
PRINCIPES ET APPLICATIONS DE LA THERAPIE PHOTODYNAMIQUE (PDT) EN CANCEROLOGIE, OPHTALMOLOGIE ET CARDIOLOGIE

René Santus

Laboratoire de Photobiologie, Museum National d'Histoire Naturelle, 43
rue Cuvier 75231 Paris cedex 05 et Unité INSERM U 532,
Institut de la Peau, Hôpital Saint Louis, 1 Avenue Claude Vellefaux
75475 Paris cedex 10.
France
santus@mnhn.fr

ABSTRACT

The photodynamic therapy (PDT) by porphyrins is now at a turning point since it has been authorized by the Health Authorities of USA, Canada, Japan and EU for the treatment of tumors of lung, esophagus and skin and of macular degeneration encountered in elderly people. Phase III clinical trials for other applications such as re-stenosis after angioplasty are also underway. The transport of Photofrin II[®], the only drug presently authorized for tumor treatment, and its delivery to tumor cells and vasculature is a determinant of tumor necrosis. However, this treatment must be improved by increasing the selectivity of the photosensitizer uptake by tumors and also by using photosensitizers absorbing in the 660-800 nm range where tissues have the highest transmittance. These new photosensitizers (chlorins, phthalocyanins) should be rapidly excreted to avoid the only secondary effect of PDT: a long-lasting photosensitivity of patient skin.

RESUME

La photochimiothérapie photodynamique (PDT) par les dérivés de porphyrines est arrivée à un tournant important avec l'autorisation accordée par les auto-

rités sanitaires des EUA, du Canada du Japon et de pays de l'UE pour le traitement de tumeurs bronchiques, de l'oesophage ou des tumeurs cutanées et pour celui de la dégénérescence maculaire liée à l'âge. Des essais cliniques de phase III, pour éviter la re-sténose après angioplastie sont en cours. Les LDL et les processus d'endocytose au sein des vaisseaux tumoraux et des cellules malignes sont probablement impliqués dans l'accumulation sélective du seul photosensibilisateur présentement autorisé, le Photofrin II®. De nouveaux photosensibilisateurs (chlorines, phtalocyanines) absorbant dans la région 660-800 nm pour plus de pénétration lumineuse intra-tissulaire sont proposés. Leur sélectivité de rétention doit être améliorée et ils devront être rapidement excrétés pour éviter la photosensibilité rémanente extrêmement longue de la peau des patients traités par le Photofrin II®.

Mots-clés: photochimiothérapies, photosensibilisateurs, acide δ -aminolévulinique, LDL.

INTRODUCTION

La photochimiothérapie (PDT) repose sur l'activation par la lumière visible d'un photosensibilisateur qui a la propriété de s'accumuler dans les tumeurs solides ou d'autres tissus non malins en prolifération (reténose après angioplastie, dégénérescence musculaire liée à l'âge par exemple). Cette activation par les radiations lumineuses entraîne la photodestruction localisée des tissus malades bien oxygénés, sans toxicité généralisée comme celle observée dans les chimiothérapies anticancéreuses. A l'origine la PDT a été développée dans le but d'éradiquer les tumeurs solides. On note dans ce domaine le travail de pionnier réalisé par T. J. DOUGHERTY (1). Le premier produit qui a obtenu l'autorisation de la FDA aux Etats Unis et en Grande Bretagne, Allemagne, Hollande France, Italie et Suisse est un mélange de porphyrines appelé le « Photofrin II® ». Le principe du traitement est donné sur la

Fig. 1. Les sites anatomiques concernés sont ceux qui sont facilement accessibles à l'irradiation soit naturellement, soit par fibres optiques: les bronches, l'oesophage, la peau, le cerveau, les artères, les yeux. Bien que jusqu'à ces dernières années, la PDT n'ait été qu'un traitement palliatif en cancérologie, la plupart des tumeurs traitées ont répondu et des résultats incontestables ont été acquis. On a pu constater que la PDT peut être appliquée à des malades pour lesquels toutes les autres thérapies ont échoué sans ajouter une toxicité inacceptable et que le traitement peut être répété sans diminution d'efficacité et sans apparition d'une toxicité générale cumulative. Dans le cas des tumeurs bronchiques, la PDT donne des résultats très prometteurs puisque 50% des patients traités par PDT sont indemnes de tumeurs après cinq ans.

La véritable explosion des recherches entreprises dans le domaine de la PDT depuis vingt ans permet de des-

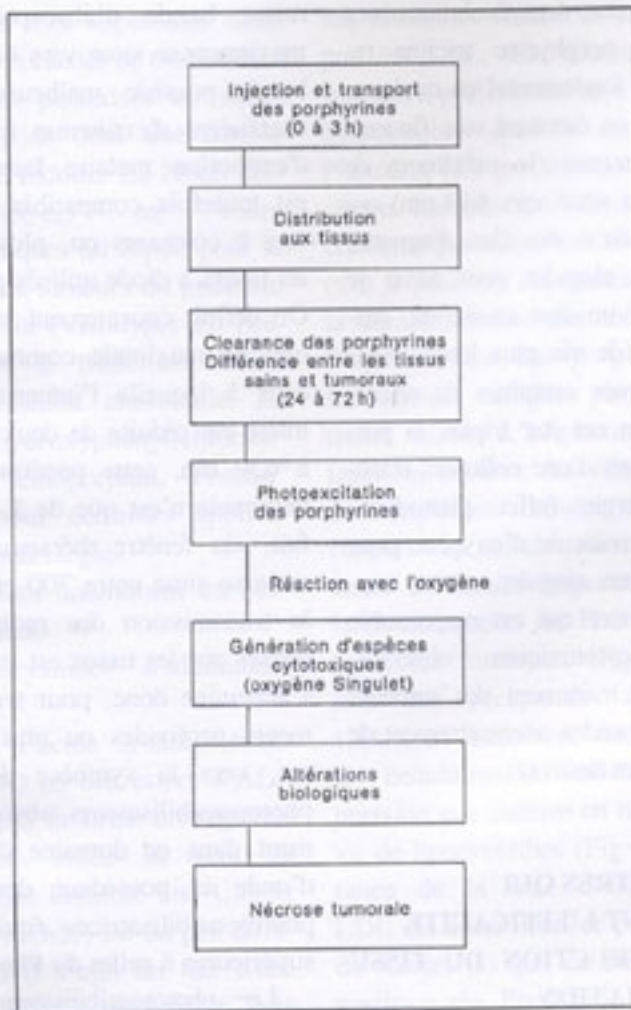


Fig. 1 - Principales étapes de la thérapie photodynamique.

ser le tableau des différents paramètres et mécanismes qui conditionnent une réponse biologique efficace à la PDT et les données nouvelles qui suggèrent des recherches fructueuses dans l'amélioration de la PDT (transport du photosensibilisateur, sélectivité du tissu tumoral vis-à-vis du tissu sain pour l'incorporation du photosensibilisateur, contrôle du seul effet secondaire de la PDT: la photosensibilité rémanente de la peau du patient pendant plusieurs semaines).

LES MECANISMES DE L'ACTION PHOTOSENSIBILISATRICE.

L'EFFET PHOTODYNAMIQUE.

L'excitation des porphyrines, accumulées par les cellules tumorales, à l'aide de radiations lumineuses de longueurs d'onde correspondant à leur spectre d'absorption-il s'étend jusqu'à 650 nm pour le Photofrin II® - fait passer ces molécules de l'état fondamental singulet non réactif à un état d'énergie supérieur appelé «état singulet excité».

A partir de cet état, deux évolutions sont possibles. La porphyrine excitée retourne à l'état fondamental en quelques nanosecondes, en émettant une fluorescence rouge intense (le maximum de fluorescence est situé vers 640 nm) qui peut être utilisée à des fins diagnostiques. Cet état singulet peut aussi se transformer en un état excité dit «triplet» de durée de vie plus longue (par exemple, quelques centaines de microsecondes). Dans cet état triplet, la porphyrine peut, lors d'une collision, transférer son énergie (effet photodynamique) à une molécule d'oxygène pour former l'oxygène singulet, entité oxydante très réactive qui est responsable des effets cytotoxiques observés. L'efficacité du traitement des tumeurs par la PDT dépendra nécessairement de l'oxygénation des tissus (2).

LES PARAMETRES QUI CONTIONNENT L'EFFICACITE DE LA DESTRUCTION DU TISSU EN PROLIFERATION

Deux paramètres sont importants

a) La pénétration lumineuse

Nous considérons le cas du Photofrin II[®] autorisé en applications cliniques. La transmission de la lumière à travers le tissu n'est possible, bien entendu, que pour des radiations non absorbées par les chromophores endogènes des tissus, en premier lieu l'oxyhémoglobine dont le pic d'absorption maximale dans le visible se situe à 574 nm. C'est pourquoi on doit exciter le Photofrin II[®] dans sa de-

mière bande d'absorption dont le maximum se situe vers 630 nm. Cette bande possède malheureusement un coefficient d'extinction molaire faible d'extinction molaire faible mais qui est toutefois compatible avec les lasers à colorants ou, plus récemment, les lasers à diode utilisés pour la PDT. On définit couramment la pénétration optique maximale comme la profondeur à laquelle l'intensité de la lumière est réduite de deux tiers. Ainsi, à 630 nm, cette pénétration optique maximale n'est que de 1 à 6 mm. En fait, «la fenêtre thérapeutique» optimale se situe entre 700 et 800 nm où la transmission des radiations lumineuses par les tissus est maximale. On s'achemine donc, pour traiter des tumeurs profondes ou plus volumineuses, vers la synthèse de nouveaux photosensibilisateurs absorbant fortement dans ce domaine de longueurs d'onde et possédant des propriétés photosensibilisatrices équivalentes ou supérieures à celles du Photofrin II[®].

Le photosensibilisateur idéal en PDT doit avoir une phototoxicité nulle à l'obscurité, être très sélectif vis-à-vis du tissu malade et être rapidement excrété pour réduire la photosensibilisation générale. Il doit avoir, contrairement au Photofrin II[®], une composition constante et être de préférence une substance pure dont l'absorption se situe dans la fenêtre thérapeutique optimale (3). De nombreux photosensibilisateurs ont été synthétisés qui présentent une activité supérieure au Photofrin II[®] *in vitro* et *in vivo*. On ne peut les passer tous en revue et nous ne mentionnerons ici que les photosensibilisateurs de deuxième génération *autorisés ou pour lesquelles une autorisation d'utilisation médicale*

a été demandée. Ces substances comprennent plusieurs classes de molécules:

- des chlorines possédant un squelette porphyrine dont une double liaison a été réduite. La Npe6 (aspartyl-chlorine-e₆) en cours d'essais cliniques au Japon pour le traitement des tumeurs du poumon. La verteporfin (Visudyne) est préconisée dans le traitement de la néovascularisation choroïdale. La méta-tétra(hydroxyphényl)chlorine (mTHPC, temoporfin, Foscan[®]) proposée pour certaines applications en cancérologie.
- des purpurines notamment les benzoporphyrines.
- des phtalocyanines d'aluminium sulfonées.
- le cas de l'acide Δ -aminolévulinique (ALA) (et des esters d'ALA distribués par la firme norvégienne «Photocure», créée au sein du «Holt radium Institute and Cancer Research» d'Oslo) est un peu différent puisqu'il s'agit en fait d'une prodrogue (4). Ce précurseur de la protoporphyrine IX (PP) peut, après administration topique ou orale, être utilisé en PDT ou pour le photodiagnostic des tumeurs, notamment de la vessie, par la détection de la fluorescence de la PP.

b) La sélectivité de l'incorporation du photosensibilisateur dans la tumeur

Cette sélectivité est un des critères incontournables dans la recherche de nouveaux photosensibilisateurs. On considère que la sélectivité de l'incorporation du Photofrin II[®] dans les tis-

sus tumoraux résulte de son transport par les LDL. La découverte de ce transport préférentiel des porphyrines hydrophobes (dont les constituants du Photofrin II[®]) par les lipoprotéines du sérum humain par notre groupe et confirmé par celui de G. Jori en 1984 (5,6) a joué un rôle déterminant dans la compréhension des mécanismes de l'accumulation des porphyrines dans les tumeurs malignes par rapport aux tissus sains. L'augmentation importante du nombre des récepteurs LDL dans certaines cellules malignes par rapport aux cellules normales est sans doute un facteur important favorisant la concentration du Photofrin II[®] par les tissus tumoraux (Fig. 2) (7). Ce rôle des récepteurs apoB/E peut s'illustrer facilement dans des modèles cellulaires en induisant son expression par culture en milieu dépourvu de lipoprotéines (Fig. 2). L'importance de la voie d'endocytose des LDL est aussi illustrée par les travaux de Kessel (8) qui, en analysant la répartition du Photofrin II[®], dans des modèles tumoraux animaux, a montré que la majeure partie des porphyrines est retrouvée dans le raie, les reins les poumons et la peau c'est-à-dire dans des organes contenant un grand nombre de récepteur apoB/E.

Cependant à cause de la complexité chimique du Photofrin II[®] et de son transport non négligeable par d'autres protéines sériques comme les HDL et le sérum albumine, le degré de sélectivité tumeur/tissu sain n'est de l'ordre de 2 à 3 pour la plupart des tumeurs. Cette faible sélectivité est une des limitations de la technique actuelle mais peut être améliorée par différents stratagèmes comme l'incorporation du

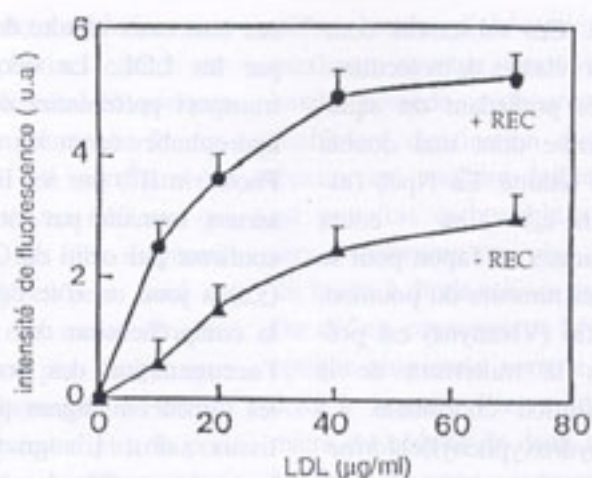


Fig. 2 - Influence du degré d'expression du récepteur apoB/E sur la capture du Photofrin II® (P2) préférentiellement incorporé dans les LDL. Des fibroblastes ont été pré-incubés pendant 24 h en milieu DMEM supplémenté soit avec 2% de serum delipidé (+REC: expression maximale des récepteurs) soit avec 10% de serum de veau (-REC: répression des récepteurs). Les cellules sont ensuite mises en présence de LDL-P2 à concentration croissante pendant 1 h à 37°C. Les résultats sont exprimés en intensité de fluorescence des porphyrines (mesurée à 635 nm) par mg de protéines cellulaires.

photosensibilisateur dans des liposomes de dipalmitoyle phosphatidyle choline qui interagissent spécifiquement avec les LDL mais pas avec les HDL ou la HSA.

MECANISMES DE DESTRUCTION DES TISSUS PAR LA PDT

Au niveau cellulaire, le Photofrin II® se distribue à peu près dans tous les compartiments cytoplasmiques comme le montre, par exemple, la microspectrofluorométrie sur cellule unique vivante (9). Le Photofrin II®, et les chlorines ou les phtalocyanines envisagées actuellement comme autres photosensibilisateurs possibles de la PDT ne franchissent pas la membrane nucléaire et n'interagissent pas avec l'ADN à cause de leur charge négative, ce qui présente un avantage

par rapport aux autres thérapies anticancéreuses (pas de mutagenicité induite). En ce qui concerne le cytoplasme, on peut dire que la membrane plasmique, toutes les organites, le réticulum endoplasmique... sont des cibles primaires de l'action photodynamique du Photofrin II®. La photoperoxydation et l'inactivation des protéines membranaires se traduit par la génération de concentrations importantes d'eicosanoïdes et de prostaglandines E₂.

Au niveau tissulaire, la réponse macroscopique à la PDT est une nécrose de coagulation qui apparaît quelques heures après le traitement. On pense que la destruction de la vascularisation péritumorale est un facteur fondamental de l'efficacité de la PDT. Notons que ceci est en accord avec le rôle joué par les lipoprotéines dans le transport des porphyrines utilisées dans la PDT

puisque les cellules endothéliales possèdent les récepteurs apoB/E. Cependant une remarque s'impose, quand les cellules tumorales ont comme les vaisseaux accumulé le photosensibilisateur, la destruction rapide des vaisseaux inhibe l'oxygénation des cellules malignes et par conséquent, la réaction photodynamique qui les détruit. On peut ainsi laisser persister un îlot de cellules malignes hypoxiques qui pourront se développer de nouveau grâce à la néovascularisation.

Il ne faut pas oublier l'immunostimulation induite par la PDT localisée. La population intratumorale de neutrophiles augmente de 200% dans les 10 minutes qui suivent l'irradiation. Le développement de la réponse immunitaire anti-tumorale spécifique est vraisemblablement médiée par les macrophages associés à la tumeur (10).

LES APPLICATIONS ACTUELLES DE LA PDT

a) en cancérologie

Les sites actuellement officiellement autorisés pour le traitement par le Photofrin II[®] sont:

- *Les bronches.* Principales indications: les petites tumeurs mêmes trachéales, les tumeurs volumineuses, ou l'envahissement d'une suture. Par contre le traitement par PDT des tumeurs volumineuses de la trachée, les tumeurs de la carène, les infiltrations pariétales est contre-indiqué.
- *Les tumeurs oesophagiennes.* Le traitement concerne les tumeurs du tiers supérieurs ou inférieurs,

les tumeurs planes et infiltrantes. Les états précancéreux comme l'oesophage de Barrett semblent aussi très bien répondre à cette thérapie (11).

- *Les cancers cutanés.* Le Photofrin II[®] est utilisé actuellement pour la PDT des récurrences de cancers du sein et des carcinomes à cellules squameuses extensifs.

La plus importante application de la PDT dans le traitement des tumeurs de la peau réside dans l'utilisation de l'ALA (ou les esters d'ALA) pour les épithéliomas baso-cellulaires et les cancers à cellules squameuses. Des résultats cosmétiques remarquables sont obtenus dans le traitement des carcinomes *in situ* (maladie de Bowen) (12).

Une autorisation a été demandée aux autorités sanitaires suisses pour l'utilisation du Foscan[®] pour le traitement de tumeurs ORL.

b) en ophtalmologie.

Le traitement de la néovascularisation choroïdale humide par la PDT avec VisudyneTM (verteporfin) a été approuvé dans 35 pays. Le traitement est effectué avec une source d'irradiation laser, 20 à 50 min après l'injection, avec des doses de lumière de l'ordre de 25 à 150 J/cm². Le transport par les LDL et son incorporation par endocytose dans les cellules endothéliales sont à la base du mécanisme d'action (13). Ce traitement, indolore, n'induit que des dommages minimes de la rétine et permet de traiter des patients ne pouvant recevoir de traitement par photocoagulation.

c) Les applications cardiovasculaires

La PDT est en passe de devenir un traitement adjuvant important dans les procédures d'angioplastie. Les avantages sont l'absence de thromboses et de fragilisation de la membrane artérielle. De plus, on n'observe pas de toxicité cumulative.

LES EFFETS SECONDAIRES DE LA PDT

Le seul effet secondaire de la PDT – effet relativement mineur – est la photosensibilité rémanente (6 à 8 semaines) de la peau des patients, ce qui oblige à les maintenir pendant ce temps à l'abri de la lumière même modérément intense (il suffit d'un ciel clair sans soleil). Il n'y a pas de parade absolue à cette photosensibilité à part les précautions d'habillement, de protection cutanée adéquate et le port de lunettes capables de préserver les yeux de la photosensibilisation. La N-acétylcystéine ou d'autres antioxydants sont quelquefois prescrits ainsi que des vitamines sans efficacité bien démontrée.

Cette photosensibilité rémanente est due à l'insolubilité des composants actifs les plus hydrophobes du Photofrin II® qui, au niveau de la peau, restent bloqués dans les membranes cellulaires pendant 6 à 8 semaines.

CONCLUSION

La photochimiothérapie photodynamique (PDT) a désormais acquis droit de cité. Contrairement à la chi-

mio et à la radiothérapie, les tumeurs traitées par la PDT ne développent pas de résistance à cette thérapie et restent accessibles à toutes les autres thérapies et à la chirurgie. Les connaissances accumulées sur les mécanismes de transport du photosensibilisateur, sur les mécanismes d'action de la PDT au niveau tumoral, sur les effets sur la vascularisation des tumeurs et d'autres tissus et enfin sur la dosimétrie et les propriétés optiques dans les tissus ainsi que l'avènement de nouveaux lasers à diode moins coûteux laissent présager le développement important de cette nouvelle thérapie anticancéreuse. Déjà de nouveaux photosensibilisateurs que Photofrin II® vont être autorisés pour d'autres applications non seulement outre-atlantique mais aussi en Europe. Notons qu'il est illusoire de penser qu'on a déjà découvert les meilleurs photosensibilisateurs. Il existe donc là un potentiel considérable pour une recherche pluridisciplinaire fondamentale et appliquée.

Adresse pour la correspondance concernant cet article:

Museum National d'Histoire Naturelle
(Tel : 33-1-40793726
Fax : 33-1-40793716
E-mail: santus@mnhn.fr)

REFERENCES

1. Dougherty TJ. Photosensitizers: therapy and detection of malignant tumors. *Photochem Photobiol* 1987; 45: 879-889.
2. Kohen E, Santus R, Hirschberg JG. *Photobiology*. Academic Press, San Diego 1995.
3. Wilson BC, Jeeves WP, Lowe DM. In vivo and post-mortem measurements of the attenuation spectra of light in mam-

- malian tissues. *Photochem Photobiol* 1985; 42: 153-162.
- Kennedy JC, Pottier RH. Endogenous protoporphyrin IX, a clinically useful photosensitizer for photodynamic therapy. *J. Photochem Photobiol B Biol* 1995; 14:275-292.
 - Reyftmann JP, Morliere P, Goldstein S, Santus R, Dubertret L, Lagrange D. Interaction of human low density lipoproteins with porphyrins: a spectroscopic study. *Photochem Photobiol* 1984; 40: 721-729.
 - Jori G, Beltramini M, Reddie E, Salvato B, Pagnan A, Ziron L, Tomio L, Tsanov T. Evidence for the major role of plasma lipoproteins as haematoporphyrin carriers. *Cancer Lett* 1984; 24: 291-297.
 - Candide C, Morliere P, Maziere J, Goldstein S, Santus R, Dubertret L, Reyftmann JP, Polonovski N. In vitro interaction of the photoactive anticancer porphyrin derivative photofrin II with low density lipoprotein and its delivery to cultured human fibroblasts. *FEBS Lett* 1986; 207: 133-138.
 - Kessel D. Porphyrin Lipoprotein associated as a factor in porphyrin localization. *Cancer Lett* 1986; 33: 183-188.
 - Berg K. Mechanisms of cell damage in photodynamic therapy. In A. Young, H. Honigsmann and G. Jori (eds). *The fundamental bases of phototherapy* 1996; 181-207, Milan.
 - Korbelik M, Krosi G. Enhanced macrophage cytotoxicity against tumor cells treated with photodynamic therapy. *Photochem Photobiol* 1994; 60: 497-502.
 - Overholt BF, Panjepour M, Haydek JM. Photodynamic therapy for barrett's esophagus: follow up in 100 patients. *Gastrointest Endosc* 1999; 49: 1-7.
 - Cairnduff F, Stringer MR, Hudson EJ, Ash DV, Brown SB. Superficial photodynamic therapy with topical 5-aminolaevulinic acid for superficial primary and secondary skin cancer. *Br J Cancer* 1994; 69: 605-608.
 - Schmidt-Erfurth U, Hasan T. Mechanisms of action of photodynamic therapy with verteporfin for the treatment of age-related macular degeneration *Surv Ophthalmol* 2000; 45: 195-214.