

Contrat doctoral – ED Galilée

Titre du sujet : Reconditionnement *in organo* des organes marginaux par microbulles activables sous perfusion *ex vivo*

- Unité de recherche : Laboratoire de Recherche Vasculaire Translationnelle (LVTS) - INSERM U1148
- Discipline : Chimie ; Sciences des matériaux
- Direction de thèse : Dr. Graciela PAVON-DJAVID, Dr. Cédric CHAUVIERRE
- Contact : graciela.pavon@univ-paris13.fr ; cedric.chauvierre@inserm.fr
- Domaine de recherche : Chimie ; Sciences des matériaux
- Mots clés : Cyanoacrylates ; Polysaccharides ; Microbulles, Antioxydants ; Perfusion *ex vivo* ; Réhabilitation de greffons marginaux.

Contexte scientifique : En France, plus de 23 000 patients sont en attente d'une greffe et plus de 900 décèdent chaque année faute d'organes disponibles.¹ Malgré plus de 5 000 greffes réalisées en 2023, dont 62 % de greffes rénales, la pénurie persiste en raison de l'augmentation des cas d'insuffisance rénale chronique, principalement liée au diabète et à l'hypertension.² Afin d'élargir le nombre de donneurs, les équipes ont davantage recours aux donneurs à critères élargis (Expanded Criteria Donors, ECD), c'est-à-dire les personnes âgées de plus de 60 ans ou âgées de 50 à 59 ans présentant des comorbidités.³ Leurs organes présentent un risque accru de dysfonction primaire et de reprise retardée de fonction. Dans le cas du rein, 18 à 40 % des greffons issus de donneurs à critères élargis (ECD), notamment diabétiques, sont finalement non utilisés faute de stratégies de protection adaptées. Ces organes dits marginaux présentent une vulnérabilité biologique caractérisée par un stress oxydatif, une dysfonction mitochondriale, une activation de l'inflammasome et une altération endothéliale. Ces mécanismes aggravent les lésions d'ischémie-reperfusion et contribuent au taux élevé de reprise retardée de fonction.^{4,5,6}

La perfusion *ex vivo* (HOPE hypothermique ou NMP normothermique) ouvre une nouvelle fenêtre thérapeutique : en permettant un traitement direct de l'organe à des doses efficaces sans exposition systémique du receveur ; en permettant une administration ciblée d'agents thérapeutiques pendant la perfusion pour pallier la pénétration limitée du greffon observée avec l'administration systémique après transplantation ; et en fournissant une évaluation continue et dynamique de la fonction rénale tout au long du traitement grâce aux paramètres de perfusion et aux biomarqueurs du perfusé.⁷

Objectifs de la thèse : Ce projet doctoral vise à reconditionner les greffons marginaux avant implantation afin de réduire la mortalité sur liste d'attente et de générer une économie majeure pour la collectivité face au coût de la dialyse chronique. Le travail conjugue chimie des polymères, bioconjugaison et formulation multi-compartimentée, de la caractérisation analytique jusqu'à la preuve de concept sur le rein du modèle rat diabétique. S'appuyant sur l'expertise du LVTS, le projet utilise des microbulles de polycyanoacrylate (PACA) fonctionnalisées au fucoïdane, permettant le ciblage l'endothélium activé via la P-sélectine.⁸ Ce système théranostique permet la co-encapsulation synergique de la N-acétylcystéine (NAC; hydrophile) et de la fucoxanthine (lipophile) pour cibler les mécanismes de vulnérabilité des tissus diabétiques, notamment le stress oxydatif. Le projet bénéficie ainsi de l'expertise consolidée du laboratoire dans la protection contre les lésions d'ischémie-reperfusion et la régulation de la fonction mitochondriale, notamment au sein des podocytes et via l'action de la NAC sur la chaîne respiratoire.⁸⁻¹⁰ Enfin, l'application d'ultrasons focalisés lors de la perfusion déclenche l'éclatement précis de ces microbulles,⁸ libérant les principes actifs à la demande et évitant les sites cellulaires non désirés.

Hypothèse : La restauration ciblée de l'homéostasie redox et mitochondriale des greffons marginaux diabétiques via la délivrance ultrasonore d'un couple d'antioxydants synergiques lors de la perfusion *ex vivo* permet de neutraliser les lésions d'ischémie-reperfusion, améliorant ainsi la fonction rénale post-transplantation et augmentant significativement le taux d'organes éligibles issus de donneurs à critères élargis (ECD).

Méthodologie :

1. Synthèse et caractérisation physico-chimique des microbulles polymères fonctionnalisées :

Développement de la co-encapsulation de la N-acétylcystéine et de la fucoxanthine dans les microbulles PACA-fucoïdane. L'étude portera sur le type de monomère de cyanoacrylate et la composition en polysaccharides, la distribution de taille, le potentiel zêta, la morphologie et le rendement, complétée par une évaluation de l'activité antioxydante via les tests ABTS, ORAC et Xanthine Oxydase.

2. Évaluation cellulaire *in vitro* :

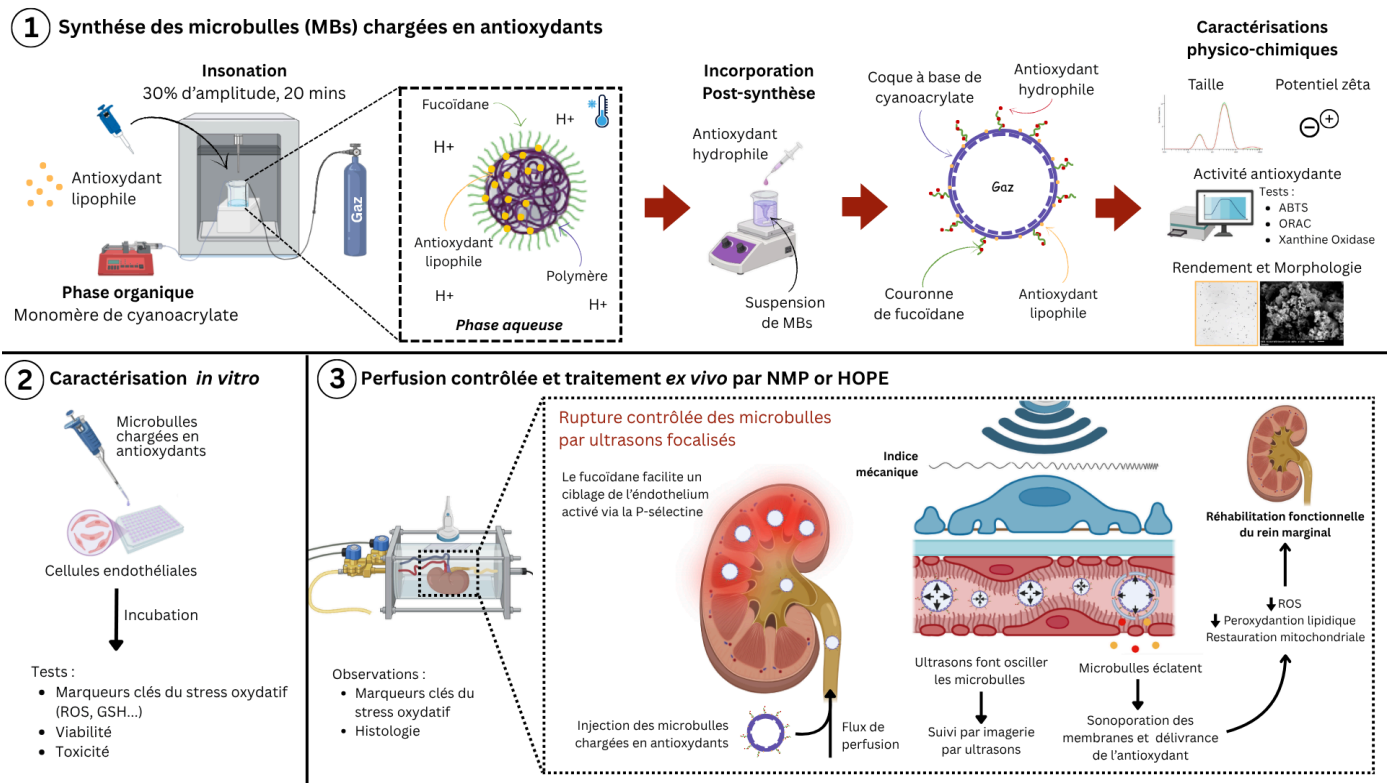
Étude de l'efficacité des microbulles sur des cellules endothéliales en culture. Cette étape permettra de mesurer la viabilité cellulaire, la toxicité du vecteur et sa capacité à moduler les marqueurs clés du stress oxydatif.

3. Validation biologique *ex vivo* :

Traitement de reins marginaux diabétiques (modèle rat) par l'administration directe de microbulles dans le perfusat lors d'une perfusion normothermique (NMP, 37 °C) ou hypothermique oxygénée (HOPE, 4-12 °C). Cette phase comprend :

- L'optimisation de la délivrance : Étude de la stabilité des microbulles en circulation, de la cinétique de libération sous ultrasons focalisés et du rendement d'encapsulation.
- La démonstration de la réhabilitation fonctionnelle : Évaluation de la reprise de fonction via la clairance de la créatinine et le marqueur de souffrance tubulaire NGAL ; mesure de la réduction de la peroxydation lipidique ; restauration du ratio GSH/GSSG ; évaluation de la fonction mitochondriale (FMN) et préservation de l'intégrité endothéliale.
- L'évaluation histologique et structurale : Analyses microscopiques pour évaluer les lésions tissulaires, l'œdème interstitiel et l'intégrité des structures glomérulaires et tubulaires après traitement.

Illustration schématique du travail de thèse



Références :

1. Agence de la biomédecine (2025). Prélèvement et greffe d'organes : Bilan d'activité 2024 et baromètre d'opinion 2025.
2. Réseau Epidémiologie et Information en Néphrologie (REIN) - Rapport annuel 2024
3. Pascual, Julio, Javier Zamora, and John D. Pirsch. "A systematic review of kidney transplantation from expanded criteria donors." *American journal of kidney diseases* 52.3 (2008): 553-586.
4. Hofmann, J., Pühringer, M., Steinkellner, S., Holl, A. S., Meszaros, A. T., Schneeberger, S., ... & Hautz, T. (2022). Novel, innovative models to study ischemia/reperfusion-related redox damage in organ transplantation. *Antioxidants*, 12(1), 31.
5. Cardinal, H., Dieudé, M., & Hébert, M. J. (2018). Endothelial dysfunction in kidney transplantation. *Frontiers in immunology*, 9, 1130.
6. Kayumov, M., Song, Z., Martin, F., Tsou, S., Xiao, Y., Zhou, H., & Tullius, S. G. (2025). The promise of organ rejuvenation to overcome the shortage in organ transplantation. *Nature Communications*.
7. Zulpaite R, Miknevicius P, Leber B, Strupas K, Stiegler P, Schemmer P. Ex-vivo Kidney Machine Perfusion: Therapeutic Potential. *Front Med (Lausanne)*. 2021 Dec 24;8:808719. doi: 10.3389/fmed.2021.808719. PMID: 35004787; PMCID: PMC8741203.
8. Fournier, L., Abioui-Mourgues, M., Chabouh, G., Aid, R., De La Taille, T., Couture, O., ... & Chauvierre, C. (2023). rtPA-loaded fucoidan polymer microbubbles for the targeted treatment of stroke. *Biomaterials*, 303, 122385.
9. Barzegari, A., Omid, Y., Landon, R., Gueguen, V., Parvizpour, S., Meddahi-Pellé, A., ... & Pavon-Djavid, G. (2022). The protective effect of N-acetylcysteine on antimycin A-induced respiratory chain deficiency in mesenchymal stem cells. *Chemico-Biological Interactions*, 360, 109937.
10. Hejazian, S. M., Ardalan, M., Hosseiniyan Khatibi, S. M., Rahbar Saadat, Y., Barzegari, A., Gueguen, V., ... & Pavon-Djavid, G. (2023). Biofactors regulating mitochondrial function and dynamics in podocytes and podocytopathies. *Journal of Cellular Physiology*, 238(10), 2206-2227.
11. Zuluaga Tamayo, M., Choudat, L., Aid-Launais, R., Thibaudeau, O., Louedec, L., Letourneur, D., ... & Pavon-Djavid, G. (2019). Astaxanthin complexes to attenuate muscle damage after in vivo femoral ischemia-reperfusion. *Marine drugs*, 17(6), 354.