

2021-2022

Thèse

pour le

Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie

Liposomes sensibles aux stimuli externes et leur intérêt dans la gestion de la douleur

--

External stimuli-responsive liposomes and their interest in pain management

IBRAHIM Raihane

Née le 02 Janvier, 1995 à Vénissieux

Sous la direction de M. Benoit Jean-Pierre

Membres du jury

Professeur Olivier Duval | Président

Professeur Jean-Pierre Benoit | Directeur

Professeur Nicolas Clere | Membre

Docteur Chadi ABBARA | Membre



Soutenue publiquement le :
09 Décembre 2022

**FACULTÉ
DE SANTÉ**
UNIVERSITÉ D'ANGERS

ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

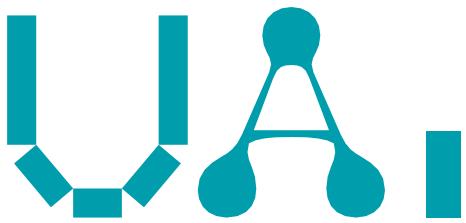
Je, soussignéeIBRAHIM Raihane déclare être pleinement consciente que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiée sur toutes formes de support, y compris l'internet, constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce rapport ou mémoire.

signé par l'étudiante le **06 / 11 / 2022**

Raihane IBRAHIM

Ces conditions d'utilisation (attribution, pas d'utilisation commerciale, pas de modification) sont symbolisées par les icônes positionnées en pied de page.

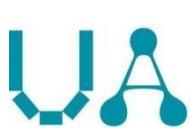




FACULTÉ DE SANTÉ

UNIVERSITÉ D'ANGERS

"La Faculté de Santé déclare que les opinions émises dans les thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation, ni improbation."



LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTÉ DE SANTÉ D'ANGERS

Doyen de la Faculté : Pr Nicolas Lerolle

Vice-Doyen de la Faculté et directeur du département de pharmacie : Pr Frédéric Lagarce

Directeur du département de médecine : Pr Cédric Annweiler

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

ABRAHAM Pierre	Physiologie	Médecine
ANNWEILER Cédric	Gériatrie et biologie du vieillissement	Médecine
ASFAR Pierre	Réanimation	Médecine
AUBE Christophe	Radiologie et imagerie médicale	Médecine
AUGUSTO Jean-François	Néphrologie	Médecine
BAUFRETON Christophe	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire	Médecine
BELLANGER William	Médecine Générale	Médecine
BENOIT Jean-Pierre	Pharmacotechnie	Pharmacie
BIGOT Pierre	Urologie	Médecine
BONNEAU Dominique	Génétique	Médecine
BOUCHARA Jean-Philippe	Parasitologie et mycologie	Médecine
BOUET Pierre-Emmanuel	Gynécologie-obstétrique	Médecine
BOUVARD Béatrice	Rhumatologie	Médecine
BOURSIER Jérôme	Gastroentérologie ; hépatologie	Médecine
BRIET Marie	Pharmacologie	Médecine
CALES Paul	Gastroentérologie ; hépatologie	Médecine
CAMPONE Mario	Cancérologie ; radiothérapie	Médecine
CAROLI-BOSC François-Xavier	Gastroentérologie ; hépatologie	Médecine
CONNAN Laurent	Médecine générale	Médecine
COPIN Marie-Christine	Anatomie et cytologie pathologiques	Médecine
COUTANT Régis	Pédiatrie	Médecine
CUSTAUD Marc-Antoine	Physiologie	Médecine
DE CASABIANCA Catherine	Médecine Générale	Médecine
DESCAMPS Philippe	Gynécologie-obstétrique	Médecine
D'ESCATHA Alexis	Médecine et santé au travail	Médecine
DINOMAIS Mickaël	Médecine physique et de réadaptation	Médecine
DIQUET Bertrand	Pharmacologie	Médecine
DUBEE Vincent	Maladies Infectieuses et Tropicales	Médecine
DUCANCELLE Alexandra	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière	Médecine
DUVAL Olivier	Chimie thérapeutique	Pharmacie
DUVERGER Philippe	Pédopsychiatrie	Médecine
EVEILLARD Mathieu	Bactériologie-virologie	Pharmacie
FAURE Sébastien	Pharmacologie physiologie	Pharmacie
FOURNIER Henri-Dominique	Anatomie	Médecine
FURBER Alain	Cardiologie	Médecine
GAGNADOUX Frédéric	Pneumologie	Médecine
GOHIER Bénédicte	Psychiatrie d'adultes	Médecine
GUARDIOLA Philippe	Hématologie ; transfusion	Médecine
GUILET David	Chimie analytique	Pharmacie
GUITTON Christophe	Médecine intensive-réanimation	Médecine
HAMY Antoine	Chirurgie générale	Médecine
HENNI Samir	Médecine Vasculaire	Médecine
HUNAULT-BERGER Mathilde	Hématologie ; transfusion	Médecine

IFRAH Norbert	Hématologie ; transfusion	Médecine
JEANNIN Pascale	Immunologie	Médecine
KEMPF Marie	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière	Médecine
LACCOURREYE Laurent	Oto-rhino-laryngologie	Médecine
LAGARCE Frédéric	Biopharmacie	Pharmacie
LARCHER Gérald	Biochimie et biologie moléculaires	Pharmacie
LASOCKI Sigismond	Anesthésiologie-réanimation	Médecine
LEGENDRE Guillaume	Gynécologie-obstétrique	Médecine
LEGRAND Erick	Rhumatologie	Médecine
LERMITE Emilie	Chirurgie générale	Médecine
LEROLLE Nicolas	Réanimation	Médecine
LUNEL-FABIANI Françoise	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière	Médecine
MARCHAIS Véronique	Bactériologie-virologie	Pharmacie
MARTIN Ludovic	Dermato-vénéréologie	Médecine
MAY-PANLOUP Pascale	Biologie et médecine du développement et de la reproduction	Médecine
MENEI Philippe	Neurochirurgie	Médecine
MERCAT Alain	Réanimation	Médecine
PAPON Nicolas	Parasitologie et mycologie médicale	Pharmacie
PASSIRANI Catherine	Chimie générale	Pharmacie
PELLIER Isabelle	Pédiatrie	Médecine
PETIT Audrey	Médecine et Santé au Travail	Médecine
PICQUET Jean	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire	Médecine
PODEVIN Guillaume	Chirurgie infantile	Médecine
PROCACCIO Vincent	Génétique	Médecine
PRUNIER Delphine	Biochimie et Biologie Moléculaire	Médecine
PRUNIER Fabrice	Cardiologie	Médecine
REYNIER Pascal	Biochimie et biologie moléculaire	Médecine
RICHARD Isabelle	Médecine physique et de réadaptation	Médecine
RICHOMME Pascal	Pharmacognosie	Pharmacie
RODIEN Patrice	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques	Médecine
ROQUELAURE Yves	Médecine et santé au travail	Médecine
ROUGE-MAILLART Clotilde	Médecine légale et droit de la santé	Médecine
ROUSSEAU Audrey	Anatomie et cytologie pathologiques	Médecine
ROUSSEAU Pascal	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique	Médecine
ROUSSELET Marie-Christine	Anatomie et cytologie pathologiques	Médecine
ROY Pierre-Marie	Médecine d'urgence	Médecine
SAULNIER Patrick	Biophysique et Biostatistiques	Pharmacie
SERAPHIN Denis	Chimie organique	Pharmacie
SCHMIDT Aline	Hématologie ; transfusion	Médecine
TRZEPIZUR Wojciech	Pneumologie	Médecine
UGO Valérie	Hématologie ; transfusion	Médecine
URBAN Thierry	Pneumologie	Médecine
VAN BOGAERT Patrick	Pédiatrie	Médecine
VENARA Aurélien	Chirurgie viscérale et digestive	Médecine
VENIER-JULIENNE Marie-Claire	Pharmacotechnie	Pharmacie
VERNY Christophe	Neurologie	Médecine
WILLOTEAUX Serge	Radiologie et imagerie médicale	Médecine

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

BAGLIN Isabelle	Chimie thérapeutique	Pharmacie
BASTIAT Guillaume	Biophysique et Biostatistiques	Pharmacie
BEAUVILLAIN Céline	Immunologie	Médecine
BEGUE Cyril	Médecine générale	Médecine
BELIZNA Cristina	Médecine interne	Médecine
BELONCLE François	Réanimation	Médecine
BENOIT Jacqueline	Pharmacologie	Pharmacie
BESSAGUET Flavien	Physiologie Pharmacologie	Pharmacie
BLANCHET Odile	Hématologie ; transfusion	Médecine
BOISARD Séverine	Chimie analytique	Pharmacie
BRIET Claire	Endocrinologie, Diabète et maladies métaboliques	Médecine
BRIS Céline	Biochimie et biologie moléculaire	Pharmacie
CAPITAIN Olivier	Cancérologie ; radiothérapie	Médecine
CHAO DE LA BARCA Juan-Manuel	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE	Médecine
CHEVALIER Sylvie	Biologie cellulaire	Médecine
CLERE Nicolas	Pharmacologie / physiologie	Pharmacie
COLIN Estelle	Génétique	Médecine
DERBRE Séverine	Pharmacognosie	Pharmacie
DESHAYES Caroline	Bactériologie virologie	Pharmacie
DOUILLET Delphine	MEDECINE D'URGENCE	Médecine
FERRE Marc	Biologie moléculaire	Médecine
FORTRAT Jacques-Olivier	Physiologie	Médecine
GUELFF Jessica	Médecine Générale	Médecine
HAMEL Jean-François	Biostatistiques, informatique médicale	Médicale
HELESBEUX Jean-Jacques	Chimie organique	Pharmacie
HERIVAUX Anaïs	Biotechnologie	Pharmacie
HINDRE François	Biophysique	Médecine
JOUSSET-THULLIER Nathalie	Médecine légale et droit de la santé	Médecine
JUDALET-ILLAND Ghislaine	Médecine générale	Médecine
KHIATI Salim	Biochimie et biologie moléculaire	Médecine
LANDREAU Anne	BOTANIQUE/ MYCOLOGIE	Pharmacie
KUN-DARBOIS Daniel	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie	Médecine
LACOEUILLE Franck	Radiopharmacie	Pharmacie
LANDREAU Anne	Botanique/ Mycologie	Pharmacie
LEBDAI Souhil	Urologie	Médecine
LEGEAY Samuel	Pharmacocinétique	Pharmacie
LEMEE Jean-Michel	Neurochirurgie	Médecine
LE RAY-RICHOMME Anne-Marie	Pharmacognosie	Pharmacie
LEPELTIER Elise	Chimie générale	Pharmacie
LETOURNEL Franck	Biologie cellulaire	Médecine
LIBOUBAN Hélène	Histologie	Médecine
LUQUE PAZ Damien	Hématologie biologique	Médecine
MABILLEAU Guillaume	Histologie, embryologie et cytogénétique	Médecine
MALLET Sabine	Chimie Analytique	Pharmacie
MAROT Agnès	Parasitologie et mycologie médicale	Pharmacie
MESLIER Nicole	Physiologie	Médecine
MIOT Charline	Immunologie	Médecine
MOUILLIE Jean-Marc	Philosophie	Médecine
NAIL BILLAUD Sandrine	Immunologie	Pharmacie
PAILHORIES Hélène	Bactériologie-virologie	Médecine
PAPON Xavier	Anatomie	Médecine
PASCO-PAPON Anne	Radiologie et imagerie médicale	Médecine
PECH Brigitte	Pharmacotechnie	Pharmacie
PENCHAUD Anne-Laurence	Sociologie	Médecine

PIHET Marc	Parasitologie et mycologie	Médecine
POIROUX Laurent	Sciences infirmières	Médecine
PY Thibaut	Médecine Générale	Médecine
RINEAU Emmanuel	Anesthésiologie réanimation	Médecine
RIOU Jérémie	Biostatistiques	Pharmacie
RIQUIN Elise	Pédopsychiatrie ; addictologie	Médecine
ROGER Emilie	Pharmacotechnie	Pharmacie
SAVARY Camille	Pharmacologie-Toxicologie	Pharmacie
SCHMITT Françoise	Chirurgie infantile	Médecine
SCHINKOWITZ Andréas	Pharmacognosie	Pharmacie
SPIESSER-ROBELET Laurence	Pharmacie Clinique et Education Thérapeutique	Pharmacie
TESSIER-CAZENEUVE Christine	Médecine Générale	Médecine
TEXIER-LEGENDRE Gaëlle	Médecine Générale	Médecine
VIAULT Guillaume	Chimie organique	Pharmacie

AUTRES ENSEIGNANTS

PRCE		
AUTRET Erwan	Anglais	Médecine
BARBEROUSSÉ Michel	Informatique	Médecine
BRUNOIS-DEBU Isabelle	Anglais	Pharmacie
FISBACH Martine	Anglais	Médecine
O'SULLIVAN Kayleigh	Anglais	Médecine
PAST		
CAVAILLON Pascal	Pharmacie Industrielle	Pharmacie
DILÉ Nathalie	Officine	Pharmacie
MOAL Frédéric	Pharmacie clinique	Pharmacie
PAPIN-PUREN Claire	Officine	Pharmacie
SAVARY Dominique	Médecine d'urgence	Médecine
PLP		
CHIKH Yamina	Economie-gestion	Médecine

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier Monsieur Jean Pierre BENOIT pour l'encadrement de ma thèse, pour son intérêt, ses conseils, et toutes ses remarques très constructives et précieuses.

Je souhaite également remercier Monsieur Olivier DUVAL de me faire l'honneur de présider mon jury de thèse.

Je remercie également Monsieur Nicolas CLERE et Monsieur Chadi ABBARA d'avoir accepté d'être membres de mon jury de thèse.

Je désire vivement remercier toute l'équipe enseignante pour leur suivi, leurs conseils et toutes les connaissances qu'ils nous ont transmis durant ces années d'études.

Un énorme merci à mes parents, Dalal et haitham. Je vous dois toutes mes reconnaissances pour votre soutien, votre écoute et votre aide. Sans vous je n'y serais pas arrivée, vous êtes surement et certainement les meilleurs parents au monde entier.

Merci également à mes merveilleux frères Harith et Joud et à mes magnifiques belles sœurs Eibaa et Justine. Merci pour votre soutien, votre bonne humeur et pour tous vos conseils. Je suis chanceuse de vous avoir dans ma vie.

Un grand merci à tous mes amis : Alina, Antoine, Aya, Bilal, Mandy, Marlène, Marion, Mohammad, Nour, Omar, Pétra, Riadh, Sarah et Shiam. Merci pour votre soutien, merci pour la joie, les fous rires, le bon humour rendant ce chemin bien plus amusant et moins difficile.

Table des matières

INTRODUCTION	11
GENERALITES SUR LES LIPOSOMES	12
1. Définition	12
2. L'intérêt des liposomes comme vecteurs médicamenteux	12
3. Composition	14
3.1. Les phospholipides	14
3.1.1. Le paramètre d'empilement PP	15
3.1.2. La température de transition de phase T	17
3.2. Le cholestérol	17
4. Classification des liposomes	18
4.1. Classification des liposomes selon leur taille et lamellarité	18
4.2. Classification des liposomes selon leur procédé de fabrication	19
4.3. Classification des liposomes selon leurs propriétés de surface	20
5. Les différents modèles de ciblage des liposomes	22
5.1. Le ciblage passif et l'effet EPR	22
5.2. Le ciblage actif	23
6. Préparation des liposomes	24
6.1. Préparation par dispersion mécanique	24
6.1.1. La sonication	24
6.1.2. L'extrusion	25
a) Les cellules de French press	25
b) Membrane de polycarbonate	25
6.1.3. Les cycles de congélation-décongélation	26
6.1.4. Hydratation du film lipidique	26
6.2. Préparation par élimination de solvant organique	27
6.2.1. Evaporation en phase inverse	27
6.2.2. Injection d'un solvant organique (éther ou éthanol)	28
6.3. Préparation de liposomes par élimination de molécules tensio-actives	28
7. Encapsulation des principes actifs	28
7.1. Encapsulation passive	29
7.2. Encapsulation active	29
7.2.1. Gradient de pH	29
7.2.2. Gradient de potentiel	30
7.2.3. Le détergent	30
8. Les méthodes de libération du principe actif	30
8.1. Libération passive	31
8.2. Libération active	32
MEDICAMENTS A BASE DE LIPOSOMES	33
1. En cancérologie	33
2. En infectiologie	34
3. D'autres domaines thérapeutiques	35
LES LIPOSOMES SENSIBLES AUX STIMULI EXTERNES	37
1. Les liposomes thermosensibles LTS	37
1.1. Les différents types de stimulus appliqués	38
1.1.1. Radio et micro-ondes	38
1.1.2. Champ magnétique alternatif (CMA)	38
1.1.3. Ultrasons	38
1.1.4. La lumière/les photons	39
1.2. Les différentes générations de LTS	40
1.2.1. Les liposomes thermosensibles traditionnels de première génération (LTST)	40
1.2.2. Les liposomes thermosensibles de deuxième génération (LTSL)	40
1.3. Composition de la bicouche lipidique des LTS	41
2. Liposomes sensibles aux ultrasons	43
GESTION DE LA DOULEUR ET LIPOSOMES SENSIBLES AUX STIMULI EXTERNES	44

1.	La douleur.....	44
1.1.	Définition.....	44
1.2.	Types de douleur	45
1.2.1.	La douleur post-opératoire	47
1.2.2.	La douleur neuropathique chronique	48
2.	Les différentes techniques d'analgésie présentes sur le marché et leurs limites	51
3.	Le système liposomal proposé et son intérêt dans la gestion de la douleur	58
3.1.	Liposomes sensibles à la lumière proche-infrarouge	58
3.1.1.	Liposomes thermosensibles couplés à des nanoparticules d'or.....	59
a)	Liposomes thermosensibles de première génération	59
b)	Liposomes thermosensibles de deuxième génération	60
3.1.2.	Liposomes photosensibles couplés à un photosensibilisateur.....	61
3.1.3.	Liposomes photo et thermosensibles à la fois.....	62
3.2.	Liposomes sensibles aux ultrasons	63
DISCUSSION.....		64
CONCLUSION		67
BIBLIOGRAPHIE		68
TABLE DES ILLUSTRATIONS.....		77
TABLE DES TABLEAUX		77

Liste des abréviations

PIR	Proche-infrarouge
PA	Principe Actif
PP	Packing parameter
PEG	Polyéthylène glycol
EPR	Enhanced permeation and retention
Tm	Température de transition de phase
VdW	Van der Waals
CHOL	Cholestérol
SUV	Small Unilamellar Vesicle
LUV	Large Unilamellar Vesicle
GUV	Giant Unilamellar Vesicle
MLV	Multilamellar Large Vesicle
OLV	Oligolamellar Vesicle
MVV	Multi Vesicular Vesicle
LTS	Liposomes termosensibles
HT	Hyperthermie
CMA	Champ magnétique alternatif
LTST	Liposomes termosensibles traditionnels
LTSL	Liposomes termosensibles avec des lysolipides
DPPC	Dipalmitoylphosphatidylcholine
DSPC	Distearoylphosphatidylcholine
HSPC	Hydrogenated soybean phosphatidylcholine
MSPC	1-palmitoyl-2-hydroxy-snglycero-3-phosphocholine
HIFU	High Intensity Focused Ultrasound
LFUS	Low Focused Ultrasound
ROS	Reactive Oxygen Species
IASP	International Association for the Study of Pain
AINS	Anti-inflammatoires non stéroïdiens
PCA	Analgésie autocontrôlée par le Patient
SFAR	Société Française d'Anesthésie et de Réanimation
AL	Anesthésique local
ALR	Anesthésie loco-régionale
DCPC	Douleur Chronique Post Chirurgicale
EMA	European Medicines Agency

INTRODUCTION

La pharmacie galénique est à la fois la science et l'art de concevoir les médicaments dans le but de mieux les adapter à la maladie concernée [1]. Elle a toujours participé aux progrès thérapeutiques à travers l'histoire. En effet, la forme pharmaceutique sous laquelle un médicament est administré conditionne son avenir dans l'organisme, notamment en ce qui concerne sa biodisponibilité et son profil de libération. Des innovations dans ce domaine ont vu le jour ces dernières décennies, notamment dans le domaine de la nanotechnologie où on se sert de la galénique pour résoudre des problématiques tels que la diminution des effets indésirables. En effet, la nanotechnologie a suscité un grand intérêt ces derniers temps, surtout en ce qui concerne la libération modulée et la vectorisation des molécules actives vers les tissus cibles.

Les liposomes étaient les premiers à avoir été développés en tant que nano médicaments car ils présentent de nombreux avantages qui seront détaillés prochainement. Ils peuvent être rendus sensibles à certains stimuli internes comme le pH par exemple, ou externes comme les ultrasons, la lumière Proche-infrarouge (PIR) ou autres. Cette sensibilisation pourrait être intéressante pour obtenir une libération sur commande des actifs. Pour cette dernière raison, j'ai choisi donc de m'intéresser à ce type de liposome pour démontrer leur intérêt dans la gestion de la douleur post-opératoire et la douleur neuropathique chronique. En effet, une telle technique permettrait de moduler la libération de l'analgésiant par le patient au temps voulu et en fonction de ses douleurs. C'est donc une libération répétée et sur commande qu'on espère obtenir.

La douleur serait à l'origine de près de deux tiers de consultations médicales et constitue un problème majeur de santé publique [2]. Elle est de plusieurs types en fonction de son origine et de sa persistance dans le temps. A travers cette thèse, je m'intéresse essentiellement à la douleur post-opératoire suite à une chirurgie mais également à la douleur neuropathique chronique. Compte tenu de nombreux effets indésirables liés aux morphiniques, l'anesthésie loco-régionale en tant que technique d'analgésie, est un choix intéressant. En effet, le système de liposomes sensibles aux stimuli externes constitue une forme galénique innovante dont le but est de contourner les effets indésirables des

médicaments disponibles d'un côté et de promettre une meilleure autonomie aux patients d'un autre côté, tout cela en étant non invasif.

Dans un premier temps, je présente donc les liposomes d'une manière générale puis les liposomes sensibles aux stimuli externes d'une manière plus précise. Dans un deuxième temps, je m'intéresse à la douleur dans sa globalité puis à la douleur post-opératoire et neuropathique chronique plus particulièrement. Enfin, pour la dernière partie je discute de l'intérêt de ce type de liposome dans la gestion de ces deux types de douleur.

GENERALITES SUR LES LIPOSOMES

1. Définition

Les liposomes sont des vésicules sphériques composées d'une ou plusieurs couches lipidiques enfermant à l'intérieur le cœur aqueux. Leur taille peut aller d'une vingtaine de nm jusqu'à quelques μm . Ils peuvent encapsuler des principes actifs hydrophobes au niveau de leur bicouche lipidique ainsi que des principes actifs hydrophiles qui seront placés plutôt dans le cœur aqueux [3].

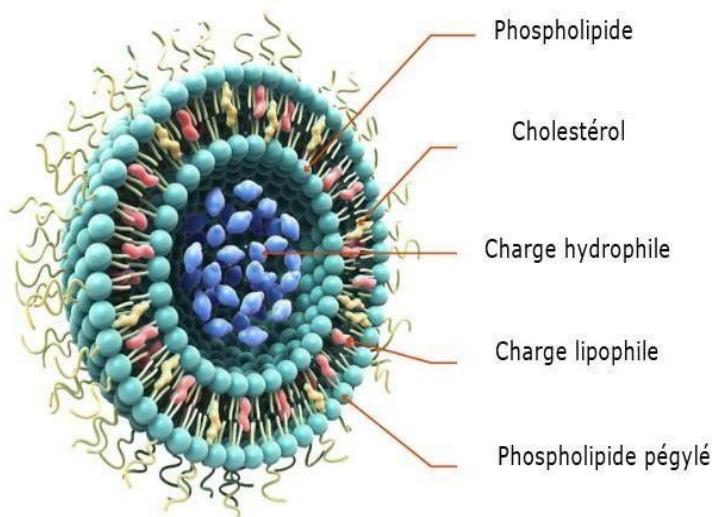


Figure 1. Structure d'un liposome [4]

2. L'intérêt des liposomes comme vecteurs médicamenteux

Depuis leur découverte par Bangham, et al, les liposomes ont démontré un véritable intérêt dans le domaine de la pharmacie galénique. De nombreuses études de recherche

ont permis de mettre en évidence leurs avantages et, ceci, dans plusieurs domaines (cancérologie, infectiologie, immunologie, radiologie,...). Ils ont été les premiers nanovecteurs à être employés dans des essais cliniques, être développés en tant que médicaments et mis sur le marché. Les liposomes constituent une avancée technologique d'encapsulation des principes actifs aussi bien hydrophiles que lipophiles, permettant ainsi de les protéger, de les véhiculer et de moduler leur libération au niveau du site d'action [3].

De nombreuses études de recherche ont permis de marquer plusieurs progrès dans le domaine des liposomes dans l'objectif de moduler leur libération (liposomes à libération répétée,...), de diminuer leur dégradation par le système immunitaire (liposomes furtifs,...) ou de leur offrir une technologie de ciblage (liposomes couplés à des anticorps,...).

Parmi les avantages qu'offrent les liposomes dans le domaine de la pharmacie galénique, on peut citer :

- Protection des Principes actifs (PA) contre la dégradation : le PA étant situé dans le cœur aqueux ou dans la bicoche lipidique, il sera mieux protégé vis-à-vis de la dégradation éventuelle par les enzymes de l'organisme.
- Ils sont biodégradables et biocompatibles,
- Ils sont non toxiques et non immunogéniques,
- Vectorisation des PA jusqu'à leur arrivée aux sites d'action,
- Diminution des effets indésirables dûs à la toxicité des PA sur les cellules saines : le PA étant véhiculé directement vers son site d'action, ceci permettrait de diminuer considérablement les effets secondaires engendrés sur les tissus non ciblés comparément aux formes galéniques classiques.
- Libération modulée des PA,
- Industrialisables : leur préparation peut s'adapter aux procédés de l'industrie pharmaceutique.

3. Composition

La membrane des liposomes est principalement constituée de phospholipides, on peut également y retrouver du cholestérol.

3.1. Les phospholipides

Les phospholipides et plus précisément les glycérophospholipides sont les constituants majeurs des liposomes. Ces molécules à l'état naturel rentrent également dans la composition des membranes biologiques. Ils peuvent être donc d'origine naturelle ou bien synthétique. Ils sont neutres, ou chargés (positivement ou négativement) afin d'éviter les phénomènes d'agrégation des liposomes ou d'augmenter la capacité d'encapsulation de certains principes actifs chargés. Ce sont des molécules amphiphiles car composées d'une part d'un groupement hydrophile qui est la tête polaire (groupement phosphate estérifié par d'autres groupements) et d'autre part d'un groupement hydrophobe qui est la queue lipidique apolaire. Cet amphiphile confère donc aux phospholipides des propriétés tensioactives car en contact avec un milieu aqueux, les molécules de phospholipides s'auto-assemblent de manière à minimiser le contact avec l'eau. Cet auto-assemblage donne lieu à des micelles, micelles inverses ou bien à des bicouches comme dans le cas des liposomes, en fonction du paramètre d'empilement (packing parameter PP) des phospholipides qui les caractérisent.

Des phospholipides modifiés peuvent également être employés afin de modifier la surface des liposomes :

- phospholipides ioniques pour obtenir des liposomes chargés,
- phospholipides couplés au polyéthylène glycol (PEG) pour obtenir des liposomes furtifs,
- phospholipides couplés à des anticorps pour obtenir des immunoliposomes.

Les principaux phospholipides utilisés dans la formation des liposomes sont classés selon leurs propriétés physico-chimiques et présentés dans le tableau 1 [5].

Lipides	Abréviation	carbones/saturation	Température de transition Tm (°C)	Charge à PH=7,4
Phospholipides naturels neutres				
Phosphatidylcholine de jaune d'œuf (Egg Phosphatidyl Choline)	EPC		-15 à -7	0
Phosphatidylcholine de soja	SPC		-15 à -7	0
Phospholipides synthétiques neutres				
Dilauroyl phosphatidylcholine	DLPC	12 : 0	-1	0
Dimyristoyl phosphatidylcholine	DMPC	14 : 0	23	0
Dipalmitoyl phosphatidylcholine	DPPC	16 : 0	41	0
Distéaroyl phosphatidylcholine	DSPC	18 : 0	55	0
Dieoleoyl phosphatidylcholine	DOPC	18 : 1	-20	0
Dimyristoyl phosphatidyléthanolamine	DMPE	14 : 0	50	0
Dipalmitoyl phosphatidyléthanolamine	DPPE	16 : 0	63	0
Dieoleoyl phosphatidyléthanolamine	DOPE	18 : 1	-16	0
Phospholipides synthétiques chargés négativement				
Dimyristoyl acide phosphatidique•sodium	DMPA•Na	14 : 0	50	-1,3
Dipalmitoyl acide phosphatidique• sodium	DPPA•Na	16 : 0	67	-1,3
Dieoleoyl acide phosphatidique • sodium	DOPA•Na	18 : 1	-8	-1,3
Dimyristoyl phosphatidylglycérol• sodium	DMPG•Na	14 : 0	23	-1
Dipalmitoyl phosphatidylglycérol• sodium	DPPG•Na	16 : 0	41	-1
Dieoleoyl phosphatidylglycérol• sodium	DOPG•Na	18 : 1	-18	-1
Dimyristoyl acide phosphatidylsérine•sodium	DMPS•Na	14 : 0	35	-1
Dipalmitoyl phosphatidylsérine• sodium	DPPS•Na	16 : 0	54	-1
Dieoleoyl phosphatidylsérine• sodium	DOPS•Na	18 : 1	-11	-1
DOPE-Glutaryl•(Na) ₂		18 : 1	-10	-2
Tetramyristoyl Cardiolipin•(Na) ₂		14:0	59	-2
DSPE-mPEG-2000•Na		18 : 0	N/A	-1
DSPE-mPEG-5000•Na		18 : 0	N/A	-1
DSPE-Maléimide PEG-2000•Na		18 : 0	N/A	-1
Phospholipides chargés positivement				
Di-oleoyloxytriméthylamoniopropane•chlore	DOTAP•Cl	18 : 1	0	+1
Stéarylamine	SA	18 : 0	N/A	+1

Tableau 1 : Les phospholipides utilisés dans la préparation des liposomes [5]

3.1.1. Le paramètre d'empilement PP

C'est une grandeur physique qui caractérise un phospholipide et qui permet de prévoir la structure supramoléculaire de ce dernier dans un milieu aqueux. Il dépend de plusieurs facteurs tels que la longueur et le nombre de chaînes carbonées, la surface de la tête polaire et le volume de la chaîne carbonée. Ce paramètre est défini selon la relation mathématique suivante: $P = v/(a_0 \cdot L_c)$ où v est le volume occupé par les chaînes hydrophobes, a_0 est la surface de la tête polaire à l'équilibre et L_c est la longueur des chaînes hydrophobes [6,7].

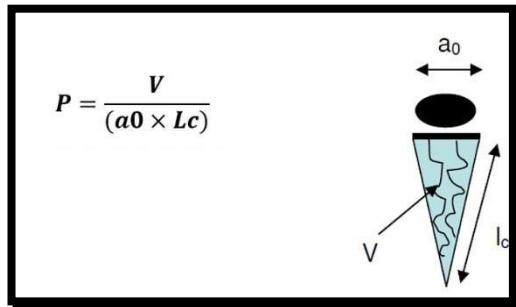


Figure 2 : Paramètre d'empilement PP [7]

Ainsi, en fonction de sa valeur, le phospholipide aura une géométrie donnée et, donc, s'auto-organise en structure supramoléculaire spécifique (micelle, micelle inverse ou bicouche,...). Dans le cas des phospholipides donnant des liposomes, ce paramètre aura une valeur comprise entre 0,5 et 1 [6,7].

L'illustration suivante présente les différentes formes d'assemblage des phospholipides en fonction de leur paramètre d'empilement selon le modèle d'Israelachvili, et al.

Packing parameter

$$CPP = V / (a_0 \cdot L_c)$$

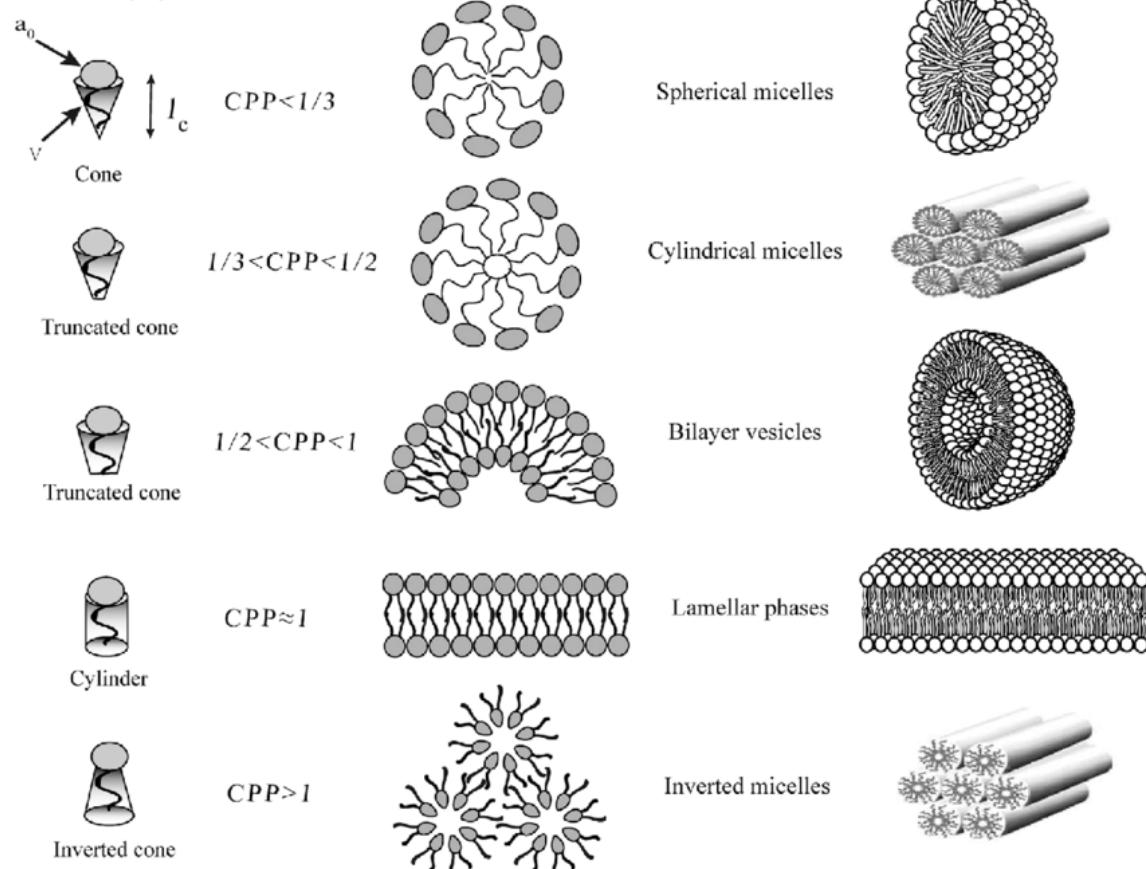


Figure 3: Paramètre d'empilement et structures supramoléculaires [8]

3.1.2. La température de transition de phase Tm [9]

Chaque phospholipide est caractérisé par une température de transition de phase Tm, en-dessous de laquelle les phospholipides se trouvent à l'état de gel ordonné ($L\beta$) et au-dessus de laquelle les phospholipides se trouvent à l'état liquide désordonné ($L\alpha$).

A l'état gel ordonné, les phospholipides sont étirés au maximum et rangés d'une manière parallèle rendant la couche des liposomes plutôt rigide et imperméable. Contrairement à l'état liquide désordonné où les phospholipides sont plus mobiles ce qui rend la membrane lipidique plus perméable et moins rigide.

La température de transition de phase est dépendante de deux paramètres : d'une part de la longueur de la chaîne hydrocarbonée et d'autre part du degré d'instauration du lipide en question. Plus la chaîne hydrocarbonée est longue, plus la Tm est élevée car il y aura plus d'interaction de type Van der Waals (VdW). Par contre, plus le phospholipide est insaturé, plus la Tm diminue car les chaînes sont plus éloignées favorisant moins l'interaction entre elles.

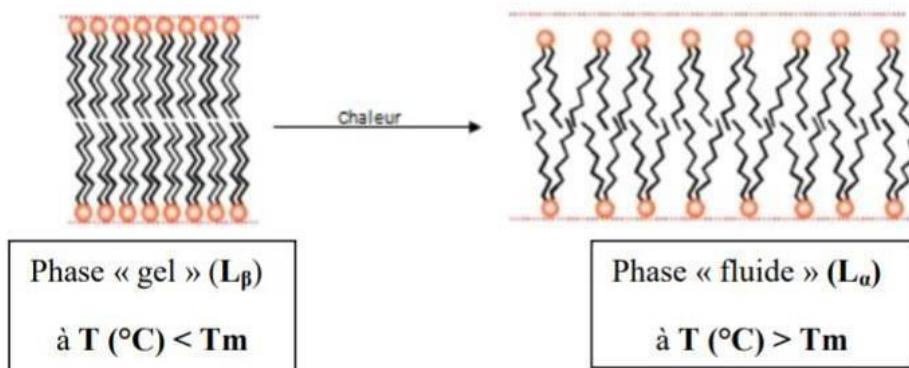


Figure 4 : La température de transition de phase Tm [5]

Cette température est importante à prendre en considération lors de la fabrication des liposomes car ces derniers se forment qu'à une température au-dessus de cette Tm.

3.2. Le cholestérol [9]

Le cholestérol (CHOL) permet de rigidifier et de rendre moins perméable la bicouche lipidique. Ainsi, son ajout favorise la stabilité des liposomes *in vitro* en diminuant la fuite des principes actifs hydrophiles mais aussi *in vivo* en diminuant les interactions avec les lipoprotéines sanguines. Toutefois, ceci dépend de sa concentration au sein de la

membrane lipidique. En général, on retrouve de 5 à 45 mol% de CHOL ce qui permet d'avoir un bon compromis entre la stabilité et l'auto-assemblage des lipides. En effet, au-delà d'un certain rapport équimolaire CHOL/lipide, le CHOL peut perturber l'auto-assemblage des lipides et rendra donc la membrane liposomale très perméable, induisant ainsi une diminution de la capacité d'encapsulation des liposomes.

4. Classification des liposomes

En fonction de leur méthode de préparation, leur propriété de surface, leur taille et de leur lamellarité, on peut classer les liposomes de différentes manières.

4.1. Classification des liposomes selon leur taille et lamellarité [10]

Les liposomes unilamellaires possèdent une seule bicouche lipidique et peuvent se diviser en fonction de leur taille en 3 sous-catégories :

- Les (SUV) pour Small Unilamellar Vesicle, ce sont les plus petits liposomes dont la taille est comprise entre 20 et 100 nm.
- Les (LUV) pour Large Unilamellar Vesicle, leur taille est au-dessus de 100 nm.
- Les (GUV) pour Giant Unilamellar Vesicle, leur taille est au-dessus de 1 µm.

Les liposomes présentant plusieurs bicouches lipidiques (multilamellaires) peuvent se diviser en 3 sous-catégories également :

- Les (MLV) pour Multilamellar Large Vesicle, qui présentent plusieurs couches concentriques séparées par un milieu aqueux, leur taille est supérieure à 0,5 µm.
- Les (OLV) pour Oligolamellar vesicle, ils présentent que quelques couches concentriques et leur taille est comprise entre 0,1 et 1 µm.
- Les (MVV) pour Multi Vesicular Vesicle, qui présentent plusieurs couches non concentriques délimitant plusieurs compartiments aqueux, leur taille est supérieure à 1 µm.

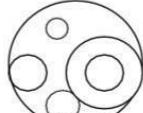
SUV	Small Unilamellar Vesicle		20-100 nm
LUV	Large Unilamellar Vesicle		> 100 nm
MLV	Multilamellar Large Vesicle		> 0,5 µm
OLV	Oligolamellar vesicle		0,1-1 µm
GUV	Giant Unilamellar Vesicle		> 1 µm
MVV	Multi Vesicular Vesicle		> 1 µm

Tableau 2: Classification des liposomes selon leur taille et lamellarité [10]

4.2. Classification des liposomes selon leur procédé de fabrication

Il existe plusieurs méthodes de préparation de liposomes qui seront détaillées plus loin. En fonction de chaque méthode, on obtient des liposomes avec des morphologies différentes :

REV	Vésicules obtenues par évaporation en phase inverse (SUV ou LUV)
MLV- REV	MLV obtenus par évaporation en phase inverse
VET	Vésicules obtenues par extrusion
LUVET	LUV obtenus par extrusion
FPV	Vésicules produites par press de French
FTV	Vésicules obtenues par congélation-décongélation
DRV	Vésicules obtenues par déshydration-hydratation
EIV	Vésicules obtenues par la méthodes d'injection d'éther

Tableau 3 : Classification des liposomes en fonction de leur procédé de fabrication [6]

4.3. Classification des liposomes selon leurs propriétés de surface

- Les liposomes de première génération : également appelés liposomes conventionnels ou classiques. Ils sont principalement composés de phospholipides et de cholestérol. Ils ont été les premiers à avoir été développés et à avoir été mis sur le marché. Facilement capturés par le système réticulo-endothélial grâce au phénomène d'opsonisation, leur temps de circulation dans l'organisme est relativement court. Ces liposomes s'accumulent ainsi principalement dans le foie et dans la rate. La stabilité de ce type de liposome dépend de leurs propriétés de surface telles que la charge et la taille, de leur hydrophobicité ainsi que de leur fluidité [9]. En effet, ils sont faiblement stables aussi bien sur le plan physico-chimique que sur le plan biologique, et leur devenir dans l'organisme dépend de leur interaction avec le système immunitaire [9].
- Les liposomes de deuxième génération : également appelés liposomes furtifs, PEGylés ou Stealth®. Ils ont l'avantage d'avoir un temps de circulation plus long comparément à ceux de première génération. Ce sont des liposomes auxquels ont été greffés des polymères hydrophiles à leur surface comme les PEG ou des résidus sialiques (gangliosides ou sphingomyélines) [9]. Ce greffage au niveau de la surface mimant les érythrocytes permet d'augmenter leur hydrophilie et de diminuer leur interaction avec les opsonines par effet stérique [12]. Le terme « Stealth® » a été enregistré en tant que marque déposée par Liposomes Technology, Inc [11]. Le ciblage pour ces liposomes de deuxième génération est dit passif. En effet, il a été observé que ces liposomes s'accumulent au niveau des tumeurs car ils sont capables de diffuser à travers les endothéliums fenestrés des néo-vaisseaux grâce à l'effet EPR (enhanced permeation and retention) [9]. Néanmoins, cet effet EPR est largement controversé dans la littérature pour différentes raisons expliquant l'écart entre la théorie et la pratique et surtout le modèle animal de l'humain.

Ces liposomes pegylés, présentent malheureusement des inconvénients en terme de coût, qui est certainement plus élevé, mais aussi en terme de réactions d'hypersensibilité dues à la charge négative du groupement phosphate des

glycérophospholipides-PEG qui active d'une manière concentration-dépendante les voies classiques et alternatives du système du complément [9, 13, 14].

De plus, la présence des macromolécules de PEG à la surface des liposomes pourrait entraver leur interaction avec les cellules cibles et la prolongation de leur temps de résidence sanguin pourrait augmenter le risque d'extravasion et d'accumulation dans les tissus sains, ce qui pourrait augmenter le risque de survenu d'effets indésirables [9].

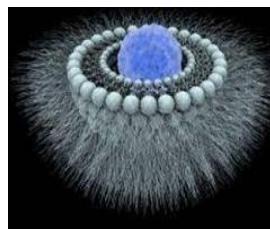


Figure 5 : Liposome furtif de 2ème génération [15]

- Les liposomes de 3ème génération : ce sont des liposomes qui présentent à leur surface des ligands tels que des anticorps ou des fragments d'anticorps afin de cibler un tissu malade en particulier, on parle alors de ciblage actif [9].
Autres que les anticorps, On peut y retrouver également des facteurs de croissance ou des peptides. On appelle ces éléments ajoutés à la surface des liposomes, des ligands [9].

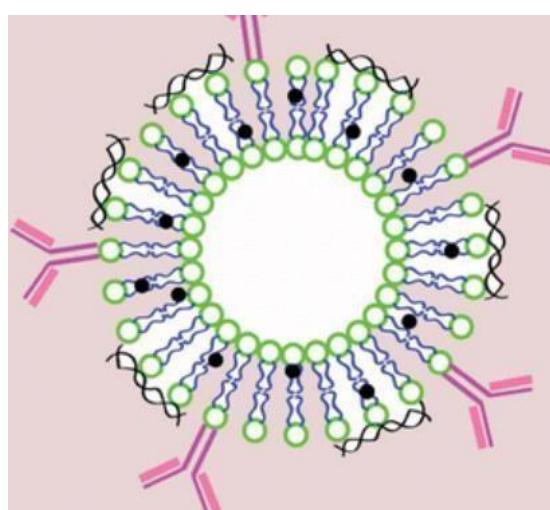


Figure 6: Immunoliposomes de troisième génération [18]

5. Les différents modèles de ciblage des liposomes

5.1. Le ciblage passif et l'effet EPR:

L'effet EPR est surtout décrit pour les liposomes de deuxième génération, PEGylés ou Stealth® qui expriment à leur surface des polymères leur assurant une prolongation de demi vie dans la circulation sanguine.

L'effet EPR est l'acronyme de « enhanced permeation and retention » pour perméabilité et rétention accrue dans les tissus tumoraux, et est décrit en comparaison avec les tissus sains où la structure de la micro vascularisation est différente en terme de fenestration et de donc de perméabilité.

La première publication qui explique cet effet EPR chez l'être humain date de 1985 de Morgan, *et al* [9]. En effet, il a été observé une accumulation de liposomes pegylés au niveau des tumeurs solides. Ceci étant expliqué par le fait que les zones tumorales présentent une micro vascularisation fenêtrée présentant des larges ouvertures. Grâce à ces fenestrations, Les liposomes quittent ainsi le flux sanguin et se retrouvent dans la masse tumorale par extravasation, ceci étant favorisé davantage par le drainage lymphatique insuffisant dans les zones tumorales [9,16].

Ce phénomène d'EPR est considéré donc comme étant du ciblage passif en oncologie [17]. Il est néanmoins remis en question par de nombreuses autres publications où on lui reproche une surestimation. En effet, ce phénomène est très hétérogène d'une tumeur à l'autre et peut également varier au sein même d'un seul tissu où on peut se retrouver à contrario, avec des parties imperméables même aux petites molécules comme l'albumine [9].

De plus, l'effet EPR est basé sur des modèles chez l'animal où la croissance tumorale est bien plus rapide que chez l'Homme. Suite à la croissance donc très rapide dans le modèle animal de la masse tumorale, la micro vascularisation va être donc bien plus fenestrée et perméable de ce qui est le cas chez l'Homme.

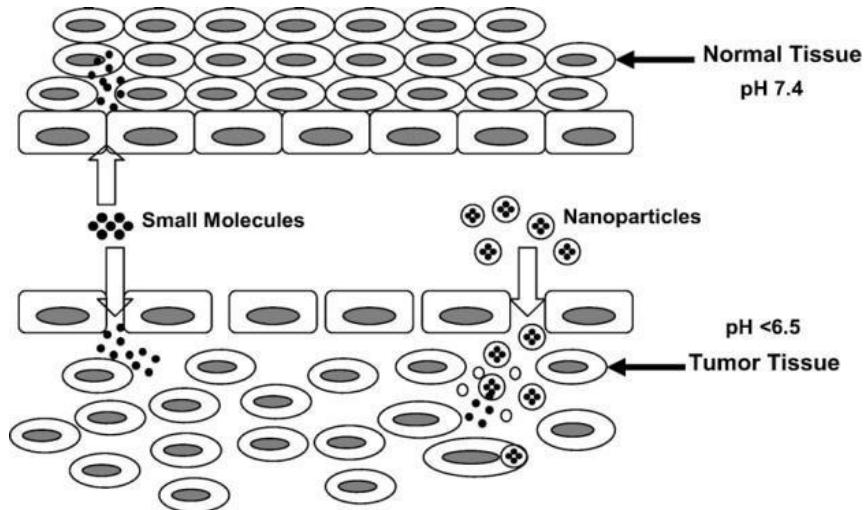


Figure 7: L'Effet EPR dans un tissu cancéreux [19]

Autre que l'effet EPR connu comme étant une stratégie du ciblage passif, on retrouve les liposomes sensibles aux stimuli internes comme par exemple, les liposomes sensibles au pH acide. En effet, ces liposomes ne libèrent leur contenu que lorsque le pH environnant devient acide. Cette propriété pourrait être utilisée également en cancérologie et en infectiologie où le pH varie entre 5,5 et 6,5 en comparaison avec le pH physiologique des tissus sains qui est autour de 7,4 [19].

5.2. Le ciblage actif :

Le ciblage actif concerne surtout les liposomes de 3^{ème} génération à qui on a associé un ligand à la surface qui est capable de reconnaître un récepteur particulier exprimé à la surface des cellules du tissu ciblé [19]. La reconnaissance entre ligand et récepteur augmenterait donc la sélectivité des liposomes et favoriserait l'internalisation du liposome par un phénomène d'endocytose médié par ce récepteur [9,19].

L'intérêt de ce ciblage actif pourrait être limité par les problèmes de perméabilité vasculaire et de pénétrabilité tumorale ce qui pourrait constituer une barrière entravant l'arrivée et donc la reconnaissance entre ligand et récepteur [9]. L'efficacité du ciblage actif est également affectée par la densité du ligand et de son affinité pour le récepteur. Elle est liée aussi à la densité du récepteur exprimé par les cellules [9].

A partir de ces différents constats et afin de contourner les limites possibles du ciblage actif des cellules tumorales en oncologie, une autre stratégie et toujours de ciblage actif a été élaborée. En effet, au lieu de cibler directement les cellules tumorales avec toutes

les barrières possibles avant d'y arriver, on choisirait plutôt de cibler activement les cellules endothéliales des néovaisseaux tumoraux, induisant ainsi une privation des cellules tumorales d'oxygène et de nutriments cheminés habituellement par le sang [9].

6. Préparation des liposomes

La première méthode décrite dans la littérature est celle de Bangham, *et al* [20] qui consiste en la dissolution des lipides dans un solvant organique dans un premier temps. Ensuite, une évaporation du solvant organique est nécessaire afin d'obtenir un film lipidique. Ce dernier va être hydraté par une solution aqueuse permettant ainsi aux couches de phospholipides de se décoller et de former des vésicules sphériques qui sont les liposomes. Il est important que cette étape s'effectue à une température supérieure à la température de transition de phase T_m des phospholipides utilisés. Enfin, les liposomes obtenus à la fin de cette étape d'hydratation sont hétérogènes en terme de taille et de lamellarité. Aujourd'hui, des étapes supplémentaires ont été développées et peuvent être appliquées aux liposomes préformés afin d'obtenir une meilleure homogénéisation et des caractéristiques plus précises. Par ailleurs, d'autres méthodes que celle d'hydratation du film lipidique ont été également décrites dans la littérature. Parmi lesquelles on retrouve celles basées sur l'élimination d'un solvant organique ou d'un détergent.

La méthode de préparation choisie conditionnera donc les caractéristiques des liposomes obtenus en terme de taille, de lamellarité et d'efficacité d'encapsulation.

6.1. Préparation par dispersion mécanique :

6.1.1. La sonication

Cette méthode permet l'obtention des SUV (Small unilamellar vesicles) de l'ordre de 30 à 50 nm à partir des MLV (Multilamellar vesicles). C'est donc surtout une méthode qu'on pourrait appliquer aux liposomes préformés. L'inconvénient majeur avec cette méthode est la faible capacité d'encapsulation obtenue [3].

Cette méthode peut être réalisée soit en utilisant un bain de sonication ou bien en utilisant une sonde de sonication. Un autre inconvénient qu'on peut également citer avec la sonication, est la dégradation possible de certains composants et la pollution par le titane constitutif de la sonde [3].

6.1.2. L'extrusion

Elle peut être réalisée par les cellules de French press ou bien avec une membrane de polycarbonate.

a) Les cellules de French press

Une suspension de liposomes passe à travers de petits orifices sous une pression et température données dans un objectif d'homogénéisation et/ou de réduction de taille et de lamellarité. Plusieurs passages sont réalisés à l'aide d'un piston. Cette méthode a l'avantage de causer moins de dégradation de certains composants comparément à la sonication. De plus, la capacité d'encapsulation des SUV obtenus semble être plus élevée car les SUV obtenus sont plus larges que ceux obtenus avec la sonication. En revanche, le volume des suspensions employées est relativement faible (de l'ordre de 50 mL maximum) [3].

b) Membrane de polycarbonate

La suspension de liposomes est forcée à travers un filtre de polycarbonate dont la taille des pores est proche de la taille désirée des liposomes [21]. La pression appliquée avec cette méthode est moins importante qu'avec la presse de French ce qui évitera la fragmentation de liposomes. Une diminution de leur lamellarité et donc de leur taille est obtenue. A la différence des cellules de French press, on obtient avec cette méthode des LUV de plus grande taille ayant un diamètre moyen de 120 à 140 nm.

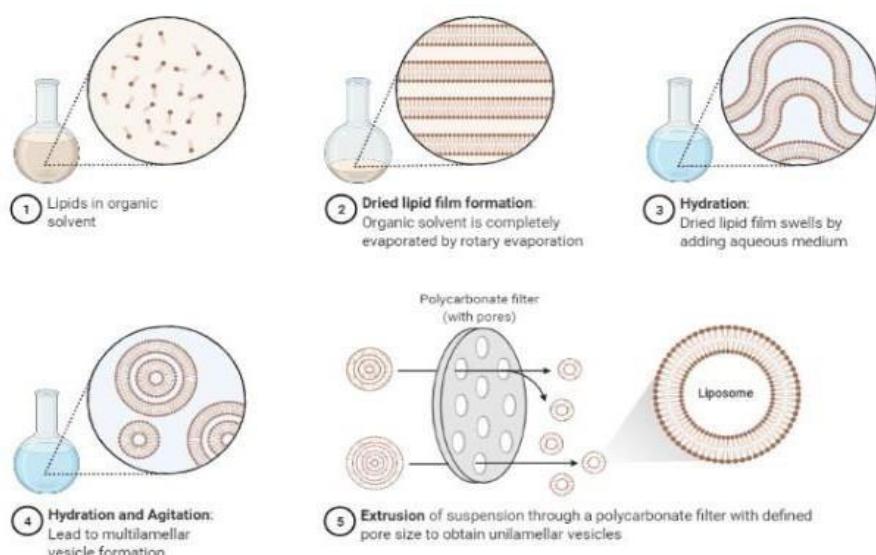


Figure 8 : Formation des liposomes par extrusion [22]

6.1.3. Les cycles de congélation-décongélation

Une suspension de liposomes est soumise à des cycles successifs de congélation dans l'azote liquide puis de décongélation dans l'eau tiède. Cette méthode peut s'appliquer aussi bien sur des liposomes SUV qui vont donc fusionner pour donner des LUV que sur des MLV afin de réduire leur lamellarité et donc d'augmenter leur capacité d'encapsulation [23].

6.1.4. Hydratation du film lipidique [46]

Il s'agit de la première méthode décrite dans la littérature. Elle permet d'obtenir des liposomes multilamellaires MLV. D'abord une dissolution des phospholipides dans un solvant organique et suivie de l'évaporation de ce dernier est nécessaire afin de former un film lipidique. Ceci est généralement réalisé dans un ballon à l'aide d'un évaporateur rotatif à faible température et sous agitation afin d'augmenter la surface d'évaporation. Le ballon contenant le film obtenu est placé sous vide pendant un certain temps afin d'éliminer les dernières traces restantes du solvant. Un ajout d'une phase aqueuse permettra par la suite d'hydrater et de décoller les bicouches lipidiques induisant ainsi la formation des vésicules multilamellaires. L'hydratation doit s'effectuer à une température supérieure à la température de transition de phase des phospholipides pour qu'ils puissent se retrouver à l'état fluide et donc se décoller et former les vésicules.

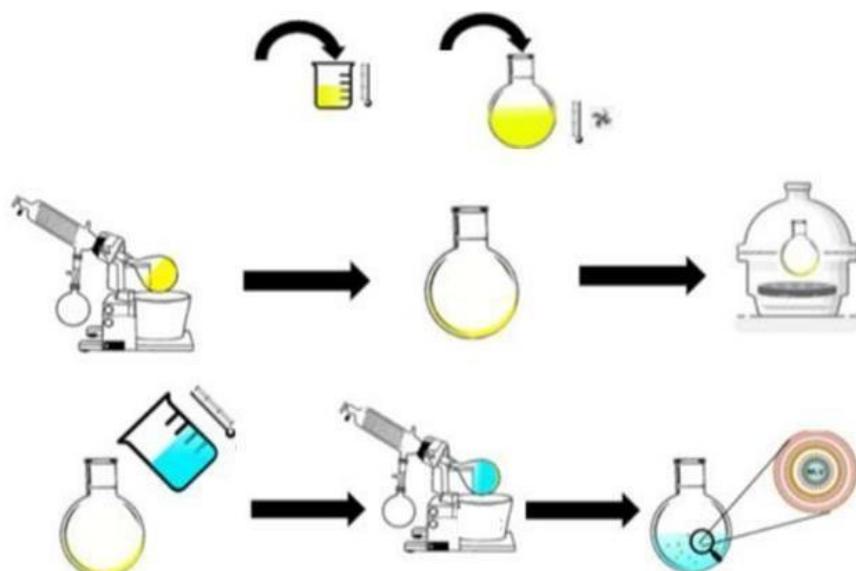


Figure 9 : Formation des liposomes par hydratation du film lipidique

6.2. Préparation par élimination de solvant organique

6.2.1. Evaporation en phase inverse

L'avantage de cette méthode est qu'elle permet l'obtention des LUV avec une plus grande capacité d'encapsulation, on peut également les appeler REV pour Reverse phase evaporation vésicules [24]. Les phospholipides sont d'abord dissous dans un solvant organique et mélangés par la suite avec la phase aqueuse. A ce stade là, les phospholipides se placent entre les deux phases non miscibles. Ensuite, une émulsion eau dans l'huile est obtenue à l'aide d'une action de sonication et des micelles inverses sont donc formées grâce à l'organisation des phospholipides autour du compartiment aqueux. Une évaporation du solvant organique sous pression réduite est mise en place afin de rapprocher les micelles inverses et de permettre l'obtention d'une structure de gel. Le rapprochement de ces micelles conduit à la rupture de cette structure et à la fusion des monocouches de phospholipides conduisant ainsi à la formation des liposomes [24].

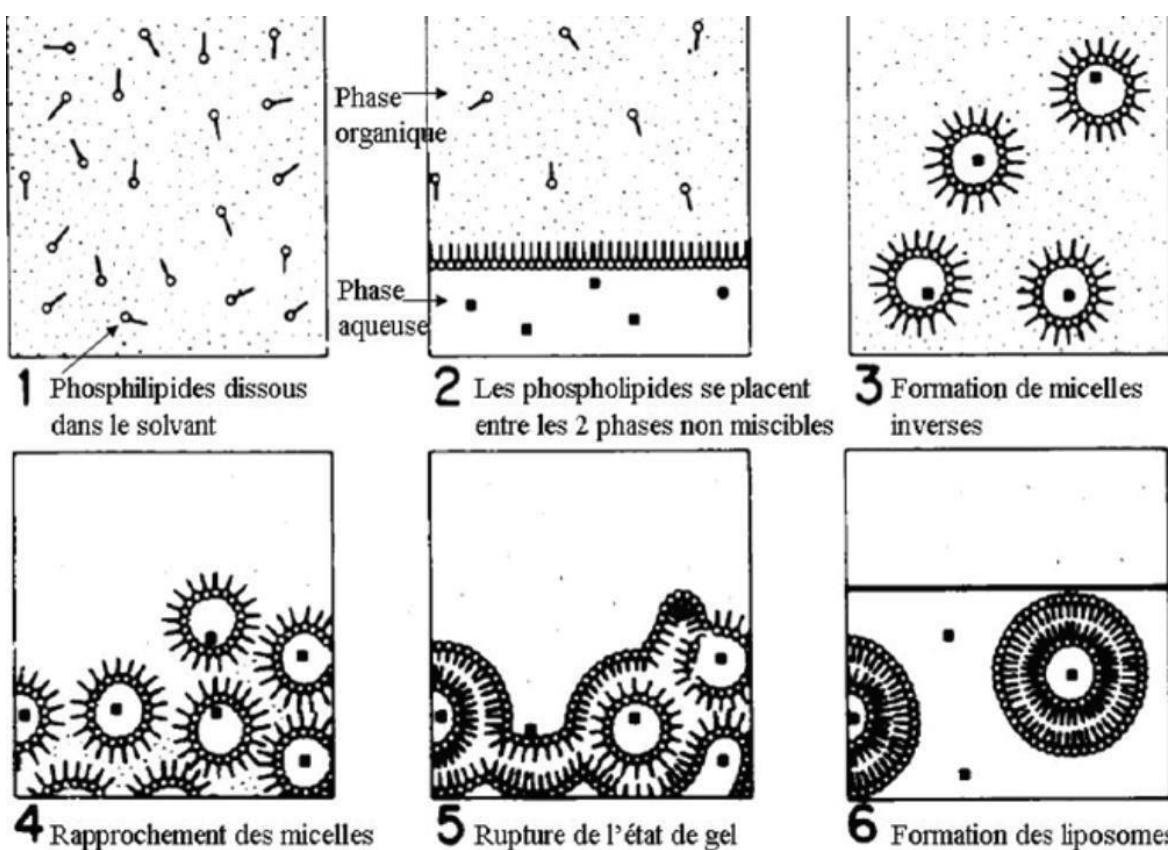


Figure 10 : Formation de liposomes par évaporation en phase inverse [24]

6.2.2. Injection d'un solvant organique (éther ou éthanol)

Cette méthode consiste en l'injection sous agitation d'un solvant organique (éther ou éthanol) dans un grand volume d'une phase aqueuse à l'aide d'une seringue en verre. Les phospholipides préalablement dissous dans le solvant organique se mettent à former des bicouches lipidiques à l'interface avec la phase aqueuse et formeront instantanément des liposomes. L'inconvénient de ces méthodes est que la population des liposomes obtenus est hétérogène en termes de taille [5, 50].

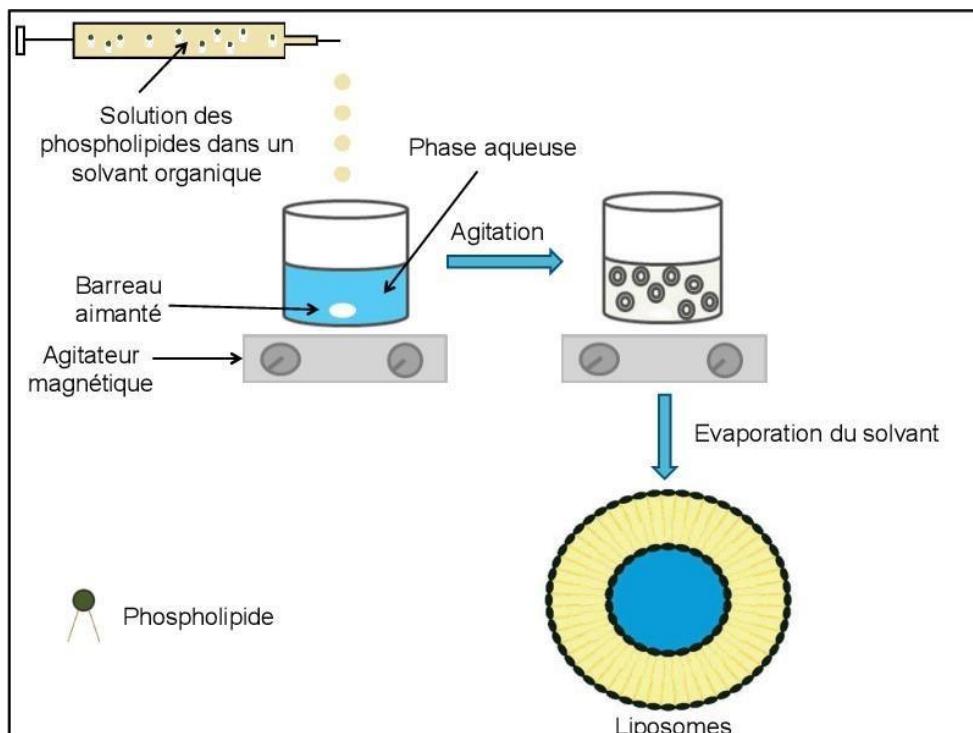


Figure 11 : Formation de liposomes par injection de solvant [23]

6.3. Préparation de liposomes par élimination de molécules tensio-actives

Les phospholipides sont dissous dans une phase aqueuse à l'aide des molécules tensio-actives formant ainsi des micelles inverses. Les tensio-actifs sont ensuite éliminés par dialyse, chromatographie d'exclusion-diffusion ou par adsorption sur des résines hydrophobes. Une fois éliminés, les micelles s'enrichissent en phospholipides formant ainsi des liposomes avec des bicouches lipidiques [23].

7. Encapsulation des principes actifs

En fonction des propriétés physicochimiques des principes actifs, il existe plusieurs méthodes afin de les encapsuler au sein des liposomes.

7.1. Encapsulation passive

L'incorporation du PA se passe lors de la formation des liposomes. S'il s'agit d'un PA hydrophile, son incorporation s'effectue lors de l'hydratation du film lipidique par la phase aqueuse qui contiendra ce PA. Si au contraire, il s'agit d'un PA lipophile, son incorporation s'effectuera lors de la formation du film lipidique [3].

Cette méthode dite passive représente le moyen le plus simple d'encapsulation des PA. Néanmoins, il faudra tenir compte de la stabilité des PA dans les différentes conditions de température, de pression, de sonication,....

7.2. Encapsulation active [6]

L'incorporation des PA s'effectue cette fois-ci sur des liposomes préformés. Ceci a pour avantage de préserver les propriétés des PA vis-à-vis de la dégradation qui pourrait se passer lors de la formation des liposomes.

Plusieurs techniques d'encapsulation active existent alors. Elles se basent généralement sur la création des gradients entre le corps aqueux des liposomes et le milieu extérieur. Le principe se base sur le fait que la forme non chargée du PA peut traverser la bicouche lipidique pour se retrouver piégée sous sa forme chargée à l'intérieur du liposome. Pour cela un gradient de pH ou d'ions doit exister entre le réservoir aqueux interne et le milieu externe.

7.2.1. Gradient de pH

Ceci concerne notamment les bases et les acides faibles qui peuvent diffuser à travers la bicouche lipidique des liposomes quand ils sont sous leur forme neutre. En revanche, une fois à l'intérieur des liposomes ils deviendront ionisés et donc seront piégés à l'intérieur.

Prenons l'exemple des bases faibles ; en créant une différence de pH de part et d'autre de la membrane liposomale (pH neutre à l'extérieur des liposomes et acide à l'intérieur), la forme non protonée de la base faible diffusera à travers la bicouche pour se retrouver protonée et piégée en milieu acide à l'intérieur du liposome.

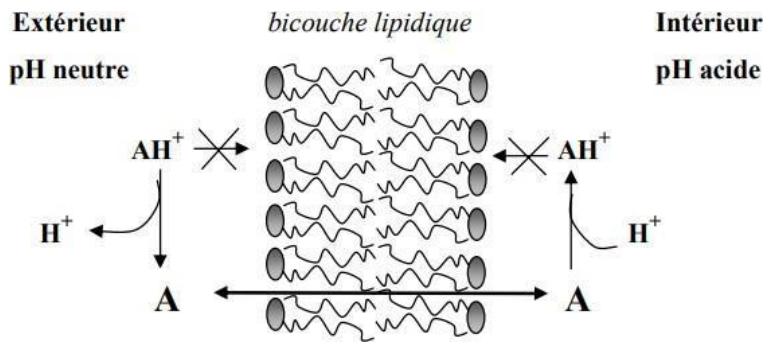


Figure 12: Encapsulation d'une base faible grâce à un gradient de pH [6]

7.2.2. Gradient de potentiel

Il s'agit d'une autre méthode d'encapsulation active qui consiste en la création d'un gradient de potentiel en encapsulant des cations de K⁺ et en incorporant dans la bicouche liposomale des ionophores sélectifs pour ce cation.

7.2.3. Le détergent

Différemment à la création de gradients, une encapsulation active peut également se faire en incorporant pour quelques minutes un détergent au sein de la membrane liposomale ; ainsi des pores transitoires sont créés permettant aux petites molécules de diffuser pour se retrouver encapsulées à l'intérieur de la phase aqueuse.

8. Les méthodes de libération du principe actif

Afin d'obtenir l'effet thérapeutique recherché, une libération du principe actif doit avoir lieu au niveau du site d'action. Ceci pourra être obtenu par différents mécanismes. On distingue des mécanismes passifs et d'autres dits actifs.

A la différence de la libération active, la libération passive se produit spontanément et sans intervention extérieure. Elle se fait soit selon une simple diffusion à travers la bicouche lipidique, soit suite à une déstabilisation du liposome après interaction avec la membrane cellulaire et/ou par modulation de facteur interne comme le pH par exemple [9].

La libération active, elle a lieu suite à un stimulus externe exerçant une déstabilisation sur la structure liposomale. Ce stimulus externe peut se présenter sous différentes formes (champ magnétique, lumière PIR, ultrasons, etc.)

8.1. La libération passive [9]

Elle peut avoir lieu selon différents mécanismes en fonction des propriétés de surface des liposomes et des cellules ciblées.

Une fusion de la membrane liposomale avec la membrane cellulaire peut avoir lieu, libérant ainsi directement le contenu dans le cytoplasme de la cellule.

La membrane du liposome peut également interagir avec certains ligands exprimés à la surface des cellules, induisant ainsi la formation de ce qu'on appelle les endosomes qui vont être internalisés par la suite dans le cytoplasme. On appelle ce phénomène l'endocytose. Les liposomes contenus dans les endosomes vont libérer petit à petit leur contenu. Ces endosomes peuvent également fusionner par la suite avec un lysosome caractérisé par le fait de contenir beaucoup d'enzymes et d'avoir un pH acide. Cette voie impliquant les lysosomes est utilisée par exemple dans le cas de liposomes sensibles au pH acide. Ce type de liposome reste stable au pH sanguin physiologique de 7,4 et se désintègre une fois à l'intérieur de lysosome où le pH est autour de 5,5 induisant ainsi la libération du PA dans le cytoplasme. Cette désintégration a lieu en raison de la modification de l'ionisation d'un constituant de base, de la rupture d'une liaison acido-labile, ou par la rupture d'un polymère spécifique par effet osmotique via l'acidification de ce dernier.

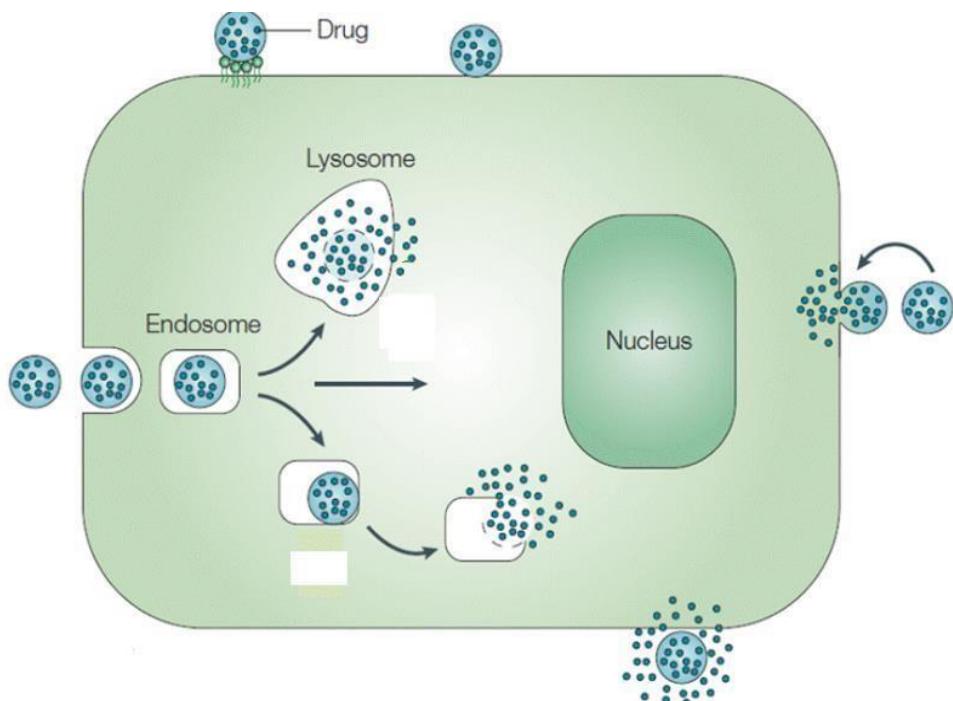


Figure 13 : Internalisation des liposomes dans la cellule [29]

8.2. La libération active

Elle a lieu suite à une stimulation des liposomes par une source externe et c'est à ce type de liposome que je me réfère dans cette thèse, ce sont les liposomes sensibles aux stimuli externes. Les différents types de stimulus et de liposome qui y sont sensibles vont être détaillés dans le chapitre suivant.

Ces types de liposome ont des applications dans le domaine de la cancérologie par exemple avec les liposomes dit thermosensibles.

Médicaments à base de liposomes

Plusieurs médicaments à base de liposomes sont présents actuellement sur le marché, d'autres sont en phase clinique en cours d'approbation. Ils sont employés dans différents domaines thérapeutiques. On les retrouve essentiellement en cancérologie mais aussi en infectiologie. Ils se présentent majoritairement soit sous forme d'une poudre lyophilisée ou bien sous forme d'une suspension. Le but principal derrière l'encapsulation sous forme de liposomes est généralement d'essayer de diminuer les effets indésirables de la molécule en question et/ou d'améliorer ses propriétés pharmacocinétiques.

1. En cancérologie :

On retrouve plusieurs spécialités encapsulant la doxorubicine comme anticancéreux utilisé dans le traitement du cancer du sein et de l'ovaire. La doxorubicine étant très cardiotoxique, son encapsulation sous forme de liposomes, réduirait significativement ses effets indésirables. **Doxil/Caelyx®**, **Myocet®**, **Lipo-Dox®** sont des exemples de médicaments à base de doxorubicine liposomale [23].

Par ailleurs, la vincristine est une molécule anticancéreuse utilisée dans le traitement de leucémie lymphoblastique aiguë [25]. Administrée seule sous sa forme conventionnelle, elle présente des limitations en terme de paramètres pharmacocinétiques et d'effets indésirables. **Marqibo®**, un médicament à base de vincristine liposomale a été développé afin de contourner ces limitations [26]. Son objectif est d'augmenter le temps de circulation de la molécule (qui est éliminée rapidement), optimiser sa délivrance aux tissus cibles, et augmenter la dose d'efficacité sans pour autant augmenter la toxicité [26].

On retrouve également des liposomes utilisés dans l'indication de la méningite lymphomateuse et néoplasique sous le nom de **DepoCyt® ou Liposome Ara-C®**, encapsulant la cytosine arabinoside comme principe actif [23].

Nom du médicament	Compagnie	Indication	Année d'approbation	Forme galénique
Doxil/Caelyx®	Johnson et Johnson	Sarcome de Kaposi Cancer de l'ovaire Cancer du sein	1995	Suspension
Myocet®	Cephalon	Cancer du sein	2000	Suspension
Lipo-Dox®	Sun Pharma	Cancer de l'ovaire Cancer du sein	2001	Suspension
DepoCyt® ou Liposome Ara-C®	Pacira	Méningite Lymphomateuse et néoplasique	1999	Suspension
Marqibo®	Talon	Leucémie lymphoblastique aiguë	2012	Suspension

Tableau 4 : Exemples de médicaments à base de liposomes en cancérologie (adapté de [23]).

2. En infectiologie :

On retrouve surtout des liposomes encapsulant un antifongique, l'amphotericine B, comme par exemple : **Abelcet®**, **Amphotec®** et **AmBisome®** utilisés dans le traitement de l' aspergillose [23]. Le but de l'encapsulation, est d'obtenir des profils pharmacocinétiques améliorés en comparaison avec l' l'amphotericine B classique. Dans le cas de l'**AmBisome®** par exemple, des études démontrent que les liposomes en question auraient un temps de circulation supérieur à celui de la molécule seule [27,28]. De plus, les liposomes seraient absorbés et retenus dans les tissus riches en cellules réticuloendothéliales où pourrait se déclarer une infection fongique [27,28].

On retrouve également des vaccins développés par Crucell contre la grippe saisonnière et l'hépatite B, le **Inflexal V®** encapsulant l'hémagglutinine inactivée des souches de virus grippaux A et B et l'**Epaxal®** encapsulant le virus de l'hépatite B inactivé [23].

Nom du médicament	Compagnie	Indication	Année d'approbation	Forme galénique
Abelcet®	Enzon	Antifongique	1995	Suspension
Amphotec®	Intermune	Antifongique	1996	Poudre
AmBisome®	Gilead	Antifongique	1990	Poudre
Inflexal V®	Crucell	Vaccin contre l'Influenza	1997	Suspension
Epaxal®	Crucell	Vaccin contre l'hépatite A	1999	Suspension

Tableau 5 : Exemples de médicaments à base de liposomes en infectiologie (adapté de [23]).

3. D'autres domaines thérapeutiques :

D'autres domaines thérapeutiques sont également concernés par les avantages et l'intérêt que peuvent offrir les liposomes.

En analgésie péridurale, on retrouve le **DepoDur®** encapsulant la morphine afin de prolonger sa libération [23].

En ophtalmologie, on retrouve le **Visudyne®** indiqué dans le traitement de la dégénérescence maculaire et l'histoplasmose oculaire [23].

Nom du médicament	Compagnie	Indication	Année d'approbation	Forme galénique
Visudyne®	QLT	Dégénérescence maculaire, histoplasmose oculaire	2000	Poudre
DepoDur®	Pacira	Analgesie	2004	Suspension

Tableau 6 : Exemples de médicaments à base de liposomes dans d'autres domaines thérapeutiques (adapté de [23]).

Les liposomes sensibles aux stimuli externes

Les liposomes peuvent être rendus sensibles à un stimulus externe afin de moduler la cinétique de libération de leur contenu ; ces stimuli externes peuvent être de différentes natures (source de chaleur, ultrasons, lumière PIR, champ magnétique alternatif, fréquences radio ou microondes,...) [9].

On retrouve dans la littérature, de nombreuses publications décrivant de tels systèmes dans différents domaines, mais plus particulièrement dans le domaine de la cancérologie.

A travers cette thèse, l'idée sera de discuter l'intérêt de ce type de liposome dans la gestion de la douleur. En effet, on retrouve dans la littérature certains articles proposant de tels systèmes qui vont être discutés par la suite dans le chapitre suivant.

1. Les liposomes thermosensibles LTS

Les LTS sont des liposomes stables et rigides à température corporelle. Ceci est dû au fait qu'ils soient composés de phospholipides dont la température de transition de phase T_m est supérieure à la température corporelle.

Suite à une action de chaleur apportée par une source externe, les phospholipides passent de l'état de gel ordonné (où la bicoche est imperméable) à l'état de liquide désordonné (où la bicoche devient perméable) permettant ainsi de libérer le contenu du corps aqueux [9].

Le stimulus externe utilisé ici est l'hyperthermie (HT). Cette hyperthermie pourrait être induite de différentes façons, avec des avantages et des inconvénients pour chacune d'entre elles. Les différents stimuli pouvant être appliqués sont les suivants : micro-ondes, fréquences radio, champ magnétique alternatif, ultrasons et lumière comme par exemple la PIR [9]. Pour certains on retrouve déjà de nombreuses applications en clinique, comme par exemple pour les ultrasons et les fréquences radio.

1.1. Les différents types de stimulus appliqués

1.1.1. Radio et micro-ondes

Elles peuvent induire une HT local allant jusqu'à 50° C. L'inconvénient majeur, réside dans le fait que l'HT induite reste locale et ne pourra donc pas concerner tout type d'application, comme par exemple les tumeurs disséminées qui ne pourraient pas être alors accessibles [9].

Elles ont pourtant des applications en clinique et peuvent être intéressantes pour les tumeurs primaires, une infection localisée ou une douleur locale par exemple [9].

1.1.2. Champ magnétique alternatif (CMA)

Les liposomes utilisés ici doivent être rendus sensibles au préalable au CMA. On les appelle magnétoliposomes [30]. L'élaboration de ce type de liposome pourrait donc rajouter un coût supplémentaire à la formulation.

De plus, l'appareillage permettant de fournir le champ magnétique est assez complexe, ce qui pourrait limiter son utilisation. Comme avec les radio et micro-ondes, la libération reste locale et se limite donc aux zones accessibles [9].

L'avantage majeur avec ce système, réside dans la possibilité de moduler la libération en fonction de la durée de CMA, mais aussi en la rendant pulsatile ou sur demande [9]. Un autre avantage, c'est la possibilité de faire de l'imagerie avec ce type de liposome, permettant ainsi de suivre ces derniers dans l'organisme. On appelle cette technique de couplage d'imagerie à la thérapie, la théranostique [9].

1.1.3. Ultrasons

Les ultrasons à basse fréquence sont capables d'induire de l'HT locale [9]. L'avantage avec les ultrasons, c'est qu'ils sont largement utilisés aussi bien en thérapeutique qu'en diagnostique [31], ils sont non ionisants, et peuvent moduler la profondeur de la pénétration dans les tissus en fonction de leur fréquence, longueur, pulsation, et durée d'exposition [9]. La cinétique de libération pourra être également modulée par ces différents paramètres.

ThermoDox® est un exemple de médicament à base de liposomes thermosensibles aux ultrasons focalisés de haute intensité (HIFU). De plus, les ultrasons peuvent induire la libération du contenu des liposomes par d'autres mécanismes que la thermosensibilité, ce qui pourrait potentialiser l'efficacité du système. Les ultrasons peuvent augmenter la perméabilité des tissus aux liposomes, en créant des pores membranaires dans les cellules, ce qui augmenterait l'internalisation des liposomes dans le cytoplasme [9,31].

Les ultrasons peuvent créer des microbulles au niveau de la membrane liposomale ce qui constitue des agents de contraste ultrasonores [9,31]. On a donc la possibilité de faire de la théranostique où l'imagerie permettant le suivi des liposomes est couplée à la thérapie [9,31]. Pour cela, des ultrasons à haute fréquence, cette fois-ci sont nécessaires. Il faudrait donc développer une sonde bimodale à basse et haute fréquence, ce qui est assez complexe et constitue un véritable challenge [9].

Un inconvénient aux ultrasons en oncologie est, qu'ils favorisent la dissémination métastasique par augmentation de la perméabilité vasculaire en raison du phénomène de cavitations induits [9].

1.1.4. La lumière/les photons

Les liposomes peuvent être rendus sensibles à certaines longueurs d'onde spécifiques, comme par exemple l'ultraviolet (UV), le visible, le proche-infrarouge (PIR). Ça peut être de la thermosensibilité ou bien de la photosensibilité par effet chimique.

Dans le cas de la thermosensibilité, on prend l'exemple de la lumière PIR. l'HT est induite par le biais de nanoparticules d'or incorporées dans le liposome par exemple [32-37].

En effet, en fonction des propriétés des nanoparticules d'or utilisées, à une certaine longueur d'onde, la lumière est transformée en chaleur qui induit donc cette HT. L'avantage avec ce système est, qu'il permet une libération modulable et sur demande en fonction de l'intensité de la lumière utilisée [32-37].

L'inconvénient majeur est surtout la capacité de pénétration de la lumière à travers les tissus biologiques. Elle est limitée à 10 mm pour la lumière UV-visible mais peut aller jusqu'à 10 cm dans le cas de la lumière PIR ce qui constitue une alternative intéressante [9]. Par ailleurs, le coût de ce type de système est plus élevé compte tenu de l'utilisation

de matériaux spécifiques capables de convertir la lumière en chaleur, comme l'or par exemple. De plus, l'innocuité de ces matériaux reste à prouver.

1.2. Les différentes générations de LTS :

En fonction de la composition de leur bicouche lipidique, la cinétique de libération peut différer. On décrit essentiellement deux types. Les liposomes thermosensibles de première génération ou traditionnels (LTST) et ceux de deuxième génération (LTSL).

1.2.1. Les liposomes thermosensibles traditionnels de première génération (LTST)

Ils ont une cinétique de libération plutôt intermédiaire [9,38]. Leur contenu est libéré quand la température est supérieure à la Tm des phospholipides [9].

1.2.2. Les liposomes thermosensibles de deuxième génération (LTSL)

La bicouche lipidique de ce type de liposome contient des lipides particuliers qu'on appelle des lysolipides [9].

A une température avoisinante de la Tm, ces lysolipides qui ne possèdent qu'une seule chaîne carbonée quittent leur place dans la membrane et forment des micelles, ce qui entraîne la formation des nanopores au niveau de la membrane liposomale [9].

L'avantage de ce système est, qu'il permet une libération ultrarapide du principe actif [9,38].

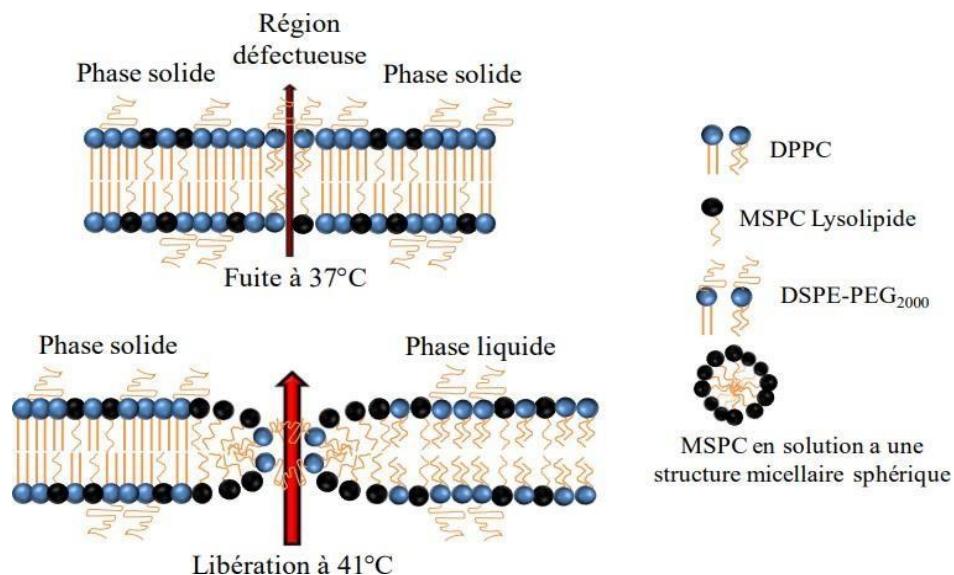


Figure 14 : Représentation de la bicouche lipidique des LTSL [9]

1.3. Composition de la bicouche lipidique des LTS

Les LTS sont généralement composés de deux ou trois lipides ayant chacun une fonction particulière sur la stabilité du système et sur la libération du contenu aqueux. Un élément important à prendre en considération lors de la formulation des LTS est la Tm. En effet, elle devrait être proche mais au-dessus de la température corporelle afin que les liposomes soient stables et imperméables en l'absence de chaleur et que la température nécessaire à l'activation du système soit supportable par les tissus biologiques [9,38].

En premier, on retrouve le DPPC (dipalmitoylphosphatidylcholine) qui est un phospholipide bicalénaire avec une tête hydrophile et une queue hydrophobe composée de deux chaines d'acides gras saturés.

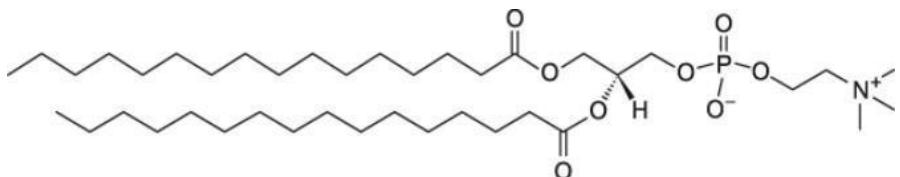


Figure 15 : Structure du DPPC [9]

Le DPPC a une Tm de $41,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Ainsi, les liposomes contenant du DPPC libèrent leur contenu à une température de $39-42^\circ\text{C}$ [9,38]. Ceci pourrait être modulé par l'ajout d'autres types de phospholipide.

La limite du DPPC réside dans le fait que les liposomes composés essentiellement de ce phospholipide libèrent leur contenu d'une manière lente et incomplète d'où la nécessité de rajouter d'autres phospholipides comme le DSPC et/ou le HSPC par exemple [39].

Le deuxième lipide qui rentre dans la composition de la bicouche lipidique des LTS est le CHOL. Il a pour rôle de moduler la rigidité de la membrane liposomale et d'augmenter donc la stabilité des liposomes. Sa concentration en terme de rapport molaire est importante à contrôler car, au-delà de 30 mol%, il pourrait modifier l'enthalpie de transition de phase du DPPC, rendant ainsi les liposomes insensibles à la chaleur [40].

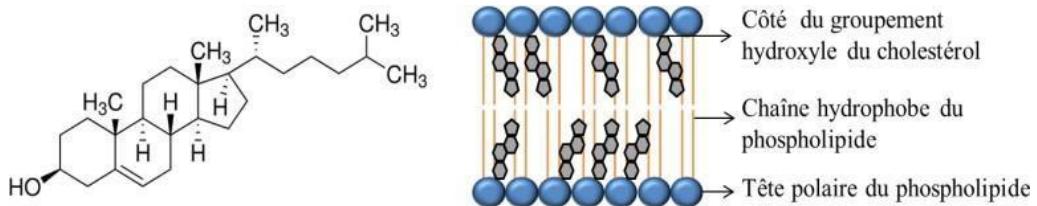


Figure 16: Structure du cholestérol et son insertion dans la membrane lipidique [9]

Un autre lipide qu'on peut retrouver également dans la bicouche est le DSPE-PEG2000, qui est un phospholipide pegylé. Il confère une furtivité aux liposomes. De plus, son ajout joue un rôle dans la modulation de la libération du contenu aqueux (augmentation de la libération à T_m) [41]. En effet, son pourcentage molaire est idéalement compris entre 1 et 5 mol% sinon il pourrait induire une déstabilisation de la bicouche lipidique [42].

Enfin, on retrouve les lysolipides dans le cas des LTSL. Ce sont des phospholipides monocaténaires ou lysolipides de géométrie conique. Celui qui est le plus couramment utilisé, est le MSPC [9].

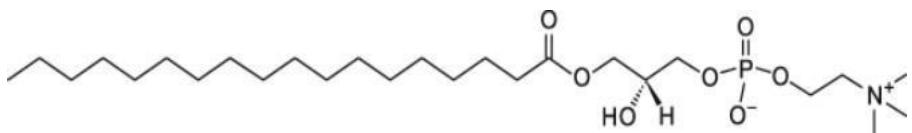


Figure 17: Structure du MSPC [9]

Sa concentration molaire est idéalement comprise entre 5 et 18 mol% car, au-delà de ça, une déstabilisation de la membrane liposomale et une diminution de la capacité d'encapsulation peuvent avoir lieu [41].

À une température proche de la T_m et grâce à la structure particulière de ces lysolipides, des nanopores de l'ordre de 10 nm sont formés, permettant ainsi la libération ultrarapide du contenu des liposomes suite au stimulus externe [9].

2. Liposomes sensibles aux ultrasons

Les ultrasons constituent un moyen attractif permettant la libération du contenu des liposomes, compte tenu de leur innocuité, leur excellente pénétration à travers les tissus biologiques et leur utilisation largement exploitée dans les domaines thérapeutiques et diagnostiques [31]. Ils peuvent être utilisés à différentes fréquences selon le mécanisme de libération mis en jeu.

Ainsi, selon leur fréquence et la composition lipidique des liposomes, les ultrasons déclenchent la libération du contenu des liposomes par le biais de plusieurs effets parmi lesquels on cite :

- **Effet thermique**

Ce sont des liposomes thermosensibles, ils sont sensibilisés généralement par HIFU (High Intensity Focused Ultrasound) [31], leur bicoche lipidique est composée de phospholipides dont la température de transition de phase T_m est proche de la température corporelle, autour de 42°C.

- **Effet mécanique**

C'est ce qu'on appelle également la cavitation acoustique. Suite à l'irradiation par les ultrasons, des petites bulles de gaz préexistantes croissent et collabent au niveau de la bicoche lipidique formant ainsi des pores transitoires pendant la période d'irradiation. L'effet mécanique est généralement généré par des ultrasons à basse fréquence (20-100) KHz, LFUS (Low Focused Ultrasound) [31].

- **Effet chimique**

C'est le principe de la sonochimie. Ce type d'effet est beaucoup moins exploité dans la littérature et nécessite l'utilisation des liposomes incorporant des molécules appelées des sono-sensibilisateurs [43]. Une fois irradiés par les ultrasons, des espèces réactives d'oxygène (ROS) sont générées, permettant la peroxydation des phospholipides polyinsaturés de la bicoche lipidique [43]. Ce processus permet ainsi l'augmentation de la perméabilité de la membrane lipidique et, donc, la libération des actifs. C'est ce qu'on appelle la sonochimie [43]

Gestion de la douleur et liposomes sensibles aux stimuli externes

1. La douleur

1.1. Définition

La douleur étant un phénomène très complexe et multifactoriel dépendant de plusieurs aspects, de nombreuses définitions sont proposées dans la littérature afin d'essayer de la comprendre [52]. Parmi ces définitions, on retrouve celle de L'IASP (International Association for the Study of Pain) qui présente la douleur comme une expérience désagréable, à la fois sensorielle et émotionnelle, liée à une lésion tissulaire existante ou potentielle ou simplement décrite en termes d'une telle lésion.

Elle constitue l'une des 5 constantes vitales au même titre que la température, la tension artérielle, le rythme cardiaque et la saturation en oxygène qui doivent être prises en charge dans tout service d'urgence à l'hôpital.

Malgré la sensation vécue comme désagréable, la douleur reste tout de même essentielle au système de vigilance de l'individu et joue un rôle protecteur vis-à-vis des éléments nocifs. Elle est un véritable système d'alarme et permet de prévenir les dangers potentiels de l'environnement [51]. Toutefois, cette douleur initialement utile, lorsqu'elle devient persistante et d'une grande intensité, peut nuire à la qualité de vie de l'individu. On parle alors d'une douleur à caractère pathologique comme la douleur chronique par exemple [51].

Par ailleurs, La douleur comporte plusieurs aspects, parmi lesquels on retrouve l'aspect sensoriel, émotionnel et psychologique.

L'aspect sensoriel concerne surtout la transmission de l'information douloureuse vers le système nerveux central, et est donc responsable de la perception de la douleur, c'est ce qu'on appelle « la nociception ».

L'aspect émotionnel se résume à la réaction physique de l'organisme suite à la perception de la douleur, incluant les réflexes employés suite à une stimulation qui menace potentiellement l'intégrité de l'organisme. C'est donc le comportement ou la réponse de l'individu à cette stimulation menaçante.

L'aspect psychologique explique d'un autre côté la variabilité interindividuelle de la perception de la sensation douloureuse, caractérisant ainsi la douleur comme subjective. En effet, une même blessure peut induire des expressions variables d'un individu à l'autre. Ceci est dépendant de plusieurs facteurs, comme, par exemple, l'âge, le genre, la représentation socio-culturelle de la douleur et les expériences antérieures de l'individu vécues dans son enfance.

La douleur représente une cause principale de consultations médicales et est un problème majeur de santé publique [51].

Une douleur aigüe mal traitée peut se transformer en douleur chronique et peut empiéter sur la qualité de vie de l'individu générant ainsi de vrais problèmes sociaux, professionnels et, par conséquent, économiques.

1.2. Types de douleur

En fonction de son origine, de son intensité et de sa persistance, plusieurs types de douleur peuvent être décrits.

Ici, on s'intéresse essentiellement à la douleur post-opératoire et à la douleur neuropathique chronique. La douleur post opératoire est systématiquement produite suite à une chirurgie et se caractérise par le fait qu'elle est prévisible, aigüe, dure de 24 à 72 heures et peut se transformer en une douleur chronique si elle est mal traitée. Sa durée et son intensité varient en fonction de la chirurgie subie. D'un autre côté, la douleur neuropathique résulte d'une lésion au niveau du système nerveux central ou périphérique [51].

En se référant à la persistance de la douleur dans le temps, on peut distinguer deux types : la douleur aigüe et la douleur chronique.

La douleur aigüe comme expliquée précédemment constitue généralement un vrai système d'alarme assurant la protection de l'organisme contre les agressions extérieures [51]. Tandis que la douleur chronique, se caractérise comme étant la persistance d'une douleur aigüe au cours du temps pour une durée supérieure à trois mois. Elle devient donc une maladie à part entière [51].

Plusieurs définitions de la douleur chronique existent dans la littérature parmi lesquelles on retrouve la définition de la Haute Autorité de Santé en 2008, définissant alors le syndrome douloureux chronique comme : « un syndrome multidimensionnel au sein duquel la douleur, quels que soient sa topographie et son intensité, se caractérise par sa persistance ou sa récurrence, dure au-delà de ce qui est habituel pour la cause initiale présumée, répond insuffisamment au traitement et entraîne une détérioration significative et progressive des capacités fonctionnelles et relationnelles du patient dans ses activités de la vie journalière. »

Les différents types de douleurs peuvent également se distinguer par leur origine (excès de nociception, neuropathique, dysfonctionnelle) [58].

La douleur générée par un excès de nociception est causée par une hyperstimulation des voies nociceptives à la périphérie comme par exemple la douleur induite par une coupure. Ce type de douleur pourrait être soulagé par le blocage du message nociceptif par l'intermédiaire des antagonistes des substances algogènes comme les antalgiques ou les anti-inflammatoires non stéroïdiens [58].

La douleur neuropathique, elle se définit selon l'IASP comme une douleur liée à une lésion ou une maladie affectant le système somato-sensoriel. L'atteinte peut concerner à la fois le système nerveux central ou périphérique. Le système de détection de douleur devient alors défaillant et incontrôlable par les antalgiques classiques d'où la nécessité d'utilisation d'autres molécules comme les antiépileptiques ou les antidépresseurs par exemple [58].

Les douleurs nociplastiques ou encore appelées douleur psychogènes sont liées à un dysfonctionnement des systèmes de contrôle de la douleur sans lésion identifiée. Parmi lesquels on retrouve, la fibromyalgie, la céphalée de tension, la colopathie "fonctionnelle" ou la cystite interstitielle. Leur prise en charge est plutôt multidisciplinaire et répond généralement mal aux traitements pharmacologiques [58].

Des douleurs dites mixtes sont également possibles associant plusieurs causes d'origine à la fois.

Dans ce travail, comme dit précédemment, je me focaliserai principalement sur deux types de douleur : la douleur post-opératoire et la douleur neuropathique chronique.

1.2.1. La douleur post-opératoire

La douleur post-opératoire est plutôt identifiée comme une douleur provoquée par un excès de nociception suite à une lésion tissulaire provoquée par la chirurgie.

La douleur résultante suite à une opération chirurgicale peut durer une dizaine de jours et modifier donc la qualité de vie des patients, d'où la grande importance de l'atténuer afin de faciliter la réadaptation des patients pour retrouver une vie normale.

La douleur post-opératoire étant très fréquemment présente encore malgré les nombreuses techniques d'analgésie post-opératoire décrites aujourd'hui, de nouvelles solutions innovantes doivent être proposées afin de contourner les limites et les effets indésirables de ce qui existe déjà sur le marché.

Le traitement efficace de la douleur aigüe post-opératoire joue un rôle important dans la prévention du développement d'une douleur chronique et des complications post-opératoires, améliorant ainsi le confort des patients et facilitant leur réadaptation/récupération.

En revanche, une mauvaise prise en charge de cette douleur prolongerait l'utilisation des opioïdes avec tous les effets indésirables et risques d'addiction associé et diminuerait la

qualité de vie des patients, sans parler de coûts économiques considérables rajoutés [55].

Une douleur post-opératoire mal soignée pourrait être également à l'origine d'aggravation de la morbidité des individus [55]. En effet, la douleur post-opératoire peut augmenter l'effort cardiaque, augmentant ainsi le risque d'ischémie. Elle peut également diminuer la mobilité de l'individu conduisant ainsi à une augmentation du risque de thromboses. Ainsi, une douleur post-opératoire mal traitée pourrait être la cause d'une ré-hospitalisation ou d'une prolongation de l'hospitalisation.

Par ailleurs, cette douleur peut avoir des retentissements sur les divers organes de l'organisme. Au niveau pulmonaire, elle peut être à l'origine d'une hypoventilation, d'une diminution de la capacité vitale et d'une augmentation des risques d'infections pulmonaires [55,57]. Au niveau rénal, elle augmenterait le risque de rétention urinaire et d'oligurie [55,57]. Au niveau gastrointestinal, elle diminuerait la motilité et augmenterait le risque de nausées et de vomissements. Elle pourrait même avoir des effets néfastes sur le système immunitaire [55,57]. Sur le plan psychologique, elle induirait stress et anxiété, conduisant ainsi à une augmentation de risque de dépression (en cas de chronicisation) et à une mauvaise qualité de sommeil [55, 57].

Sur le plan économique, une douleur post-opératoire mal traitée pourrait être responsable de dépenses supplémentaires à cause des frais de ré-admissions, des complications ou de morbidité possibles [55].

Selon une étude d'analyse rétrospective réalisée aux Etats Unis en 2002, le coût moyen par patient pour la gestion du suivi d'une douleur insuffisamment contrôlée après une chirurgie ambulatoire a été estimé à 1999 dollars [55,56].

1.2.2. La douleur neuropathique chronique

Une douleur neuropathique est produite suite à une lésion du système nerveux central ou périphérique. Cette lésion peut avoir lieu suite à différents événements. Le diabète par exemple constitue une cause majeure donnant lieu à ce type de douleur, c'est ce qu'on appelle la polyneuropathie diabétique [52].

Les opérations chirurgicales peuvent également donner lieu à une douleur neuropathique chronique appelée DCPC pour Douleur Chronique Post-Chirurgicale [52]. En effet, la douleur chronique post-opératoire représente un problème majeur de santé publique, affectant 10 à 50 % des opérés selon le type de chirurgie avec 2 à 10 % de douleurs sévères [54].

Une douleur post-opératoire chronique se caractérise par la persistance de la douleur aiguë subie suite à l'intervention pour une durée supérieure à deux mois [52]. Cette douleur touche tout type de chirurgie à tous les âges mais se présente avec une prévalence plus importante chez les personnes âgées chez qui les conséquences peuvent être malheureusement plus graves avec des répercussions en termes de souffrance, d'isolement, de consommation accrue d'antalgiques et d'augmentation de la morbi-mortalité.

Plusieurs facteurs peuvent jouer un rôle dans l'apparition des DCPC parmi lesquels on cite, la gestion de la douleur peropératoire, les antalgiques employés et notamment l'utilisation des morphiniques, l'acte chirurgical, la méthode d'anesthésie ainsi que des facteurs psychosociaux, génétiques et épigénétiques [53].

Par ailleurs, loin des opérations chirurgicales, certains patients peuvent développer des douleurs chroniques suite à un zona par exemple ou à une sciatique qui est également une grande cause de douleur neuropathique ainsi que le cancer [52].

Enfin, la douleur neuropathique quelle que soit son origine, quand elle devient chronique, peut être la source d'une dépression, d'altération de la concentration, ainsi que des troubles de sommeil. Cette douleur chronique peut ainsi avoir une ampleur économique et sociétale importante car les personnes souffrant de ce type de douleur deviennent moins aptes, voire incapables, de travailler au risque de perdre leur emploi. De plus, la douleur chronique représente un risque majeur de dépendance aux morphiniques [52, 53].

Afin de permettre de poser le diagnostic de la douleur neuropathique, le praticien peut s'aider d'un questionnaire, le DN4 qui constitue un outil simple de dépistage [59].

Questionnaire DN4

Un outil simple pour rechercher les douleurs neuropathiques

Pour estimer la probabilité d'une douleur neuropathique, le patient doit répondre à chaque item des 4 questions ci-dessous par « oui » ou « non ».

QUESTION 1 : la douleur présente-t-elle une ou plusieurs des caractéristiques suivantes ?

	Oui	Non
1. Brûlure	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Sensation de froid douloureux	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Décharges électriques	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

QUESTION 2 : la douleur est-elle associée dans la même région à un ou plusieurs des symptômes suivants ?

	Oui	Non
4. Fourmillements	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. Picotements	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. Engourdissements	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. Démangeaisons	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

QUESTION 3 : la douleur est-elle localisée dans un territoire où l'examen met en évidence :

	Oui	Non
8. Hypoesthésie au tact	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9. Hypoesthésie à la piqûre	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

QUESTION 4 : la douleur est-elle provoquée ou augmentée par :

	Oui	Non
10. Le frottement	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

OUI = 1 point

NON = 0 point

Score du Patient : /10

MODE D'EMPLOI

Lorsque le praticien suspecte une douleur neuropathique, le questionnaire DN4 est utile comme outil de diagnostic.

Ce questionnaire se répartit en 4 questions représentant 10 items à cocher :

- ✓ Le praticien interroge lui-même le patient et remplit le questionnaire
- ✓ A chaque item, il doit apporter une réponse « oui » ou « non »
- ✓ A la fin du questionnaire, le praticien comptabilise les réponses, 1 pour chaque « oui » et 0 pour chaque « non ».
- ✓ La somme obtenue donne le score du patient, noté sur 10.

Si le score du patient est égal ou supérieur à 4/10, le test est positif (sensibilité à 82,9 % ; spécificité à 89,9 %)

D'après Bouhassira D, et al. Pain 2004 ; 108 (3) : 248-57 [59]

2. Les différentes techniques d'analgésie présentes sur le marché et leurs limites

L'analgésie implique l'utilisation des antalgiques mais aussi des molécules appartenant à d'autres classes pharmacologiques comme par exemple, les antidépresseurs, les antiépileptiques et les anesthésiques locaux.

L'utilisation de l'une ou l'autre des différentes molécules (ou même l'association entre ces différentes classes) dépend de la nature et de l'intensité de la douleur à traiter.

Les antalgiques sont d'abord classés selon leur efficacité et l'intensité de la douleur traitée en plusieurs paliers :

Palier 1 : utilisé pour soulager les douleurs faibles à modérées [60], on y retrouve le paracétamol, l'aspirine et les AINS (anti-inflammatoires non stéroïdiens). C'est le pallier qui comporte le moins d'effets indésirables et il est intéressant en association avec des antalgiques des paliers supérieurs pour lesquels on retrouve plus d'effets indésirables.

Le paracétamol est généralement bien toléré. L'aspirine peut induire une augmentation du risque hémorragique qui pourrait être problématique en post-opératoire par exemple. En plus, elle présente des interactions médicamenteuses potentielles avec certains traitements contrairement au paracétamol.

Palier 2 : utilisé habituellement pour calmer les douleurs modérées à intenses [60]. On y retrouve par exemple la codéine, le tramadol et le néfopam.

Leurs principaux effets indésirables incluent la somnolence, les vertiges, la constipation, la rétention urinaire et la dépression respiratoire à forte dose pour certains. La dépendance pourrait être également présente à ce stade en cas d'utilisation prolongée.

Palier 3 : utilisé pour soulager les douleurs les plus intenses [60]. Ce sont les opioïdes forts, incluant la morphine et ses dérivés.

Leurs effets indésirables sont multiples et communs avec les antalgiques du palier 2. De plus, ils représentent un risque plus haut de dépendance et d'addiction.

Plusieurs voies d'administration peuvent être envisagées en fonction de l'état du patient et de la biodisponibilité souhaitée du médicament. La voie orale est principalement utilisée quand la douleur est modérée et que le patient est dans la capacité d'avaler des comprimés.

Quand la voie orale ne peut pas être utilisée et/ou insuffisante en terme de biodisponibilité et donc d'efficacité antalgique obtenue, l'analgésie intraveineuse peut être employée. Par ailleurs, l'analgésie autocontrôlée par le Patient (=PCA) est un système qui emploie également la voie intraveineuse où le patient commande la libération du médicament en fonction de ses besoins [60].

La voie sous-cutanée, locale ou loco-régionale sont également d'autres voies envisageables.

En post-opératoire, les antalgiques utilisés historiquement se basent principalement sur les opioïdes. Or, les opioïdes sont limités en terme d'efficacité mais aussi présentent malheureusement de nombreux effets indésirables cités précédemment et présentent surtout des problèmes de tolérance et d'addiction qui constituent un problème majeur de santé publique.

Les dernières recommandations du SFAR (Société Française d'Anesthésie et de Réanimation) concernant la prise en charge de cette douleur ont évolué et se basent aujourd'hui principalement sur une approche multimodale.

L'idée est d'associer aux opioïdes d'autres techniques d'analgésie afin de diminuer leur utilisation et donc leurs effets indésirables. Cette approche permet non seulement de réduire l'emploi des opioïdes mais aussi d'augmenter l'efficacité de l'analgésie impliquée.

Les autres techniques d'analgésie potentiellement impliquées dans l'approche multimodale sont les suivantes :

- Les antalgiques palier 1 incluant le paracétamol et les AINS
- Les modulateurs alpha-2-delta (gabapentine, prégalbamine)
- Les antagonistes des récepteurs au NMDA (kétamine)
- Les agonistes alpha-2 adrénergiques (clonidine, dexmedetomidine)
- Les anesthésiques locaux administrés par voie systémique
- Les corticostéroïdes

Parmi ces différentes techniques citées, l'analgésie post-opératoire par anesthésie loco-régionale présente un avantage particulier en terme d'efficacité mais surtout en terme de diminution d'effets indésirables potentiels [63]. Pour ces raisons, on va surtout s'intéresser par la suite à cette technique en terme de voie alternative ou associée à l'utilisation des opioïdes.

Qu'est-ce qu'une anesthésie loco-régionale ?

L'anesthésie loco-régionale est un des différents types de l'anesthésie. On peut définir l'anesthésie comme étant la suppression de la sensibilité nerveuse et donc de la douleur en vue d'une chirurgie par exemple. Elle peut concerner un membre, une région ou même l'organisme entier. Quand elle est pratiquée en post-opératoire dans le but d'atténuer la douleur causée par la chirurgie, on parle donc d'anesthésie post-opératoire [92].

On peut décrire généralement 3 grands types d'anesthésie. L'anesthésie générale, loco-régionale et locale. On va s'intéresser seulement à l'anesthésie loco-régionale par la suite.

Ce type d'anesthésie est pratiqué seul ou en association à une anesthésie générale lors d'une chirurgie. Elle peut être pratiquée dans le cadre de la gestion de la douleur aiguë en post-opératoire mais aussi de la douleur chronique. Seul le nerf concerné, et donc, la région associée sont bloqués ; on reste conscient lors d'une anesthésie loco-régionale [92].

L'anesthésie loco-régionale se pratique en injectant un anesthésique local au voisinage d'un tissu nerveux ou d'un nerf dans le but de bloquer une région bien définie. Le « bloc

» , et donc, la suppression de la douleur, est réalisée par l'empêchement de la conduction nerveuse dans la région concernée ce qui revient à l'anesthésier [92].

Les anesthésiques locaux (AL) inhibent d'une manière réversible la transmission de l'flux nerveux au niveau du site de l'injection. En effet, un AL bloque les canaux sodiques empêchant ainsi la génération et donc la transmission des potentiels d'actions [87]. Un tel blocage permet donc d'atténuer la sensibilité nerveuse suite à une agression tissulaire générée à cause d'une chirurgie par exemple et responsable des phénomènes d'hyperalgésie, permettant ainsi un soulagement de la douleur post-opératoire.

Les AL utilisés ont une durée d'action variable. On retrouve la ropivacaïne, bupivacaïne, et levopuvacaïne comme AL à longue durée d'action. La lidocaïne et la mepivacaïne sont à durée d'action courte à moyenne [84].

Les AL sont des molécules amphiphiles avec une partie hydrophile liée par le bas d'un groupement ester ou bien d'un groupement amide à la partie hydrophobe. En fonction de leur structure chimique et donc du groupement liant la partie hydrophile à la partie hydrophobe, les AL peuvent être divisés en deux sous catégories.

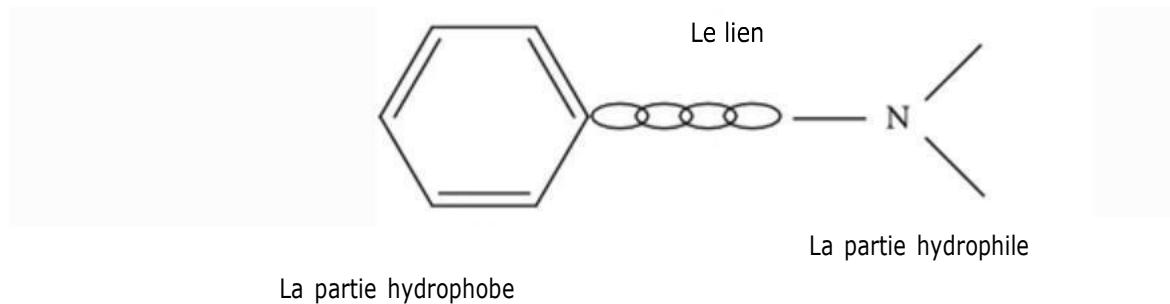


Figure 18 : Structure d'un AL [84]

Ceux avec un groupement ester $[-O-CO-]$ comme la cocaïne, procaïne, chloroprocaïne, et la amethocaïne et ceux avec un groupement amide $[-NH-CO-]$ comme la lignocaïne, prilocainaïne, levobupivacaïne, bupivacaïne, mepivacaïne, et la ropivacaïne qui sont plus utilisés en médecine [84].

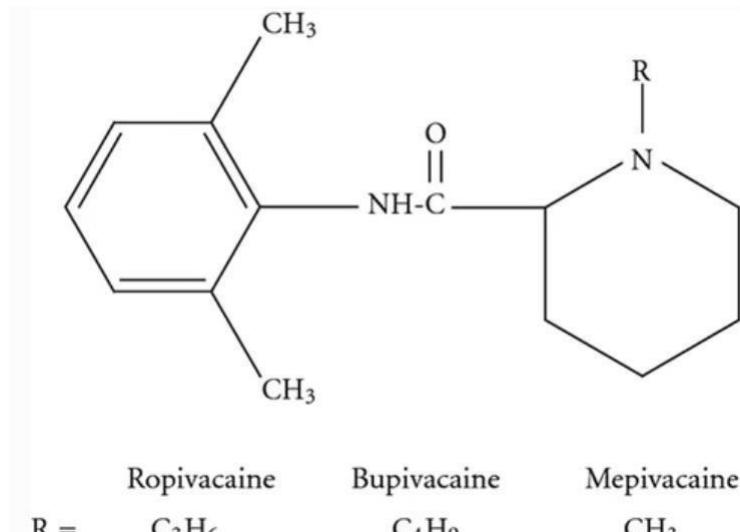


Figure 19 : structure des AL avec un groupement amide [84]

La toxicité des AL est dose dépendante et augmente donc avec l'augmentation de la dose. Elle se manifeste lors d'une libération accidentelle des AL par voie systémique. Elle touche principalement le système nerveux central et le système cardio-vasculaire. Elle se manifeste par des contractures musculaire, paroles incohérentes, convulsions généralisées et perte de connaissance [84,85].

L'anesthésie loco-régionale de nos jours, ses avantages, ses limites et comment peut-on l'améliorer ?

L'anesthésie loco-régionale est largement utilisée en post-opératoire dans de nombreux domaines, par exemple en chirurgie orthopédique et traumatologique et autres, elle peut être également employée pour la gestion de la douleur chronique [63]. Elle inclut deux techniques : les infiltrations cicatricielles et les blocs périphériques et couvre aussi bien les douleurs au repos qu'à la mobilisation. Elle procure un confort et une réhabilitation précoce au patient en ambulatoire [63]. La durée de vie des AL étant relativement courte, des techniques de prolongation de l'effet anesthésiant ont été développées afin de contourner cette problématique [63]. Parmi ces techniques, on retrouve l'ALR auto-contrôlée qui permet au patient de libérer l'anesthésiant au temps voulu en fonction de ses besoins. De nombreux dispositifs se sont développés principalement par voie péri médullaire, on les appelle dispositifs de type PCEA (Patient-Controlled Epidural Analgesia

= analgésie auto-contrôlée par voie péridurale). Il s'agit de la mise en place d'un cathéter par voie périnerveuse permettant au patient de libérer le principe actif quand il en ressent le besoin. En effet, la mise en place du cathéter permet de prolonger l'action du bloc et surtout de contrôler la libération de l'anesthésique sur un temps voulu [63].

Un cathéter interscalénique est employé pour l'analgésie de l'épaule. Des cathéters infra-claviculaires ou axillaires sont utilisés pour l'anesthésie du coude, de l'avant-bras, du poignet et de la main, les cathéters sciatiques poplitées pour la cheville et le pied et parfois un cathéter tibial à la cheville pour l'avant-pied [63].

Un tel système permet au patient d'être plus rapidement mobile et donc une rééducation assurée plus facilement [63]. Ceci a pour avantage de diminuer le risque de thromboses veineuses profondes et de complication cardio-pulmonaires. Ce type d'analgésie permet également de raccourcir la durée d'hospitalisation [63]. Il pourrait être également intéressant chez les enfants car cela leur permet de retrouver leur environnement familial plus rapidement et sans douleur [61,63].

Les dispositifs de perfusion utilisés actuellement sont des pompes électroniques contrôlées par le patient ou des diffuseurs élastomériques d'AL permettant la déambulation du patient [63].

Ces systèmes sont malheureusement invasifs par la nécessité d'une pose de cathéter et exigent une surveillance médicale renforcée et une proximité avec l'hôpital [52,62]. En effet, l'ALR nécessite l'aide d'infirmières à domicile, ce qui est fortement recommandé par l'ANSM en ce qui concerne la NAROPEINE® par exemple qui un médicament à base de ropivacaïne à libération prolongée utilisé dans la gestion de la douleur post-opératoire. L'emploi de tels dispositifs exige donc une collaboration étroite entre IDE, hôpital, médecin généraliste et prestataire de services [52, 64].

Par ailleurs, il existe également sur le marché et/ ou en cours de développement des systèmes à libération prolongée à base de liposomes utilisés dans le traitement de la douleur post-opératoire. Parmi lesquels, on retrouve l' EXPAREL® qui a eu l'autorisation

de mise sur le marché par l'Agence Européenne des Médicaments (EMA) en 2020. [65-67]

L'EXPAREL® est un anesthésique local à base de bupivacaïne liposomale utilisée pour calmer la douleur locale au niveau des plaies chirurgicales de petite à moyenne taille, mais également utilisé pour calmer la douleur régionale au niveau des membres inférieurs ou de l'épaule en chirurgie post-opératoire [65-67]. L'intérêt que présente ce médicament est qu'il permet une prolongation de l'effet analgésiant pour une durée allant jusqu'à 3 jours [65-67].

Il est administré aux bords de la plaie en question ou à proximité du nerf irrigant le site à anesthésier. Comme toute autre technique d'ARL, l'EXPAREL® doit être administré par des professionnels qualifiés et dans un cadre disposant d'équipements de réanimation en cas d'effets indésirables affectant le cœur ou le système nerveux [65-67].

La solution proposée ici est un système à libération contrôlée et sous contrôle du patient afin de lui permettre de moduler la libération de l'analgésie en fonction de l'intensité de ses douleurs.

L'avantage du système proposé est qu'il est non invasif, non visible physiquement et simple d'utilisation offrant ainsi au patient plus d'indépendance et de rassurance.

3. Le système liposomal proposé et son intérêt dans la gestion de la douleur

Le système discuté à travers cette thèse est un système basé sur des liposomes sensibles aux stimuli externes.

Plusieurs articles publiés dans la littérature, décrivent de tels systèmes et démontrent leurs intérêts dans la gestion de la douleur post-opératoire et/ou neurologique [32-37, 43].

Les stimuli externes utilisés étant la lumière proche-infrarouge ou les ultrasons.

L'avantage majeur serait la possibilité pour le patient de contrôler le temps de libération de l'anesthésique mais aussi son intensité en fonction de ses besoins et surtout de manière non invasive.

Des liposomes sensibles à la lumière proche-infrarouge de différentes sortes ont été décrits. Ils peuvent être thermo ou photosensibles ou les deux à la fois [32-37]. Cette sensibilisation est assurée par l'incorporation de nanoparticules d'or et/ou de photosensibilisateur. L'inconvénient avec la lumière proche-infrarouge c'est qu'elle pénètre mal les tissus biologiques ce qui pourrait limiter l'efficacité du système [32].

A partir de cet inconvénient que présentent les proche-infrarouges, les ultrasons présentent un intérêt considérable en terme de pénétration dans les tissus biologiques. De plus, ils ont largement été utilisés en médecine par le passé [43].

3.1. Liposomes sensibles à la lumière proche-infrarouge

Plusieurs types de liposome rendus sensibles à la lumière proche-infrarouge et permettant une libération répétée et sur demande de leur contenu ont été décrits dans la littérature.

3.1.1. Liposomes thermosensibles couplés à des nanoparticules d'or

a) Liposomes thermosensibles de première génération

Ce sont des liposomes composés de phospholipides dont la température de transition de phase T_m est un peu au-dessus de la température corporelle. Suite à une stimulation par la lumière proche-infrarouge, les nanoparticules d'or transforment cette lumière en chaleur et entraînent une élévation de la température induisant ainsi le passage des phospholipides de l'état de gel ordonné (où la bicouche est imperméable) à l'état liquide désordonné (où la bicouche devient perméable) permettant ainsi de libérer le contenu du corps aqueux [32].

Ce type de liposome a été employé pour le développement d'une nouvelle technique d'anesthésie par l'équipe de Changyou Zhan, *et al*, où ils encapsulent un anesthésique local qui est la tétrodotoxine, avec un vasoconstricteur qui est la dexmédétomidine dont le but est de prolonger la durée d'action de l'anesthésie [32].

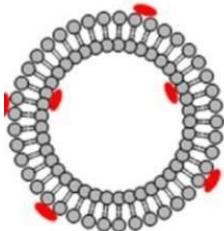


Figure 20 : Liposome thermosensible de première génération [32]

1,2- Dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DPPC) et 1,2- dipalmitoyl-sn-glycero-3-phospho-(1'-rac-glycerol) (DPPG) sont les phospholipides qui ont été utilisés pour la formation de ces liposomes en raison de leur T_m qui est de 41°C et donc au-dessus de la température corporelle. Ainsi, en l'absence d'irradiation par la lumière PIR, les phospholipides sont à l'état de gel ordonné et la membrane liposomale est rigide et imperméable permettant donc de piéger les molécules actives à l'intérieur du liposome jusqu'à stimulation par la lumière PIR [32].

Parmi les composants de la bicouche lipidique, on retrouve également le PEG-DSPE thiolé (HS-PEG-DSPE, à ~2 mol % des lipides) dont le rôle est de permettre de faire le lien avec les nanoparticules d'or par des liaisons de type thiol-thiol [32].

Le système développé a permis d'obtenir une libération répétée de la charge aqueuse jusqu'à 4 fois dans le temps et ceci durant 5 jours. La durée optimale d'exposition était de 10 min afin d'obtenir une libération sur commande suffisante. Le modèle a été testé *in-vivo* sur les coussinets de pieds des rats avec des résultats en concordance avec ce qui a été obtenu *in-vitro*. Seulement, l'intensité de l'irradiation a été atténuée par les tissus biologiques, c'est pourquoi des intensités plus élevées sont nécessaires pour obtenir des résultats similaires avec donc le risque de brûlures ou d'irritation liées à l'exposition [32].

b) Liposomes thermosensibles de deuxième génération

Dans le but d'améliorer la sensibilité des liposomes à la lumière PIR, la même équipe a pu développer et mettre en place des liposomes de deuxième génération [33].

En effet, les liposomes de deuxième génération contiennent des lipides particuliers qui sont les lysolipides qui rendent les liposomes d'autant plus sensibles à la lumière PIR. Ainsi, l'intensité et la durée de l'irradiation nécessaires seront moins importantes, ce qui est considérablement avantageux compte tenu des effets indésirables liés à une exposition à la lumière PIR [33].

Le lysolipide choisi est le 1-palmitoyl-2-hydroxy-sn-glycero-3-phosphocholine (MSPC). Du PEG2000-DSPE est également employé dans le but de stabiliser la formation des nanopores à travers lesquels les molécules actives vont diffuser.

Suite à une stimulation par la lumière et donc l'élévation de la température et la fluidisation de la bicouche, le MSPC qui ne possède qu'une seule chaîne carbonée quitte sa place et forme des micelles, ce qui entraîne la formation des nanopores au niveau de la bicouche lipidique des liposomes [33].

L'avantage de ce système est qu'il permet une libération rapide de leur contenu [9,33].

La durée d'exposition nécessaire avec ce type de liposome est de 1-2 min comparément à 10 min avec le système précédent.

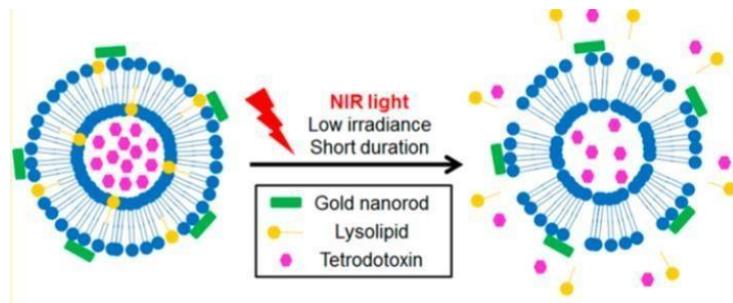


Figure 21: Liposome thermosensible de deuxième génération [33]

Ce type de liposome s'avère intéressant car la sensibilité ,et donc, la libération du contenu des liposomes est modulable en fonction de l'intensité de la lumière PIR et de sa période d'application, permettant ainsi d'obtenir une libération répétée et sur demande [33].

Ce type de système a été pensé pour la prise en charge de douleurs postopératoires ou chroniques. Une telle formulation permet ainsi de n'avoir recours qu'à une seule piqûre pour administrer le produit. Par la suite, le patient pourra contrôler les doses souhaitées en fonction de l'intensité et de la durée de la stimulation par la lumière [33].

3.1.2. Liposomes photosensibles couplés à un photosensibilisateur

Ici, ce n'est plus la transition de phase des phospholipides qui permet l'augmentation de la perméabilité de la membrane liposomale mais plutôt la peroxydation d'un phospholipide polyinsaturé se trouvant dans la bicouche lipidique.

Ces liposomes sont couplés à un photosensibilisateur qui, suite à une stimulation par la lumière PIR, produit des espèces réactives d'oxygène permettant la peroxydation des phospholipides polyinsaturés de la bicouche lipidique les rendant plus hydrophiles, ce qui diminuera donc les interactions hydrophobes au sein de la membrane liposomale. Ce processus permet ainsi l'augmentation de la perméabilité de la membrane lipidique [34-36].

Le photosensibilisateur utilisé dans cette étude était le 1,4,8,11,15,18,22,25-octabutoxyphthalocyaninato-palladium(II), PdPC(OBu)8.

De la même manière, la sensibilité de ces liposomes est proportionnelle à l'intensité et à la durée de la lumière PIR permettant d'obtenir une libération répétée et sur demande [34-36].

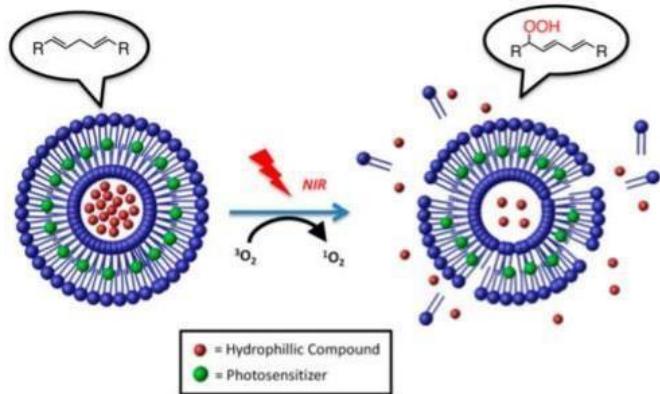


Figure 22 : Liposome photosensible à la lumière PIR [36]

Dans le but d'augmenter d'autant plus la sensibilité du système proposé, une approche pharmacologique a été également employée par la même équipe. Cette approche consiste en l'encapsulation de dexmédétomidine séparément dans des liposomes classiques non sensibles à la lumière PIR.

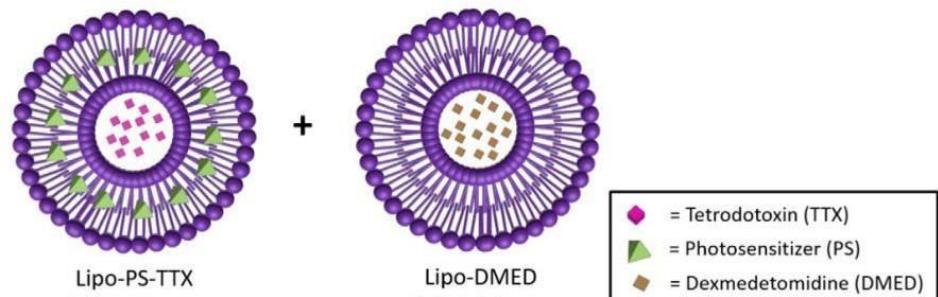


Figure 23 : Liposomes photosensibles à la lumière PIR potentialisés par des liposomes du dexmédétomidine [34]

3.1.3. Liposomes photo et thermosensibles à la fois

La même équipe a également mis au point par la suite des liposomes sensibles à la lumière PIR grâce aux deux mécanismes précédents (photo et thermosensibilité), dans le but d'optimiser au maximum ce système de libération sur commande [37].

Ces liposomes sont donc à la fois couplés à des nanoparticules d'or et à un photosensibilisateur [37].

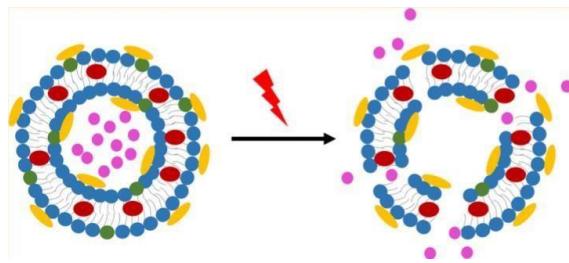


Figure 24 : Liposome photo et thermosensibles à la lumière PIR [37]

3.2. Liposomes sensibles aux ultrasons

On retrouve également dans la littérature des liposomes sensibles aux ultrasons par effet chimique développés par la même équipe. C'est exactement le même principe que celui des liposomes photosensibles décrits dans le paragraphe précédent. Seulement, la source d'activation diffère et qui est ,ici, les ultrasons. Le but étant de contourner l'inconvénient majeur de la lumière PIR par rapport à leur limite de pénétration dans les tissus biologiques [43].

Un sonosensibilisateur et qui est le protoporphyrin IX est alors incorporé au niveau de la membrane liposomale. Suite à une irradiation par les ultrasons, ce dernier libère des espèces réactives d'oxygène permettant la peroxydation de certains phospholipides et conduisant ainsi à l'augmentation de la perméabilité de la membrane liposomale et la libération donc du contenu actif [43].

Discussion

Parmi les différents systèmes proposés dans la littérature, on retrouve des avantages et des limites/inconvénients pour chacun d'entre eux.

Le point commun entre tous ces modèles présentés se résume par le fait qu'ils sont tous non invasifs, ce qui représente par ailleurs leur intérêt. Ceci pourrait en faire une vraie avancée thérapeutique dans le domaine de l'analgésie post-opératoire par rapport à ce qui existe déjà sur le marché.

De plus, ils ont tous l'avantage de pouvoir offrir au patient un contrôle de libération adapté à ses besoins, ce qui l'aiderait à avoir un meilleur contrôle de la douleur et plus d'autonomie. D'un autre côté, l'utilisation de cette technologie dans le cadre de la prise en charge des douleurs neuropathiques chroniques, diminuerait éventuellement la consommation de morphiniques et les risques de dépendance inhérents.

En effet, les systèmes d'anesthésie loco-régionale existants, peuvent causer stress et douleur supplémentaires à la pose en plus de la durée d'action limitée pour certains comme par exemple, le blocage des nerfs périphériques qui a une durée d'action limité à 12-24h [82]. Cette courte durée d'action est d'une part liée à la diffusion des molécules actives loin du site d'injection et d'autre part liée à la faible concentration et au faible volume de l'anesthésiant utilisé, compte tenu de sa toxicité systémique et locale [82]. Une administration continue de l'anesthésiant assurant une adaptation aux besoin des patients est possible par perfusion percutanée à l'aide d'un cathéter. Malheureusement, cette dernière technique nécessite que le patient soit lié en permanent au système de perfusion et peut avoir des complications. La toxicité locale est bien plus importante avec les cathéters, un risque de surinfection avec une colonisation bactérienne est possible et des problèmes de type : obstruction ou délogement du système sont également parfois rencontrés [82].

L'analgésie loco-régionale en post-opératoire nécessite de nos jours une surveillance renforcée avec l'hôpital, et le personnel soignant, ce qui limite l'indépendance et l'autonomie du patient. Ainsi, le développement d'un système alternatif pouvant résoudre

ces inconvénients, pourrait être très intéressant compte tenu du nombre insuffisant du personnel soignant disponible pour le suivi des patients.

Par ailleurs, une très bonne compréhension de l'utilisation du système est nécessaire afin de pouvoir l'utiliser de manière sécurisée.

Néanmoins, les publications actuelles décrivant le nouveau système ne sont pas exhaustives, notamment en ce qui concerne l'efficacité *in-vivo* chez l'Homme. Beaucoup de données sont alors attendues afin de pouvoir mieux comprendre le fonctionnement d'un tel système innovant. En effet, la source de stimulus externe utilisée dans ces différentes études n'est pas bien décrite et dans la plupart des cas n'est pas celle qui va être utilisée en clinique. L'efficacité du système est donc à confirmer lors du passage à l'Homme.

On peut rajouter que le coût de cette innovation reste assez élevé, ce qui représente un vrai frein pour l'avancement de ces projets.

Sur le plan du développement industriel, les liposomes nécessitent de l'investissement afin de retrouver les mêmes propriétés initiales définies.

Sur le plan du développement galénique, les molécules utilisées dans les études disponibles ont des propriétés physico-chimiques différentes de celles qu'on aimerait employer dans le cadre de l'analgésie post-opératoire, ce qui rajouteraient éventuellement un challenge de faisabilité supplémentaire. En effet, les anesthésiques locaux étant des bases faibles peu solubles dans le milieu aqueux à l'état neutre, une encapsulation active sera peut-être nécessaire avec un rendement d'encapsulation à discuter.

De plus, il conviendrait de développer également un système de stimulation externe simple, peu encombrant et adaptable à une utilisation en ambulatoire chez l'Homme, ce qui pourrait éventuellement rajouter des coûts supplémentaires à l'étape du développement.

Par ailleurs, la complexité du système réside également dans la possibilité de libérer des doses précisément quantifiables au moment de la stimulation en comparaison aux systèmes classiques utilisés en anesthésie post-opératoire par pose de cathéter péri-nerveux.

Enfin, malgré la biocompatibilité et la biodégradabilité des liposomes en général, des études de sécurité et de non toxicité chez l'Homme s'avèrent nécessaires lors du passage

aux essais cliniques. Ceci est dû particulièrement à l'ajout des matières supplémentaires utilisées pour rendre le système sensible aux différents stimuli externes.

On remarque toute de même à travers l'avancement de ces publications, une amélioration progressive des propriétés du système proposé avec comme objectif final, l'amélioration de sa performance vis-à-vis du stimulus externe. Le premier système proposé étant celui de liposomes thermosensibles de première génération à la lumière PIR [32]. Ensuite des liposomes thermosensibles de deuxième génération et toujours sensibles à la lumière PIR ont été mis en place [33]. Cette avancée a permis d'apporter un meilleur profil de libération du principe actif avec une libération plus rapide et sur commande. Enfin, les ultrasons comme source externe, ont été proposés comme alternative à la lumière PIR dans le but de contourner les défauts de pénétration de la lumière PIR dans les tissus biologiques [43].

Conclusion

La douleur post-opératoire étant un véritable problème de santé publique, imposant des complications supplémentaires suite à une chirurgie et compte tenu du peu de techniques efficaces et non invasives permettant de soulager les douleurs neuropathiques, des solutions alternatives doivent être proposées.

En effet, le système proposé à travers cette thèse présente comme discuté précédemment des avantages majeurs par rapport à ce qui existe déjà sur le marché en terme d'indépendance des patients et de moindres effets indésirables. Il nécessite tout de même encore beaucoup de défis à relever afin de se rapprocher au mieux des objectifs attendus avec un coût économique moindre et un rapport bénéfice/risque plus avantageux. Un des défis principaux à relever réside dans la mise en place d'un dispositif permettant de générer le stimulus externe. Ce dispositif serait idéalement d'une petite taille, intuitif et facilement utilisable par les patients.

De plus, des études de toxicité et d'efficacités chez l'Homme sont attenues afin de valider la pertinence de la technologie proposée.

Parmi les différents types de stimuli externe proposés, il semblerait que les ultrasons représentent les plus grands avantages. Ceci revient à leur meilleure pénétration dans les tissus biologiques, mais aussi à la large utilisation des ultrasons dans le domaine médical et au coût économique plus faible du système final.

Bibliographie

[1] Brossard D, Charrueau C, Chaumeil JC, Crauste-Manciet S, Hir AL. Pharmacie galénique: Bonnes pratiques de fabrication des médicaments. Elsevier Health Sciences; 2016. 454 p.

[2] Douleur · Inserm, La science pour la santé [Internet]. Inserm. [cité 26 oct 2022]. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/dossier/douleur/>

[3] Akbarzadeh A, Rezaei-Sadabady R, Davaran S, Joo SW, Zarghami N, Hanifehpour Y, et al. Liposome: classification, preparation, and applications. *Nanoscale Research Letters*. 22 févr 2013;8(1):102.

[4] Liposomes - Precision NanoSystems [Internet]. [cité 16 oct 2022]. Disponible sur: <https://www.precisionnanosystems.com/workflows/formulations/liposomes>

[5] Bobo G. L'utilisation des liposomes comme vecteurs médicamenteux. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Picardie jules verne, 2017. 55 Pages.

[6] Mougin-Degraef M. Etude de faisabilité du radiomarquage et du préciblage de liposomes pour la radioimmunothérapie. Thèse de doctorat de l'école doctorale de la chimie biologique, mention sciences de la vie et de la santé. Université de Nantes, faculté des sciences pharmaceutiques, 2005. 253 Pages.

[7] Auto-assemblage des phospholipides [Internet]. liposome. [cité 26 oct 2022]. Disponible sur: <https://liposometpe.wixsite.com/liposome/auto-assemblage-des-phospholipides>

[8] Wang N, Chen M, Wang T. Liposomes used as a vaccine adjuvant-delivery system: From basics to clinical immunization. *J Control Release*. 10 2019;303:130-50.

[9] Sabbagh CA. Liposomes thermosensibles furtifs pour l'administration du 5-Fluorouracile déclenchée par ultrasons. Thèse de doctorat. Université Paris Sud - Paris XI; 2014. 231 Pages.

[10] Kreuter, Jorg. Colloidal Drug Delivery Systems. 1994. pp. 74-75. ISBN-13: 978- 0824792145.

[11] Papahadjopoulos D, Gabizon AA. Sterically Stabilized (Stealth®) Liposomes: Pharmacological Properties and Drug Carrying Potential in Cancer. In: *Liposomes as Tools in Basic Research and Industry* (1994). CRC Press; 1995.

[12] Allen TM. The use of glycolipids and hydrophilic polymers in avoiding rapid uptake of liposomes by the mononuclear phagocyte system. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 1 mars 1994;13(3):285-309.

[13] Moghimi SM, Andersen AJ, Hashemi SH, Lettiero B, Ahmadvand D, Hunter AC, et al. Complement activation cascade triggered by PEG-PL engineered nanomedicines and carbon nanotubes: The challenges ahead. *Journal of Controlled Release*. 1 sept 2010;146(2):175-81.

[14] Moghimi, S. M. and Szebeni, J. (2003). "Stealth liposomes and long circulating nanoparticles: critical issues in pharmacokinetics, opsonization and protein-binding properties." *Progress in Lipid Research* 42(6): 463-478.

[15] Liposome pégylé, vecteur de médicament de 3e génération | CNRS Images [Internet]. [cité 13 oct 2022]. Disponible sur: https://images.cnrs.fr/photo/20100001_1220

[16] Mechanism of tumor-targeted delivery of macromolecular drugs, including the EPR effect in solid tumor and clinical overview of the prototype polymeric drug SMANCS. *Journal of Controlled Release*. 6 juill 2001;74(1-3):47-61.

[17] Garg, A., Tisdale, A. W., Haidari, E. and Kokkoli, E. (2009). "Targeting colon cancer cells using PEGylated liposomes modified with a fibronectin-mimetic peptide." *International Journal of Pharmaceutics* 366(1-2): 201-210.

[18] Wang F, Sun Y, Shi J. Programmed death-ligand 1 monoclonal antibody-linked immunoliposomes for synergistic efficacy of miR-130a and oxaliplatin in gastric cancers. *Nanomedicine*. juill 2019;14(13):1729-44.

[19] Ganta S, Devalapally H, Shahiwala A, Amiji M. A review of stimuli-responsive nanocarriers for drug and gene delivery. *Journal of Controlled Release*. 20 mars 2008;126(3):187-204.

[20] A. Bangham, M. M. Standish and J. C. Watkins, Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids, *Journal of Molecular Biology*. 13 (1965) 238-252.

[21] Patil YP, Jadhav S. Novel methods for liposome preparation. *Chemistry and Physics of Lipids*. 1 janv 2014;177:8-18.

[22] LNP Applications Highlight: Insight into Theranostic Nanovesicles Prepared by Thin Lipid Hydration and Microfluidic Method [Internet]. Avanti Polar Lipids. [cité 18 oct 2022]. Disponible sur: <https://avantilipids.com/news/lnp-applications-highlight-insight-into-theranostic-nanovesicles-prepared- by- thin-lipid-hydration-and-microfluidic-method>

[23] Fourmentin MS, Tinland MB, Fessi MH, Lyon U, Yaacoub MN, Charcosset MC, et al. Préparation à petite et grande échelle des liposomes encapsulant l'huile essentielle de clou de girofle libre et sous forme de

complexe d'inclusion dans l'hydroxypropyl- β -cyclodextrine : caractérisation des nanostructures et évaluation de leur effet antioxydant. :246.

[24] Szoka F, Jr and Papahadjopoulos D. Procedure for preparation of liposomes with large internal aqueous space and high capture by reverse-phase evaporation. 9, Septembre 1978, Biochemistry, Vol. 75, pp. 4194-4198.

[25] RESERVES IUTD. Orphanet: MARQIBO [Internet]. [cité 28 oct 2022]. Disponible sur: https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Ing=FR&Expert=88885

[26] Silverman JA, Deitcher SR. Marqibo® (vincristine sulfate liposome injection) improves the pharmacokinetics and pharmacodynamics of vincristine. Cancer Chemother Pharmacol. mars 2013;71(3):555-64.

[27] Walsh TJ, Yeldandi V, McEvoy M, Gonzalez C, Chanock S, Freifeld A, et al. Safety, tolerance, and pharmacokinetics of a small unilamellar liposomal formulation of amphotericin B (AmBisome) in neutropenic patients. Antimicrob Agents Chemother. sept 1998;42(9):2391-8.

[28] AMBISOME 50 mg pdre p susp de lipos p perf [Internet]. VIDAL. [cité 29 oct 2022]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/ambisome-50-mg-pdre-p-susp-de-lipos-p-perf-749.html>

[29] Torchilin VP. Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers. Nat Rev Drug Discov. févr 2005;4(2):145-60.

[30] Viroonchatapan E, Sato H, Ueno M, Adachi I, Tazawa K, Horikoshi I. Release of 5-fluorouracil from thermosensitive magnetoliposomes induced by an electromagnetic field. Journal of Controlled Release. 2 juin 1997;46(3):263-71.

[31] Schroeder A, Kost J, Barenholz Y. Chemistry and Physics of Lipids 162. Ultrasound, liposomes, and drug delivery: principles for using ultrasound to control the release of drugs from liposomes. 2009. 1-16.

[32] Zhan C, Wang W, McAlvin JB, Guo S, Timko BP, Santamaria C, et al. Phototriggered Local Anesthesia. Nano Lett. 13 janv 2016;16(1):177-81.

[33] Zhan C, Wang W, Santamaria C, Wang B, Rwei A, Timko BP, et al. Ultrasensitive Phototriggered Local Anesthesia. Nano Lett. 08 2017;17(2):660-5.

[34] Rwei AY, Zhan C, Wang B, Kohane DS. Multiply repeatable and adjustable on-demand phototriggered local anesthesia. J Control Release. 10 2017;251:68-74.

[35] Rwei AYH. Repeatable and adjustable on-demand local anesthesia using externally-triggerable liposomes [Internet] [Thesis]. Massachusetts Institute of Technology; 2017 [cité 15 oct 2022]. Disponible sur: <https://dspace.mit.edu/handle/1721.1/111334>

[36] Rwei AY, Lee J-J, Zhan C, Liu Q, Ok MT, Shankarappa SA, et al. Repeatable and adjustable on-demand sciatic nerve block with phototriggerable liposomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2015;

[37] Rwei AY, Wang BY, Ji T, Zhan C, Kohane DS. Enhanced Triggering of Local Anesthetic Particles by Photosensitization and Photothermal Effect Using a Common Wavelength. *Nano Lett.* 08 2017;17(11):7138-45.

[38] Dromi S, Frenkel V, Luk A, Traughber B, Angstadt M, Bur M, et al. Pulsed-High Intensity Focused Ultrasound and Low Temperature- Sensitive Liposomes for Enhanced Targeted Drug Delivery and Antitumor Effect. *Clin Cancer Res.* 1 mai 2007;13(9):2722-7

[39] Gaber MH, Hong K, Huang SK, Papahadjopoulos D. Thermosensitive Sterically Stabilized Liposomes: Formulation and in Vitro Studies on Mechanism of Doxorubicin Release by Bovine Serum and Human Plasma. *Pharm Res.* 1 oct 1995;12(10):1407-16.

[40] Semple SC, Chonn A, Cullis PR. Influence of cholesterol on the association of plasma proteins with liposomes. *Biochemistry*. 27 févr 1996;35(8):2521-5.

[41] Needham D, Park JY, Wright AM, Tong J. Materials characterization of the low temperature sensitive liposome (LTSL): effects of the lipid composition (lysolipid and DSPE-PEG2000) on the thermal transition and release of doxorubicin. *Faraday Discuss.* 24 janv 2013;161(0):515-34.

[42] Garg A, Tisdale AW, Haidari E, Kokkoli E. Targeting colon cancer cells using PEGylated liposomes modified with a fibronectin-mimetic peptide. *International Journal of Pharmaceutics*. 21 janv 2009;366(1):201-10.

[43] Rwei AY, Paris JL, Wang B, Wang W, Axon CD, Vallet-Regí M, et al. Ultrasound-triggered local anaesthesia. *Nat Biomed Eng.* août 2017;1(8):644-53.

[44] Israelachvili JN, Mitchell DJ. A model for the packing of lipids in bilayer membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*. 21 avr 1975;389(1):13-9.

[45] Al-Ahmady Z, Lozano N, Mei K-C, Al-Jamal WT, Kostarelos K. Engineering thermosensitive liposome-nanoparticle hybrids loaded with doxorubicin for heat-triggered drug release. *International Journal of Pharmaceutics*. 30 nov 2016;514(1):133-41.

[46] Lorin A, Flore C, Thomas A, Brasseur R. Les liposomes : description, fabrication et applications. *Biotechnol Agron Soc Environ*. 14 Mai 2004 8 (3), 163-176.

[47] Allen TM, Cullis PR. Liposomal drug delivery systems: From concept to clinical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 1 janv 2013;65(1):36-48.

[48] Laurène Lesoin. Formation de liposomes par un procédé innovant utilisant les fluides supercritiques. Sciences de l'ingénieur [physics]. Thèse de docteur de l'université Paul cézanne. Université Paul Cézanne - Aix-Marseille III, 2011. 175 pages.

[49] Vemuri S, Rhodes CT. Preparation and characterization of liposomes as therapeutic delivery systems: a review. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*. 1 juill 1995;70(2):95-111.

[50] Gouda A, Sakr OS, Nasr M, Sammour O. Ethanol injection technique for liposomes formulation: An insight into development, influencing factors, challenges and applications. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 1 févr 2021;61:102174.

[51] Douleur · Inserm, La science pour la santé [Internet]. Inserm. [cité 29 oct 2022]. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/dossier/douleur/>

[52] Livre blanc de la douleur 2017. État des lieux et propositions pour un système de santé éthique, moderne et citoyen. 2017 : 280 pages. France. Société Française d'Étude et de Traitement de la Douleur (SFETD). Disponible sur : <https://www.leslivresblancs.fr/livre/filières-specialisées/pharmaceutique-sante/livre-blanc-de-la-douleur-2017>

[53] Maurice-Szamburski A, Martinez V. Livre blanc de la douleur, la douleur post-opératoire et sa chronicisation. Société Française d'Anesthésie et de Réanimation. Avril 2022 :216 pages. Bouc Bel Air - France. Caméléon Consulting. Disponible sur : <https://sfar.org/download/livre-blanc-de-la-douleur/>

[54] Dualé C, Ouchchane L, Schoeffler P, EDONIS Investigating Group, Dubray C. Neuropathic aspects of persistent postsurgical pain: a French multicenter survey with a 6-month prospective follow-up. *J Pain*. janv 2014;15(1):24.e1-24.e20.

[55] Gan TJ. Poorly controlled postoperative pain: prevalence, consequences, and prevention. *J Pain Res*. 25 sept 2017;10:2287-98.

[56] Coley KC, Williams BA, DaPos SV, Chen C, Smith RB. Retrospective evaluation of unanticipated admissions and readmissions after same day surgery and associated costs. *Journal of Clinical Anesthesia*. 1 août 2002;14(5):349-53.

[57] Breivik H. Postoperative pain management: why is it difficult to show that it improves outcome? Eur J Anaesthesiol. 1998;15(6):748–751.

[58] De pouilly-lachatre A, Prise en charge de la douleur chronique chez les patients ambulatoires âgés de 65 ans et plus en France. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en Médecine. Université de Limoges, faculté de Médecine. 17, février 2017. 65 pages.

[59] Bouhassira D, Attal N, Fermanian J, Alchaar H, Gautron M, Masquelier E, et al. Development and validation of the Neuropathic Pain Symptom Inventory. Pain. 1 avr 2004;108(3):248-57.

[60] La douleur post-opératoire : prise en charge | Centre IÉNA Gynécologie Obstétrique (I. GO) [Internet]. [cité 26 sept 2022]. Disponible sur: <https://www.igogyneco.com/activites-medicales/anesthesie/la-douleur-post-operatoire-prise-en-charge-0>

[61] Ludot H, Berger J, Pichenot V, Belouadah M, Madi K, Malinovsky JM. Continuous peripheral nerve block for postoperative pain control at home: a prospective feasibility study in children. Reg Anesth Pain Med. 2008;33:52-6

[62] Klein SM, Grant SA, Greengrass RA, Nielsen KC, Speer KP, White W, et al. Interscalene brachial plexus block with a continuous catheter insertion system and a disposable infusion pump. Anesth Analg, 2000;91:1473-8.

[63] GAERTNER E. Anesthésie locorégionale en ambulatoire. In : Conférences d'actualisation SFAR. 2001. p. 185-202.

[64] ANSM - Protocole d'utilisation à domicile des spécialités à base de Ropivacaïne® 2 mg/ml, solution injectable en poche (Naropéine et génériques) dans le cadre de l'analgésie post-opératoire par cathéter perinerveux. [Internet]. [cité 29 oct 2022]. Disponible sur: http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/e987e318a5ee00d2f41ff6ef63c1969a.pdf_2012.

[65] EXPAREL | Non-opioid Analgesic Pain Management [Internet]. [cité 10 oct 2022]. Disponible sur: <https://www.exparel.com/>

[66] The long-lasting opioid alternative to postsurgical pain relief or for pain relief after surgery [Internet]. [cité 10 oct 2022]. Disponible sur: <https://www.exparel.com/patient/non-opioid-pain-medication>

[67] EMA. Exparel liposomal [Internet]. European Medicines Agency. 2020 [cité 10 oct 2022]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/exparel-liposomal>

[68] Liposomes Market 2019 Analysis and Precise Outlook – Spectrum Pharmaceutical, Shanghai New Asia, Crucell – Cole Reports [Internet]. [cité 4 juill 2020]. Disponible sur: <https://coleofduty.com/news/2020/06/02/liposomes-market-2019-analysis-and-precise-outlook-spectrum-pharmaceutical-shanghai-new-asia-crucell/>

[69] Merskey H, Bogduk N. Classification of chronic pain. Descriptions of chronic pain syndromes and definition of pain terms. Prepared by the task force on taxonomy of the international association for study of pain. Seattle: IASP Press; 1994.

[70] Poisson-Salomon AS, De Chambine S, Lory C. Facteurs explicatifs de la douleur post-opératoire : caractéristiques des patients et pratiques professionnelles. Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique. 1 sept 2005;53:47-56.

[71] Joshi GP, Ogunnaike BO. Consequences of inadequate postoperative pain relief and chronic persistent postoperative pain. Anesthesiol Clin North America. 2005;23(1):21-36.

[72] Carr DB, Goudas LC. Acute pain. Lancet. 1999;353(9169):2051-2058.

[73] Kehlet H. Multimodal approach to control postoperative pathophysiology and rehabilitation. Br J Anaesth. 1997;78(5):606-617.

[74] Barbour S, Baudin M. Difficultés de prise en charge de la douleur chronique par les internes de Médecine Générale de Grenoble et attentes concernant leur formation initiale. :144.

[75] Esses G, Deiner S, Ko F, Khelemsky Y. Chronic Post-Surgical Pain in the Frail Older Adult. Drugs Aging. mai 2020;37(5):321-9.

[76] Domenichiello AF, Ramsden CE. The silent epidemic of chronic pain in older adults. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 13 juill 2019;93:284-90.

[77] Bouhassira D, Attal N, Fermanian J, Alchaar H, Gautron M, Masquelier E, et al. Development and validation of the Neuropathic Pain Symptom Inventory. Pain. 1 avr 2004;108(3):248-57.

[78] Capdevila X, Dadure C, Bringuier S, Bernard N, Biboulet P, Gaertner E, et al. Effect of Patient - controlled Perineural Analgesia on Rehabilitation and Pain after Ambulatory Orthopedic Surgery. *Anesthesiology*. 1 sept 2006;105(3):566-73.

[79] Gaertner E Indications des blocs nerveux périphériques *Ann Fr Anesth Reanim* 2009;28 (e85 -e94).

[80] Gaertner E., Rideau C., Deroche D., Blay M., Piacentini P., Carles M., Boileau P., RaucoulesAime' M. Cathéter interscalénique en ambulatoire : méthodologie – étude de faisabilité *Ann Fr Anesth Reanim* 2009;28 R456.

[81] Ilfeld BM, Wright TW, Enneking FK, Vandenborne K. Total elbow arthroplasty as an outpatient procedure using a continuous infraclavicular nerve block at home : a prospective case report. *Reg Anesth Pain Med*, 2006;31:172-6.

[82] Cullion K, Rwei AY, Kohane DS. Ultrasound-triggered liposomes for on-demand local anesthesia. *Ther Deliv*. janv 2018;9(1):5-8.

[83] Rwei AY, Lee JJ, Zhan C, Liu Q, Ok MT, Shankarappa SA, et al. Repeatable and adjustable on-demand sciatic nerve block with phototriggerable liposomes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 22 déc 2015;112(51):15719-24.

[84] Beiranvand S, Eatemadi A, Karimi A. New Updates Pertaining to Drug Delivery of Local Anesthetics in Particular Bupivacaine Using Lipid Nanoparticles. *Nanoscale Research Letters*. 24 juin 2016;11(1):307.

[85] Khosravi AR, Pourmoghadas M, Ostovan M, Mehr GK, Gharipour M, Zakeri H, et al. The impact of generic form of Clopidogrel on cardiovascular events in patients with coronary artery stent: results of the OPCES study. *J Res Med Sci*. mai 2011;16(5):640-50.

[86] Analgésie multimodale, que dit la médecine factuelle ? [Internet]. Société Française d'Anesthésie et de Réanimation. [cité 3 nov 2022]. Disponible sur: <https://sfar.org/download/analgesie-multimodale-que-dit-la-medecine-factuelle/>

[87] Beloeil H, Mazoit JX. Pharmacologie des anesthésiques locaux. *EMC - Anesthésie-Réanimation*. janv 2010;7(3):1-18.

[88] Estebe JP. La bupivacaïne à libération lente Quelle place pour la douleur post-opératoire ? In 2018.

[89] Beloeil H, Viel É, Navez ML, Fletcher D, Peronnet D. Techniques analgésiques locorégionales et douleur chronique. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*. avr 2013;32(4):275-84.

[90] Libier M, Meynadier J, Dubois F, Blond S. Les douleurs neuropathiques: mise au point à propos des traitements médicamenteux. *Doul et Analg.* 1 sept 1998;11(3):131-5.

[91] Boureau F, Doubrère JF. Le concept de douleur. Du symptôme au syndrome. *Doul et Analg.* 1 mars 1988;1(1):11-7.

[92] Les différents types d'anesthésies [Internet]. CHUV. [cité 4 nov 2022]. Disponible sur: <https://www.chuv.ch/fr/anesthesiologie/alg-home/patients-et-familles/types-danesthesie>

[93] Briere M, Lagier M, Berdugo L, Cucurulo T, Flecher X. Comparaison de l'infiltration locale et de l'anesthésie loco-régionale dans l'analgésie postopératoire des ligamentoplasties de LCA par DIDT en chirurgie ambulatoire. *Revue de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique.* 1 nov 2016; 102(7, Supplement):S137.

[94] Tschopp CJ. Risques et bénéfices de l'ajout d'adrénaline à un anesthésique local: une méta-analyse d'études randomisées et contrôlées. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en médecine. University of Geneva; 2020. 89 pages.

[95] HSPC - COATSOME® NC-21E [10g] | Phospholipids [Internet]. [cité 24 nov 2022]. Disponible sur: https://www.dds-drug.com/dds-products/index.php?dispatch=products.view&product_id=257

Table des illustrations

Figure 1 : Structure d'un liposome	12
Figure 2 : Paramètre d'empilement PP	16
Figure 3 : Paramètre d'empilement et structures supramoléculaires	16
Figure 4 : La température de transition de phase Tm	17
Figure 5 : Liposome furtif de 2ème génération	21
Figure 6 : Immunoliposomes de troisième génération	21
Figure 7 : L'Effet EPR dans un tissu cancéreux	23
Figure 8 : Formation des liposomes par extrusion	25
Figure 9 : Formation des liposomes par hydratation du film lipidique	26
Figure 10 : Formation de liposomes par évaporation en phase inverse	27
Figure 11 : Formation de liposomes par injection de solvant	28
Figure 12 : Encapsulation d'une base faible grâce à un gradient de pH	30
Figure 13 : Internalisation des liposomes dans la cellule	31
Figure 14 : Représentation de la bicoche lipidique des LTSL	40
Figure 15 : Structure du DPPC	41
Figure 16 : Structure du cholestérol et son insertion dans la membrane lipidique	42
Figure 17 : Structure du MSPC	42
Figure 18 : Structure d'un AL	54
Figure 19 : Structure des AL avec un groupement amide	55
Figure 20 : Liposome thermosensible de première génération	59
Figure 21 : Liposome thermosensible de deuxième génération	61
Figure 22 : Liposome photosensible à la lumière PIR	62
Figure 23 : Liposomes photosensibles à la lumière PIR potentialisés par des liposomes du dexmédétomidine	62
Figure 24 : Liposome photo et thermosensibles à la lumière PIR	63

Table des tableaux

Tableau 1 : Les phospholipides utilisés dans la préparation des liposomes	15
Tableau 2 : classification des liposomes selon leur taille et lamellarité	19
Tableau 3 : classification des liposomes en fonction de leur procédé de fabrication	19
Tableau 4 : Exemples de médicaments à base de liposomes en cancérologie	34
Tableau 5 : Exemples de médicaments à base de liposomes en infectiologie	35
Tableau 6 : Exemples de médicaments à base de liposomes dans d'autres domaines thérapeutiques	36

Liposomes sensibles aux stimuli externes et leur intérêt dans la gestion de la douleur**RÉSUMÉ**

Les analgésiques actuellement présents sur le marché et qui sont utilisés dans la gestion de la douleur (post-opératoire et/ou neuropathique) présentent malheureusement des limites. En effet, ces limites se résument au fait qu'ils soient invasifs, à leurs effets indésirables en termes de dépendance mais aussi des limites en termes d'efficacité. Il est devenu donc urgent de proposer de nouvelles solutions alternatives. A travers de cette thèse, une technologie galénique innovante est présentée : les liposomes sensibles aux stimuli externes. Le but est d'exposer leur intérêt dans la gestion de la douleur. L'objectif est de permettre aux patients de moduler la libération du principe actif en fonction de leur douleur. En effet, un stimulus externe tel que la lumière proche-infrarouge ou les ultrasons permettra aux liposomes de libérer une partie de leur contenu et ainsi d'obtenir un effet analgésiant sur demande [32-37, 43]. Les principes actifs discutés sont majoritairement des anesthésiques locaux. Ces liposomes représentent donc bien une forme galénique innovante qui permet d'obtenir des profils de libération adaptés aux besoins des patients. On constate que les liposomes sensibles aux ultrasons par effet de photochimie sont ceux qui présentent le plus d'avantages parmi les différents systèmes décrits dans la littérature. Ces avantages sont essentiellement, le coût et la plus haute pénétration du stimulus externe dans les tissus biologiques [43]. De plus, en comparaison au système d'anesthésie loco-régional sur commande et qui est déjà présent sur le marché, la forme galénique proposée a l'avantage d'être non invasive.

Pour conclure, un tel système pourrait améliorer la qualité de vie des patients en post-opératoire, conduisant ainsi à un raccourcissement du séjour hospitalier et offrant donc une meilleure autonomie et plus d'indépendance aux patients. Ce type de forme galénique pourrait être également intéressant dans le cas des douleurs neuropathiques chroniques.

Mots-clés : Anesthésie, liposomes, innovation, douleur, post-opératoire, neuropathique.

ABSTRACT

Current analgesics which are employed in pain management (postoperative or neuropathic) have unfortunately limitations. In fact, they are invasive, have many side effects in terms of addiction for example but also have limitations in terms of effectiveness. It has therefore become urgent to propose new alternative solutions. Through this thesis, an innovative galenic technology is presented: triggered liposomes sensitive to external stimuli. The goal here, is to expose their interest in pain management. The purpose is to allow patients to control the release of the active ingredient according to their pain. Indeed, an external stimulus such as near infrared light or ultrasound allow the liposomes to release a part of their content and thus obtain an on demand analgesic effect [32-37, 43]. The active ingredients discussed here are mainly local anesthetics. These liposomes are therefore an innovative galenic which provide release profiles adapted to the patient needs. As a result, it's found that the ultrasound triggered liposomes and more precisely by photochemistry effect are those which present the most advantages among all the other liposomes described in the literature. The main advantages are about the cost but also the high penetration of ultrasound radiations into biological tissues [43]. In addition, in comparison to the current on demand loco-regional anesthesia, this technology has the advantage of being non-invasive.

To conclude, such a system could improve the life quality of patients after operations resulting in less time at hospital and therefore offers better autonomy to patients. This type of galenic could be also interesting in the case of chronic neuropathic pain.

Keywords : Anesthesia, liposomes, innovation, pain, postoperative, neuropathic.