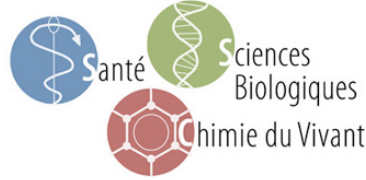




ECOLE DOCTORALE SSBCV



**Année 2017-2018 - Demande d'allocation doctorale  
ED Santé, Sciences Biologiques et Chimie du Vivant (SSBCV) n°549**

**1. Informations administratives :**

Nom de l'encadrant responsable de la thèse : Dr DEBIERRE-GROCKIEGO Françoise  
Unité : UMR Infectiologie et Santé Publique (ISP) 1282  
Equipe : BioMédicaments AntiParasitaires (BioMAP)  
Filière de rattachement : B  
Email de l'encadrant : francoise.debierre@univ-tours.fr

Co-encadrant éventuel (limité à 1 seul co-encadrant(e)) : Dr di TOMMASO Anne

**2. Titre de la thèse : Immunothérapie de la toxoplasmose par des conjugués anticorps-médicament (ADC)**

**3. Résumé :**

La toxoplasmose, maladie parasitaire due au protozoaire intracellulaire obligatoire *Toxoplasma gondii*, demeure un véritable problème de santé publique à forts impacts économique et sanitaire. Pouvant revêtir un caractère de grande sévérité sous forme de neurotoxoplasmose, de chorioretinite toxoplasmique ou bien encore de toxoplasmose congénitale, cette affection nécessite la mise en place de traitements médicamenteux à base de pyriméthamine, sulfadiazine, azithromycine ou spiramycine. Ces molécules non spécifiques du parasite ont une toxicité provoquant des effets secondaires graves et l'arrêt du traitement. Des progrès thérapeutiques restent à accomplir pour trouver de nouveaux traitements plus efficaces car plus spécifiques et moins toxiques.

Le projet de thèse repose sur une approche thérapeutique alternative en développant un conjugué anticorps-médicament ou ADC (Antibody-Drug Conjugate) dirigé spécifiquement contre le parasite. Nous avons développé différents fragments d'anticorps anti-*T. gondii* pourvus d'une activité neutralisante du parasite (**Brevet n°16/53206, octobre 2017**). En effet, dans un modèle murin de toxoplasmose oculaire, nous avons montré que ces fragments d'anticorps injectés par voie intra-vitréenne inhibent l'apparition de lésions oculaires. De même, dans un modèle de toxoplasmose congénitale, le traitement quotidien avec les fragments d'anticorps de souris gestantes infectées par le parasite permet d'atteindre 90% de survie des souriceaux contre 10% seulement en l'absence de traitement (**di Tommaso et al.**, en cours de rédaction). D'autre part, des imidazo[1,2-*b*]pyridazines inhibant une enzyme de *T. gondii* (*Tg*CDPK1) ont été chimiquement synthétisées au cours de la thèse d'Espérance Moine (**Moine et al., 2015**). Dans un modèle de toxoplasmose aiguë, un traitement par les imidazopyridazines diminue de plus 90% la charge parasitaire des souris infectées par rapport aux souris non traitées (**Moine et al.**, article en révision).

Notre hypothèse est que la combinaison des fragments d'anticorps aux imidazopyridazines pourrait être un gain thérapeutique pour la prise en charge de la toxoplasmose. La spécificité de notre fragment d'anticorps permettra de cibler le parasite et de vectoriser la molécule médicamenteuse qui lui est associée. Cette stratégie ciblée de

« killing » aurait ainsi l'avantage de réduire les quantités de molécules chimiques à administrer mais aussi les fréquences d'administration.

L'étudiant(e) devra développer de nouveaux fragments d'anticorps spécifiques de *T. gondii* et adaptés aux ADC. Ils seront caractérisés aux niveaux structural (chromatographie, western blot) et fonctionnel (reconnaissance de la cible par immunofluorescence et cytométrie). L'effet synergique des nouveaux fragments d'anticorps et des imidazopyridazines par rapport aux fragments et aux molécules chimiques seuls sera évalué *in vitro* par l'inhibition de l'invasion/réplication des parasites dans des cellules hôtes et *in vivo* par la diminution de la charge parasitaire dans un modèle de toxoplasmose aigüe. En parallèle, les ADC constitués des imidazopyridazines et des fragments d'anticorps seront produits par la société McSAF (Tours) qui maîtrise la technique de bioconjugaison. Après caractérisations structurale et fonctionnelle des ADC, leur effet contre *T. gondii* sera évalué *in vitro* et *in vivo* dans un modèle de toxoplasmose aigüe puis dans un modèle de toxoplasmose congénitale à des concentrations et/ou des fréquences d'administration inférieures à celles des fragments et imidazopyridazines seuls.

#### 4. Résumé en anglais :

Toxoplasmosis, due to the intracellular protozoan parasite *Toxoplasma gondii*, is a public health problem with high economic and healthcare impacts. Treatment of severe forms (cerebral, ocular, and congenital) of toxoplasmosis is based on pyrimethamine, sulfadiazine, azithromycin, or spiramycin. These molecules are not specific to the parasite and the treatment might be stopped because of side effects due to their toxicity. Therapeutic advance should be done to develop new treatments with higher specificity leading to better efficiency associated to lower toxicity.

Our project of therapeutic alternative is the development of specific anti-*T. gondii* ADC (Antibody-Drug Conjugates). We have developed different antibody fragments presenting neutralising activity against *T. gondii* (**Patent n°16/53206, October 2017**). Indeed, when injected by the intra-vitreous route, these antibody fragments strongly reduced ocular lesions in a mouse model of ocular toxoplasmosis. In a mouse model of congenital toxoplasmosis where only 10% of offspring survived, daily treatment of pregnant mice with antibody fragments led to 90% survival of offspring (**di Tommaso et al.**, in redaction). Furthermore, chemically synthesized imidazo[1,2-*b*]pyridazines (**Moine et al., 2015**) targeting the *T. gondii* kinase TgCDPK1, were responsible for more than 90% reduction of parasite burden in a mouse model of acute toxoplasmosis (**Moine et al.**, in revision).

Our hypothesis is that combining antibody fragments and imidazopyridazines would be a therapeutic gain to cure toxoplasmosis. The specificity of the antibody fragments will target the parasite and will enable vectorisation of associated therapeutic molecules. This strategy of targeted killing should have the advantage to reduce the amounts of administered chemical molecules but also to reduce the frequency of their administration.

The student will develop new antibody fragments specific to *T. gondii* and adapted to ADC. They will be characterized at the structural (chromatography, western blot) and functional (recognition of the target by immunofluorescence and flow cytometry) levels. Synergy of antibody fragments and imidazopyridazines compared to fragments and imidazopyridazines alone will be evaluated *in vitro* by the inhibition of invasion/replication of parasites in host cells as well as *in vivo* by the reduction of parasite burden in a model of acute toxoplasmosis. In parallel, ADC constituted of antibody fragments and imidazopyridazines will be produced by the start-up McSAF (Tours) skilled in bioconjugaison. After structural and functional characterizations, efficiency of ADC against *T. gondii* will be evaluated *in*

*vitro* and *in vivo* in models of acute and congenital toxoplasmosis at lower concentrations and/or frequencies than fragments and imidazopyridazines alone.