

Les liposomes dans l'administration intranasale de médicaments et de vaccins

Fabienne Piegay

E.I.3 Option MIDiFAB, Sujet binômé proposé par Philippe Méléard

Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Rennes, Av. Général Leclerc, 35700 Rennes

Soumis le 17.11.2003 ; accepté le 27.11.2003

Résumé : Les modes d'administration de médicaments et de vaccination changent. Aujourd'hui, l'intérêt se porte sur la voie intranasale où la vectorisation de l'antigène ou du principe actif par des liposomes est très prometteur. Elle montre la même efficacité que la voie intra musculaire lors des essais effectués sur des souris ou des lapins. Mais pour cela, les liposomes doivent être fonctionnalisés et optimisés en ajustant le ratio entre les différents lipides, en testant différents additifs tels que des activateurs d'absorption ou des stabilisants. Ainsi le rôle du liposome va être de présenter l'antigène ou le principe actif à la cellule cible, ici le macrophage pour l'antigène, en modifiant l'absorption de ce dernier par les muqueuses nasales, ainsi que d'accroître son temps de clairance.

Introduction

Les médicaments et les vaccins sont administrés depuis des dizaines d'années par voie intramusculaire ou subcutanée, en effectuant une injection au patient. Cependant un inconvénient majeur de ce mode d'administration est qu'il requiert une personne qualifiée (médecin ou infirmière) afin d'effectuer cette injection. En conséquence, dans les pays en voie de développement, sachant que l'accès aux soins est difficile, il paraît important de trouver un autre mode d'administration plus simple, tel que la voie orale ou nasale. D'autre part, les injections intramusculaires et l'administration orale des vaccins ne produisent pas de réponse immunitaire au niveau des muqueuses, contrairement à l'administration nasale. Or, les muqueuses contenues, entre autres, dans la bouche et le nez sont les premières exposées à l'inhalation de virus qui se trouvent en suspension dans l'air. Elles sont la "porte d'entrée" à 95% des maladies infectieuses. En effet, la peste, la grippe, la rougeole, le tétanos, la diphtérie, etc... se transmettent par les gouttelettes présentes dans l'air, provenant des éternuements ou de la toux de personnes infectées [2]. Ainsi une protection des muqueuses serait une première ligne de défense contre les invasions de virus ou de bactéries aériens [3].

De plus, les muqueuses sont un site propice à la libération de médicaments car elles sont fortement vascularisées. Cependant, les molécules qui passent par la voie nasale ont généralement une faible masse moléculaire et sont lipophiles. Les molécules de plus fort poids moléculaire sont exclues du transport transcellulaire et sont absorbées par la voie paracellulaire (i.e. les molécules de principe actif passent entre deux cellules de la muqueuse) puis détruites. Or les antigènes sont des protéines pouvant atteindre de fortes masses moléculaires. Ainsi pour obtenir la meilleure efficacité possible, il

faut trouver une solution afin de faire passer ces antigènes par la voie transcellulaire, i.e. qu'ils passent à travers les cellules des muqueuses [1]. Enfin, les liposomes n'entraînent pas de réponse immunitaire lorsqu'ils sont injectés dans le corps humain puisqu'ils sont constitués de phospholipides, naturellement présents dans l'organisme. De plus, ils vont pouvoir protéger, véhiculer et optimiser la présentation de l'antigène à la cellule cible. Ils pourront aussi fusionner avec la membrane des muqueuses et ainsi libérer leur contenu à l'endroit voulu. Enfin, leur formulation permet d'intégrer certains additifs tels que des bio-adhésifs ou des activateurs d'absorption qui vont favoriser l'ingestion du vaccin. Les liposomes paraissent donc bien adaptés au transport de ces molécules peu ordinaires.

L'intérêt des liposomes :

Les liposomes sont des particules colloïdales comprenant une bicouche lipidique formée par auto association de lipides. Ils sont caractérisés par leur composition lipidique, par leur taille et leur lamellarité. Ils ont l'avantage d'être biocompatibles, biodégradables ainsi que d'avoir une faible toxicité et une faible immunogénicité. Ils sont simples à préparer, les matières premières sont relativement accessibles et ils sont stables après dilution. Ils conservent aussi leur taille et leur forme après avoir encapsulé un principe actif contrairement aux micelles ou aux microémulsions. Enfin, ils sont assez facilement préparés en grande quantité (jusqu'à 100 litres) ce qui est essentiel car l'industrie pharmaceutique a besoin de médicaments pouvant s'adapter aux procédés de production industrielle [12]. Les liposomes sont alors les vecteurs de l'antigène ou du principe actif qu'ils ont encapsulés. En effet, si l'antigène est hydrophile, il se trouvera dans le compartiment aqueux du liposome, s'il est hydrophobe il se logera dans la membrane. L'antigène peut aussi se trouver à la surface de la membrane du liposome par des techniques de couplage. Ainsi le liposome amène l'antigène en le protégeant jusqu'à la cellule cible. Pour cela, il doit y avoir une association physique entre l'antigène et le liposome, c'est-à-dire encapsulation ou greffage, sachant que les antigènes liés à la surface des liposomes ont toujours montré une meilleure efficacité lors de la présentation aux macrophages que les mêmes antigènes encapsulés dans le liposome [4,14].

Ainsi, les principaux modes d'action des liposomes incluent la solubilisation (ou la stabilisation de suspension de poudre) de médicaments peu solubles, le relargage, l'accumulation passive dans les tumeurs (pour les liposomes greffés avec du poly(éthylène glycol), PEG) ou la vectorisation du principe actif sur une cible. Enfin, les médicaments peuvent être formulés sous forme de solution, de spray, liquide dispersé dans du gaz, ou sous forme d'inhalateur, poudre solide dispersée dans du gaz. La formulation en poudre est généralement adoptée pour des molécules de principe actif ou des additifs peu solubles dans l'eau. On a remarqué qu'une formulation de poudre donnait une meilleure efficacité qu'une solution [6,12,15]. Je n'ai cependant pas trouvé d'explications à ce phénomène.

Les constituants majeurs et la préparation

Cette partie est basée sur les travaux de Y. Maitani et al. [1], de A. de Haan et al. [4], ainsi que de S.L. Law et al. [5,7]. Les liposomes sont préparés à base de lécithine de phosphatidylcholine (PC), issu de soja ou d'œuf et de cholestérol [1,4,5]. Le ratio entre ces deux molécules peut varier, de 4:5 à 7:3 pour les unilamellaires, et 1,6:1 pour les multilamellaires.

Leur préparation est la suivante, les lipides sont dilués dans un solvant organique tel que le chloroforme [4], un mélange chloroforme-méthanol [7] ou le méthanol [5]. Ils sont ensuite séchés sous courant d'azote puis sous vide afin d'éliminer toute trace de solvant. Enfin, ils sont hydratés par un tampon phosphate (100 mM, pH 7,4) qui contient le principe actif, ici l'antigène. On remarque ici que le principe actif doit donc être hydrosoluble. Les liposomes sont agités au vortex afin de créer des liposomes multilamellaires (MLV) puis sont ensuite extrudés sous forte pression et avec des filtres en polycarbonate de diamètre de pore de 0,2 à 0,4 μm afin d'obtenir des liposomes unilamellaires (LUV) [1,4,5]. Le cholestérol, Chol, est inclus dans la membrane des liposomes car c'est un des constituants majeurs des membranes biologiques. Il permet de rigidifier ces dernières ainsi que de réguler leur fluidité en fonction de la température, donc de modifier leur perméabilité. En effet, le cholestérol permet de rester en phase liquide ordonnée, L_{β} , à 37°C, phase dans laquelle les liposomes sont peu perméables. Il y aura donc moins de fuite du principe actif encapsulé.

Par ailleurs, plus l'antigène à encapsuler est hydrophobe, plus la concentration en phospholipides doit être élevée. En effet, la partie hydrophobe du principe actif va s'insérer dans la bicouche lipidique telle une ancre membranaire tandis que la partie hydrophile, réactive, se présentera dans le milieu aqueux. Ainsi pour obtenir un bon taux d'encapsulation, il faudra une grande surface de bicouche [7]. Cependant, afin d'avoir un antigène hydrosoluble, seule la partie réactive est conservée ("La partie réactive" est utilisée dans ce texte pour désigner la partie stimulant une réponse immunitaire). L'antigène est alors un peptide constitué d'une dizaine d'acides aminés. Par exemple, l'antigène de la grippe couramment utilisé par les chercheurs est le suivant : YPYDVPDYA. Il est donc suffisamment court pour être hydrosoluble.

Les additifs et leurs rôles

Les liposomes sont exposés à différents problèmes. Ils manquent de stabilité et sont éliminés rapidement. En effet, avec un temps de demi-vie de 15 à 20 minutes dans la cavité nasale, les antigènes n'ont pas assez de temps pour se présenter aux cellules. Il faut donc augmenter leur durée de vie, en augmentant le temps de clairance, soit le temps que le corps met à l'éliminer. C'est un des rôles des additifs [6]. Le principal effet des additifs va être d'imposer une charge au liposome car les PC et le cholestérol sont des molécules formant des liposomes neutres. Ainsi, je résume ici les travaux de S.P. Vyas et al. [7] et de Y. Maitani et al. [1] portant sur l'influence de la charge du liposome sur sa stabilité, sa capacité à laisser s'échapper ou non l'antigène, sa capacité à s'absorber à la surface des muqueuses.

Pour cela, différentes molécules sont typiquement ajoutées (*i*) des bio-adhésifs tels que le chitosan, un polysaccharide cationique [6], des stérylglycosides, SG (Figure 1) [1], la stéarylamine, SA, chargée positivement, la trioléine ,TO, un triglycéride neutre, la lysophosphatidylcholine, LPC, neutre, le dicétyl phosphate, DCP chargé négativement [5,7] et (*ii*) d'autres phospholipides tels que le DOPC, dioléoylphosphatidylcholine, neutre et le palmitoyl-oléoyl-phosphatidylglycérol, POPG [4] ou la phosphatidylsérine, PS [5], tous les deux chargés négativement

Premièrement, les bio-adhésifs sont des molécules permettant d'activer l'absorption de molécules à la surface des muqueuses en s'y fixant fortement. Le chitosan est un bon exemple car c'est un polysaccharide cationique. Or les muqueuses nasales contiennent des récepteurs spécifiques qui reconnaissent les sucres. De plus, les muqueuses sécrètent du mucus contenant de la mucine, un

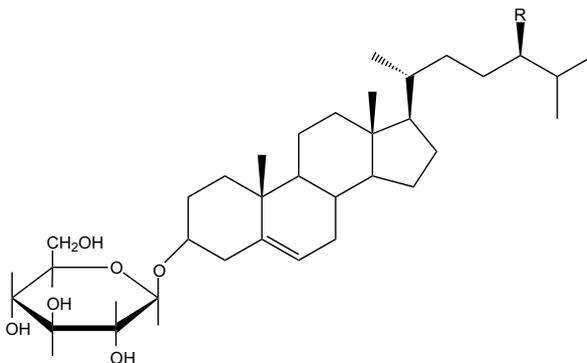


Figure 1 : Structure chimique du stérylglycoside, SG.

polymère chargé négativement au pH physiologique. Ainsi par des interactions électrostatiques, le chitosan va permettre au liposome de "s'accrocher" à la membrane de la muqueuse et donc d'avoir une durée de vie plus longue.

De la même façon, la stéarylamine, chargée positivement, a des attractions de nature électrostatique avec les muqueuses. Quant au DCP, chargé négativement, il sera repoussé par les membranes des parois nasales [7]. Cela va donc lui permettre de rester longtemps en circulation dans le nez. Enfin, le stérylglycoside, SG, un dérivé de sucre, est facilement reconnu par les muqueuses nasales et va alors provoquer l'adhésion à la membrane nasale et ainsi augmenter le temps de présence du principe actif dans le corps, soit augmenter son temps de clairance.

Le tableau 1 montre la stabilité des liposomes au pH physiologique après une heure d'incubation à 37°C. Quant au tableau 2, il donne les résultats de l'influence de l'ajout d'activateurs d'absorption sur la bio-adhésion ainsi que sur le temps de clairance. Les expériences ont été effectuées sur des souris ou des lapins.

On observe que les liposomes contenant le bio-adhésif chargé positivement, SA, ont une très bonne adhésion à la muqueuse nasale et que les liposomes contenant du DCP, donc chargés négativement, ne s'accrochent pas à la muqueuse. De plus, les liposomes sont plus stables lorsqu'ils contiennent du SA car il existe des répulsions électrostatiques entre les liposomes qui empêchent les contacts inter liposomes. On observe tout de même une baisse du nombre de liposomes en raison de leur agrégation. Enfin, les liposomes neutres sont moins stables car les répulsions ne sont pas présentes. D'autre part, on remarque que le stérylglycoside, SG, à concentration très élevée, augmente le temps de clairance de l'antigène (Tableau 1). Cela signifie que comme le SA, il permet au liposome de s'accrocher fortement à la membrane des muqueuses. Quant au taux d'encapsulation, il ne varie quasiment pas en fonction de l'additif ajouté. Cependant le relargage est meilleur avec un perméabilisant tel que le LPC. En effet, le LPC est un tensioactif neutre monocaténaire qui fragilise la membrane en la rendant plus fine [7].

De manière générale, l'encapsulation dépend de l'antigène à encapsuler. On peut illustrer ce problème en citant le cas de la desmopressine qui n'est pas lié à la vaccination mais qui est utilisée à

Tableau 1 : Stabilité des liposomes après 1 heure d'incubation à 37°C [7].

Composition du liposome	Proportion de chaque composant	Nombre de liposomes par mm ² (x10 ⁵) avant incubation	Nombre de liposomes par mm ² (x10 ⁵) après incubation
PC : Chol	7 : 1	4,8	4,6
PC : Chol : SA	7 : 1 : 2	4,4	4,1
PC : Chol : LPC	7 : 1 : 0,1	4,5	3,3

Tableau 2 : Influence de différentes molécules sur la bio-adhésion et sur le temps de clairance [1,7].

Composition du liposome	Proportion de chaque composant	Bio-adhésion du liposome à la membrane muqueuse (%)	Temps de clairance (h)
PC : Chol	7 : 1	35,4	-
PC : Chol : SA	7 : 1 : 2	90,9	-
PC : Chol : DCP	7 : 1 : 2	Aucune	-
PC : Chol : LPC	7 : 1 : 0,1	75,5	-
PC : Chol : TO	7 : 1 : 0,5	59,1	-
PC : Chol	7 : 3	-	0,3
PC : Chol : SG	7 : 3 : 20	-	1

but antidiurétique lors du traitement du *Diabete Insipide*. La desmopressine est un peptide dont la charge globale est positive. Or on s'aperçoit que cette molécule chargée positivement est mieux encapsulée par des phospholipides chargés positivement. En effet, à pH 7,4, la desmopressine est chargée positivement. Il serait donc logique de penser qu'un liposome chargé négativement de la composition suivante DOPC:Chol:PS (1,6:1:0,15) l'encapsulerait aisément. Or le système positif DOPC:Chol:SA, avec la même composition que précédemment, et le système neutre DOPC:Chol (1,6:1) permettent une meilleure encapsulation. Cela signifie que le facteur majeur provoquant l'encapsulation n'est pas les répulsions électrostatiques mais les interactions hydrophobes. En effet, la partie hydrophobe de la desmopressine interagit avec les chaînes hydrophobes des phospholipides positifs ou neutres. Elle va alors altérer la charge caractéristique du liposome en l'augmentant globalement. Cela a donc pour effet de diminuer la mobilité des liposomes qui sont alors "encore plus" chargés positivement et donc vont s'accrocher plus facilement et plus longtemps. Cela peut s'avérer utile puisque l'on veut que les liposomes restent à la surface des muqueuses le plus longtemps possible.

Enfin, les liposomes chargés positivement impliquent une meilleure pénétration du principe actif à travers les muqueuses que les liposomes négatifs. On souligne surtout le fait que cette pénétration est 7,5 fois supérieure à l'injection du même principe actif seul en solution [5]. On peut toutefois craindre que l'injection de liposomes chargés positivement implique une nuisance aux muqueuses. En effet, toute particule chargée positivement va se fixer à la membrane des muqueuses nasales et peut potentiellement induire des dommages.

Rôle des liposomes

Etant donnée que les tests d'efficacité des liposomes dans les applications trans-nasales se font sur des animaux, il paraît important de donner quelques détails. Les souris et les lapins sont endormis lors des administrations afin de garantir le dépôt des liposomes dans le pharynx (partie antérieure de la cavité nasale). En effet, c'est un tissu lymphoïde qui contient un grand nombre de macrophages auxquels doivent être présentés les antigènes. Ce sont ces cellules cibles qui vont provoquer la réponse immunitaire en activant la création d'anticorps. Il est toutefois important de souligner que le principe actif ne doit pas aller dans les bronches. En effet, si tel était le cas, une réaction immunitaire pourrait se produire à cet endroit et boucherait les bronches. Ce serait alors plus grave pour des personnes asthmatiques.

L'activité immunoadjuvante des liposomes

Différents essais ont été effectués, en utilisant tout d'abord la même formulation pour les vaccins par voie nasale que les vaccins injectés par voie intraveineuse. Les résultats obtenus étant alors médiocres, les scientifiques se sont alors intéressés aux liposomes pour transporter ces antigènes. La réponse immunitaire pour les liposomes contenant l'antigène a alors augmenté et est devenue aussi efficace que la vaccination par intraveineuse, soit la référence dans la vaccination. On a donc attribué une activité immunoadjuvante aux liposomes puisqu'ils aident le système immunitaire. De plus, le simple fait de créer un complexe entre le liposome et l'antigène (l'antigène ne se trouve plus à l'intérieur du liposome mais à la surface de la monocouche externe) induit également une réponse immunitaire. Des études ont alors montré [13] que les liposomes sont avidement phagocytés par les macrophages, sans détruire l'antigène, et que ces derniers peuvent présenter le peptide antigénique au système

Tableau 3 : Effet de la charge du liposome sur son activité immunoadjuvante [13].

Composition des liposomes	Solution injectée	Taux d'anticorps : sérum IgG (log ₁₀)
-	TBHA2 *	
PC : Chol (1 : 1)	TBHA2 dans le liposome	2,4±0,1
PC : Chol : DCP (4 : 5 : 1)	TBHA2 dans le liposome	3,5±0,1
PC : Chol : POPG (4 : 5 : 1)	TBHA2 dans le liposome	3,4±0,1

* L'antigène, TBHA2, correspond à la partie hydrosoluble de *Influenza Hemagglutinin*, HA. Cette protéine membranaire se trouve dans l'enveloppe du virus de la grippe (*Influenza*) et est impliquée dans la fusion de l'enveloppe du virus avec la membrane cellulaire, permettant ainsi l'entrée du matériel génétique viral dans les cellules humaines.

Tableau 4 : Effet d'un prétraitement liposomal sur la réponse immunitaire 4 jours après injection intranasale [13].

Formulation injectée	Taux d'anticorps : sérum IgG (log ₁₀)
TBHA2 seul en solution	2,0 ± 0,4
TBHA2 complexé avec les liposomes	3,2 ± 0,2
Liposomes 16h avant TBHA2 seul en solution	3,3 ± 0,1
Liposomes 48h avant TBHA2 seul en solution	3,0 ± 0,2

immunitaire. En effet, les liposomes ont quasiment la même taille qu'un virus, soit 200nm environ, ils vont ainsi être facilement phagocytés par les macrophages qui ne phagocytent que les particules d'une taille de l'ordre de 200 nm.

Par ailleurs, une autre avancée a été faite dans ce domaine. Il a été rapporté que les liposomes eux-mêmes pourraient stimuler une réponse immunitaire dans les muqueuses. En effet, dans le cas du virus de la grippe, A. de Haan et al. [4] et T. Daemen et al. [13] ont testé différentes méthodes d'injection de l'antigène. Les liposomes utilisés ont la composition PC:Chol:DCP ou PC:Chol:POPG (dans les proportions 4:5:1) et sont donc chargés négativement. La première méthode a été d'injecter normalement l'antigène encapsulé dans le liposome. La réponse immunitaire est alors observée 7 jours après l'immunisation et est encore présente jusqu'à 21 semaines après l'immunisation. Ensuite, ils ont injecté l'antigène complexé (donc non incorporé) avec le liposome. La réponse immunitaire est sensiblement la même, toutefois légèrement inférieure à la précédente. Enfin, les liposomes ont été injectés dans les muqueuses avant l'antigène, à intervalle de temps variable, et ce jusqu'à 48h avant l'antigène. Là aussi une réponse immunitaire est observée et est du même ordre d'efficacité que celle de l'antigène complexé avec le liposome. Elle est donc largement supérieure à celle observée lorsque l'antigène est injecté seul en solution. Les liposomes ne sont donc plus que des vecteurs mais ils permettent aussi de présenter l'antigène à la cellule cible, ici le macrophage. Cependant, tous les liposomes n'ont pas cette propriété. En effet, d'une part la composition des liposomes est importante. Seuls les liposomes chargés négativement (contenant du DCP ou du POPG) impliquent une réponse immunitaire. Les zwitterioniques (contenant uniquement des PC et du cholestérol) n'en provoquent pas. Quant aux cationiques, ils n'ont pas été étudiés [8]. Les résultats de ces expériences sont résumés dans les tableaux 3 et 4.

Il apparaît donc que les liposomes chargés négativement facilitent une réponse immunitaire même lorsqu'ils ont été injectés à un grand intervalle de temps avant l'antigène. Je propose toutefois une alternative aux résultats précédents. En effet, un liposome est généralement non immunogène. Il ne devrait donc pas induire de réponse immunitaire seul. Or, il est possible que la durée de vie d'un liposome chargé négativement dans les muqueuses nasales atteigne un maximum de 48h. Il pourrait

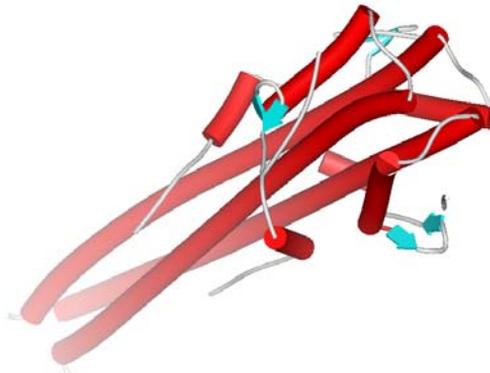


Figure 2 : Présentation schématique du fragment soluble TBHA2 de l'hémagglutinine. TBHA2 est un trimère d'environ 350 résidus (reproduit avec la permission de T. Pott).

alors circuler 48h par répulsion électrostatique avec les muqueuses chargées elles aussi négativement. Ensuite, lorsque l'antigène est injecté, tous deux formeraient un complexe, qui lui, on le sait, est immunogène. La qualité du liposome serait alors d'avoir un temps de clairance long. Ceci reste logique puisqu'un liposome neutre a un temps de clairance de 20 minutes environ dans les muqueuses nasales. Or les liposomes neutres ne provoquent pas de réponse immunitaire. De plus, lorsque les liposomes sont chargés négativement, ils contiennent du DCP, un phospholipide synthétique ou du POPG, phospholipide naturel. C'est donc uniquement la charge du phospholipide qui entre en jeu pour allonger le temps de clairance.

D'autre part, il apparaît que le ratio lipides : antigène, en masse, a une influence sur le rôle de présentation du principe actif à la cellule cible. En effet, seul le ratio 1000:1, ou approchant, donne cette propriété de présentation de la protéine aux macrophages. Un ratio proche de 1:1 n'a pas cette caractéristique [4].

Les "liposomes-réservoir"

Un autre rôle joué par les liposomes est de servir de réservoir de principe actif. En effet, lorsqu'un principe actif est injecté seul en solution, une partie est captée par les muqueuses et l'autre est éliminée. Or l'avantage des liposomes est de préserver le principe actif sur une longue période et de le libérer progressivement. Une illustration est le cas de la nifedipine, ou diméthyl-2,6(nitro-2phényl)-4 pyridinedicarboxylate-3,5 de méthyle [7]. Ce principe actif est un bloqueur de canaux calciques et est généralement utilisé en tant que dilatateur de l'artère coronarienne. Il n'est donc pas lié à une quelconque vaccination. Il est injecté seul en solution tampon dans les muqueuses nasales, la concentration maximale est obtenue après une heure dans le plasma sanguin, puis elle diminue très rapidement jusqu'à être nulle après 12 heures. Alors que lorsque la substance est encapsulée dans des liposomes, elle est libérée progressivement. Les liposomes ont alors la composition suivante, PC:Chol:SA ou LPC ou TO, dans les proportions 7:1:2 ou 7:1:0,1 ou 7:1:0,5, respectivement. Le pic de concentration maximale est obtenu 2 heures après l'administration, elle est ensuite constante pendant 10 heures. Les liposomes à base de SA donnent une libération moins fluctuante que les liposomes à base de LPC. S.P. Vyas et al. attribuent ce profil de relargage à la fusion graduelle des liposomes avec la membrane des muqueuses nasales. Ainsi à chaque nouvelle fusion, un "pic" de concentration est observé. Les MLV paraissent alors bien adaptés à cette fusion graduelle puisqu'il suffit que la membrane extérieure d'un liposome commence à fusionner avec la muqueuse pour que les autres membranes fusionnent également. Enfin, le pic obtenu 2 heures après l'injection est probablement dû à l'absorption de la substance qui n'a pas été encapsulée. En effet, si elle n'est pas toxique, la substance peut être laissée libre en solution avec les liposomes. Cela peut aussi permettre d'éviter certaines étapes de purification des liposomes tout en conservant la même efficacité [7].

J'émetts toutefois deux nuances à ces résultats. Tout d'abord, le relargage du principe actif peut être quasiment considéré comme constant. En effet, tous les pics obtenus sont moyennés et donc possèdent une marge d'erreur. Or en tenant compte de cette marge, il est possible de tracer une droite qui donnerait un profil constant de relargage. Mon second doute est alors que les liposomes ne fusionneraient plus avec les muqueuses mais se dégraderaient ou seraient détruits progressivement par les macrophages. Ainsi, le profil de relargage resterait le même, de petites incréments dues à chaque destruction d'un liposome.

Enfin, l'avantage de l'administration intranasale du vaccin est qu'il immunise toutes les muqueuses. Il était prévisible de retrouver une réponse immunitaire dans les poumons puisque les liposomes sont de petites particules et ont donc tendance à se diriger vers les capillaires sanguins tels que ceux des poumons. De plus, le fait d'injecter le médicament sur des animaux endormis permet aussi de déposer le principe actif dans la trachée. Mais il est important de souligner que cette stratégie de vaccination implique l'immunité des muqueuses nasales, vaginales, de la rate et du ganglion lymphatique, alors que les vaccinations intra musculaires ne montrent aucun signe d'activité immunitaire dans les muqueuses. On peut attribuer la réponse immunitaire de ces muqueuses en admettant que la réponse immunitaire a été si forte qu'elle protège tout le corps humain. Cependant, d'autres pensent que c'est une caractéristique intrinsèque au système immunitaire des muqueuses, soit le système lymphatique; et imaginent alors des vaccins administrés par voie nasale contre les maladies sexuellement transmissibles [11,13].

De plus, la vaccination intranasale induit la même réponse immunitaire systémique que la vaccination intra musculaire [3,13]. La vaccination pourrait donc être plus efficace que la vaccination intra musculaire si elle ne nécessitait pas une double dose, soit deux injections à quatre jours d'intervalle. Elle paraît ainsi plus contraignante. Enfin concernant l'efficacité de la vaccination intranasale, elle induit une réponse immunitaire jusqu'à au moins 21 semaines après la vaccination [13].

Conclusion

La vaccination intranasale existe déjà en médecine vétérinaire ; quant aux applications sur l'homme, une seule étude clinique a été effectuée en Suisse, en 2000, lors de la campagne de vaccination contre la grippe. Le vaccin se présentait sous la forme d'un spray. Plusieurs effets indésirables ont été observés tels que des écoulements nasaux, des éternuements, le nez bouché, des réactions inflammatoires au niveau des muqueuses et plus important, une paralysie faciale qui n'a toutefois pas été clairement mise en relation avec la vaccination [9]. L'amélioration des vaccins est donc nécessaire. D'autres vecteurs sont à l'étude tels que les microsphères, les virosomes (virus vidés de leur contenu et remplis de principe actif) [10].

Enfin, le vaccin finalisé devra être le plus économique possible puisqu'il n'est pas remboursé par la Sécurité Sociale. Pour cela, les composants devront être peu coûteux, sachant que leur formulation possède de nombreux bio-adhésifs qui ont un coût non négligeable.

Remerciements : Je souhaite remercier Pr. Philippe Méléard ainsi que Dr. Tanja Pott pour leur aide et leurs commentaires.

Références

- [1] Y. Maitani, K. Nakamura, H. Suegana, K. Kamata, K. Takayama et T. Nagai (2000) *Int. J. Pharm.* 200, 17-26.
- [2] M.E. Baca-Estrada, M. Foldvari, M. Snider, K. Harding, B. Kournikakis, L.A. Babiuk et P. Griebel, (2000) *Vaccine* 18, 2203-2211.
- [3] A. de Haan, J.F.C. Tomee, J.P. Huchshorn et J. Wilschut (1995) *Vaccine* 13, 1320-1324.
- [4] A. de Haan, H.J. Geerligts, J.P. Huchshorn, G.J.M. Scharrenburg, A.M. Palache et J. Wilschut (1995) *Vaccine* 13, 155-162.
- [5] S.L. Law, K.J. Huang et H.Y. Chou, (2000), *J. Control Release* 70, 375-382

- [6] L. Illum, I. Jabbal-Gill, M.Hinchcliffe, A.N.Fisher, S.S.David (2001), *Adv. Drug Deliver Rev.* 51, 81-96.
- [7] S.P. Vyas, S.K. Goswami, R. Singh, (1995), *Int. J. Pharm.* 118, 23-30.
- [8] Fatunmbi, O.O. Newman, J.A. Sivanandan, V. and Halvorson D.A., (1992) *Vaccine* 10, 623-626.
- [9] S. Zimmerli, K. Mühlemann (2001), *Bulletins des Médecins Suisses* 37, 2071-2076.
- [10] <http://www.technoparc.com/francais/Nouvelles/archives/cont07.htm> (consulté en octobre 2003)
- [11] L.S. Klavinskis, L. Gao, C. Barnfield, T. Lehner, S. Parker, (1997) *Vaccine* 15, 818-820.
- [12] D.D. Lasic et D. Papahadjopoulos (1998) in *Medical Applications of Liposomes* (Lasic, Papahadjopoulos, ed.), pp. 1-7, Elsevier, Amsterdam, Lausanne, New York, Shannon, Singapore, Tokyo.
- [13] T. Daemen, A. De Haan, A. Arkema and J.Wilschut (1998) in *Medical Applications of Liposomes* (Lasic, Papahadjopoulos, ed.), pp. 117-143, Elsevier, Amsterdam, Lausanne, New York, Shannon, Singapore, Tokyo.
- [14] C.R. Alving (1998) in *Medical Applications of Liposomes* (Lasic, Papahadjopoulos, ed.), pp. 145-163, Elsevier, Amsterdam, Lausanne, New York, Shannon, Singapore, Tokyo.
- [15] D.D. Lasic et D. Papahadjopoulos (1998) in *Medical Applications of Liposomes* (Lasic, Papahadjopoulos, ed.), pp. 451-453, Elsevier, Amsterdam, Lausanne, New York, Shannon, Singapore, Tokyo.