalaires. Nous avons mis à profit des techniques de simulations de dynamique moléculaire qui nous ont permis de montrer que différents degrés d'oxydation de la membrane induisent un changement notable de sa capacitance intrinsèque, et que les changements de potentiel transmembranaire que ces modifications induisent était suffisamment important pour activer les Civd.

Références :

- [1] A. G. Pakhomov, I. Semenov, M. Casciola, and S. Xiao, *Biochim. Biophys. Acta - Biomembr.*, 2017, **vol. 1859**, pp. 1273–1281.
- [2] M. Casciola, S. Xiao, and A. G. Pakhomov, *Sci. Rep.*, 2017, **7**, pp. 1–8.
- [3] O. N. Pakhomova et al., *Arch. Biochem. Biophys.*, 2012, **vol. 527**, pp. 55–64.
- [4] P. Ruzgys, V. Novickij, J. Novickij, and S. Šatkauskas, *Bioelectrochemistry*, 2019, **vol. 127**, pp. 87–93.
- [5] O. Michel, A. G. Pakhomov, M. Casciola, J. Saczko, J. Kulbacka, and O. N. Pakhomova, *Bioelectrochemistry*, 2020, **vol. 132**.

Determination of the main conditions of subnanosecond PEFs to produce electroporabilization of biological cells

Njomza Ibrahim¹, Leslie Vallet², Franck Andre², Laurent Ariztia¹, Marc Rivaletto¹, Antoine Silvestre De Ferron¹, Bucur M. Novac^{1,3}, Lluís M. Mir² and Laurent Pécastaing¹

¹*Université de Pau et des Pays de l'Adour/ E2S UPPA, Laboratoire des Sciences de l'Ingénieur Appliquées à la Mécanique et au Génie Électrique – Fédération IPRA, EA4581, 64000, Pau, France*

²*Université Paris-Saclay, Institut Gustave Roussy, CNRS, Metabolic and Systemic Aspects of Onco-genesis (METSYS) 94805 Villejuif, France*

³*Wolfson School of Mechanical, Electrical and Manufacturing Engineering, Loughborough University, Loughborough LE11 3TU, U.K.*

There are modern developments in the pulsed power technology for applications in the food industry, pollution control, defense and bio-medical domain, that all require systems generating subnanosecond voltage impulses. For an important application in the biomedical domain, we are currently developing a pulsed power generator capable to produce impulses with a rise time in the range of picoseconds and amplitude approaching the value of 500 kV, at a pulse repetition frequency of 50 Hz. In order to understand the role of picosecond pulsed electric fields in the permeabilization of biological cells, we performed numerous experiments with an existing generator, which delivers step pulses of 20 kV amplitude, with a rise time of 200 ps and having a total duration of 500 ps. The generator was attached to an arrangement composed of two parallel plates, between which was mounted a standard electroporation cuvette. A detailed numerical analysis using CST software was performed for the complete system, that allowed a precise and accurate electric field monitoring inside the water sample containing the bacteria. The very encouraging biological results obtained show that picosecond electric field pulses of 60 kV/cm amplitude are capable to permeabilize up to 80 % of the cells.

* Agence Nationale de la Recherche (ANR), under Contract
No. ANR-18-ASTR-0019

Oscillations Calciques dans les Cellules Souches Mésenchymateuses en Différenciation : Analyse et Contrôle par des Champs Electriques Pulsés

Leslie A. Vallet^a, Franck M. André^a et Lluís M. Mir^a

^a Université Paris-Saclay, Institut Gustave Roussy, CNRS, Metabolic and systemic aspects of oncogenesis (METSY), 94805, Villejuif, France

* leslie.vallet@gustaveroussy.fr ; franck.andre@cnrs.fr ; luis.mir@cnrs.fr

Mots-clés : Champs Electriques Pulsés, Electroporation, Cellules Souches Mésenchymateuses, Calcium, Oscillations Calciques.

Résumé :

Les Cellules Souches Mésenchymateuses ou Cellules Stromales Multipotentes (CSMs) sont des cellules souches adultes capables de se différencier en différents types cellulaires tels que les ostéocytes, les adipocytes ou encore les chondrocytes [1]. Plus récemment, plusieurs études ont également montré que leurs habilités de différenciation s'étendent également aux cellules musculaires [2] ou encore aux cellules « neuron-like » [3]. Pour ces raisons, ainsi que pour leurs intéressantes activités sécrétoires dans divers contextes physiologiques [4], ces cellules sont devenues de prometteuses candidates dans le contexte de thérapies régénératives. D'un autre côté, le Calcium est un messager secondaire ubiquitaire dans les cellules, connu pour transmettre d'importantes informations sous forme d'oscillations [5]. Il a été montré que les CSMs présentent naturellement des oscillations calciques cytoplasmiques spontanées [6], la fréquence de ces oscillations calciques se trouvant modifiée lors des événements de différenciation cellulaire. Par ailleurs, il est également connu que les oscillations calciques cytoplasmiques peuvent varier (en fréquence et en amplitude) en réponse à divers stimuli [5].

Notre intérêt se focalise sur les changements induits par les facteurs influençant la différenciation ou la prolifération cellulaire. En aval de ces signaux, les oscillations calciques peuvent encoder des informations importantes dans leur fréquence/ ou leur amplitude, qui peuvent être par la suite décodées par des protéines dont l'activité est sensible au Calcium. Notre but est donc d'évaluer si, en prenant le contrôle des oscillations calciques cytoplasmiques, il est possible d'influencer le destin cellulaire vers les phénomènes de différenciation ou de prolifération. A ce but, un outil électrique a été développé dans notre laboratoire. Cet outil implique l'utilisation de champs électriques pulsés ultra courts à haut voltage capables d'induire une faible électropéabilisation au Calcium, résultant, via la réponse « Calcium-Induced Calcium-Release », en une oscillation calcique similaire aux oscillations naturelles [7]. Ce travail présente à la fois des intérêts fondamentaux et appliqués. D'une part, évaluer l'importance des oscillations calciques dans les phénomènes de différenciation et de prolifération cellulaires, et d'autre part, développer un dispositif adapté au contrôle des oscillations calciques sur de longues durées.

Références :

- [1] M. Dominici; K. Le Blanc; I. Mueller; I. Slaper-Cortenbach; F. C. Marini; D.S. Krause; R. J. Deans; A. Keating; D. J. Prockop; and E. M. Horwitz, "Minimum criteria for defining multipotent stem cells-The ISCT position statement," *Cytotherapy*, **8**, 4, 2006, pp. 315-317.
- [2] E. J. Gang; J. A. Jeong; S.H. Hong; S. H. Hwang; S. W. Kim; I. H. Yang; and H. Kim, "Skeletal myogenic differentiation of mesenchymal stem cells isolated from human umbilical cord blood," *Stem cells*, **22**, 4, July 2004 pp. 617-624.
- [3] A. J. Cardozo; D. E. Gómez; and P. F. Argibay, "Neurogenic differentiation of human adipose-derived stem cells: relevance of different signaling molecules, transcription factors, and key marker genes," *Gene*, **511**, 2, September 2012, pp. 427-436.
- [4] P. Kumar; S. Kandoi; R. Misra; S. Vijayalakshmi; K. Rajagopal; and R.S. Verma, "The mesenchymal stem cell secretome: a new paradigm towards cell-free therapeutic mode in regenerative medicine," *Cytokine & growth factor reviews*, **46**, april 2019, pp. 1-9.
- [5] E. Smedler; and P. Uhlén, "Frequency decoding of calcium oscillations," *Biochimica Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, **1840**, 3, March 2014, pp. 964-969.

- [6] S. Kawano; S. Shoji; S. Ichinose; K. Yamagata; M. Tagami; and M. Hiraoka, "Characterization of Ca²⁺ signaling pathways in human mesenchymal stem cells," *Cell calcium*, **32**, 4, October 2002, pp. 165-174.
- [7] H. Hanna; F. M. Andre; and L. M. Mir, "Electrical control of calcium oscillations in mesenchymal stem cells using microsecond pulsed electric fields," *Stem cell research & therapy*, **8**, April 2017, art. 91.

EVALUATION DES CHAMPS ELECTRIQUES PULSES COMBINES AUX NANOPARTICULES INORGANIQUES : EFFETS SUR LA STRUCTURE DU COLLAGENE ET LA VIABILITE CELLULAIRE

Vincent Gruszka ^a, Marie-Pierre Rols ^a, [Jelena Kolosnjaj-Tabi](mailto:jelena.kolosnjaj-tabi@ipbs.fr) ^{*a}

^a Institut de Pharmacologie et Biologie Structurale (IPBS), 205 route de Narbonne, 31 077 Toulouse

* jelena.kolosnjaj-tabi@ipbs.fr

Mots-clés : champ électrique pulsé, nanoparticules d'or, sphéroïde multicellulaire, cancer, hyperthermie

Résumé :

La tumeur est constituée de cellules cancéreuses et de nombreuses composantes qui forment la matrice extracellulaire, contenant notamment le collagène qui forme un réseau dense et fibreux dans lequel évoluent les cellules. Ce réseau empêche souvent la pénétration des agents anticancéreux au sein de la masse tumorale. Les traitements pharmacologiques agissant sur la matrice extracellulaire, qui visent à sensibiliser la tumeur, peuvent avoir des effets systémiques ou ne sont pas très efficaces. Par conséquent, des nouvelles approches, plus efficaces et locales, doivent être développées.

Dans le but de cibler les cellules et la matrice de collagène, nous nous sommes intéressés à une approche combinant des impulsions électriques aux nanoparticules d'or. Ces nanoparticules conductrices, de structure différente (sphères, nano-bâtonnets), peuvent d'une part localement amplifier le champ électrique [1], et d'autre part peuvent induire une hyperthermie locale, médiée via l'effet Joule.

Dans notre étude, nous avons évalué trois types d'impulsions électriques, celles qui sont typiquement utilisées pour l'électrochimiothérapie, pour l'électroporation irréversible et pour l'électrotransfert des gènes. Les effets de ces différentes impulsions combinées avec des nanoparticules sphériques ou longiformes ont été comparés : 1) dans différents milieux aqueux, où nous avons évalué l'échauffement des suspensions, 2) dans un gel de collagène de type IV et 3) dans des sphéroïdes multicellulaires composés de cellules du cancer du foie (cellules HEPA 1-6).

Comparée aux impulsions électriques seules, la combinaison de ces impulsions aux nanoparticules déstructure le gel de collagène et a un effet plus néfaste sur la viabilité des cellules.

Références :

[1] : J. Lekner, *Physics in Medicine and Biology*, 2014, **59(20)**, 6031.

Modélisation d'émetteurs à effet de champ pour la génération de rayons X

B. Seznec^{a,*}, D. Mofakhami^{a,b,c}, F. Zhar^a, Ph. Teste^{b,c}, Ph. Dessante^{b,c}, R. Landfried^{b,c},
T. Minea^a

^a Laboratoire de Physique des Gaz et des Plasmas, Université Paris-Saclay, CNRS, 91405 Orsay, France.

^b Laboratoire de Génie Electrique et Electronique de Paris, Université Paris-Saclay, CentraleSupélec, CNRS, 91192 Gif-sur-Yvette, France

^c Laboratoire de Génie Electrique et Electronique de Paris, Sorbonne Université, CNRS, 75252 Paris, France.

* benjamin.seznec@universite-paris-saclay.fr

Mots-clés : rayons X, émission de champ, modélisation

Résumé :

Les dispositifs de génération de rayons X sont largement utilisés pour nombreuses d'applications, de l'imagerie médicale à l'électronique embarquée. Par exemple, dans le domaine médical, depuis une dizaine d'années nous observons la généralisation de la tomographie 3D à rayons X, c'est-à-dire la reconstruction 3D de la structure externe et également interne des sujets d'étude, à partir de radiographies 2D. Ces systèmes d'imagerie sont des appareils volumineux et complexes qui en font des technologies coûteuses.

Les sources à électrons à l'origine des rayons X sont majoritairement thermoïoniques. Ces sources d'électrons sont certes stables et peuvent délivrer de forts courants, mais leur fonctionnement à haute température limite leur temps de réponse et ils sont difficiles à miniaturiser et à commuter.

Pour dépasser ces limitations, l'utilisation de cathodes à effet de champ a été envisagée. Pour pouvoir émettre des électrons par effet de champ, il est nécessaire d'atteindre des champs élevés (GV/m). Pour garder un niveau de tension raisonnable, des émetteurs profilés prenant la forme de nanostructures, souvent en carbone, ont été considérés. Cette forme profilée permet d'amplifier le champ électrique au sommet de la pointe d'un facteur 100.

Le LPGP et le GEEPS ont développé un modèle multiphysique d'équations couplées résolu numériquement qui décrit l'émission électronique de ce type de source. Le code calcule la densité de courant émise par effet tunnel à la surface des émetteurs et résout au cours de l'émission, le champ électrique à la surface de la pointe, la conservation du courant et le chauffage des émetteurs (par effet Joule et effet Nottingham) en volume et l'échange thermique en surface.

Par un traitement tridimensionnel, il est possible de traiter des systèmes réalistes asymétriques et de prédire le courant émis et l'échauffement correspondant pour plusieurs émetteurs rapprochés avec géométries différentes.

Le modèle développé permet ainsi d'évaluer l'émission électronique d'une source « froide » (intensité, homogénéité, dépendance en champ) ainsi que sa durabilité (destruction thermique des nanotubes).

Une nouvelle méthode d'imagerie en temps réel, non-invasive, pour évaluer les effets de l'électrochimiothérapie sur le mélanome murin

Bastien Jouanmiquieu^a, Marie-Pierre Rols^a, Xavier Orlik^b, Muriel Golzio^a

^a Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale (IPBS) (CNRS UMR 5089), Toulouse, FRANCE

^b Office National d'Etudes de recherche Aérospatiale (ONERA), Toulouse, FRANCE

* bastien.jouanmiquieu@ipbs.fr ; marie-pierre.rols@ipbs.fr ; xavier.orlik@onera.fr ; muriel.golzio@ipbs.fr

Mots-clés : Imagerie, Speckle Dynamique Polarisé, Electrochimiothérapie, Mélanome, In Vivo

Résumé : Selon l'Organisation mondiale de la santé, l'incidence du cancer de la peau a fortement augmenté au cours des dernières décennies. Actuellement, le diagnostic du mélanome par les dermatologues est effectué à l'aide d'une méthode subjective d'évaluation de l'apparence (règle ABCDE), cependant, 20% des mélanomes ne sont pas détectés à temps et peuvent évoluer vers des métastases. Par conséquent, le développement de nouvelles technologies visant à faciliter l'examen clinique est nécessaire.

La détection précoce du cancer de la peau et l'étude de la néoangiogenèse tumorale sont désormais possible à l'aide d'une nouvelle méthode non-invasive et en temps réel d'imagerie polarimétrique de speckle dynamique (DYPSA), basée sur les propriétés polarimétriques de la lumière [1]. Cette méthode optimise la détection des signaux diffusés par les couches profondes sous la peau et utilise une approche différente par rapport aux instruments optiques actuellement disponibles. En effet, elle permet d'observer les mouvements générés par l'activité vasculaire à l'échelle micrométrique.

Dans cette étude, nous avons utilisé l'imagerie DYPSA en temps réel pour visualiser les effets de l'électroperméabilisation (EP) sur la vascularisation tumorale [2], et pour évaluer l'efficacité du traitement de tumeurs cutanées par électrochimiothérapie (ECT) [3] chez la souris.

Quelques jours après l'injection intradermique des cellules tumorales, les signaux DYPSA ont montré l'établissement d'un « réseau vasculaire tumoral » corrélé avec l'emplacement de la tumeur sur les images de contraste. Par ailleurs, immédiatement après l'EP, nous avons pu également observer le phénomène de « Vascular Lock » comme en témoigne l'absence de signal DYPSA. Enfin, au cours des jours qui ont suivi l'ECT, le « réseau vasculaire tumoral » dans la zone traitée entre les électrodes a disparu, ainsi que la tumeur qui a disparu quelques jours plus tard (figure 1).

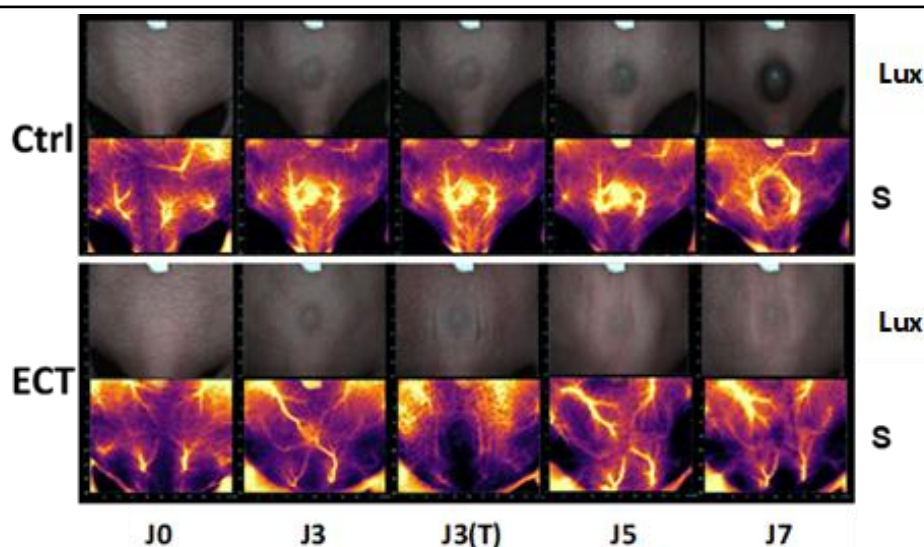


Figure 1 : Visualisation par imagerie en lumière blanche (Lux) et par imagerie en DYPSA (S) du dos d'une souris contrôlée et d'une souris traitée par électrochimiothérapie à différents moments après l'injection de cellules de mélanome murin (J0). Mise en évidence de l'angiogenèse tumorale à (J3), ainsi que du "vascular lock" à (J3(T)) et de la régression tumorale à (J5, J7) chez la souris traitée.

Ctrl (contrôle); ECT (électrochimiothérapie); Jour (J) ; (T) : 30 sec après le traitement

Références :

- [1] : C. Li and R. Wang, "Dynamic laser speckle angiography achieved by eigendecomposition filtering" *Journal Biophotonics*, vol. 10(6-7), pp. 805-810, 2017
- [2] : B. Markelc, E. Bellard, G. Sersa, T. Jesenko, S. Pelofy, J. Teissié, R. Frangez, M.P Rols, M. Cemazar and M. Golzio, "Increased permeability of blood vessels after reversible electroporation is facilitated by alteration in endothelial cell-to-cell junctions" *Journal of Controlled Release*, vol. 276, pp. 30-41, 2018.
- [3] : V. Josserand, M. Kéramidas, J. Lavaud, C. Righini, J. Vollaie, E. Bellard, M.P. Rols, J. Teissié, J.L. Coll and M. Golzio "Electrochemotherapy guided by intraoperative fluorescence imaging for the treatment of inoperable peritoneal micro-metastases" *Journal of Control Release*, vol. 233, pp. 81-87, 2016

ROTATING MAGNETIC SILICA-COATED IRON OXIDE NANOCHAINS POTENTIATE THE EFFECT OF METHICILLIN IN METHICILLIN-RESISTANT *S. EPIDERMIDIS*

Charlotte Da Silva^a, Slavko Kralj^b, Marie-Pierre Rols^a, Jelena Kolosnjaj-Tabi^a

^a *Institute of Pharmacology and Structural Biology, Toulouse, France*

^b *Jozef Stefan Institute, Ljubljana, Slovenia*

* jelena.kolosnjaj-tabi@ipbs.fr

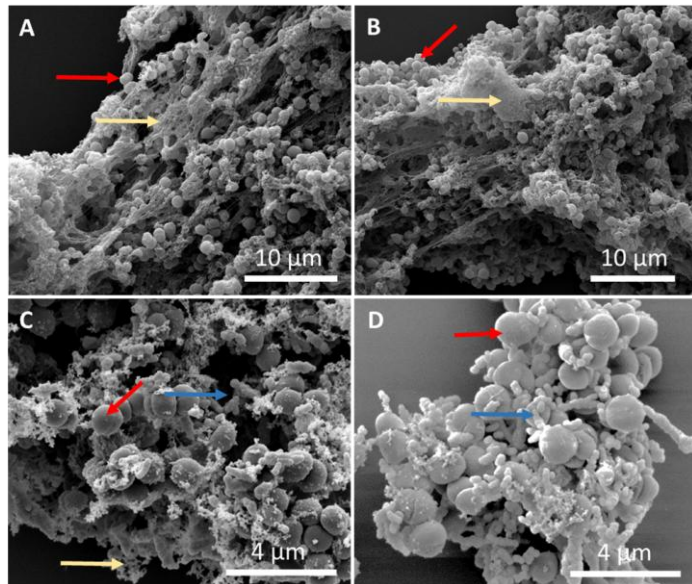
Mots-clés : iron oxide nanoparticles, antibiotic resistance, biofilm, stimuli-responsive agents

Résumé :

Antibiotic resistance is according to the WHO among the biggest health threats. Such resistance can be due to the formation of bacterial biofilms, which englobe bacteria and act as a protective barrier.

In the perspective to destructure bacterial biofilms and to improve the penetration of antimicrobial agents, we present a proof-of concept investigation based on the use of anisotropic magnetic silica-coated iron oxide nanochains [1]. We have previously demonstrated that these iron oxide nanochains can be used as efficient photothermal agents that can locally heat and could thus be used in cancer treatment [2]. In a novel approach, we herein show that these nanochains could be used as physical adjuvant agents in antimicrobial treatments.

The local rotation of nanochains, induced by a low frequency and low intensity magnetic field, can disrupt the formation of bacterial biofilm within planktonic aggregates and makes the otherwise resistant bacteria (*Staphylococcus epidermidis*) more vulnerable to methicillin, resulting in the killing of 99.99% (4 log reduction) of bacteria. Stimuli-responsive agents, and particularly the iron oxide nanochains, appear as excellent candidates that could shift the technological focus of antimicrobial therapies.



*Figure: Scanning electron micrographs showing the biofilm appearance in methicillin-resistant, biofilm-forming *Staphylococcus epidermidis* ATCC® 35984™ in: A) bacteria without nanochains and without methicillin B) Bacteria without nanochains and with methicillin C) Bacteria with nanochains and without methicillin D) Bacteria with nanochains and with methicillin. (Red arrows indicate bacteria, yellow arrows show the extracellular polymeric substance, which forms the biofilm the biofilm and blue arrows point to silica-coated nanochains).*

Références :

[1] S. Kralj, & D. Makovec, D. *ACS nano*, 2015, **9(10)**, 9700-9707.

[2] J. Kolosnjaj-Tabi, et al. *Cancers*, 2019, **11.12**, 2040.

Thérapie photodynamique

TOWARDS SELECTIVE DELIVERY OF NOVEL METAL-BASED PHOTSENSITIZERS FOR ANTICANCER PHOTODYNAMIC THERAPY

Gilles Gasser 1^a

^a Chimie ParisTech, PSL University, CNRS, Institute of Chemistry for Life and Health Sciences, Laboratory for Inorganic Chemistry, France

* gilles.gasser@chimieparistech.psl.eu

Mots-clés : cancer; photodynamic therapy; photosensitizer; ruthenium complex

Résumé :

Photodynamic Therapy (PDT) has expanded the range of treatment opportunities for some fungal and bacterial infections and cancer. The first clinically approved photosensitizer (PS) was Photofrin[®], which is used to treat various types of cancer (e.g., non-small lung, bladder, oesophageal or brain cancer). As the majority of clinically accepted and investigated PSs are based on the same structural scaffold, these compounds are usually associated with similar drawbacks (e.g., poor water solubility, tedious synthesis and purification, photodegradation and slow clearance from the body causing photosensitivity). To overcome these limitations, existing PSs have been modified and new classes of PS developed. As an emerging class of compounds, Ru(II) polypyridyl complexes have gained much attention due to their attractive chemical and photophysical properties (e.g., high water solubility, high ROS production, chemical stability and photostability).^{1, 2} Despite recent research efforts, the majority of investigated Ru(II) polypyridyl complexes lack absorption in the biological spectral window (600-900 nm), limiting their use for the treatment of large or deep-seated tumours. During this talk, we will present our latest results (including *in vivo*!) on the use of novel Ru(II) polypyridyl complexes as long wavelength absorbing PSs for PDT. We will also discuss our recent endeavours to selectively bring our PSs to cancer cells.³⁻⁷

Références :

- [1] S. A. McFarland, A. Mandel, R. Dumoulin-White and G. Gasser, *Curr. Op. Chem. Biol.*, 2020, **56**, 23-27.
- [2] F. W. Heinemann, J. Karges and G. Gasser *Acc. Chem. Res.*, 2017, **50**, 2727-2736
- [3] J. Karges, F. Heinemann, M. Jakubaszek, F. Maschietto, C. Subecz, M. Dotou, O. Blacque, M. Tharaud, B. Goud, E. Vinuelas Zahinos, B. Spingler, I. Ciofini and G. Gasser, *J. Am. Chem. Soc.*, 2020, **142**, 6578-6587.
- [4] J. Karges, S. Kuang, F. Maschietto, O. Blacque, I. Ciofini, H. Chao and G. Gasser, *Nature Commun.*, 2020, **11**, 3262.
- [5] J. Karges, J. Li, L. Zeng, H. Chao and G. Gasser, *ACS Appl. Mat. Interfaces*, 2020, **12**, 54433-54444.
- [6] J. Karges, T. Reddy, M. Tharaud, D. Gibson and G. Gasser *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2020, DOI: 10.1002/anie.201916400.
- [7] N. Soliman, L. K. McKenzie, J. Karges, E. Bertrand, M. Tharaud, M. Jakubaszek, V. Guérineau, B. Goud, M. Hollenstein, G. Gasser and C. M. Thomas, *Chem. Sci.*, 2020, **11**, 2657-2663.

Indications résiduelles et modifications des protocoles de traitement par PDT en ophtalmologie en 2021.

T Desmettre¹, G Ledesma-Gil², M Mainster³

La thérapie photodynamique (PDT) est basée sur l'injection d'un photosensibilisant, la verteporfine, à la dose de 6mg/m² suivie d'une irradiation laser infrarouge (690nm) avec une fluence " standard ", initialement définie à 50J/cm².

Depuis l'avènement des anti-VEGF au milieu des années 2000, la PDT n'est plus que rarement utilisée dans ses indications initiales (néovaisseaux maculaires de la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA) et néovaisseaux de la myopie pathologique étendus à la zone sous-fovéale). Au contraire, des indications autrefois marginales, telles que la chorioretinopathie séreuse centrale chronique (CRSC), la vasculopathie choroïdienne polypôïdale (PCV) et les hémangiomes choroïdiens, sont devenues le principal champ d'utilisation de la PDT en ophtalmologie. Pour les néovaisseaux de la DMLA, la PDT est actuellement principalement utilisée en combinaison avec les anti-VEGF, lorsque l'efficacité des anti-VEGF seuls semble limitée. Pour le traitement des CRSC chroniques, l'intérêt de la PDT établi sur la base d'une étude pilote au début des années 2000 a ensuite été validé par de nombreuses autres études.

Au milieu des années 2000, des protocoles de PDT à impact réduit ont été développés pour réduire le risque d'effets indésirables de la technique (ischémie choroïdienne avec perte de vision transitoire, atrophie de l'épithélium pigmentaire rétinien, néovascularisation maculaire). Ces protocoles ont d'abord été basés sur une diminution de la fluence laser (PDT à demi-fluence). Certains auteurs ont également développé l'utilisation de la PDT à demi-dose avec une réduction de moitié de la dose de verteporfine. Enfin, d'autres auteurs ont proposé de réduire à la fois la fluence et la dose de verteporfine. Tous ces protocoles de PDT à impact réduit visent à trouver un équilibre entre la recherche d'efficacité et l'important besoin de sécurité.

Dans notre pratique les protocoles utilisant la PDT à demi-dose et demi-fluence ont parfois été associés à un rebond exsudatif avec une baisse transitoire de la vision. Le mécanisme de ce rebond exsudatif semble associé à une altération de l'épithélium pigmentaire avec moins de nécrose mais davantage d'inflammation qu'avec le protocole standard de PDT.

(1) Centre de Rétine Médicale, Marquette-Lez-Lille, France

(2) Retina Department, Institute of Ophthalmology, Fundación Conde de Valenciana, Mexico City, Mexico

(3) Department of Ophthalmology, University of Kansas School of Medicine, Prairie Village, Kansas, USA

10 ans de thérapie photodynamique vectorisée : potentiel des nanovecteurs polymères

Ugo Till^a, Orélia Cerlati^a, Amandine Oudin^{a,b}, Maxime Demazeau^a, Laure Gibot^{*a}, Barbara Lonetti^a, Clément Roux^a, Patricia Vicendo^a, Vincent Lapinte^b, Anne-Françoise Mingotaud^a

^a Laboratoire des IMRCP, Université de Toulouse, CNRS UMR 5623, Université Paul Sabatier, Toulouse, France

^b ICGM, Univ. Montpellier, CNRS, ENSCM, 34296 Montpellier, France

* gibot@chimie.ups-tlse.fr

Mots-clés : Thérapie photodynamique, nanovecteurs, polymères, membrane

Résumé : Dans le contexte de la thérapie photodynamique (PDT), où la lumière est indirectement utilisée pour générer des lésions tissulaires localisées, l'utilisation de nanovecteurs auto-assemblés à base de polymères amphiphiles permet une efficacité thérapeutique beaucoup plus grande lorsque des médicaments hydrophobes sont utilisés comme photosensibilisateurs [1].

Depuis 10 ans nous avons mené une analyse de différents types de nanovecteurs polymères par des techniques classiques comme la diffusion dynamique de la lumière ou la microscopie électronique, mais aussi grâce au fractionnement flux-force. Ces auto-assemblages ont été utilisés comme vecteurs d'un photosensibilisateur, le Phéophorbide a, et leur photocytotoxicité en vue de la PDT a été évaluée en travaillant sur culture cellulaire 2D et 3D de lignées cancéreuses humaines. Différents vecteurs polymères ont tout d'abord été examinés, à savoir des micelles ou des polymersomes (Figure 1) à base de copolymères diblocs amphiphiles comme le poly(oxyde d'éthylène-*b*-ε-caprolactone), le poly(oxyde d'éthylène-*b*-lactide) ou le poly(oxyde d'éthylène-*b*-styrène). Ceci a permis d'obtenir des vecteurs présentant des tailles et des morphologies variables. Les résultats en PDT ont montré des comportements différents selon les vecteurs et une meilleure efficacité thérapeutique en 3D [2]. Il apparaît que les nanovecteurs interagissent différemment avec les membranes selon leur nature [3]. De façon intéressante, des mélanges calibrés de vecteurs micelles/vésicules ont révélé des phénomènes d'antagonisme ou de synergie dans l'efficacité PDT, démontrant l'existence de processus complexes au niveau de la réponse cellulaire [4]. Des auto-assemblages figés par réticulation ont aussi été développés, caractérisés et examinés en PDT. Ils se sont avérés extrêmement intéressants pour la PDT sur les cultures cellulaires en 3D, démontrant une efficacité accrue comparée aux systèmes simples [5]. Dans cette perspective, nous avons commencé à travailler avec des copolymères amphiphiles à base de poly(2-alkyl-2-oxazoline)s ayant un bout de chaîne coumarine [6]. Cette extrémité réactive permet une réticulation des vecteurs pour mieux contrôler leur stabilité et modifier leur devenir dans les tissus biologiques. Différents copolymères à base de 2-méthyl-, 2-phényl- et 2-butyl-2-oxazoline ont été synthétisés, leur association dans l'eau a été caractérisée et le Phéophorbide a a été encapsulé. L'efficacité biologique de ces nouveaux nanovecteurs pour la PDT est en cours d'examen et les résultats pourront être comparés à ceux obtenus avec les polymères précédents.

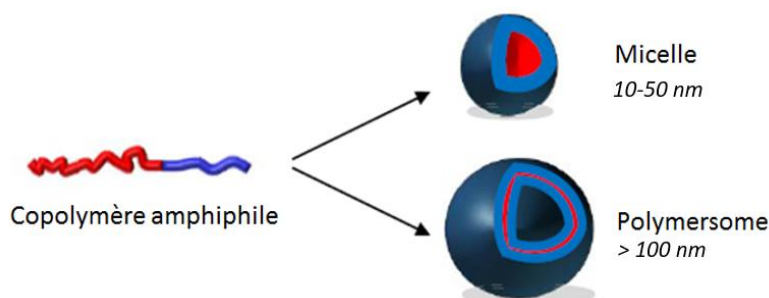


Figure 1 : Nanovecteurs auto-assemblés à base de copolymères amphiphiles utilisés en PDT vectorisée

Références :

- [1] : M. Demazeau, L. Gibot, A.-F. Mingotaud, P. Vicendo, C. Roux and B. Lonetti, *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 2020, **11**, 180–212.
- [2] : L. Gibot, A. Lemelle, U. Till, B. Moukarzel, AF. Mingotaud et al. *Biomacromolecules* 2014, **15**, 1443–1455
- [3] : L. Gibot, M. Demazeau, V. Pimienta, A.-F. Mingotaud, P. Vicendo, et al, *Cancers*, 2020, **12**, 384
- [4] : U. Till, L. Gibot, C. Mingotaud, P. Vicendo, et al, *Nanotechnology*, 2016, **27**, 315102
- [5] : U. Till, L. Gibot, P. Vicendo, MP. Rols, M. Gaucher, F. Violleau, AF. Mingotaud. *RSC Adv.*, 2016, **6**, 69984
- [6] : A. Oudin, J. Chauvin, L. Gibot, et al, *J. Mater. Chem.*, 2019, **7**, 4973-4982

MULTIFUNCTIONAL PLATFORMS FOR PDT IN HYPOXIC ENVIRONMENT: PROOF OF CONCEPT

Ludivine Larue ^a, Nolwenn Breton ^b, Bertrand Vilen, Valérie Jouan-Hureau, Tataye Moussounda Moussounda Koumba, Samir Acherar, Philippe Arnoux, Cédric Boura, Sylvain Marque, Gérard Audran, Céline Frochot ^{*c}

^a CNRS, University of Lorraine, LRGP UMR 7274, Nancy, France

^b CNRS, University of Strasbourg, UMR 7177, Strasbourg, France

^c CNRS, University of Lorraine, CRAN UMR 7039, Nancy, France

^d CNRS, University of Marseille, ICR UMR 7273, Marseille,

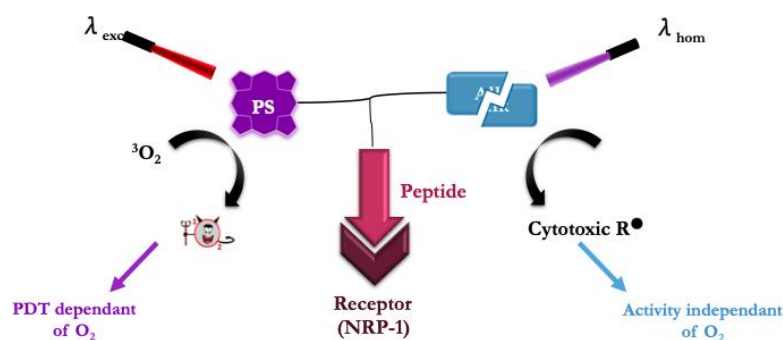
^e CNRS, University of Lorraine, LCPM UMR 7274, Nancy, France

* celine.frochot@univ-lorraine.fr

Mots-clés : PDT, targeting, alkoxyamine, ROS, oxygen

Résumé :

PDT suffers from two main drawbacks: the lack of selectivity of the PSs as well as the need for oxygen to be effective. To remedy the lack of selectivity, it is possible to design photosensitizers or nanoparticles coupled to vectors that can target receptors over-expressed onto tumor cells [1] or neovessels that allows the destruction of the vascularization and cause asphyxia of the tumor [2]. We already proved that KDPPR peptide has a good affinity for the neuropilin-1 (NRP-1) receptors overexpressed on endothelial cells [3]. To compensate for the lack of oxygen, several strategies are possible [4] and we focused on photoactivatable alkoxyamines, molecules capable of generating toxic radicals by light activation. We will describe the synthesis of a multifunctional platform combining three units: a PS for an oxygen-dependent PDT, a peptide to target NRP-1 receptors and an alkoxyamine for an oxygen-independent activity. The photophysical properties showed that the PS retained its capacity to induce the formation of singlet oxygen, the affinity tests confirmed the compound's affinity for NRP-1. Thanks to the Electron Paramagnetic Resonance (EPR) spectroscopy we could detect the radicals generated after illumination of the alkoxyamine. The proof of concept was thus successfully established [5].



Structure of the multifunctional platform

Références :

- [1] Baydoun M., Morales O., Frochot C., Ludovic L., Leroux B., Thecua E., Ziane L., Grabarz A., Kumar A., de Schutter C., Collinet P., Azaïs H., Mordon S., Delhem N., *Journal of Clinical Medicine*, 2020, **9**, 1185.
- [2] Thomas E., Colombeau L., Gries M., Peterlini T., Mathieu C., Thomas N., Boura C., Frochot C., Vanderesse R., Lux F., Barberi-Heyob M., Tillement O. *International Journal of Nanomedicine*, 2017, **12**, 7075-7088
- [3] Youssef Z., Yesmurzayeva N., Larue L., Juan-Hureau V., Colombeau L., Acherar S., Frochot C. *Journal of clinical medicine*, 2019, **8**, 2205.
- [4] Larue L., Myrzakhmetov B., Ben-Mihoub A., Moussaron A. Thomas N., Arnoux P., Baros F. Vanderesse R., Acherar S., Frochot C. *Pharmaceuticals*, 2019, **12**, 163.
- [5] Larue L., Moussounda Moussounda Koumba T., Le Breton N., Vilen B., Arnoux P., Jouan-Hureau V., Boura C., Audran G., Bikanga R., Marque S.R.A., Acherar S., Frochot, C. *ACS applied Biomaterials*, 2021, **4**, 1330-1339.

Caractérisation de nanovecteurs à base de polyoxazoline pour des applications en Thérapie Photo Dynamique

O. Cerlati ^{1 a}, A. Tosi ^{a,b}, B. Lonetti^a, F. Baldelli Bombelli^b, K. Belkhir^c, T. Benkhaled^c, D. Heaugwane^a, A. Graillot^d, P.L. Brient^d, C. Chatard^d, P. Vicendo^a, V. Lapinte^c and A-F Mingotaud^a

^a Laboratoire des IMRCP, Université de Toulouse, CNRS UMR 5623, Université Toulouse III - Paul Sabatier, France

^b SupraBioNano Lab, Department of Chemistry, Materials and Chemical Engineering, Politecnico di Milano, Milan, Italy

^c ICGM, Univ. Montpellier, CNRS, ENSCM, Montpellier, France

^d Specific polymer, ZAC Via Domitia, 150 Avenue des Cocardières 34160 CASTRIES, France

*lonetti@chimie.ups-tlse.fr

Mots-clés : auto-assemblage de polymères, thérapie photodynamique, polyoxazoline, caractérisation des nanoparticules

Résumé :

Nous nous intéressons à une classe de copolymères amphiphiles à base de poly (2-méthyl-2-oxazoline). Nous avons récemment montré qu'un poly(2-méthyl-2-oxazoline) lié à un groupe coumarine photoactif via une chaîne aliphatique [1] forme des nano-assemblages capables d'encapsuler le phéophorbide-a, un photosensibilisateur connu utilisé en Thérapie Photo Dynamique. Cependant, la libération du phéophorbide-a s'est avérée trop rapide. Afin d'améliorer les propriétés de libération, nous avons décidé d'utiliser des copolymères amphiphiles avec un rapport hydrophobe / hydrophile différent entre les blocs afin de moduler les interactions entre la nanoparticule et le phéophorbide-a. En jouant avec la chimie de cette famille de polymères, nous avons remplacé le groupe méthyle par un groupe phényle (c'est-à-dire poly(2-phényl-2-oxazoline), PhOXA) ou un groupe butyle (c'est-à-dire poly(2-butyl-2-oxazoline), ButOXA) et nous avons étudié une bibliothèque de nouveaux copolymères : Coum-poly (PhOXA)_x-bloc-poly(MOXA)_y ou poly(ButOXA)_x-bloc-poly(MOXA)_y. De plus, nous avons profité de la photodimérisation de la coumarine et ajouté un agent de réticulation dérivé du poly (méthacrylate de méthyle) fonctionnalisé avec un groupe coumarine, le CmPMMA, afin d'ajuster davantage la stabilité des nano-assemblages.

Différentes méthodes de préparation ont été testées (nanoprécipitation, méthode de réhydratation) et les auto-assemblages obtenus ont été caractérisés par diffusion dynamique de la lumière (DLS), microscopie électronique à transmission (TEM) et cryo-TEM pour déterminer leur taille et leur forme. En général, ils sont bien définis, de forme sphérique et d'un diamètre de 30 à 50 nm. L'encapsulation du phéophorbide-a a été vérifiée et sa libération a été caractérisée par des expériences de dialyse. La stabilité colloïdale de certains de ces nano-assemblages a également été étudiée en présence de protéines pour étudier la possible adsorption de ces protéines sur leur surface et la formation de ce qu'on appelle la couronne protéique.

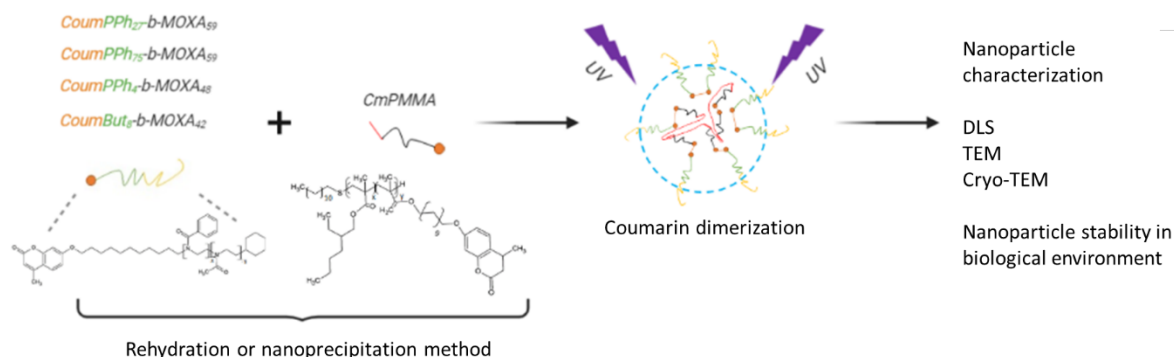


Schéma de la formation des nano-assemblages à base de poly oxazoline

Références :

[1] : A. Oudin, J. Chauvin, L. Gibot, M.-P. Rols, S. Balor, D. Goudounèche, B. Payre, B. Lonetti, P. Vicendo, A.-F. Mingotaud and V. Lapinte, *Journal of Materials Chemistry B*, 2019, 7, 4973

Comment réaliser un traitement indolore des kératoses actiniques par thérapie photodynamique ?

Serge Mordon, INSERM U1026 Bioingénierie Tissulaire (BioTis), Université de Bordeaux
146 rue Léo Saignat, 33076 Bordeaux

email: serge.mordon@inserm.fr

Depuis de nombreuses années, la thérapie photodynamique est utilisée en Dermatologie pour le traitement des kératoses actiniques. La kératose actinique (KA) est la lésion précancéreuse la plus courante qui apparaît sur les zones photo-exposées (crâne, visage, mains, décolleté). C'est la raison principale de consultation au cabinet de Dermatologie. Il y a une prévalence approximativement de 10% chez les patients âgés entre 20 et 30 ans, alors qu'elle est plus de 90% chez les patients âgés de plus de 80 ans. Non traitée, la KA peut évoluer vers un carcinome spinocellulaire ou carcinome épidermoïde.

L'acide aminolévulinique (5-ALA) ou l'aminolévulinate de méthyle (MAL) est utilisé comme précurseur qui s'accumule préférentiellement dans les cellules dysplasiques des KA. Ce précurseur est converti en Protoporphyrine IX (PpIX) via la voie de l'hème et provoque l'apoptose des cellules lorsqu'elles sont illuminées.

L'inconvénient majeur de PDT est la douleur ressentie pendant l'illumination. En réalité, bien que l'ALA ou le MAL ne soient pas absorbés dans les terminaisons nerveuses, les espèces radicalaires de l'oxygène produites lors d'une exposition à la lumière provoquent une dégranulation cellulaire des mastocytes conduisant à la libération de médiateurs inflammatoires. Parmi eux, la bradykinine et l'histamine sont connues pour stimuler directement terminaisons nerveuses sensorielles. La PDT était à l'origine réalisée après un intervalle médicament-lumière (Drug Light Interval ou DLI) suffisamment long de sorte que la distribution PpIX soit en équilibre. La recommandation initiale était ainsi de traiter 14 à 18 heures après l'application du précurseur.

L'hypothèse selon laquelle l'ALA-PDT et MAL-PDT peut fonctionner avec un DLI réduit ou même sans aucun DLI semble contre-intuitif. Plusieurs études cliniques démontrent cependant qu'un court DLI est associé à une faible douleur et à une efficacité élevée. En 2008, Wiegell et al (1) ont réalisé une étude contrôlée randomisée pour comparer la lumière rouge conventionnelle à la lumière du jour. Une zone a été éclairée par une lumière LED rouge (37 J/cm²) après incubation de 3 heures avec MAL sous pansement occlusif ; l'autre zone a été traitée à la lumière du jour pendant 2,5 heures après que la crème MAL ait été sous occlusion pendant seulement une demi-heure. Une réduction de 79% de la lumière du jour zone de lésions de kératose actinique (KA) et 71% dans la zone LED ont été observées. Cependant, la lumière du jour était significativement moins douloureuse que Lumière LED avec un score de douleur (sur une échelle de 0 à 10) maximal moyen pendant l'exposition à la lumière du jour de 2,0 (SD ±1,9) par rapport à 6,7 (SD ±2,2) lors de l'exposition à la LED rouge (P < 0,0001). Gandy et al (2) ont également proposé un nouveau protocole pour traiter les KA immédiatement après l'application d'ALA. Après préparation de la zone à traiter, l'ALA a été appliqué sur le visage et le cuir chevelu juste avant illumination par une lumière bleue pendant 33 minutes et 20 secondes (deux cycles de 16 minutes et 40 secondes). Avec ce protocole, le patient a très bien toléré le traitement et n'a signalé aucune douleur (0 sur 10). A une semaine, les zones traitées ont révélé un érythème et une desquamation en voie de résolution, indiquant une bonne réponse à la thérapie. Mordon et al (3) ont réalisé, sur 47 patients, une étude clinique, randomisée, contrôlée, multicentrique et intra-individuelle. Une zone a été éclairée par lumière LED rouge (37 J/cm²) après 3 heures d'incubation avec MAL sous pansement occlusif ; l'autre avec un nouvel appareil (dispositif textile lumineux) pendant 2,5 heures après l'application de la crème MAL une demi-heure avant

l'illumination. Le taux de clairance était similaire pour les deux côtés (94,2 % vs 94,9%). Cependant, le score de douleur était significativement plus faible pour les DLI 30 minutes par rapport au DLI 3 heures, respectivement, 0,3 vs 7,4 ($p < 0,001$). Enfin, Maire et al (4) ont réalisé une MAL-PDT de 38 patients de sexe masculin avec des KA du cuir chevelu. L'éclairage artificiel à la lumière du jour (LED blanche) a été réalisée, presque immédiatement (3 à 5 minutes) après application de la crème MAL, pendant 2,5 heures (dose lumineuse : 26,1 J/cm²). Trente-trois des 38 patients (87 %) des patients n'ont ressenti aucune douleur (0/10) et les autres 5 patients (13 %) ont évalué leur niveau de douleur à 1/10.

En conclusion, lors de l'utilisation d'ALA ou de MAL, il est important d'éviter la confusion entre le temps d'incubation et le DLI qui est la période de temps entre la première production PpIX par la cellule dysplasique et son activation par la lumière. Plusieurs études ont montré que la cinétique de formation de PpIX par cellules dysplasiques est quasi-instantanée après l'administration de 5-ALA. Puisque l'ALA ou le MAL n'est pas retiré lors de l'illumination, la formation de PpIX se poursuit tant que la cellule dysplasique est vivante. Les DLI courts sont associés à accumulation réduite de PpIX dans le tissu cible en raison de l'absence de diffusion de PpIX dans les tissus environnants contenant des fibres nerveuses sensorielles intactes. Par conséquent, un DLI court doit être utilisé car c'est un moyen très simple de réduire la douleur.

References

1. Wiegell SR, Haedersdal M, Philipsen PA, Eriksen P, Enk CD, Wulf HC. Continuous activation of PpIX by daylight is as effective as and less painful than conventional photodynamic therapy for actinic keratoses; a randomized, controlled, single-blinded study. *Br J Dermatol*. 2008; 158(4):740-746.
2. Gandy J, Labadie B, Bierman D, Zachary C. Photodynamic therapy effectively treats actinic keratoses without pre-illumination incubation time. *J Drugs Dermatol*. 2017;16(3):275-278.
3. Mordon S, Vignion-Dewalle AS, Abi-Rached H, et al. The conventional protocol vs. a protocol including illumination with a fabric-based biophotonic device (the Phosistos protocol) in photodynamic therapy for actinic keratosis: a randomized, controlled, noninferiority clinical study. *Br J Dermatol*. 2020;182(1):76-84.
4. Maire C, Vignion-Dewalle AS, Cartier H, Mordon S. Artificial white light photodynamic therapy for actinic keratosis: a study of 38 patients in private office practice. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2020;34(4):e165-e167.

Réponse photoinduite des analogues biomimétiques de la cyclocurcumine: vers des thérapies assistées par la lumière

Jérémy Pécourneau^a, Raúl Losantos^{ab}, Antonio Monari^{b,c}, Stéphane Parant^a, Yann Bernhard^a,
Maxime Mourer^a, Andreea Pasc^{a*}

^a Université de Lorraine, CNRS, L2CM, UMR 7053, F-54506 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

^b Université de Lorraine, CNRS, LPCT, UMR 7019, F-54506 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

^c Université de Paris, CNRS, ITODYS, F-75006, Paris, France

* andreea.pasc@univ-lorraine.fr

Mots-clés : Photoisomérisation, Pyrone, Fluorescence, Cyclocurcumine, Photothermie

Résumé :

Au-delà de la thérapie photodynamique (PDT), plusieurs alternatives thérapeutiques assistées par la lumière suscitent un intérêt croissant, telle que la thérapie photothermique (PTT), ou comme proposé plus récemment, l'actionnement mécanique photoinduit au sein des membranes pour induire des dommages cellulaires.^{[1],[2]} Pour cette dernière, qui repose sur l'utilisation de composés photoisomérisables, il est cependant difficile de surmonter la nécessité d'exciter ces composés avec des photons de haute énergie, pour aller vers une excitation dans la fenêtre thérapeutique (NIR) plus appropriée pour une utilisation in vivo. Dans ce contexte, nous avons étudié des analogues biomimétiques de la cyclocurcumine (CC), un photocommutateur *E/Z* naturel. Ces nouveaux composés de type donneur-accepteur ont été structurellement conçus pour accroître la section efficace d'absorption à deux photons (σ_2) et par conséquent être activables par irradiation biphotonique dans la fenêtre NIR.^{[3],[4]} Dans un premier temps, des dérivés 2,6-disubstitué- γ -pyrone ont été synthétisés (**1a-c**), guidé par la modélisation moléculaire qui prévoit une augmentation d'un ordre de grandeur de la σ_2 dans la fenêtre NIR par rapport à la CC. Pour chacun des composés **1a-c**, l'isomérisation est réversible et entièrement photo-induite, sans commutation thermique dans l'obscurité (photochromisme de type P). De plus, des études ont montré que la forme *E* du composé **1c** a un effet fluidisant sur une membrane modèle, en pénétrant dans la couche de phospholipide, tandis que l'isomère *Z* interagirait principalement avec les têtes polaires lipidiques. Le composé **2**, pour lequel la force du donneur est accrue ($R = NMe_2$), montre un déplacement bathochrome de l'absorption, mais présente un rendement de photoisomérisation plus faible. Pour déplacer davantage la longueur d'onde d'absorption vers le rouge, le groupement attracteur (oxo de la pyrone) a ensuite été remplacé par un motif dicyanométhylène (**3,4**). Les propriétés de photoisomérisation de la double liaison ont disparu au profit de l'effet photothermique qui offre une autre voie d'application, en PTT.

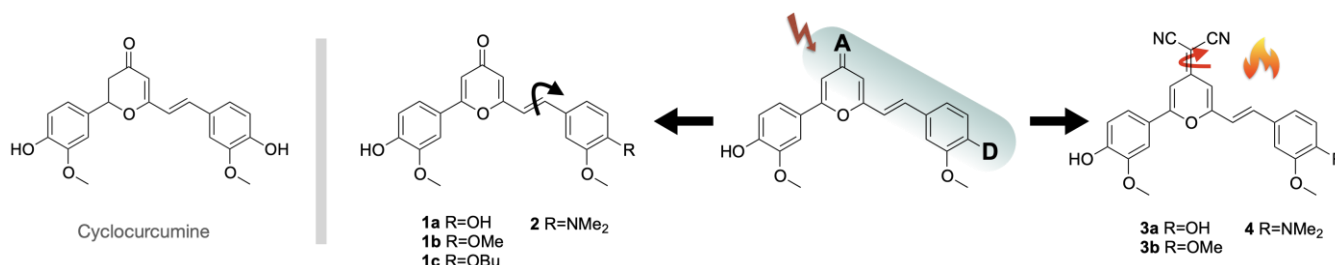


Schéma 1: Photoisomérisation vs photothermie des analogues biomimétiques de la cyclocurcumine

Références :

- [1] : V. García-Lopez, F. Chen, L. G. Nilewski, G. Duret, A. Aliyan, A. Kolomeisky, J. T. Robinson, G. Wang, R. Pal, J. M. Tour, *Nature*, **2017**, 548, 7669, 567-572.
- [2] : L. Pfeifer, N. V. Hoang, M. Scherübl, M. S. Pshenichnikov, B.L. Feringa, *Sci. Adv.*, **2020**, 6 : eabb6165.
- [3] : J. Pecourneau, R. Losantos, A. Monari, S. Parant, A. Pasc, M. Mourer, *J. Org. Chem.*, **2021**, 86, 12, 8112–8126.
- [4] : R. Losantos, J. Pecourneau, S. Parant, A. Pasc, M. Mourer, A. Monari, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2021**, 23, 12842-12849.

Is interstitial photodynamic therapy for brain tumors ready for clinical practice? A systematic review.

Authors : Henri-Arthur Leroy, MD^{1,2}, Laura Guérin, PhD², Grégory Baert², Anne-Sophie Vignion, PhD², Serge Mordon, PhD,² Nicolas Reyns, MD, PhD^{1,2}

Affiliation:

¹ CHU Lille, Department of Neurosurgery, F-59000 Lille, France.

² INSERM, CHU-Lille, U1189-ONCOTHAÏ-Assisted Laser Therapy and Immunotherapy for Oncology, Univ-Lille, F-59000 Lille, France.

Mots-clés : Photodynamic therapy, interstitial, brain tumors, glioma, glioblastoma

Résumé :

Background

Interstitial photodynamic therapy (iPDT), inserting optical fibers inside brain tumors, has been proposed for more than 30 years. While a promising therapeutical option, it is still an experimental treatment, with different ways of application, depending on the team performing the technique.

Objective

In this systematic review, we reported the patient selection process, the treatment parameters, the potential adverse events and the oncological outcomes related to iPDT treatment applied to brain tumors.

Methods

We performed a search in PubMed, Embase and Medline based on the following Mesh terms: “interstitial” AND “photodynamic therapy” AND “brain tumor” OR “glioma” OR glioblastoma” from January 1990 to April 2020. We screened 350 studies. Twelve matched all selection criteria.

Results

251 patients underwent iPDT. Tumors were mainly de novo or recurrent high-grade gliomas (171 (68%) of glioblastomas), located supratentorial, with a median volume of 12 cm³. Hematoporphyrin derive agent (HpD) or protoporphyrin IX (PpIX) induced by 5-aminolevulinic acid (5-ALA) was used as a photosensitizer. Up to 6 optical fibers were introduced inside the tumor, delivering 200 mW/cm at a wavelength of 630 nm. Overall mortality was 1%. Transient and persistent morbidity were both 5%. No permanent deficit occurred using 5-ALA PDT. Tumor response rate after iPDT was 92% (IQR, 67; 99). Regarding glioblastomas, progression-free-survival was respectively 14.5 months (IQR, 13.8; 15.3) for de novo lesions and 14 months (IQR, 7; 30) for recurrent lesions, while overall survival was respectively 19 months (IQR, 14; 20) and 8 months (IQR, 6.3; 8.5). In patients harboring high-grade gliomas, 33 (13%) were considered long-term survivors (> 2 years) after iPDT.

Conclusion

Regardless of heterogeneity in its application, iPDT appears safe and efficient to treat brain tumors, especially high-grade gliomas. Stand-alone iPDT (i.e., without combined craniotomy and intracavitary PDT) using 5-ALA appears to be the best option in terms of controlling side effects: it avoids the occurrence of permanent neurological deficits while reducing the risks of hemorrhage and sepsis.

Evaluation de l'efficacité de la PDT utilisant un nouveau photosensibilisateur couplé à l'Acide Folique (PS^{AF}-PDT) dans des modèles d'organoïdes de cancers ovariens épithéliaux

Léa BOLDIN¹, Martha BAYDOUN¹, Bertrand LEROUX¹, Sonia Paget², Olivier MORALES^{1,3}, Audrey Vincent², Céline Frochot⁴, Nadira DELHEM¹,

1. Univ.Lille, Inserm, CHU Lille, U1189-ONCO-THAI – Assisted Laser Therapy and Immunotherapy for Oncology, F 59000 Lille, France
2. Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, UMR9020-U1277 - CANTHER - Cancer Heterogeneity Plasticity and Resistance to Therapies, F-59000 Lille, France
3. CNRS UMS 3702 IBL, F 59000 Lille, France
4. Université de Lorraine, UMR 7274 CNRS, Laboratoire réactions et génie des procédés, 54000 Nancy, France

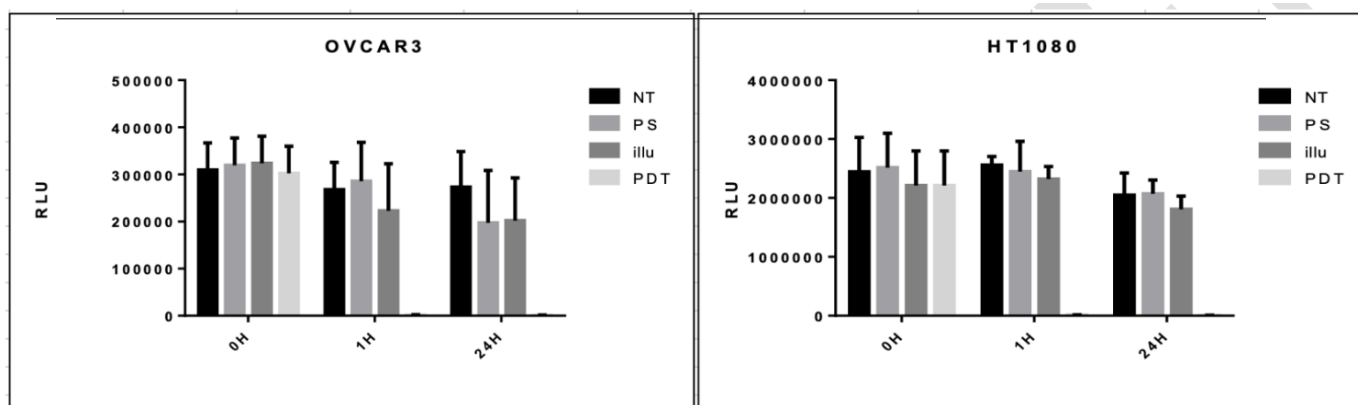
Mots-clés : Thérapie Photodynamique ; Photosensibilisateur couplé à l'acide folique ; Carcinose péritonéale ovarienne ; Organoïdes

Résumé :

Le cancer de l'ovaire est le 7^{ème} cancer le plus fréquent chez la femme. Souvent découvert à un stade avancé, il évolue rapidement en carcinose péritonéale ovarienne correspondant à l'envahissement de la cavité péritonéale par de multiples nodules tumoraux. La thérapie standard repose sur une chirurgie de cytoréduction associée à une chimiothérapie. Cependant, 60% des femmes en rémission font une rechute dans les 5 ans. [1] L'amélioration du traitement du cancer de l'ovaire nécessite donc des voies de recherche ayant pour objectif le contrôle de la maladie péritonéale microscopique qui est ignorée lors de la chirurgie macroscopique. La thérapie photodynamique (PDT) qui s'appuie sur l'utilisation de l'O₂, d'un médicament photosensibilisateur (PS) et d'une lumière de longueur d'onde spécifique du PS, est déjà indiquée dans les lésions superficielles de surface étendue et pourrait donc s'avérer être une stratégie thérapeutique pertinente dans la carcinose péritonéale ovarienne. De plus, la PDT est également capable de stimuler nos défenses immunitaires comme le font les immunothérapies actuelles. En effet, certains de ces effets sont similaires à l'immunothérapie puisque la PDT permet la mise en place d'une réponse immunitaire dirigée contre la tumeur grâce à la production d'antigène tumoraux suite à l'induction de la mort des cellules tumorales [2]. Durant ces dernières années, plusieurs PS ont été développés mais ils présentent une faible stabilité, une fluorescence insuffisante ainsi qu'une faible spécificité. Afin de cibler plus précisément les métastases péritonéales, décrites comme surexprimant dans 80% des cas le récepteur à l'acide folique (FR α) [3], un PS couplé à l'acide folique (PS de 3^{ème} génération - PS^{AF}) a été développé. Ce photosensibilisateur a déjà fait la preuve de son efficacité *in vitro* sur des lignées humaines des carcinoses péritonéales ovariennes [4]. Cependant ce modèle de culture 2D souffre d'une grande simplification, et ne reflète pas la complexité de l'architecture tumorale. Ainsi, l'utilisation d'un modèle de culture plus complexe, tel que des cellules capables de pousser dans un environnement en 3 dimensions aussi appelées organoïdes, semblerait plus pertinente [5]. Dans ce contexte, l'objectif de cette étude est de proposer le modèle organoïde comme un modèle robuste d'évaluation préclinique de la PDT, en évaluant pour la première fois l'efficacité PS^{AF} dans les cancers ovariens.

Pour cela, nous avons utilisé 2 lignées cellulaires d'adénocarcinome ovarien humain (OVCAR3 et SKOV3) surexprimant FR α ainsi qu'une lignée de fibrosarcome (HT1080) le sous-exprimant. Dans un premier temps, nous avons validé l'expression du récepteur sur ces lignées puis démontré que notre PS, incubé à une concentration standard de 9 μ M et illuminé pendant 60 min, induisait la mort de l'ensemble des cellules cancéreuses indifféremment du niveau d'expression de FR α . Puis, la variation de la concentration du PS^{AF} et du temps d'illumination nous a permis de mettre en évidence un effet dose-réponse dépendant de ces 2 paramètres et du taux d'expression de FR α . Ces résultats suggèrent ainsi que l'effet de la PDT est proportionnel au niveau d'expression du récepteur. Par la suite, nous avons mis en place un nouveau modèle d'organoïde dérivé de ces lignées de manière à évaluer l'effet de la PDT utilisant notre PS^{AF}. Nous avons à nouveau confirmé l'expression de la cible (FR α) sur les organoïdes formés et l'internalisation du PS^{AF} au sein de ces derniers. Incubé avec une concentration de 9 μ M de PS^{AF} et illuminé pendant 60 min nous avons constaté la mort de tous les organoïdes confirmant ainsi les résultats obtenus sur le modèle 2D.

Nous avons montré dans un modèle de culture 2D que la PDT associée au PS^{AF} pouvait induire la mort sélective des cellules cancéreuses ovariennes. De façon très intéressante, nous avons pu montrer que l'évaluation de cette nouvelle modalité thérapeutique (PDT-PS^{AF}) s'est aussi avérée efficace sur un modèle de culture 3D. Ainsi, la réalisation de la PDT-PS^{AF} dans des lignées cellulaires et des lignées d'organoïdes dérivées de carcinoses ovariennes humaines devraient permettre de mieux appréhender l'efficacité de ce type de traitement dans des modèles cellulaires pertinents mimant l'hétérogénéité d'une masse tumorale. Cette étude préliminaire nous permet d'entrouvrir de nouvelles perspectives dans un cancer aujourd'hui en impasse thérapeutique.



Evaluation de la viabilité des organoïdes issus des lignées cellulaires du cancer de l'ovaire OVCAR3 et de fibrosarcome HT1080 après 1h et 24h post-PDT à la condition standard (9 μ M, 60 min d'illumination à 1mW/cm²). Analyse selon le CellTiterGlo® 3D. Les données utilisées sont les moyennes +/- écart-type de triplicats (n=1). (RLU = relative light unit)

Références :

- [1] Azaïs H, Moussaron A, Khodja Bach S, Bassil A, Betrouni N, Frochot C, Collinet P, Mordon S. FR α : une cible pour la thérapie photodynamique prophylactique des métastases péritonéales ovariennes ? *Bull Cancer* 2014 ; 101 : 1109-1113.
- [2] Hwang HS, Shin H, Han J, Na K. Combination of photodynamic therapy (PDT) and anti-tumor immunity in cancer therapy. *J Pharm Investig*. 2018;48(2):143-51.
- [3] Cheung A, Bax HJ, Josephs DH, Ilieva KM, Pellizzari G, Opzoomer J, et al. Targeting folate receptor alpha for cancer treatment. *Oncotarget*. 27 mai 2016;7(32):52553-74.
- [4] Baydoun M et al, Photodynamic Therapy Using a New Folate Receptor-Targeted Photosensitizer on Peritoneal Ovarian Cancer Cells Induces the Release of Extracellular Vesicles with Immunoactivating Properties. *J Clin Med*. 2020 Apr 21;9(4):1185
- [5] Huh D, Hamilton GA, Ingber DE. From 3D cell culture to organs-on-chips. *Trends Cell Biol*. déc 2011;21(12):745-54.

EVALUATION PRE-CLINIQUE DE L'UTILISATION DE LA THERAPIE PHOTODYNAMIQUE MEDIEE PAR L'ACIDE 5- AMINOLEVULINIQUE DANS LES CARCINOMES HEPATOCELLULAIRES

Rémi Dast, Emmanuel Boleslawski, Nadira Delhem

Thérapies laser assistées par imagerie pour l'oncologie(U1198-OncoThai)

remi.dast80@gmail.com

Mots-clés : PDT ; 5-ALA ; Hépatocarcinome ; PPIX ; Fibrose

Résumé :

Le carcinome hépatocellulaire (CHC) représente le principal cancer primitif du foie, très loin devant le cholangiocarcinome. Ces patients ont, pour une minorité d'entre eux, eu recours à un traitement dit « curatif » mais globalement, les résultats obtenus dans le traitement du CHC sont décevants et ont engagé les chercheurs dans le développement d'une nouvelle approche thérapeutique translationnelle, la thérapie photodynamique (PDT). Son développement récent a conduit la communauté scientifique à évaluer aujourd'hui son efficacité dans différents modèles de cancers.

L'objectif principal de ce projet est d'étudier, en plusieurs étapes, la faisabilité, la tolérance et l'intérêt oncologique d'une utilisation peropératoire de la PDT adjuvante pour traiter le lit d'une hépatectomie effectuée pour un CHC.

Les résultats préliminaires obtenus au sein du laboratoire d'accueil démontrent tout d'abord que la PDT avec le 5-ALA, un des Photosensibilisateur de référence (PS), est efficace contre trois lignées cellulaires de CHC car elles expriment les enzymes clefs responsables de la conversion de la pro-drogue en Protoporphyrine IX (PpIX), le PS final. Ainsi, le traitement par PDT au 5-ALA de ces lignées, induit une mort cellulaire dépendante de la dose de pro-drogue et de la durée d'illumination. De façon intéressante, nous observons que ces trois lignées cellulaires répondent de manière variable à la PDT par 5-ALA potentiellement selon un profil d'expression différent du gène suppresseur de tumeur p53. De plus, la nécrose (mort immunostimulante) est le type principal de mort cellulaire induit par la PDT. Des études complémentaires *in vitro* et *ex vivo* de l'accumulation de la PpIX montrent une accumulation intracellulaire de ce PS dans nos lignées cellulaires ainsi que dans les tumeurs hépatiques xenotransplantées. Enfin, nous montrons une innocuité totale de la 5-ALA-PDT sur une culture primaire de myofibroblastes hépatiques sains. En effet, la 5-ALA-PDT n'affecte pas la viabilité, n'induit pas de facteurs liés à la fibrose hépatique et n'active pas ces memes myofibroblastes.

Ces résultats forts prometteurs renforcent encore plus l'importance de la PDT dans les thérapies innovantes pour le CHC car la nécrose est une mort cellulaire immunostimulante ouvrant le champ des possibles d'une thérapie combinatoire PDT-Immunothérapie. De telles investigations prouvent non seulement que la PDT par 5-ALA pourrait être une thérapie efficace dans le traitement du cancer du foie mais aussi qu'elle permet de limiter voire éviter la fibrose hépatique. Ainsi, grâce à la présente étude nous prouvons que la 5-ALA-PDT pourrait apporter de nouvelles possibilités de traitements pour les patients en impasse thérapeutique.



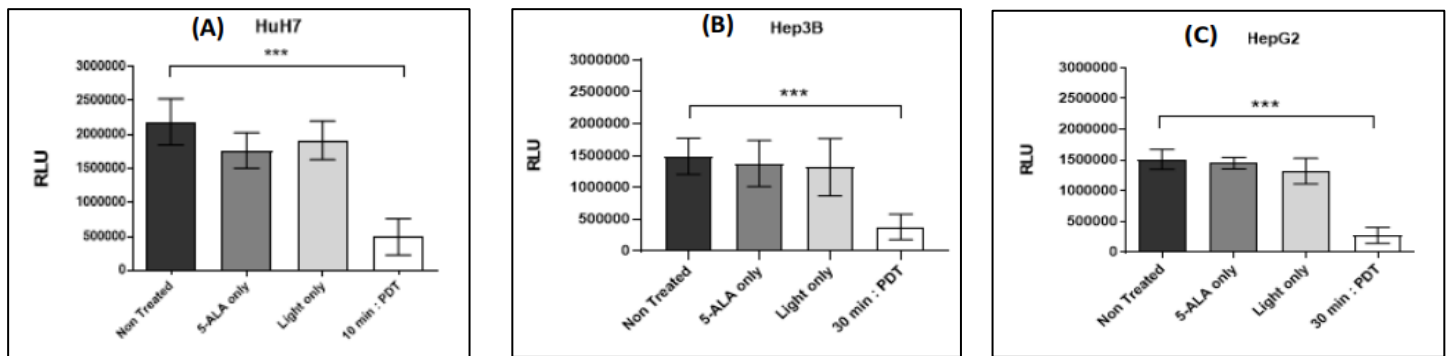


Figure 1: Impact de la thérapie photodynamique sur la viabilité de (A). HuH7, (B). Hep3B, (C) HepG2. Les cellules ont été soit non traitées (Non treated), mises en contact avec 0.6 mM de 5-ALA (5-ALA only), ou simplement illuminées (Light only) ou mises en contact avec 0.6 mM de 5-ALA et illuminées plus ou moins longtemps pour obtenir l'EC50 (X min : PDT). La viabilité cellulaire a été déterminée 24h après illumination par analyse du métabolisme mitochondrial. Les valeurs sont représentées en unité de luminescence relative (RLU) un test Anova a été réalisé, avec $p \leq 0,05$ (*), $p \leq 0,001$ (**), $p \leq 0,0001$ (***) et $p \leq 0,00001$ (****) étant considéré comme statistiquement significatif pour le premier et hautement significatif pour les autres. (N=3)

Références :

E. Treft ; DM. Ozog ; Q. Zhang ,
 EASL Clinical Practice Guidelines : Management of hepatocellular carcinoma, 2018, **vol.9**, 182-236

Photosensitizers coupled with poly or oligosaccharides for antimicrobial photodynamic therapy applications

Vincent Sol^{a*}, Abdechakour Elkihel,^a Charlotte Vernisse,^a Tan Sothea Ouk^a

^a University of Limoges, Laboratory PEIRENE EA 7500, 123 avenue A. Thomas 87060 Limoges, France.

* Email : vincent.sol@unilim.fr

Keywords : porphyrins, antimicrobial PDT, hydrogel, maltooligosaccharides, xylan

Wound infection is a prominent topic in hospitals. Infections may delay wound healing, increase the cost of treatment and in some cases lead to the patient's death. More than 75% of the deaths due to burns are caused by infections and systemic complications like septicaemia.¹ The emergence of antibiotic-resistant bacteria or superbugs makes infected wounds more difficult to cure. The bacteria responsible of infected wounds come from surroundings or from normal flora of the skin. Additionally, bacteria proliferate and form a biofilm which increases their resistance to antimicrobial treatment. Therefore, new approaches had to be developed in order to overcome this problem. Antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) is a promising alternative to inhibit microbes, and has already inspired the creation of innovative materials.^{2,3} Interesting results were achieved against Gram-positive bacteria, but it also appeared that Gram-negative strains, especially *Pseudomonas aeruginosa*, were less sensitive to aPDT.

In this work, we have developed cationic or neutral photosensitizers (PS) covalently bind to poly or oligosaccharides for photo-antimicrobial applications against different bacteria strains. In particular, we have developed a hydrogel from xylan, able to encapsulate photosensitizers. PS-loaded hydrogel showed a photocytotoxic effect against *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* strains, while no toxicity was observed in the dark.⁴

References :

- [1] P. G. Bowler et al., *Clin. Microbiol. Rev.* 2001, **4**, 244
- [2] M. Wainwright *J. Antimicrob. Chemother.* 1998, **42**, 13
- [3] L. Jiang, C. Ruey, R. Gan, J. Gao, X.J. Loh, *Small*, 2016, **27**, 3609-3644
- [4]: A. Elkihel; C. Christie; C. Vernisse; T-S Ouk; R. Lucas; V. Chaleix; V. Sol. *ACS Applied Bio Materials* 2021, **4**, 7204-7212 <https://doi.org/10.1021/acsabm.1c00760>

X-ray photodynamic therapy (X-PDT): state of the art, development and clinical application parameters

Batoul Dhaini ^{a,e*}, Joel Daouk ^b, Philippe Arnoux ^a, Samir Acherar ^c, Hervé Schohn ^b, Francois Lux ^d, Paul Rocchi ^d, Olivier Tillement ^d, Muriel Barberi-Heyob ^b, Tayssir Hamieh ^{e,f}
and Céline Frochot ^a

^a Université de Lorraine, CNRS, LRGP, Nancy, France

^b Université de Lorraine, CNRS, CRAN, Vandœuvre-lès-Nancy, France

^c Université de Lorraine, CNRS, LCPM, Nancy, France

^d Université de Lyon, CNRS, ILM, Lyon-69000, France

^e MCEMA, Laboratory of Materials, Catalysis, Environment and Analytical Methods, Faculty of Sciences I,
Lebanese University, Beirut, Lebanon

^f Faculty of Science and Engineering, Maastricht University, P.O. Box 616, 6200 MD Maastricht, The Netherlands

batoul.dhaini@univ-lorraine.fr

Mots-clés : X-Ray, Photodynamic therapy, cancer, nanoparticles, peptide, photosensitizer.

Résumé :

Surgery, chemotherapy and radiation therapy are the most common treatments for different types of cancer [1-3]. Recently, treatment with classical photodynamic therapy (PDT) of individual primary and metastatic tumors has shown very encouraged results, which was not the case with extensive multiple metastases. X-ray induced photodynamic therapy (X-PDT), which can treat deep tumors, is a promising technic [4].

The concept of X-PDT is to use agents capable of being excited by X-rays and can then emit photons. These photons may be reabsorbed by the conjugated photosensitizer through energy transfer. The energy is transferred to the surrounding oxygen which induces the destruction of tumor cells by reactive oxygen species and especially singlet oxygen. X-PDT is still in experiential testing to optimize the right conditions for clinical use [5].

We develop nanoparticles coupled to both a photosensitizer and a peptide to target specifically neuropilin-1 receptors. I will present the concept of X-PDT as well as our first results.

Références :

- [1] P. Nygren, "What is cancer chemotherapy?," *Acta Oncologica*, 2001, **40**, 166-174.
- [2] H. H. W. Chen and M. T. Kuo, *Oncotarget*, 2017, **8**, 62742-62758.
- [3] R. Sullivan, O. I. Alatis, B. O. Anderson, R. Audisio, P. Autier, A. Aggarwal, et al., *The Lancet Oncology*, 2015, **16**, 1193-1224
- [4] L. Larue, A. Ben Mihoub, Z. Youssef, L. Colombeau, S. Acherar, J. C. André, et al., *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2018, **17**, 1612-1650
- [5] A. Belanova, V. Chmykhalo, D. Beseda, M. Belousova, V. Butova, A. Soldatov, et al., *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2020, **19**, 1134-1144

Neutral porphyrin coupled with oligosaccharides for antimicrobial photodynamic therapy.

Vincent Sol^{a*}, Abdechakour Elkihel,^a Tan Sothea Ouk^a

^a University of Limoges, Laboratory PEIRENE EA 7500, 123 avenue A. Thomas 87060 Limoges, France.

* Email : vincent.sol@unilim.fr

Keywords : porphyrins, antimicrobial PDT, targeting, maltooligosaccharides, maltohexaose

Although photodynamic therapy was discovered over a hundred years ago for its ability to kill microorganisms, it has been developed mainly as an anti-cancer therapeutic treatment. Recently, with the increasing number of infections caused by multidrug-resistant (MDR) bacteria, Photodynamic Antimicrobial ChemoTherapy (PACT) is considered as a promising alternative antimicrobial approach whereby microbial cells will not be able to develop resistance.¹ Interesting results were achieved against Gram-positive bacteria, but it also appeared that Gram-negative strains were less sensitive to PACT. The most used photosensitizers in PACT are porphyrins and their derivatives.^{2,3} However, these compounds often suffer from a lack of selectivity against bacterial cells. In this work, a novel porphyrin derivative has been synthesized which offers an improved activity and targeting than a usual porphyrin. Neutral *meso*-tritolyldiporphyrins have been linked to a maltohexaose unit using a spacer arm and a reaction of cycloaddition (CuAAC). Used recently as a bacterial targeting agent for medical imaging with promising results,^{4,5} the maltohexaose enable a rapid internalization of diverse conjugates through the maltodextrin transport pathway. This highly selective binding of the photosensitizer to bacteria may increase its efficiency against bacterial strains. This new conjugate has been investigated for their antibacterial properties against four bacterial strains: two Gram (+) strains (*S. aureus* CIP76.25 ; *S. epidermidis* CIP109.562) and two Gram (–) strains (*E. coli* CIP54.8T ; *E. coli* CIP 53.126). The tests have shown that the coupling of the maltohexaose to neutral porphyrin significantly increases the photocytotoxicity against Gram (+) strains, while no cytotoxicity has been observed in dark condition. Moreover, the conjugate was able to inhibit the formation of biofilms of *S. aureus* and *S. epidermidis* after light irradiation. In addition of this efficiency, flow cytometry analyses have demonstrated that maltohexaose have increased the interaction of the PS on bacteria. In the near future, our work may lead to extensive studies for the design of specific targeting photosensitizer, which may reduce the photocytotoxicity on human cells. Thus, it may be applied to the formulation of dermatological ointments and creams.

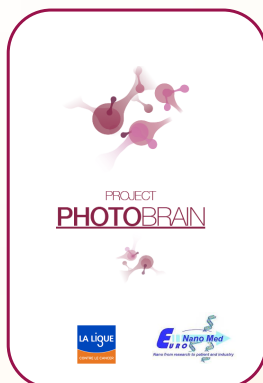
References :

- [1] T. Dai, Y.-Y. Huang, M. R. Hamblin, *Photodiagnosis Photodyn. Ther.*, 2009, **6**, 170–188.
- [2] F. Le Guern, V. Sol, C. Ouk, P. Arnoux, C. Frochot, et T.-S. Ouk, *Bioconjug. Chem.*, 2017, **28**, 2493–2506.
- [3] F. Le Guern *et al.*, *ACS Med. Chem. Lett.*, 2018, **9**, 11–16.
- [4] X. Ning *et al.*, *Nat. Mater.*, 2011, **10**, 602–607
- [5] X. Ning *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed Engl.*, 2014, **53**, 14096–14101.

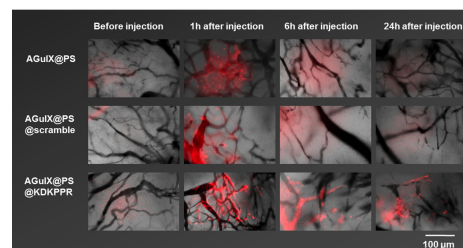
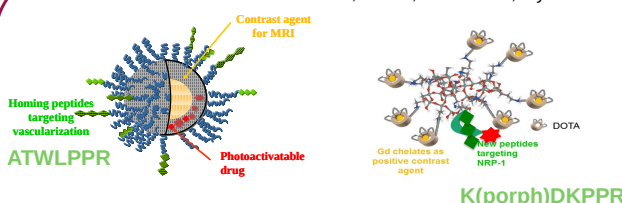
Nancy PDTEAM'S PROJECTS

M. Achard¹, S. Achera¹, J.C. André², P. Arnoux², M. Barberi-Heyob³, F. Baros², C. Boura³, J. Daouk³, A. Delconte³, B. Dhaini², C. Frochet², V. Jouan-Hureau³, S. Gorla⁴, M. Moineard², H. Schohn³, N. Thomas³

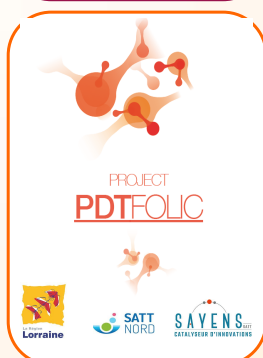
¹LCPM, UMR-CNRS 7375, Université de Lorraine, 1 rue Grandville, BP451, 54001 Nancy Cedex, France ; ²LRGP, UMR-CNRS 7274, Université de Lorraine, 1 rue Grandville, BP451, 54001 Nancy Cedex, France ; ³CRAN, UMR-CNRS 7039, Université de Lorraine, Campus Science, BP 70239, F-54506 Vandœuvre-lès-Nancy, France ; ⁴CREM, EA 3476, campus LSH, 23 bvd Albert 1^{er}, BP 60446, F-54001 Nancy Cedex, France.



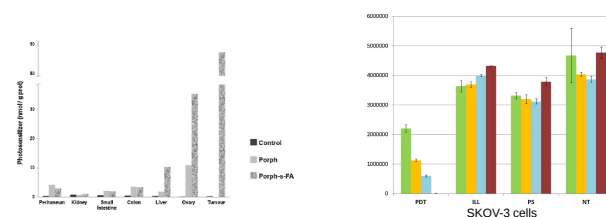
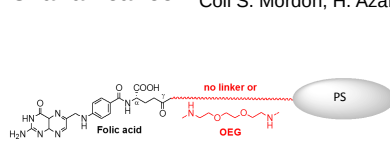
Glioblastoma Coll O. Tillement, F. Lux, UMR 5306, Lyon



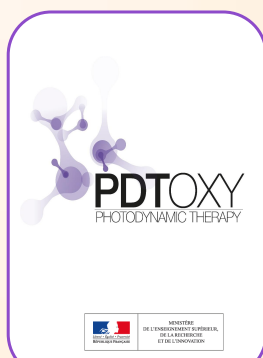
Tirand L. *et al.* J Control Release 2006 - Tirand L. *et al.* Drug Metab Dispos 2007 - Thomas N. *et al.* Photochem Photobiol Sci 2008 - Bechet D. *et al.* Trends Biotechnol 2008 - Tirand L. *et al.* Int J Radiat Oncol Biol Phys 2009 - Thomas N. *et al.* Biochem Pharm 2010 - Béchet D. *et al.* Pharm Res 2010 - Couleaud P. *et al.* Nanomedicine 2011 - Pernot M. *et al.* Expert Opin Drug Metab Toxicol 2011 - Benachour H. *et al.* Theranostics 2012 - Choukhat R. *et al.* Curr Med Chem 2012 - Sève A. *et al.* Photochem Photobiol Sci 2012 - Benachour H. *et al.* PLoS One 2012 - Truillet C. *et al.* Dalton Trans 2013 - Kamarulzaman E. E. *et al.* Int Mol Sci, 2015 - Bechet D. *et al.* Nanomedicine NBM 2015 - Kamarulzaman E. E. *et al.* J Biomol Struct Dyn 2016 - Mohd Gazzali *et al.* Tetrahedron, 2017 - Thomas *et al.*, Int J Nanomedicine 2017 - Toussaint *et al.*, Theranostic, 2017 - Lux *et al.*, Br J Radiol, 2019



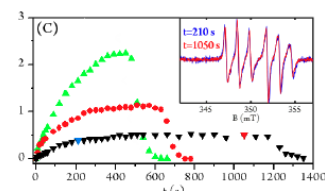
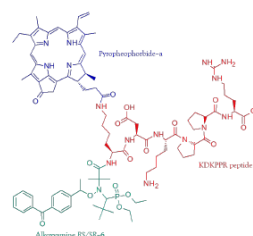
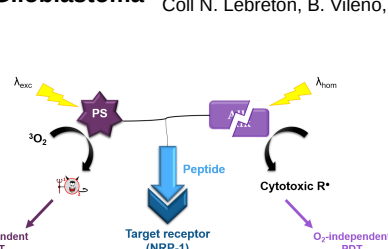
Ovarian cancer Coll S. Mordon, H. Azaïs, INSERM U1189, Lille – N. Delhem, O. Morales, M. Baydoun, L. Boidin UMR 8161, Lille



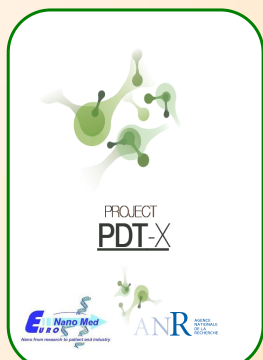
Schneider R. *et al.* Bioorg Med Chem 2005 - Gravier J. *et al.* J Med Chem 2008 - Morosini V. *et al.* Photochem Photobiol Sci, 2011 - Azaïs H. *et al.* Bulletin du cancer, 2014 - Stallivieri *et al.* Curr Med Chem 2015 - Azaïs H. *et al.* Phot Phot 2015 - Azaïs H. *et al.* Int J Gynecol Cancer 2016 - Mohd Gazzali A. *et al.* Eur J Pharm Sci 2016 - Azaïs H. *et al.* Photodiagnosis Photodyn Ther 2016 - Azaïs H. *et al.* Gynécologie Obstétrique et Fertilité 2017 - Stallivieri *et al.* Bioorg Med Chem 2017 - Patent WO2019016397 (A1) January 24th 2019



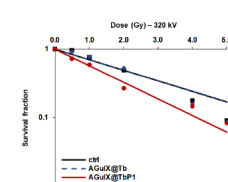
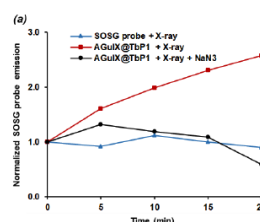
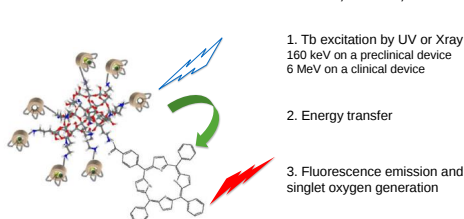
Glioblastoma Coll G. Audran, S. Marque, ISM2 UMR 7313 CNRS-Aix Marseille Université, Marseille Coll N. Lebreton, B. Vileno, ICS UMR 7177 CNRS-Université de Strasbourg, Strasbourg



Larue L. *et al.* Pharmaceuticals 2019 - Larue L. *et al.*, ACS Applied Bio Materials, 2021



Glioblastoma Coll O. Tillement, F. Lux, P. Rocchi ILM, Lyon



Bulin A. L. *et al.* J Phys Chem 2013 - Réf P. *et al.* Theranostics 2015 - Choukhat R. *et al.* Phot. Phot. 2017 - Larue L. *et al.* Photochem Photobiol Sci 2018 - Daouk J. *et al.* Pharmaceuticals 2021

Mesothelioma Coll S. Mordon, C. Vicentini, C. Munck, INSERM U1189, Lille - V. Anne, Hôpitaux privés de Metz, Metz

Surgery P/D+ chemotherapy
Versus
Surgery P/D+ chemotherapy + PDT



Actinic keratosis
Topic treatment
versus
PDT



Goria S. *et al.*, Recherche en communication 2019



Tricots lumineux pour la PDT *in vitro* : Caractérisation et application sur des lignées de cellules cancéreuses humaines

Élise Thécua^{a, b, *}, Laurine Ziane^a, Guillaume Paul Grolez^a, Alexandre Fagart^{a, c}, Olivier Morales^a, Bertrand Leroux^a, Gregory Baert^a, Pascal Deleporte^a, Maximilien Vermandel^a, Anne-Sophie Vignion-Dewalle^a, Nadira Delhem^a et Serge Mordon^a

^a U1189-ONCO-THAI-Thérapies Assistées par Lasers et Immunothérapies pour l'Oncologie, CHU Lille, Inserm, Univ. Lille, F-59000 Lille, France

^b MDB TEXINOV, F-38110 Saint-Didier de la Tour, France

^c Département de Médecine Nucléaire, CHU Lille, F-59000 Lille, France

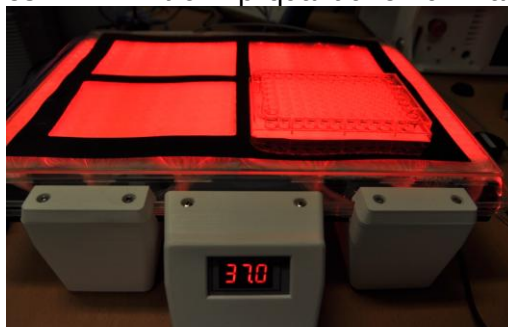
* elise.thecua@inserm.fr

Mots-clés : thérapie photodynamique ; textile lumineux ; dispositif *in vitro* ; fibres optiques

Résumé :

La thérapie photodynamique (PDT) est une modalité thérapeutique innovante, qui suscite un intérêt grandissant en oncologie depuis quelques années. Le principe de cette thérapie repose sur une réaction photochimique locale induite par la mise en lumière de tissus biologiques préalablement photosensibilisés. La lumière joue un rôle clé dans l'effet thérapeutique de la PDT [1]. D'abord, la longueur d'onde de la lumière doit permettre l'activation du PS. Ensuite, la distribution de la lumière doit être homogène sur l'ensemble de la zone à traiter. Enfin, les paramètres d'illumination doivent maximiser l'efficacité du traitement et optimiser la consommation de l'oxygène. Or, que les études précliniques portent sur un modèle cellulaire ou animal, aucun dispositif d'éclairage ne s'est encore imposé comme la référence.

Pour répondre à cette carence, un dispositif d'illumination dédié à la PDT *in vitro* a été développé au sein du laboratoire OncoThAI [2]. Ce nouveau dispositif, appelé CELL-LEF, est composé de tricots lumineux (FluxMedicare®, MDB TEXINOV, France) d'une surface totale d'environ 750 cm². Le dispositif délivre un éclairement énergétique de 1 mW/cm² (moyenne : 0,99 mW/cm² ; écart type : 0,13 mW/cm²) sur une surface suffisamment grande pour illuminer simultanément quatre plaques 96 puits. En outre, CELL-LEF dispose d'un système de chauffage permettant de maintenir une température moyenne à la surface de 35,1 °C (min : 30,7 °C ; max : 38,4 °C), empêchant ainsi la température des cellules de décroître jusqu'à la température ambiante. Enfin, une preuve de concept de CELL-LEF est apportée par le biais d'une étude cytotoxique *in vitro* de la PDT médiée au 5-ALA sur deux lignées cellulaires cancéreuses humaines (HepG2 et U87). Les résultats de cette étude montrent que la PDT administrée avec le dispositif CELL-LEF induit une diminution de la viabilité des cellules tumorales. En effet, une diminution de près de 100 % (resp. 60%) de la viabilité des cellules de HepG2 (resp. U87) a été observée après 80 minutes d'illumination. Le dispositif CELL-LEF est ainsi particulièrement adapté aux études PDT *in vitro* impliquant une illumination de longue durée.



Photographie du CELL-LEF

Références :

1. Palumbo, G., *Photodynamic therapy and cancer: a brief sightseeing tour*. Expert Opin Drug Deliv, 2007. **4**(2): p. 131-48.
2. Thécua, E., et al., *A Warp-Knitted Light-Emitting Fabric-Based Device for In Vitro Photodynamic Therapy: Description, Characterization, and Application on Human Cancer Cell Lines*. Cancers (Basel), 2021. **13**(16).

THE SYNTHESIS AND CHARACTERISATION OF LIPID-PORPHYRIN CONJUGATES FOR THE TREATMENT OF BACTERIAL BIOFILMS.

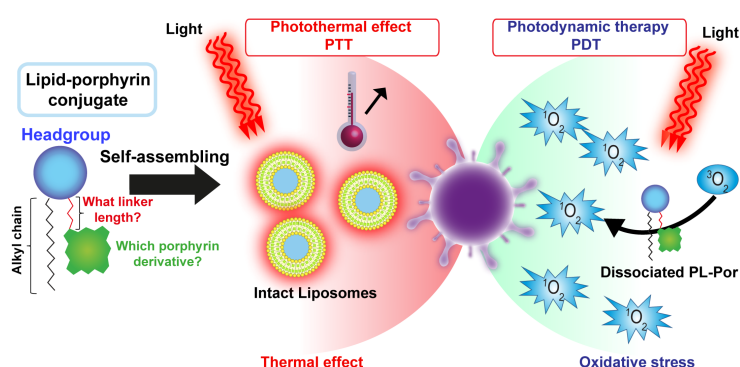
Louis-Gabriel BRONSTEIN^a, Paul CRESSEY^a, Rayene BENHAMOUDI^b, Véronique ROSILIO^a,
Christophe REGEARD^b and Ali MAKKY^a

^a Institut Galien Paris-Sud, CNRS UMR 8612, Univ Paris-Saclay, Châtenay-Malabry, France

^b Institut de Biologie Integrative de la Cellule, CNRS UMR 9198, Univ Paris-Saclay, Gif-sur-Yvette, France

Bacterial biofilm infections cause chronic and persistent infections and as such are a global threat to human life. Traditional antibiotic therapies are inefficient at eradicating biofilms, as biofilms form a robust barrier inhibiting the penetration of drugs which protects the pathogens inside the biofilm¹. Therefore, there is an urgent need to develop new efficient antibacterial strategies to efficiently fight against bacterial biofilm infections. Recently, photodynamic therapy (PDT) and photothermal therapy (PTT) have been considered as a promising new antibiotic treatment modality for bacterial biofilm, as when coupled with noninvasive light irradiation, PDT/PTT efficiently destroy pathogenic bacteria and disrupt their biofilms without causing major damage to healthy surrounding tissues². Phospholipid-porphyrin conjugates (PL-Por) have been well documented in the development of smart drug delivery systems due to their unique supramolecular assemblies that exhibit multifunctional properties such as PTT, PDT, photoacoustic imaging (PA) and phototriggered release [3-5]. Indeed, PL-Por conjugates can self-assemble into liposome-like structures (porphysomes) with densely packed porphyrin molecules. In these nanoassemblies, the fluorescence of the porphyrin photosensitizer (PS) is quenched, so that upon illumination they become efficient cytotoxic photothermal agents (PTT). These nanostructures can regenerate their photodynamic activity (PDT) *in situ*, via the passive breakdown of the porphysomes in the organism releasing the PL-Por.

A small library of 6 PL-Por conjugates was successfully synthesized by coupling either Pheophorbide-a or Pyropheophorbide-a to modified lysophosphatidylcholine backbones that exhibit different linker length (2, 3 and 4 carbons). The newly synthesized PL-Por were characterized and successfully formulated into stable porphysomes. Their photothermal and photodynamic efficiency was also studied, and the efficacy of the most promising formulation was evaluated on planktonic *S. Aureus* and *P. aeruginosa* planktonic and biofilm cultures.



References:

1. J.W Costerton, P.S. Stewart, E.P. Greenberg, *Sciences*, **1999**, 1318-1322
2. I. Kanwar, A.K. Sah, P.K. Suresh, *Curr. Med. Chem.*, **2016**, 2084-2095
3. J. F. Lovell, C. S. Jin, E. Huynh, H. Jin, C. Kim, J. L. Rubinstein, W. C. Chan, W. Cao, L. V. Wang and G. Zheng, *Nat Mater*, **2011**, 10, 324-332.
4. J. Massiot, V. Rosilio, N. Ibrahim, A. Yamamoto, V. Nicolas, O. Konovalov, M. Tanaka and A. Makky, *Chemistry – A European Journal*, **2018**, 24, 19179-19194.
5. J. Massiot, V. Rosilio and A. Makky, *Journal of Materials Chemistry B*, **2019**, 7, 1805-1823.

Efficacité de la chirurgie combinée à la thérapie photodynamique dans le traitement du glioblastome induite par le rétablissement d'un environnement immunologique favorable

Guillaume Paul Grolez^{a,b}, Laura Guérin^{a,b}, Bertrand Leroux^{a,b}, Fabienne Lecomte^e, Clément Dupont^e, Olivier Moralès^{a,d}, Maximilien Vermandel^e, Anne-Sophie Vignon-Dewalle^{a,b}, Nicolas Reyns^{a,b,c} and Nadira Delhem^{a,b*}

^a Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, U1189 - ONCO-THAI, F-59000 Lille, France

^b Inserm, U1189, F-59000 Lille, France

^c Département de Neurochirurgie, CHU Lille, 59000 Lille, France

^d CNRS UMS 3702, F-59000, Lille, France

^e Hemerion Therapeutics SAS, Lille, France

* nadira.delhem@inserm.fr

Mots-clés : Glioblastome ; Therapie Photodynamique; Immuno-monitoring

Résumé :

Le glioblastome est une tumeur primaire agressive pour laquelle les principales thérapies n'entraînent pas une augmentation significative de la survie sans progression des patients, principalement en raison de l'établissement d'un environnement immunosuppresseur au sein du glioblastome. La thérapie photodynamique est un outil prometteur dans la gestion du cancer puisqu'elle semble être capable d'induire une régulation de la réponse immunitaire [1]. Dans cette étude, nous avons réalisé un immunomonitoring sur des échantillons sanguins de 6 patients atteints de glioblastome traités par chirurgie combinée à la thérapie photodynamique au 5-ALA qui a permis d'augmenter la survie sans progression des patients jusqu'à plus de 24 mois chez les patients stables (étude pilote INDYGO, NCT03048240) [2]. Nous avons étudié la régulation de la réponse immunitaire induite par le traitement combiné chirurgie/PDT par cytométrie de flux et dosage de la sécrétion de cytokines. Nous avons montré que cette combinaison est capable d'induire une augmentation de la prévalence des cellules dendritiques et des cellules T effectrices associée à une sécrétion de cytokines Th1 chez les patients stables ce qui semble indiquer l'instauration d'une réponse immunitaire anti-tumorale. Cette étude consolide l'hypothèse d'une régulation de la réponse immunitaire vers une réponse anti-tumorale induite par la thérapie photodynamique au 5-ALA chez les patients stables 24 mois après la PDT per-opératoire. Cette immunostimulation pourrait expliquer l'efficacité de la combinaison chirurgie/PDT dans le traitement du glioblastome en rétablissant un environnement immunologique favorable et efficace.

Références :

1. Falk-Mahapatra, R.; Gollnick, S.O. Photodynamic Therapy and Immunity: An Update. *Photochem. Photobiol.* **2020**, *96*, 550–559, doi:10.1111/PHP.13253.
2. Vermandel, M.; Dupont, C.; Lecomte, F.; Leroy, H.A.; Tuleasca, C.; Mordon, S.; Hadjipanayis, C.G.; Reyns, N. Standardized intraoperative 5-ALA photodynamic therapy for newly diagnosed glioblastoma patients: a preliminary analysis of the INDYGO clinical trial. *J. Neurooncol.* **2021**, *152*, 501–514, doi:10.1007/s11060-021-03718-6.

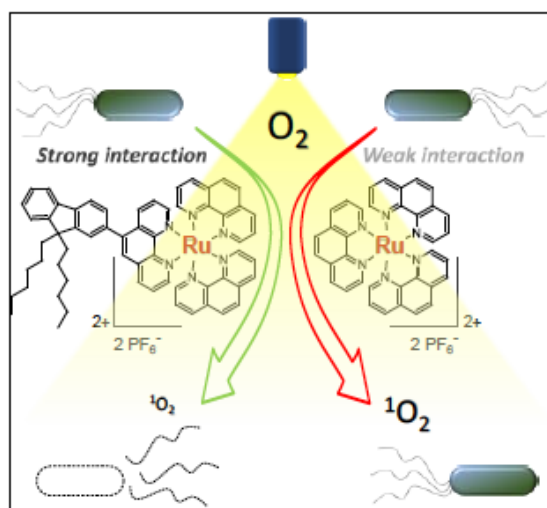
Ru(II)-polypyridyl complexes as linear and nonlinear photosensitizers in (a-)PDT

Sylviane Chevreux,^a Raphaëlle Youf,^b Tony Le Gall,^b Franck Thétiot,^c Mareike Müller,^e Ulrich Jonas,^d Holger Schönherr,^e Tristan Montier,^b Gilles Lemerrier^{a,*}

^a Coordination Chemistry Group, ICMR UMR CNRS 7312, Université de Reims Champagne Ardenne (URCA), BP 1039, 51687 Reims Cedex 2, France, ^b Gene Transfer and Gene Therapy Team, UMR INSERM 1078 ("Génétique, Génomique Fonctionnelle et Biotechnologies"), Université de Brest (UBO), CHRU de Brest, CS 93837, 29238 Brest, France, ^c UMR CNRS 6521, Université de Brest (UBO), CS 93837, 29238 Brest, France, ^d Macromolecular Chemistry, Department of Chemistry and Biology, University of Siegen, Adolf-Reichwein-Str. 2, 57076, Siegen, Germany, ^e Physical Chemistry I and Research Center of Micro- and Nanochemistry and Engineering (Cμ), Department of Chemistry and Biology, University of Siegen, Adolf-Reichwein-Str. 2, 57076, Siegen, Germany

* gilles.lemercier@univ-reims.fr

The research activity of our group deals with the fundamental aspects and potential applications¹ of molecular and (self-organized)² Ru(II)-based edifices. We will more particularly describe (i) the characterizations of original Ru(II) complexes³ and related ³MLCT excited-states, (ii) the elaboration of related nano-edifices,⁴ for potential application in photodynamic therapy (PDT) and two-photon induced PDT (2PI-PDT). A preliminary study on the use of these complexes as PS in anti-bacterial activity (a-PDT) is described (see Figure 1).⁵



1. G. Lemerrier, M. Four, S. Chevreux, *Coord. Chem. Rev.*, **2018**, 368, 1
2. X. Sun, X. Yao, F. Lafalet, G. Lemerrier, J.-C. Lacroix; *J. Phys. Chem. Lett.*, **2019**, 10, 4164; Van Q. Nguyen, X. Sun, F. Lafalet, J.-F. Audibert, F. Miomandre, G. Lemerrier, F. Loiseau, J.-C. Lacroix, *J. Am. Chem. Soc.*, **2016**, 138, 9381
3. C. Boca, M. Four, A. Bonne, B. van Der Sanden, S. Astilean P. L. Baldeck G. Lemerrier, *Chem. Commun.*, **2009**, 4590
4. S. Lechevallier, R. Mauricot, H. Gros-Dagnac, S. Chevreux, G. Lemerrier, E. Phonesouk, M. Golzio, M. Verelst, *ChemPlusChem.*, **2017**, 82, 770
5. G. Lemerrier, M. Four, S. Chevreux, *Coord. Chem. Rev.*, **2018**, 368, 1.

Porphyrin and Phthalocyanine Derivatives as Two-photon Photosensitizers for photodynamic therapy

[Christine Paul-Roth](#), [Olivier Mongin](#), [Frédéric Paul](#),

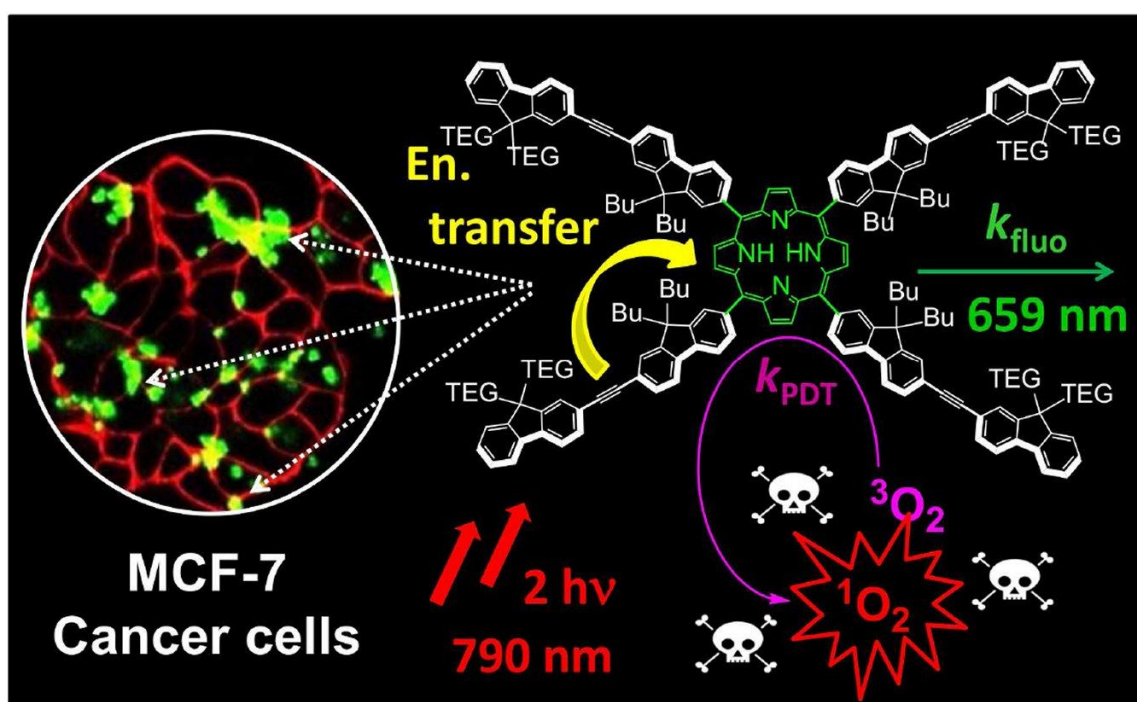
Univ Rennes, INSA Rennes, CNRS, ISCR (Institut des Sciences Chimiques de Rennes) –
UMR 6226, F-35000 Rennes, France

christine.paul@insa-rennes.fr

Mots-clés : Porphyrin; Phthalocyanine; Fluorenyl; Dendrimer; Photosensitizers

Résumé :

La thérapie photodynamique (PDT), une technique émergente pour le traitement de cancers et d'autres maladies (affections microbiennes, dégénérescence maculaire liée à l'âge), nécessite l'utilisation d'un photosensibilisateur (PS) non-toxique pouvant être excité par un (PDT-1P) ou deux (PDT-2P) photons pour conduire à la formation d'oxygène singulet (1O_2) toxique. Contrairement aux traitements conventionnels, la PDT a des effets secondaires faibles grâce à la courte durée de vie de l' 1O_2 dans les milieux biologiques et à la sélectivité spatiale de l'irradiation¹. La PDT-2P est une technique innovante permettant notamment une pénétration tissulaire plus profonde et un meilleur contrôle spatial de la production d'oxygène singulet que la PDT-1P². A Rennes, notre groupe développe depuis 20 ans de nombreuses séries de porphyrines (PP) pour l'optique et a identifié récemment des PP remarquables pour l'application en PDT-2P. Cependant, ces PP hydrophobes ne peuvent pas être utilisées telles quelles pour des applications en PDT. Notre approche consiste en la synthèse d'analogues biocompatibles obtenus via le greffage de triéthylène glycol (TEG) afin de les rendre hydrosolubles. Ces PP-TEG sont bien internalisées dans des cellules cancéreuses (MCF-7) tout en conservant un bon rendement de fluorescence (3%). De plus après irradiation laser (NIR), la viabilité cellulaire a été réduite d'environ 70%, alors qu'en absence d'irradiation, aucune toxicité vis-à-vis des cellules n'est observée (Coll. M Gary-Bobo, Montpellier)².



La thérapie photodynamique

Références :

[1] Ash et al., *Lasers in Medical Science*, 2017, **32**, 1909; Dabrowski et al., *Coordination Chemistry Reviews*, 2016, **325**, 67; Yoon et al., *Clinical Endoscopy*, 2013, **46(1)**. [2] Shi et al., *ChemCom*, 2019, **55**, 12231.

Photodynamic Carbonic anhydrase IX Inhibitors: Towards Synergistic Therapy against Hypoxic Tumors

Amina Merabti^{a, b}, Sébastien Richeter^a, Alessio Nocentini,^c Claudiu T. supuran,^c Sébastien Clément^a and Jean-Yves Winum^b

^a ICGM, Univ. Montpellier, CNRS, ENSCM, Montpellier, France

^b IBMM, Univ. Montpellier, CNRS, ENSCM, Montpellier, France

^cNeurofarba Department, Sezione di Chimica Farmaceutica, Via Ugo Schiff 6, University of Florence, 50122 Sesto Fiorentino (Florence), Italy.

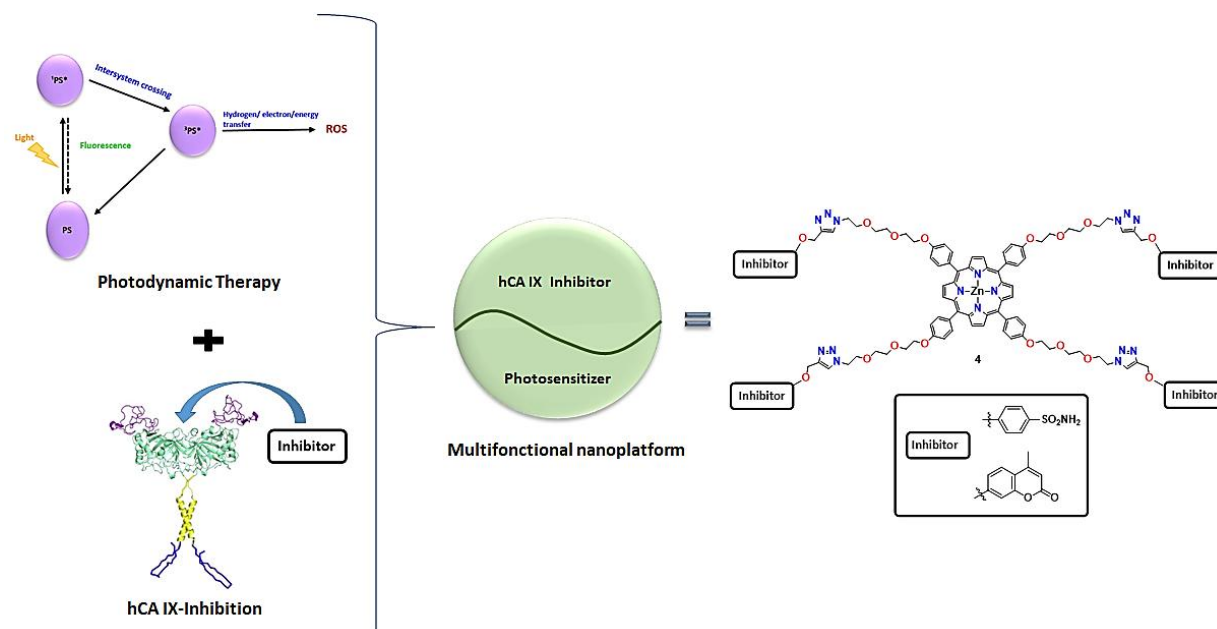
* amina.merabti@umontpellier.fr

Key words: Photodynamic therapy, photosensitizer, hypoxia, reactive oxygen species (ROS), carbonic anhydrase IX inhibitors.

Abstract:

Cancer is a multifaceted disease and one of the leading causes of death worldwide, responsible for 9.6 million deaths and affecting almost 18.1 million new cases in 2018¹. Among the therapeutic armamentarium against cancer, photodynamic therapy (PDT) has gained increasing interest and is currently used in clinic. In PDT, a photosensitizer (PS) can absorb energy from lasers to convert oxygen to cytotoxic reactive oxygen species (ROS), directly killing tumor cells by necrosis or apoptosis. However, the efficacy of PDT is largely impaired by the deficient oxygen supply in solid tumors where hypoxia commonly exists. How to enhance the PDT efficiency is still a research hotspot due to the tumor hypoxia and insufficient dosage of photosensitizers in the tumor site².

In this context, our strategy relies on the co-delivery of a photosensitizer and a carbonic anhydrase IX inhibitor in order to overcome the hypoxic microenvironment of CAIX-overexpressing tumors via down-regulation of CA IX activity. This approach could result in significantly enhanced PDT effect and improve significantly antitumor activity against aggressive cancer³. Herein, we report in particular the synthesis of porphyrin photosensitizers integrating carbonic anhydrase IX inhibitor moieties as well as some preliminary studies on their inhibitory activity and their photo physical and photosensitizing properties.



References:

1. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>.
2. B. W. Henderson, T. J. Dougherty, J. Photochem. Photobiol. 1992, 55, 145-157.
3. Y. Sun, D. Zhao, G. Wang, Y. Wang, L. Cao, J. Sun, Q. Jiang, Z. He, Acta Pharmaceutica Sinica B 2020, 10, 1382-1396

Interstitial photodynamic therapy for glioblastomas: a standardized procedure for clinical use

Authors : Henri-Arthur Leroy, MD^{1,2}, Grégory Baert², Laura Guérin, PhD², Nadira Delhem PhD,² Serge Mordon, PhD,² Nicolas Reyns, MD, PhD^{1,2}, Anne-Sophie Vignion, PhD²

Affiliation:

¹ CHU Lille, Department of Neurosurgery, F-59000 Lille, France.

² INSERM, CHU-Lille, U1189-ONCOTHAÏ-Assisted Laser Therapy and Immunotherapy for Oncology, Univ-Lille, F-59000 Lille, France.

Mots-clés : interstitial, photodynamic therapy, glioblastoma, brain tumor, treatment planning system

Résumé :

Glioblastomas (GBM) are high-grade malignancies with a poor prognosis. The current standard of care for GBM is maximal surgical resection followed by radiotherapy and chemotherapy. Despite all these treatments, the overall survival is still limited, with a median of 15 months. For patients harboring inoperable GBM, due to their anatomical location or poor general condition, the life expectancy is even worse. The challenge of managing GBM is therefore to improve the local control especially for non-surgical patients.

Interstitial photodynamic therapy (iPDT) is a minimally invasive treatment relying on the interaction of light, photosensitizer and oxygen. In the case of brain tumors, iPDT consists in introducing one or several optical fibers in the tumor area, without large craniotomy, to illuminate the photosensitized tumor cells. It induces necrosis and/or apoptosis of the tumor cells, and it can destruct the tumor vasculature, and produces an acute inflammatory response that attracts leukocytes.

Interstitial PDT has already been applied in the treatment of brain tumors with very promising results. However, no standardized procedure has emerged from previous studies. Here in, we propose a standardized and reproducible workflow for the clinical application of iPDT to GBM. This workflow, which involves intraoperative imaging, a dedicated treatment planning system (TPS) and robotic assistance for the implantation of stereotactic optical fibers, represents a key step in the deployment of iPDT for the treatment of GBM. This end-to-end procedure has been validated on a phantom in real operating room conditions.

The thorough description of a fully integrated iPDT workflow is an essential step forward to a clinical trial to evaluate iPDT in the treatment of GBM.

Utilisation de nanoscintillateurs composés de terres rares pour induire de la thérapie photodynamique à l'aide de rayons X

Clémentine Fulbert ^{*a}, Sarah Stelse-Masson ^a, Frédéric Chaput ^b, Thibault Jacquet ^a, Anthony Nomezine ^a, Sylvain Bohic ^a, Dennis Brueckner ^c, Jan Garrevoet ^c, Hélène Elleaume ^a, Anne-Laure Bulin ^a

^a Univ. Grenoble Alpes, Inserm UA07 STROBE, Grenoble, France

^b École Normale Supérieure de Lyon, CNRS - Université Claude Bernard, France

^c Deutsches Elektronen-Synchrotron DESY, Notkestrasse 85, Hambourg, Allemagne

* clementine.fulbert@univ-grenoble-alpes.fr

Mots-clés : Nanoscintillateurs, Cancer du pancréas, Thérapie photodynamique induite par rayons X, Rayonnement synchrotron, Radiothérapie

Résumé :

Le cancer du pancréas est associé à un mauvais pronostic vital pour les patients, malgré des traitements combinés qui comprennent la chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie. La thérapie photodynamique (PDT) est une thérapie prometteuse qui repose sur l'activation de photosensibilisateurs par la lumière afin d'induire localement des dommages cellulaires. Cependant, son utilisation pour les tumeurs pancréatiques est fortement limitée, comme pour de nombreuses tumeurs profondes, en raison de la faible profondeur de pénétration de la lumière dans les tissus. Pour pallier cette limitation, il a été proposé d'utiliser des nanoscintillateurs qui convertissent les rayonnements ionisants, tels que les rayons X utilisés en radiothérapie, en photons UV/visible. Ces nanoparticules suscitent un intérêt grandissant en tant qu'agents radiothérapeutiques car elles pourraient améliorer l'efficacité de la radiothérapie par différentes voies, dont l'activation de la PDT.

L'objectif de notre projet est de conjuguer ces nanoscintillateurs avec des photosensibilisateurs afin d'activer la PDT au cours de la radiothérapie (Fig. 1). Nous supposons que l'effet antitumoral sera une combinaison d'au moins trois effets : la radiothérapie, la PDT et l'effet d'augmentation de dose¹. Ce dernier effet est dû à l'accumulation intra-tumorale d'éléments à haut Z, qui absorbent plus efficacement les rayons X de basse énergie (<250 keV) par rapport aux tissus, par le biais d'interactions photoélectriques. Ce phénomène induit un dépôt excessif d'énergie par les photo-électrons et les électrons Auger à proximité des nanoparticules, entraînant des dommages tissulaires.

Lors du développement de nanoparticules pour des applications biologiques, le choix du revêtement est primordial car il peut modifier la localisation intracellulaire et intratumorale des nanoscintillateurs. Ce paramètre est d'autant plus important que les nanoscintillateurs devraient a priori se situer à l'intérieur des cellules tumorales pour induire plus efficacement la PDT. Nous présentons ici nos résultats obtenus avec des nanoscintillateurs de LaF₃:Ce recouverts de polyphosphate ou de polyéthylène glycol. Nous avons étudié leurs propriétés physiques, biologiques et thérapeutiques à l'aide de modèles 2D et 3D de tumeurs pancréatiques, cultivées sous forme de microtumeurs adhérentes ou en suspension. Nous avons analysé la distribution des nanoscintillateurs à l'intérieur de cellules cancéreuses ainsi que dans des sphéroïdes cellulaires en utilisant la microscopie (2D) ou la microtomographie (3D) par fluorescence X. Les expériences ont été réalisées au synchrotron européen de Grenoble (ID16, ESRF) et au synchrotron allemand de Hambourg (P06, PETRA III, DESY), respectivement.

Références :

[1] A-L. Bulin et al., *Advanced Science*, 2020, **7**, 2001675

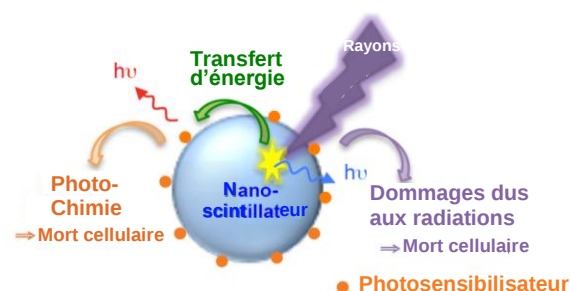


Fig. 1: Effets de la thérapie photodynamique induite par un nanoscintillateur lors d'une irradiation par rayons X

Gel photoactif à base de talc synthétique et d'un complexe de rhénium(I) : vers un nouvel agent de photothérapie antimicrobienne

Suzanne Fery-Forgues^a, Marie Goizet^a, Alexandre Poirot^a, Fernanda Gonçalves^a,
Eric Benoist^a, François Martin^b, Pierre Micoud^b, Christophe Le Roux^b

^a Laboratoire SPCMIB, Université Toulouse 3, 118 route de Narbonne, 31062 Toulouse

^b Laboratoire Géosciences Environnement Toulouse (GET),
16 avenue Edouard Belin, 31062 Toulouse

* sff@chimie.ups-tlse.fr

Mots-clés : Monoxyde de carbone ; hydrogel ; hybride organo-minéral ; antimicrobien

Résumé :

Les bactéries résistantes aux antibiotiques font peser une menace majeure sur la santé publique, si bien que des solutions alternatives sont activement recherchées pour contrer leur développement. Le monoxyde de carbone (CO) est un puissant agent antibactérien [1,2], mais ce gaz très toxique est difficile à manipuler. Le but de notre projet est de mettre au point un gel permettant de produire du CO *in situ* sous l'effet de la lumière, de manière parfaitement contrôlée. Ce matériau innovant permettrait de combattre les bactéries antibiorésistantes, et pourrait être utilisé par exemple comme topique pour soigner les plaies ou éliminer les biofilms.

Pour cela, nous avons associé un complexe de tricarbonylrhénium(I) (**cRe**) [3] avec un talc synthétique (**TS**) [4] (Fig.1). En milieu aqueux, le complexe **cRe** positivement chargé a une forte affinité pour le **TS** qui est constitué de petites lamelles d'épaisseur nanométrique offrant de multiples sites d'interaction. La capacité d'adsorption, très élevée, a été déterminée par spectroscopie d'absorption UV-vis. La suspension obtenue présente une bonne activité photochimique : sous excitation lumineuse, chaque molécule de **cRe** libère rapidement dans le milieu une molécule de CO, puis le complexe décarbonylé continue à produire sur le long terme de l'oxygène singulet $^1\text{O}_2$ avec un rendement modéré. Une simple ultracentrifugation de la suspension de **TS/cRe** permet d'obtenir un hydrogel très stable d'un point de vue chimique. L'association de deux agents antimicrobiens (CO et $^1\text{O}_2$) pourrait conduire à une photothérapie efficace.

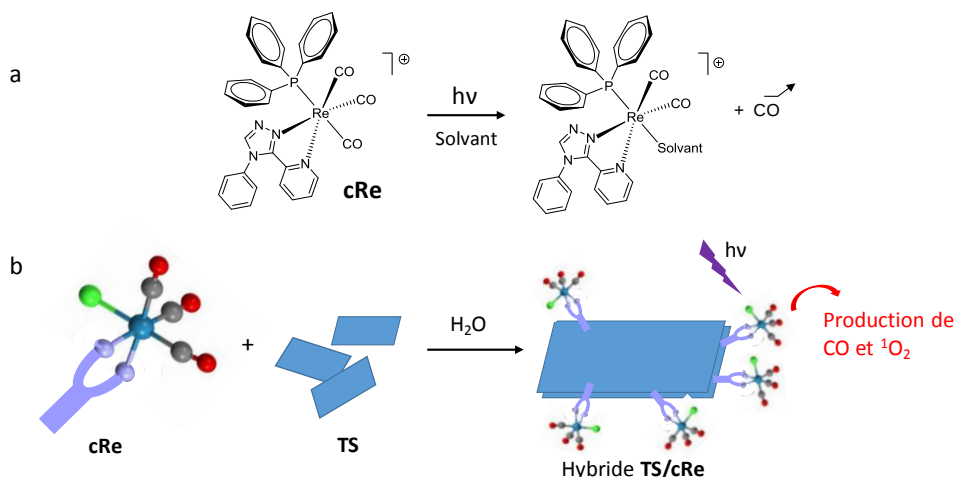


Fig. 1 : a) Réaction photochimique du complexe de rhénium(I) **cRe**. b) Formation de l'hybride **TS/cRe** et photoréactions en suspension aqueuse.

Références :

- [1] L. S. Nobre ; H. Jeremias ; C. C. Romão ; L. M. Saraiva. *Dalton Trans.* 2016, **45**,1455–1466.
- [2] J. Betts ; C. Nagel ; U. Schatzschneider ; R. Poole ; R. M. La Ragione. *PLOSone*, 2017, **12**(10): e0186359.
- [3] A. Hernandez-Meías ; A. Poirot ; M. Rmili ; N. Leygue ; M. Wolff ; N. Saffon-Merceron ; E. Benoist ; S. Fery-Forgues. *Dalton Trans.* 2021, **50**, 1313–1323.
- [4] M. Claverie ; A. Dumas ; C. Carême ; M. Poirier ; C. Le Roux ; P. Micoud ; F. Martin ; C. Aymonier. *Chem. Eur. J.* 2018, **24**, 519–542.

Radioluminescent nanoparticles and deep-tissue photodynamic therapy to enhance radiotherapy efficacy

S. Stelse-Masson ¹, T. Jacquet ¹, C. Fulbert ¹, M. Broekgaarden ^{1,2}, K. Popovich ³,
A. Nomezine ¹, E. Mihokova ⁴, V. Cuba ³, H. Elleaume ¹, A-L. Bulin ¹

¹ Synchrotron Radiation for Biomedicine, Grenoble Alpes Univ. (UGA), INSERM UA7, Grenoble, France

² Institute for Advanced Bioscience, UGA, INSERM U1209, Grenoble, France

³ Department of Nuclear Chemistry, FNSPE, Czech Technical University in Prague, Czech Republic

⁴ Institute of Physics, Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic

anne-laure.bulin@inserm.fr

Key words: Radiotherapy, X-Ray Induced photodynamic therapy, Nanoscintillators, Radiation dose-enhancement [5 au maximum]

Summary:

Photodynamic therapy (PDT) is an anticancer therapy that relies on the light activation of non-toxic photosensitizers. As the excitation light lies in the visible range, it only penetrates a few mm in tissues. Therefore, the application of PDT is limited to superficial or optic-fiber accessible tumors. In order to overcome this major limitation, it has been proposed to leverage the particular properties of scintillating nanoparticles. These nanoparticles down-convert ionizing radiation into visible light, and can therefore act as internal light sources remotely activated by the penetrating X-rays used in radiotherapy to activate deep tissue PDT ¹. Proof-of-concept studies have been published, yet the therapeutic mechanisms remain to be fully understood. When using nanoscintillators in combination with radiotherapy, mechanisms other than PDT can indeed be activated. As nanoscintillators are typically made of high-Z elements, we hypothesized the existence of the purely physical radiation dose-enhancement effect. This effect is initiated by a higher photoelectric absorption of orthovoltage X-rays (< 250 keV) by high-Z elements compared to soft tissues, which leads to a higher production of photo- and Auger electrons that enhance the damage to cancer tissues ². In this communication, we will present the results we recently obtained with $\text{Lu}_3\text{Al}_5\text{O}_{12}:\text{Pr}$ nanoscintillators conjugated to protoporphyrin IX as a photosensitizer. More specifically, we will present the ability of these nanoconjugates to enhance the efficacy of radiotherapy through different mechanisms.

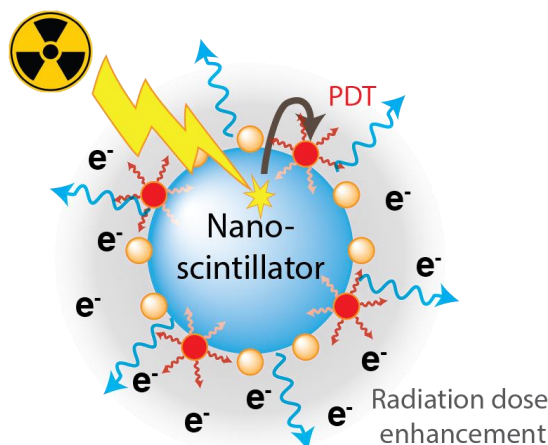


Fig. 1: Radiotherapeutic contributions that can be activated when using $\text{Lu}_3\text{Al}_5\text{O}_{12}:\text{Pr}@\text{PpIX}$ nanoconjugates in combination with radiotherapy

References:

- [1] Sun W. *et al.* (2020) Nanoscintillator-mediated X-ray induced photodynamic therapy for deep-seated tumors: from concept to biomedical applications, *Theranostics* **10**
- [2] Bulin A-L. *et al.* (2020) Radiation dose-enhancement is a potent radiotherapeutic effect of rare-earth composite nanoscintillators in preclinical models of glioblastoma, *Advanced Science* **7**

Carcinose péritonéale d'origine ovarienne : le scialytique de la salle d'opération pourrait-il induire une thérapie photodynamique ?

Anne-Sophie Vignion-Dewalle^{a, *}, Laurine Nieuwjaer-Ziane^a, Élise Thecua^{a, b}, Grégory Baert^a, Pascal Deleporte^a, Benjamin Sérouart^c, Pierre Collinet^{a, c}, Olivier Moralès^{a, d}, et Nadira Delhem^a,

^a U1189-ONCO-THAI- Thérapies Assistées par Lasers et Immunothérapies pour l'Oncologie, CHU Lille, INSERM, Univ. Lille, F-59000 Lille, France,

^b MDB TEXINOV, F-38110 Saint Didier de la Toure, France,

^c Service de chirurgie gynécologique, CHU Lille, F-59000 Lille, France,

^d CNRS UMS 3702, Institut de Biologie de Lille, F-59021 Lille, France.

* anne-sophie.vignion@inserm.fr

Mots-clés : Thérapie photodynamique, Scialytique, Carcinose péritonéale d'origine ovarienne.

Résumé :

Huitième cancer le plus fréquent en France chez la femme, le cancer de l'ovaire est également le 5ème cancer le plus meurtrier. La majorité des patientes est diagnostiquée à un stade avancé se caractérisant par un envahissement métastatique du péritoine appelé carcinose péritonéale. Le traitement standard consiste en une chirurgie de cytoréduction complète sans résidu macroscopiquement visible associée à une chimiothérapie. Malgré une prise en charge optimale, 60% des patientes diagnostiquées à des stades avancés rechutent dans les 2 ans suivant la chirurgie [1]. La principale raison évoquée est la persistance de métastases péritonéales microscopiques non réséquées lors de la chirurgie et non détruites par la chimiothérapie [2]. Le contrôle de ces métastases constitue donc un enjeu majeur pour lequel la thérapie photodynamique (PDT) a été proposée comme une solution peropératoire potentielle. Le développement récent d'un photosensibilisateur s'accumulant préférentiellement dans les cellules de carcinose péritonéale d'origine ovarienne [3] permet aujourd'hui d'envisager avec pertinence la réalisation d'une telle PDT sous réserve toutefois de disposer d'un dispositif d'illumination adapté.

Dans le contexte de la recherche d'un tel dispositif, l'hypothèse d'une PDT induite par le scialytique de la salle d'opération pendant les 4 à 6 heures de chirurgie de cytoréduction a été avancée. Afin d'évaluer cette hypothèse, l'énergie rayonnante (en J) délivrée en 7 points d'un fantôme de cavité abdominale, cliniquement caractérisés par des taux de récurrence élevés, a été mesurée dans une des salles d'opération de la maternité Jeanne de Flandre du CHU de Lille. La durée d'illumination a été fixée à la durée minimale de la chirurgie de cytoréduction à savoir 4 heures. L'énergie rayonnante moyenne de 57.2 μ J (minimum : 7.88 μ J ; maximum : 133 μ J) ainsi mesurée est comparable à celles délivrées au cours de PDT peropératoires administrées pendant 30 minutes avec soit une baguette lumineuse (moyenne : 7.3 μ J) soit des tricot lumineux (21.2 μ J). Ces résultats soutiennent l'hypothèse d'une PDT induite par le scialytique de la salle d'opération pendant la chirurgie de cytoréduction et positionnent le scialytique parmi les dispositifs d'illumination potentiels.



Fantôme de cavité abdominale sous illumination du scialytique du bloc opératoire

Références :

- [1] : T.A. Rawahi ; et al., *Cochrane Database Syst Rev*, 2013, **2**, CD008765
- [2] : H. Azaïs ; et al., *J Clin Med*, 2020, **10**, 41
- [3] : H. Azaïs ; et al., *WIPO Patent WO2019016397 (A1)*, 2019.

Intérêt de la chirurgie guidée par la fluorescence et de la thérapie photodynamique pour le traitement des métastases péritonéales des cancers épithéliaux de l'ovaire.

Principes cliniques et données précliniques.

Henri Azaïs ^{1@}, Martha Baydoun ², Olivier Moralès ², Céline Frochot ³,
Ludovic Colombeau ³, Bertrand Leroux ², Élise Thecua ², Laurine Ziane ²,
Pierre Collinet ⁴, Nadira Delhem ^{2,*} et Serge Mordon ^{2,5,*}

- 1 Service de Chirurgie Cancérologique Gynécologique et du Sein, Hôpital Européen Georges Pompidou, AP-HP, Paris, France
- 2 Univ. Lille, INSERM, CHU-Lille, U1189 - ONCO-THAI – Assisted Laser Therapy and Immunotherapy for Oncology, F-59000 Lille France.
- 3 University of Lorraine, LRGP, Nancy, France
- 4 Unité de Chirurgie Gynécologique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHU Lille, France
- 5 INSERM U1026 Bioingénierie Tissulaire (BioTis), Université de Bordeaux, Bordeaux, France

* Ces auteurs ont contribué à ce travail de manière équivalente
@henri.azais@aphp.fr

Mots-clés : Cancer de l'ovaire ; oncologie gynécologique ; thérapie photodynamique ; chirurgie

Résumé :

Les patientes atteintes d'un cancer de l'ovaire souffrent en particulier des métastases péritonéales, souvent présentes au diagnostic et dont le traitement représente un élément pronostic déterminant. Leur prise en charge repose sur la chirurgie de cytoréduction qui doit être macroscopiquement complète et sur une chimiothérapie systémique. La fréquence des récidives péritonéales soutient l'hypothèse d'une atteinte péritonéale microscopique résiduelle ne pouvant faire l'objet d'une cytoréduction chirurgicale traditionnelle ^[1].

La chirurgie guidée par la fluorescence pourrait être un moyen d'améliorer la qualité de la cytoréduction péritonéale en permettant la détection de lésions plus nombreuses et de plus petite taille ^[2].

La thérapie photodynamique pourrait compléter l'arsenal thérapeutique disponible en assurant la destruction des foyers microscopiques superficiels après l'accumulation d'un photosensibilisateur ciblant les cellules tumorales et activé par une lumière adaptée.

Longtemps limité par l'absence de molécule suffisamment spécifique pour autoriser son application dans la cavité péritonéale, le développement de cette stratégie s'appuie sur la synthèse d'un candidat-médicament protégé par un brevet. Nous avons montré que la thérapie photodynamique réalisée avec ce photosensibilisateur pouvait induire *in vitro* la mort cellulaire de différentes cellules tumorales ovariennes et *in vivo* une limitation de la croissance tumorale dans un modèle murin humanisé de carcinose péritonéale ovarienne. Les résultats obtenus soulignent également l'impact positif de la thérapie photodynamique sur l'activation de la réponse immunitaire en induisant la sécrétion de cytokines efficaces et en inhibant celle des cytokines pro-inflammatoires et immunosuppressives, ainsi qu'en libérant des vésicules extracellulaires susceptibles d'activer les cellules immunitaires. La thérapie photodynamique semble ainsi activer les lymphocytes T CD4⁺ et CD8⁺, entraînant un processus d'immunostimulation ^[3].

Ces données doivent être confirmées *in vivo*. Elles imposent de redéfinir la position de la thérapie photodynamique, potentiel traitement à effet systémique à considérer comme une immunothérapie, et son intégration cohérente dans la prise en charge actuelle proposée aux patientes. Cette démarche requiert également d'adapter les solutions d'illumination existantes aux spécificités anatomiques de la cavité péritonéale, et l'équipe peut s'appuyer sur l'expertise du laboratoire dans l'élaboration de dispositifs innovants.

Références :

1. Azaïs H, Vignion-Dewalle A-S, Carrier M, Augustin J, Da Maia E, Penel A, et al. Microscopic Peritoneal Residual Disease after Complete Macroscopic Cytoreductive Surgery for Advanced High Grade Serous Ovarian Cancer. J Clin Med 2020;10(1).
2. Azaïs H, Estevez JP, Foucher P, Kerbage Y, Mordon S, Collinet P. Dealing with microscopic peritoneal metastases of epithelial ovarian cancer. A surgical challenge. Surg Oncol 2017;26(1):46- 52.
3. Baydoun M, Moralès O, Frochot C, Ludovic C, Leroux B, Thecua E, et al. Photodynamic Therapy Using a New Folate Receptor-Targeted Photosensitizer on Peritoneal Ovarian Cancer Cells Induces the Release of Extracellular Vesicles with Immunoactivating Properties. Journal of Clinical Medicine 2020;9(4):1185.

Photobiologie

All-organic, intrinsically stealth nanoparticles for single particle tracking and bioimaging

Morgane Rosendale^a, Paolo. Pagano^a, Jonathan Daniel^b, Chiara Paviolo^b, Laurent Cognet, Jean-Baptiste Verlhac^a, Mireille Blanchard-Desce^{*a}

^a Institut des Sciences Moléculaires, Université de Bordeaux & CNRS, UMR 5255, Talence

^b LP2N, Université de Bordeaux, Institut d'Optique & CNRS, UMR 5298, Talence

* mireille.blanchard-desce@u-bordeaux.fr

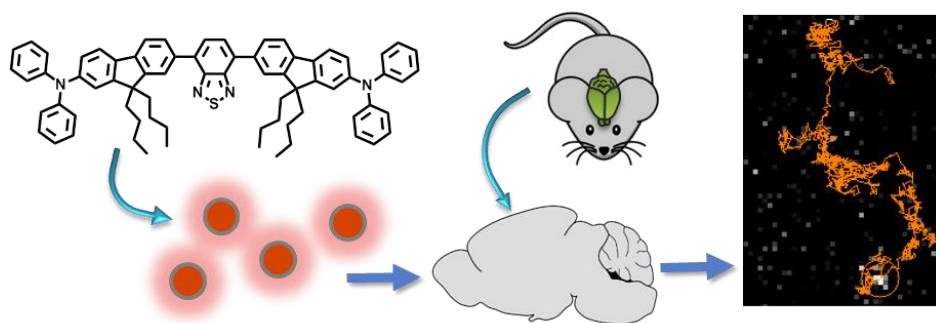
Mots-clés : Organic nanoparticles, Fluorescence, Stealth, SPT, Bioimaging

Résumé :

Nanotechnologies have the potential to revolutionize our understanding of devastating diseases such as cancer or neuropathologies through the design of nanocarriers for drug delivery and of fluorescent nanoemitters for bioimaging. In this latter field, single particle tracking (SPT) is a class of techniques that allows us to dynamically follow the fate of single molecules in living tissue. To date, the wealth of information provided by SPT was mostly obtained in simplified systems such as cell monolayers to reduce light scattering by thick biological tissues and to improve signal to noise ratio by using oblique light illumination. However, the microenvironment of a cell highly regulates its behavior and its molecular dynamics. There is therefore a need to perform SPT deep in intact tissue.

To date, quantum-dots are the most widely used nanoparticles thanks to their unprecedented brightness and photostability. However, their inorganic core is inherently water insoluble, requiring them to be coated by solubilizing agents. Moreover, most contain heavy metals, raising environmental concerns and limiting their clinical potential. To circumvent these limitations, our lab develops Fluorescent Organic Nanoparticles (FONs) as a promising, all organic, spontaneously water soluble alternative. Prepared by self-aggregation of rationally designed hydrophobic dyes in water, our specifically engineered FONs show remarkable colloidal and optical stability, making them a promising, all organic, spontaneously water dispersible alternative to QDs. We previously reported on green^[1] and near-infrared^[1,2] emitting FONs that could enter and be tracked in living cells, making them good candidates for drug delivery systems. In contrast, stealth emitters are required for tracking of cell-surface receptors or exploring the extracellular space.

In this direction, we recently developed spontaneously stealth, size-tunable, ultra-bright, red to NIR emitting FONs. We report on their characteristics and properties and show that they display no unspecific interactions with living cells in culture. Moreover, thanks to these unique properties, we were able to image and track these FONs up to 80µm deep in organotypic brain slices on a simple epifluorescence microscope.^[3] For comparison, signals detected from Alexa655-QDs were too weak to be tracked passed 30-40µm in depth on the same setup. We conclude that these novel FONs are promising candidates for the next generation of tools for super resolution imaging in biological tissue.



Références :

- [1] J. Daniel, A. G. Godin, M. Palayret, B. Lounis, L. Cognet, Mireille Blanchard-Desce, *J. Phys. Appl. Phys.* 2016, **49**, 084002.
- [2] E. Genin, Z. Gao, J. A. Varela, J. Daniel, T. Bsaibess, I. Gosse, L. Groc, L. Cognet, M. Blanchard-Desce, *Adv. Mater.* 2014, **26**, 2258.
- [3] M. Rosendale, J. Flores, C. Paviolo, P. Pagano, J. Daniel, J. Ferreira, J.-B. Verlhac, L. Groc, L. Cognet, M. Blanchard-Desce, *Adv. Mater.*, 2021, **33**, 2006644.

Les photoproduits de l'ADN dans les spores bactériennes

Thierry Douki

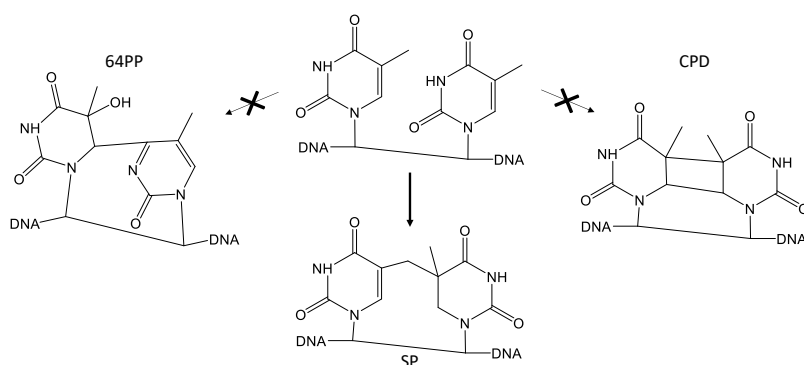
Univ. Grenoble Alpes, CEA, CNRS, IRIG, SyMMES, F-38000 Grenoble

* thierry.douki@cea.fr

Mots-clés : photorésistance, microorganismes, dommages de l'ADN, réparation de l'ADN, exobiologie

Résumé :

Les spores bactériennes sont des formes dormantes de certaines bactéries leur permettant de résister à des conditions défavorables de sécheresse, de température ou de manque de nutriments. Les spores sont également fortement résistantes à de nombreux agents chimiques et physiques parmi lesquels le rayonnement ultraviolet (UV). Il est connu depuis plusieurs décennies que la photochimie de l'ADN est très spécifique dans les spores du fait du faible contenu en eau, de la présence de dipicolinate et de la complexation sur l'ADN de grande quantité de petites protéines acido-solubles. L'ensemble de ces propriétés induisent des changements conformationnels qui modifient la photochimie (1). Ainsi, au lieu des dimères de pyrimidine rencontrés dans tous les autres types cellulaires, c'est un type particulier de dommage qui se forme : la 5-(α -thyminyle)-5,6-dihydrothymine (voir figure). Ce composé est si spécifique qu'il a pris le nom de photoproduit des spores (SP). La mise au point d'une méthode de quantification de SP par HPLC-spectrométrie de masse (2) évitant le recours au marquage radioactif a permis à notre équipe de participer à l'étude des particularités des spores expliquant la photochimie de leur ADN (3, 4). Nous nous sommes aussi intéressés à la réparation de SP. Celle-ci a lieu lors de la germination et implique une enzyme radical-SAM, la SP-lyase (5, 6). En collaboration avec nos collègues biochimistes, nous avons pu élucider certaines étapes du mécanisme enzymatique radicalaire. Enfin, ces travaux sur SP nous ont permis de nous impliquer en exobiologie avec des expériences sur la station spatiale internationale (7) ou avec des rayonnements UV de haute énergie (8). La présentation fera un bilan de ces différentes activités pour mettre en avant l'extraordinaire photorésistance des spores.



L'exposition au rayonnement UV de l'ADN des spores bactériennes conduit à la formation de 5-(α -thyminyle)-5,6-dihydrothymine (SP) et non de dimères cyclobutane de pyrimidine (CPD) ou de photoproduits (6-4) (64PP)

Références :

1. Frances-Monerris et al. (2020) Chem. Eur. J. 26, 14236-14241.
2. Douki et al. (2003) Photochem. Photobiol. Sci. 2, 433-436.
3. Douki et al. (2005) Photochem. Photobiol. 81, 163-169.
4. Douki et al. (2005) Photochem. Photobiol. Sci. 4, 591-597.
5. Chandor-Proust et al. (2008) J. Biol. Chem. 283, 36361-36368.
6. Moeller et al. (2007) Arch. Microbiol. 188, 421-431.
7. Wassmann et al. (2012) Astrobiology 12, 498.
8. Taylor et al. (2020). Appl Environ Microbiol 86, e03039-03019.

Photothermie des nano-formulations d'agrégats-J de vert d'indocyanine et de Calix[4]arène à but anti-carcinomes hypopharyngés

Marie Millard^{a,b}, Yann Bernhard^a, Nadia Canilho^a, Stéphanie Grandemange^b, Stéphane Parant^a, Maxime Mourer^a, Henri-Pierre Lassalle^{b,c}, Andréea Pasc^{*a}

^a Université de Lorraine, CNRS, L2CM UMR 7053, Bvd des Aiguillettes, F-54506 Vandœuvre-lès-Nancy, France

^b Université de Lorraine, CNRS UMR 7039, CRAN, F-54000 Nancy, France

^c Institut de Cancérologie de Lorraine, F-54000 Nancy, France

* andreea.pasc@univ-lorraine.fr

Mots-clés : thérapie photothermique, vert d'indocyanine, calix-[4]-arène, cancer de la tête et du cou

Résumé : Extension de la thérapie photodynamique ne nécessitant pas d'oxygène pour interagir avec les cellules, la thérapie photothermique (PTT) est basée sur l'augmentation de la température à l'intérieur des cellules cancéreuses. Cette thérapie anticancéreuse est une approche prometteuse dû à son faible effet invasif et à son utilisation dans la région du proche infrarouge (NIR) permettant une pénétration en profondeur dans les tissus biologiques.

Le vert d'indocyanine (ICG) est un agent de contraste fluorescent cliniquement approuvé pour la réalisation d'angiographie oculaire et pour la mesure du volume et débit sanguin. L'ICG présente également un effet photothermique intéressant. Cependant, sa rapide photodégradation, son instabilité en solution corrélée à une rapide clairance dans l'organisme (2-4min en circulation), ont conduit à l'utilisation d'agrégats « J » d'ICG (ICG-J) comme nouvel agent photothermique. Décrit depuis quelques années, ces agrégats présentent un décalage du spectre d'absorbance vers le rouge (de 785 nm à 890 nm) et une meilleure efficacité photothermique¹. Malheureusement, son manque de stabilité en solution et en présence de protéines plasmatiques ont conduit à une efficacité limitée *in vivo*².

Notre stratégie est donc de combiner les avantages des ICG-J tout en améliorant leur stabilité et leur capacité thermique grâce à une stabilisation par des molécules cationiques de calix[4]arène (CX) en réalisant une nanoprécipitation ICG-J/CX (Figure). Cette stratégie se base sur les travaux réalisés en 2016 par l'équipe de Yasuda qui a mis en évidence une amélioration de la stabilité ainsi que des propriétés optiques de l'ICG après une complexation avec des molécules de CX³.

Le but de cette étude est donc de déterminer si la nanoprécipitation ICG-J/CX influence et améliore les propriétés physico-chimiques, photostabilité, accumulation et efficacité photothermique *in vitro*. Ainsi, grâce à une méthode de préparation simple et rapide, la nanoprécipitation a permis l'obtention de particules de 130 nm de diamètre avec une charge neutre. En solution, une augmentation de stabilité corrélée à une diminution du photoblanchiment a été démontrée des ICG-J/CX comparé aux ICG-J et à l'ICG libre. *In vitro*, sur des cellules d'adénocarcinome de pharynx (FaDu) cultivées en monocouche, une augmentation de l'incorporation cellulaire a été mise en évidence avec la nanoprécipitation comparé aux ICG-J et à l'ICG libre pouvant expliquer l'augmentation de température dans les cellules au cours de l'irradiation. Après 3min d'irradiation (@1W/cm²-808 nm), 12 µg/mL d'ICG-J/CX sont nécessaires pour obtenir 50% de mort cellulaire contre 102 µg/mL et 191 µg/mL pour les ICG-J et l'ICG libre.

Ainsi, les résultats ont démontré que la nanoprécipitation ICG-J/CX peut être considérée comme une formulation d'ICG prometteuse en thérapie photothermique.

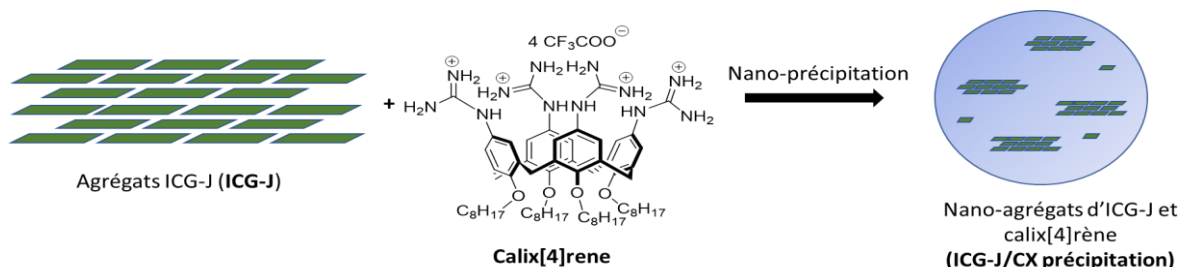


Figure : Schéma de la nano-précipitation d'agrégats d'ICG-J et de calix[4]arène

Références :

- [1] R. Liu, J. Tang; Y. Xu, Y. Zhou, Z. Dai, *Nanotheranostics*, 2017, **1**, 430-439
- [2] C. Cheung, G. Ma, K. Karatasos, J. Seitsonen, J. Ruokolainen, CR. Koffi, H. Hassan, W. Al-Jamal, *Nanotheranostics*, 2020, **4**, 91 -106.
- [3] T. Jin, A. Komatsuzaki, S. Tsuboi, Y. Imamura, Y. Morikawa, T. Sakata, H. Yasuda, *Med. Chem. Commun.*, **7**.

Activité anti-infectieuse synergique par administration successive de calix[4]arène polycationique et de MoS₂ à effet photothermique

Isabelle Toubia, Arnaud Risler, Stéphane Parant, Stéphanie Philippot, Maxime Mourer, Jean-Bernard Regnouf de Vains, Mihayl Varbanov, Andreea Pasc*

L2CM UMR 7053 CNRS, Université de Lorraine, 54506 Vandoeuvre-lès-Nancy

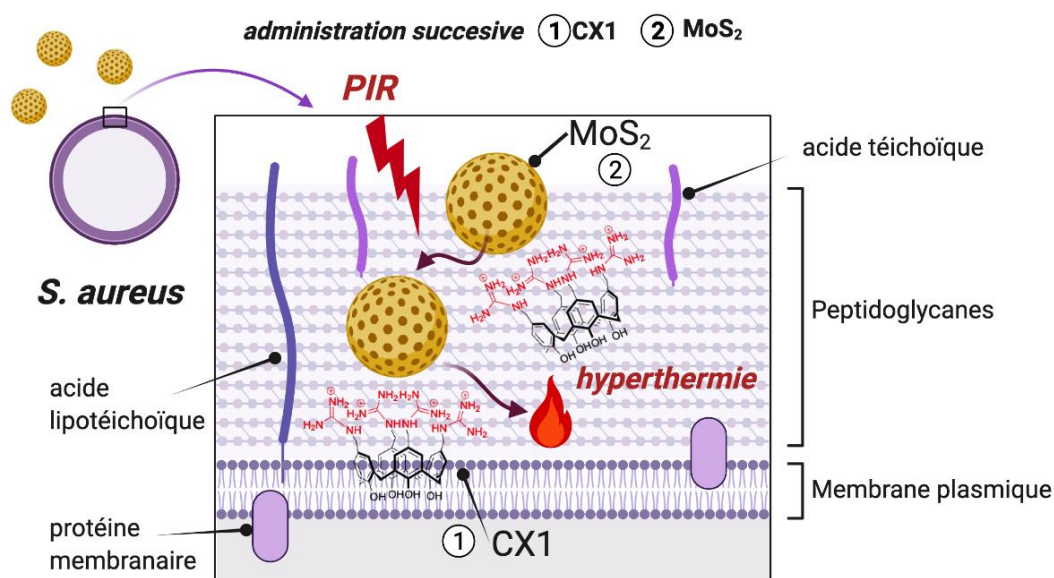
* isabelle.toubia@univ-lorraine.fr, andreea.pasc@univ-lorraine.fr

Mots-clés : Thérapie photothermique (PTT), agent photothermique (APT), hyperthermie, MoS₂, tétra-*p*-guanidinoéthylcalix[4]arène (CX1), proche infrarouge (PIR)

Résumé : La thérapie photothermique (PTT) est une nouvelle stratégie thérapeutique basée sur l'hyperthermie locale et qui trouve des applications potentielles à visées anti-cancéreuses ou anti-infectieuses¹. Comparée à d'autres voies thérapeutiques, la PTT est hautement sélective et présente peu d'effets secondaires. Ceci est dû au fait que le chauffage n'est produit que localement, sous l'illumination ciblée du site, en présence d'un agent photothermique (APT).

De plus, la perte d'intégrité de la membrane bactérienne apparaît comme une des stratégies les plus prometteuses pour vaincre la multirésistance des bactéries aux antibiotiques. Dans cette étude, nous démontrons l'action antibactérienne combinée de (i) un tétra-*p*-guanidinoéthylcalix[4]arène polycationique (CX1) capable d'interagir avec des bactéries par le biais d'interactions électrostatiques multivalentes et (ii) de particules submicrométriques photothermiques de MoS₂. En effet, parmi les APTs utilisés^{2,3} le MoS₂ possède une excellente biocompatibilité, une biodégradabilité *in vivo* et un coefficient d'extinction molaire élevé dans le PIR⁴. Un effet synergique accru a été obtenu sur *S. aureus*, bactérie Gram+, en activant l'agent photothermique au voisinage de la membrane. Pour ce faire, les antibiotiques ont été délivrés par étapes : le CX1 polycationique a d'abord été ajouté afin d'interagir avec la paroi bactérienne, suivis de l'addition des particules polyanioniques de MoS₂ dont la délivrance a été conduite à proximité de la membrane en raison de leur énergie d'interaction élevée avec le CX1.

Un effet photothermique en présence de MoS₂ a été également observé dans le cadre de traitements antiviraux, permettant une perte totale d'infectiosité des particules virales du coronavirus humain HCoV 229, à des concentrations non cytotoxiques.



Références :

- (1) Sheng, W.; He, S.; Seare, W. J.; Almutairi, A. *J. Biomed. Opt.* **2017**, 22 (8), 080901.
- (2) Jung, H. S.; Verwilt, P.; Sharma, A.; Shin, J.; Sessler, J. L.; Kim, J. S. *Chem. Soc. Rev.* **2018**, 47 (7), 2280–2297.
- (3) Chen, J.; Ning, C.; Zhou, Z.; Yu, P.; Zhu, Y.; Tan, G.; Mao, C. *Prog. Mater. Sci.* **2019**, 99, 1–26.
- (4) Yue, H.; Yuan, L.; Zhang, W.; Zhang, S.; Wei, W.; Ma, G. *J. Mater. Chem. B* **2018**, 6 (3), 393–400.
- (5) Mourer, M.; Duval, R. E.; Finance, C.; Regnouf-de Vains, J. B. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16 (11), 2960–2963.

Optimisation des conditions d'éclairages favorisant la production de biomasse et la teneur en phycocyanine chez *Arthrospira platensis*

Georges Zissis^{*a} Clément Gaignard^a, David Buso^{1a}

^a 118 route de Narbonne - Bât 3R3 - 31062 Toulouse cedex

* georges.zissis@laplace.univ-tlse.fr

Mots-clés : Eclairage artificiel ; Photosynthèse ; Spiruline ; Phycocyanine

Résumé :

La cyanobactérie *Arthrospira platensis*, plus communément appelée spiruline (ou *Spirulina platensis*), est un microorganisme unicellulaire procaryote qui possède la capacité de photosynthèse oxygénique assimilable à une réduction du CO₂ et à une oxydation de l'eau via l'utilisation de l'énergie lumineuse. Utilisée comme source de nourriture humaine et animale, la spiruline a attiré l'attention du monde entier car elle est très intéressante sur le plan nutritionnel : 55 à 70 % de protéines, 6 à 10 % de lipides, 20 % de glucides, et également riche en minéraux (K, Ca, Fe, Mg, Zn) et vitamines (B1, B12, E). Depuis 1980, la production mondiale de spiruline n'a cessé d'augmenter. Environ 19 000 tonnes de spiruline sont produites chaque année dans le monde, essentiellement en Chine, en Inde et aux Etats-Unis, représentant un marché de plus de 348 M\$ en 2018. La spiruline est aussi particulièrement connue pour sa teneur élevée en phycocyanine, un pigment aux nombreuses propriétés biologiques utilisé dans les secteurs alimentaire, cosmétique et pharmaceutique grâce à son large éventail d'applications (colorant, antioxydant ou marqueur fluorescent). En 2015, le marché annuel de la phycocyanine était d'environ 10 à 50 M\$, avec un prix compris entre 130 et 5000 \$/kg en fonction de sa qualité. Selon un rapport publié par Future Market Insights, le marché mondial était évalué à 112,3 M\$ en 2018 et d'ici la fin de 2025 on estime qu'il atteindra une valeur dépassant les 232,9 M\$. Optimiser sa production se révèle donc être un des enjeux majeurs des années à venir.

Comme pour les plantes, la photosynthèse est essentielle au bon développement de la spiruline. Dès lors, l'utilisation de sources lumineuses appropriées au cours de sa culture semble être un point clé pour améliorer son rendement photosynthétique. En effet, la spiruline est capable avec de l'eau et du CO₂ de convertir l'énergie lumineuse en énergie biochimique grâce à la photosynthèse. Les travaux menés au laboratoire LAPLACE visent à étudier l'impact de différentes longueurs d'ondes sur la croissance et la production de phycocyanine chez la spiruline. La production de biomasse, la production de phycocyanine ainsi que sa pureté ont été analysés sur des cultures éclairées avec une seule longueur d'onde. D'autres essais ont ensuite été menés avec une association combinée de deux longueurs d'ondes.

tdLanYFP, une nouvelle protéine fluorescente jaune pour l'imagerie de fluorescence : brillante, photostable et insensible au pH

Yasmina Bousmah ^a, Hana Valenta ^a, Giulia Bertolin ^b, Utkarsh Singh ^a, Valérie Nicolas ^c,
Hélène Pasquier ^a, Marc Tramier ^b, Fabienne Merola ^a, Marie Erard^{*a}

^a Université Paris-Saclay, CNRS, Institut de Chimie Physique, 91405 Orsay, France

^b Univ Rennes, CNRS, IGDR (Institut de génétique et développement de Rennes)–UMR 6290, 35000 Rennes, France

^c Microscopy Facility (MIPSIT), Ingénierie et Plateformes au Service de l'Innovation Thérapeutique–IPSIT–UMS–US31–UMS3679 (IPSIT), Université Paris-Saclay, 92296 Châtenay-Malabry, France

* marie.erard@universite-paris-saclay.fr

Mots-clés : protéine fluorescente, imagerie de fluorescence, FRET

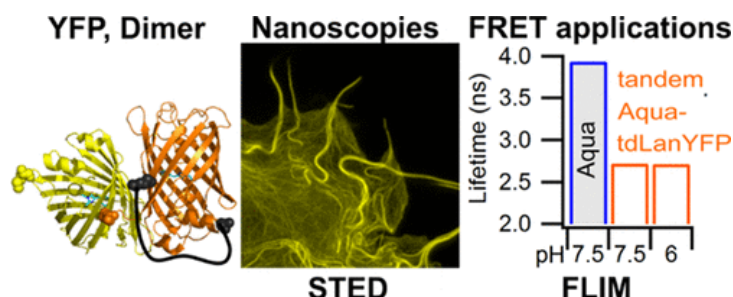
Résumé :

Les protéines fluorescentes jaunes (YFP) sont largement utilisées en imagerie de fluorescence et en particulier comme rapporteurs optiques dans les biosenseurs codés génétiquement basés sur le transfert résonnant d'énergie de type Förster (FRET). Toutefois, la sensibilité de ces biosenseurs reste toujours limitée par la faible photostabilité des YFPs et par leurs performances limitées aux pHs acides.

Nous avons caractérisé en détail la protéine fluorescente jaune dimérique, tdLanYFP, dérivée d'une protéine tétramérique découverte chez le lancelet *Branchiostoma lanceolatum*. C'est, à notre connaissance, la protéine fluorescente dimérique la plus brillante de la littérature avec un rendement quantique de 0,92 et un coefficient d'extinction de $133000 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$. Son $pK_{1/2}$ de 3,9 est très faible comparé aux autres YFPs. La tdLanYFP a aussi une photostabilité ~ 10 fois supérieure à celle des YFPs in vitro et in cellulo.

Grace à ces excellentes performances sous irradiation, nous avons montré que tdLanYFP est compatible aussi bien avec la nanoscopie STED qu'avec l'utilisation de spectromicroscopies en régime de molécule unique comme la FCS.

tdLanYFP complète ainsi la panoplie des protéines fluorescentes compatibles avec les techniques de microscopie dans lesquelles les régimes d'irradiation sont intenses et parmi lesquelles les YFPs n'étaient que peu représentées en raison de leur faible photostabilité. La tdLanYFP est aussi un partenaire FRET efficace en tant que donneur ou accepteur et ses performances ont été montrées dans le biosenseur d'activité kinase AURKA. En combinant tdLanYFP avec un donneur de FRET cyan possédant aussi un faible $pK_{1/2}$, il est maintenant possible d'imaginer le design de biosenseurs pour explorer les compartiments cellulaires acides. Nous détaillerons quelques exemples d'application.



Références :

[1] : Y Bousmah, H Valenta, G Bertolin, U Singh, V Nicolas, H Pasquier, M Tramier, F Merola, M Erard, *ACS Sensors*, 2021, accepté, doi : 10.1021/acssensors.1c00874

Liste des participants

- Arnoux Philippe
- Azaïs Henri
- Baert Grégory
- Bafoil Maxime
- Baraze Abdoul Razak
- Bellard Elisabeth
- Benkhaled Belkacem Tarek
- Blanchard-Desce Mireille
- Boidin Léa
- Bonneau Stéphanie
- Bouchez Clément
- Bourg-Heckly Geneviève
- Bregigeon Pauline
- Broekgaarden Mans
- Bronstein Louis
- Bulin Anne-Laure
- Caiafa Yasemin
- Calvel Anne
- Chemin Guillaume
- Coll Jean-Luc
- Colleu Pierre
- Collin Annabelle
- Cosimi Julien
- Courti Ibtissam
- Cousty Sarah

- Cressey Paul
- Dalla Pozza Maria
- Dast Rémi
- De Caro Alexia
- Decauchy Henri
- Delhayé Corinne
- Desmettre Thomas
- Dhaini Batoul
- Douat Claire
- Douki Thierry
- Dufour Thierry
- Dupont Clement
- Erard Marie
- Escot Bocanegra Pablo
- Ferrer Valentin
- Figueiredo Francisca
- Frenea-Robin Marie
- Frochot Céline
- Fulbert Clémentine
- Gardou Jean-Pierre
- Gasser Gilles
- Géraldine Albérola
- Gibot Laure
- Golzio Muriel
- Gouges Bastien
- Gourdon Lisa
- Grolez Guillaume
- Gueddoun Aouaouche Salima
- Heaugwane Diana
- Ibrahimi Njomza
- Iséni Sylvain
- Iya-Sou Djakaou

- Jouanmiquieu Bastien
- Juarez Martinez Yael
- Kolosnjaj-Tabi Jelena
- Labra-Vázquez Pablo
- Lacroix Pascal
- Le Berre Théo
- Lefebvre Anthony
- Lemercier Gilles
- Leroux Bertrand
- Lonetti Barbara
- Maaroufi Zeineb
- Maho Thomas
- Malfant Isabelle
- Marchal Frédéric
- Marchalot Julien
- Marches Aurélie
- Marmier Solenne
- Mentheour Robin
- Merabti Amina
- Merbahi Nofel
- Millard Marie
- Mir Lluís M.
- Moinard Morgane
- Morales Olivier
- Mordon Serge
- Muja Cristina
- Orel Inna
- Paul-Roth Christine Odile
- Pecourneau Jérémy
- Pouvesle Jean-Michel
- Questel Emmanuel
- Rainot Aurianne

- Riou Milliot Sylvie
- Robert Eric
- Rols Marie-Pierre
- Rosendale Morgane
- Rouillard Amaury
- Saint Florent
- Santos Sousa Joao
- Sarrette Jean-Philippe
- Seznec Benjamin
- Sol Vincent
- Souchard Jean-Pierre
- Stancampiano Augusto
- Stelse-Masson Sarah
- Suzanne Fery-Forgues
- Tenanguena Nongni Fresnelle
- Thecua Elise
- Thomas Carole
- Toubia Isabelle
- Trioen Camille
- Vallet Leslie
- Vever-Bizet Christine
- Vicendo Patricia
- Vignion Anne-Sophie
- Xiao Yue
- Zissis Georges

Liste des sponsors



Hemerion

Hemerion sponsorise un Prix poster PDT.



Quantel medical

Quantel medical sponsorise financièrement la journée dédiée à la PDT.



PorphyChem

PorphyChem sponsorise un Prix poster PDT.



Université Toulouse III - Paul Sabatier

L'université Toulouse III - Paul Sabatier accueille le colloque en mettant à disposition l'auditorium Marthe Condat et soutient financièrement son organisation.



CNRS

Le CNRS soutient financièrement l'organisation du colloque.

Liste des auteurs

- Achard Mathilde, 47
Acherar Sami, 45
Acherar Samir, 33, 47
Andre Franck, 21–23
Andre Jean-Claude, 47
Aoudjehane Lynda, 16
Ariztia Laurent, 21
Arnoux Philippe, 33, 45, 47
Audran Gérard, 33
Azaïs Henri, 59

Baert Grégory, 38, 48, 54, 58
Bafoil Maxime, 12
Baldelli Bombelli Francesca, 34
Barberi-Heyob Muriel, 45, 47
Baros Francis, 47
Baydoun Martha, 39–41, 59
Bekeschus Sander, 14
Belkir Kadafi, 34
Benkhaled Tarek, 34
Benoist Eric, 56
Bernhard Yann, 37, 63
Bertrand Leroux, 39–41, 50
Blanchard-Desce Mireille, 61
Bohic Sylvain, 55
Boidin Léa, 39–41
Boura Cédric, 33, 47
Bregigeon Pauline, 19
Breton Nolwenn, 33
Brient Pierre-Louis, 34
Bronstein Louis, 49
Brueckner Dennis, 55
Bruhier Hadrien, 18
Brulé-Morabito Fabienne, 10, 11
Bulin Anne-Laure, 55

Canilho Nadia, 63
Cerlati Orélia, 32, 34
Chaput Frédéric, 55
Chatard Camille, 34
Chevreux Sylviane, 51
Clément Sébastien, 53
Collin Annabelle, 18
Collinet Pierre, 58, 59
Colombeau Ludovic, 59
Conçalves Fernanda, 56
Cosimi Julien, 7
Courti Ibtiham, 8, 9
Cressey Paul, 49
Daouk Joel, 45

Dast Rémi, 42, 43
Decauchy Henri, 16
Delconte Alain, 47
Deleporte Pascal, 48, 58
Delhem Nadira, 38–41, 48, 50, 54, 58, 59
Demazeau Maxime, 32
Desmettre Thomas, 31
Dessante Philippe, 25
Dhaini Batoul, 45, 47
Douat Claire, 2
Douki Thierry, 62
Dozias Sebastien, 2
Dozias Sébastien, 10, 11
Dufour Thierry, 16
Dupont Clément, 50

Elkihel Abdechakour, 44, 46
Elleaume Hélène, 55
Erard Marie, 66
Escot Bocanegra Pablo, 2, 10, 11

Fabienne Lecomte, 50
Fagart Alexandre, 48
Ferrer Valentin, 4
Fontagné-Faucher Catherine, 3
Fouassier Laura, 16
Franqueville Laure, 19
Frochot Celine, 33, 47
Frochot Céline, 39–41, 45, 59
Frénéa-Robin Marie, 19
Fulbert Clémentine, 55

Gardou Jean Pierre, 4
Garrevoet Jan, 55
Gasser Gilles, 30
Gibot Laure, 5, 32, 34
Goizet Marie, 56
Golziob Muriel, 18
Goria Stéphane, 47
Gouardères Sara, 5
Graillot Alain, 34
Grandemange Stéphanie, 63
Grillon Catherine, 15
Grolez Guillaume, 48, 50
Guérin Laura, 38, 50, 54

- Hamieh Tayssir, 45
 Heaugwane Diana, 34
 Ibrahim Njomza, 21
 Iséni Sylvain, 14
 Jacquet Thibault, 55
 Jonas Ulrich, 51
 Jonathan Pol, 16
 Jouan-Hureau Valérie, 33, 47
 Jouanmiquieu Bastien, 26, 27
 Kolosnjaj Jelena, 18
 Kolosnjaj-Tabi Jelena, 24, 28
 Labadie Maritxu, 3
 Landfried Romaric, 25
 Lapinte Vincent, 32, 34
 Larue Ludivine, 33
 Lassalle Henri-Pierre, 63
 Le Berre Theo, 19
 Le Gall Tony, 51
 Le Roux Christophe, 56
 Lemercier Gilles, 51
 Leroux Bertrand, 48, 59
 Leroy Henri-Arthur, 38, 54
 Lonetti Barbara, 32, 34
 Losantos Raúl, 37
 Lux Francois, 45
 Lüttjohann Pau, 14
 Maaroufi Zeineb, 15
 Machala Zdenko, 13
 Makky Ali, 49
 Marcato-Romain Claire-Emmanuelle, 3
 Marchal Frédéric, 3, 4, 7
 Marchalot Julien, 19
 Marches Aurélie, 5
 Marque Sylvain, 33
 Martin François, 56
 Mentheour Robin, 13
 Merabti Amina, 53
 Merbahi Nofel, 3, 5, 7, 12, 13
 Micoud Pierre, 56
 Millard Marie, 63
 Minea Tiberiu, 25
 Mingotaud Anne-Françoise, 32, 34
 Mir Lluís, 21–23
 Mofakhami Darius, 25
 Monari Antonio, 37
 Mongin Olivier, 52
 Montier Tristan, 51
 Morales Olivier, 39–41, 48, 50
 Moralès Olivier, 58, 59
 Mordon Serge, 35, 36, 38, 48, 54, 59
 Motterlini Roberto, 2
 Mourer Maxime, 37, 63
 Moussounda Moussounda Koumba Tataye, 33
 Müller Mareike, 51
 Nieuwjaer-Ziane Laurine, 58
 Nomezine Anthony, 55
 Novac Bucur, 21
 Orel Inna, 10, 11
 Oudin Amandine, 32
 Ouk Tan-Sothéa, 44, 46
 Paget Sonia, 39–41
 Parant Stéphane, 37, 63
 Pasc Andreea, 37, 64
 Pasc Andréa, 63
 Paul Frédéric, 52
 Paul-Roth Christine Odile, 52
 Pavy Allan, 16
 Pecastaing Laurent, 21
 Pecourneau Jérémy, 37
 Poignard Clair, 18
 Poirot Alexandre, 56
 Pouvesle Jean-Michel, 10, 11
 Rainot Aurianne, 20
 Reyns Nicolas, 38, 50, 54
 Ricard Andre, 4
 Richeter Sébastien, 53
 Rivaletto Marc, 21
 Rivière Charlotte, 19
 Robert Eric, 2, 10, 11, 15
 Rocchi Paul, 45
 Rols Marie Pierre, 13
 Rols Marie-Pierre, 18
 Rosilio Véronique, 49
 Roux Clément, 32
 Sarrette Jean-Philippe, 4
 Schohn Hervé, 45, 47
 Schönherr Holger, 51
 Seznec Benjamin, 25
 Silvestre De Ferron Antoine, 21
 Simon Michel, 5
 Sol Vincent, 44, 46
 Stancampiano Augusto, 10, 11, 15
 Stelse-Masson Sarah, 55, 57
 Supuran Claudiu T, 53
 Suzanne Fery-Forgues, 56
 Sérouart Benjamin, 58

Tarek Mounir, 20
 Tenanguena Nongni Fresnelle, 6
 Teste Philippe, 25
 Thecua Elise, 48
 Thecua Élise, 58, 59
 Thetiot Franck, 51
 Thomas Noémie, 47
 Till Ugo, 32
 Tillement Olivier, 45
 Tosi Alice, 34
 Toubia Isabelle, 64

 Vallet Leslie, 21–23
 Varbanov Mihayl, 64
 Vermandel Maximilien, 48, 50
 Vernisse Charlotte, 44
 Vicendo Patricia, 5, 32, 34
 Vignon-Dewalle Anne-Sophie, 38, 48, 54, 58
 Vignon-Dewalle Anne-Sophie, 50
 Vilenno Bertrand, 33
 Vincent Audrey, 39–41
 Vollaire Christian, 19

 Weltmann Klaus-Dieter, 14
 Winum Jean-Yves, 53

 Youf Raphaëlle, 51
 Yousfi Mohammed, 7, 12

 Zhar Ferdaous, 25
 Ziane Laurine, 48, 59
 Zissis Georges, 65

