La lumière pourrait-elle traiter le cancer par interactions « lumière-vivant » ?

Guillaume GARCIA, Philippe MAILLARD
UMR 176 CNRS-Institut Curie, Institut Curie, Centre universitaire Paris-Sud, 91405 Orsay, France
philippe.maillard@curie.u-psud.fr

Depuis plusieurs milliers d'années, la lumière qu'elle soit naturelle ou artificielle a été utilisée comme traitement pour certaines maladies de la peau, des yeux ou contre le cancer. Ce n'est qu'au début du 20e siècle que la science s'est intéressée aux interactions « lumière-vivant ». La compréhension de l'action conjuguée, dénommée « photothérapie dynamique », d'un médicament non toxique à l'obscurité, de l'oxygène et de la lumière a permis de mettre au point un protocole d'éradication de tumeurs bénignes ou malignes et d'anomalies vasculaires. Depuis environ 30 ans, on voit apparaître un grand nombre de nouvelles molécules photoactivables de plus en plus efficaces. Peu de molécules photosensibles ont encore atteint le stade clinique, mais les résultats publiés dans la littérature scientifique montrent que la photothérapie dynamique a un avenir certain.

La thérapie photodynamique

Les différents effets thérapeutiques de la lumière

Les effets thérapeutiques de la lumière sont connus depuis plusieurs millénaires ; une exposition au soleil en présence ou non d'extraits naturels de plantes pour traiter des affections cutanées a longtemps été pratiquée en Égypte, en Inde ou en Chine.

Il est possible de classer ces activités curatives selon trois axes.

– L'*héliothérapie* et la *photothérapie* utilisent uniquement les effets directs de la lumière naturelle ou artificielle (traitement du rachitisme, du vitiligo ou d'infections mycobactériologiques).

– La *photochimiothérapie* implique l'utilisation d'un médicament activable par la lumière (traitement du psoriasis par PUVA, thérapie consistant en l'irradiation du corps par les rayons ultraviolets A, après la prise d'un médicament photosensibilisant de la famille des psoralènes).

– La *photothérapie dynamique* ou *photochimiothérapie dynamique* conjuguant l'action d'une molécule non toxique par elle-même, qui, excitée par une lumière visible, peut soit retourner à l'état fondamental par fluorescence permettant un diagnostic, soit générer des espèces très toxiques, telles que l'oxygène singulet $^1O_2$, issues de l'oxygène moléculaire, par transfert d'énergie.

L'histoire de la PDT

Actuellement, une des principales applications de l'interaction « lumière-vivant » concerne la thérapie photodynamique (PDT) comme traitement d'affections localisées en cancérologie et en ophtalmologie [1]. Le terme de PDT a été introduit au début du siècle dernier lorsque Raab (Munich University) rapporta l'effet toxique de l'association d'un colorant, l'acridine, et de la lumière solaire sur la paramécie. La première utilisation en cancérologie humaine est due à von Tappeiner et Jesionek (Munich) qui, en 1903, traitèrent des tumeurs de la peau par une application d'éosine suivie d'une exposition à la lumière. L'ère moderne de la PDT commence en 1960 avec les travaux de Lipson et Baldes (Rochester, Minnesota, USA) qui mirent en évidence les propriétés photodynamiques, et la capacité à se concentrer dans les tissus tumoraux, d'un mélange de colorants (*hematoporphyrin derivative* ou HpD) obtenu à partir du sang séché par un traitement à l'acide sulfurique. Le mécanisme par lequel le HpD s'accumule de manière relativement sélective dans les tissus tumoraux a fait l'objet de nombreuses études, mais demeure encore très mal compris. Les applications cliniques en cancérologie ont été initiées dès 1972 par Diamond, les développements les plus rationnels étant réalisés par Dougherty et son équipe (Buffalo, USA). C'est seulement aujourd'hui que de vraies perspectives semblent s'ouvrir à ce protocole thérapeutique [2].

Une irradiation sélective

Les avantages majeurs de la PDT résident dans sa relative sélectivité vis-à-vis des cellules tumorales et ses faibles effets secondaires. La lumière et le colorant sont dénués de toute toxicité intrinsèque et seules les zones ayant accumulé le photosensibilisateur et recevant de la lumière subissent l'effet toxique. La rétention sélective du colorant par les cellules cancéreuses est réelle et, bien que le différentiel entre tissu sain et tissu cancéreux soit relativement limité, il est suffisant pour que l'effet cytotoxique se manifeste essentiellement sur les cellules malignes. La PDT est basée sur cette différence de concentration du photosensibilisateur entre les cellules saines et tumorales et sur l'irradiation sélective de la zone tumorale par une lumière visible (*figure 1*).

Une technique en pleine évolution

La PDT entraîne moins de traumatisme pour le malade que les traitements standards et se présente souvent comme la

Article disponible sur le site http://www.photoniques.com ou http://dx.doi.org/10.1051/photon/201364043

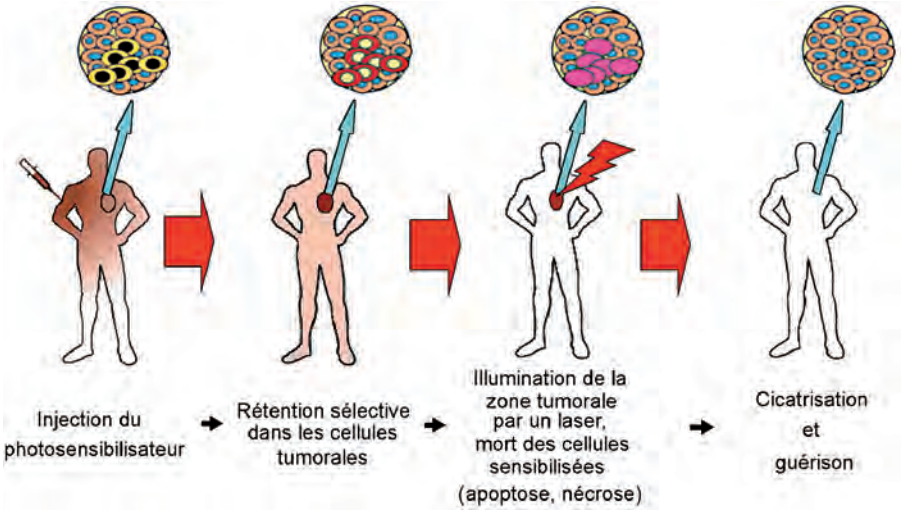

Figure 1. Principe de la photothérapie dynamique.

dernière option possible. Son caractère non invasif et son pouvoir cicatrisant la positionnent comme une alternative dans le traitement du cancer de la peau et d'autres lésions dermiques. La PDT peut être réitérée sans accumulation d'effets secondaires.

Malgré ces aspects attractifs, le très faible nombre de photosensibilisateurs disponibles cliniquement avec autorisation à un niveau mondial apparaît comme un verrou. Le développement de nouveaux agents photoactivables, indispensable à l'essor de la PDT, doit prendre en compte plusieurs paramètres dont l'importance relative dépend des mécanismes moléculaires de la photosensibilisation, du mode de transport des photosensibilisateurs, du franchissement des barrières membranaires, de la localisation intracellulaire déterminant les sites d'action primaire de la PDT et de la biodistribution tissulaire.

Les stratégies anticancéreuses actuelles tendent à s'orienter vers l'élaboration de molécules « hybrides », composées d'un principe actif photo-activable associé à un module de reconnaissance spécifique de la cellule tumorale à détruire. La conjugaison d'un photosensibilisateur avec des modules d'adressage (sucres, ligands, peptides, anticorps…) ayant une affinité particulière pour des récepteurs membranaires surexprimés à la surface des cellules tumorales induit une augmentation significative et sélective de l'incorporation dans les cellules tumorales, et donc de l'activité photodynamique.

En outre, la PDT est efficace dans le traitement de lésions à haut risque de carcinomes intramuqueux sur œsophage de Barrett, voire dans des pathologies bénignes comme la DMLA (dégénérescence maculaire liée à l'âge). Les progrès considérables réalisés dans les domaines des sources lumineuses (lasers conventionnels, diodes lasers, fibres optiques et systèmes diffuseurs de lumière) ont donné à cette thérapie les moyens d'un fort développement pour le traitement d'affections localisées.

Les colorants naturellement présents dans les tissus humains, la mélanine, l'hémoglobine, l'oxyhémoglobine et l'eau, absorbent les rayons lumineux en fonction de leur couleur. Il existe une zone où ces colorants n'absorbent que très peu, entre 650 et 1050 nm (zone rouge au proche infrarouge appelée fenêtre physiologique de transparence). Comme il est montré dans la *figure 2*, la profondeur de pénétration de la lumière dans les tissus dépend de la couleur du faisceau lumineux, ainsi la meilleure pénétration est obtenue entre 650 et 800 nm (rouge profond).

Les photosensibilisateurs

Limitation des composés actuellement en clinique

Le HpD ou le Photofrin® sont des mélanges complexes contenant plusieurs constituants, parmi lesquels on ne connaît pas le véritable produit actif. Ces photosensibilisateurs se concentrent en partie dans la tumeur mais aussi dans les tissus riches en composants réticulo-endothéliaux. Les patients ayant reçu le HpD restent sensibles à la lumière ambiante pendant plusieurs semaines après l'injection. Ce phénomène est dû à une lente élimination du colorant des tissus sains, et en particulier de la peau induisant des dommages cellulaires pour ces tissus. La principale limitation de l'HpD et du Photofrin® est leur spectre d'absorption de la lumière qui est caractérisé par une bande très intense dans le bleu et quatre bandes de plus faible intensité (10 à 20 fois moins intenses) vers 500, 540, 570 et 630 nm, correspondant respectivement au vert, jaune puis rouge. Bien que l'absorption à 630 nm soit la plus faible, limitant fortement l'action photodynamique du colorant, c'est elle qui est utilisée en PDT afin de permettre une excitation du colorant aussi profonde que possible dans les tissus, permettant l'éradication de tumeurs d'environ 5 à 6 mm.

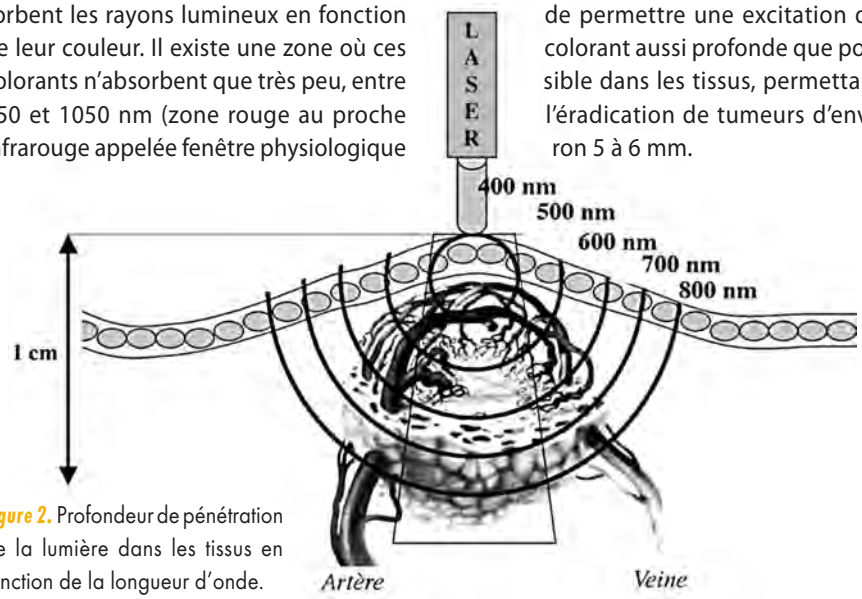

Figure 2. Profondeur de pénétration de la lumière dans les tissus en fonction de la longueur d'onde.

Photosensibilisateurs utilisés en PDT

Un bon photosensibilisateur doit :

– être de structure chimique définie et de synthèse reproductible, transposable à une grande échelle avec un coût le plus faible possible ;

– être non cytotoxique à l'obscurité, se concentrer préférentiellement dans les cellules tumorales et être éliminé rapidement des tissus sains pour ne pas générer d'effets secondaires préjudiciables au patient ;

– posséder une photophysique compatible avec un fort rendement de formation de l'oxygène singulet. Il ne doit pas s'agréger dans le milieu cellulaire. L'agrégation des chromophores entraîne un transfert d'énergie entre les molécules en interaction conduisant à une forte diminution du rendement quantique de formation de l'état triplet et par conséquent du rendement quantique de formation de $^1O_2$;

– être stable vis-à-vis des enzymes circulantes et de la lumière d'irradiation afin d'atteindre les cellules tumorales cibles intactes et de ne pas être dégradé rapidement pendant l'illumination ;

– Posséder une forte absorption de la lumière rouge afin que l'effet thérapeutique de la PDT soit le plus profond possible.

Dérivés de seconde génération

Les photosensibilisateurs de seconde génération dont un cycle pyrrolique est réduit (Foscan® et Visudyne®) ont été développés afin de pallier les inconvénients inhérents à l'HpD. Ces molécules synthétiques, de structure chimique définie, possèdent un spectre d'absorption de la lumière optimisé permettant le traitement de tumeurs de taille plus importante mais n'ont aucune sélectivité intrinsèque vis-à-vis des cellules tumorales. Plusieurs composés ont obtenu une autorisation de mise sur le marché (Foscan® et Visudyne®) ou sont en cours d'évaluation (mono-L-aspartyl-chlorine e_6 – MACE, la N-aspartyl-chlorine e_6 – Npe$_6$-, l'étiopurpurine d'étain – Purlytin, et le Tookad®, voir *figure 3*). On peut classer, dans cette catégorie, les phtalocyanines, colorants de synthèse obtenus à partir de noyaux pyrroles condensés avec des cycles benzènes et possédant des ponts aza entre les unités pyrroliques (*figure 3*). Ces molécules absorbent très fortement la lumière entre 650 et 700 nm, peuvent facilement être métallées par le zinc ou le silicium, sont rendues solubles dans l'eau par greffage à leur périphérie de groupes sulfonés et n'ont qu'une faible affinité pour la peau.

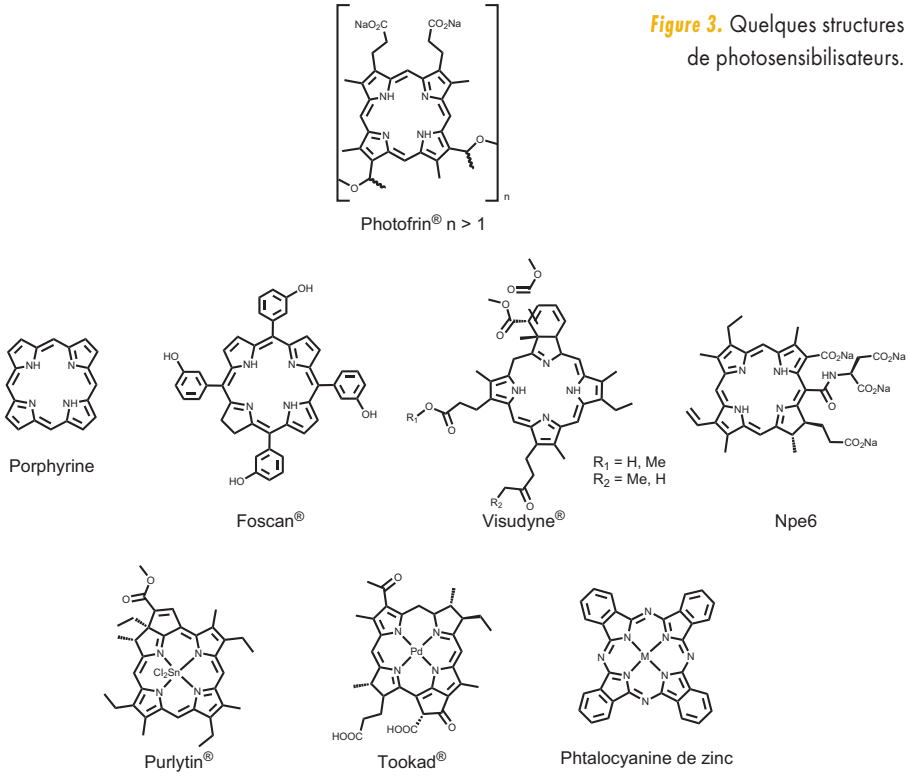

Figure 3. Quelques structures de photosensibilisateurs.

ScienTec

Le spectroradiomètre de référence

CS-2000

KONICA MINOLTA

Précision & performance

CARACTERISTIQUES

› Excellente fiabilité
› 3 angles de mesure (1°, 0.2°, 0.1°)
› Mesure rapide
› Haute sensibilité (mesure à partir de 0.003 cd/m² avec le CS-2000 et 0.0005 d/m² avec le CS-2000A)
› Mesure de contraste jusqu'à 1:100 000
› Mode autonome (avec écran de visualisation ou utilisation avec ordinateur par liaison USB)
› Mesures sur petites et grandes surfaces

Ecran LCD couleur
Espace de couleur
Opération simple

FOURNIT

› La luminance, la couleur
› Le spectre (380-780nm)
› La température de couleur
› La longueur d'onde dominante
› L'Indice de Rendu des Couleurs

ScienTec c'est aussi

Sources de référence
Vidéocolorimètres
Photomètres
Luxmètres
Chromamètres

info@scientec.fr / www.scientec.fr
01.64.53.27.00

Les photosensibilisateurs de seconde génération les moins solubles dans l'eau peuvent être injectés sous forme liposomale comme par exemple la visudyne ou la phtalocyanine de zinc.

Photosensibilisateurs ciblés de troisième génération

Bien que relativement sélectifs pour les cellules tumorales, les photosensibilisateurs actuels sont peu spécifiques, ce qui est un facteur limitant pour la mise en œuvre d'une PDT efficace. En dépit de nombreuses années de recherche, très peu de photosensibilisateurs sélectifs ont été identifiés. Le cancer n'est pas une maladie unique mais une famille de maladies, caractérisées par une prolifération anarchique de cellules, chaque tumeur ayant ses propres caractéristiques. Plusieurs voies de recherche vers un photosensibilisateur sélectif ont été développées faisant appel à un colorant sur lequel est fixée, souvent de façon covalente, une espèce chimique reconnue spécifiquement par un type de cellule tumorale.

En dépit de quelques résultats prometteurs, le ciblage par des anticorps ou immunociblage est encore peu utilisé en PDT. Mew et al. (Vancouver, British Columbia, Canada) ont été les premiers, en 1983, à mettre au point une molécule combinant l'HpD avec un anticorps monoclonal avec succès. L'équipe de Vrouenreats (Amsterdam, Hollande) a décrit en 1999, la préparation d'un dérivé du Foscan® conjugué à un anticorps monoclonal, et montré que ce couplage augmente l'activité photodynamique *in vitro*. Plusieurs autres systèmes de ciblage ont été décrits dans la littérature. Des transporteurs protéiques comme l'albumine et des lipoprotéines (LDL) ont été conjugués à un photosensibilisateur. Des groupes chimiques, ligands de récepteurs membranaires de cellules tumorales, ont été utilisés comme « vecteur » de reconnaissance de tumeurs. La conjugaison de l'estradiol, de l'EGF (*epidermal growth factor* ou facteur de croissance épidermique), de l'insuline, ou d'un tripeptide de type RGD…, avec un photosensibilisateur comme une porphyrine induit une augmentation nette de l'activité photodynamique.

Photosensibilisateurs glycoconjugués

Une façon de rendre le photosensibilisateur hydrophile ou hydrosoluble, est de le « décorer » de motifs hydrophiles comme des sucres. L'hydrophilie du photosensibilisateur est contrôlée par le nombre et le type de sucres fixés. Ceux-ci induisent une reconnaissance efficace du photosensibilisateur par les cellules tumorales surexprimant des récepteurs à sucre tels que des lectines [3]. Une porphyrine portant à sa périphérie trois groupes chimiques comportant des mannoses, conçue à l'Institut Curie, est reconnue par des cellules cancéreuses surexprimant, sur leurs membranes, des récepteurs spécifiques du mannose. L'addition de ce sucre augmente notablement l'activité du photosensibilisateur que ce soit *in vitro* ou *in vivo*. Actuellement cette molécule est en essai préclinique pour un traitement innovant par PDT d'une maladie rare du jeune enfant (rétinoblastome). L'intérêt d'un tel traitement non mutagène réside dans ses faibles effets secondaires par une élimination très rapide du photosensibilisateur des cellules saines (inférieure à 48 heures), sa non-toxicité et sa forte activité photodynamique.

Perspectives

De nombreux photosensibilisateurs de seconde ou troisième génération sont publiés, mais très peu sont approuvés pour une utilisation clinique. Les développements les plus récents sont orientés vers la conception et l'étude de photosensibilisateurs ciblés vers plusieurs cancers en fonction de leurs particularités biologiques. Un second axe de recherche, en plein essor, consiste à détruire sélectivement les néovaisseaux alimentant en nutriments la tumeur afin de l'éradiquer par manque de ressources énergétiques ou oxygénées. C. Frochot et son équipe développent, à Nancy, des photosensibilisateurs ciblant les vaisseaux angiogéniques tumoraux par l'intermédiaire d'une interaction spécifique entre un peptide fixé sur le photosensibilisateur et la neuropilline surexprimée par les cellules endothéliales des néo-vaisseaux. La PDT avec ce type de composé induit une thrombose des vaisseaux sanguins alimentant la tumeur et par conséquence la destruction de la tumeur.

Les mécanismes réels mis en jeu lors de la photothérapie ne sont actuellement que partiellement compris ce qui freine le développement de molécules plus efficaces et plus sélectives. Le cancer n'étant pas une maladie unique mais plutôt un ensemble de maladies, il semble très difficile de concevoir un photosensibilisateur ciblé unique et universel.

Grâce aux lasers à impulsions ultrabrèves, des intensités lumineuses considérables brièvement imposées à la matière déclenchent des effets non linéaires (non proportionnels à l'intensité excitatrice). Ces effets efficaces uniquement au point focal du faisceau permettent l'excitation de photosensibilisateur par deux photons simultanés d'énergie moitié. Il devient possible de diriger un faisceau proche-infrarouge très pénétrant (quelques cm) en un point de quelques centaines de micromètres ouvrant la voie à une photothérapie à deux photons, profonde et très localisée.

Une voie très récente, représentant une approche alternative à la PDT conventionnelle, est basée sur une excitation de l'oxygène présent dans toutes les cellules, par un laser émettant à 1270 nm, permettant de produire l'oxygène singulet dans les cellules illuminées sans photosensibilisant. Il a été montré que cette production d'oxygène singulet est suffisante pour assurer la mort de cellules cancéreuses du sein [4].

Références

[1] H. Stepp. Principes d'application clinique de la photothérapie dynamique. Acta Endoscopica 33, 493-509, 2003.

[2] D. Dolmans, D. Fukumura, R.K. Jain. Photodynamic therapy for cancer. Nature Rev. Cancer 3, 380-386, 2003. Brown, Brown E., Walker I. The present and future role of photodynamic therapy in cancer treatment. The Lancet Oncol. 5, 497-508, 2004.

[3] S. Ballut, A. Makky, B. Chauvin, J.-P. Michel, A. Kasselouri, Ph. Maillard, V. Rosilio. Tumor targeting in photodynamic therapy. From glycoconjugated photosensitizers to glycodendrimeric one. Concept, design and properties. Org. Biomol. Chem. 10, 4485, 2012.

[4] F. Anquez, I. El Yazidi-Belkoura, S. Randoux, P. Suret, E. Courtade. Cancerous Cell Death from Sensitizer Free Photoactivation of Singlet Oxygen. Photochem. Photobiol. 88, 167–174, 2012.