

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen
Faculté des Sciences-Département de Physique
Faculté de Médecine-Département de Médecine



MÉMOIRE DE FIN D'ETUDES

Présenté par :

OULHISSANE AMINA

Pour l'obtention du diplôme de **Master en Physique Médicale**

Photothérapie Dynamique et Cancers

Soutenu le 13 Octobre 2016, devant le jury :

Président : Pr. LASRI Boumediene

Faculté des Sciences Tlemcen

Examineur : Pr. BERBER Necib

Faculté de Médecine Tlemcen

Examineur : Dr. DERRAGUI Chahida

Faculté de Médecine Tlemcen

Encadreur : Pr. BABA AHMED Abderrazak

Faculté de Médecine Tlemcen

Année universitaire : 2015/2016

REMERCIEMENTS

Je tiens d'abord à remercier vivement Pr. A. BABA AHMED qui a dirigé entièrement ce travail avec une grande rigueur scientifique et un formidable dynamisme grâce auxquels j'ai pu découvrir le côté passionnant de la recherche. Sa disponibilité, sa gentillesse et ses précieuses directives tout au long de la réalisation de ce travail m'ont beaucoup impressionnée. Je tiens également à lui exprimer ma gratitude pour le temps qu'il a consacré à lire, relire et corriger ce mémoire.

Je tiens à exprimer ma gratitude au Professeur B. LASRI, de me faire l'honneur de présider le jury de la soutenance, ainsi qu'au Professeur N. BERBER et Docteur C. DERRAGUI qui ont bien voulu assurer la tâche d'examineurs.

Je désire aussi de remercier les professeurs des facultés des Sciences et de Médecine, de l'Université Abou Bekr Belkaid, qui m'ont fourni les outils nécessaires à la réussite de mes études universitaires.

DEDICACE

Je dédie ce mémoire

À ma mère et ma grand-mère. Aucun mot, aussi expressif qu'il soit, ne saurait remercier à leurs justes valeurs l'être qui a consacré leur vie à parfaire notre éducation avec un dévouement inégal associé à beaucoup de sacrifice. Vous vous êtes investies à me transmettre le sens de la responsabilité, de la persévérance et de la droiture. Merveilleuses mamans, j'espère que j'ai été à la hauteur de vos espérances. Que ce modeste travail soit un début de mes récompenses envers vous.

À mes sœurs, Amel, Isned et Esmaa, en témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous.

À mon jumeau frère, Oussama Mohammed et à mon beau-frère Ali, je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, santé et de réussite.

Spécialement, à mon neveu, le bijou de la famille : Ajwed Mustapha, ma plus grande source de bonheur, j'espère que la vie lui réserve le meilleur.

À tous ceux qui me sont trop chers et que j'ai omis de citer. À tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin à l'élaboration de ce travail par correction, impression et support moral. Qu'elles trouvent ici l'expression de toute ma gratitude et mon amour.

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN: l'Acide Désoxyribonucléique

ADP : absorption à deux photons

ALA: Acide 5-aminolévulinique

AMM : l'autorisation de mise sur le marché

ARN: l'acide ribonucléique

DEL : Diode ElectroLuminescente

DHG : Dysplasie de Haut Grade

DMLA: la dégénérence maculaire liée à l'âge

ERO : espèces réactives de l'oxygène

FDA: Food and Drug Administration

GI : gastro-intestinaux

HDL: High Density Lipoprotein

Hp: HématoPorphyrine

HpD : Hématoporphyrine Dérivative

HPLC: High Performance Liquid Chromatography

IC: Conversion interne

IDL : L'Intervalle Drogue-Lumière

IR : infrarouge

ISC: Conversion inter-système

IV: intraveineuse

KA : kératoses actiniques

KTP : [Phosphate de potassium Titanyl](#),

LASER: Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation

LED : Light-Emitting Diode

LIF: Light Induced Fluorescence

m-THPC : méso-tétraHydroxyPhénylChlorine

Nd : néodyme

NP : nanoparticules

NO: monoxyde d'azote

O₂ : oxygène

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PBR : récepteurs périphériques des benzodiazépines

Pc4 : Phtalocyanine 4

PCI : Photo Chemical Internalization ou internalisation photochimique

PDT : Photo Dynamic Therapy

pO₂ : pression partielle de l'O₂

PpIX: précurseurs de la protoporphyrine IX

PS : photosensibilisateur

R: Relaxation vibrationnelle

RAF : récepteur acide folique

S : état Singulet

T : état Triplet

UV : ultraviolet

YAG: Yttrium-Aluminium-Grenat

LISTE DES FIGURES

| | |
|---|----|
| Figure 1 : Principe de la PDT..... | 7 |
| Figure 2 : Relation entre la longueur d'onde et pénétration tissulaire | 7 |
| Figure 3 : Etapes de la PDT..... | 8 |
| Figure 4 : Structure d'une cellule normale..... | 9 |
| Figure 5 : Mécanisme de la mitose..... | 10 |
| Figure 6: Le cycle cellulaire | 11 |
| Figure 7: Processus de cancérogenèse | 15 |
| Figure 8: Etat fondamental d'un atome | 20 |
| Figure 9: Schéma représentant les états d'énergie vibrationnels..... | 21 |
| Figure 10: Absorption d'un photon..... | 22 |
| Figure 11: Emission d'un photon de fluorescence | 23 |
| Figure 12: Représentation des états électroniques moléculaires singulet et triplet..... | 24 |
| Figure 13: Schéma représentant le processus d'absorption..... | 25 |
| Figure 14 : Schéma représentant les processus non radiatifs..... | 27 |
| Figure 15 : Schéma représentant les processus de fluorescence et de phosphorescence | 29 |
| Figure 16 : Les réactions photochimiques de types I et II..... | 30 |
| Figure 17 : Mécanisme photochimique de la PDT..... | 33 |
| Figure 18 : Structure chimique de Hp..... | 36 |
| Figure 19: Structure chimique du Photofrin [®] | 37 |
| Figure 20: Structure chimique du m-THPC (Foscan [®])..... | 38 |
| Figure 21: Structure chimique du Verteporfine (Visudyne [®])..... | 38 |
| Figure 22: Stratégies de ciblage des PS vis-à-vis des cellules néoplasiques..... | 40 |
| Figure 23 : Comportement de différents types de systèmes vecteurs des PS..... | 43 |
| Figure 24: Propagation de la lumière à travers les tissus..... | 49 |
| Figure 25 : Principe de fonctionnement du Laser..... | 51 |
| Figure 26 : Profondeur de pénétration d'un rayonnement Laser dans la peau, en fonction de la longueur d'onde | 53 |
| Figure 27 : Structure de base d'une LED | 54 |
| Figure 28: Pénétration de la lumière en fonction de la longueur d'onde..... | 55 |
| Figure 29 : Développement de zone hypoxiques permanentes et transitoires dans une tumeur..... | 58 |
| Figure 30 : Relation entre la profondeur de pénétration du rayonnement, la puissance et la taille du spot lumineux (ou surface d'impact)..... | 61 |

| | |
|--|----|
| Figure 31 : Mécanisme de photo-destruction des tumeurs par PDT..... | 64 |
| Figure 32 : Mécanisme de l'apoptose..... | 68 |
| Figure 33: Mécanisme de nécrose..... | 69 |
| Figure 34 : Mécanisme d'autophagie..... | 70 |
| Figure 35 : Caractéristiques physiques des phénomènes de nécrose, apoptose et d'autophagie | 71 |
| Figure 36: Effet immuno et inflammatoire de la PDT | 73 |
| Figure 37 : Les effets obtenus sur les tissus biologiques, en fonction de la durée d'émission du Laser et de l'irradiance..... | 74 |
| Figure 38: Propagation de la lumière de différentes longueurs d'onde dans les tissus | 76 |
| Figure 39 : Exemple de spectres d'absorption de molécules biologiques élémentaire : la mélanine, l'hémoglobine et l'eau | 77 |
| Figure 40: Exemple du traitement d'une tumeur par coagulation | 78 |
| Figure 41 : Exemple de volatilisation | 79 |
| Figure 42 : Protocole de la PDT avec la crème METVIX [®] | 83 |
| Figure 43: Schéma illustrant le principe du traitement par PDT du cancer de la prostate..... | 85 |

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|--|----|
| Tableau 1 : Temps caractéristiques des différentes transitions moléculaire..... | 29 |
| Tableau 2: Caractéristiques des principaux PS utilisés en clinique..... | 44 |
| Tableau 3 : Classification des sources de Laser en fonction de leur puissance et de leur nocivité | 52 |
| Tableau 4 : Caractéristiques des différents Lasers utilisés en PDT..... | 53 |
| Tableau 5 : comparaison des caractéristiques principales de la mort par nécrose et par apoptose..... | 69 |

Tables des matières

| | |
|--|------------|
| Remerciement | I |
| Dédicace | II |
| Liste des abréviations | III |
| Liste des figures | V |
| Liste des tableaux | VII |
| Résumé | XII |
| Introduction générale | 1 |
| Chapitre I : synthèse bibliographique | |
| I.1. Introduction | 4 |
| I.2. Historique | 4 |
| I.3. Définition et principe de la PDT | 6 |
| I.4. Biologie du cancer | 9 |
| I.4.1. Définition de la cellule | 9 |
| I.4.2. Fonctionnement de la cellule et division cellulaire | 10 |
| I.4.3. Processus de cancérisation | 11 |
| I.5. Les applications cliniques de la PDT | 16 |
| I.5.1. Applications en oncologie | 17 |
| I.5.2. Applications non oncologiques | 19 |
| Chapitre II : Les concepts photo physico-chimiques | |
| II.1. Introduction | 20 |
| II.2. Les concepts photophysiques | 20 |
| II.2.1. Rappels physiques | 20 |
| II.2.2. Absorption électronique | 24 |
| II.2.3. Description des états excités électroniques | 25 |
| II.2.4. Processus de désactivation de l'état singulet | 26 |

| | |
|---|----|
| II.3. Les concepts photochimiques | 30 |
| II.3.1. Réactions type I | 31 |
| II.3.2. Réactions type II | 32 |
| Chapitre III : Les paramètres intervenants | |
| III.1. Introduction | 34 |
| III.2. Les photosensibilisateurs | 34 |
| III.2.1. Définition | 34 |
| III.2.2. Photosensibilisateur idéal | 35 |
| III.2.3. Générations des photosensibilisateurs | 35 |
| III.2.4. Localisation des photosensibilisateurs | 44 |
| III.3. La lumière | 48 |
| III.3.1. Définition | 48 |
| III.3.2. Les sources de lumière utilisées | 49 |
| III.3.3. Distribution de la lumière dans les tissus | 55 |
| III.3.4. Les paramètres d'illumination | 55 |
| III.4. L'oxygène | 57 |
| Chapitre IV : Dosimétrie en PDT | |
| IV.1. Introduction | 59 |
| IV.2. Définition | 59 |
| IV.3. Paramètres dosimétriques | 60 |
| IV.3.1. Grandeurs utilisées | 60 |
| Chapitre V : Effets de la PDT sur les cellules tumorales et saines | |
| V.1. Introduction | 64 |
| V.2. Sélectivité tumorale | 65 |
| V.2.1. Influence des protéines du sérum sur la sélectivité tumorale | 65 |
| V.2.2. Influence des facteurs vasculaires au niveau des tumeurs | 66 |
| V.2.3. Sites de photosensibilisation et de dommages cellulaires | 66 |
| V.3. Effets directs : la mort cellulaire | 67 |

| | |
|--|----|
| V.4. Effets indirects | 71 |
| V.4.1. Effets anti-vasculaire | 72 |
| V.4.2. Effets immunitaires et inflammatoires | 73 |
| V.5. Effets de la dose lumineuse | 74 |
| V.5.1. L'effet photothermique | 74 |
| V.5.2. L'effet photomécanique | 75 |
| V.5.3. L'effet ablatif | 75 |
| V.5.3. L'effet photochimique | 75 |

Chapitre VI : Applications cliniques

| | |
|---|----|
| VI.1. Cas du cancer du poumon | 80 |
| VI.1.1. Différents types de cancers du poumon | 80 |
| VI.1.2. Traitement par la PDT | 81 |
| VI.1.3. Avantages | 81 |
| VI.1.4. Inconvénients | 81 |
| VI.2. Cas du cancer de la peau | 82 |
| VI.2.1. Traitement par la PDT | 82 |
| VI.2.2. Avantages | 83 |
| VI.2.3. Inconvénients | 83 |
| VI.3. Cas du cancer de la prostate | 84 |
| VI.3.1. Traitement par la PDT | 84 |
| VI.3.2. Avantages | 84 |
| VI.3.3. Inconvénients | 85 |
| VI.4. Cas du cancer de l'œsophage | 85 |
| VI.4.1. Différents stades du cancer de l'œsophage | 86 |
| VI.4.2. Principales indications | 86 |
| VI.4.3. Traitement par la PDT | 86 |
| VI.4.4. Avantages | 86 |
| VI.4.5. Inconvénients..... | 87 |

| | |
|--|-----------|
| Conclusion générale et perspectives | 88 |
| Références bibliographiques | 91 |

Résumé

La thérapie photodynamique (PDT pour photodynamic therapy) est un traitement thérapeutique, son principe est basé sur l'association d'une substance sensible à la lumière (photosensibilisateur) et d'une exposition lumineuse (généralement des rayons infrarouges), en présence d'oxygène moléculaire. La lumière active la substance photosensible, qui détruit ensuite les cellules cancéreuses. La procédure consiste dans un premier temps à administrer un médicament photosensible que le tissu cancéreux absorbe de manière sélective, puis ensuite exposer ce tissu à un *rayonnement* lumineux. Un certain nombre de réactions photochimiques se produisent alors dans le tissu cancéreux, détruisant les cellules cancéreuses et provoquant une réaction inflammatoire locale.

L'efficacité de la PDT fait l'objet d'études depuis plusieurs décennies. Aujourd'hui, cette thérapie offre diverses possibilités de traitement du cancer, comme traitement principal ou comme traitement en complément de la chirurgie ou de la chimiothérapie.

Elle a fait l'objet d'études cliniques dans le traitement des cancers de la peau, de la tête et le cou, de l'œsophage, du poumon, de l'estomac, des organes génitaux, de la vessie, de la prostate et du cerveau. Il ressort des récentes études que la PDT convient pour le traitement des lésions précancéreuses et des cancers de la peau, à l'exception des mélanomes. Cette technique est également indiquée pour le traitement de l'œsophage de Barrett et des cancers des voies biliaires inopérables.

La PDT offre certains avantages dont une bonne tolérance du traitement, la préservation de la fonction de l'organe traité, un meilleur résultat esthétique, et une simplicité de la technique.

D'après l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), le cancer figure parmi les principales causes de morbidité et de mortalité dans le monde. En 2012, approximativement 14 millions de nouveaux cas et 8,2 millions de décès ont été recensés liés à la maladie. Une augmentation de 70% de nouveaux cas est attendue durant les deux prochaines décennies, qui sont principalement due à l'augmentation de la population et des facteurs de risque, entre autres raisons.

Ces dernières années ont été marquées par d'importants travaux de recherche et de développements thérapeutiques grâce à la mise en place de protocoles multidisciplinaires associant à la chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie, et certains types de cancers ont pu être partiellement guéris. Malheureusement, les traitements actuels restent encore trop souvent impuissants.

Néanmoins un souci majeur se pose toujours pour l'éradication des cellules tumorales qui est lié aux difficultés à discerner les cellules malignes des cellules saines. Même si toutes ces techniques ont démontré leur efficacité constatée par une régression tumorale, elles s'avèrent moins efficaces dans certains cas de tumeurs solides. En effet elles représentent un traitement très agressif qui provoque de nombreux effets secondaires contraignants, aussi bien sur le plan clinique (vomissements, asthénie, paresthésies...) que moral (chute de cheveux, phobie du traitement...), contribuant ainsi à la dégradation des conditions de vie du malade. Dans de nombreux cas, l'efficacité est moyenne et temporaire, en plus du coût qui reste très élevé.

Afin d'éviter les inconvénients d'une chirurgie pouvant être lourde pour le malade, ainsi que les effets secondaires de la chimiothérapie et de la radiothérapie, de nouvelles voies thérapeutiques sont apparues comme la photothérapie dynamique (PDT), qui est une méthode physico-chimique pour le traitement local des cancers. Actuellement, elle est utilisée avec succès aussi bien pour certaines tumeurs cancéreuses (tête, cou, œsophage...) et non-cancéreuses comme les kératoses actiniques (KA).

La PDT est appliquée à une population de patients pour laquelle les moyens thérapeutiques classiques sont inefficaces (radiothérapie ou chimiothérapie), ou inutilisables (contre-indications opératoires).

Elle est basée sur l'action combinée d'un médicament non toxique administré par voie locale ou générale chez un patient et de la lumière produite par un faisceau Laser, et délivrée localement au niveau de la tumeur à l'aide des fibres optiques en présence d'oxygène.

Le rayonnement Laser va activer la substance sensible fixée préférentiellement sur les cellules cancéreuses et provoquer la mort des cellules tumorales en libérant des espèces radicalaires toxiques qui vont ensuite altérer des cibles vitales des cellules tumorales.

La mort des cellules cancéreuses induite par cette action résulte de la combinaison de dommages cytotoxiques directs et de l'altération du système vasculaire de la tumeur aboutissant à l'arrêt du flux sanguin, en plus d'effets sur le système immunitaire liés à une réponse inflammatoire importante.

L'entrée en hypoxie des cellules tumorales pendant l'irradiation est un facteur limitant de l'efficacité de la PDT. Le maintien de l'oxygénation favorise les processus de mort cellulaire programmée de type apoptose et minore les réactions inflammatoires. L'apoptose photo-induite, dépend fortement de la localisation intracellulaire du photosensibilisateur (PS). Cependant, la PDT s'accompagne d'effets secondaires liés principalement aux réactions cutanées et à la sensibilité à la lumière des patients pendant plusieurs jours voire plusieurs semaines.

Afin d'assurer une efficacité maximale de cette thérapie, certaines difficultés restent à surmonter.

La première est liée au caractère fortement hydrophobe des PS qui est un obstacle pour leur dispersion en milieu aqueux nécessaire à la réalisation d'une suspension injectable.

De ce fait, la plupart des agents PS doivent être excités optiquement à des longueurs d'ondes en dehors de la fenêtre thérapeutique, pour produire l'effet recherché. Dans ces conditions, il se produit une accumulation de chaleur sur les tissus cutanés.

La deuxième difficulté est liée aux molécules photoactivables qui sont difficilement éliminées par l'organisme, ce qui rend les patients sensibles à la lumière pendant plusieurs semaines. La levée de cet obstacle suscite actuellement de nombreuses recherches, d'une part sur la fonctionnalisation et la vectorisation des PS, et d'autre part sur la synthèse des molécules photoactivables excitables par des longueurs d'onde en adéquation avec la fenêtre de transparence des tissus, c'est-à-dire dans le proche infrarouge (IR).

Etant donné que la PDT n'est malheureusement pas à l'ordre du jour en Algérie, notamment dans la prise en charge du cancer, donc notre travail se limitera à une recherche bibliographique dont l'objectif principal est de faire le point sur les possibilités potentielles notamment en oncologie et en recherche fondamentale dans l'identification des concepts photo-physico-chimiques, et des effets différentiels sur les cellules et tissus.

Le mémoire présenté s'articulera autour de six chapitres :

- Après un bref historique sur la PDT, le chapitre I concernera le principe de cette technique ainsi que des rappels sur la biologie du cancer, et mettra en avant les pathologies concernées par cette thérapie.
- Les concepts photo-physico-chimiques seront décrits dans le chapitre II.
- Le chapitre III sera consacré aux paramètres intervenants dans cette technique. Après une définition d'agent photosensibilisant, les critères d'un PS idéal seraient établis. Il s'en suivra de façon succincte les différentes générations disponibles du PS, en mettant l'accent sur leur localisation dans le corps humain. Les différentes sources lumineuses seront également abordées ainsi que les paramètres d'illumination, et pour finir une description de l'effet oxygène et son rôle déterminant en réponse thérapeutique.
- Le chapitre IV traitera la dosimétrie en PDT.
- Le chapitre V sera dévolu aux effets différentiels de la PDT sur les cellules tumorales et saines.
- Dans le chapitre VI, quelques indications de la PDT seront abordées, ainsi que leurs applications dans certains centres anti-cancéreux dans le monde.

I.1. Introduction

La PDT est préconisée dans le traitement de certaines maladies dermatologiques, ophtalmologiques et oncologiques. Celle-ci associe l'action conjuguée d'une molécule photoactivable (agent PS), de la lumière (Laser) et de l'oxygène (O₂). Les premières applications cancérologiques datent de 1975. Cette thérapie se distingue de la photochimiothérapie qui n'implique pas l'O₂ et de la photothérapie utilisant les propriétés intrinsèques de la lumière.

I.2. Historique

Les effets thérapeutiques de la lumière sont connus depuis l'Antiquité. Les Egyptiens utilisaient déjà la lumière combinée à des substances naturelles contenant des psoralènes pour traiter des maladies de la peau comme le psoriasis ou le vitiligo.

Ce n'est qu'à la fin du XIX^{ème} siècle que le concept de photosensibilisation apparaît lorsqu'Oscar Raab ^[1] décrit pour la première fois le phénomène phototoxique en associant un colorant (l'acridine) à la lumière.

Cependant, le concept de la PDT, est défini alors comme l'action combinée d'une molécule photoactivable, de la lumière et de l'O₂.

En 1903, Jesionek et Von Tappeiner ^[2] (alors professeur de Raab) traitent un cancer cutané par application topique d'éosine suivie d'une exposition à la lumière blanche.

En 1904, Tappeiner ^[3] suppose que l'O₂ est essentiel pour le processus et introduit le terme d'action photodynamique.

Cette supposition sera confirmée en 1909 par Hasselbach ^[2] qui rédigera le premier rapport sur le caractère phototoxique de l'hématoporphyrine (Hp), un dérivé de l'hème en travaillant sur des souris.

Afin de prouver que les résultats de phototoxicité mis en évidence chez la souris peuvent s'appliquer à l'homme, Friedrich Meyer-Betz ^[4] se livre en 1912 à une expérience sur lui-même en s'injectant 200 mg d'Hp. Tant qu'il est resté non exposé au soleil, rien de spectaculaire ne se produisit, mais lors de l'exposition à la lumière solaire, une réaction eut lieu, entraînant une hyperpigmentation de la peau et un œdème généralisé ; symptômes d'une hypersensibilité à la lumière dont il souffrira pendant plusieurs semaines.

En 1924, Policard ^[3] met en évidence la fluorescence spontanée de tumeurs exposées à la lumière ultraviolette (UV), phénomène interprété comme étant dû à l'accumulation de l'Hp endogène (biosynthétisée par le corps) dans les cellules tumorales.

En 1942, Auler et Banzer ^[3], s'appuyant sur les travaux de Policard découvrent les propriétés sensibilisatrices de l'Hp.

Puis en 1948, Figge ^[3] confirme l'affinité de cette substance pour les tissus tumoraux et suggère la possibilité d'utiliser l'Hp pour localiser les zones tumorales chez l'homme.

En 1955, une série d'expériences réalisées par Schwartz ^[1] prouve que l'Hp commerciale n'est pas un produit pur. Il constate que le produit pur qu'il a isolé est moins sélectif au niveau tumoral que le produit commercial.

En 1961, Lipson ^[5] propose de purifier l'Hp par action d'un mélange d'acide acétique et d'acide sulfurique. Le produit obtenu, appelé Hématoporphyrine Dérivée (HpD) sera utilisé pour traiter des patients atteints de tumeurs cancéreuses du poumon. Il est constitué d'un mélange complexe de porphyrines.

Dans les années 1970, Dougherty ^[6] utilise avec succès l'HpD couplée à une lampe à arc à xénon pour soigner des tumeurs mammaires implantées chez la souris.

Puis en 1976 il réalise les premiers essais chez l'homme qui donnent des résultats encourageants. Toujours pionnier dans ce domaine, il remplacera par la suite la lampe à arc par le Laser qui permet d'irradier sélectivement la zone à traiter ^[7].

Entre 1983 et 1985, il identifie les fractions actives de l'HpD conférant les propriétés photosensibilisantes au mélange initial (l'éther et l'ester de dihématoporphyrine).

En 1985 une fraction enrichie en composés les plus actifs de l'HpD est commercialisée sous l'appellation Photofrin II[®] ^[3].

Entre 1986 et 2000, le Photofrin[®] sera le seul PS utilisé en clinique. Il n'a reçu que récemment l'autorisation de mise sur le marché (AMM) dans plusieurs pays (USA, France, Hollande, Japon...).

Désormais, de nouvelles molécules, plus spécifiques et plus actives sont développées en laboratoire. Certaines ont reçu une AMM tandis que d'autres sont actuellement en essai phase clinique I, II ou III.

I.3. Définition et principe de la PDT

La PDT est une technique thérapeutique destinée en particulier à certains types de cancer. C'est une méthode efficace et peu traumatisante qui connaît de ce fait un engouement croissant de la part de nombreuses équipes scientifiques et médicales.

L'effet tumoricide résulte de la combinaison de dommages cytotoxiques directs sur les cellules tumorales et de dommages indirects caractérisés par l'altération de la vascularisation tumorale combinée à une activation du système immunitaire.

Le principe de la PDT est basé plus particulièrement sur l'interaction entre la lumière et une substance photosensibilisante. L'action thérapeutique repose sur une triade:

- une molécule PS qui doit être stable, pure, et non toxique. Celle-ci, lorsqu'elle est activée par un rayonnement approprié va induire des réactions photochimiques dont l'accepteur d'énergie est l'O₂. Ce dernier est indispensable au déclenchement de la réaction phototoxique. Si la concentration en O₂ [O₂] des tissus est inférieure à 2%, la PDT est inefficace. C'est en effet la présence d'O₂ qui va permettre les réactions de photo-oxydation et la production d'oxygène singulet ou de radicaux hydroxyles qui vont créer des altérations cellulaires aboutissant à une mort cellulaire et à la lyse du tissu traité,
- une sélectivité de la distribution de la substance PS dans des cellules distinctes des cellules normales du fait de leur état métabolique ou prolifératif. On doit considérer cette sélectivité comme relative, ce qui peut limiter l'action de la PDT. La sélectivité est aussi obtenue lorsque les cellules du premier compartiment tissulaire en contact avec la substance PS captent rapidement le produit suivi immédiatement d'une photoactivation par la lumière,
- une source lumineuse spécifique, dont la longueur d'onde sera adaptée au spectre d'absorption de la substance PS et dont la pénétration dans les tissus sera suffisante. Une longueur d'onde de 630 nm pénètre de 5-8 mm dans la peau alors que des longueurs d'ondes entre 700 et 800 nm peuvent aller jusqu'à environ 2 cm de profondeur.

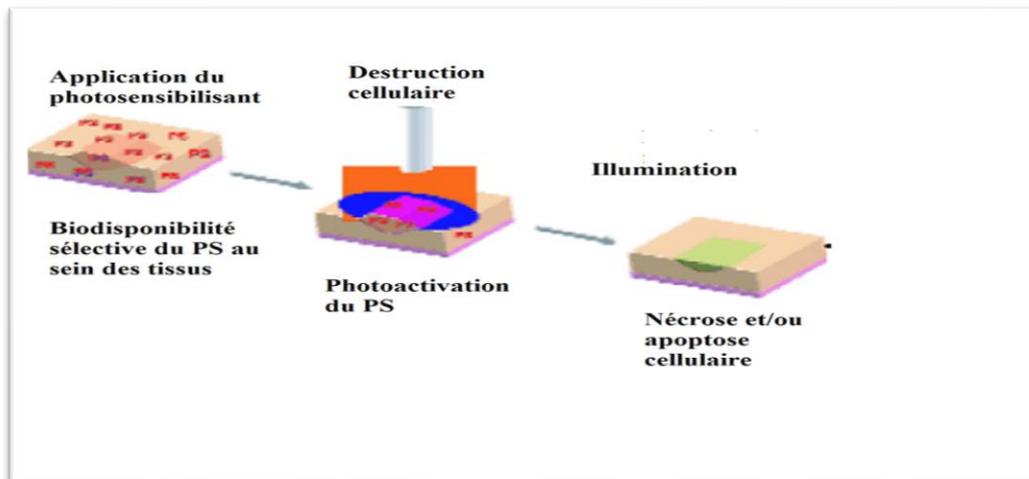


Figure 1 : Principe de la PDT [8]

La source peut émettre une lumière polychromatique, ou monochromatique fournie par différentes sources de lumière dont le Laser (Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation). L'utilisation d'un Laser permet de traiter des organes internes creux, tels que la vessie, la trachée ou les bronches. De plus la source Laser fournit une lumière cohérente qui offre un meilleur contrôle de la dosimétrie [4].

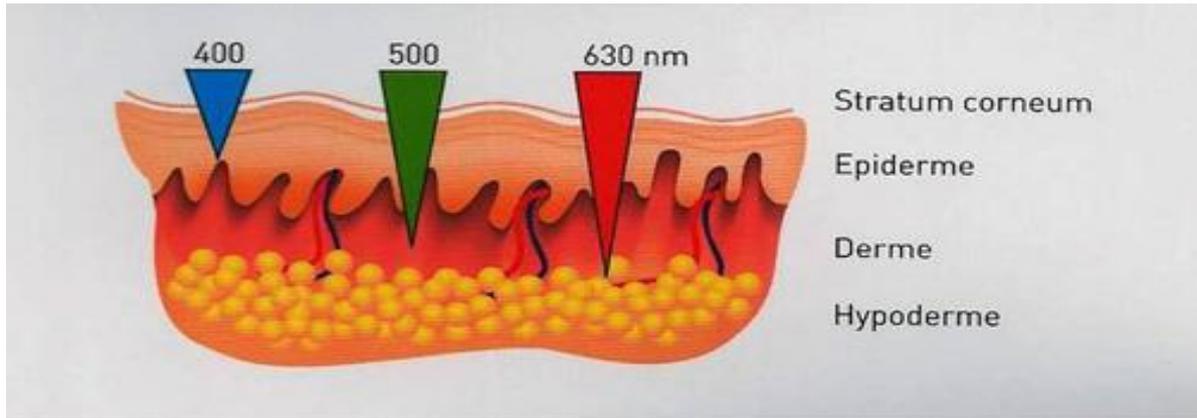


Figure 2 : Relation entre la longueur d'onde et pénétration tissulaire [9]

Dans le cas d'un traitement anticancéreux, le PS est donc dans un premier temps administré au patient, le plus souvent par voie intraveineuse (IV).

Une application topique nécessite cependant l'utilisation de molécules de poids moléculaire suffisamment bas pour passer la barrière cutanée, tels les dérivés de l'Acide 5-AminoLévilinique (ALA), précurseurs de la protoporphyrine IX (PpIX).

Une fois dans le sang, le PS se lie à certaines protéines plasmatiques, en fonction de ses caractéristiques physico-chimiques, qui le convoient vers les différents tissus. Cette distribution se fait, dans l'idéal, préférentiellement vers les tissus néoplasiques.

Dans un deuxième temps, après un certain délai suivant l'administration, pouvant aller de quelques minutes à plusieurs jours, en fonction des caractéristiques pharmacocinétiques du PS et de l'application clinique, la tumeur est illuminée localement par une lumière visible, si possible monochromatique, dont la longueur d'onde correspond à un maximum d'absorption du PS [10].

On utilise généralement un rayonnement Laser, guidé jusqu'à la tumeur via une fibre optique et un diffuseur de lumière.

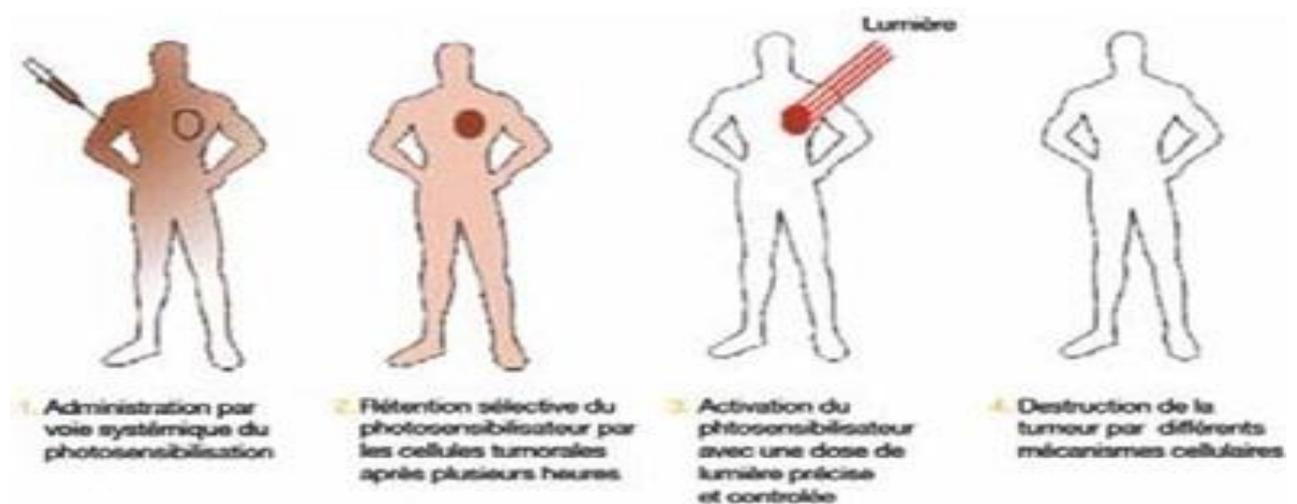


Figure 3 : Etapes de la PDT

I.4. Biologie du cancer

Le corps humain est constitué de milliards de cellules qui se développent, remplissent une fonction puis meurent de façon programmée.

Le cancer correspond à la multiplication anarchique de certaines cellules normales de l'organisme, qui échappent aux mécanismes normaux de différenciation et de régulation de leur multiplication. En outre, ces nouvelles cellules résultantes peuvent former une tumeur maligne (un néoplasme), et même elles sont capables d'envahir le tissu normal avoisinant, en le détruisant, puis de migrer à distance pour former des métastases ^[11].

I.4.1. Définition de la cellule

La cellule est l'unité de base de tout organisme vivant. C'est aussi la plus petite unité capable de fonctionner de façon autonome.

Elle contient dans son noyau l'information génétique de l'Acide Désoxyribonucléique (ADN), véritable mémoire de la cellule, représentée par l'ensemble de gènes « génome » qui lui permet de se reproduire à l'identique et de fonctionner. La cellule est aussi constituée d'un cytoplasme qui contient principalement les mitochondries qui donnent l'énergie nécessaire à la machinerie cellulaire et du réticulum endoplasmique rugueux où sont fabriqués les produits de la cellule, ceux-ci s'isolent dans les vésicules du corps de Golgi d'où ils évoluent vers la membrane pour être rejetés à l'extérieur de la cellule (exocytose).

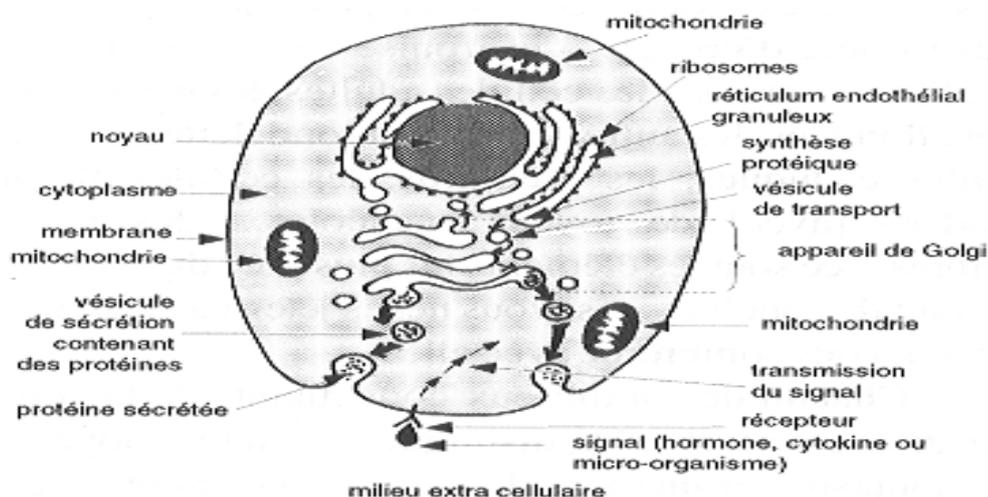


Figure 4 : Structure d'une cellule normale

I.4.2. Fonctionnement de la cellule et division cellulaire

L'organisme humain fonctionne grâce à un équilibre constant entre la production de nouvelles cellules et la destruction d'autres cellules.

La vie des cellules est ainsi sous le contrôle de deux mécanismes :

- le cycle cellulaire qui conduit à la production de cellules par leur division, et
- l'apoptose, processus de mort cellulaire programmée, qui conduit à la destruction des cellules vieilles ou abîmées.

A l'exception des cellules reproductrices (spermatozoïde et ovule), toutes les cellules d'organisme se divisent selon le même mécanisme appelé mitose. Il s'agit d'un processus par lequel une cellule, nommée cellule mère, donne naissance à deux cellules filles, strictement identiques entre elles et à la cellule mère.

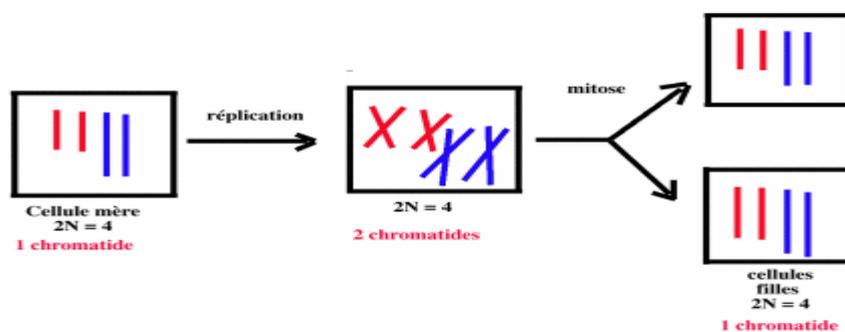


Figure 5 : Mécanisme de la mitose

Ce processus de division repose sur une succession de phases regroupées sous le nom de cycle cellulaire. Il nécessite l'intervention d'un grand nombre d'intermédiaires dont des protéines et l'acide ribonucléique (ARN).

Le cycle cellulaire comporte ainsi 5 phases : une phase de repos, une première phase de croissance, une phase de synthèse, une seconde phase de croissance et enfin la phase de mitose ou de division (figure 6).

- Lors de la phase de repos (G0), les cellules n'ont pas commencé à se diviser. C'est lorsque la cellule reçoit un signal de reproduction qu'elle entre dans la phase G1 du cycle cellulaire.
- Lors de la première phase de croissance (G1), la cellule commence à produire plus de protéines et d'ARN afin de se préparer à la division.

- Lors de la phase de synthèse (S), l'ADN de la cellule est copié (synthèse d'ADN).
- Lors de la seconde phase de croissance (G2), la cellule continue de produire des protéines et de l'ARN en préparation à la division.
- Enfin, c'est au moment de la mitose, phase (M), que la cellule se divise en deux nouvelles cellules.

Après la mitose, la cellule peut soit :

- quitter le cycle cellulaire pour se développer, atteindre sa maturation et éventuellement mourir (apoptose),
- passer à la phase de repos (G0) et revenir plus tard dans le cycle cellulaire.

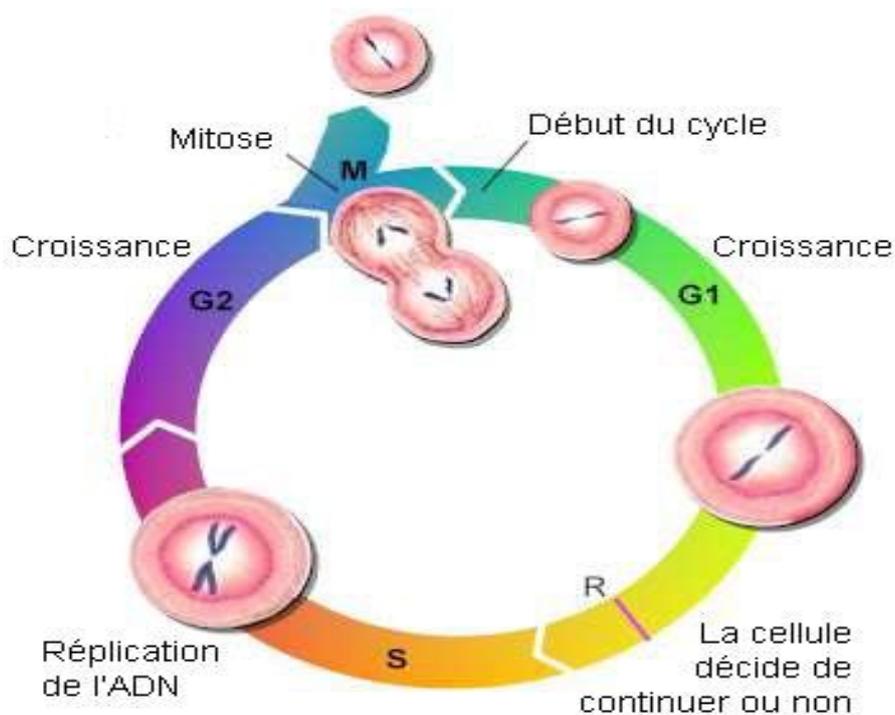


Figure 6: Le cycle cellulaire

I.4.3. Processus de cancérisation

Des points de contrôle sont programmés entre chaque phase du cycle cellulaire, afin de vérifier que le processus en cours se déroule de façon normale.

C'est l'occasion pour la cellule d'identifier la survenue d'éventuelles anomalies dans son cycle cellulaire et de déclencher soit une action de correction de ces erreurs soit son autodestruction (apoptose).

Si ces erreurs ne sont pas réparées, elles s'accumulent. Au fil des divisions, cette accumulation est à l'origine du cancer. On considère qu'il faut environ une dizaine de mutations génétiques pour que le phénomène de cancérisation apparaisse.

Les anomalies qui se produisent sont des mutations génétiques, engendrées par des erreurs lors de la réplication - ou reproduction - de l'ADN, et donc des gènes, lorsque la cellule se divise.

I.4.3.1. Facteurs de risque

Un cancer n'est jamais le résultat d'une cause unique. Il faut un ensemble de facteurs, qui plus est, susceptibles d'interagir entre eux, pour que la maladie se développe. Un certain nombre de ces facteurs, externes et internes, ont été identifiés.

a- Les facteurs externes

Les facteurs externes sont liés à l'environnement (rayonnements d'origine nucléaire ou solaire, virus, produits industriels...) ou au mode de vie (tabac, alcool, alimentation...), favorisent l'apparition de cellules cancéreuses.

b- Les facteurs internes

On peut citer parmi eux l'âge et l'hérédité :

- le vieillissement joue en effet un rôle fondamental. Même si les cancers peuvent apparaître à tout âge, ils sont beaucoup plus fréquents à partir de 60 ans. Cela est dû au cumul des agressions externes subies par les cellules et, probablement, à la moindre efficacité des mécanismes de réparation de l'ADN chez les personnes âgées,
- l'hérédité peut également jouer un rôle. Certaines personnes ont plus de risques de développer un cancer que les autres parce que, à leur naissance, elles portent déjà des mutations dans un ou plusieurs de leurs gènes, des mutations héritées de leurs parents et présentes dans toutes leurs cellules.

I.4.3.2. La cellule cancéreuse

Une cellule cancéreuse est une cellule anormale ayant acquis des caractères spécifiques à l'origine d'un cancer. Elle ne s'arrête plus de se multiplier, et reste en vie dans un organe où habituellement les cellules meurent et se renouvellent rapidement.

Cette prolifération va aboutir à la formation de la tumeur, qui, en se développant arrive à détruire les cellules normales avoisinantes.

I.4.3.3. Les caractéristiques de la cellule cancéreuse

La transformation de la cellule normale en cellule cancéreuse est un processus long, qui peut durer des dizaines d'années. Au terme de cette transformation, la cellule cancéreuse a acquis un certain nombre de caractéristiques :

- une indépendance vis-à-vis des signaux qui stimulent normalement la multiplication des cellules,
- une insensibilité aux signaux et mécanismes anti-prolifératifs,
- une capacité proliférative qui n'est plus limitée (croissance à l'infini),
- une disparition du phénomène d'apoptose,
- une capacité anormale à susciter l'angiogenèse, et
- une acquisition d'un pouvoir invasif et de production de métastases.

a- Caractères généraux de la cellule cancéreuse

- caractères résiduels :
 - la cellule garde un certain degré de différenciation caractéristique du tissu originel,
- caractères morphologiques acquis :
 - anomalies du noyau
 - volumineux, multiples, nucléoles visibles, hyperploïdie,
 - anomalies de la taille des cellules
 - hétérogènes,
 - anomalies cytoplasmiques
 - augmentation du rapport cyto-nucléaire,
 - anomalies de la membrane cytoplasmique
 - perte de l'inhibition de contact, modification de l'adhésivité, modifications des antigènes de surface.
- caractères dynamiques acquis
 - taux élevé, autonome, anarchique et indéfini de mitoses,
 - mort cellulaire par hypoxie ^[12].

I.4.3.4. De la cellule cancéreuse à la tumeur

Ultérieurement, dotées de ces caractéristiques, les cellules cancéreuses parviennent à provoquer la formation de nouveaux vaisseaux sanguins (néo-angiogenèse) qui irrigueront la tumeur et l'alimenteront en O₂ et en nutriments. Ce point est capital car, sans irrigation, la tumeur ne pourrait pas grossir au-delà d'un dixième de millimètre.

Par ailleurs, les cellules cancéreuses deviennent capables de s'insinuer dans les tissus sains voisins et de migrer dans l'organisme pour donner des métastases.

Au-delà, les cellules cancéreuses sont capables de corrompre les cellules qui les entourent et de les utiliser à leur avantage. Une tumeur est toujours formée par un agglomérat de cellules cancéreuses et de cellules normales, qui collaborent entre elles. La prolifération de cellules constituant un tissu néoplasique, dont les anomalies et l'agressivité de développement au-delà de certaines limites fixent le caractère de bénignité ou de malignité.

Il existe deux types de tumeurs : les tumeurs bénignes et les tumeurs malignes.

- Les tumeurs bénignes (non cancéreuses), c'est à dire qu'elles n'envahissent pas les organes voisins et ne font que les repousser. Elles ont un développement généralement limité, et n'essaient pas leurs cellules ailleurs, ce qui signifie qu'elles ne sont pas métastasiées. Celles-ci peuvent malgré tout poser des problèmes selon leur localisation.
- Les tumeurs malignes (cancéreuses), sont dangereuses pour l'être humain car elles peuvent envahir et détruire les tissus qui lui sont adjacents et peuvent donner des métastases.

a. Caractères d'une tumeur cancéreuse

- une prolifération cellulaire excessive,
- une masse tissulaire ressemblant plus ou moins à un tissu normal,
- une tendance à persister et à croître,
- une succession d'événements génétiques.

b. Le tissu tumoral est constitué

- de cellules tumorales : cellules prolifératives anormales,
- d'un tissu de soutien (stroma tumoral) fait de cellules et de substance extracellulaire dans laquelle est située la vascularisation tumorale. Les cellules du stroma ne présentent pas les anomalies génétiques des cellules tumorales.

I.4.3.5. Les processus néoplasiques

Différentes étapes ont été identifiées dans le développement d'un cancer : l'initiation, la promotion et la progression.

Dans un premier temps, il se produit une lésion majeure au niveau de l'ADN d'une cellule ; il en résulte une transformation de cette cellule.

Dans un second temps, la cellule transformée se développe et prolifère en formant un groupe de cellules transformées identiques.

Enfin, dans un troisième temps, la cellule acquiert les caractéristiques d'une cellule cancéreuse: elle se multiplie de façon anarchique, en perdant en partie son caractère différencié (son identité liée au tissu auquel elle appartenait).

L'évolution se fait d'abord localement, puis peut s'étendre via le système sanguin et lymphatique à d'autres endroits du corps où se forment les métastases.

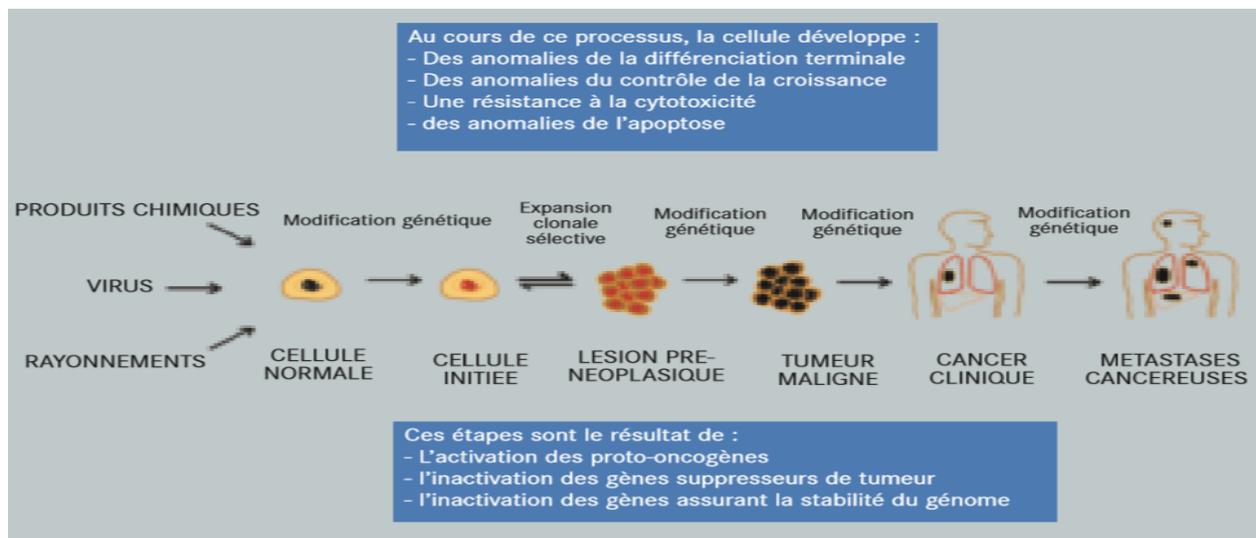


Figure 7 : Processus de cancérogenèse

I.4.3.6. Les différents types histologiques du cancer

Le cancer peut se présenter sous différentes formes qui sont normalement regroupés par catégories histologiques, dont :

- **le carcinome** : prend naissance dans la peau ou les tissus revêtant les organes internes. Les carcinomes représentent la majorité des types de cancer (près de 90 %),
- **la leucémie** : commence dans les tissus sanguins, comme la moelle osseuse, et qui entraîne la multiplication de cellules sanguines anormales, qui se retrouvent dans la circulation sanguine,
- **les lymphomes** : se développent dans les cellules du système immunitaire (Ex : maladie d'Hodgkin),
- **le myélome** : se développe aussi dans les cellules du système immunitaire, spécialement de cellules responsables de la production des anticorps,
- **le sarcome** : originaire des os, du cartilage, de la graisse, des muscles, des vaisseaux sanguins ou d'autres tissus conjonctifs ou de soutien,
- **les tumeurs du système nerveux central** : gliome, blastome, lymphome du SNC, etc,
- **le mésothéliome** : forme rare de cancer qui se développe dans la membrane protectrice (appelée mésothélium) recouvrant la plupart des organes internes du corps (poumons, cœur et la cavité abdominale). Il est presque toujours causé par l'exposition à l'amiante.

I.5. Les applications cliniques de la PDT

La PDT s'applique au traitement des lésions néoplasiques localisées: tumeurs superficielles peu étendues ou de petite taille. Initialement, celle-ci fût appliquée à des grosses tumeurs pour lesquelles les autres traitements avaient échoués^[13].

Un des intérêts de cette technique est la possibilité d'effectuer des traitements par endoscopie ou d'utiliser la voie percutanée pour insérer les fibres délivrant la lumière, cela rendant l'intervention moins invasive et les suites plus simples.

Les applications cliniques sont nombreuses dans les domaines oncologiques et non oncologiques avec une place très importante en ophtalmologie.

I.5.1. Applications en oncologie

Les progrès de la PDT en oncologie ont été possibles grâce à la mise au point de logiciels assurant une aide précieuse au calcul des énergies lumineuses à délivrer.

Il existe aujourd'hui des algorithmes permettant de calculer les doses optimales de lumière à délivrer, cela en fonction des informations fournies, telles que la nature du tissu à traiter, la taille de la tumeur et sa localisation par rapport aux structures à préserver.

Parallèlement, les méthodes de repérage d'imagerie et de stéréotaxie augmentent la précision du geste opératoire.

Enfin, l'utilisation de sondes de mesure optique de la lumière et de la température permet de s'assurer du bon déroulement de la procédure tout au long de l'intervention.

Même si la PDT est un moyen de traitement efficace et prometteur tant au niveau curatif que palliatif, elle demeure néanmoins une méthode de second choix lors de la planification de traitements en oncologie. Le manque de connaissances dans la combinaison lumière/PS est l'une des principales causes expliquant l'utilisation sous-optimale de cette thérapie en oncologie ^[14].

Quatre champs d'application d'intérêt pour la PDT :

1. Traitement palliatif des tumeurs inopérables permettant d'offrir au patient un plus grand bien-être en fin de vie.
2. Traitement de substitution au traitement chirurgical pour les patients chez qui l'acte est contre-indiqué.
3. Traitement complémentaire.
4. Traitement de lésions cancéreuses détectées ^[15].

I.5.1.1. Pneumologie

Le traitement du cancer du poumon a été l'une des premières applications en routine de la PDT avec Photofrin[®]. C'est une molécule bien adaptée pour les lésions de faibles dimensions ^[16].

I.5.1.2. Gastro-entérologie

Il existe au moins trois indications, une des premières applications a été le cancer de l'œsophage et les dysplasies œsophagiennes de Barrett.

L'avantage, comme dans le cas du cancer du poumon, est une facilité d'accès par endoscopie.

En revanche, lors des premières tentatives, la dosimétrie rudimentaire avait conduit à des effets secondaires à type de sténose et de fistules, ce qui en avait ralenti son utilisation. Dans le cas, des cholangiocarcinomes, l'utilisation de la PDT a permis d'obtenir des résultats encourageants en termes de survie et de qualité de vie. Un des avantages est d'avoir moins d'effets secondaires par rapport à la chirurgie.

Concernant le cancer du pancréas, plusieurs essais ont été faits dans le cas des tumeurs localisés inaccessibles à la chirurgie. Le produit testé (Foscan[®]), la méso-tétrahydroxyphénylchlorine (m-THPC) est injecté par voie intraveineuse et les fibres sont insérées par voie percutanée. L'avantage de la PDT est de préserver le tissu conjonctif ce qui permet d'épargner des structures vitales très proches du pancréas.

I.5.1.3. Urologie

Le cancer de la prostate. Deux approches sont possibles :

- En première intention sur des tumeurs de très petites tailles. L'avantage est d'éviter un sur-traitement pour des tumeurs faiblement évolutives.
- En deuxième intention après échec de la radiothérapie. Dans ce cas, la PDT donne un avantage supplémentaire au patient avant d'utiliser des méthodes plus agressives [17].

I.5.1.4. ORL

Les tumeurs de la sphère ORL (tête et cou) sont en majorité des carcinomes épidermoïdes. L'Agence Européenne du Médicament a autorisé en 2001 l'utilisation du Foscan[®] dans le traitement palliatif des carcinomes épidermoïdes avancés de la tête et du cou, ayant résisté aux autres méthodes thérapeutiques conventionnelles [18].

I.5.1.5. Neurochirurgie

La PDT peut être appliquée en tant que traitement adjuvant aux patients porteurs de glioblastomes cérébraux.

I.5.1.6. Dermatologie

La PDT devient progressivement le traitement de référence pour les KA et des lésions précancéreuses de la peau, les carcinomes basocellulaires superficiels et la maladie de Bowen (cancer intra-épidermique, in situ) [19].

Elle est efficace, relativement facile à réaliser (bien que des progrès soient attendus sur les sources de lumière), bien tolérée, à moindre coût, n'engendrant aucunes séquelles esthétiques. Selon la littérature ^[20], des taux de réponse atteignant 90 % sont reportés pour le traitement par PDT des KA.

I.5.1.7. Ophtalmologie

La PDT est une alternative intéressante pour le traitement du rétinoblastome (cancer oculaire rare de l'enfant). Toutefois, dans l'œil, il existe de nombreuses barrières biologiques (Ex : barrière hémato-rétinienne) qui agissent comme un filtre empêchant la distribution correcte du PS vers sa cible. Pour pallier ces inconvénients, les nanoparticules (NP) sont utilisées comme véhicule du PS capable de traverser ces barrières et éviter les inconvénients souvent dus à l'hydrophobie du PS.

I.5.1.8. Gynécologie

L'intérêt de la PDT a pu être montré dans le traitement de lésions dysplasiques du col de bas et de haut grade, après application cervicale d'une solution de 5-ALA ^[21]. La PDT appliquée à l'endomètre semble également prometteuse, en particulier dans le traitement des ménorragies fonctionnelles en période pré-ménopausique. Le recours à une PDT locale après instillation de 5-ALA intra-utérine a montré que cette méthode pourrait constituer une alternative aux traitements chirurgicaux actuellement proposés ^[22].

I.5.2. Applications non oncologiques

Les applications non oncologiques de la PDT se font sans cesse plus nombreuses, citons, en ophtalmologie, le traitement de la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA) ^[23], traitée par Verteporfine (Visudyne[®]) qui est certainement le meilleur exemple de l'application non oncologique d'un traitement par la PDT ^[24]. Elle permet de réduire la néovascularisation non choroïdienne dans la maladie vasculaire oculaire.

L'accessibilité de la peau à la lumière offre une opportunité d'utilisation de la PDT dans le traitement de maladies dermatologiques, telles que le psoriasis ou l'acné.

II.1. Introduction

La base de l'effet photodynamique est le changement du PS occasionné par l'interaction de celui-ci avec un photon. Il s'ensuit alors une cascade réactionnelle qui aboutira à la destruction de la zone tumorale.

Suite à l'absorption d'un photon, le PS passe de l'état fondamental à l'état excité. À partir de là, soit il retourne à son état fondamental avec émission de fluorescence ou par un processus non radiatif, soit, il passe dans un état excité triplet par inversion de spin électronique. Dans ce cas, le retour à l'état fondamental, transition théoriquement interdite, est très lent.

Le PS peut se désactiver par émission de phosphorescence ou en interagissant avec son environnement selon deux types de mécanismes :

- **type I**, qui implique la participation du PS dans un processus de transfert d'électrons avec des substrats biologiques pour former des espèces radicalaires qui, après interaction avec l' O_2 , fournissent des espèces réactives comme des ions superoxydes O_2^- ,
- **type II**, le PS excité réagit directement avec l' O_2 pour donner de l'oxygène singulet. Il peut aussi s'oxyder, permettant la formation de l'anion superoxyde O_2^- .

II.2. Les concepts photophysiques

II.2.1. Rappels physiques

L'atome possède une énergie interne quantifiée. Si on lui fournit une énergie extérieure, il va l'absorber. Le seul moyen dont il dispose pour accroître son énergie, c'est que l'un des électrons passe sur une orbite où l'énergie est plus grande, c'est à dire sur une orbite plus éloignée vacante. Les énergies absorbées sont quantifiées, et l'état d'énergie le plus bas est appelé fondamental. Dans cet état un atome peut exister indéfiniment.

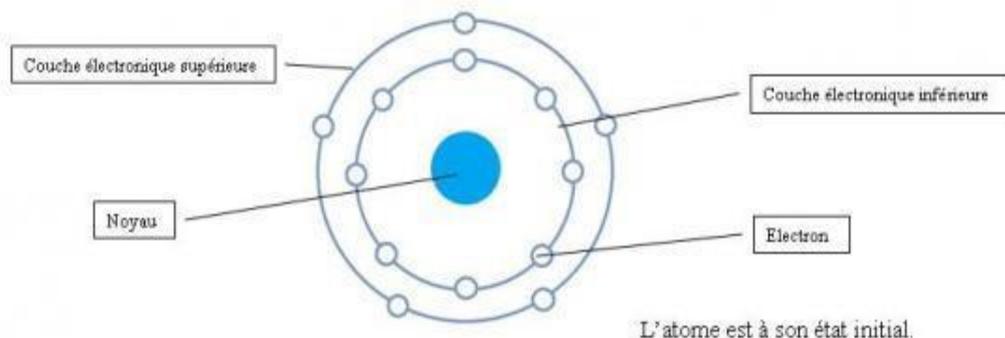


Figure 8 : Etat fondamental d'un atome

Lorsqu'un atome ou une molécule absorbe de l'énergie, il y a passage sur un niveau d'énergie d'excitation :

- électronique (atomes et molécules),
- électronique et vibrationnel (molécules),
- vibrationnel (molécules).

Les atomes et les molécules sont à l'état excité, cet état est thermodynamiquement instable. Ils vont très rapidement restituer l'énergie reçue et revenir à l'état fondamental (E_0 pour la molécule, E_0 pour l'atome).

L'énergie totale moléculaire est la somme des différentes énergies :

$$E_T = E_{\text{électron}} + E_{\text{vib}} + E_{\text{rot}} + E_{\text{tran}}$$

Dans un état électronique donné, la molécule dispose de nombreux degrés de liberté correspondant aux vibrations et rotations des noyaux atomiques. Ainsi, chaque état de vibration-rotation est caractérisé par un niveau d'énergie, les écarts énergétiques entre les niveaux de rotation sont faibles par rapport à ceux observés entre les niveaux de vibration. Par ailleurs, ces derniers sont beaucoup plus rapprochés que les états électroniques.

Par conséquent, à l'intérieur d'un état électronique donné, des états vibrationnels se subdivisent et que dans un état de vibration, des états de rotation se subdivisent.

Les niveaux vibrationnels sont définis par leurs niveaux quantiques de vibration v , $v = 0, 1, 2, \dots, n$.

Par définition, le niveau quantique ($v = 0$) correspond au niveau vibrationnel d'énergie la plus basse.

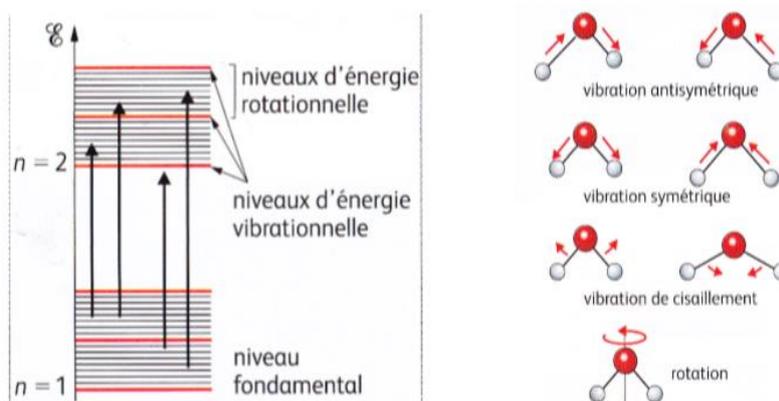


Figure 9: Schéma représentant les états d'énergie vibrationnels

La lumière (photon) peut interagir avec la matière, permet à l'atome donc de passer d'un niveau d'énergie à l'autre par différents mécanismes : absorption, émission.

II.2.1.1. Absorption d'un photon

Un atome stable (atome à l'état fondamental) peut absorber un photon à condition que celui-ci ait une énergie égale à la différence entre l'énergie d'un état excité de l'atome et l'énergie de l'état fondamental. L'atome fait une transition et il passe de l'état fondamental à un état excité (pas forcément le premier). C'est le phénomène d'absorption du photon.

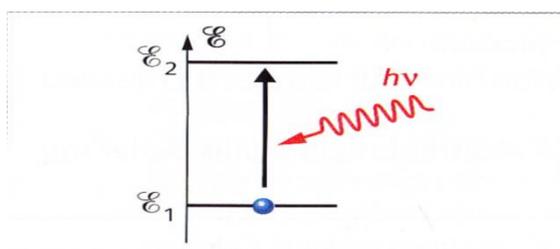


Figure 10 : Absorption d'un photon

$$h \cdot \nu = E_2 - E_1$$

- h : constante de Planck = $6,626 \cdot 10^{-34}$ J.s
- ν : fréquence du photon absorbé (Hz)

Lorsque la molécule se trouve dans un état excité suite à l'absorption d'un photon, elle retourne au plus bas niveau d'énergie de l'état excité par relaxation (transfert d'énergie suite notamment à des collisions).

La durée de vie de ces relaxations vibrationnelles non radiatives est de l'ordre de 10^{-12} s. La molécule revient ensuite dans l'état fondamental soit par conversion interne ou externe (choc avec d'autres molécules) soit par émission de lumière. Cette émission lorsqu'elle a lieu s'appelle la fluorescence. Dans le cas de la fluorescence, la multiplicité de spin est conservée.

II.2.1.2. Emission spontanée d'un photon

Un atome dans un état excité a une énergie supérieure à l'état fondamental. Il va donc essayer de diminuer son énergie en émettant un photon d'énergie égale à la différence entre les énergies des deux états. Le moment auquel l'atome fera cette transition est indéterminé.

$$h \cdot \nu = E_2 - E_1$$

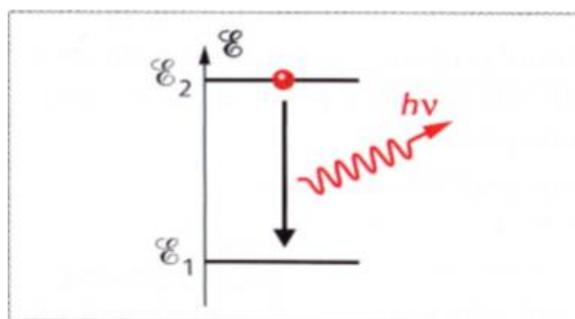


Figure 11 : Emission d'un photon de fluorescence

Le passage d'un état d'énergie à un autre peut se réaliser grâce à une transition radiative ou non radiative :

- la transition radiative est le passage d'une molécule d'un état d'énergie à un autre par absorption ou émission d'un photon,
- la transition non radiative ne met pas en jeu la lumière mais des agents tels que des collisions intermoléculaires, qui entraînent des pertes d'énergie et un changement de niveau d'énergie pour la molécule.

Une molécule fluorescente possède la propriété d'absorber de l'énergie lumineuse (ou lumière d'excitation) et de la restituer rapidement (< 1 n.s) sous forme de lumière fluorescente (ou lumière d'émission).

Cependant, une partie de l'énergie de la lumière d'excitation est absorbée par d'autres molécules du milieu, et l'autre partie est dissipée sous forme de chaleur.

En conséquence, l'énergie de la lumière d'émission est plus faible que celle de la lumière d'excitation : la lumière d'émission a donc une longueur d'onde plus élevée.

La transition radiative est dite :

- **permise**, lorsqu'elle présente une probabilité élevée d'exister (moment de transition non nul). C'est le cas des transitions entre états de même multiplicité tels qu'entre deux états singulets ou entre deux états triplets,
- **interdite**, quand sa probabilité d'exister est faible; c'est le cas des transitions entre niveaux de multiplicité différente, telles qu'entre l'état fondamental et le premier état excité triplet ($S_a \sim T_1$) par exemple.

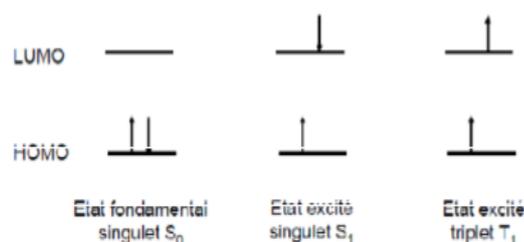


Figure 12 : Représentation des états électroniques moléculaires singulet et triplet

Rappelons que les termes singulet et triplet proviennent de la multiplicité des raies correspondantes en spectroscopie.

Un état singulet possède :

- un moment résultant de spin nul ($S = \frac{1}{2} - \frac{1}{2} = 0$),
- une multiplicité $(2S + 1) = 1$.

Un état triplet possède :

- un moment résultant de spin égal à 1 ($S = \frac{1}{2} + \frac{1}{2} = 1$)
- une multiplicité égale donc à 3.

II.2.2. Absorption électronique

Initialement, la molécule PS est à un niveau d'énergie stable S_0 . Selon la loi de Grotthus-Oraper, il y aura une réaction photochimique quand cette molécule va absorber une radiation électromagnétique de longueur d'onde appropriée. La molécule va alors se trouver dans un état électroniquement excité ($PS + h\nu \rightarrow PS^*$).

La dualité onde-corpuscule a permis à Planck d'écrire une relation exprimant la valeur de l'énergie transportée (photon), qui est inversement proportionnelle à sa longueur d'onde (λ):

$$E(J) = h \cdot \nu = h \times c / \lambda$$

h : constante de Planck $\approx 6,626 \cdot 10^{-34}$ J.s

c : célérité de la lumière dans le vide $= 2,9979 \cdot 10^8$ m.s⁻¹

λ : longueur d'onde du photon (m)

ν : fréquence de la radiation (s⁻¹)

Le processus d'absorption électronique peut être décrit comme étant la collision d'un photon avec l'électron d'un atome ou d'une molécule entraînant la promotion d'un électron dans une orbitale

inoccupée, telle que l'énergie qui la sépare de l'état fondamental représente l'énergie du photon. La molécule est dite alors excitée électroniquement, elle a assimilé l'énergie cédée par le photon.

Ainsi, un photon d'un faisceau lumineux de fréquence ν_a sera absorbé par une molécule si son énergie transportée $h\nu_a$ est égale à la différence d'énergie entre un des niveaux inférieurs de l'état fondamental S_0 et un des niveaux des états supérieurs singulets excités.

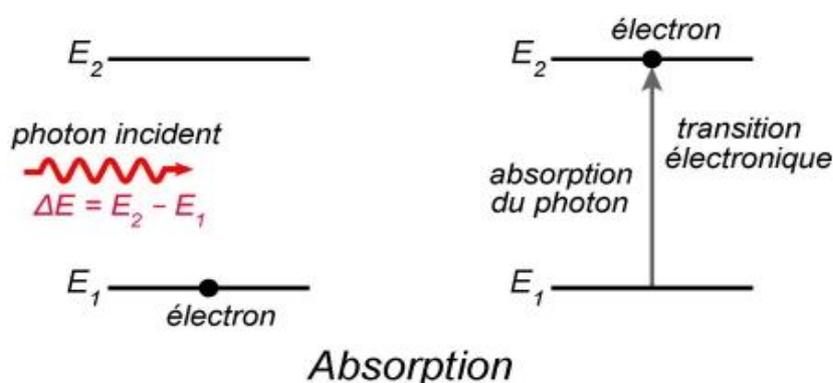


Figure 13: Schéma représentant le processus d'absorption

Les radiations très énergétiques (γ et X) étant difficilement utilisables techniquement et les radiations dans le proche IR étant trop peu énergétiques, la PDT se borne donc aux domaines de l'UV et du visible qui se situe entre 200 et 700 nm.

II.2.3. Description des états excités électroniques

Dans l'obscurité et à température constante, une molécule organique est caractérisée par un état énergétique d'équilibre stable (fondamental, noté S_0), de multiplicité de spin unitaire ($2S + 1 = 1$, état singulet). Cet état est décrit par différentes orbitales moléculaires. Tous les électrons ont leurs spins appariés. Une exception importante est la molécule d'oxygène dont l'état fondamental est un état triplet noté T_0 .

Par absorption directe d'un photon de longueur d'onde λ , la molécule passe à l'état excité singulet S_1 ou plus précisément à certains niveaux vibrationnels S_n . Par rapport à l'état fondamental S_0 la molécule possède l'énergie cédée par le photon $E = h\nu$.

La molécule excitée libère son excédent d'énergie par fluorescence, par conversion inter-système ou par échange d'énergie vibrationnelle avec des molécules voisines non excitées.

Enfin, en passant par un état intermédiaire dit « triplet » responsable des phénomènes de photosensibilisation, l'excès d'énergie de l'état triplet peut être transféré à l' O_2 qui est ainsi

excité et appelé alors oxygène singulet ($^1\text{O}_2$). Le retour de l'état triplet vers l'état fondamental est beaucoup plus lent que celui de l'état singulet vers l'état triplet.

II.2.4. Processus de désactivation de l'état singulet

En absorbant un photon, la molécule passe de l'état fondamental à un état excité (phénomène qui dure 10^{-16} s). Une fois à l'état excité, la molécule ne pourra pas conserver son énergie pendant une très longue durée, elle peut se désactiver à travers des processus radiatifs (émission d'un photon) ou non radiatifs.

Si l'émission se produit entre deux états singulets, le processus est appelé fluorescence. La durée de vie de l'état singulet est très courte, 10^{-9} à 10^{-5} s ; le temps de décroissance de l'intensité de fluorescence sera du même ordre de grandeur.

Si l'émission se produit entre deux états de multiplicité différente (triplet vers singulet), elle est appelée phosphorescence. La désactivation par phosphorescence est interdite par les règles de sélection et est donc relativement lente de l'ordre de 10^{-6} à 1 s.

Dans le cas de la phosphorescence, le passage à l'état excité s'effectue avec un retournement de spin avec passage à un état triplet. Le retour à l'état fondamental s'effectue plus lentement avec émission de photons et un nouveau retournement de spin. L'émission lumineuse dure donc beaucoup plus longtemps même après arrêt de la lumière incidente.

À température ambiante, la phosphorescence est en général un processus très défavorisé, car la désactivation de l'état triplet se fait, de préférence, par un processus collisionnel.

II.2.4.1. Processus non radiatifs

Les désexcitations non-radiatives font intervenir des chocs intermoléculaires ou la génération de vibrations moléculaires, l'énergie étant alors restituée sous forme de chaleur ou dans certains cas, est transformée en énergie chimique par transfert vers les molécules avoisinantes.

Elles n'impliquent pas de photons. Les espèces à l'état excité relarguent l'excès d'énergie sous forme de chaleur par 3 processus :

- **Relaxation vibrationnelle (R)** : la molécule excitée diminue son énergie vibrationnelle dans un seul état électronique (état vibrationnel excité vers un état vibrationnel plus stable). Le processus implique la dissipation d'énergie de la molécule vers ses voisines.

- **Conversion interne (IC)** : se produit quand un état vibrationnel peut se coupler avec un état vibrationnel d'un état de spin de plus basse énergie, généralement suivi par une relaxation vibrationnelle. Cette conversion interne est très rapide (10^{-13} à 10^{-12} s). En fait, la rapidité de ce phénomène est telle que tout se passe comme si la molécule avait été excitée au niveau vibrationnel inférieur de S_1 .
- **Conversion inter-système (ISC)** : correspond à une transition non radiative entre états de multiplicité différente. Ce processus impliquant un changement de spin est interdit par la règle de Wigner mais il pourra néanmoins se réaliser si les interactions spin-orbite sont importantes et/ou si la différence d'énergie entre l'état singulet S_1 et l'état triplet T_1 est faible, ceci favorisant un couplage vibrationnel. Par conséquent, l'ISC présentera une probabilité proportionnelle à l'intensité du couplage spin-orbite et inversement proportionnelle à la différence d'énergie entre l'état singulet S_1 et l'état triplet T_1 . Dans la mesure où l'ISC est plus lente que la conversion interne, la durée de vie de l'état triplet T_1 sera plus longue que celle de l'état singulet.

C'est pourquoi quasiment toutes les réactions photochimiques bimoléculaires ont lieu à partir des états triplets les plus bas (T_1). L'état triplet doit donc être considéré comme un élément primordial dans l'effet photodynamique, initié par une réaction chimique dans laquelle le PS se trouve dans l'état triplet T_1 .

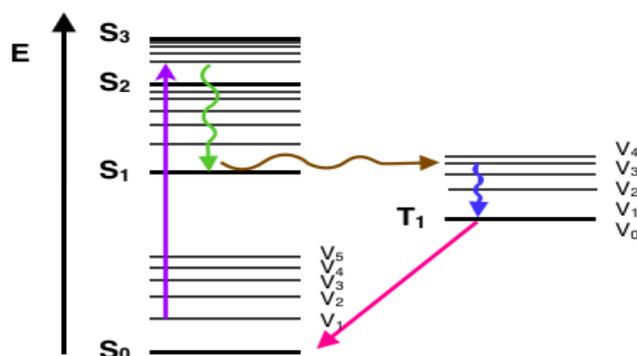


Figure 14: Schéma représentant les processus non radiatifs :
Absorbance, Conversion interne, Conversion intersystème, Relaxation vibrationnelle.

II.2.4.2. Processus radiatifs

Les désexcitations radiatives sont connues sous le nom de fluorescence (désexcitation à partir de l'état singulet excité) ou de phosphorescence (désexcitation à partir de l'état triplet excité).

Au niveau de l'état vibrationnel inférieur S_1 , la molécule restera excitée pendant environ 10^{-9} s puis pourra se désactiver par émission d'une radiation: c'est la luminescence. Elle retourne ensuite à un des états vibrationnels de l'état fondamental S_0 . Ce phénomène correspondant à une transition radiative entre l'état inférieur de S_1 et un des niveaux vibrationnels de S_a , c'est-à-dire entre deux états de multiplicité identique est appelé fluorescence et possède une durée de vie de l'ordre de 10^{-12} à 10^{-6} s. Ce processus photophysique est exploité dans le domaine de la PDT pour la photo-détection des tumeurs (Light Induced Fluorescence = LIF) [25].

Dans le cas où l'émission se réalise entre T_1 et S_a , c'est-à-dire entre des états de multiplicité différente, on parlera de phosphorescence. Ce phénomène correspondant à une transition interdite, sa durée de vie sera par conséquent plus longue que la fluorescence.

a- Fluorescence

La molécule, initialement au repos dans l'état électronique fondamental S_0 , se trouve portée instantanément après absorption d'un photon dans un des états V_1 de l'état S_1 . Très rapidement (10^{-12} s), par processus de conversion interne, la molécule rejoint sans émettre de photon l'état v_0 du niveau S_1 [26].

Ce n'est qu'à partir de là qu'intervient l'étape de fluorescence (10^{-9} à 10^{-7} s) : la molécule retourne dans l'un des états vibrationnels de l'état initial S_0 en émettant de la lumière.

La fluorescence est l'émission de lumière correspondant au saut d'énergie de l'état excité singulet S_1 à l'état fondamental singulet S_0 ($S_1 \rightarrow S_0$).

Au cours de la fluorescence qui accompagne le retour à l'état initial, la molécule peut conserver une partie de l'énergie reçue sous forme d'énergie vibrationnelle. Cet excès d'énergie de vibration est dissipé par collisions ou autres processus non radiatifs appelés mécanismes de relaxation vibrationnelle [27].

b- Phosphorescence

L'absorption d'un photon ne change pas le spin de l'électron (S_1). Si la relaxation vibrationnelle est assez lente, on assiste au retournement de spin de l'électron (conversion inter-système) pour conduire à un état T_1 un peu plus stable que l'état S_1 .

Le retour à l'état fondamental implique un nouveau retournement de spin ($T_1 \rightarrow S_0$). Cette désexcitation radiative est peu probable, donc lente. La durée de vie de la phosphorescence peut aller de quelques secondes à plusieurs heures.

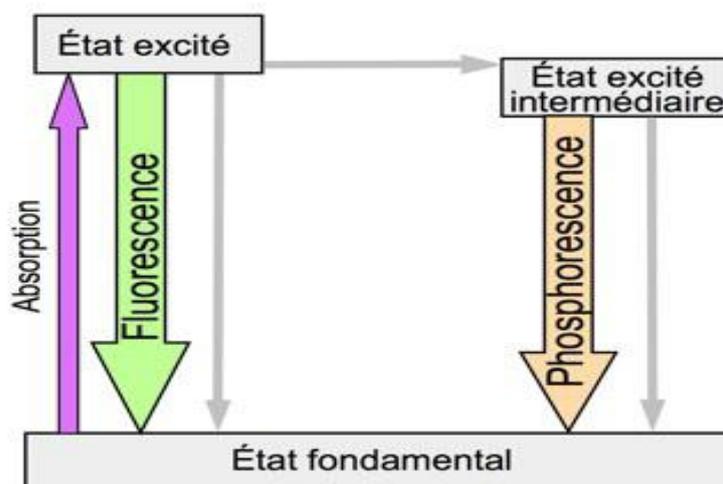


Figure 15: Schéma représentant les processus de fluorescence et de phosphorescence

Tableau 1 : Temps caractéristiques des différentes transitions moléculaires

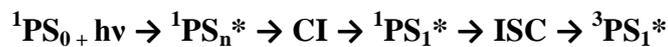
| Transition | Temps caractéristique (s) |
|------------------------------|---------------------------|
| Absorption | 10^{-15} |
| Relaxation vibrationnelle | $10^{-13} - 10^{-12}$ |
| Conversion interne | $10^{-12} - 10^{-6}$ |
| Fluorescence | $10^{-9} - 10^{-7}$ |
| Conversion inter-système S-T | $10^{-12} - 10^{-6}$ |
| Conversion inter-système T-S | $10^{-9} - 1$ |
| Phosphorescence | $10^{-6} - 10^{-3}$ |

II.3. Les concepts photochimiques

La PDT repose sur le principe d'activation du PS par la lumière. L'état électronique triplet du PS est la forme chimique intermédiaire qui en présence d'O₂ conduit à la production des agents cytotoxiques responsables de l'effet thérapeutique.

Le PS est initialement dans son état fondamental (état singulet ¹PS₀). L'absorption d'un photon (hν) provenant d'un rayonnement lumineux (λ appropriée) le fait passer à un état électronique excité (¹PS₁*, ¹PS₂* ou ¹PS₃*...), puis, à l'état électronique excité de plus bas niveau d'énergie ¹PS₁*, par une succession de relaxations vibrationnelles (CI). Il peut alors se produire un retournement de spin, qui, suite à de nouvelles CI, va mener à la formation de l'état triplet excité du PS (³PS₁*).

À ce stade, le retour à l'état fondamental correspond à une transition entre un état triplet excité (³PS₁*) et l'état singulet fondamental (¹PS₀), par la ISC, transition interdite.



Par conséquent, la durée de vie de cet état triplet ³PS₁* est beaucoup plus longue que celle de l'état singulet. Le PS dans son état triplet excité est donc très réactif et peut interagir avec les molécules qui l'avoisinent. Il est à l'origine des réactions photochimiques de types I et II [28].

Le mécanisme de type I implique l'interaction directe du PS à l'état excité triplet avec le substrat cellulaire, alors que dans un processus de type II, le PS à l'état excité réagit d'abord avec l'oxygène moléculaire pour former des espèces réactives de l'oxygène (ERO) susceptibles d'initier d'autres réactions avec les substrats cellulaires.

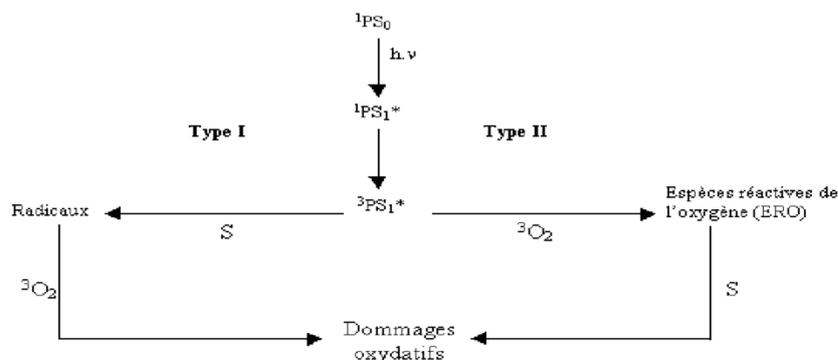


Figure 16 : Les réactions photochimiques de types I et II

II.3.1. Réactions type I

Dans les réactions photochimiques de type I, des radicaux libres sont produits, suite au transfert d'un électron (Equation 2 ou 3) ou d'un atome d'hydrogène (Equation 4 ou 5) entre le PS à l'état triplet et le substrat S. Dans ce cas, le PS va réagir directement avec la molécule d'un substrat réducteur : la réaction de type I est donc un transfert d'atome d'hydrogène ou d'électron à partir de ces substrats réducteurs vers le PS à l'état triplet T_1 .

- Equation 2: ${}^3\text{PS}_1^* + \text{S} \rightarrow \text{PS}^+ + \text{S}^-$
- Equation 3: ${}^3\text{PS}_1^* + \text{S} \rightarrow \text{PS}^- + \text{S}^+$
- Equation 4: ${}^3\text{PS}_1\text{-H}^* + \text{S} \rightarrow \text{PS}^- + \text{SH}^\circ$
- Equation 5: ${}^3\text{PS}_1^* + \text{SH} \rightarrow \text{PS-H}^\circ + \text{S}^\circ$

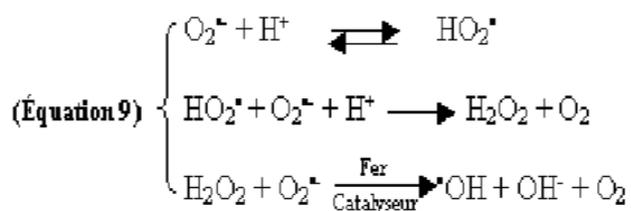
Les espèces radicalaires générées peuvent ensuite réagir rapidement avec l'oxygène moléculaire présent pour former des radicaux peroxydes, initiant ainsi une chaîne d'auto-oxydation (Equation 6 ou 7).

- Equation 6: $\text{PS}^* + \text{O}_2 \rightarrow \text{PS-OO}^\circ$
 - $\text{PS-OO}^\circ + \text{PS-H} \rightarrow \text{PS}^* + \text{PS-OOH}$
- Equation 7: $\text{S}^* + \text{O}_2 \rightarrow \text{SOO}^\circ$
 - $\text{SOO}^\circ + \text{SH} \rightarrow \text{S}^* + \text{SOOH}$

Les anions radicalaires du PS ou du substrat peuvent également interagir de manière efficace avec l' O_2 . Dans ce cas, le transfert d'électron qui a lieu entre les deux réactifs entraîne la formation de l'anion radical superoxyde $\text{O}_2^{\cdot-}$ (Equation 8).

- Equation 8 : $\text{PS}^- \text{ (ou } \text{S}^{\cdot-}) + \text{O}_2 \rightarrow \text{PS (ou S)} + \text{O}_2^{\cdot-}$

L'anion superoxyde $\text{O}_2^{\cdot-}$ peut réagir directement avec différents substrats ou agir comme précurseur d'autres ERO (Equation 9). Il intervient notamment dans la formation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et du radical hydroxyle (OH^\bullet). En conditions physiologiques, H_2O_2 est produit par la dismutation de $\text{O}_2^{\cdot-}$, dont le principe repose sur la protonation de $\text{O}_2^{\cdot-}$ pour former son acide conjugué HO_2^\bullet , suivie par la réaction de HO_2^\bullet avec $\text{O}_2^{\cdot-}$. Le radical hydroxyle peut alors être produit au cours de la réaction de Fenton entre le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 et l'anion superoxyde $\text{O}_2^{\cdot-}$.

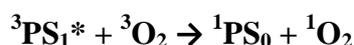


Les différentes ERO formées au cours des réactions photochimiques de type I (H_2O_2 , $\text{O}_2^{\bullet -}$, OH^{\bullet}) représentent de puissants oxydants pour une grande variété de biomolécules telles que le cholestérol ou encore les chaînes latérales de certains acides aminés (tryptophane, histidine et méthionine) [29].

II.3.2. Réactions type II

Les réactions photochimiques de type II reposent sur un transfert d'énergie. Ces réactions nécessitent la présence d' O_2 dès les premières étapes du processus. Il faut également que la différence d'énergie entre $^3\text{PS}_1^*$ et $^1\text{PS}_0$ soit supérieure à la différence d'énergie entre $^1\text{O}_2^*$ et $^3\text{O}_2$. Suite aux mêmes étapes initiatrices que pour les réactions de type I, soient IC et ISC, le PS est dans l'état triplet excité $^3\text{PS}_1^*$ [30].

Du fait de la présence de deux électrons célibataires dans sa couche externe, l'oxygène moléculaire à l'état fondamental, se trouve à l'état triplet ($^3\text{O}_2$). Un transfert d'énergie est alors possible entre $^3\text{PS}_1^*$ et $^3\text{O}_2$ (transition permise car ce sont des états de même multiplicité), il y a alors formation d'oxygène singulet et retour du PS à son état énergétique fondamental ($^1\text{PS}_0$) [31].



L' $^1\text{O}_2$ est une espèce très réactive qui est susceptible de réagir avec des substrats cellulaires situés dans son proche environnement [32].

L'interaction de l'oxygène singulet avec le milieu intracellulaire entraîne des dommages vis à vis de la membrane cellulaire, des mitochondries, des lysosomes, du noyau et induit la nécrose tumorale. L' $^1\text{O}_2$ est une espèce métastable dont la durée de vie varie en fonction du milieu, de 4 μs dans l'eau jusqu'à 100 μs dans un solvant organique non polaire proche de l'environnement lipidique de la cellule [33]. Les dommages aux cellules sont augmentés lorsque le PS et la cible se trouvent dans des régions cellulaires hydrophobes [34].

L' $^1\text{O}_2$ peut également réagir avec le PS à l'état fondamental pour former des produits d'oxydation dits « photoproduits », ce qui provoque une extinction plus ou moins rapide de la fluorescence du PS. Certains de ces produits peuvent être, eux-mêmes, phototoxiques.

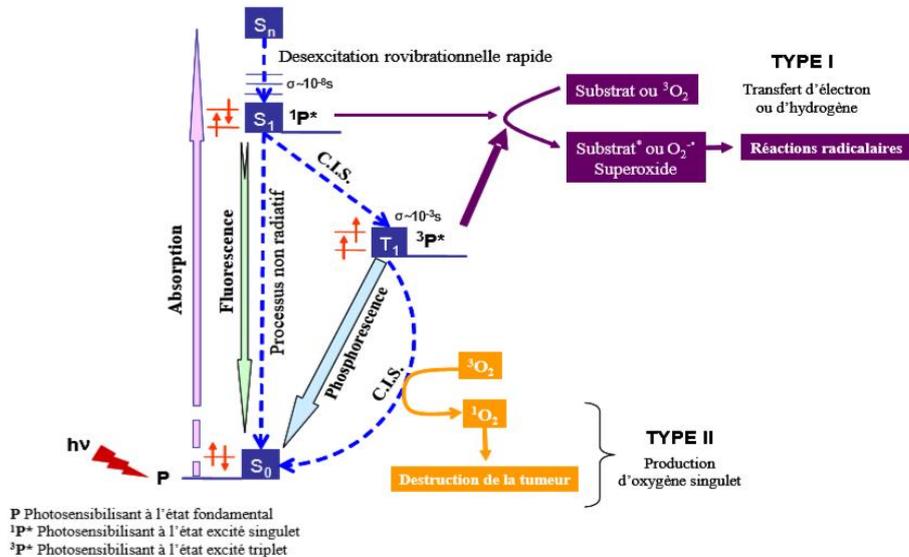


Figure 17 : Mécanisme photochimique de la PDT

La compétition entre ces deux mécanismes (types I et II) est principalement contrôlée par deux paramètres : la nature du PS et la concentration en O_2 . Dans les deux types de photosensibilisation, la durée de vie des espèces réactives est courte, ce qui limite leur diffusion loin de leur zone de formation.

III.1. Introduction

L'activité photodynamique est influencée à différents niveaux individuellement ou collectivement par trois principaux acteurs : la lumière, l'O₂, et le PS. Une thérapie efficace exige la présence de ces trois éléments essentiels dans toutes les régions ciblées et une seule déficience d'un de ces trois éléments empêche toute activité phototoxique.

De plus, l'effet photodynamique global dans une masse tumorale est influencé par la croissance anarchique de la tumeur, l'hétérogénéité tumorale, l'activité métabolique des cellules tumorales, la présence d'anormalités génétiques ainsi que par les conditions de traitements telles que la température, la dose de la lumière, etc.

III.2. Les photosensibilisateurs

On peut définir la photosensibilisation comme le processus suivant lequel un changement photochimique ou photophysique se manifeste au niveau d'une entité moléculaire, comme conséquence de l'absorption initiale de radiations par une autre entité moléculaire appelée photosensibilisateur ou agent photosensibilisant ^[35].

Il existe de centaines de molécules naturelles ou synthétiques, des extraits de plantes aux macrocycles synthétiques, pouvant être utilisés en PDT. On décrira les différentes classes de PS utilisées en PDT ainsi que leurs propriétés requises, et leurs distributions dans le corps humain.

III.2.1. Définition

Les PS sont des molécules absorbant la lumière à une longueur d'onde (λ) qui leur est spécifique et qui sont capables de la transformer en énergie utile. Lors de la PDT, cette énergie participe à la production d'agents létaux cytotoxiques ^[36].

Une des caractéristiques notoires des PS est leur capacité à se loger de façon préférentielle dans les tissus tumoraux, ce qui permet aux réactions cytotoxiques de se localiser principalement dans les tissus cibles.

III.2.2. Photosensibilisateur idéal

Les molécules utilisées en PDT doivent idéalement présenter les caractéristiques suivantes.^[37]

- **Physico-chimiques**

- grand coefficient d'extinction molaire dans le rouge ou le proche IR,
- faible tendance à l'agrégation en milieu aqueux,
- stabilité en présence de protéines,
- longue durée de vie de l'état triplet,
- fort rendement de génération d' $^1\text{O}_2$ et/ou de transferts d'électrons aux molécules du substrat,
- relative stabilité sous flux lumineux,
- forte absorption entre 620 et 800 nm (fenêtre thérapeutique).

- **Pharmacologiques**

- sélectivité vis-à-vis des tissus tumoraux (captation et rétention),
- haute clairance,
- faible toxicité systémique et courte photosensibilisation cutanée induite ^[3].

- **Photothérapeutiques**

- haute phototoxicité,
- absence de potentiel mutagène sous irradiation lumineuse.

III.2.3. Générations des photosensibilisateurs

Ces dernières années de nombreux travaux ont été réalisés afin d'obtenir un PS idéal. Les PS utilisés sont le plus souvent des macrocycles tétrapyrroliques.

Les PS de première génération sont le Hp et ses dérivés. Ils restent difficile à les obtenir purs et présentent de nombreux inconvénients.

Les PS de deuxième génération, obtenus par synthèse, sont chimiquement purs et absorbent dans le rouge, améliorant ainsi la profondeur de l'effet de la PDT.

Les PS de troisième génération sont conjugués à des groupements fonctionnels variés permettant de cibler les cellules tumorales.

III.2.3.1. Photosensibilisateurs de première génération

Les PS de première génération sont issus de Hp et de l'HpD. L'HpD et sa version commerciale Photofrin[®] ont permis le développement de la PDT. En plus de son efficacité, celle-ci est obtenue par un procédé facile à mettre en œuvre et possède un taux élevé de pénétration dans les tissus [38].

L'HpD est obtenu par acétylation de Hp (produit du traitement à l'acide acétique en présence d'acide sulfurique) suivi d'une saponification. L'analyse par HPLC révèle la présence de plusieurs monomères parmi lesquels le Hp (20%), l'hydroxy-éthyl-vinyl-deutéro-porphyrine (20-30%) ou encore la protoporphyrine (3-5%) mais aussi de nombreux oligomères (de 2 à plus de 10 unités) formés de ponts éthers, esters ou carbone-carbone [39].

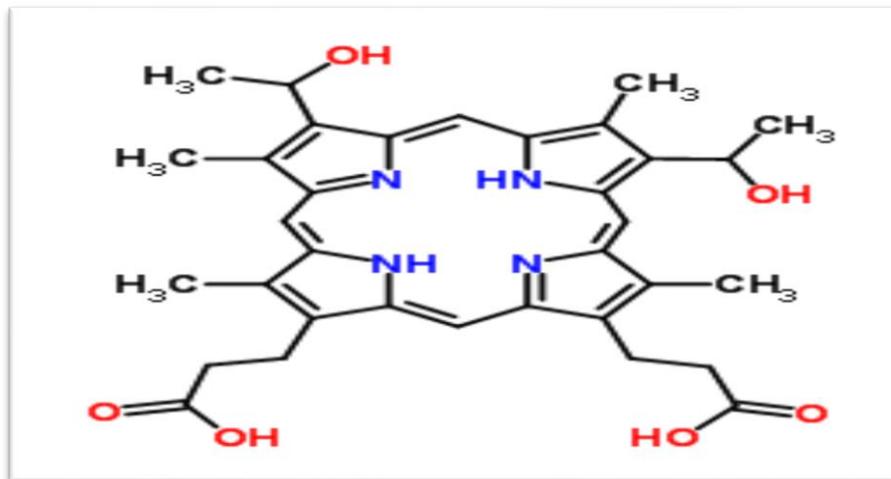


Figure 18 : Structure chimique de Hp

Le Photofrin[®] correspond à la solubilisation de l'HpD dans une base en milieu aqueux. Il est formé de dimères d'HpD et de grands oligomères, qui sont les espèces actives de l'HpD. Il possède une grande activité photodynamique, ce qui fait de lui un bon agent thérapeutique très utilisé en PDT. Mais celui-ci n'échappe pas aux mêmes critiques que l'HpD par rapport à la complexité de sa composition.

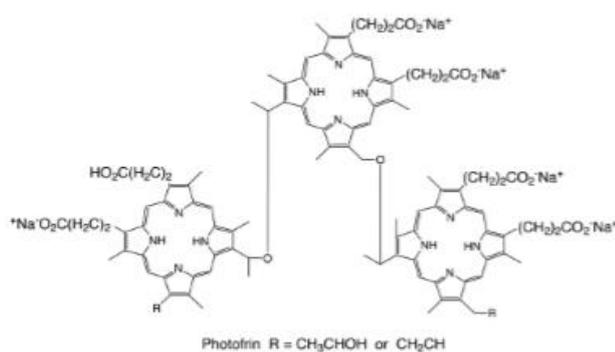


Figure 19: Structure chimique du Photofrin®

Egalement, son utilisation nécessite une période sans lumière pour le patient après traitement (4 à 6 semaines). De plus, celui-ci absorbe dans la région de faibles longueurs d'ondes qui correspondent à une faible pénétration dans les tissus [40].

Ces premiers agents sont incontestablement phototoxiques. Cependant, ils présentent beaucoup de limites :

- la préparation d'un échantillon n'est pas reproductible et il est donc difficile d'obtenir les mêmes propriétés photodynamiques d'un lot médicamenteux à l'autre,
- leur durée de vie dans l'organisme est importante (3 à 5 semaines) entraînant une photosensibilisation du patient qui doit être maintenue en chambre noire pendant encore quatre à huit semaines après l'acte thérapeutique,
- leur faible sélectivité pour les cellules malignes nécessite une application lumineuse extrêmement précise, les tissus sains avoisinants sont sérieusement endommagés, et
- leur indication reste limitée aux traitements de tumeurs épithéliales superficielles (bronchiques, œsophage) car les photons les plus efficaces pour exciter ces PS ($\lambda = 420$ nm) sont peu pénétrants [41].

III.2.3.2. Les photosensibilisateurs de deuxième génération

Les PS de deuxième génération les plus utilisés sont les porphyrines, les chlorines et les bactérochlorines. Tous ces composés sont caractérisés par une bande d'absorption située entre 600 et 800 nm.

Elle est située aux alentours de 630 nm pour les porphyrines, alors qu'elle se trouve à 650 nm pour les chlorines et vers 710 nm pour les bactérochlorines [42]. Ces PS présentent une faible toxicité en absence de lumière.

En plus de leurs propriétés de fluorescence, les dérivés de porphyrines montrent de bons rendements quantiques de production d' $^1\text{O}_2$ (Exemples : Foscan[®] et la Visudyne[®]).

m-THPC, est un dérivé de porphyrine avec une double liaison réduite. Cette chlorine, également appelée témoporphyne, a été développée sous le nom de Foscan[®] (Scotia Pharmaceuticals). Cette molécule est photo-activée à 652 nm, avec une densité d'excitation de 10 J/cm^2 , dose suffisante pour causer des dommages tissulaires. Par conséquent le temps d'irradiation est dix fois moindre par comparaison à d'autres PS [43].

Cependant, le Foscan[®] présente une faible sélectivité pour les tissus tumoraux, l'irradiation des tissus malades doit donc être extrêmement précise et localisée afin de ne pas causer de dommages aux tissus sains avoisinants. Il est couramment utilisé contre les cancers de l'œsophage, du poumon, du larynx et de la peau [44].

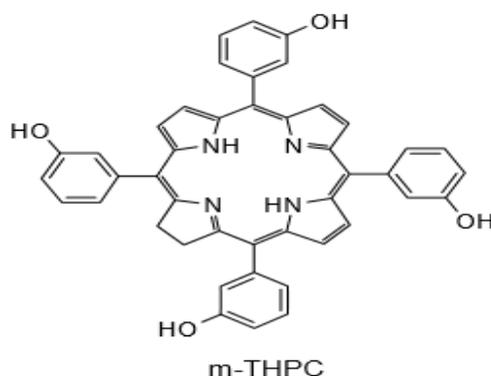


Figure 20: Structure chimique du m-THPC (Foscan[®])

La Visudyne[®] est un dérivé de benzoporphyrine recommandé par l'administration américaine Food and Drug Administration (FDA), autorisé en Europe pour le traitement des néovascularisations de la rétine, et en essais cliniques de phase III en Amérique du Nord pour le traitement du cancer de la peau.

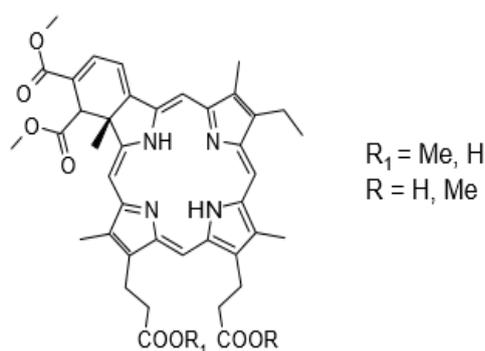


Figure 21: Structure chimique du Verteporphine (Visudyne[®])

Il existe aujourd'hui d'autres classes de molécules présentant un réel intérêt en PDT, comme les phtalocyanines, les texaphyrines, l'acide aminolévulinique ou encore l'hypericine.

Le 5-ALA, est l'un des PS les plus largement étudiés pour la PDT au cours des dix dernières années. Il s'agit d'un précurseur puissant, la (PpIX). Par réaction intracellulaire, la présence du 5-ALA concentré favorise la formation de PpIX, PS endogène ^[45].

Le 5-ALA présente un certain nombre d'avantages importants par rapport à d'autres composés utilisés en PDT, il peut être utilisé :

- en application locale sous forme de crème, de gel, ou en solution liquide pour instillation, et même en spray ou aérosol pour inhalation,
- mais aussi systématiquement sous forme de boisson en solution aqueuse.

Comme il s'agit d'une substance endogène, les effets secondaires sont minimes. La PpIX est produite au niveau des cellules cibles, ce qui minimise les effets collatéraux de l'irradiation. Parmi les restrictions concernant l'utilisation de ce PS en PDT, figure la pénétration limitée du 5-ALA dans le tissu tumoral. L'estérification du 5-ALA avec des chaînes aliphatiques de différentes longueurs le rend plus lipophile et renforce sa captation au niveau des tissus superficiels et profonds.

Les PS de deuxième génération, bien que présentant des avancées considérables par rapport à la première génération, sont encore loin de constituer des PS idéaux. De nombreux paramètres peuvent et doivent encore être optimisés telles les propriétés d'absorption de la lumière, la production d¹O₂, la biodistribution dans l'organisme, le ciblage de la tumeur ou encore les processus de métabolisme permettant son élimination.

Cependant, ils sont hydrophobes rendant leur administration par voie IV difficile. Ces PS ont tendance à s'agréger une fois dans la circulation sanguine ce qui a pour conséquences de diminuer leur efficacité in vivo et de conduire à une pauvre sélectivité tumorale. Ce qui a conduit au développement des PS de troisième génération.

III.2.3.3. Les photosensibilisateurs de troisième génération

Les PS de troisième génération sont des PS de deuxième génération modifiés de manière à favoriser leur accumulation préférentielle dans le tissu tumoral pour réduire les effets indésirables. Ces modifications, se traduisent par l'addition de divers groupements chimiques

(acides aminés, sucres, protéines, polymères, hydrates de carbone), par le couplage à des anticorps spécifiques ou l'inclusion du PS dans des vecteurs (liposomes, micelles, NP).

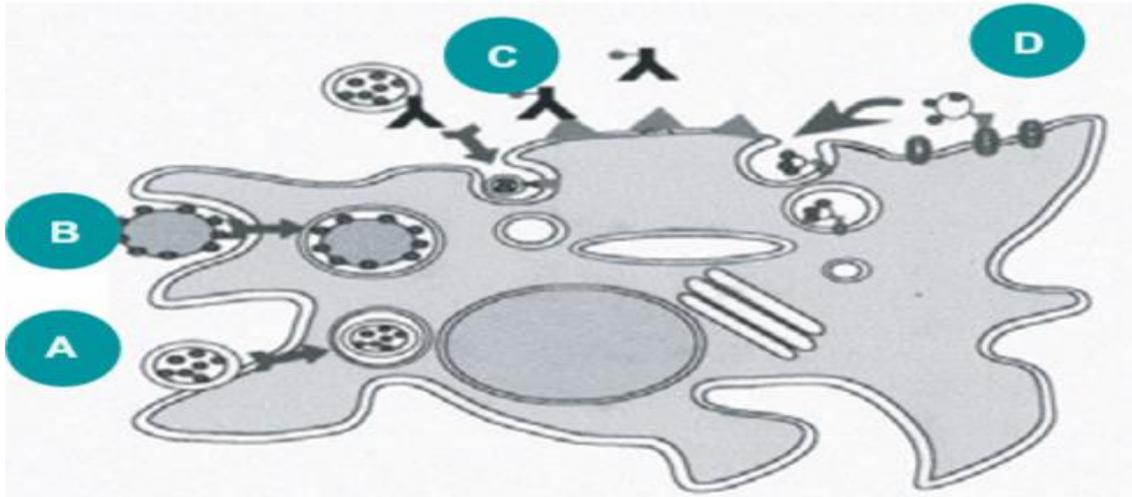


Figure 22: Stratégies de ciblage des PS vis-à-vis des cellules néoplasiques ^[46]

- Ciblage passif : véhiculés par les liposomes (A), délivrance par des microsphères ou NP (B).
- Ciblage actif : PS conjugués directement à un anticorps ou via un liposome, une NP (C), adressage par conjugaison avec un ligand spécifique de récepteurs membranaires (D).

a. Ciblage actif : adressage

Le ciblage actif est une technique qui s'appuie sur les particularités phénotypiques (prolifération anarchique, capacité à migrer et à former des métastases, interactions avec l'environnement) ^[47] et fonctionnelles des cellules cancéreuses.

Il repose sur l'interaction spécifique entre le PS et les récepteurs des cellules tumorales. Le PS est couplé à une molécule d'adressage via un espaceur présentant une forte affinité avec les récepteurs spécifiques.

Cette technique permet donc l'accumulation des PS dans les cellules cancéreuses en modifiant leur pharmacocinétique et leur biodistribution au dépend des cellules saines, renforçant ainsi la sélectivité et l'efficacité de la PDT. Ainsi, la phototoxicité des cellules saines peut être diminuée.

Le ciblage tumoral peut être réalisé par adressage par des sucres, des anticorps, des protéines ou peptides, des stéroïdes, des toxines ou encore des facteurs de croissance épidermiques.

❖ Adressage par des sucres

L'adjonction de sucres sur des PS de type cycles tétrapyrroliques permet de rendre le PS plus hydrophile. De plus, l'activité de croissance accrue des cellules cancéreuses se traduit souvent par une glycolyse augmentée par rapport aux cellules saines. Cette stratégie d'adressage permet

alors d'assimiler activement les sucres greffés à la surface des PS par endocytose en milieu aqueux [48].

❖ Utilisation d'anticorps monoclonaux

Cette stratégie consiste à produire un anticorps spécifique d'un antigène tumoral et à l'utiliser afin de détruire les cellules tumorales ou à le faire produire par l'organisme du patient.

❖ Adressage par des peptides

Les peptides sont des séquences de moins de cinquante acides aminés qui peuvent interagir de manière spécifique avec différentes protéines, notamment avec celles qui constituent les récepteurs. Leur petite taille offre l'avantage d'un contrôle plus facile du site de greffage d'une molécule thérapeutique, permettant ainsi d'éviter d'éventuels problèmes de dénaturation.

Les peptides ainsi utilisés en tant que molécules de ciblage peuvent alors servir à internaliser un PS de manière spécifique mais aussi à modifier sa localisation intracellulaire, ou encore à s'assurer de son activation dans le stroma tumoral.

❖ ciblage du récepteur à l'acide folique

L'acide folique, connu également sous le nom de vitamine B9, agit en tant que coenzyme dans le transfert de groupements méthyles et joue un rôle important dans la réplication de l'ADN. Son récepteur (RAF) est surexprimé dans de nombreux cancers humains, notamment les tumeurs cérébrales et pulmonaires [49].

Dans les cancers ovariens, il constitue un marqueur de choix. De plus, l'expression du RAF est très limitée au niveau des tissus sains.

b. Ciblage passif

Les PS présentent une sélectivité relative envers les cellules cancéreuses due à la nature même de la tumeur et du stroma environnant. Leurs structures chimiques jouent aussi un rôle important. Grâce à leurs propriétés physico-chimiques (charge, taille, balance hydrophile/hydrophobe), les PS peuvent générer des interactions préférentielles avec le milieu particulier que constitue le stroma tumoral.

Cependant, il est possible d'améliorer la sélectivité du PS envers les tissus à traiter par un choix adéquat de vecteurs, appelés aussi transporteurs. Un bon transporteur ne doit altérer ni

l'efficacité, ni l'affinité du PS pour les cellules cancéreuses. Il doit être aussi biodégradable et sans immunogénicité.

Il existe deux types de transporteurs :

- les vecteurs incorporants qui englobent le PS au sein de leur structure (liposomes, micelles, nano-objets), et
- les vecteurs non-incorporants (lipoprotéines de basse densité -Low Density Lipoprotein-LDL, albumine) qui sont liés au PS de façon covalente.

❖ Les vecteurs non-incorporants

Les LDL jouent un rôle important dans la sélectivité des PS hydrophobes. En effet, il a été démontré par Allémann et al. ^[50] qu'après administration, les PS sont véhiculés dans le flux sanguin au sein d'agrégats de LDL présentant des apoprotéines à leurs pôles qui sont reconnus par des récepteurs spécifiques.

L'albumine, protéine la plus abondante du sérum humain, a aussi été utilisée comme transporteur non-incorporant. En effet, un taux élevé d'albumine a été décelé dans les masses tumorales dû à l'augmentation du métabolisme et à la prolifération excessive des cellules cancéreuses. Ainsi, une association liant le PS à l'albumine pourrait être réalisée.

Cependant, de telles molécules possèdent une très faible solubilité dans les milieux aqueux, ce qui pose un problème quant à leur mode d'administration.

❖ Les vecteurs incorporants

Les liposomes sont des vésicules phospholipidiques pouvant incorporer différentes molécules lipophiles ou hydrophiles. Cette stratégie de vectorisation rencontre un certain intérêt en PDT. Lasalle et al. ^[51] ont étudié les propriétés pharmacologiques du Foslip[®], une formulation de Foscan[®] incorporé dans des liposomes.

Bien que l'accumulation du PS dans la tumeur soit plus lente lors de l'utilisation des liposomes (72 heures contre 24 à 48 heures pour le traitement classique) ^[52], l'efficacité maximale du traitement a été déterminée à la 6^{ème} heure après injection, alors que le PS se situe dans les cellules tumorales et vasculaires.

Les micelles améliorent la solubilité du PS grâce à l'utilisation d'un agent émulsifiant qui favorise l'internalisation de ce dernier dans la cellule. Master et al. ^[53] ont encapsulé la

phtalocyanine (Phtalocyanine 4, Pc4) dans des micelles et constaté une phototoxicité significativement améliorée comparée à celle de la formulation standard du Pc4.

Les NP représentent une alternative aux liposomes et autres micelles. Plusieurs types de particules sont utilisés (NP métalliques, polymères, etc). Elles se distinguent par leur taille et par la localisation du PS au sein de leur structure.

La NP peut agir comme un transporteur dont la pénétration dans la cellule entraîne la libération du PS augmentant son internalisation. Le PS peut rester lié à la NP à partir de laquelle il génère l'oxygène singulet. La NP peut aussi directement générer l'oxygène singulet à l'origine de l'effet photodynamique. Enfin, elle peut absorber l'énergie lumineuse et la transmettre au PS qui génère l'oxygène singulet.

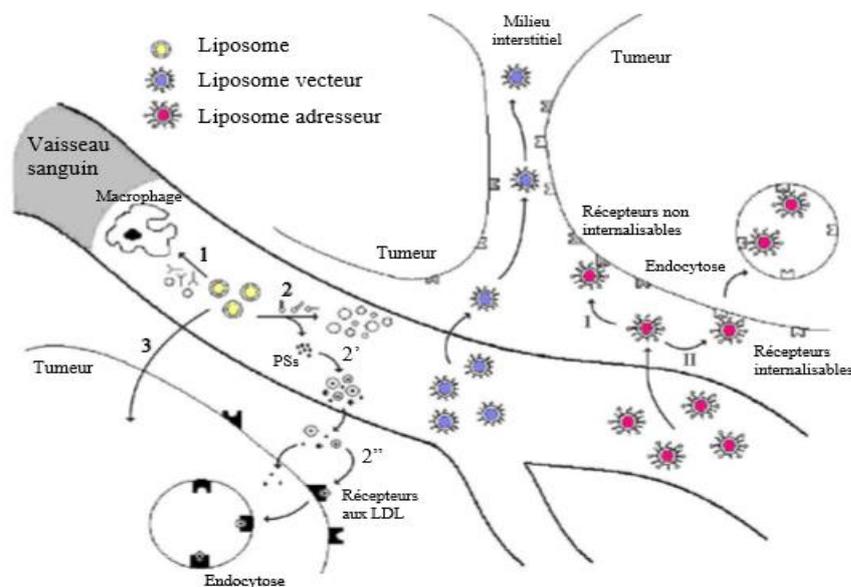


Figure 23 : Comportement de différents types de systèmes vecteurs des PS

- Les liposomes (jaune) ont une durée de vie plasmatiche courte du fait de leur prise en charge par les macrophages (1) ou en raison de leur interaction avec les lipoprotéines plasmatiques, suivie par la désintégration des liposomes et la libération des PS (2).

Les PS peuvent ensuite s'associer avec les protéines plasmatiques (2') et entrer dans la tumeur par endocytose via les récepteurs aux LDL (2'').

Une petite fraction des liposomes conventionnels atteint la tumeur dans sa formulation originale et permet l'absorption intracellulaire des PS directement par leur liaison aux protéines de surface (3).

- Les particules de polymère (violet) s'accumulent dans le milieu interstitiel des tumeurs sans incorporation intracellulaire.

- Les systèmes adresseurs (rose) peuvent se fixer à la surface des tumeurs sans internalisation (I) ou entrer dans la tumeur par endocytose via des récepteurs spécifiques internalisables (II).

Tableau 2: Caractéristiques des principaux PS utilisés en clinique

| Molécule | Structure | λ_{\max} absorption (nm) | Dose PS (mg/kg) | Intervalle drogue- lumière (heure) | Types de cancers |
|---|--|--|--------------------|---|---|
| - Porfimer Sodium (Photofrin [®]) | Porphyrine | 630 | 2 | 48-72 | Poumon, Œsophage, Voie biliaire, Vessie, Cerveau, Ovaire |
| - Acide 5 aminolévulinique/ALA (Levulan [®] , DUSA Pharmaceuticals) - et ses Esters (Metvix [®] , Photocure), - Précurseurs de la Protoporphyrine IX (PpIX) | ALA et Esters : précurseur porphyrine | 635 (PpIX) | 20%, topique | 3-6 | ALA : Peau, Vessie, Cerveau, Œsophage. Esters ALA : Peau, Vessie |
| - mésoTétraHydroxyPhénylChlorine (mTHPC) ou - Témoporfine (Foscan [®] , Biolitec) | Chlorine | 652 | 0,1-0,15 | 96 | Tête, Cou, Poumon, Cerveau, Peau, Voies biliaires |
| Benzoporphyrinederivativemonoacid ring A (BPD-MA) ou - Verteporfin (Visudyne [®]) | Chlorine | 690 | 0,2-0,6 | 0,1-0,25 | Œil, Peau Pa-ncréas |

III.2.4. Localisation des photosensibilisateurs

La répartition des PS dans le sang après injection IV, leur rétention dans la tumeur et leur voie d'élimination semble dépendre de la nature même.

Tout d'abord, ce PS va se distribuer entre les différents constituants sanguins. Cela implique la désagrégation du PS ou sa dissociation du système de vectorisation, sa liaison aux protéines plasmatiques et son association aux cellules sanguines.

Ensuite, le PS va se lier aux parois des vaisseaux sanguins et après extravasation, va alors diffuser dans le milieu extracellulaire des tissus ou organes et pénétrer dans les cellules tumorales.

Au final ce PS sera éliminé par drainage lymphatique et/ou par rétention et clairance des organes.

Les PS sont classés en 3 catégories en fonction de leurs caractéristiques physico-chimiques : les PS hydrophobes (cationique), hydrophiles (anionique) et amphiphiles (neutre).

De façon générale, les PS de nature hydrophile se lient aux albumines, les PS amphiphiles ont plutôt tendance à s'associer aux lipoprotéines plasmatiques de type albumines et lipoprotéine de haute densité (HDL) et les PS hydrophobes s'associent aux LDL.

Le transfert du PS aux différentes protéines sériques influence sa pharmacocinétique et sa biodistribution. L'incorporation de celui-ci dans un vecteur va considérablement modifier son devenir dans la circulation sanguine et sa localisation intracellulaire ^[54].

Les propriétés de prolifération du tissu représentent un élément important pour l'accumulation du PS. Cette accumulation est favorisée par un nombre élevé de récepteur aux LDL et/ou par le faible pH interstitiel du tissu cible. L'augmentation du catabolisme du cholestérol dans les tissus hyper-prolifératifs conduit à une surexpression des récepteurs au LDL, c'est pourquoi les LDL en liant le PS peuvent assurer sa distribution ciblée dans les tissus hyper-prolifératifs tel que le tissu tumoral.

De plus, le microenvironnement tumoral et en particulier le pH légèrement acide du milieu extracellulaire tumoral joue un rôle important en gouvernant les propriétés physico-chimiques du PS et ainsi facilitant son entrée dans l'environnement intracellulaire. En effet, le pH va influencer les interactions entre le PS-LDL, pouvant ainsi jouer un rôle dans la rétention sélective du PS dans la tumeur.

III.2.4.1. Localisation subcellulaire des PS

La distribution subcellulaire des PS dépend en grande partie de leur degré d'hydrophobicité. L'état d'agrégation des PS, leur concentration extra et intracellulaire ainsi que les protocoles d'incubation sont des paramètres également susceptibles d'influencer la localisation subcellulaire.

Les PS hydrophobes ont la capacité de traverser les membranes plasmiques via un processus de diffusion passive pour aller se localiser dans les structures membranaires des différents organites intracellulaires. Les organites présents dans la zone périnucléaire tels que l'appareil de Golgi et le réticulum endoplasmique sont les premiers concernés ^[55].

En revanche, le noyau n'est pas un organe cible des PS ce qui, dans un contexte clinique, est d'une importance capitale car cela évite la formation de dommages au niveau de l'ADN qui pourraient avoir des effets carcinogènes irréversibles.

L'Hypéricine, particulièrement hydrophobe, se localise préférentiellement dans le réticulum endoplasmique après internalisation. De plus le rôle essentiel que joue la mitochondrie dans l'initiation de l'apoptose par la PDT est incontestable.

Pendant l'irradiation, des phénomènes de relocalisation peuvent avoir lieu. Certaines porphyrines cationiques initialement localisées dans la membrane plasmique peuvent être libérées dans le cytosol. Il en est de même pour certains PS initialement localisés dans les lysosomes.

L'accumulation dans la mitochondrie de PS tels que les composés lipophiliques cationiques, peut être facilitée par le gradient électrochimique de la membrane mitochondriale.

De plus, les PS neutres peuvent également s'accumuler dans la mitochondrie de par leur affinité particulière pour certains types de lipides tels que la cardiolipine (exemple : Pc4) ou le phosphatidyl glycol qui sont très présents au niveau de la membrane interne de la mitochondrie [56].

Les porphyrines endogènes, et parmi elles la PpIX, sont également des ligands des récepteurs périphériques des benzodiazépines (PBR) localisés dans la mitochondrie. D'autres porphyrines de structure voisine de la PpIX ont également une forte affinité pour les PBR.

De manière générale, la photoactivation de PS localisés dans les lysosomes et la membrane plasmique induit la mort des cellules par nécrose, alors que celle des PS localisés dans les mitochondries induit l'apoptose.

La localisation subcellulaire de la porphyrine apparaît diffuse, alors que celle de la phtalocyanine est granulaire. La porphyrine se répartit rapidement dans toutes les membranes alors que la phtalocyanine reste piégée dans les endosomes ou les lysosomes.

Cette approche ouvre la voie à une conception rationnelle de PS basée sur leur structure. Beaucoup reste à faire cependant pour modéliser ainsi les mécanismes de localisation de PS, tant leurs propriétés sont modulables en fonction de la variété des chaînes latérales qu'ils peuvent porter.

La localisation de certains PS dérivés de porphyrines et de phtalocyanines au niveau membranaire puis après endocytose au niveau des vésicules d'endocytose a permis d'explorer

une autre application dénommée la PCI (Photo Chemical Internalization ou internalisation photochimique). C'est un procédé original qui permet d'accroître la pénétration intracellulaire des macromolécules (protéines, plasmides, polymères).

La PCI repose sur la destruction photochimique des vésicules d'endocytose obtenue par photo-irradiation de cellules ou de tissus préalablement exposés à un PS se localisant au niveau membranaire. Son efficacité dépend très étroitement du PS utilisé ^[57].

Les PS hydrophiles quant à eux, n'ont pas la capacité de diffuser au travers de la membrane plasmique et sont incorporés dans la cellule par endocytose.

III.2.4.2. Localisation intratissulaire

La plupart des PS étant hydrophobes, il a été suggéré une liaison de ces composés avec les lipoprotéines basse-densité LDL. Les cellules néoplasiques exprimant des taux supérieurs de récepteurs aux LDL par rapport aux cellules normales, ceci pourrait expliquer le fait que les PS s'accumulent préférentiellement dans le tissu tumoral.

L'Intervalle Drogue-Lumière (IDL), qui est l'espace-temps entre l'injection du PS et l'irradiation, détermine la distribution du PS dans les différents compartiments de la tumeur. Les temps courts, de quelques minutes à quelques heures, étant associés à une localisation vasculaire des PS alors que les temps longs (> 24h) favorisent leur accumulation dans le tissu tumoral.

Une étude récente de Mitra et al, montre la distribution temporelle et spatiale du Foscan[®] dans la tumeur en fonction de la distance des vaisseaux. Ces données peuvent permettre de mieux appréhender après PDT les dommages photoinduits au niveau des compartiments vasculaires et/ou parenchymateux et leurs répercussions dans l'efficacité du traitement ^[58].

III.3. La lumière

Une excitation efficace du PS nécessite une source lumineuse générant une quantité suffisante de photons d'une longueur d'onde adaptée aux spectres d'absorption électronique du PS.

La phototoxicité dépend surtout du type de cellules cancéreuses, de la dose de lumière administrée et bien sûr de la localisation intracellulaire du PS.

III.3.1. Définition

La lumière est l'un des trois constituants essentiels de la PDT. De la simple lumière du jour jusqu'aux Lasers à longueur d'onde et puissance variables et précises, elle est le facteur déclencheur de la réaction de la thérapie.

La sélectivité du traitement à la PDT peut être obtenue grâce à l'accumulation sélective du PS dans la tumeur, mais aussi par une illumination très ciblée sur le tissu voulu, évitant ainsi tout dommage inutile aux tissus sains environnants.

Chaque agent requiert une longueur d'onde (λ) et une intensité spécifiques. La longueur d'onde émise par les lumières d'excitation détermine la profondeur de pénétration sous-cutanée pour atteindre les cellules cancéreuses.

La pénétration de la lumière (δ) dans les tissus est un élément limitant de la PDT. Elle est influencée par plusieurs facteurs : sa longueur d'onde, le type et la pigmentation du tissu, la dimension et la localisation de la tumeur ainsi que les caractéristiques d'absorption du PS. Les sources de lumière utilisées sont soit des lampes, soit des Lasers ou des diodes électroluminescentes.

Le coefficient d'atténuation du tissu décrit la diminution exponentielle de l'intensité lumineuse en fonction de la distance parcourue. À titre d'exemple, la valeur de δ dans un rétinoblastome (tumeur de rétine) est de 1,6 mm à 514 nm, et de 3,3 mm à 630 nm. Pour un tissu de mélanome de cellules B16, pigmenté, δ a une valeur de 0,5 mm à 630 nm. Des valeurs sont publiées dans la littérature mais les techniques de détermination sont délicates et les résultats ne sont pas toujours cohérents.

La zone allant de 620 à 800 nm est la seule à présenter une relation étroite entre la profondeur de pénétration de la lumière et la longueur d'onde de la source lumineuse incidente. Ainsi, à l'intérieur de cette fenêtre thérapeutique, plus la longueur d'onde est élevée et plus la lumière pénètre profondément dans les tissus (3-8 mm de 630 à 800 nm) ^[59].

À 600 nm, la forte capture des photons émis par l'hémoglobine limite fortement la pénétration de la lumière dans le tissu. Tandis qu'une lumière de longueur d'onde supérieure à 900 nm n'émet pas une énergie suffisante permettant la production de 1O_2 .

La lumière bleue pénètre moins profondément dans les tissus que la lumière rouge et IR. Le rouge est peu absorbé et pénètre plus profondément dans les tissus. Ainsi la lumière verte (514 nm) est choisie pour des effets superficiels (la figure 24).

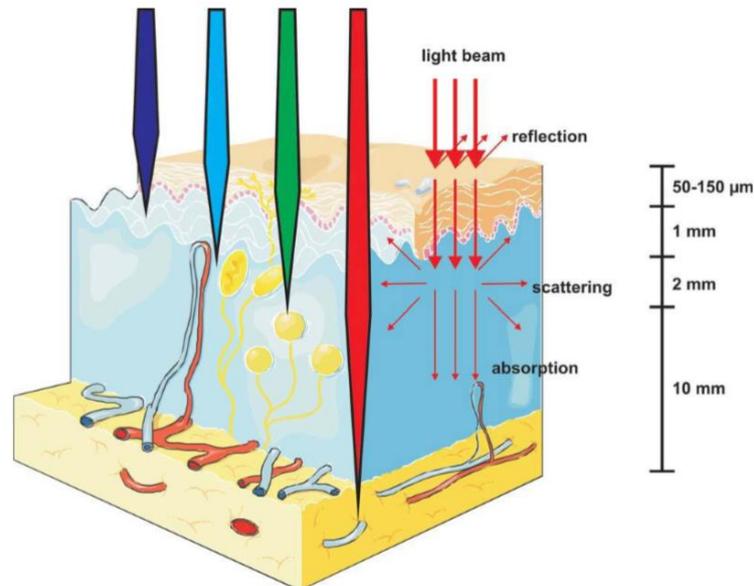


Figure 24: Propagation de la lumière à travers les tissus ^[60]

III.3.2. Les sources de lumière utilisées

III.3.2.1. Les lampes

Les lampes à gaz type xénon, halogènes ou vapeur de mercure sont utilisées pour les traitements PDT. La lumière émise est filtrée pour sélectionner la longueur d'onde adéquate pour l'activation du composé PS ainsi que pour éliminer les composantes infrarouges. De par leur faible intensité (généralement d'environ 50 mW), les lampes présentent des limites d'utilisation.

III.3.2.2. Les Lasers

L'introduction des Lasers et des fibres optiques, a favorisé le développement de la PDT. L'émission stimulée (émission induite) joue un rôle clé dans le fonctionnement des Lasers.

Un faisceau Laser est un faisceau de lumière cohérente, qui se distingue de la lumière émise par les lampes classiques (lampes à incandescence, tubes fluorescents, diodes électroluminescentes).

Celles-ci émettent leur lumière dans des directions multiples, ce qui est bien adapté pour éclairer une pièce ou une région de l'espace.

Lorsqu'il se propage, même sur de grandes distances, le faisceau Laser reste bien parallèle et localisé : cette propriété est la cohérence spatiale. Une autre caractéristique du faisceau Laser, qui apparaît dans le domaine visible, est sa couleur bien souvent pure. Dans certains cas, il est quasi monochromatique, dans d'autres il n'est composé que de certaines longueurs d'onde particulières ; cette propriété est la cohérence temporelle.

Les photons d'un faisceau Laser sont dans un seul mode du champ ou dans un nombre restreint de modes. On dispose d'une puissance élevée et grâce aux fibres optiques, on peut atteindre quasiment tous les sites de l'organisme par voie interstitielle ou endoscopique.

a- Principe de fonctionnement de Laser

Un appareil Laser est constitué de trois éléments de base :

1. Un milieu actif, qui peut être :

- un solide
- un gaz
- un liquide
- un semi-conducteur
- une fibre optique

Le milieu est constitué de matière (réservoir d'électrons) et que l'on va exciter. Ce milieu va ensuite restituer, sous forme d'un rayonnement, l'énergie mobilisée. C'est le milieu actif qui donne son nom au Laser, car il définit la longueur d'onde des photons émis.

2. Un dispositif d'excitation, dit système de pompage : source d'énergie extérieure utilisée pour exciter les atomes du milieu actif, et pouvant être de nature :

- optique (lampe flash, lampe à Arc, autre Laser) : pour les Lasers à corps solides et les Laser à colorants,
- décharge électronique : pour les Lasers à gaz,
- décharge électrique : pour les Lasers à diodes.

3. Un milieu amplificateur ou cavité de résonance : dont le but est d'augmenter la densité de lumière grâce au principe d'émission stimulée.

Les photons sont émis dans le milieu amplificateur entre deux miroirs dont l'un est réfléchissant et l'autre l'est partiellement, laissant passer les photons (de même phase, de même fréquence, même direction et même couleur), par une ouverture, formant le faisceau Laser.

La cavité peut comprendre également des éléments dispersifs : prisme, réseau, lentilles.

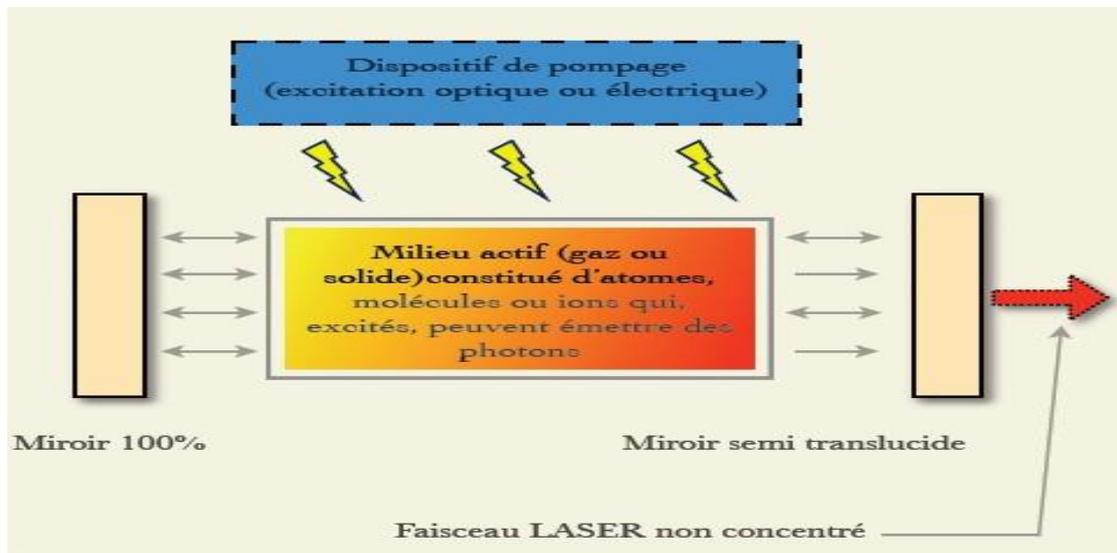


Figure 25 : Principe de fonctionnement du Laser

Une fois constitué, le faisceau Laser est transmis par différentes technologies :

- une fibre optique : solide et souple, elle peut transmettre de grandes puissances avec un bon rendement, mais elle ne peut transmettre que dans le proche UV, le visible et le proche IR,
- un bras optique : constitué d'une succession de tubes articulés et de miroirs réfléchissants : il est utilisé pour l'UV lointain, les Lasers-Q-switchés, ou pour l'infrarouge lointain (CO₂).

Le Laser peut émettre :

- en mode continu, produisant de 1 à 10 Watts (W), avec des durées d'impulsions allant de millisecondes aux secondes. Le milieu actif est excité de manière continue par le système d'énergie extérieure,
- en mode impulsionnel relaxé, produisant des kilowatts, avec des impulsions allant de la milli aux microsecondes,
- en mode impulsionnel déclenché, produisant des mégawatts, avec des durées d'impulsion de l'ordre de la nanoseconde. La puissance du Laser est très importante, pendant un minimum de temps réduisant l'élévation de température dans l'appareil.

La puissance est inversement proportionnelle au temps d'émission du Laser.

b- Les sources Lasers

L'utilisation des Lasers nécessite des mesures de sécurité. Les sources Lasers sont classées en quatre grandes classes (notées 1 à 4 en fonction de leur nocivité croissante au niveau oculaire).

Les Lasers utilisés en PDT sont généralement de classe 2, pour certaines diodes de classe 3.

Tableau 3 : Classification des sources de Laser en fonction de leur puissance et de leur nocivité

| Classe de Laser | Puissance, nocivité |
|------------------------|--|
| 1 | Sans danger |
| 2 | Possibilité de fatigue visuelle en exposition répétée |
| 3A | A travers un système optique, leur vision est dangereuse |
| 3B | Vision directe toujours dangereuse |
| 4 | Dispositifs de haute puissance, supérieure à 0,5 mW dans le visible. |

Parmi les différentes sources laser pouvant être utilisées, sont:

- **le Laser à hélium-néon**: il délivre une lumière rouge $\lambda = 632,8$ nm. La faible intensité de cette source limite son utilisation,
- **le Laser à colorant** : est la source la plus communément utilisée. Il contient un colorant fluide comme le kiton-red ou la rhodamine B dont on peut régler l'émission à 630 nm. La puissance effective pouvant être obtenue est de 3 à 4 W dont 80% peuvent être transmis via une fibre optique. L'avantage le plus important de ce type de Laser est la possibilité de faire varier la longueur d'onde de la lumière produite à l'aide d'un organe de réglage (tuning element) ou en modifiant le colorant,
- **le Laser krypton**: émet à 407 et 413 nm, dans le bleu-violet. Cette longueur d'onde correspond à la bande de Soret du spectre d'absorption du noyau tétrapyrrolique et induit une fluorescence de la molécule susceptible d'être utilisée en photodiagnostic,
- **le Laser YAG doublé-colorant**: émet en mode pulsé, il présente la technologie fiable du laser solide (doublage de fréquence par KTP).

Ils sont ainsi nommés parce qu'ils emploient un cylindre de cristaux d'Yttrium-Aluminium-Grenat (YAG), une certaine quantité d'aluminium étant remplacée par du néodyme (Nd). Ils ont de nombreuses applications, notamment en oncologie pour la PDT ^[61].

Tableau 4 : Caractéristiques des différents Lasers utilisés en PDT ^[62]

| Type de laser | | Longueur d'onde (nm) | Puissance (W) |
|------------------------------------|-----------------|----------------------|---|
| Laser conventionnel | Argon Bleu Vert | 488 et 514 | 0,6 à 1,5 |
| Laser polychromatique | Rouge | 647 | |
| | Vert | 514-530 | |
| | Jaune | 568 | |
| Laser à colorant pompé par l'argon | Argon Bleu | 488 | 3 à 4 80-90 % sont transmis par une fibre optique de 200-400 microns |
| | Argon Vert | 514 | |
| | Argon Jaune | 560-580 | |
| | Argon Rouge | 610-640 | |
| Laser YAG à fréquence doublée | | 532 | 1,5 |
| Diode Laser | | 689 ou 810 | 0,2 à 3 |

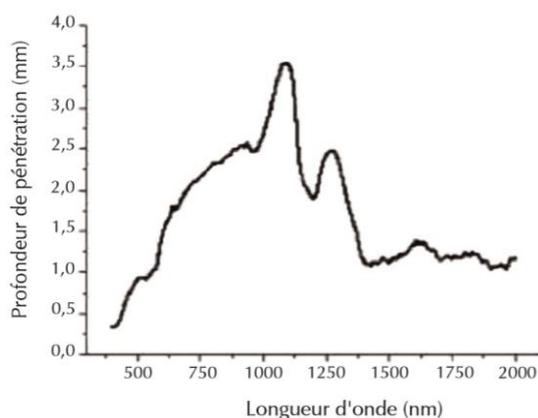


Figure 26 : Profondeur de pénétration d'un rayonnement Laser dans la peau, en fonction de la longueur d'onde

III.3.2.3. Les diodes électroluminescentes (LED)

Des systèmes à base de LED (Light-Emitting Diode), ou DEL (Diode ElectroLuminescente), sont aujourd'hui régulièrement utilisés en différents domaines en médecine.

LED est une invention plutôt récente. En effet, c'est en 1962 que la première diode électroluminescente à spectre visible a été créée par Nick Holonyak. Les premières LED émettaient dans l'IR et ont été d'abord souvent utilisées dans les télécommandes ^[63].

Une diode électroluminescente est un composant optoélectronique qui transforme un signal de nature électrique en un signal de nature lumineuse. La tension électrique appliquée à un matériau semi-conducteur induit une émission de lumière ^[64].

Actuellement, les diodes courantes, peuvent générer jusqu'à 1 W de puissance à des longueurs d'onde comprises entre 750 et 800 nm. Cet intervalle spectral est très intéressant pour l'utilisation des PS de seconde génération.

Plus simple d'emploi, moins encombrant et tout à fait adaptés à la pratique médicale. Ils ne sont, en revanche, pas ajustables au niveau de la longueur d'onde, et ne conviennent qu'à la molécule pour laquelle ils ont été conçus ^[65]. Ces sources de lumière sont bien moins onéreuses, petites, de faible poids et très flexibles.

Le cœur de chaque LED est un tout petit matériau semi-conducteur appelé la puce. Cette puce peut être considérée comme le filament d'une lampe puisque c'est la puce qui produit la lumière. La taille de la puce sur une LED de puissance est environ de 1 mm cube ; elle est bien inférieure sur les autres LED. La base de la puce est collée ou soudée à un cadre métallique fin. Un fil très fin, appelé fil de bonding, est fixé en haut de la puce, qui présente une très fine structure métallique en surface. Le fil est fixé de l'autre côté au cadre de montage.

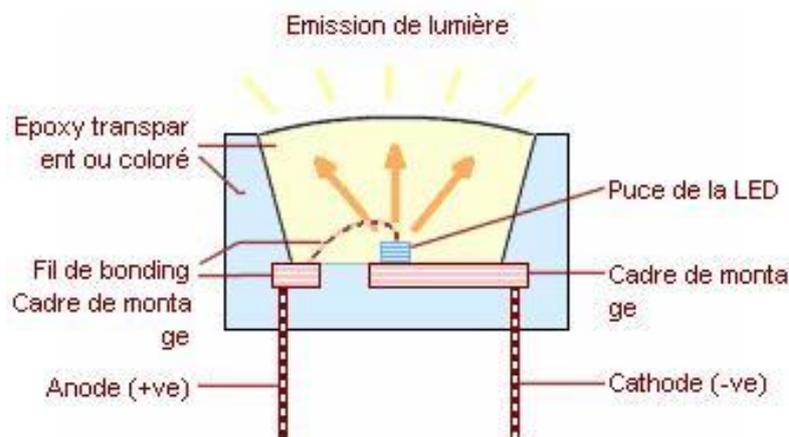


Figure 27 : Structure de base d'une LED

Lorsqu'un courant électrique de tension et polarité correctes sont appliqués à la LED via les contacts du cadre de montage, le courant traverse la puce. Les propriétés des différentes couches de la puce provoquent la conversion de 50 à 90% de l'énergie électrique en lumière au niveau de la jonction selon un processus appelé « injection électroluminescente ». Ce processus est beaucoup plus efficace que toutes les autres sources de lumière.

L'injection électroluminescente n'a pas besoin de chaleur comme le filament d'une lampe (incandescence) ou des substances chimiques qui émettent de la lumière comme dans le tube fluorescent (fluorescence). C'est un phénomène fondé sur les différences atomiques à l'intérieur du matériau, résultant d'un dopage.

III.3.3. Distribution de la lumière dans les tissus

Pour les tumeurs superficielles comme les tumeurs de la peau ou de la cavité buccale, un système optique de lentilles peut produire un spot uniforme.

Pour l'illumination des tumeurs intra-luminales ou intra-cavitaires (Bronches, Œsophage, Vessie), une fibre optique munie d'un embout diffuseur peut être introduite à l'intérieur du canal d'un endoscope et amenée sous contrôle de la vue au site à traiter. Des diffuseurs spécifiques ont été conçus afin d'obtenir une illumination homogène dans des conditions reproductibles.

III.3.3.1. Mode de distribution de la lumière

Pour contrôler la distribution spatiale de la lumière, les extrémités des fibres optiques sont modifiées. Les embouts diffuseurs sont sphériques ou cylindriques iso-tropiques. Pour traiter un volume tissulaire beaucoup plus étendu, on peut augmenter la puissance du Laser et la surface de diffusion de la fibre optique ou/et implanter plusieurs fibres simultanément par voie interstitielle.

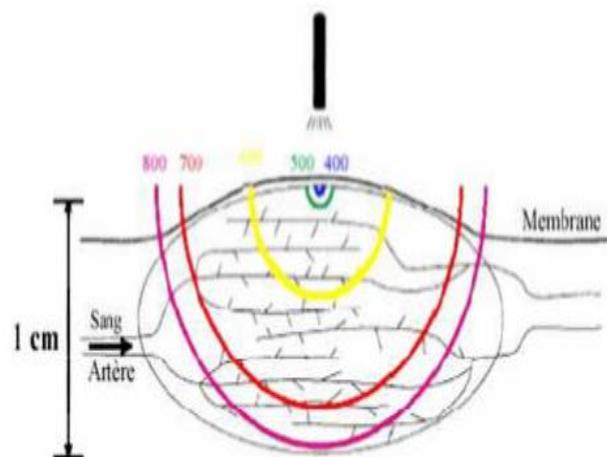


Figure 28: Pénétration de la lumière en fonction de la longueur d'onde

III.3.4. Les paramètres d'illumination

Les paramètres d'illumination sont ainsi la longueur d'onde (λ), la dose totale (fluence totale) et le débit (taux de fluence).

- **la longueur d'onde (λ)** : doit se situer dans le spectre visible, rouge plus précisément et tendre vers la valeur 800 nm,
- **taux de fluence (débit de la lumière) (mW/cm^2)** : Il a été démontré qu'un bas taux d'irradiation lumineuse favorise l'activité antitumorale in vitro.

Il existe une différence dans la réponse tumorale selon le régime d'illumination et cette différence est basée sur le principe de la consommation photodynamique de l'O₂.

Cette théorie est basée sur l'hypothèse que lorsqu'un tissu contenant un PS est soumis à de hauts taux de fluence (mW/cm²), la consommation d'oxygène moléculaire visant la production d¹O₂ est trop importante comparativement à l'O₂ disponible grâce à l'approvisionnement fourni par la vascularisation,

- **la dose totale de lumière (J/cm²)** : est calculée avec le taux de fluence utilisé selon le temps qu'il a été appliqué sur le tissu.

III.4. L'oxygène

L'O₂ est indispensable au déclenchement de la réaction phototoxique. L'efficacité de la PDT est proportionnelle à la pression partielle de l'O₂ (pO₂) et est complètement abolie en son absence [66]. Plusieurs facteurs influencent la [O₂] dans les tissus comme la vascularisation, les caractéristiques du tissu, l'hétérogénéité et le métabolisme cellulaire [67].

La pO₂ diminue en fonction de l'éloignement du réseau capillaire et augmente avec le nombre de vaisseaux sanguins. La pO₂ dans les tissus humains est largement inférieure à celle de l'air que nous respirons. En effet, si la pO₂ est de 15% au niveau des alvéoles pulmonaires, elle n'est que de 4% dans le foie, de 3% au niveau de la moelle osseuse et peut descendre jusqu'à 0,025% au centre d'une tumeur [68].

La [O₂] varie en fonction de l'emplacement de la tumeur, donc une tumeur rénale est généralement moins oxygénée qu'une tumeur pulmonaire. L'hypoxie se définit comme une [O₂] inférieure aux valeurs physiologiques et qui ne permet pas de satisfaire aux besoins des tissus. L'hypoxie se situe à une pO₂ < 0,5% [69].

Dans la majorité des tumeurs, les cellules entourant les vaisseaux nourriciers sont généralement viables et bien oxygénées. En contrepartie, une masse tumorale est caractérisée par une croissance accélérée engendrant une organisation vasculaire chaotique qui perturbe rapidement la microcirculation. Cette situation hostile n'empêche pas la prolifération mais entraîne une distribution non homogène des nutriments. Dans la masse tumorale, les cellules tumorales sont très hétérogènes en terme de prolifération ou de consommation d'O₂. Les tumeurs solides contiennent des régions hypoxiques qui constituent fréquemment 5-30% de cellules viables [70].

L'activité métabolique des cellules et l'épaisseur du tissu tumoral cause une réduction du taux de diffusion de l'O₂ engendrant une diminution de [O₂] de la périphérie vers le centre de la tumeur et autour des zones métaboliquement actives.

La présence de microzones hypoxiques ou anoxiques peut être répartie dans toute la tumeur mais la zone nécrotique apparaît après un éloignement de vaisseaux nourriciers. Dans une zone hypoxique, les cellules subsistent dans un environnement hostile et leur survie dépend de leurs capacités d'adaptation [71].

Généralement, ces cellules réduisent leur croissance jusqu'à la dormance provoquant une réduction de l'accumulation des drogues, une augmentation du temps disponible pour procéder aux réparations, une formation réduite de radicaux due à l'absence d'O₂...etc.

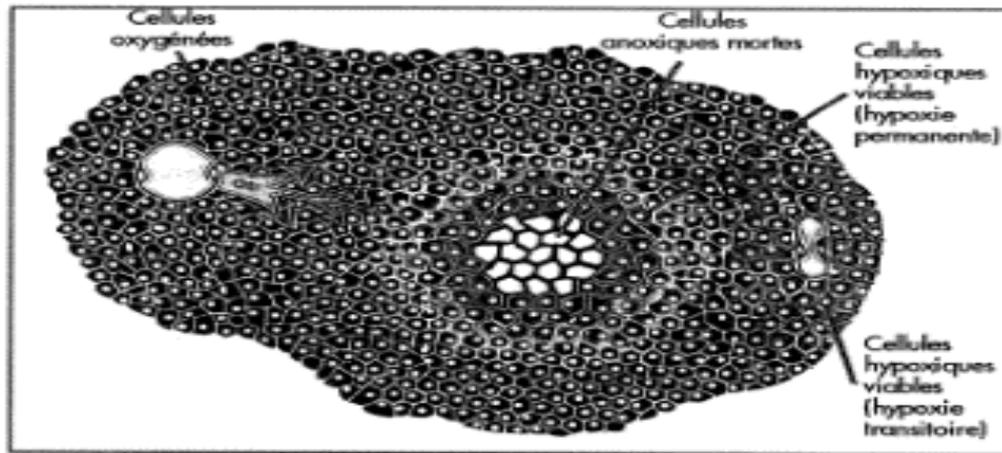


Figure 29 : Développement de zones hypoxiques permanentes et transitoires dans une tumeur

Ces cellules restent viables et peuvent reprendre en tout temps leur vitesse normale de croissance permettant l'apparition de formes plus résistantes, plus agressives ainsi que des métastases. Durant la photosensibilisation, la fluctuation de $[O_2]$ représente un autre point limitant l'efficacité du procédé.

Tout d'abord, le procédé consomme ou altère une quantité importante d' O_2 [72].

La consommation d' O_2 dépend du nombre de photons délivrés et de triplets formés produits durant l'illumination. Généralement, la vitesse de consommation dépasse le taux de réalimentation limitant la disponibilité de l' O_2 et générant de plus en plus des conditions hypoxiques.

En second lieu, la détérioration des vaisseaux durant l'illumination cause une réduction de l'oxygénation et conduit à l'hypoxie. Un effet cumulatif des deux phénomènes génère finalement une nécrose des tissus illuminés. Durant cette dernière étape l'alimentation en O_2 est interrompue par la constriction des vaisseaux et l'arrêt de la circulation sanguine.

Le niveau d' O_2 est irréversiblement réduit provoquant des zones anoxiques et des dégâts irréversibles. Ces zones sont réputées pour protéger les cellules dormantes responsables de la recroissance tumorale après traitement.

Le fractionnement des doses d'illumination constitue une méthode permettant de maintenir une bonne oxygénation de la tumeur. Les périodes de 4-9 h peuvent permettre à la cellule de réparer les dommages sous létal et augmenter la survie cellulaire ou la résistance des cellules au traitement. La réussite de cette méthode se situe surtout au niveau de la sélection du temps d'attente entre les périodes d'illumination et le temps optimal serait estimé à une heure.

IV.1. Introduction

La dosimétrie en PDT est dépendante à la fois du PS et des caractéristiques de l'irradiation lumineuse, c'est à dire la puissance et la durée de l'illumination.

Les différents PS utilisés actuellement font l'objet de nombreuses études en pharmacocinétique. La principale qualité recherchée est la sélectivité afin que les processus photophysiques épargnent le plus possible les tissus sains. Un fort gradient de concentration du PS entre les tissus tumoraux et sains favorise en effet l'augmentation de l'index thérapeutique.

Par ailleurs, d'autres travaux cherchent à déterminer l'intervalle de temps optimal à respecter entre l'injection du PS et l'irradiation lumineuse.

L'autre aspect de la PDT est la dosimétrie lumineuse. Elle concerne l'étude des caractéristiques de l'irradiation lumineuse et de ses conséquences sur les propriétés des tissus ainsi que le processus photochimique.

IV.2. Définition

La dosimétrie est une méthode permettant de déterminer le dosage des facteurs incidents (concentration locale en PS, densité des photons envoyée, temps d'illumination, IDL) pour obtenir un effet souhaité sur la tumeur.

La mise en œuvre de la PDT s'effectue suivant deux phases qui sont l'injection du PS et l'irradiation lumineuse des zones tumorales ainsi marquées. La dosimétrie doit intervenir dans chacune de ces étapes, que ce soit pour la définition de la dose de PS et le temps d'attente avant l'irradiation pour obtenir un gradient de concentration optimal entre les tissus sains et tumoraux, ou bien pour l'exécution du tir Laser dont il faut définir à la fois la puissance et la durée ^[73].

Il est généralement admis que l'absence d'une dosimétrie précise en PDT représente actuellement le principal obstacle à l'amélioration de la reproductibilité des réponses thérapeutiques.

IV.3. Paramètres dosimétriques

IV.3.1. Grandeurs utilisées

- **Puissance:** c'est le taux de radiation émise par seconde exprimée en watts; [1W = 1J/s],
- **Temps d'exposition :** correspond à la durée globale d'irradiation,
- **Surface d'exposition :** c'est la surface irradiée par la lumière. Elle dépend de la distance lumière-cible, de la présence d'éléments optiques sur le trajet du faisceau, de la divergence du faisceau,
- **Densité de puissance :** c'est l'énergie délivrée à la cible par seconde et par unité de surface. Elle s'exprime en W/cm² ou W/m²,
- **Densité d'énergie :** c'est l'énergie reçue par unité de surface de la cible. Elle s'exprime en J/cm² ou J/m².

La dosimétrie implique donc en priorité la détermination de l'énergie absorbée par les tissus. Cette énergie doit être corrélée à la production d'¹O₂ qu'elle provoque et donc à la qualité du processus photochimique.

Les paramètres d'illumination (puissance et temps) sont en fonction de l'énergie que l'on désire délivrer au tissu selon la formule :

$$\text{Energie (joules)} = \text{Puissance (Watts)} \times \text{Temps (secondes)}$$

Cette relation montre les paramètres sur lesquels le praticien peut agir : augmenter la puissance du Laser pour diminuer le temps d'illumination, peut être en adéquation avec la présence du produit pour les molécules à demi-vie courte.

Trois paramètres sont ainsi mis en avant : la dose de lumière fournie, la concentration du PS dans les zones irradiées et la quantité d'oxygène disponible.

- **La dose de lumière fournie**

Elle vise à appliquer une dose de lumière optimale et définie par unité de surface lésionnelle. Elle est exprimée en J/cm² (fluence). Elle dépend des indications. Elle correspond à la puissance exprimée en W délivrée par le Laser au niveau du diffuseur (après calibration) multipliée par le temps d'exposition en secondes (s), rapportée à la surface illuminée en cm² [74].

$$\text{Dose de lumière (J/cm}^2\text{)} = \text{Puissance (W)} \times \text{Temps de traitement (s)} / \text{Surface (cm}^2\text{)}$$

En général, l'accent est mis sur la dose de lumière fournie et sa distribution dans les tissus traités. Mais de nombreux autres paramètres peuvent intervenir également et modifier les effets induits par l'irradiation lumineuse, parmi ceux-ci, la taille et la géométrie de l'organe visé, même si leur prise en compte peut être associée aux paramètres optiques des tissus.

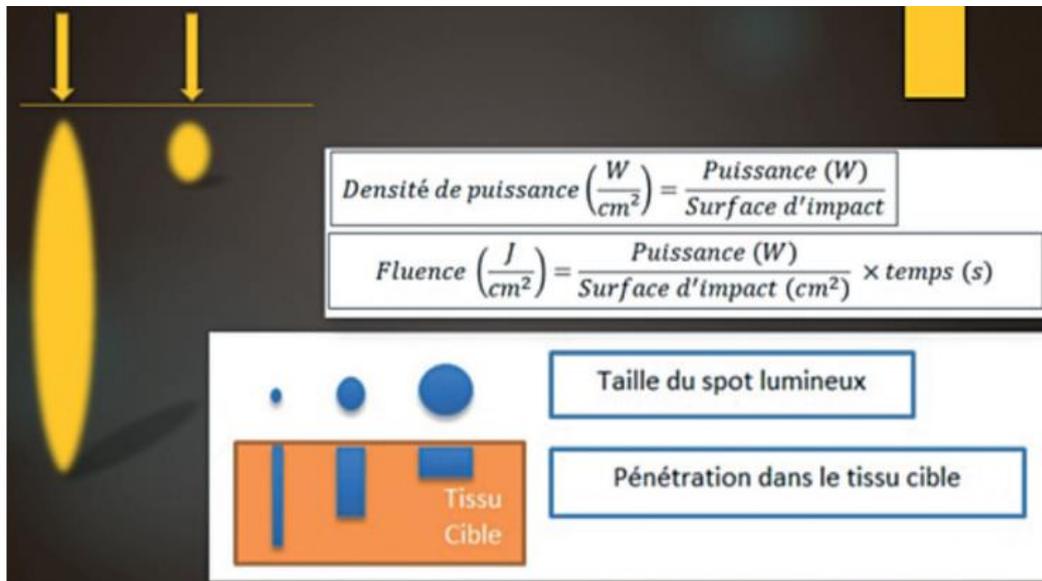


Figure 30: Relation entre la profondeur de pénétration du rayonnement, la puissance et la taille du spot lumineux (ou surface d'impact) :
plus le spot est large (flèche de gauche), plus il y a de réflexion, de réfraction et de dispersion du rayonnement ^[75].

- **Posologies**

La dosimétrie est également dépendante de la distribution du PS. Celle-ci dépend essentiellement de la sélectivité de la substance photosensibilisante.

La pharmacocinétique du PS doit également être prise en compte pour le réglage des paramètres d'illumination pour obtention d'une PDT optimale.

La concentration tissulaire des PS pourrait être contrôlée in situ par des techniques basées sur la fluorescence du produit. Cependant, pour certains PS comme la Padoprofine[®], la fluorescence du produit est négligeable, rendant nécessaire le recours à des techniques spectroscopiques plus complexes. Ces produits possèdent de plus des temps de clairance courts, rendant difficile l'ajustement de dose lors de leur injection ^[76].

La posologie est prédéfinie en fonction du poids du patient (exemple : 2 mg/kg pour Photofrin[®] et Photobarr[®]).

- **Exposition à la lumière**

Les autres paramètres à prendre en compte sont la quantité injectée et la durée entre l'injection et l'irradiation permettant d'atteindre un gradient de concentration optimal entre les tissus sains et les tissus tumoraux afin d'améliorer le rendement thérapeutique.

L'exposition à la lumière est réalisée entre 48 et 120 heures après l'administration du produit ; ce délai dépend du PS et du patient. Pour le Photofrin[®] et le Photobarr[®], l'exposition se fait entre 48 et 72 heures après l'injection [77].

L'intervalle de temps entre l'injection et l'illumination constitue, un paramètre très important. Il en est de même pour la durée d'illumination, elle doit permettre de délivrer la quantité d'énergie voulue, et intervenir dans un intervalle de temps pendant lequel la molécule photosensibilisante est présente à une concentration efficace.

L'effet biologique de la PDT est en effet fonction à la fois de la distribution de l'énergie électromagnétique dans les tissus et de la concentration du PS dans les zones irradiées [78].

Par ailleurs, l'hyperthermie que peut engendrer l'irradiation lumineuse ainsi que les modifications des paramètres optiques des tissus illuminés sont également à prendre en considération.

Ces changements peuvent en effet modifier le comportement des tissus vis à vis d'irradiation et conduire ainsi à une dose d'énergie réellement absorbée différente de celle qui aurait été théoriquement calculée [79].

Tout dépendant du tissu à traiter et de son diamètre, la dose totale du traitement peut varier. Il est de plus possible de fractionner l'irradiation, c'est-à-dire d'intercaler des moments sans lumière durant la période d'illumination.

Cette méthode favorise ainsi la réoxygénation du tissu durant le traitement augmentant donc la quantité d'oxygène disponible pour la production d'espèces réactives.

La dose totale se trouve à être divisée tout au long de l'illumination, rendant les possibilités de régime extrêmement variées.

Le temps d'exposition dépend du taux d'énergie lumineuse, qui peut être mesuré et évalué en W/cm^2 . Le produit du taux d'énergie lumineuse par le temps d'irradiation permet d'obtenir la dose d'énergie lumineuse administrée par unité de surface (J/cm^2).

Des taux d'énergie lumineuse de l'ordre de 50 à 300 mW/cm² paraissent préférables afin de réduire l'effet thermique et de réduire le temps d'exposition. Les doses d'énergie lumineuse habituellement utilisées en PDT topique cutanée, administrées par cm², ne sont pas standardisées, elles varient dans les essais cliniques de 25 à plus de 500 J/cm² [80].

V.1. Introduction

Les effets cellulaires de la PDT dépendent essentiellement de la présence d'O₂ dans le milieu. L¹O₂ qui est l'agent cytotoxique principal, a une durée de vie courte [81].

Etant donné la large répartition intracellulaire (cytoplasme, membrane plasmique, membrane nucléaire) des PS, les effets de la PDT peuvent affecter toutes les composantes cellulaires.

La PDT peut induire une régression tumorale par l'action combinée de divers mécanismes :

- un effet direct de destruction des cellules tumorales par nécrose, apoptose ou autophagie [82],
- un effet indirect par destruction de la vascularisation tumorale provoquant une privation de la tumeur en nutriments et O₂ et, par conséquent, la destruction tumorale,
- un effet indirect dû à une réponse inflammatoire et immunitaire de l'hôte.

Il est nécessaire d'avoir une combinaison de ces effets pour le contrôle des tumeurs à long terme [83]. La prépondérance de l'un ou l'autre de ces effets va dépendre du type de tumeur, du PS (caractéristiques pharmacocinétiques, localisation intratissulaire et intracellulaire etc.) et des conditions de PDT utilisées [84].

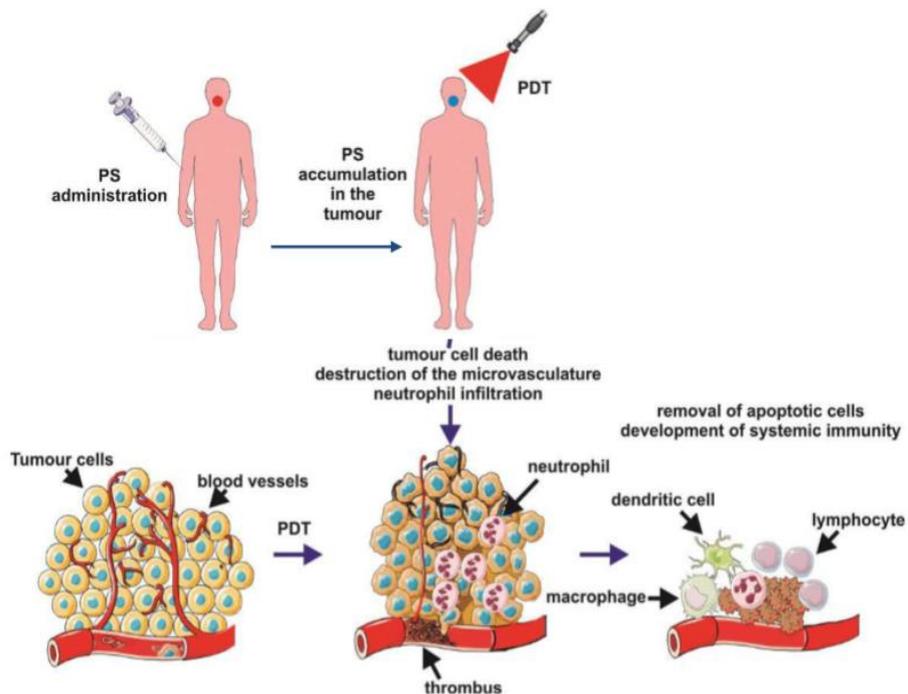


Figure 31 : Mécanisme de photo-destruction des tumeurs par la PDT

V.2. Sélectivité tumorale des PS

La sélectivité de l'action conjuguée du PS et de l'irradiation lumineuse est renforcée par la propriété de certains tissus (en particulier les tumeurs) caractérisés par une forte néovascularisation, de retenir ces molécules.

La structure aromatique des PS leur confère un fort caractère lipophile et une relativement faible solubilité. Ils doivent donc généralement être "formulés" pour devenir injectables au patient, et leur vectorisation vers les cellules cancéreuses reste un enjeu important.

Dans la plupart des cas, après leur injection IV, ils se répartissent donc sur l'ensemble des protéines du sérum. Ensuite, après extravasation, ces médicaments photoactivables diffusent dans le parenchyme de l'organe ou de la tumeur ciblée. Or, la distribution plasmatique joue un rôle clé au niveau de la pharmacocinétique et de l'efficacité de la PDT ^[85].

La cellule tumorale a besoin de cholestérol pour élaborer sa membrane. Celui-ci est synthétisé au niveau du foie puis acheminé vers les cellules grâce aux LDL. Celles-ci se fixeront sur des récepteurs spécifiques aux LDL situés au niveau du glycocalyx des cellules ce qui permettra leur entrée dans la cellule. Ainsi, les cellules tumorales présentaient au niveau de leur membrane plasmique un nombre de récepteurs aux LDL nettement supérieur à la normale: par conséquent, les PS liés aux LDL vont s'accumuler beaucoup plus au niveau des cellules tumorales qu'au niveau des cellules saines ^[86].

V.2.1. Influence des protéines du sérum sur la sélectivité tumorale

V.2.1.1. Composés Hydrophobes

L'expression supérieure des récepteurs à LDL dans les cellules malignes par rapport aux cellules normales est sans doute un facteur important favorisant la concentration de PS dans les tissus tumoraux.

Sept à 8 heures après administration par voie systémique, les PS hydrophobes comme les oligomères et les esters de porphyrines, se lient initialement à l'albumine et aux lipoprotéines de façon équivalente. Au-delà de 8 jours, les porphyrines sont exclusivement liées aux HDL ^[87].

V.2.1.2. Composés Hydrophiles

Les composés hydrophiles comme le Hp ainsi que les autres composés monomériques de formes pseudo-micellaires ou de structure non covalente se complexent préférentiellement avec l'albumine et les globulines.

V.2.2. Influence des facteurs vasculaires au niveau des tumeurs

Les tumeurs produisent des facteurs angiogéniques qui stimulent le développement de la vascularisation à leur périphérie ^[88]. La perméabilité anormale des vaisseaux sanguins tumoraux peut favoriser l'incorporation des PS dans la tumeur ^[89].

Le drainage lymphatique au niveau des tumeurs pourrait être réduit ou ralenti. Les macromolécules et les lipides qui se trouvent dans l'espace interstitiel ne sont que faiblement recyclées dans le système sanguin.

V.2.3. Sites de photosensibilisation et de dommages cellulaires

Les sites de photosensibilisation tout comme les sites de localisation dépendent étroitement de la nature chimique des chaînes secondaires des PS.

V.2.3.1. Les PS lipophiles et anioniques

Ils produisent généralement des dommages au niveau de toutes les structures membranaires cellulaires, qu'elles soient plasmique, mitochondriales, nucléaires ou appartenant aux réticulums endoplasmiques ^[90].

La réaction photodynamique conduit à la peroxydation du cholestérol et des phospholipides insaturés au niveau de la bicouche membranaire. Ceci a pour conséquences de diminuer la perméabilité et la fluidité membranaires et de favoriser une interaction entre les amino-lipides et les polypeptides. Tous ces facteurs qui affectent les propriétés dynamiques de la membrane altèrent l'activité de systèmes enzymatiques reliés aux récepteurs membranaires.

V.2.3.2. Les PS hydrophiles

Ces PS se localisent préférentiellement au niveau des lysosomes et induisent la destruction de ces structures avec un relargage des enzymes dans le cytoplasme. C'est la voie majeure de cytotoxicité pour les composés hydrophiles ^[91].

V.2.3.3. Les PS cationiques

Ils s'accumulent préférentiellement au niveau de la mitochondrie. L'inhibition des enzymes mitochondriales est considérée comme l'action clé conduisant à la mort cellulaire. Cependant, d'autres effets cellulaires précèdent ceux des enzymes mitochondriales tels l'inactivation des enzymes cytosoliques, l'inactivation des systèmes de transport membranaire, la dépolarisation de la membrane plasmique ainsi que l'inhibition des enzymes de réparation de l'ADN ^[92].

V.2.3.4. Les PS lipophiles

Les PS lipophiles ont une affinité particulière pour les membranes (plasmique, nucléaire, mitochondriales) ^[93]. Les dégradations causées par leur activation se traduisent par des phénomènes inflammatoires et une augmentation de la perméabilité des membranes conduisant à une destruction anarchique des cellules.

V.3. Effets directs : la mort cellulaire

Suite au traitement photodynamique, les cellules peuvent mourir par nécrose, apoptose ou autophagie. En général, la voie nécrotique est induite lorsque les cellules sont exposées à de fortes concentrations de PS associées à des doses de lumière importantes, à l'origine de dommages cellulaires particulièrement sévères.

Mais la localisation subcellulaire du PS influence également le mode de mort cellulaire. Les ERO générées au cours des réactions photochimiques possèdent une durée de vie et un rayon de diffusion limité. Les sites initiaux de photodommages sont donc étroitement liés à la localisation subcellulaire du PS. De façon générale, un PS localisé dans les mitochondries induit l'apoptose alors qu'une localisation dans les lysosomes ou la membrane plasmique aura tendance à conduire à une mort cellulaire par nécrose ^[94].

L'apoptose, ou mort cellulaire programmée de la cellule, est une destruction active et est génétiquement contrôlée par les cellules, elle est nécessaire à la survie des organismes pluricellulaires. Ce mécanisme permet d'assurer un équilibre constant limitant la prolifération cellulaire. Elle est caractérisée par des critères morphologiques bien identifiés.

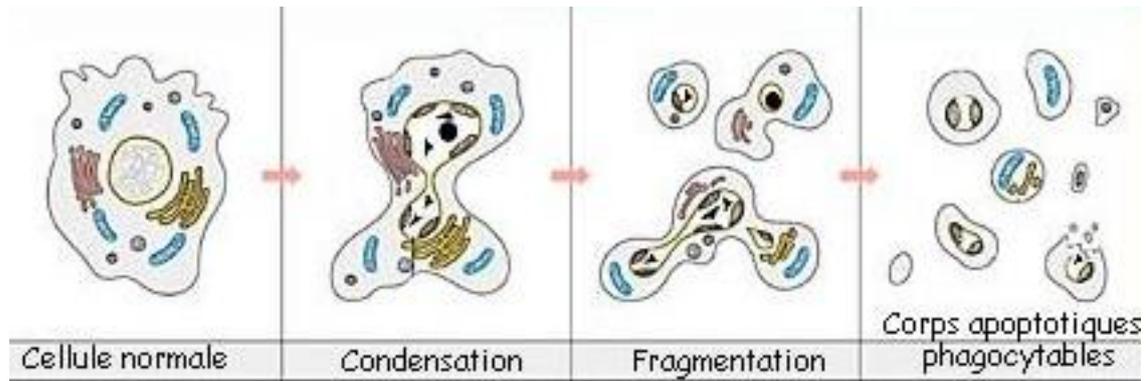


Figure 32 : Mécanisme de l'apoptose

La mitochondrie est considérée comme l'organe central de ce mécanisme, les mécanismes apoptotiques survenant après PDT seraient associés à l'endommagement des mitochondries ^[95].

Ces mitochondries subissent, au cours de ce mécanisme, diverses modifications morphologiques conduisant à libérer le cytochrome c dans le cytoplasme de la cellule ^[96], avec l'activation de caspases, avec le clivage de protéines cellulaires ainsi qu'avec la condensation de la chromatine et la fragmentation caractéristique de l'ADN qui s'effectue selon des stades bien ordonnés ^[97].

Le cytochrome c provoque, alors, une cascade de réactions d'activation d'enzymes appelées caspases effectrices ^[98]. Ces enzymes induisent la mort de la cellule par la destruction d'éléments nécessaires à sa survie.

L'intégrité de la membrane plasmique n'est jamais altérée au cours du processus, ce qui permet d'éviter tout déversement du contenu cellulaire ^[99].

La nécrose est une forme rapide et violente de dégénération cellulaire, phénomène passif qui résulte le plus souvent d'une atteinte de la membrane cytoplasmique de la cellule ^[100]. C'est une mort non programmée et accidentelle causée par des dommages physiques ou chimiques sévères.

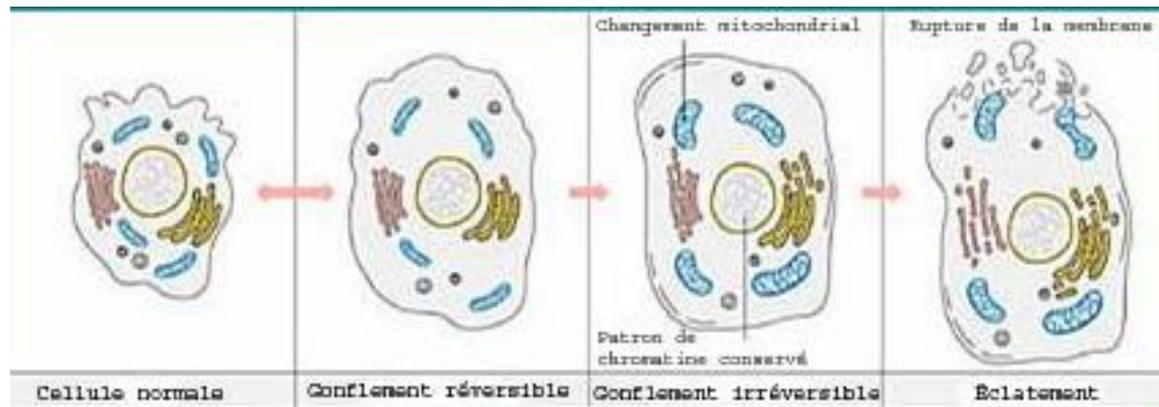


Figure 33: Mécanisme de nécrose

La cascade réactionnelle engendrée par un traitement PDT aboutit à une destruction des organites ainsi qu'une peroxydation des lipides membranaires, causant ainsi la perte de l'intégrité membranaire. La cellule gonfle alors par suite d'une entrée massive d'eau et d'électrolyte par pression osmotique, provoquant une rupture possible de la membrane cellulaire. Le cytoplasme se répand alors à l'extérieur, libérant ainsi les enzymes cytoplasmiques susceptibles de provoquer des réactions inflammatoires ^[101].

Tableau 5: comparaison des caractéristiques principales de la mort par nécrose et par apoptose

| Caractéristiques | Nécrose | Apoptose |
|--|-----------------------|------------------|
| Condition de la mort | Accidentelle | Programmée |
| Mode | Passif | Actif |
| Volume de la cellule | Augmenté | Diminué |
| Densité cellulaire | Diminuée | Augmentée |
| Concentration cytoplasmique Ca⁺⁺ | Diminuée | Augmentée |
| Lyse de la membrane plasmique | 1 ^{er} étape | Dernier étape |
| Hydrolyse de l'ADN | Dernier étape | Première étape |
| Vitesse d'accomplissement | Rapide | Lente |
| Organites cellulaires | Lysés | Compacts |
| Réaction inflammatoire | Oui | Non |
| Cicatrisation | Cicatrice fibreuse | Pas de cicatrice |

De récentes études ont montré l'implication d'un autre type de mort cellulaire programmée, l'autophagie [102], du grec *autos* (soi-même) et *phagein* (manger), suite à la PDT. Cette autodigestion se fait par l'entremise des lysosomes, qui contiennent un grand nombre d'enzymes qui dégradent la plupart des macromolécules biologiques.

Le mécanisme d'autophagie est tout à fait particulier puisqu'il s'agit à la fois d'un processus de survie de la cellule et d'un mécanisme de mort programmée.

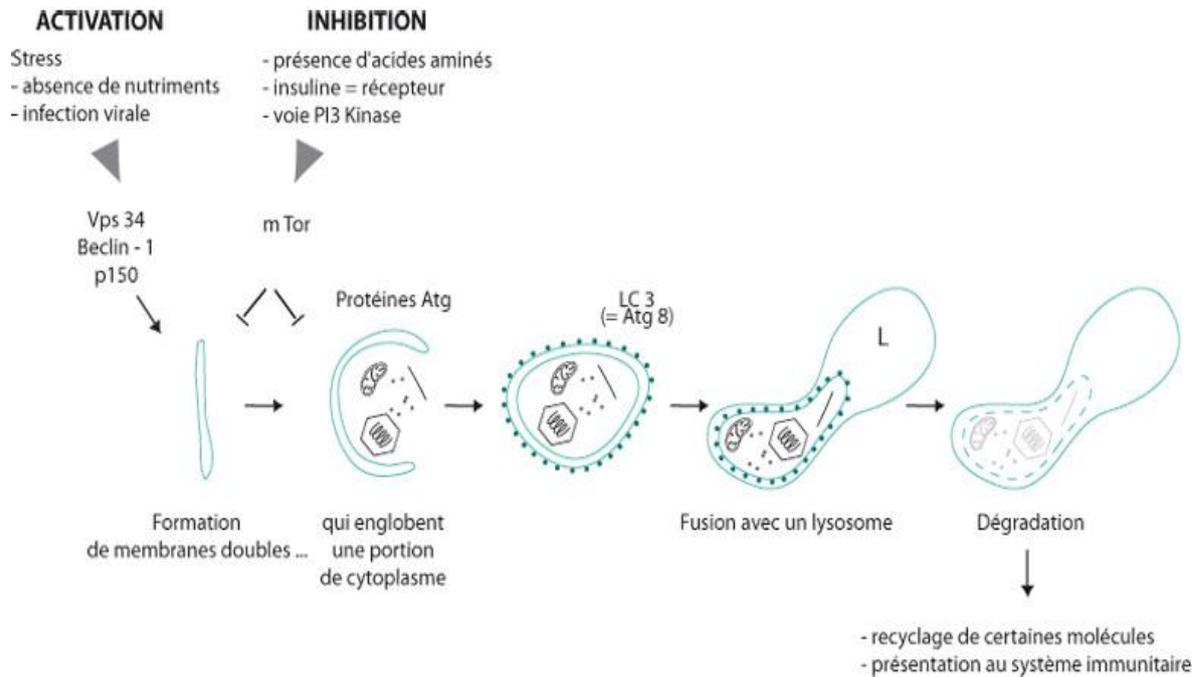


Figure 34 : Mécanisme d'autophagie

Ce processus permet le recyclage de composants cellulaires (mitochondries, appareil de Golgi) en cas de manque de nutriments mais aussi celui des organelles endommagées (par exemple suite au traitement PDT). Les éléments endommagés sont enfermés dans des vacuoles, appelées autophagosomes, qui fusionnent ensuite avec les lysosomes pour former des autolysosomes, où les résidus sont dégradés. La cellule trouve ainsi une source de nutriments où répare elle-même les dégâts qu'elle a subis et continue à vivre.

Les cellules autophagiques sont morphologiquement différentes des cellules apoptotiques et les deux processus peuvent être différenciés aisément. Les différents mécanismes de mort cellulaire, décrits précédemment, sont schématisés sur la figure 35.

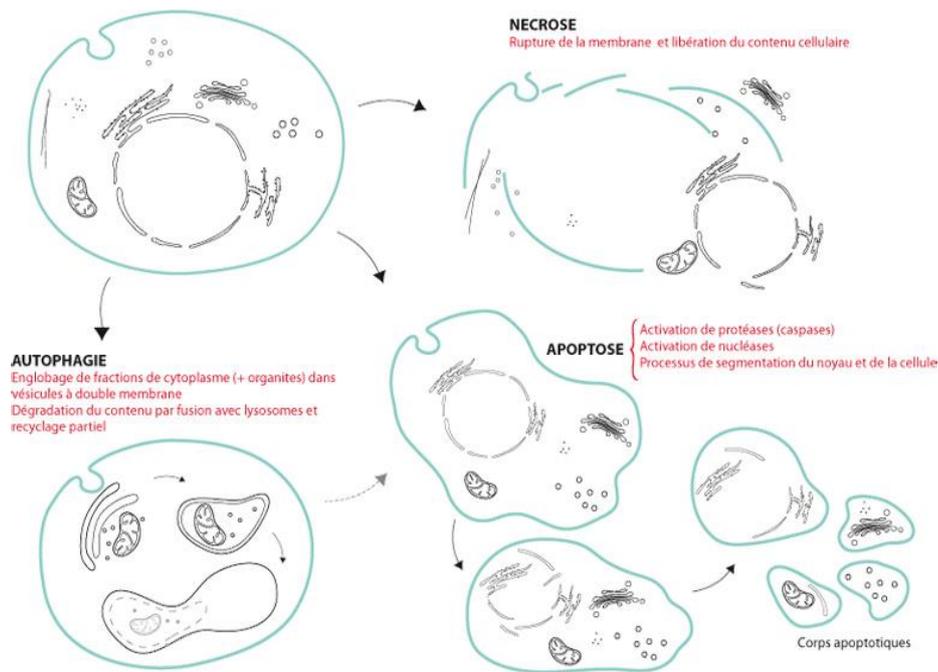


Figure 35 : Caractéristiques physiques des phénomènes de nécrose, apoptose et d'autophagie

L'orientation vers l'un ou l'autre de ces trois processus de destruction cellulaire représentés sur la figure, dépend de la nature de la tumeur ^[103], de la dose de lumière (fluence, irradiance), mais aussi de la concentration, de la nature et surtout de la localisation intracellulaire du PS. En revanche, la combinaison de ces trois phénomènes est indispensable pour une éradication tumorale optimale à long terme ^[104].

V.4. Effets indirects de la PDT

Le processus de cancérisation se produit en plusieurs étapes au cours desquelles les cellules cancéreuses vont progressivement modifier les tissus environnants. Dans un premier temps, l'ADN d'une ou plusieurs cellules va subir une dégradation qui conduit cette dernière à ne plus répondre aux signaux régulant la prolifération ou la mort cellulaire. Cette ou ces cellules vont ensuite se multiplier de manière anarchique, tout en perdant les caractéristiques structurales de la cellule d'origine.

Par la sécrétion de diverses enzymes, les cellules cancéreuses modifient ensuite la matrice extracellulaire, favorisant l'invasion des tissus. Lorsque la taille dépasse quelques millimètres cubes, la tumeur, n'étant pas vascularisée, devient hypoxique ^[105].

Ces molécules vont provoquer le bourgeonnement des vaisseaux sanguins proches, puis la néovascularisation de la tumeur. La croissance tumorale peut ainsi reprendre, et le système vasculaire sanguin ou lymphatique peut disséminer des cellules cancéreuses dans l'organisme, provoquant l'apparition de nouveaux foyers métastatiques. Si la tumeur est autonome dans son comportement répliatif, elle n'en demeure pas moins dépendante de son environnement direct. Le traitement PDT peut agir indirectement sur la tumeur en influant sur cet environnement.

V.4.1. Effets anti-vasculaire

Le flux sanguin est le moyen d'apporter aux tissus et aux tumeurs l' O_2 et les nutriments indispensables à leur survie. L'effet anti-angiogéniques de la PDT consiste en des dommages vasculaires survenant après traitement et contribuant à long terme à l'éradication tumorale ^[106].

Au niveau des cellules endothéliales, l'effet photodynamique peut engendrer la nécrose, l'apoptose ou la déformation du cytosquelette ^[107]. Ces modifications entraînent des fuites sanguines hors des vaisseaux, et l'adhésion de plaquettes, de globules rouges et de neutrophiles sur les parois. Ces adhésions contribuent à une réduction du diamètre interne des vaisseaux concernés, conduisant à des phénomènes de thromboses et de stases vasculaires.

Ces phénomènes provoquent « l'asphyxie » de la tumeur : n'étant plus suffisamment vascularisée, les déchets métaboliques s'accumulent dans les cellules et celles-ci deviennent hypoxiques. Les cellules tumorales sont éradiquées, conduisant à une réduction du volume tumoral ^[108].

En raison de la dépendance des processus photodynamiques à l' O_2 , l'hypoxie cellulaire représenterait un facteur limitant. L'hypoxie tumorale est fortement dépendante de la dose de PS mais peu de la dose de lumière appliquée.

Lorsque le PS est circulant, les espèces oxydantes générées peuvent rompre l'équilibre des facteurs régulant la coagulation. Les espèces réactives interagiraient notamment avec le monoxyde d'azote (NO), une molécule vasodilatatrice et anticoagulante ^[109].

V.4.2. Effets immunitaires et inflammatoires

Le troisième mécanisme entrant en jeu dans la destruction des tumeurs implique le système immunitaire. Lorsque la PDT est administrée à une forte intensité elle peut induire un phénomène d'immunosuppression ^[110]. Mais, lorsque la PDT est de faible énergie, elle peut stimuler la réponse immunitaire antitumorale. La dégradation des cellules tumorales provoque un largage massif de fragments membranaires qui vont attirer les cellules du système immunitaire et provoquer ainsi un évènement initiateur d'inflammation ^[111]. Ces mécanismes sont causés par la libération de cytokines et de médiateurs inflammatoires qui vont recruter les cellules du système immunitaire tels que les lymphocytes ou les macrophages.

Ces effets peuvent être provoqués par des dommages cytotoxiques qui ne sont pas nécessairement létaux pour toutes les cellules tumorales et qui peuvent être à l'origine d'un stimulus inflammatoire. La PDT induit des modifications de la membrane plasmique et des membranes des organites cellulaires en activant les phospholipases membranaires ^[112].

Ainsi, les phospholipides sont rapidement dégradés et les médiateurs de l'inflammation sont déversés massivement dans le milieu extracellulaire ^[113]. Alors que les effets directs de la PDT peuvent détruire la majeure partie de la tumeur, la réponse immunitaire est nécessaire pour éliminer les cellules survivantes.

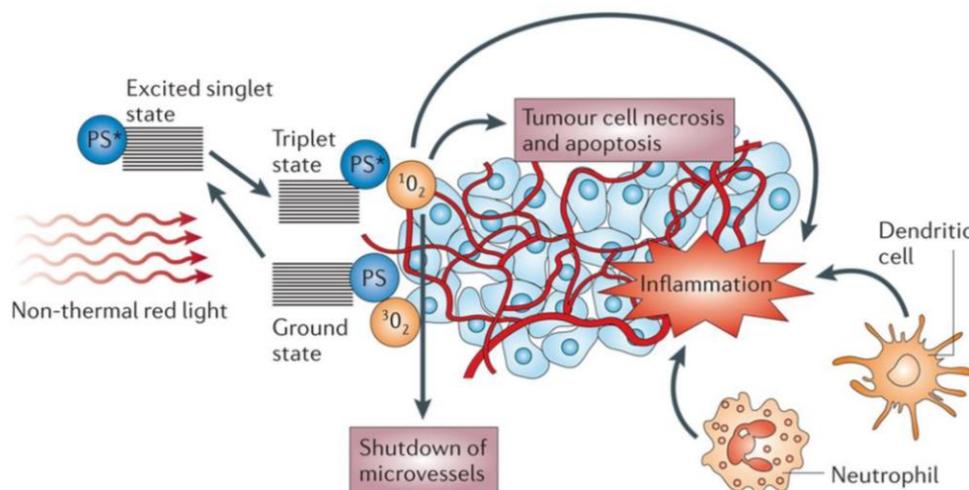


Figure 36: Effet immuno et inflammatoire de la PDT

Le PS à l'état excité triplet transfère son énergie à l'oxygène moléculaire triplet (³O₂) pour produire de l'¹O₂.

L' $^1\text{O}_2$ a un effet cytotoxique direct sur les cellules tumorales et induit leur nécrose ou apoptose. Il va également causer la destruction de la vascularisation tumorale et induire une forte réponse inflammatoire qui sera responsable de l'attraction de diverses cellules immunitaires telles que des neutrophiles et des cellules dendritiques ^[114].

V.5. Effets de la dose lumineuse

On distingue quatre effets de l'irradiation lumineuse sur le tissu biologique :

V.5.1. L'effet photothermique

Les niveaux d'irradiance (l'intensité de l'énergie qui atteint le tissu) plus faibles associés à des temps de pulse de l'ordre de la milliseconde conduisent à l'effet thermique. Les interactions d'origine thermique peuvent être représentées par un modèle de connaissance à 3 étapes successives:

- la première est de nature optique et permet la transformation de l'énergie lumineuse en source de chaleur,
- la seconde, thermique où l'énergie est transportée dans le tissu par transfert de chaleur entraînant une élévation de la température tissulaire,
- la dernière étape est biologique. Elle induit la dénaturation des constituants tissulaires et la création du dommage thermique ^[115].

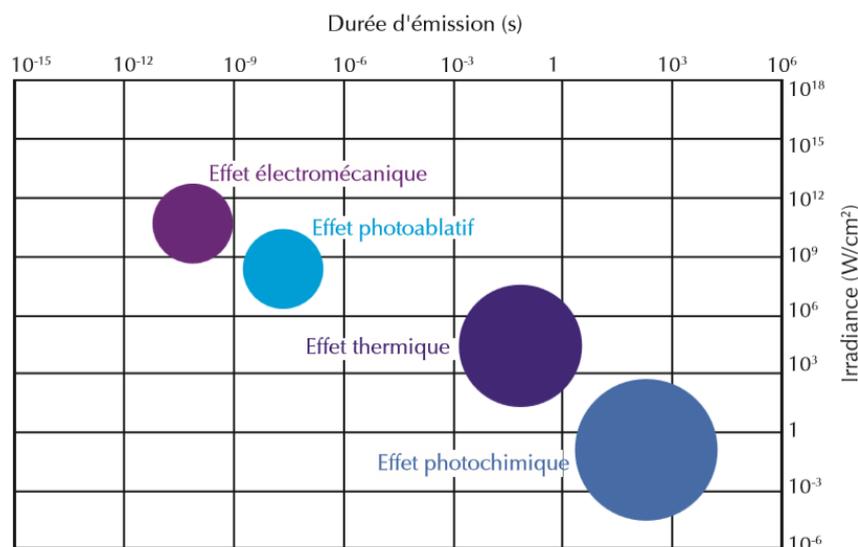


Figure 37 : Les effets obtenus sur les tissus biologiques, en fonction de la durée d'émission du Laser et de l'irradiance

V.5.2. L'effet photomécanique

Il s'agit de pulses Laser de l'ordre de la nano ou picoseconde associés à des irradiances très fortes. La cible ou chromophore reçoit une énorme quantité d'énergie qui n'a pas le temps de diffuser. Ce confinement conduit à une violente élévation de la chaleur et de volume de la cible avec création d'un véritable traumatisme avec onde de choc. Ces propriétés sont utilisées pour détruire des pigments (mélanine dans la peau) cela par la dénaturation de certaines protéines, la désorganisation des membranes Laser (après 60°, la chaleur rompt les liaisons hydrogènes des protéines).

V.5.3. L'effet ablatif

Cet effet représente un effet situé entre l'effet mécanique et l'effet photothermique. On peut le rapprocher d'un effet photothermique maximal en ce sens que la durée d'impulsion et l'irradiance délivrée permettent une montée très rapide en température à un niveau qui déclenche une vaporisation des tissus. Cette propriété est utilisée pour volatiliser des lésions dermatologiques ^[116].

V.5.4. L'effet photochimique

Il fait appel à de bas niveau d'irradiance et des temps d'application longs de la lumière. Ce mode de fonctionnement permet de provoquer des phénomènes chimiques dans les tissus avec production de radicaux libres qui peuvent détruire des structures. Ce phénomène peut survenir de façon naturelle ou lorsqu'on ajoute un PS.

Nous nous intéressons, ici, principalement aux effets photochimiques de l'interaction tissu lumière.

- **Réflexion et réfraction**

Lorsqu'un faisceau de lumière passe d'un milieu à un autre, d'indice de réflexion différent (comme l'air et la peau), une partie de ce faisceau est réfléchi au niveau de la frontière entre les deux milieux (phénomène de réflexion) alors qu'une seconde partie traverse cette frontière et pénètre l'autre milieu (phénomène de réfraction). Dans les milieux opaques, comme la peau, la réfraction est négligée face aux phénomènes d'absorption et de diffusion ^[117].

La connaissance précise de la réflexion de la lumière par les tissus est une nécessité afin d'évaluer la quantité exacte d'énergie qui sera soit absorbée, soit diffusée dans le tissu.

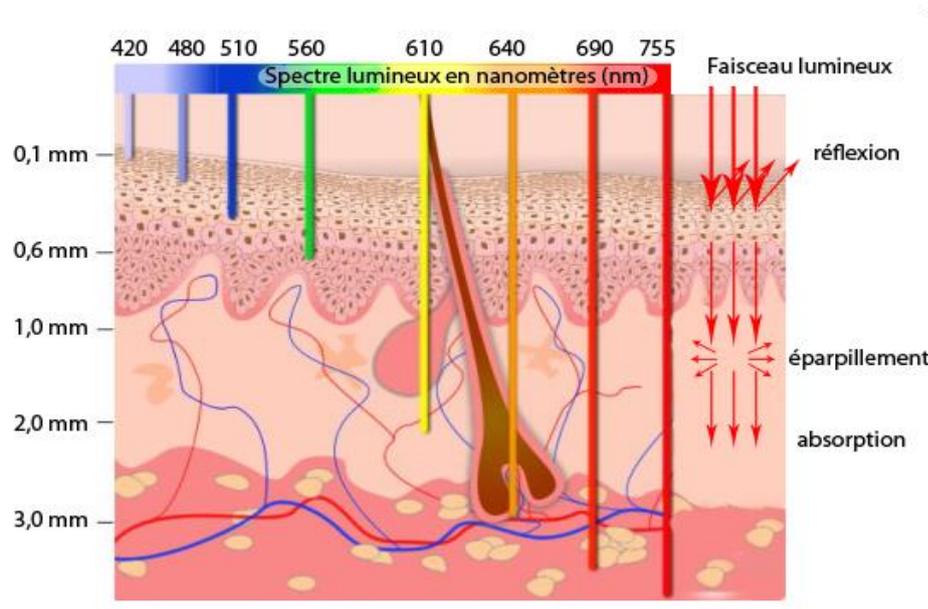


Figure 38: Propagation de la lumière de différentes longueurs d'onde dans les tissus

- **Absorbance et diffusion**

Lorsqu'une onde électromagnétique incidente traverse un matériau non diffusif, son atténuation est seulement due au phénomène d'absorption. Lors de ce processus, l'énergie lumineuse peut être convertie en chaleur.

La plupart des molécules organiques présente une forte absorption dans l'UV. Les protéines, qui constituent 15 à 20% des cellules, absorbent aussi dans cette région avec un pic à environ 280 nm. L'hémoglobine prédominante dans les tissus vascularisés présente plusieurs pics d'absorption à 280 nm, 420 nm, 540 nm et 580 nm.

Le spectre d'absorption de la mélanine, le plus important des chromophores de l'épiderme, décroît de façon quasi exponentielle en fonction de la longueur d'onde. L'absorption de l'eau est dominante dans la région infrarouge. Enfin, une fenêtre spectrale particulière apparaît entre 0,6 et 1,2 μm où la radiation pénètre profondément le tissu ce qui offre la possibilité d'atteindre des profondeurs importantes, typiquement de plusieurs millimètres. Il s'agit de la fenêtre thérapeutique.

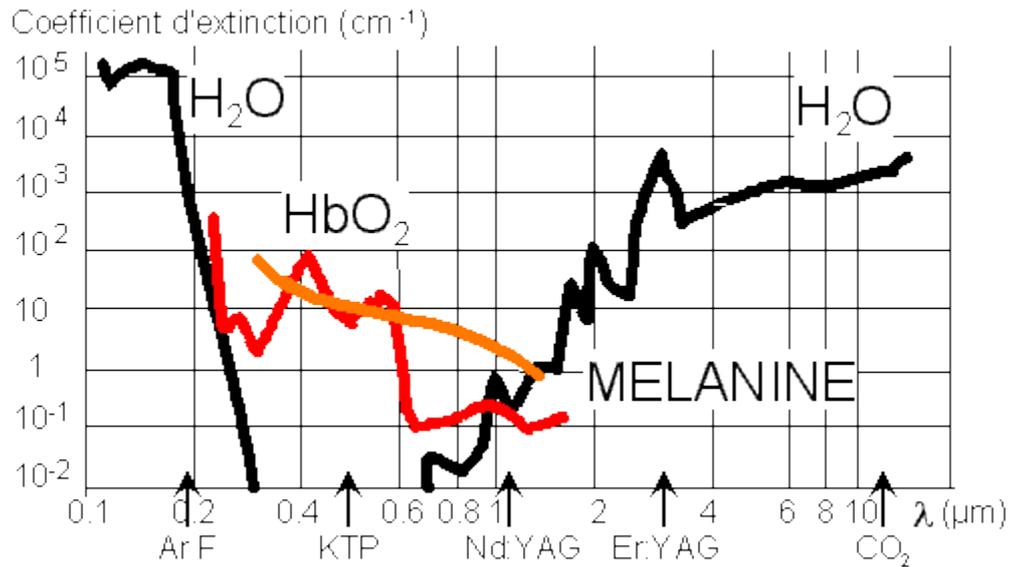


Figure 39 : Exemple de spectres d'absorption de molécules biologiques élémentaires : la mélanine, l'hémoglobine et l'eau

Cependant, la peau n'étant pas un milieu optique idéal, la lumière est soumise fortement à un phénomène de diffusion optique qui conduit à de multiples modifications de trajectoires liées aux réflexions, réfractions et diffractions présentes dans tout milieu hétérogène comme les tissus vivants. Dans le rouge et proche IR, où l'absorption de la peau est relativement faible, la diffusion est le mécanisme optique dominant. Ce phénomène conduit à une plus forte pénétration de la lumière en profondeur et par conséquent à des volumes illuminés plus importants.

La profondeur de pénétration dans la peau varie en fonction de plusieurs paramètres :

- **la longueur d'onde (λ)** ; elle dépend du type de Laser. Ces rayonnements pénètrent différemment dans les tissus cellulaires en fonction de la longueur d'onde,
- **la taille du spot** ; celle-ci joue une importance dans la répartition de l'énergie dans la profondeur de pénétration. Pour une même longueur d'onde, les spots plus larges pénètrent plus profond que les spots plus étroits,
- **la durée du pulse** ; en s'allongeant, provoque une diffusion de température plus importante avec, par conséquent une pénétration en profondeur et en latéral augmentées,
- **le chromophore** ; il capte de manière sélective le faisceau Laser, il subit des réactions localisées alors que les tissus biologiques environnant sans chromophore restent relativement intacts ^[118].

L'action thermique du Laser peut se résumer en quatre actions principales selon le degré et le temps d'échauffement tissulaire :

- **l'hyperthermie** signifiant une élévation modérée de la température, de quelques degrés centigrades (41° à 44°) pendant plusieurs dizaines de minutes et entraînant une mort cellulaire retardée par atteinte des processus enzymatiques. Il s'agit d'un processus difficile à contrôler qui est donc peu utilisé en pratique,
- **la coagulation** correspondant à une nécrose irréversible sans destruction tissulaire immédiate. Une température atteinte de 50° à 100° pendant une durée de l'ordre de la seconde, produit une dessiccation, un blanchissement, et une rétraction des tissus par dénaturation des protéines et du collagène. Les tissus vont secondairement s'éliminer (détersion) avec apparition ensuite de processus de cicatrisation. La coagulation est utilisée soit pour détruire des petits phénomènes tumoraux qui seront éliminés lors de la détersion, soit pour réaliser une hémostase ^[119].

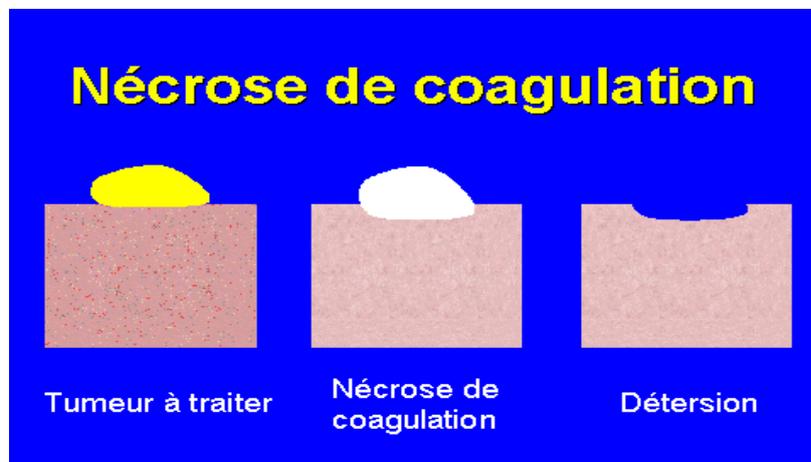


Figure 40: Exemple du traitement d'une tumeur par coagulation :

Après le traitement, la tumeur devient blanche mais reste en place. Elle est éliminée par le processus de détersion dans les jours qui suivent, laissant en place une ulcération qui guérira par la suite.

- **la volatilisation** : correspondant à une perte de substance. Les différents constituants tissulaires partent en fumée à une température supérieure à 100°C, dans un temps relativement bref, de l'ordre du dixième de seconde.

On observe au niveau des berges de la zone volatilisée une zone de nécrose de coagulation car la transition thermique entre zone volatilisée et zone saine se fait graduellement. C'est cette zone de nécrose de coagulation qui est responsable de l'effet hémostatique. Si la zone volatilisée a une grande surface (quelques millimètres de diamètre), il est possible de détruire

des phénomènes tumoraux plus volumineux que ceux atteints lors d'une simple coagulation. Si la zone volatilisée est étroite (100 - 500 μm), on obtient alors un effet d'incision ^[120].

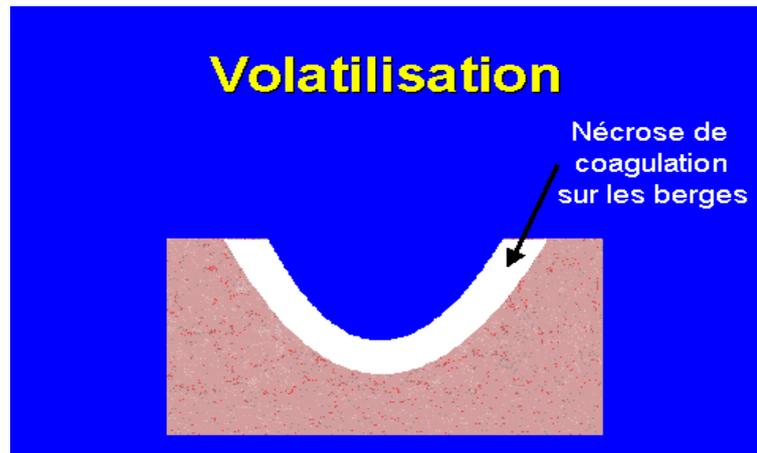


Figure 41 : Exemple de volatilisation :

Après volatilisation, il existe une nécrose de coagulation sur les berges.

- **l'effet thermomécanique** : Lorsque la durée du tir Laser est inférieure au temps de relaxation thermique de la cible, il se produit un confinement thermique avec accumulation de chaleur sans diffusion thermique et une vaporisation explosive de la cible ^[121].

La PDT est une technique en développement pour le traitement curatif de cancers solides. Elle est actuellement utilisée et développée particulièrement en gastro-entérologie, en dermatologie, en ORL ou encore en gynécologie.

VI.1. Cas du cancer du poumon

Plus le diagnostic du cancer du poumon est tardif, moins le pronostic de la maladie est bon. Néanmoins dans un certain nombre de cas, on peut guérir d'un cancer du poumon, bien que le traitement de ce type de cancer soit encore très imparfait. Il repose sur une combinaison de chirurgie, chimiothérapie et radiothérapie, une association plus ou moins complète en fonction du stade (degré d'évolution) de la maladie, de la localisation précise du cancer et de l'état général du patient.

VI.1.1. Différents types de cancers du poumon

Il existe deux principaux types de cancers du poumon, qui se forment et progressent de manière différente. Le traitement de chacun peut aussi varier.

- **Cancer du poumon « non à petites cellules »** : c'est le cas le plus répandu, qui progresse moins rapidement que les autres. Il en existe trois variétés histologiques:
 - carcinome épidermoïde,
 - adénocarcinome,
 - carcinome à grandes cellules.
- **Cancer du poumon « à petites cellules »** : c'est le cas le plus rare, et progresse plus rapidement. Il en existe trois variétés histologiques:
 - carcinome à petites cellules,
 - carcinome mixte à petites et grandes cellules,
 - carcinome mixte à petites cellules.

Le cancer du poumon est habituellement causé par le tabagisme actif et passif, mais il peut y avoir d'autres causes, incluant : le radon, l'amiante et autres produits toxiques tels que l'Uranium, l'Arsenic et certains produits pétroliers.

VI.1.2. Traitement par la PDT

La PDT est utilisée dans les premiers stades de la maladie quand il est nécessaire d'ouvrir l'obstruction des voies respiratoires par des tumeurs dans les poumons. Elle est l'une des options les plus récentes disponibles aujourd'hui, dans les cas des cancers inopérables, voire métastatiques, en particulier quand ils sont de localisation bronchiques ou trachéales.

Dans le cas idéal, la PDT est utilisée à titre curatif, et dans d'autres cas à titre palliatif.

Le traitement par la PDT passe par trois étapes :

- dans un premier temps, un PS (Photofrin[®]) est injecté par voie IV,
- la deuxième étape consiste à insérer dans les bronches un tube flexible contenant un dispositif Laser (lumière rouge de faible intensité), environ 40 à 50 h après l'injection du PS,
- la dernière étape consiste à évacuer par bronchoscopie les cellules cancéreuses mortes et le mucus des bronches ou la trachée.

VI.1.3. Avantages

Le traitement avec PDT n'offre presque pas d'effets secondaires dangereux, à la différence des autres méthodes thérapeutiques :

- elle soulage efficacement les symptômes tels que difficultés respiratoires des obstructions dans les bronches ou la trachée,
- elle est indiquée dans de nombreuses tumeurs inopérables en raison de leur localisation, ou lorsque l'acte chirurgical pose généralement des risques beaucoup plus grands.

VI.1.4. Inconvénients

- photosensibilité accrue pour une période de quatre à huit semaines après le traitement. Pendant ce temps, même une exposition normale au soleil peut entraîner des brûlures graves,
- une fièvre et/ou une infection (bronchite, pneumonie) peuvent être rencontrés,
- est utilisée seulement si la tumeur est assez grande pour que la bronchoscope puisse facilement la détecter.

VI.2. Cas du cancer de la peau

Les cancers de la peau sont des tumeurs malignes d'histologie variée, développées aux dépens des cellules de la peau.

On distingue principalement :

- les épithéliomes, dérivant du tissu épithélial, eux-mêmes composés de deux grands groupes de carcinomes (basocellulaire, spinocellulaire),
- les mélanomes, développés à partir des cellules nœviques, qui peuvent résulter de la transformation d'un nœvus ou se développer de novo, et
- les sarcomes, développés à partir du tissu conjonctif.

Certaines lésions sont précancéreuses ou sont des cancers superficiels comme la maladie de Paget, ou la maladie de Bowen. Enfin, les hémopathies malignes peuvent proliférer dans le tissu cutané, comme la maladie de Kaposi ou les leucémies aiguës.

L'exposition solaire prolongée naturelle ou artificielle et sans protection est un des facteurs de risque reconnus dans la plupart des cancers de la peau ^[122].

Comme pour la plupart des cancers, des prédispositions génétiques sont identifiées ou soupçonnées particulièrement chez des patients ayant des antécédents familiaux ^[123], en plus des divers facteurs environnementaux outre que les rayonnements UV ^[124].

VI.2.1. Traitement par la PDT

Face à ces problèmes cutanés, aujourd'hui on peut recourir à la chirurgie, mais la PDT peut changer la donne en associant la crème Metvix[®] avec une lumière IR.

Trois heures après application de la crème, celle-ci pénètre dans les cellules cancéreuses, et l'ingrédient actif est transformé en de nombreux composés photosensibles. La zone corporelle est ensuite illuminée pendant une dizaine de minutes par une lumière Laser (IR), qui pénètre profondément les tissus cutanés. Cette lumière excite alors le composé photosensible. Ce dernier produit une molécule toxique (oxygène réactif $^1\text{O}_2$), qui détruit les cellules cancéreuses.

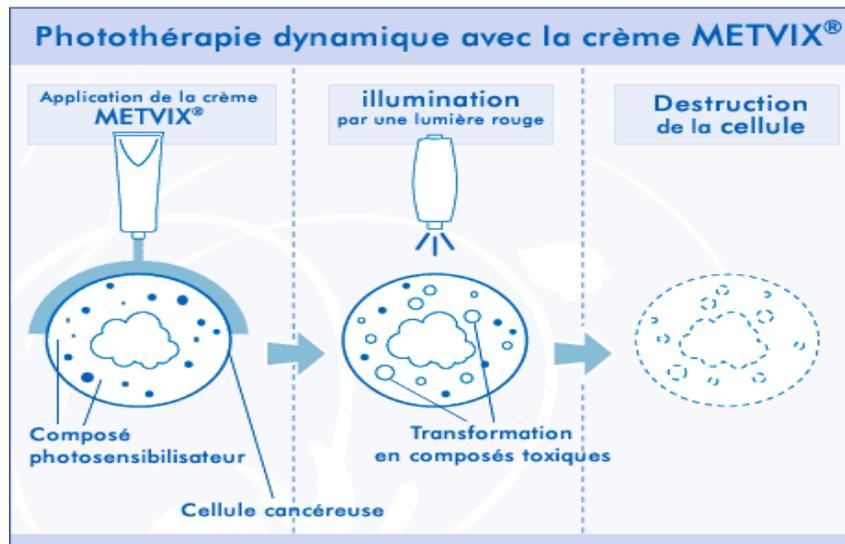


Figure 42 : Protocole de la PDT avec la crème METVIX®

VI.2.2. Avantages

- absence de photosensibilité généralisée,
- élimine toutes les cellules malignes voire toutes les cellules précancéreuses, et épargne les tissus sains,
- permet d'éviter tout geste chirurgical, La plupart des patients peuvent reprendre leurs activités immédiatement après le traitement,
- option de choix pour des lésions superficielles au niveau du cuir chevelu ou du visage. Généralement, deux à trois semaines suffisent au renouvellement de la peau,
- technique simple et peu coûteuse.

VI.2.3. Inconvénients

- risque carcinogène à long terme qui n'est pas formellement écarté (exemple : mélanome qui peut survenir sur la peau adjacente à une zone traitée à plusieurs reprises),
- sensation constante de chaleur locale, lors de l'irradiation, entraînant une douleur parfois intense,
- réaction phototoxique locale. La zone traitée devient érythémateuse puis croûteuse.

VI.3. Cas du cancer de la prostate

Le cancer de la prostate est le premier cancer masculin en monde, il représente, la deuxième cause de mortalité par cancer chez l'homme après le cancer du poumon.

Aujourd'hui, la plupart des cancers de la prostate sont détectés à un stade localisé, et la réussite de la PDT proposée à titre curatif dépend en effet grandement de l'âge du patient au moment du diagnostic, ce qui donne des chances de guérison accrues.

VI.3.1. Traitement par la PDT

De nouvelles méthodes thérapeutiques qualifiées sont en cours d'évaluation. Elles ont pour objectif de diminuer les effets secondaires et la durée d'hospitalisation dont la PDT.

Le protocole consiste à injecter par voie IV le PS (dérivé de la chlorophylle), puis une multitude d'aiguilles équipées des fibres optiques sont alors introduites par voie transpérinéale, sous contrôle échographique, dans la prostate. Le nombre d'aiguilles et leur position auront été au préalable déterminés lors d'un examen IRM.

Une fois que le PS diffuse dans l'organisme, l'illumination de la prostate par l'intermédiaire des fibres optiques peut commencer. Celle-ci durera 22 minutes.

Durant les 24 heures suivantes, le patient devra rester à l'abri de la lumière du fait du produit PS. Pendant cette période, il conservera une sonde vésicale et au bout de 48h, le patient sort de l'hôpital.

VI.3.2. Avantages

Contrairement aux traitements conventionnels, la PDT :

- est une technique peu invasive, quasi-indolore avec des effets secondaires minimes
- n'entraînant pas de risque d'incontinence,
- permet de renouveler le traitement, en cas de récurrence locale,
- permet une hospitalisation réduite.

VI.3.3. Inconvénients

- la PDT consiste en un guidage optimal des fibres jusqu'à la cible préalablement définie. Tout positionnement erroné peut en effet conduire à un échec du point de vue thérapeutique.

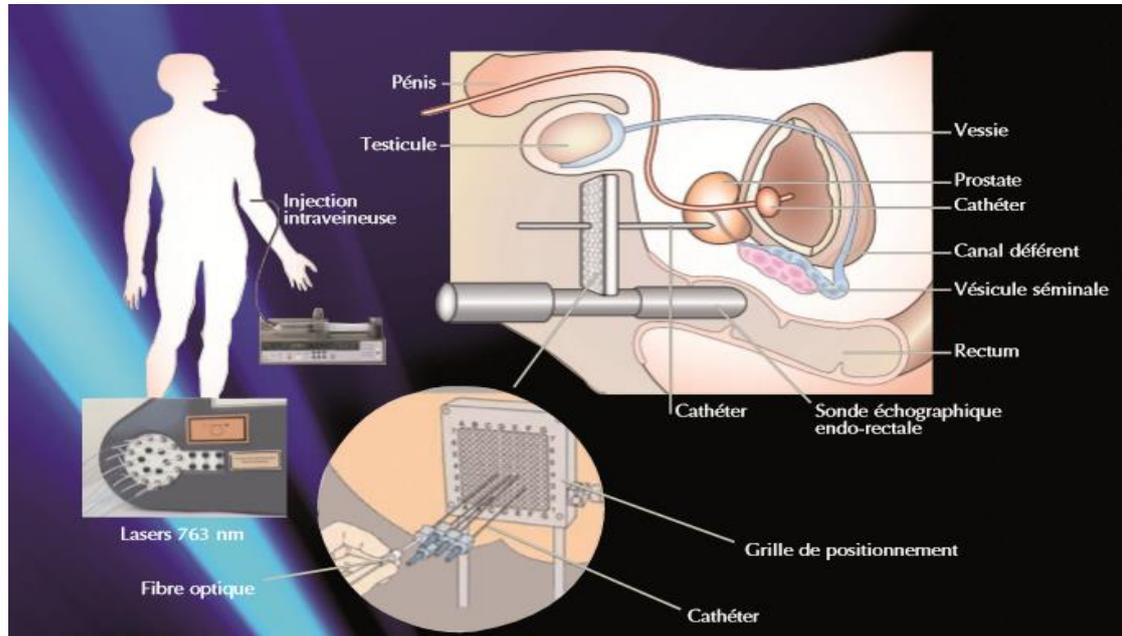


Figure 43: Schéma illustrant le principe du traitement par PDT du cancer de la prostate

VI.4. Cas du cancer de l'œsophage

La plupart des cancers de l'œsophage sont diagnostiqués à un stade avancé (mauvais pronostic), la gravité du cancer est notamment liée à son extension au moment du diagnostic.

Comme pour la plupart des cancers, on ignore certaines causes exactes. Les facteurs de risque contribuent toutefois à son développement, sont notamment : l'âge (ce type de cancer touche habituellement les personnes de plus de 55 ans), l'alcoolisme, le tabagisme, l'obésité, un état nutritionnel inadéquat... Etc.

Certaines tumeurs de l'œsophage sont des métastases d'un cancer qui a pris naissance dans une autre partie de l'organisme. Ainsi, les cancers du larynx, du pharynx, des amygdales, des poumons, du sein, du foie, du rein, de la prostate, des testicules, des os, et de la peau peuvent tous se propager à l'œsophage.

Des types rares du cancer de l'œsophage peuvent aussi se manifester. Ce sont entre autres le carcinome neuroendocrinien et la tumeur neuroendocrine gastro-intestinaux (GI), le carcinome à petites cellules et le léiomyosarcome.

VI.4.1. Différents stades du cancer de l'œsophage

Les stades du cancer sont définis de la façon suivante :

- **stade 0** : tout au début, le cancer est localisé dans la première couche de la muqueuse,
- **stade 1** : le cancer, encore à ses débuts, est localisé uniquement dans une petite partie de l'œsophage, mais ne s'est pas propagé,
- **stade 2** : le cancer s'est propagé plus profondément dans l'œsophage et peut avoir atteint les ganglions lymphatiques voisins de l'œsophage,
- **stade 3** : le cancer s'est propagé encore plus profondément dans la paroi de l'œsophage ou s'est répandu dans les tissus et les ganglions lymphatiques avoisinants,
- **stade 4** : le cancer a envahi d'autres parties de l'organisme (habituellement les poumons ou le foie, bien qu'il puisse également envahir d'autres parties du corps),
- **récurrent** : le cancer est réapparu après le traitement initial.

VI.4.2. Principales indications

- **cancers superficiels** non traitables par des techniques conventionnelles,
- **lésions superficielles avec dysplasie de haut grade (DHG)** ^[125],
- **cholangiocarcinomes non opérables.**

VI.4.3. Traitement par la PDT

La PDT est également utilisé pour traiter les grosses tumeurs. Dans cette situation, elle ne vise qu'à réduire les dimensions tumorales, afin d'améliorer la capacité d'une personne à avaler.

La technique consiste d'abord à injecter en IV un PS (Porfimère sodique Photofrin[®]), et au bout de 48 heures un faisceau de lumière Laser est ensuite focalisé sur la tumeur grâce à un endoscope.

Les cellules détruites peuvent ensuite être retirées quelques jours plus tard lors d'une endoscopie digestive haute. Ce processus peut être répété si nécessaire ^[126].

VI.4.4. Avantages

La PDT agit comme :

- une solution alternative pour traiter et soulager les symptômes,

- une technique moins invasive et peut être utilisé à plusieurs reprises en cas de récurrence locale contrairement à d'autres techniques thérapeutiques.

VI.4.5. Inconvénients

- Accumulation du PS au niveau des cellules de la peau et des yeux, pouvant provoquer des réactions graves, lors de l'irradiation, en plus de la photosensibilité qui peut durer 4 à 6 semaines après l'injection.

La PDT est une technique relativement récente de traitement de certains types de cancers. Elle est basée sur la combinaison de trois facteurs, le PS, la lumière et l'O₂. Elle utilise les caractéristiques de sélectivité et d'absorption d'une substance photosensibilisante. Cette dernière apporte l'énergie nécessaire au déclenchement des processus photophysiques au sein des cellules tumorales dans lesquelles elle est en concentration suffisante, qui sont de nature thermique ou chimique. Dans ce dernier cas, il s'agit de réactions d'oxydation mettant en jeu l'O₂ présent dans les cellules irradiées.

Du fait de l'utilisation d'une lumière peu pénétrante dans les tissus, la PDT est surtout utilisée pour le traitement des tumeurs superficielles accessibles directement (tumeurs cutanées) ou par voie endoscopique (tumeurs vésicales ou œsophagiennes). Mais il est également possible de traiter des tumeurs solides (prostate, pancréas, foie) en insérant les fibres optiques directement dans la tumeur. À l'heure actuelle, la PDT est utilisée en traitement curatif des cancers superficiels à des stades précoces, ou en traitement palliatif après échec des autres thérapies anticancéreuses.

L'efficacité de la PDT peut être reliée à des paramètres principaux que sont l'oxygénation des tissus traités, la concentration de PS dans les tissus tumoraux mais également dans les tissus sains où elle doit être minimisée, la température et enfin la dose de lumière fournie.

Comparé à la radiothérapie, le rayonnement utilisé par la PDT, de moindre énergie, est inoffensif et non mutagène. La limitation des effets secondaires majeurs ainsi que l'absence de résistance développée suite au traitement, sont un atout certain par rapport à la chimiothérapie. Le coût du traitement par PDT ainsi que le confort et l'espérance de vie des patients sont également des paramètres non négligeables conditionnant le choix thérapeutique en oncologie. Son rôle dans le traitement des cancers est en pleine évolution.

La PDT ne sera acceptée en tant que modalité standard de traitements des cancers que si elle démontre une efficacité équivalente ou supérieure avec une morbidité réduite en comparaison avec d'autres options thérapeutiques.

Si ses avantages viennent de la simplicité technique, ses inconvénients résident dans son manque de sélectivité tissulaire, dans la difficulté d'administration du PS et de la lumière et enfin d'une insuffisance de pénétration en profondeur des effets de la PDT.

Pour le futur, les améliorations de la PDT sont, entre autres, liées à la découverte de nouvelles molécules (avec souvent un meilleur ciblage des cellules). Toutefois, contrairement à ce qui se

passer pour de nombreuses autres classes thérapeutiques, les molécules potentiellement efficaces et susceptibles d'être développées sont peu nombreuses pour ce qui concerne les voies classiques d'identification.

De nombreux PS de seconde ou troisième génération sont disponibles, mais très peu sont approuvés pour une utilisation clinique. Les développements les plus récents sont orientés vers la conception et l'étude de PS ciblés vers plusieurs cancers en fonction de leurs particularités biologiques. Un second axe de recherche, en plein essor, consiste à détruire sélectivement les néo-vaisseaux alimentant en nutriments la tumeur afin de l'éradiquer par manque de ressources énergétiques ou oxygénées.

L'enjeu majeur en PDT réside dans le fait de tromper les mécanismes de défense de l'organisme pour apporter le médicament à sa cible biologique. La question est de limiter les effets non spécifiques tout en assurant une concentration élevée au niveau de la tumeur.

Des nouveaux composés sont à l'étude, obtenus par la conjugaison d'un PS à une molécule d'adressage tumoral (sucres, peptides, ligands). Cependant, l'un des problèmes des PS reste leur hydrophobie qui favorise leur agrégation dans les milieux biologiques et limite leur biodisponibilité. Des stratégies d'encapsulation dans des nanoparticules ont été développées. Elles présentent l'avantage d'augmenter la pénétration tissulaire et cellulaire des PS et par suite l'efficacité de la PDT.

Plus récemment, différents types de NP organiques ou inorganiques ont rencontré certains succès. Cependant, ces vecteurs synthétiques doivent être conçus avec beaucoup de soin pour surmonter les problèmes de biocompatibilité du transporteur et de protection du médicament.

Les systèmes de nano-vecteurs, qui assurent une bonne protection du médicament et le transportent jusqu'à sa cible, sont parmi les plus pertinents candidats pour devenir la future génération de vecteurs anti-cancéreux. Les liposomes sont une stratégie de vectorisation efficace pour la PDT.

Une stratégie récemment développée consiste à utiliser des microvésicules d'origine cellulaire comme plateforme de transport. L'idée est de tirer parti d'un système de transport naturel pour concevoir un nano-vecteur biogénique. Ces microvésicules, libérées naturellement par la plupart des cellules dans des conditions physiologiques ou sous l'effet de différents stimuli, circulent librement dans l'organisme où elles jouent le rôle de convoyeurs naturels de matériel cellulaire.

L'utilisation d'une excitation classique en PDT présente le défaut de nécessiter d'utilisation de longueurs d'onde d'excitation situées le plus souvent dans le visible, ce qui entraîne une faible pénétration de la lumière dans les tissus (inférieure à 5 mm). La première fenêtre spectrale de relative transparence des milieux biologiques est par contre située entre 700 et 1100 nm en raison d'une plus faible diffusion dans cette zone et de la moindre absorbance de biomolécules telles que la mélanine, l'hémoglobine et l'eau. Dans ce cadre, deux processus peuvent se révéler intéressants pour exciter un PS classiquement excité dans le visible: l'excitation à deux photons.

Ce phénomène d'optique non-linéaire, connu sous le nom d'absorption à deux photons (ADP), repose sur l'absorption simultanée de deux photons de moindre énergie (et donc de longueur d'onde plus élevée) pour conduire à l'état excité.

Les avantages de cette technique par rapport à la PDT classique résident en une meilleure pénétration de la lumière en milieu biologique et une importante sélectivité spatiale, minimisant le risque de détruire accidentellement des tissus sains.

Dans cette optique, il est cependant nécessaire de concevoir de façon rationnelle de nouveaux PS de section efficace d'absorption à deux photons suffisamment grands et disposant d'une bonne solubilité en milieux aqueux biologiques, photo-stabilité, innocuité en l'absence de lumière et capacité à traverser les membranes biologiques.

Certaines NP qui profitent de propriétés physiques et chimiques exceptionnelles, autorisent à envisager une stratégie thérapeutique novatrice pouvant combiner PDT et radiothérapie via l'utilisation de scintillateurs nanoparticulaires excitables par des rayons X.

Le concept consiste à utiliser des NP contenant un scintillateur qui, excité par des rayons X, peut émettre des photons à leur tour réabsorbés par le PS lui-même greffé dans la matrice de la NP.

Il n'est donc plus nécessaire d'utiliser une source de lumière externe pour générer l'effet photodynamique.

Les récentes publications montrent que ce type de nano-scintillateurs rendent envisageable l'utilisation de NP pour de la PDT, excitables par radiothérapie. Ceci pourra être source de ramifications considérables en matière de thérapie anticancéreuse.

-
- [1]: M. D. Daniell, J. S. Hill. (1991). A history of photodynamic therapy. *Aust. N.Z. J. Surg.* Volume 61, 340-348.
- [2]: Allison, Ron R et al. (2004). Photosensitizers in clinical PDT. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, Volume 1, 27 – 42.
- [3]: S. Karrer et al. (1999). Photodynamic inactivation of staphylococci with 5-aminolaevulinic acid or photofrin. *Lasers med sciences*. Volume 14, pages 54–61.
- [4]: William ERB. (2011). Introduction à la PDT. Repéré à URL : <http://www.exchem.fr/Dossiers/TherapiePDT.pdf>.
- [5]: R. Lipson, E. Baldes. (1960). The photodynamic properties of a particular hematoporphyrin derivative, *Archives of Dermatology*, Vol. 82, n°. 4, p. 508.
- [6]: T. Dougherty et al. (1978). Photoradiation therapy for the treatment of malignant tumors, *Cancer Research*, vol. 38, no. 8, p. 2628.
- [7]: J. F. Kelly et al. (1975). Berenbaum. Photodynamic destruction of human bladder carcinoma. *Br. J. Cancer*. Volume 31, page 237.
- [8] : Denis Salamon. (2005). la photothérapie dynamique en dermatologie, un nouvel outil thérapeutique. *Revue médicale suisse* N°16.
repéré à : <http://www.revmed.ch/rms/2005/RMS-16/30362>.
- [9] :Patrick ESQUENET. (2016). La photothérapie dynamique. Repéré à : http://www.laser-opale.fr/phototherapie-dynamique.asp?id_pa=7730.
- [10]: Z. A. Peng et X. Peng, (2001). Formation of high-quality CdTe, CdSe, and CdS nanocrystals using CdO as precursor *Journal of the American Chemical Society*, 123, 183-184.
- [11] : Enrique Cepero. GerardEvan. (2009). *Intrinsic tumour suppression Scott W*. Volume 1.
- [12] : Baillet. (2003). *Cancérologie. Service de radiothérapie*.
- [13] : Nadia ZEGHARI. (1995). Caractérisation et étude des conséquences biologiques du photoblanchiment de l'hématoporphyrine dérivée utilisée en thérapie photodynamique. Thèse pour obtenir le titre de docteur de l'université Henri Poincaré-Nancy 1 pharmacologie.
- [14] : Kim Mongrain. (2009). Etude du protocole d'illumination sur le métabolisme tumoral en thérapie photodynamique du cancer à l'aide de l'imagerie tomographique d'émission par positrons. La faculté de médecine et des sciences de la sante en vue d'obtention du grade de maitre des sciences (M.Sc.) en Sciences des radiations et imagerie biomédicale. Université de Sherbrooke.

-
- [15] : Lonny Erickson, Van Hung Nguyen et Séraphin Niamba. (2004). Agence d'évaluation des technologies et des modes d'intervention en santé (AETMIS). Évaluation de la thérapie photodynamique au porfimer sodique des cancers de l'œsophage, de la vessie et du poumon. Volume 12, pages 54.
- [16]: Sutedja, T. G.; Postmus, P. E., (1996). Photodynamic therapy in lung cancer. A review. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 36 (2), 199-204.
- [17] : H. Ficheux. (2009). Principes et applications thérapeutiques de la photothérapie dynamique. *Annales Pharmaceutiques Françaises*. Doi:10.1016/j.pharma. 2008.10.013.
- [18] : Manuel Ascencio. (2010). Place de la thérapie photodynamique en gynécologie : applications au traitement des micrométastases péritonéales ovariennes et des lésions malpighiennes intra-épithéliales cervicales. Etude expérimentale et clinique. *Life Sciences*. Université du Droit et de la Santé Lille II. French.
- [19]: S. Sabharanjak and S. Mayor. (2004). Folate receptor endocytosis and trafficking, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56, 1099-1109.
- [20]: Morton C.A et al. (2013). European guidelines for topical photodynamic therapy part 1: treatment delivery and current indications - actinic keratoses, Bowen's disease, basal cell carcinoma, *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* Volume 27, p. 536.
- [21]: Hillemans P. et al. (2014). Efficacy and safety of hexaminolevulinate photodynamic therapy in patients with low-grade cervical intraepithelial neoplasia, *Lasers Surg. Med.* Volume 46, p.456.
- [22]: Céline et al. (2015). La thérapie photodynamique : état de l'art et perspectives. *L'Actualité Chimique*, La chimie fête la lumière.
- [23] : U. Resch-Genger et al. (2008). Quantum dots versus organic dyes as fluorescent labels, *Nature Methods*, 5, 763-775.
- [24]: H. Ficheux (2009). Principes et applications thérapeutiques de la photothérapie dynamique. *Annales Pharmaceutiques Françaises*. DOI:10.1016/j.pharma.2008.10.013.
- [25] : David J. Bjorkman et al. (1991). Fluorescence localization of early colonic cancer in the rat by hematoporphyrin derivative. *Lasers in Surgery and Medicine* Volume 11, Issue 3, pages 263-270.
- [26] : Baumgartner R et al . (1987). A fluorescence imaging device for endoscopic detection of early stage cancer. Instrumental and experimental studies. *Photochem. Photobiol*, volume 5, 759-763.

-
- [27]: Bjorkman D.J et al. (1991). Fluorescence localization of early colon cancer in the rat by hematoporphyrin derivative. *Laser Surg. Med.*, 263-270.
- [28]: Laustriat G. (1986). Molecular mechanisms of photosensitisation. *Biochimie*, volume 68, 771-778.
- [29]: J. S. Steckel et al. (2003). 1.3 μm to 1.55 μm Tunable Electroluminescence from PbSe Quantum Dots Embedded within an Organic Device, *Advanced Materials*, 15, 1862-1866.
- [30]: M. Bruchez et al. (1998). Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels, *Science*, 281, 2013-2016.
- [31]: Roberts W.G. et al. (1989). Skin photosensitivity and photodestruction of several potential photodynamic sensitizers. *Photochem. Photobiol.* 49,431-438.
- [32]: C. S. Foote et al. (1984). *Methods in Enzymology. Methods in Enzymology Characterization of singlet oxygen. Volume 105. Pages 36-47.*
- [33]: X. Michalet et al. (2005) , Quantum dots for live cells, in vivo imaging, and diagnostics, *Science*, , 307, 538-544.
- [34]: M. Shopova et al. (1995). Photodynamic therapy of experimental tumours with Zn(II)-phthalocyanine and pulsed laser irradiation. *Lasers in Medical Science. Volume 10, Issue 1, pages 43-46.*
- [35] : Vincent Morosini (2010). Pour une amélioration de la thérapie photodynamique appliquée à la cancérologie : Potentialités des dendrimèrespoly (amidoamine) et des Quantum Dots CdTe adressés par l'acide folique. *Sciences du Vivant. Université Henri Poincaré - Nancy I.*
- [36] : Sharman WM. (1999). Photodynamic therapeutics: basic principles and clinical applications. *Drug Discover Today. Volume 4. Pages 507-517.*
- [37]: Giulio Jori. (November 1996). Perspectives in Photodynamic Therapy: *Journal of Photochemistry and Photobiology Biology. Volume 36, Issue 2, Pages 87–93.*
- [38]: Marc-Elias BAKLEH. (2008). Méthodologie de synthèse pour l'élaboration de photosensibilisateurs sélectifs à visée anti-cancéreuse. Thèse pour obtenir le titre de Docteur de l'Université de Limoges Mention : « Chimie Appliquée »
- [39]: R. Bonnett. (2000). *Chemical Aspects of Photodynamic Therapy: Gordon and Breach Science Publishers.*
- [40] : Marc Angotti. (2009). Etude par spectrométrie de masse des photoréactions laser de sensibilisants colorés utilisés en thérapie photodynamique. Thèse de Doctorat. Université de Metz.

-
- [41] : Marc-Elias BAKLEH. (2008). Méthodologie de synthèse pour l'élaboration de photosensibilisateurs sélectifs à visée anti-cancéreuse. Thèse de Doctorat. Université de Limoges
Mention : « Chimie Appliquée ».
- [42] : Maroua DHAOUDI. (Juillet 2014). Nanoparticules dopées terres rares pour l'imagerie médicale et la thérapie.
- [43] : R. Bonnet et al. (1989). *Hydroporphyrins of the meso-tetraporphyrin series as tumours photosensitizers*. 261(1), 277-280.
- [44]: M. R. Detty et al. (2004). *Journal of Medicinal Chemistry*. Volume 47. Pages 3897–3915.
- [45]: Q. Peng et al. (1997). *Photochem. Photobiol.* Volume 65. Pages 235–251
- [46]: Sobolev A.S. (2000). Targeted intracellular delivery of photosensitizers, *Prog. Biophys. Mol. Biol.* volume 73, p. 51.
- [47] : Oncogériatrie : de la structuration de la filière de soins à la pratique clinique.
- [48]: G. Csik et al. (1998). *Journal of Photochemistry and Photobiology*. Volume 44. Pages 216-224.
- [49]: C. P. Leamon, J. A. Reddy. (2004). *Advanced Drug Delivery Reviews*. Volume 56. Pages 1127-1141.
- [50] : Y. N. Konan et al. (2002). State of the art in the delivery of photosensitizers for photodynamic therapy. *Journal of Photochemistry and Photobiology*. Volume 66. P. 89-106.
- [51]: H-P. Lassalle, D. et al. (2009). *Journal of Controlled Release*. Volume 134. 118– 124.
- [52]: H. J. Jones et al. (2003). *British Journal of Cancer*. Volume 89. 398–404.
- [53]: A. M. Master et al. (2010). *Journal of Pharmaceutical Sciences*. Volume 99. Pages 2386–2398.
- [54]: Andrey A. et al. (2000). Targeted intracellular delivery of photosensitizers to enhance photodynamic efficiency. *Immunology and Cell Biology*. Volume 78. Pages 452–464.
- [55]: Berg K et al. (1993). Photobiological properties of hematoporphyrin diesters: Evaluation for possible application in photochemotherapy of cancer. *Photochem. Photobiol. B*. Volume 20. Pages 37–45.
- [56]: Scully AD et al. (1998). Laser line-scanning confocal fluorescence imaging of the photodynamic action of aluminum and zinc phthalocyanines in V79-4 Chinese hamster fibroblasts. *Photochem. Photobiol.* Volume 68. Pages 199–204.
- [57] : Julie GARRIER. (2011). Optimisation de la dosimétrie appliquée en thérapie photodynamique pour l'évaluation et la prédiction de l'efficacité du traitement de tumeurs.

- [58]: Sophie Marchal. (2014). Stratégies pro-apoptotiques appliquées au traitement photodynamique avec le Foscan[®] de modèles précliniques d'adénocarcinome humain.
- [59]: Nowis D. et al. (2005). Direct tumor damage mechanisms of photodynamic therapy. *Acta Biochim*; 52(2). Pages 92.
- [60]: Agostinis, P et al. (2011). Photodynamic therapy of cancer: An update. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 61(4): p. 250-281.
- [61]: Lonny Erickson, Van Hung Nguyen et Séraphin Niamba. (2004). Agence d'évaluation des technologies et des modes d'intervention en santé (AETMIS). Évaluation de la thérapie photodynamique au porfimer sodique des cancers de l'œsophage, de la vessie et du poumon. Volume 12, pages 54.
- [62]: Maire Caroline Hossin. (2007). Thérapie photodynamique. Dossier de CNHIM. *Revue de l'évolution du médicament*
- [63]: Mordon S. (2006). Différents types de lasers, sources de lumières disponibles. *EMC Cosmétologie et Dermatologie esthétique*. Volume 50-370. Pages 1-11.
- [64]: S. Mordon. (2014). Dispositifs lumineux utilisés pour la PDT topique en dermatologie. *Réalités Thérapeutiques en Dermato-Vénérologie*. 1-5.
- [65]: H. Ficheux. (2009). Principes et applications thérapeutiques de la photothérapie dynamique. *Annales Pharmaceutiques Françaises*. Doi:10.1016/j.pharma. 2008.10.013.
- [66]: Henderson, B. W.; Dougherty, T. J. (1992). How does photodynamic therapy work? *Photochemistry and Photobiology*. Volume 55, pages 45-57.
- [67]: Nowis, Dominika et al. (2000). The influence of photodynamic therapy on the immune response. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, Volume 2, Issue 4, 283 – 298.
- [68]: Peter Ebbesen et al. (2000). Hypoxia, Normoxia and Hyperoxia: Terminology for Medical *In Vitro Cell Biology*, Vol. 39, Issue 2.
- [69]: J. S Lewis et al. (December 1999). Macrophage responses to hypoxia: relevance to disease mechanisms. *Journal of Leukocyte Biology* vol. N°66. Pages 889-900.
- [70]: Krishnamurthy Shyam et al. (1999). Hypoxia-Selective Nitrobenzyloxycarbonyl Derivatives of 1,2-Bis(methylsulfonyl)-1-(2-chloroethyl)hydrazines. *Journal of Medicinal Chemistry*. 42 (5), 941-946.
- [71]: Peter Vaupel, Arnulf Mayer. (2005). Hypoxia and anemia: effects on tumor biology and treatment resistance. *Transfuse. Clinbiol*. Volume 12, Issue 1, Pages 5–10.
- [72]: Jürgen Fuchs. A, Jens Thiele. B. (1998). The Role of Oxygen in Cutaneous Photodynamic Therapy, *Free Radical Biology and Medicine*. Volume 24, Issue 5, Pages 835–847.

- [73]: Farzin Adili et al. (1999). Significance of Dosimetry in Photodynamic Therapy of Injured Arteries: Classification of Biological Responses. *Photochemistry and Photobiology*. Volume 70, Issue 4. Pages 663–668.
- [74] : J. BOYER, et al. (2005). Recommandations générales pour la Thérapie PhotoDynamique (PDT) en Hépatogastroentérologie. *Acta Endoscopica* ; Volume 35 ; N°5. Pages 799-780.
- [75] : Dr Amandine PARA. (Septembre 2015). Illustration des effets laser diode et Nd-YAG en endodontie et en chirurgie : Actual. *Odonto-stomatol*. Numéro 272. Spécial laser. 15-22. DOI:<http://dx.doi.org/10.1051/aos/2015203>.
- [76] : Weersink RA et al. (2005). Techniques for delivery and monitoring of TOOKAD (WST09). mediated photodynamic therapy of the prostate: clinical experience and practicalities. *Journal of photochemistry and photobiology*.79: 211-22.
- [77] : Vincent Maunoury et al. (2007). La thérapie photodynamique en hépatogastroentérologie. *Hépatogastro*. Vol. 14, n°2. 157-163. DOI: 10.1684/hpg.2007.0060.
- [78]: Lambert C. R. et al. (1993). Local drug delivery catheters: functional comparison of porous and microporous designs. *Coronary artery disease*. 4 (5) 469-75.
- [79]: Coutier, S. et al. (2002). Effect of Irradiation Fluence Rate on the Efficacy of Photodynamic Therapy and Tumor Oxygenation in Meta-Tetra (Hydroxyphenyl) Chlorin (*mTHPC*)-Sensitized HT29 Xenografts in Nude Mice. *Radiat. Res*. Volume 158, 339–345.
- [80] : Verrecken. P et al. (2004). Thérapie photodynamique topique en cancérologie cutanée. *Revue médicale de Bruxelles*. vol 25, n°6, pp. 512-520.
- [81]: Moan J. (1990). On the diffusion length of singlet oxygen in cells and tissues. *J. Photochem. Photobiol., B, Biol*, 6, 343-344.
- [82] : L. Wyld et al. (2001). *British Journal of Cancer*. N° 84. 1384-1386.
- [83] : Dougherty TJ. et al. (1998). Photodynamic therapy. *J Natl Cancer Inst*, 90(12): 889-905.
- [84]: Piette J et al. (2003). Cell death and growth arrest in response to photodynamic therapy with membrane-bound photosensitizers. *Biochem Pharmacol*, 66(8): 1651-9.
- [85]: Andrey. A. et al. (2000). Targeted intracellular delivery of photosensitizers to enhance photodynamic efficiency. *Immunology and Cell Biology*. 78, 452–464.
- [86]: Henning Walczak et al. (1999). Tumoricidal activity of tumor necrosis factor–related apoptosis–inducing ligand in vivo. *Nature Medicine*. n°5. 157 – 163. DOI: 10.1038/5517
- [87]: Dougherty T.J. (1987). Photosensitizers, therapy and detection of malignant tumors. *Photochem. Photobiol*. 45, 879-889.

-
- [88]: Folkman J. (1986). How is blood vessel growth regulated in normal and neoplastic tissue, G.H.A. Clowes Memorial Award Lecture, *Cancer Res.*, 46, 467.
- [89]: Ackerman N.B. Hechmer P.A. (1978). Studies on the capillary permeability of experimental liver metastases, *Surg. Gynecol. Obstet.* 146, 884.
- [90]: Moan J et al. (1989). Intracellular localization of photosensitizers. In *Photosensitizing Compounds, Their Chemistry, Biology and Clinical Use*. Pages 95-107.
- [91]: Dougherty, T.J. et al. (1978). Photoradiation therapy for the treatment of malignant tumors. *Cancer Res.* 38(8): p. 2628-35.
- [92]: Specht K.G., Rodgers M.A. (1990). Depolarisation of mouse myeloma cell membranes during photodynamic action. *Photochem. Photobiol.* 51,319-324.
- [93]: Henderson, B.W. Dougherty, T.J. (1992). How does photodynamic therapy work? *Photochem Photobiol.* 55(1): 145-57.
- [94]: Dougherty, T.J., et al. (1978). Photoradiation therapy for the treatment of malignant tumors. *Cancer Res.* 38(8): p. 2628-35.
- [95]: Kessel, D. et al.(1997) . The role of subcellular localization in initiation of apoptosis by photodynamic therapy.*Photochem Photobiol.*65(3): 422-6
- [96]: J. C. Yang. (1998). *Biochemical and Biophysical Research Communications*. Volume 250. Pages 454-457
- [97]: M.L. Agarwal et al. (1991). Photodynamic therapy induces rapid cell death by apoptosis in L5178Y mouse lymphoma cells. *Cancer Res.* 51, 5993-5996.
- [98]: S. B. Bratton et al. (2001). *EMBO Journal*. Volumes 20. Pages 998-1009.
- [99]: K. C. Zimmermann et al. (2001). *Pharmacology and Therapeutics*. Volume 92, pages 57-70.
- [100]: Piette J. et al. (2003). Cell death and growth arrest in response to photodynamic therapy with membrane-bound photosensitizers. *Biochem Pharmacol.* 66(8): 1651-9.
- [101]: A. P. Castano et al. (2005). *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 2. Pages 1-23
- [102]: Kessel D et al. (2006). Initiation of apoptosis and autophagy by photodynamic therapy. *Autophagy*, 2(4): 289-90
- [103]: J. Piette et al. (2003). *Biochemical Pharmacology*. Volume 66. Pages 1651-1659
- [104]: T. J. Dougherty et al. (1998). *Journal of the National Cancer Institute*. Volume 90. Pages 889-905
- [105]: Shweiki, D. et al. (1992). Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. *Nature*, volume 359. Pages 843-845.

-
- [106]: Abels, C. (2004). Targeting of the vascular system of solid tumours by photodynamic therapy (PDT). *Photochemical and Photobiological Sciences*, 3 (8), 765-771.
- [107]: Casas, A. et al. (2008). Decreased metastatic phenotype in cells resistant to aminolevulinic acid-photodynamic therapy. *Cancer Letters*, 271 (2), 342-351.
- [108]: Henderson, B. W.; Dougherty, T. J. (1992). How does photodynamic therapy work? *Photochemistry and Photobiology*, 55 (1), 145-157.
- [109]: Korbelik, M. et al. (2000). Nitric oxide production by tumour tissue: Impact on the response to photodynamic therapy. *British Journal of Cancer*, 82 (11), 1835-1843.
- [110]: Elmet's, C.A. and Bowen, K.D. (1986). Immunological suppression in mice treated with hematoporphyrin derivative photoradiation. *Cancer Res.* n°46, pages 11.
- [111]: Korbelik, M. (1996). Induction of tumor immunity by photodynamic therapy. *J Clin Laser Med Surg*, 14(5): 329-34.
- [112]: Agarwal M.L. et al. (1993). Phospholipase activation triggers apoptosis in photosensitized mouse lymphoma cells. *Cancer Res*, 53(24):5897-902.
- [113]: Yamamoto N. et al. (1991). Photodynamic immunopotential: in vitro activation of macrophages by treatment of mouse peritoneal cells with haematoporphyrin derivative and light. *Eur J Cancer*. 27(4):467-71.
- [114]: Castano et al. (2006). Photodynamic therapy and anti-tumour immunity. *Nat Rev Cancer*. 6(7): p. 535-45.
- [115]: Byrnes KR et al. (2005). Low power laser irradiation alters gene expression of olfactory ensheathing cells in vitro. *Lasers Surg Med*. Volume: 37, pages: 161–171.
- [116] : S.MORDEN. (2001). Les lasers médicaux. *Angéologie*, volume 53, numéro 4, pages 45-55.
- [117] : S. Mordona, T. Michaud. (2009). Théorie des lasers et des lampes. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie*. Volume 136, Supplement 6, Pages S306–S310.
- [118]: Karu T. (2000). Mechanisms of low-power laser light action on cellular level. Pages: 1–17.
- [119]: Wong-Riley MT, et al. (2005). Photobiomodulation directly benefits primary neurons functionally inactivated by toxins: role of cytochrome c oxidase. *J Biol Chem*. 280(6).
- [120]: BOURG-HECKLEY Genevieve. (2008). Les applications thérapeutiques des lasers. *Optique et vivant*. Numéro 35, pages 44-52.
- [121] : Uozumi Y, et al. (2010). Targeted increase in cerebral blood flow by transcranial near-infrared laser irradiation. *Lasers Surg Med*. 42(6):566–576.

[122]: M. Boniol et al. (Juillet 2012). Cutaneous melanoma attributable to sunbed use: systematic review and meta-analysis , British Medical Journal, n° 345, DOI: 10.1136/bmj.e4757.

[123]: Pho L, et al. (mars 2006). Melanoma genetics: a review of genetic factors and clinical phenotypes in familial melanoma. *Curr Opin Oncol.* 18(2):173-9.

[124]: Katarina Volkovova et al. (2012). Associations between environmental factors and incidence of cutaneous melanoma ; *Environ Health..* Doi:10.1186/1476-069X-11-S1-S12.

[125]: Etienne J et al . (2004). Photodynamic therapy with green light and m-tetrahydroxyphenyl chlorin for intramucosal adenocarcinoma and high grade dysplasia in Barrett's esophagus. *Gastrointest Endosc*;59:880-9.

[126]: Pech O. et al. (2008). Long term results and risk factor analysis for recurrence after curative endoscopic therapy in 349 patients with high grade intraepithelial neoplasia and mucosal adenocarcinoma in Barrett's oesophagus. Pages 57.