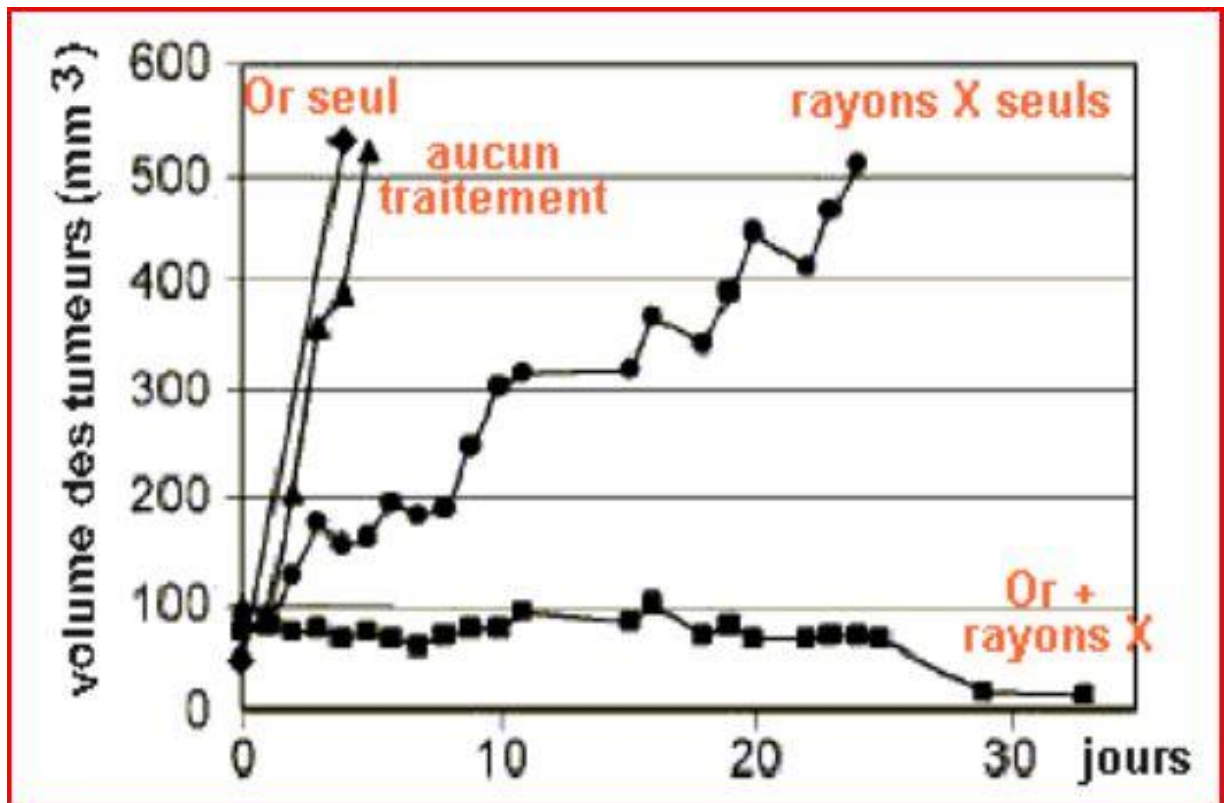




**Figure 44:** Evolution du volume des tumeurs en fonction du traitement administré [202].

### III. Nanoparticules et thérapie photodynamique:

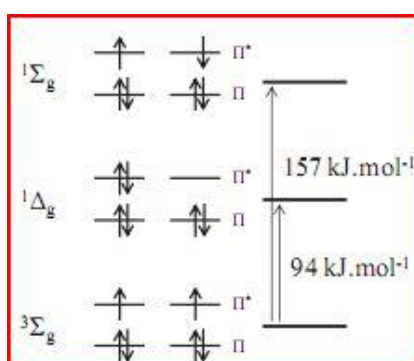
#### III.1 Définition et mécanisme de la thérapie photodynamique :

La thérapie photodynamique (PDT pour PhotoDynamic Therapy) est un traitement anti-tumoral utilisé cliniquement qui se base sur l'association d'une molécule photosensibilisatrice et de la lumière pour induire la mort des cellules cancéreuses.

La molécule photosensibilisatrice est injectée au patient puis s'accumule plus ou moins préférentiellement dans les cellules cancéreuses. La zone tumorale est alors exposée à une autre lumière de longueur d'onde appropriée pour exciter le photosensibilisateur utilisé. Le photosensibilisateur génère alors des espèces

réactives de l'oxygène, en particulier du dioxygène à l'état de spin singulet, le  $^1\text{O}_2$  [203, 204].

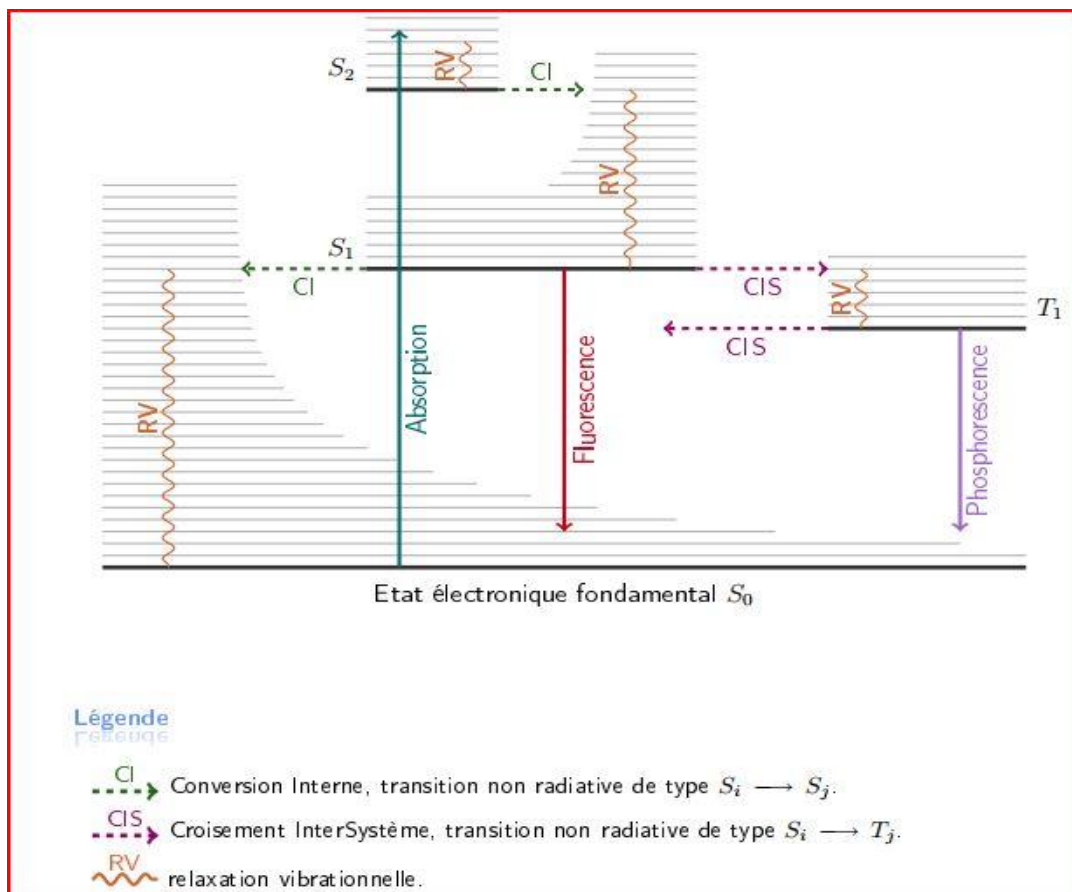
Le dioxygène à l'état fondamental est à l'état de spin triplet du fait des deux électrons célibataires présents dans deux orbitales dégénérées  $\Pi^*$ . Ses deux premiers états excités sont des états singulets (**figure 45**). Les transitions entre l'état fondamental et les deux premiers états excités sont interdites de spin. Il est donc difficile d'exciter directement le dioxygène pour qu'il passe dans son état singulet [203].



**Figure 45:** Schémas des trois premiers états d'énergie du dioxygène  $^1\Sigma_g$ ,  $^3\Sigma_g$  et  $^1\Delta_g$  avec leurs configurations électroniques [203].

L'utilisation d'un photosensibilisateur permet néanmoins de former de manière efficace du  $^1\text{O}_2$ . La lecture du diagramme de Jablonski-Perrin présenté sur la figure 46 permet d'expliquer les processus photophysiques et photochimiques mis en jeu. Lorsque le photosensibilisateur absorbe l'énergie fournie par l'irradiation lumineuse, il passe dans un état excité ( $S_n$ ). La molécule va tendre à revenir dans son état fondamental en émettant de l'énergie selon différents processus :

- En transférant l'énergie à une autre molécule par collision
- En convertissant l'énergie en chaleur
- En émettant un photon (fluorescence ou phosphorescence)



**Figure 46** : Diagramme de Jablonski-Perrin [204].

Après absorption d'un photon d'énergie  $h\nu$  appropriée, le photosensibilisateur, initialement à l'état fondamental  $S_0$ , va passer à un état excité ( $S_1$ ,  $S_2$ ...  $S_n$ ). Par une succession de relaxations vibrationnelles et de conversions inter systèmes, il va se retrouver dans l'état singulet excité de plus basse énergie  $S_1$ . Cet état  $S_1$  a une durée de vie très courte, de l'ordre de  $10^{-10}$  s à  $10^{-7}$  s. A partir de ce moment là, deux chemins sont possibles pour revenir à l'état fondamental  $S_0$  : soit il y a émission d'un photon par fluorescence, soit il y a conversion inter système vers l'état triplet  $T_1$ . Cet état  $T_1$  possède une durée de vie plus longue, de l'ordre de  $10^{-6}$  à 1 s. Le photosensibilisateur peut alors revenir vers  $S_0$  soit par émission de phosphorescence, soit en interagissant avec les molécules du milieu par deux types de Photoréactions :

- Photoréactions de type I :

Le photosensibilisateur à l'état triplet va réagir directement avec le substrat cellulaire par transfert d'électrons, de protons ou par formation de radicaux. Ce mécanisme est celui invoqué lorsque les photosensibilisateurs sont des complexes métalliques (cobalt (III), nickel (II), ruthénium (II) par exemple) [205, 206].

- Photoréactions de type II :

La plupart des photosensibilisateurs utilisés en PDT, en particulier les porphyrines, agissent selon un mécanisme de photoréaction de type II. L'état triplet  $T_1$  transfère son énergie au dioxygène. Si cette énergie est suffisante alors celui-ci peut passer à l'état singulet  $^1O_2$ . Lors de l'excitation du dioxygène, deux états d'énergie sont accessibles (**figure 45**). L'état  $^1\Sigma_g$  a une durée de vie extrêmement courte (inférieure à la nanoseconde) et se désexcite immédiatement vers l'état  $^1\Delta_g$ . C'est cet état de l'oxygène alors appelé oxygène singulet ou  $^1O_2$  qui est responsable de la mort des cellules cancéreuses. Sa durée de vie en milieu aqueux est d'environ 2 à 3  $\mu s$ .

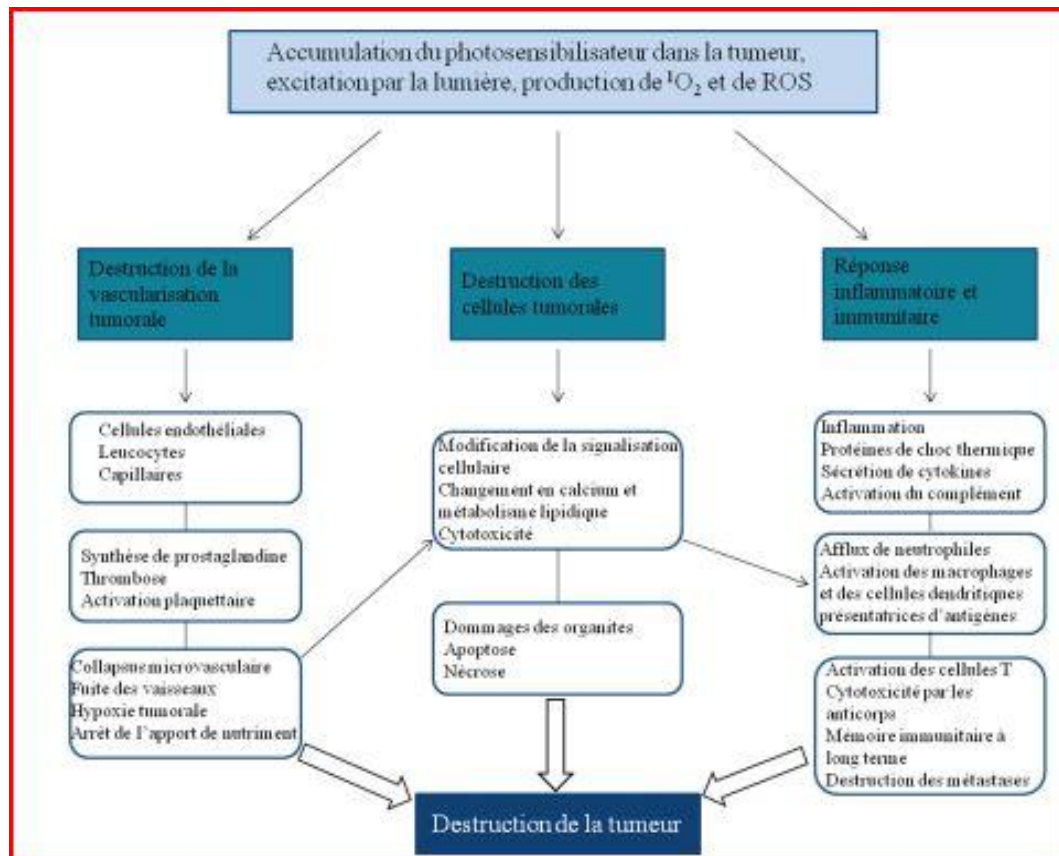
Dans le cytoplasme, sa durée de vie diminue à 100 ns à cause de sa grande réactivité. Son rayon d'action maximal a été estimé à 30 nm [207]. Il ne peut donc pas diffuser vers des cellules non cancéreuses avant de réagir.

Le  $^1O_2$  peut réagir avec de nombreux substrats cellulaires comme les acides aminés (tryptophane, tyrosine, histidine, méthionine et cystéine sont particulièrement réactifs avec le  $^1O_2$ ), les nucléosides constituant l'ADN (principalement la guanine) ou encore les lipides insaturés [208]. Ces réactions mènent à trois voies d'éradication de la tumeur (**figure 47**) [209-211]:

- Les cellules tumorales vont être détruites directement par nécrose ou par apoptose, deux voies menant à la mort de la cellule. La réaction du  $^1O_2$  avec ses substrats va aboutir à la destruction des organites ainsi qu'à la

destruction des membranes plasmiques, et entraîner la nécrose de la cellule. La réaction du  $^1\text{O}_2$  dans les mitochondries va entraîner un relargage du cytochrome c, suivi de l'activation des cascades qui entraîne l'apoptose de la cellule,

- La vascularisation de la tumeur va être détruite, ce qui prive la tumeur de l'oxygène et des nutriments nécessaires à sa survie et sa croissance,
- L'induction d'une réponse inflammatoire et immunitaire du patient contre les cellules cancéreuses entraîne un mécanisme de défense interne du patient, en particulier contre métastases qui pourraient se former.



**Figure 47:** Différentes voies de destruction de la tumeur lors du traitement PDT [210].

### III.2 Exemple de nanoparticules utilisées en thérapie photodynamique :

La PDT est un traitement prometteur contre le cancer, cependant il existe encore de nombreux problèmes à son utilisation. Malgré l'affinité de certains agents photosensibilisateurs vis-à-vis des tumeurs, il n'y a en général pas d'accumulation préférentielle dans les cellules cancéreuses. L'agent photosensibilisateur s'accumule aussi dans les tissus sains, entraînant à la fois la diminution de son effet thérapeutique sur la tumeur, et des effets secondaires sous la forme d'une grande photosensibilité générale du patient. Le ciblage de l'agent photosensibilisateur spécifiquement vers la tumeur est donc indispensable à l'efficacité de la thérapie. Pour cela plusieurs voies sont investiguées:

- Le couplage des molécules photosensibilisatrices directement à des agents de ciblage capables de reconnaître des récepteurs spécifiques présents sur les cellules cancéreuses (ciblage actif);
- L'encapsulation des agents photosensibilisateurs dans des nanoparticules avec leur accumulation dans la tumeur par effet EPR (ciblage passif).

Il est également possible de coupler ces deux approches en encapsulant l'agent photosensibilisateur dans des nanoparticules fonctionnalisées capables elles-mêmes de cibler de façon active les cellules cancéreuses. Certains nanomatériaux sont de plus capables d'agir eux même comme agents photosensibilisateurs et ainsi soit remplacer la molécule photosensibilisatrice soit augmenter son effet .

#### ❖ **Nanoparticules encapsulant des molécules photosensibilisatrices:**

La plupart des matériaux étudiés en tant que nanovecteurs pour la vectorisation de principes actifs ont été étudiés également pour la vectorisation d'agents photosensibilisateurs. Le premier exemple que l'on peut citer est l'utilisation de liposomes. Lasalle et al. ont étudié des liposomes de DPPC/DPPG encapsulant des molécules de Foscan<sup>®</sup>, photosensibilisateur utilisé cliniquement [212].

Ils ont observé une accumulation près de 4 fois supérieure à l'accumulation du Foscan<sup>®</sup> administré libre. D'autres types de systèmes à base de liposomes ont été étudiés, comme les Visudyne<sup>®</sup>, composés de lipides plus fluides, qui relarguent l'agent photosensibilisateur plus rapidement. Cependant les liposomes ont tendance à disparaître très rapidement de la circulation sanguine soit à cause du système réticuloendothélial, soit par désintégration due à des échanges avec les lipoprotéines du plasma sanguin [213].

Les micelles de polymères ont également été étudiées pour l'encapsulation et la vectorisation d'agents photosensibilisateurs. La plupart des études se

concentrent sur l'utilisation du PLA (polylactique acide) et du PLGA (polylactique-co-glycolique acide) qui sont des polymères biocompatibles et biodégradables [213, 214]. Augmenter le ratio molaire de glycolide dans les copolymères permet d'augmenter sa vitesse de biodégradation.

Vargas et al ont montré que l'encapsulation de la tétrahydroxyphénylporphyrine dans des nanoparticules de PLGA conduisait à un plus grand effet photodynamique in vitro. Ils ont montré également que plus la taille des nanoparticules était importante (entre 100 nm, 300 nm et 600 nm), moins le traitement photodynamique était efficace [213 - 216].

Hone et al. sont les premiers à suggérer l'utilisation de nanoparticules d'or conjuguées à des agents photosensibilisateurs (ex : phtalocyanines) en PDT [217, 218].

Depuis lors, de nombreuses études ont été menées dans lesquelles différents types de photosensibilisateurs sont encapsulés dans différents types de nanoparticules d'or, et montrent l'efficacité accrue du traitement du PDT par rapport à l'utilisation du photosensibilisateur seul [219-221].

Enfin un autre matériau très étudié pour la vectorisation d'agents photosensibilisateurs pour des applications en PDT est la silice [222, 223]. Les nanoparticules de silice mésoporeuse sont chimiquement inertes, facilement fonctionnalisables, leur taille, leur forme, leur texture sont facilement contrôlées durant leur préparation. Différents photosensibilisateurs ont été encapsulés de façon covalente ou non dans les nanoparticules. Plus récemment, l'étude de nanoparticules de silice mésoporeuse vectorisant des agents photosensibilisateurs excitable en lumière biphotonique a également été présentée [224, 225].

#### ❖ Nanoparticules capables de produire du $^1\text{O}_2$ :

Certains matériaux sont capables, sans ajouter de molécules photosensibilisatrices, de produire du  $^1\text{O}_2$ , et présentent ainsi un potentiel en

thérapie photodynamique. Il a été montré que le  $\text{TiO}_2$  et les Quantum Dots (QD) de sélénure de cadmium CdSe pouvaient générer du  $^1\text{O}_2$  [226-230].

Leur utilisation résout le problème d'une fuite précoce du photosensibilisateur encapsulé avant d'atteindre la tumeur. Cependant, ces matériaux posent des problèmes de biodégradabilité et leurs sous-produits de dégradation sont toxiques [229; 231, 232]. De plus, leur rendement quantique de génération de  $^1\text{O}_2$  est relativement bas. Leur étude en thérapie photodynamique a donc été mise de côté [228].

Par ailleurs, le silicium poreux, préparé à partir de silicium semi-conducteur, est un matériau biocompatible et biodégradable et est également capable de générer  $^1\text{O}_2$ . L'utilisation de nanoparticules de silicium poreux en PDT a commencé à être étudiée [233-235].

#### **IV. La technologie nanoXray<sup>TM</sup> appliquée à la radiothérapie**

##### **IV.1. La radiothérapie : un besoin d'innovation radicale**

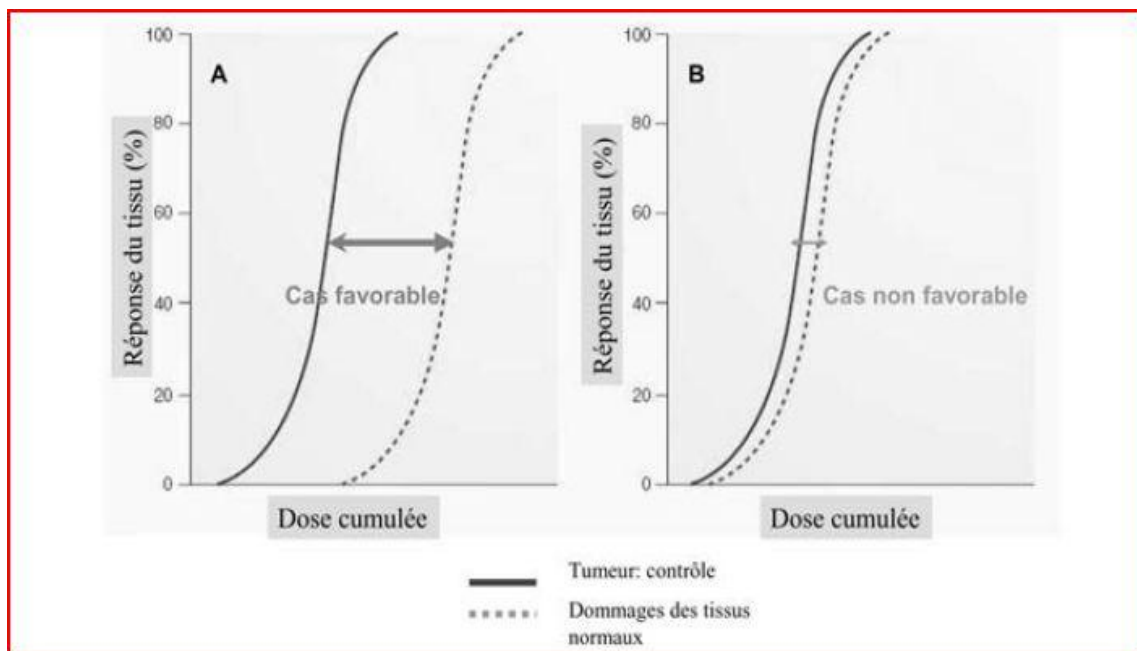
Actuellement, la pratique en radiothérapie reste essentiellement pragmatique, fondée par son effet sur un type de cancer déterminé, mais elle est fondamentalement limitée par la radiosensibilité des tissus sains entourant la tumeur ciblée.

Même après un siècle d'utilisation en clinique, le régime optimal de fractionnement de la dose totale n'est pas encore clairement défini. L'incidence des réactions sévères dépend de la dose totale de radiation, de la dose délivrée par fraction, du temps de traitement total, du type de faisceau utilisé, de l'énergie et de l'aire de surface de la peau ou du volume corporel exposés aux radiations [236]. Par exemple, les dommages occasionnés aux organes tels que la moelle épinière sont d'une importance capitale, à cause de la non-réparation des tissus sains lésés et des séquelles potentiellement sévères. Ou encore, la

faible tolérance de l'intestin grêle réduit d'autant la quantité de radiations qui peut être administrée à des organes proches, tels que le pancréas et les reins.

Au cours du temps, l'exposition des tissus sains aux radiations peut générer des dommages cumulatifs et cela limite les possibilités futures de traitement du patient par radiothérapie. Il est d'ailleurs reconnu que l'association d'une chimiothérapie à la radiothérapie (chimio-radiothérapie) a pour effet d'augmenter les effets secondaires du traitement.

La **figure 48** montre l'ouverture de la fenêtre thérapeutique en ce qui concerne la dose cumulée grâce à laquelle la radiothérapie opère : plus la tumeur est radiosensible et plus large sera la fenêtre thérapeutique ; inversement, plus le tissu sain voisin sera radiosensible, plus grand sera le risque de dommage permanent.



**Figure 48** : L'index thérapeutique [236].

La plateforme nanoXray<sup>TM</sup> est basée sur une technologie conçue pour permettre la destruction des cellules cancéreuses grâce à des nanoparticules inertes. Un nouveau moyen d'action est ainsi proposé, utilisé seul ou associé avec d'autres protocoles anticancéreux existants (chimiothérapie, chirurgie, molécules cibles et immunothérapie).

Les particules nanoXray<sup>TM</sup> sont destinées à être activées par des rayons X conventionnels, après leur accumulation dans la tumeur. Il est attendu que l'efficacité du traitement soit proportionnelle à la durée de l'activation de ces particules et au nombre de séances de radiothérapie.

La plupart des tumeurs solides possèdent des caractéristiques pathophysiologiques uniques qui ne sont pas observées dans les tissus ou les organes sains, comme, par exemple, l'augmentation de la perméabilité des vaisseaux et de l'effet de rétention (*Enhanced Permeability and Retention (EPR) effect*) des lipides et des agents macromoléculaires, qui vont permettre l'accumulation des nanoparticules nanoXray<sup>TM</sup> dans la masse tumorale. Une fois les nanoparticules nanoXray<sup>TM</sup> accumulées dans la tumeur, un rayonnement X standard est appliqué en vue de générer une destruction cellulaire massive et ciblée à l'intérieur de la structure tumorale. Ce mécanisme suggère la possibilité d'un contrôle total de l'effet thérapeutique désiré.

En résumé, l'utilisation des produits nanoXray<sup>TM</sup> est proposée dans le but de résoudre le plus gros inconvénient de la radiothérapie : la délivrance d'une dose de radiations insuffisante pour éradiquer la tumeur, en raison de la proximité de tissus sains et de leur faible tolérance à ces radiations.

Le mécanisme d'action des nanoparticules activées par les rayons X, basé sur un effet physique et énergétique, constitue un dépôt local d'une source d'énergie substantielle et ce, au cœur même des cellules malignes [236].

Le mode d'action des nanoparticules nanoXray<sup>TM</sup>, analogue à celui des radiations ionisantes, peut être décrit comme suit :