



Bao Wen Qi

« Novel Surface-Tethered Estrogen Polymeric Platforms in Cardiovascular Regenerative »

Mardi, 19 janvier 2016

À 14h00 – Salle 1035

Pavillon J.-Armand Bombardier

Jury de thèse

Président-rapporteur : Gaëlle Roullin

Directeur : Françoise Winnik

Codirecteur : Jean-François Tanguay

Membre du jury : Jean-François Masson

Examinateur externe : Anna Ritcey

Représentant du doyen de la FESP : Gaëlle Roullin

Résumé

L'œstradiol (E2) est une hormone féminine essentielle pour réguler et déterminer des conditions physiologiques variées *in vivo*, telle que la prolifération et la différenciation cellulaires. Quand le supplément d'E2 exogène est employé comme un moyen clinique pour la thérapie d'hormone, E2 peut provoquer simultanément une influence génomique ou non génomique lorsqu'il est fixé sur les récepteurs d'estrogène dans le noyau ou la membrane de cellules. Par rapport à l'influence génomique, il est très difficile d'étudier le comportement biologique non-génomique induit par E2, parce que : 1) cette influence a lieu pendant une période extrêmement courte; 2) la biodisponibilité et l'accessibilité d'E2 aux cellules ciblées sont très faibles à cause de sa nature hydrophobe. Il est ainsi indispensable de développer un système de relargage local à base d'E2 afin de comprendre spécifiquement la nature non-génomique d'estrogène. Une des stratégies est de greffer E2 sur des macromolécules hydrophiles comme l'albumine de sérum bovin ou sur un dendrimère en poly(amido)amine afin de conserver une interaction entre E2 et les récepteurs d'estrogène membrane pour éviter qu'E2 pénètre dans le noyau cellulaire. Cependant, l'imperfection des systèmes macromoléculaires d'E2 existants qui contiennent soit des molécules libres d'E2 n'ayant pas réagi soit des molécules d'E2 mal localisées sur les cellules conduit à la controverse. En conséquence, cette thèse a pour objectif de développer des nouvelles plateformes fonctionnalisées avec E2 basées sur une approche bottom-up ou top-down pour comprendre le mécanisme de l'influence non-génomique d'estrogène, en plus, d'explorer leur applications potentielles dans le domaine de médecine biomédicale.

En tant qu'approche bottom-up, un ligand d'E2 activité, acide 17 α -éthynylestradiol- benzoïque a lié de façon covalente sur un polymère biocompatible à base de chitosane substitué par une phosphorylcholine comme une stratégie de promédicament pour la fabrication de films auto-assemblés. Par une série d'études qui combine la physicochimie et la biologie cellulaire, la relation entre des compositions chimiques différentes de films chitosane-phosphorylcholine et des réponses cellulaires a été évaluée. La topographie de surface, la charge et la rhéologie des films de chitosan phosphorylcholine (CH-PC) contenant 15, 25 et 40mol% de PC ont été caractérisées avec différentes instruments d'analyse comme microscope à force atomique (AFM), potentiel zêta, résonance plasmonique de surface (SPR) et microbalance à quartz avec dissipation (QCM-D). En outre, les mesures de QCM-D ont indiqué que la quantité de fibrinogène absorbé sur les films de CH-PC a diminué significativement avec l'augmentation de la fraction de PC. Enfin, les cellules endothéliales de veine ombilicale humaine cultivées sur les films de CH-PC25 et de CH-PC40 forment des sphères pendant 4 jours, mais pas sur les films de CH-PC15. En plus, les polymères conjugués par CH-PC et E2 ont été préparés et caractérisés par plusieurs techniques, par exemple résonance magnétique nucléaire (RMN), infrarouge à transformée de Fourier de réflectance totale atténuée (ATR-FTIR) et UV-Vis. Par ailleurs, la nature d'hydrogel du film de CH-PC-E2 ainsi que ses interactions avec les récepteurs d'estrogène ont été étudiées largement par QCM-D. Dans l'étude cellulaire, les films d'hydrogel de CH-PC-E2 peuvent stimuler significativement la production de l'oxyde nitrique (NO), une molécule dans le système cardiovasculaire, dans les cellules endothéliales par une étude d'images avec un diacétate de diaminofluorescéine (DAF-FM). En conclusion, les études présentées ici ont démontré les rôles différents et les applications potentielles de CH-PC-E2 et des surfaces de CH-PC dans la médecine régénérative cardiovasculaire. L'approche top-down, des substrats ornés des micromotifs ont été utilisés pour la fonctionnalisation d'E2, et ils ont été préparés par photolithographie en alignant les plaquettes d'or avec un diamètre de $\sim 2\mu\text{m}$ sur un substrat en verre. Après ceci, un peptide qui peut adhérer des cellules, RGD cyclique, a été introduit à la surface verre afin d'attirer des cellules. En même temps, l'œstradiol a été immobilisée par liaison covalente sur la surface d'or et la procédure a été surveillée et validée par la combinaison des études de SPR et QCM-D. Dans l'étude d'ELISA avec un substrat possédant les micromotifs, le niveau de phosphorylation de la kinase régulée par le signal extracellulaire, qui est un marqueur non-génomique important, a été significativement augmenté par utilisation de la surface ornée des motifs et E2-fonctionalisée après une heure d'incubation. De plus, la surface E2-fonctionalisée n'a pas proliféré les cellules de cancer, qui indique l'absence de la stimulation à l'influence génomique. À base de ces résultats, nos substrats ornés peuvent fonctionner pour l'élucidation des comportements non-génomiques d'estrogène.

Mots-clés : Nur77, RXR γ , dopamine, parkinson, schizophrénie, SR1123, BRET, PCA-BRET, SUMOylation

Publications durant le doctorat

Qi B, Kujawa P, Toita S, Beaune G, Winnik FM, Phosphorylcholine-modified chitosan films as effective promoters of cell aggregation: correlation between the films properties and cellular response. Article publié dans le journal *Macromol. Biosci.*, 15 (2015), 490–500.

Miao Z, Kujawa P, Lau YT, Toita S, **Qi B**, Nakanishi J, Cloutier I, Tanguay JF, Winnik FM, Tuning the properties and functions of 17 β -estradiol-polysaccharide conjugates in thin films: impact of sample history. Article publié dans le journal *Biomacromolecules*. 13(2012), 4098-4108.

Qi B, Shimizu Y, Nakanishi J, Winnik FM, Estradiol-tethered micropatterned surfaces for the study of estrogenic non-genomic pathways. Article soumis au journal *Chem. Commun.*

Qi B, Qiu XP, Nakanishi J, Winnik FM, Synthesis, characterization and biological study of estrogen grafted chitosan phosphorylcholine polymer conjugates. En préparation.