

# La thérapie photodynamique

Muriel Barberi-Heyob et Céline Frochot (*coordinatrices*), Lina Bezdetsnaya-Bolotine, Daniel Brault, Dominique Dumas, François Guillemain, Pierre Krausz, Philippe Maillard, Benoît Maunit, Jean-Louis Merlin, Serge Mordon, Jean-François Muller, Thierry Patrice, Gérard Simonneaux et Charles Tanielian

**Résumé** La thérapie photodynamique est une nouvelle approche, basée sur l'action sélective par la lumière de médicaments, dits photosensibilisateurs. Ces molécules, non toxiques en absence d'une lumière de longueur d'onde appropriée, génèrent, après irradiation lumineuse et en présence d'oxygène, des espèces très réactives entraînant la destruction du tissu cible. Cet article décrit tout d'abord les mécanismes moléculaires de photosensibilisation, puis les propriétés chimiques et photophysiques d'un « bon » photosensibilisateur. Une conception rationnelle de photosensibilisateurs adaptés aux applications thérapeutiques passe nécessairement par un effort d'élaboration de nouveaux composés photo-activables plus efficaces, donc plus sélectifs. Enfin, les principaux domaines d'application, notamment en cancérologie, ainsi que les freins et les perspectives de la thérapie photodynamique sont développés.

**Mots-clés** **Thérapie photodynamique (PDT), photosensibilisant, oxygène, pharmacocinétique cellulaire, ciblage, cancer.**

**Abstract** **The photodynamic therapy**  
The photodynamic therapy, more exactly named dynamic photochemotherapy, is a new approach based on the combined action of a photoactive drug or photosensitizer, light and oxygen. These compounds are non toxic without appropriated light exposure but produce, after irradiation, reactive species in presence of molecular oxygen, leading to target tissue destruction. This article describes first the photosensitization molecular mechanisms, then the photophysical and chemical properties requested to obtain a « good » photosensitizer. In order to propose photosensitizers really adapted to therapeutic applications, more efficient and selective new photoactive compounds are elaborated. At last, the main application fields of photodynamic therapy, the limits and the future of this treatment are developed.

**Keywords** **Photodynamic therapy (PDT), photosensitizer, oxygen, cellular pharmacokinetics, targeting, cancer.**

Les effets thérapeutiques de la lumière sont connus depuis l'Antiquité et aujourd'hui, on peut classer ses activités curatives en trois axes :

- la *photothérapie*, qui utilise uniquement les effets intrinsèques de la lumière, par exemple dans le traitement de la jaunisse des nourrissons par exposition à la lumière bleue photolysant la bilirubine ;
- la *photochimiothérapie*, qui implique l'association de la lumière avec un médicament photo-activable, par exemple dans le traitement de référence de dermatoses étendues telles que le psoriasis associant la prise d'un psoralène à une irradiation corporelle par rayons UVA ;
- et enfin la *thérapie photodynamique*, plus exactement nommée *photochimiothérapie dynamique*, qui fait appel à l'action combinée d'une molécule et de la lumière visible pour générer des espèces réactives de l'oxygène.

Ainsi en résumé, la photochimiothérapie dynamique se distingue de la photochimiothérapie qui n'implique pas l'oxygène et de la photothérapie où la lumière agit seule. L'application de l'interaction « lumière-vivant » abordée ici concernera la thérapie photodynamique (« photodynamic therapy », PDT) comme traitement d'affections localisées en cancérologie et en ophtalmologie, et permettra aussi d'entrevoir de nouvelles applications comme la méthodologie d'internalisation photochimique de macromolécules (PCI).

La thérapie photodynamique (PDT) est basée sur une activation par la lumière de médicaments, dits « photo-activables » ou « photosensibilisateurs ». Ces derniers, non

toxiques en absence d'une excitation lumineuse, génèrent de façon transitoire des espèces très actives : oxygène singulet et radicaux libres. Du fait de leur très faible durée de vie, l'action primaire de ces espèces est limitée dans l'espace à une échelle moléculaire, ou au plus, à celle des organites cellulaires. L'action photodynamique et les effets exercés par les oxyradicaux sont tout d'abord présentés.

La PDT est en passe de devenir un nouveau moyen d'exérèse (ablation) de tissus pathologiques. En effet, sa sélectivité résulte d'une part du caractère localisé de l'irradiation destinée à activer le photosensibilisateur, et d'autre part de l'incorporation préférentielle de ce dernier dans les tissus ciblés, par exemple néoplasiques (cancéreux). Ceci permet de traiter des petites lésions connues mais de localisation imprécise, comme par exemple de la surface de la vessie. En outre, la PDT peut être réitérée sans accumulation d'effets secondaires.

Malgré des aspects attractifs, le très faible nombre de photosensibilisateurs disponibles cliniquement avec autorisation à un niveau mondial apparaît comme un verrou. Le développement de nouveaux médicaments pour cette thérapie demeure donc indispensable à son essor et nécessite de prendre en compte différents paramètres dont l'importance relative dépend des mécanismes moléculaires de photosensibilisation, du mode de transport des photosensibilisateurs, du franchissement des barrières membranaires, de la localisation cellulaire déterminant les sites d'action primaire de la PDT et de la biodistribution tissulaire.

La stratégie anticancéreuse tend à s'orienter vers l'élaboration de molécules « hybrides » composées d'un principe actif photo-activable associé à un module de reconnaissance. La conjugaison d'un photosensibilisateur avec des modules d'adressage (sucres, ligands, peptides) ayant une affinité particulière pour des récepteurs membranaires surexprimés à la surface des cellules tumorales induit une augmentation significative et sélective de l'incorporation cellulaire, et donc de l'activité photodynamique. Une stratégie moins conventionnelle vise à cibler les cellules endothéliales vasculaires afin de détruire la néovascularisation pour induire une destruction des vaisseaux nourriciers de la tumeur. Les plus récentes de ces approches, visant à améliorer la sélectivité des photosensibilisateurs, sont reportées plus loin.

D'un point de vue clinique, la PDT entraîne moins de traumatisme que les traitements standard, et se présente souvent comme la dernière option possible. Son caractère non invasif et son pouvoir cicatrisant la positionnent comme une alternative dans le traitement du cancer de la peau et d'autres lésions dermiques. En outre, elle s'est montrée efficace dans le traitement de lésions à haut risque de carcinomes intramuqueux sur œsophage de Barrett, voire dans des pathologies bénignes comme la dégénérescence maculaire liée à l'âge. Les progrès considérables réalisés dans les domaines des lasers, des fibres optiques et de systèmes diffuseurs de lumière ont maintenant donné à cette thérapie les moyens d'un fort développement pour le traitement d'affections localisées. Les applications cliniques significatives de la PDT et les agents photosensibilisants déjà commercialisés sont abordés en dernier point.

## Les mécanismes moléculaires de photosensibilisation

### Photosensibilisation en présence d'oxygène, action photodynamique et photochimiothérapie

On peut définir la photosensibilisation comme le processus suivant lequel un changement photochimique ou photophysique se manifeste au niveau d'une entité moléculaire (le substrat) comme conséquence de l'absorption initiale de radiations par une autre entité moléculaire appelée photosensibilisateur. La photosensibilisation, surtout en présence d'oxygène, joue un rôle majeur dans de nombreux processus d'importance industrielle et biologique, comme par exemple la photodégradation des polymères et l'action photodynamique qui nous préoccupe ici [1].

Le déroulement des réactions photosensibilisées est profondément modifié par la présence d'oxygène dont l'originalité des comportements chimique et physique est essentiellement due à la nature de la configuration électronique de ses états fondamental et excités. Ces états diffèrent par la manière dont les deux derniers des seize électrons de la molécule se placent sur les plus hautes orbitales occupées qui sont deux orbitales antiliantes dégénérées (de même énergie)  $2p\pi^*$  (figure 1). Comme ces électrons occupent les deux orbitales  $2p\pi^*$  avec des spins parallèles, l'état fondamental noté  $O_2(^3\Sigma_g^-)$  possède un caractère triplet qui l'apparente à un « diradical » et explique : (i) son paramagnétisme, (ii) son inaptitude à réagir directement (très heureusement pour la matière vivante !) avec les composés organiques, dont l'état fondamental est

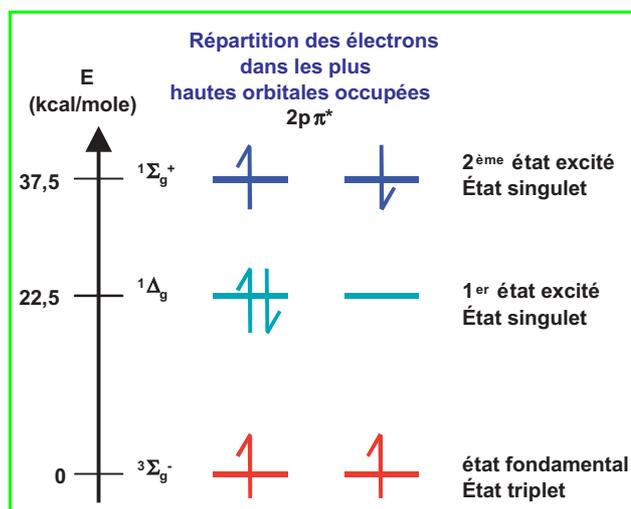


Figure 1 - États de la molécule d'oxygène : état fondamental, 1<sup>er</sup> et 2<sup>e</sup> états excités.

singulet dans les conditions habituelles, et (iii) sa capacité à se combiner avec des radicaux carbonés. Les deux états excités singlets, désignés par  $O_2(^1\Delta_g)$  et  $O_2(^1\Sigma_g^+)$ , diffèrent par leur mode d'occupation des deux orbitales  $2p\pi^*$  et possèdent une énergie de 22,5 et 37,5 kcal.mole<sup>-1</sup> respectivement. L'état  $^1\Delta_g$  est une espèce électrophile et participe notamment à des réactions du type Alder « ène » et du type Diels-Alder, alors que les propriétés de l'état  $^1\Sigma_g^+$  sont mal connues et s'apparentent plutôt à celles de  $^3\Sigma_g^-$  en raison de l'occupation de chacune des deux orbitales  $2p\pi^*$  par l'un des deux électrons. Mais le plus souvent, on admet que  $^1\Sigma_g^+$  subit une conversion extrêmement rapide vers l'état  $^1\Delta_g$ .

Les effets de substances photosensibilisantes sur les systèmes biologiques sont connus depuis très longtemps et l'on sait que les végétaux et les systèmes vivants y sont sensibles, depuis les organismes unicellulaires tels que les bactéries jusqu'aux animaux supérieurs. On convient généralement de faire remonter le début de ce domaine de la photobiologie aux travaux publiés en 1900 à Munich par un étudiant en médecine allemand, Oscar Raab, sous la direction de H. von Tappeiner. Raab trouva que de très faibles concentrations de colorants, comme les acridines et l'éosine, qui n'avaient aucun effet à l'obscurité, devenaient toxiques pour certains protozoaires lors de leur exposition à la lumière solaire. Cette découverte provoqua rapidement de nombreuses recherches sur le phénomène, qui fut presque immédiatement appelé « action photodynamique » pour le différencier d'autres phénomènes de caractère physique comme la photosensibilisation des plaques photographiques par les colorants. Ainsi, la dénomination « action photodynamique » est employée pour représenter les dommages que subissent les systèmes biologiques sous l'action combinée de la lumière visible, d'un chromophore absorbant la lumière et de l'oxygène. Les thérapies dérivées de l'action photodynamique comme la thérapie photodynamique sont fondées sur la destruction sélective des tumeurs par administration d'un photosensibilisateur suivie d'une irradiation lumineuse adaptée à son spectre d'absorption.

Un grand nombre de molécules et macromolécules biologiques, caractéristiques des milieux vivants, sont susceptibles de subir des altérations photodynamiques. Les

dommages les plus importants sont ceux provoqués par : (i) la désactivation d'enzymes résultant de la destruction de certains acides aminés (surtout méthionine, histidine, tryptophane, cystéine et tyrosine), (ii) l'oxygénation des acides nucléiques et des bases qui les constituent (les purines, et tout spécialement la guanine et ses dérivés, étant les plus sensibles dans les conditions physiologiques), et (iii) l'altération des membranes (surtout consécutive à l'oxygénation des acides gras insaturés et du cholestérol).

### Mécanismes de formation des produits primaires des réactions d'oxygénation photosensibilisées

De très nombreux travaux ont été consacrés à l'étude du mécanisme des réactions photosensibilisées de substrats organiques AH en présence d'oxygène. Le produit primaire de ces réactions, qui sont responsables des dommages évoqués précédemment, est le plus souvent un hydroperoxyde (ou un peroxyde)  $AO_2H$  résultant, quel qu'en soit le mécanisme, de l'incorporation d'une molécule d'oxygène moléculaire dans l'entité moléculaire AH. Bien que le terme photo-oxydation soit très couramment employé, il est préférable d'utiliser celui de photo-oxygénation. Les oxygénations photosensibilisées sont initiées par l'absorption de lumière par le sensibilisateur, qui peut être un colorant ou un pigment, une cétone ou une quinone, une molécule aromatique ou de nombreux autres types de composés. Le sensibilisateur S est converti en un état électroniquement excité par absorption d'un photon. L'espèce initiale est un état singulet de courte durée de vie ( $^1S^*$ ) qui, très souvent, subit une conversion intersystème et donne naissance à un état triplet de plus longue durée de vie ( $^3S^*$ ). Cette durée de vie beaucoup plus importante est très certainement à l'origine du rôle clé que joue l'état triplet dans les oxygénations photosensibilisées. Deux mécanismes différents, dénommés de types I et II, ont été caractérisés au début des années 1960 par Schenck [2], et ultérieurement améliorés par Foote [3] qui proposa que l'oxygène singulet puisse être un intermédiaire important dans ces réactions (figure 2). Dans les photo-oxygénations de type I, l'état triplet  $^3S^*$  du sensibilisateur interagit avec le substrat AH pour donner naissance à une paire de radicaux libres, suivant un mécanisme par transfert d'électron ou d'un atome d'hydrogène. Les radicaux ainsi produits réagissent avec l'oxygène pour régénérer le sensibilisateur et former des

radicaux peroxydes ou l'ion superoxyde  $O_2^{\cdot-}$  qui conduisent aux produits d'oxygénation. Les réactions de type II mettent en jeu l'interaction de l'état excité du sensibilisateur directement avec l'oxygène qui conduit à la formation d'oxygène singulet par transfert d'énergie. Cette dernière espèce électrophile réagit avec de nombreux substrats, provoquant ainsi des dommages dans les systèmes biologiques.

L'établissement d'un mécanisme de photo-oxygénation débute par la connaissance de la nature, type I ou II, de la première étape de la transformation. Plusieurs tests, implicitement considérés comme équivalents, ont été proposés pour établir cette distinction. Ils cherchent généralement à déterminer si de l'oxygène singulet est produit pendant la réaction et est responsable de l'oxygénation du substrat. Ils mettent en œuvre des inhibiteurs d'oxygène singulet (comme le DABCO (1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane) et l'azoture de sodium), comparent les vitesses réactionnelles dans un solvant et son équivalent deutéré dans lesquels les durées de vie de  $^1\Delta_g$  sont très différentes (par exemple, la durée de vie de l'oxygène singulet est vingt fois plus longue dans  $D_2O$  que dans  $H_2O$ ), ou utilisent des substrats qui réagissent de façon spécifique avec l'oxygène singulet (cholestérol et acides gras polyinsaturés). Mais ces tests sont souvent délicats à utiliser et/ou de crédibilité partielle car susceptibles de donner des réponses non univoques. C'est pourquoi d'autres méthodes fournissant des informations complémentaires ont été employées, et l'utilisation combinée des techniques résolues dans le temps, telle la photolyse éclair laser, et d'irradiation continue, comme les mesures de consommation d'oxygène, s'est révélée particulièrement fructueuse [4]. Par ailleurs, l'évaluation de l'éventuelle contribution des deux mécanismes au processus global requiert l'utilisation de sensibilisateurs de référence qui provoquent exclusivement une catégorie de réactions. On dispose de sensibilisateurs ayant des rendements de production d'oxygène singulet importants ; par exemple, la phénalénone sensibilise la production de  $^1O_2(^1\Delta_g)$  avec un rendement voisin de l'unité quelle que soit la nature du solvant. Mais aucun sensibilisateur classique n'est capable de produire des radicaux libres sans former parallèlement de l'oxygène singulet. Très récemment, il a été proposé d'utiliser des polyoxométallates, et en particulier l'anion decatungstate  $W_{10}O_{32}^{4-}$ , comme premier sensibilisateur de référence pour les oxygénations de composés organiques de caractère purement radicalaire [5] (figure 2).

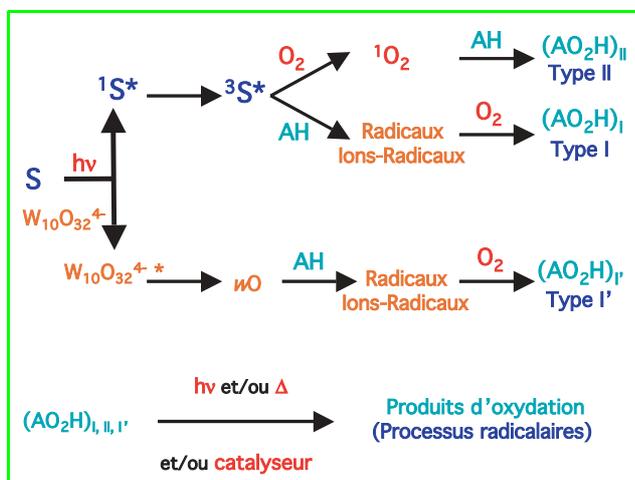


Figure 2 - Mécanismes des réactions d'oxygénation photosensibilisées.

### Réactions consécutives : évolution des mécanismes avec le temps

Jusqu'à présent, nous avons fait implicitement l'hypothèse que les produits primaires étaient stables. En réalité, les produits primaires d'une réaction photosensibilisée génèrent rapidement de nouveaux produits suivant une cascade de processus secondaires, de nature photochimique mais aussi thermique ou catalytique, qui peuvent être favorisés dans les milieux biologiques. Les produits primaires des oxygénations photosensibilisées sont le plus souvent, quel que soit le mécanisme, des hydroperoxydes ou des peroxydes qui peuvent subir une rupture homolytique ou hétérolytique et amorcer des réactions d'oxygénation radicalaires en chaînes (figure 2). Il est alors évident que pour l'étude de systèmes complexes, il sera indispensable de prendre en compte, comme espèces intermédiaires

réactives, non seulement les états excités du sensibilisateur, l'oxygène singulet et les radicaux et ions-radicaux primaires (figure 2), mais aussi l'ensemble des oxyradicaux :  $O_2^{\cdot-}$ ,  $HO^{\cdot}$ ,  $AO^{\cdot}$ ,  $AO_2^{\cdot}$ , etc.

Un dernier paramètre, réellement fondamental et pourtant presque ignoré et inexploité, est l'évolution avec le temps de la teneur en oxygène. L'omniprésence de  $O_2$  laisse implicitement penser que sa concentration reste constante. En fait, il a été clairement démontré que la pression partielle d'oxygène, qui dépend de la nature des tissus (elle est beaucoup plus faible dans les tumeurs), décroît régulièrement jusqu'à s'annuler au cours de la phase d'irradiation en thérapie photodynamique. Ce passage d'un milieu aérobie à un milieu anaérobie a des conséquences très importantes au niveau des mécanismes, qui ne doivent plus être considérés comme stationnaires mais être évolutifs avec le temps. Il est par exemple évident que le processus de type I deviendra prioritaire avec le temps au détriment de celui de type II, et que les réactions radicalaires consécutives, qui viennent d'être évoquées, seront favorisées.

### Mécanismes moléculaires et mécanismes biologiques

Les mécanismes moléculaires de l'action photodynamique sont extrêmement complexes, et l'on conçoit aisément que les mécanismes biologiques le soient bien plus encore. Toutefois, on rencontre beaucoup de points communs entre les deux approches, et on peut penser que les systèmes biologiques subissent très vraisemblablement une séquence de processus voisine de celle décrite en milieu homogène. Par exemple, la luminescence de l'oxygène singulet a été récemment détectée *in vitro* et *in vivo* [6]. Les phénomènes de compartimentation présents dans les milieux biologiques constituent une différence importante. Le sensibilisateur exogène et les cibles oxydables endogènes sont très probablement limités dans l'espace, et même confinés dans des compartiments différents. Toutefois, ils peuvent être reliés par l'oxygène et certaines espèces oxygénées réactives. Ces dernières, lorsqu'elles sont générées dans un compartiment donné, ont une probabilité finie d'atteindre une cible dans le même compartiment ou dans un autre à travers une interface. C'est pourquoi on peut s'attendre à ce que l'effet de compartimentation soit réduit et que les données fondamentales acquises dans les milieux homogènes s'appliquent également aux systèmes compartimentés [7]. La poursuite de l'étude des mécanismes moléculaires reste donc d'actualité, et il est notamment urgent d'approfondir la connaissance de l'évolution et de la succession des mécanismes avec le temps d'irradiation afin de fournir de nouveaux éléments de réflexion aux praticiens de la photochimiothérapie.

## Les photosensibilisateurs

La plupart des photosensibilisateurs utilisés en thérapie photodynamique sont issus des macrocycles tétrapyrroliques et sont principalement des porphyrines, chlorines ou phtalocyanines (figure 3). Ces composés possèdent un système à 18 électrons  $\pi$  leur conférant un caractère aromatique à l'origine de la forte absorption de la lumière visible. La modification du système  $\pi$  permet de modifier le spectre d'absorption de ces macrocycles.

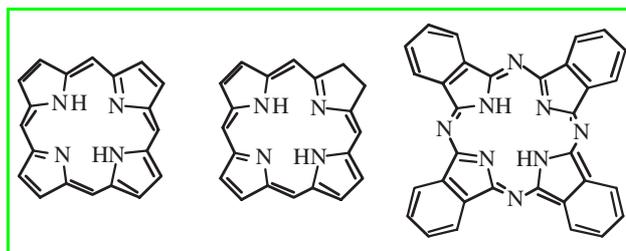


Figure 3 - Formules générales d'une porphyrine, d'une chlorine et d'une phtalocyanine.

### Comment définir un bon photosensibilisateur ?

Il est usuel de définir un bon photosensibilisateur comme une molécule dont la synthèse peut être faite de façon reproductible, ne s'agréant pas dans un milieu physiologique (l'activité photochimique des monomères ou des formes agrégées étant différente), non cytotoxique à l'obscurité, stable vis-à-vis des enzymes circulantes, présentant un bon tropisme pour les cellules tumorales et éliminé rapidement des tissus sains. Il doit également posséder une forte absorption de la lumière rouge ( $\lambda > 650$  nm) et un bon rendement de formation en oxygène singulet ( $^1O_2$ ). La bande d'absorption entre 600 et 800 nm correspond à une fenêtre de transparence des tissus vivants due à la faible absorption de l'hémoglobine et de l'oxyhémoglobine dans cette zone du spectre. Un autre aspect à prendre en compte est la photostabilité des photosensibilisateurs pendant l'irradiation. La technique de désorption/ionisation laser assistée par matrice (MALDI) couplée au spectromètre de masse FTICR/MS et TOF/MS au sein de cellules entières avant et après traitement laser représente une méthode de choix pour caractériser les photoproduits issus de cette photodégradation ou photoblanchiment [8]. La localisation des photosensibilisateurs au sein de la cellule est un autre paramètre important. La microscopie de fluorescence confocale couplée à une source laser femtoseconde est une technique de choix qui permet d'étudier, par des expériences de colocalisation (figure 4), l'incorporation du photosensibilisateur dans les différents organites, avec une photodégradation réduite car strictement limitée au plan de focalisation [9-10]. Les modalités d'analyse peuvent être complétées par les composantes spectrale, pour identifier le devenir des photosensibilisateurs, et temporelle en mode dynamique, déterminée en microscopie de fluorescence résolue dans le temps ou FLIM (« fluorescence lifetime imaging microscopy ») ( $\chi\gamma\tau$ ), et par les constantes cinétiques mesurées en spectroscopie à corrélation de fluorescence (FCS). Par ailleurs, la microscopie à excitation multiphotonique permet des analyses de manière non invasive en mode IR sur des tissus vivants, tumeurs...

### Transport, incorporation et localisation subcellulaire

Il faut souligner à nouveau que tant pour les mécanismes de type I (transfert d'électron ou d'hydrogène) ou de type II (formation d'oxygène excité à l'état singulet), la très faible durée de vie des espèces actives formées limite leur effet dans l'espace. Les effets biologiques, qui entraînent la mort des cellules visées, ont toujours pour origine des processus

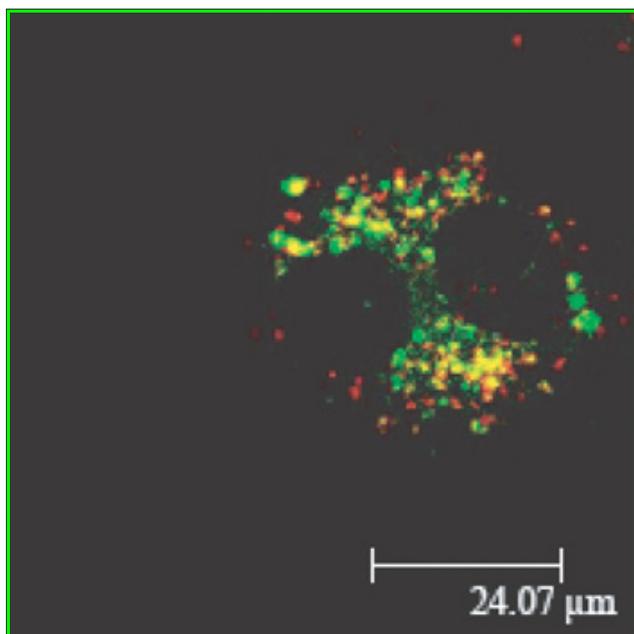


Figure 4 - Image obtenue par microscopie de fluorescence confocale sur des cellules endothéliales de veine ombilicale humaine avec un double marquage : en rouge, le photosensibilisateur (la monocarboxytétraphénylchlorine conjuguée au peptide  $\text{NH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_5\text{-CO-Ala-Thr-Trp-Leu-Pro-Pro-Arg-OH}$  spécifique de NRP-7) ; en vert, le marquage des lysosomes par du LysoTracker® ; en jaune, la superposition caractérisant la colocalisation.

primaires strictement limités aux structures marquées par le photosensibilisateur. Compte tenu des durées de vie des espèces actives, ces processus primaires s'exercent à un niveau subcellulaire, voire moléculaire. Ainsi, la conception de médicaments photo-activables doit prendre en compte deux types de propriétés indépendantes des photosensibilisateurs : (i) leur efficacité d'absorption de la lumière et de génération d'espèces actives ; (ii) leur pharmacocinétique ainsi que leurs interactions avec des biomolécules et leur localisation subcellulaire qui déterminent les sites d'action primaires et leur sélectivité.

La localisation des photosensibilisateurs peut être relativement diverse. Cependant, peu de relations ont été établies entre structure, incorporation cellulaire et surtout localisation subcellulaire. L'incorporation cellulaire dépend également des interactions de ces molécules avec les protéines de transport du plasma, en particulier l'albumine et les lipoprotéines, notamment les lipoprotéines de basse densité (LDL, selon l'acronyme anglais). L'étude sur les interactions des photosensibilisateurs avec les protéines de plasma est importante pour prédire leur comportement pharmacologique et, à partir de cela, l'intervalle entre l'injection du photosensibilisateur et l'irradiation du site tumoral (intervalle drogue-lumière) [11]. L'albumine est le transporteur de bon nombre de molécules et possède, en particulier, un site de haute affinité pour les cycles tétrapyrroliques. Ces particules lipidiques ont pour rôle physiologique le transport du cholestérol du foie vers les tissus. Compte tenu de leur composition lipidique majoritaire, les LDL sont de bons transporteurs de molécules hydrophobes, en particulier de photosensibilisateurs présentant cette propriété. Cette liaison, non covalente, des

photosensibilisateurs aux LDL associée à la surexpression des récepteurs cellulaires à ces dernières est très certainement un facteur de sélectivité important [12a].

Un autre facteur de sélectivité peut être recherché dans une propriété « physico-chimique » des tumeurs liée à leurs besoins nutritionnels. Lorsque la tumeur grossit au-delà des limites de diffusion simple de l'oxygène, un état hypoxique intratumoral est généré. De ce fait, le glucose est métabolisé partiellement par une voie anaérobie avec formation d'acide lactique qui est rejeté par les cellules. Le liquide interstitiel des tumeurs est ainsi plus acide que celui des tissus normaux, la différence pouvant atteindre 0,6 unité de pH. Par le biais des équilibres acido-basiques, le caractère lipophile de photosensibilisateurs possédant des groupes carboxyliques tels que le Photofrin® est augmenté, favorisant leur incorporation dans les cellules tumorales par simple diffusion à travers la membrane plasmique [12b]. Grâce à des systèmes modèles et en mettant en œuvre des techniques de cinétique rapide (« stopped-flow »), des informations précises sur les vitesses de traversée de la bicouche lipidique par les photosensibilisateurs ont pu être obtenues en fonction de leur structure et de leurs propriétés physico-chimiques telles que les équilibres acide-base de chaînes latérales de ces macrocycles [12c]. En prenant pour référence des bicouches lipidiques de dioléoyl-phosphatidylcholine, ces vitesses peuvent s'étendre entre quelques secondes et plusieurs heures. Deux photosensibilisateurs présentant ces propriétés extrêmes ont été comparés : une porphyrine dicarboxylique traversant la bicouche rapidement, et une phtalocyanine disulfonée la traversant très lentement. De façon remarquable, sur des fibroblastes en culture, 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 photosensibilisateurs basée sur leur structure. Beaucoup reste à faire cependant pour modéliser ainsi les mécanismes de localisation de photosensibilisateurs, tant leurs propriétés sont modulables en fonction de la variété des chaînes latérales qu'ils peuvent porter.

La localisation de certains photosensibilisateurs 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 (pour « photochemical 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 agent photosensibilisant se localisant au niveau membranaire. Son efficacité dépend très étroitement du photosensibilisateur utilisé [13].

### Évolution des photosensibilisateurs

Depuis les années 1980, trois générations de photosensibilisateurs ont vu le jour.

Les dérivés de 1<sup>ère</sup> génération : historiquement, le premier photosensibilisateur à avoir été utilisé en clinique humaine fut l'hématoporphyrine (Hp) et ses dérivés (HpD). L'HpD est difficile à obtenir pur et contient des composés oligomères responsables de la photocytotoxicité. Malgré ses

inconvenients, il a été le premier agent photosensibilisateur à obtenir l'autorisation de mise sur le marché (AMM) en thérapie photodynamique anticancéreuse. En 1987, Dougherty chercha à isoler la fraction active de l'HpD et désigna sous le terme de DHE la dihématoporphyrine éther ou ester indistinctement ; la DHE représente la fraction purifiée de l'HpD [14]. Le Photofrin®, commercialisé sous la dénomination commune internationale « porfimère sodique », est en fait une fraction enrichie à 80-90 % de DHE (figure 5). La limitation la plus importante de l'HpD et des porphyrines en général est certainement leur spectre d'absorption UV-visible et une lente élimination entraînant une photosensibilisation générale de longue durée.

Les photosensibilisateurs de 2<sup>e</sup> génération ont été développés afin de pallier ces inconvenients. Ce sont des composés purs ; la plupart absorbent fortement dans la partie rouge du spectre optique et possèdent un rendement quantique de formation de  $^1O_2$  élevé [15]. Une élimination rapide de l'organisme est également souhaitée dans le but de limiter la phototoxicité résiduelle après traitement [16].

Enfin, les photosensibilisateurs dits de 3<sup>e</sup> génération sont eux modifiés (conjugués ou vectorisés) afin de cibler de façon passive ou active les cellules néoplasiques, et donc d'améliorer leur sélectivité pour le tissu à traiter.

### Stratégies de ciblage des photosensibilisateurs de 3<sup>e</sup> génération

Le ciblage peut être passif ou actif. La figure 6 illustre schématiquement les différentes approches possibles en matière de ciblage passif ou actif [17-18].

L'utilisation de liposomes permet de véhiculer des photosensibilisateurs plus ou moins hydrophobes [19]. Les particules polymères permettent de contrôler la libération et d'améliorer la diffusion des photosensibilisateurs. Cependant, ces stratégies de vectorisation semblent limitées par les difficultés de synthèse [18]. L'utilisation d'émulsions et de micelles améliore la dispersion des photosensibilisateurs et par le fait, leur internalisation cellulaire. Cependant, aucune de ces approches n'a d'effet direct sur le ciblage des cellules tumorales.

Une façon de rendre les macrocycles tétrapyrroliques hydrophiles, voire hydrosolubles, est de « décorer » le cœur hydrophobe tétrapyrrolique de motifs fortement hydrophiles comme des sucres [20]. L'hydrophilie du photosensibilisateur peut ainsi être contrôlée par le nombre et le type de saccharides fixés, permettant également une certaine reconnaissance par le photosensibilisateur de cellules exprimant des récepteurs à sucre tels que des lectines [21]. La comparaison de leur activité photobiologique permet de montrer qu'il existe une relation entre cette activité et  $\text{Log}(\text{CP})^{(1)}$  [22]. Les porphyrines polyaminées semblent avoir des propriétés très prometteuses [23].

Le ciblage actif vis-à-vis de récepteurs membranaires surexprimés par le tissu tumoral a été également étudié ; divers photosensibilisateurs ont été conjugués, avec par exemple des lipoprotéines de basse densité (LDL), des

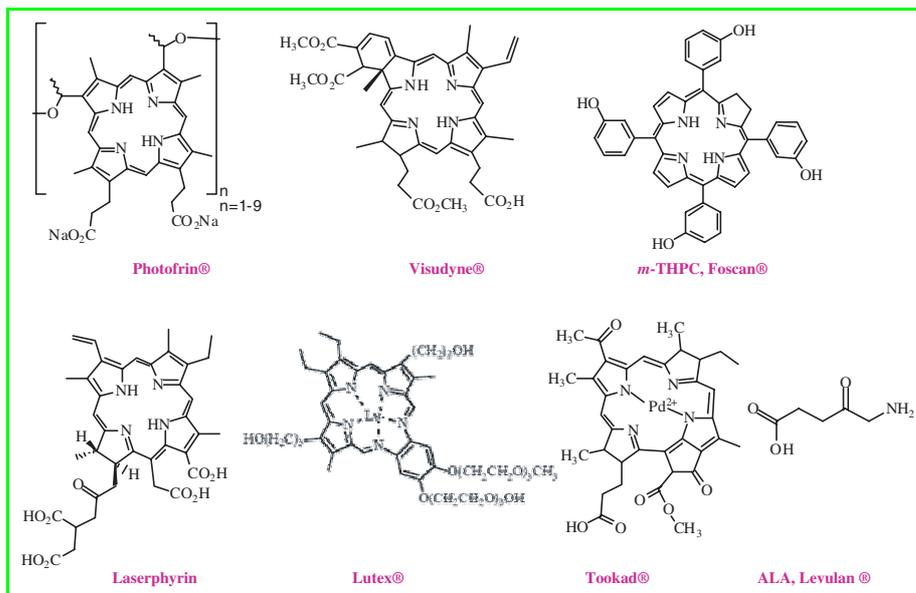


Figure 5 - Structure de quelques photosensibilisateurs de 2<sup>e</sup> génération, excepté le Photofrin® (1<sup>ère</sup> génération) et l'ALA (précurseur de la protoporphyrine IX).

ligands internalisables tels l'insuline, le facteur de croissance épithélial (EGF, « epidermal growth factor »), des sucres et plus récemment l'acide folique [24]. Une autre approche consiste à conjuguer des petits peptides présentant une affinité particulière pour des récepteurs surexprimés par les cellules endothéliales constitutives de la néovascularisation tumorale. En effet, les dommages vasculaires en thérapie photodynamique anticancéreuse sont considérés comme étant un phénomène majeur contribuant largement à l'efficacité du traitement. Une stratégie d'adressage implique le récepteur de type II au facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF, « vascular endothelial growth factor ») et son corécepteur neuropiline-1 (NRP-1) [9]. Il est connu que les cellules endothéliales constitutives de la néovascularisation tumorale, ainsi que certaines cellules cancéreuses, surexpriment l'intégrine  $\alpha_V\beta_3$ . Cette glycoprotéine transmembranaire est capable de se lier aux protéines de la matrice extracellulaire par l'intermédiaire du tripeptide H-Arg-Gly-Asp-OH. La synthèse de photosensibilisateurs portant ce

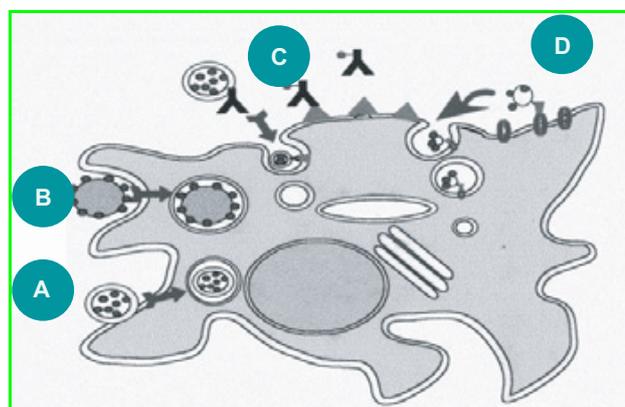


Figure 6 - Stratégies de ciblage des photosensibilisateurs vis-à-vis des cellules néoplasiques.

Ciblage passif : véhiculés par les liposomes (A), délivrance par des microsphères ou nanoparticules (B). Ciblage actif : photosensibilisateurs conjugués directement à un anticorps ou *via* un liposome, une nanoparticule (C), adressage par conjugaison avec un ligand spécifique de récepteurs membranaires (D) (d'après [17]).

motif linéaire ou cyclique a également été envisagée [25]. Les résultats indiquent que cette nouvelle classe de photosensibilisateurs adressés semble prometteuse [10].

## Photosensibilisateurs et aspects cliniques

La photochimiothérapie moderne a été mise en œuvre par T.J. Dougherty (Roswell Park Memorial Institute), Y. Hayata (Tokyo Medical College) et D. Cortese (Mayo Clinic) dans les années 1970 [26]. En Europe, le premier patient a été traité à Nantes en 1983 [27]. Depuis cette date et malgré des autorisations de mise sur le marché (Photofrin®, 1996 ; Foscan®, 2002), la pénétration du marché, pourtant estimé sur les indications actuelles à 3 milliards de dollars et environ à 50 % de cette valeur aujourd'hui (25 % pour les sources laser), est remarquablement lente en France malgré la tenue du congrès mondial de la spécialité à Nantes en 1998. De nombreuses raisons ont rapidement fait retomber l'enthousiasme initial, parmi lesquelles une mauvaise définition des pathologies éligibles à la thérapie photodynamique (PDT), la « rusticité » des premiers agents photosensibilisants (faible sélectivité, pharmacocinétique mal définie, photosensibilité importante), une mauvaise dosimétrie de la lumière... [28].

### Principaux domaines de développement et d'applications

La PDT a été appliquée récemment en ophtalmologie, en association avec la Visudyne® (*figure 5*) pour le traitement de la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA), l'avantage par rapport à la photocoagulation par laser étant de détruire les néovaisseaux sans risque de brûler la rétine.

En dermatologie, l'utilisation de l'ALA (Metvix® ou Levulan®, *figure 5*), acide aminolévulinique précurseur de la protoporphyrine IX, est proposée pour le traitement des kératoses actiniques (appelées également kératoses solaires, correspondant à des lésions intra-épidermiques précancéreuses dues à l'exposition chronique aux UV) et de certains carcinomes (tumeur développée à partir des cellules d'un épithélium) [29].

En 2006, grâce à l'apparition de nouveaux photosensibilisateurs, d'autres disciplines médicales ont entrepris l'évaluation de la PDT, telles que la gastroentérologie pour le traitement des dysplasies (anomalies dans le développement de tissus) de haut grade sur endobrachyœsophage (appelé aussi œsophage de Barrett : le reflux gastro-œsophagien modifie la muqueuse de la partie inférieure de l'œsophage qui se transforme et devient un épithélium en colonnes ressemblant à la muqueuse de l'intestin), des récurrences œsophagiennes superficielles après traitement locorégional du cancer de l'œsophage, des cancers superficiels non accessibles à une autre thérapie, des tumeurs cancéreuses se développant au niveau du cholédoque (cholangiocarcinomes) et des cancers du pancréas non opérables. Pour ces applications, on utilise principalement un dérivé de l'hématoporphyrine, le Photofrin® (*figure 5*), dont l'excitation à 630 nm permet une destruction tumorale relativement profonde des tissus éclairés [30-31].

En urologie, la PDT concerne deux pathologies : le carcinome transitionnel superficiel récidivant (transitionnel car d'un degré plus élevé qu'un carcinome localisé), voire réfractaire de la vessie, et l'adénocarcinome de la prostate, en particulier le cancer prostatique récidivant après

radiothérapie. Les succès cliniques confirmés de la cystoscopie de fluorescence qui facilite la détection précoce de carcinomes urothéliaux préalablement photosensibilisés par la protoporphyrine IX, induite par l'ALA ou l'hexaminolévulinate (Hexvix®), motivent la mise en œuvre de leur traitement par PDT [32]. Quant à la prostate, la recherche actuelle tend à la mise au point d'une technique minimale invasive du cancer localisé de la prostate par l'induction d'une nécrose ablatrice de toute la glande prostatique par collapsus vasculaire secondaire à l'excitation d'une « bactériochlorophylle » (Tookad®, *figure 5*), lors de son passage dans le réseau vasculaire de la glande. L'excitation à 763 nm permet, là aussi, d'avoir une action en profondeur [33].

En gynécologie, la PDT est actuellement à l'essai dans le traitement de lésions dysplasiques (anomalies du tissu) cervicales de haut grade après application cervicale d'une solution d'acide 5-aminolévulinique (5 ALA) [34]. La PDT appliquée à la paroi interne de l'utérus (l'endomètre) semble également prometteuse, en particulier dans le traitement des menstruations anormalement abondantes (ménorragies fonctionnelles) en période préménopausique [35]. Le recours à une PDT locale après instillation d'ALA intra-utérine a montré que ce traitement pourrait constituer une alternative aux traitements chirurgicaux actuellement proposés (curetage de l'endomètre, résection endométriale hystérocopie, thermocoagulation de l'endomètre, hystérectomie).

En ORL, le Foscan® (*figure 5*) est proposé dans le cadre du traitement palliatif de cancers ORL [36].

Dans d'autres spécialités, telles que la pneumologie, le nombre d'études est encore limité et la place de la PDT dans l'arsenal thérapeutique du praticien reste à démontrer [37]. De la même façon, la PDT pourrait représenter une alternative thérapeutique intéressante en neurochirurgie si la sélectivité de la substance photo-activable et la dosimétrie de la lumière étaient bien maîtrisées [38].

### Freins et perspectives en PDT

L'analyse des avancées, tant en recherche de photosensibilisateurs que des applications récentes, souligne au moins deux complexités qui ont freiné le développement de la thérapie photodynamique :

- Le caractère multidisciplinaire de la recherche en amont lié aux contraintes d'applications cliniques : en effet, cette thérapie requiert des compétences complexes en physico-chimie ou en pharmacologie associées à des compétences en physique et à bien d'autres encore (synthèse chimique, photophysique, biologie...), mais dépend de règlements et d'investissements qui sont en tous points identiques à ceux de n'importe quelle autre substance de la pharmacopée. Dès lors, aucune équipe n'a plus les moyens d'aller au bout de la recherche seule et ne peut s'affranchir des contraintes d'industrialisation ou de valorisation. La structure de la recherche, organisée pendant des années en unités indépendantes dédiées à de la recherche fondamentale, est peu adaptée à la mise en réseau, à la mutualisation des efforts. Or, cela semble être la seule issue possible, mais suppose que les problèmes de propriété industrielle soient tous résolus, ce qui est loin d'être le cas dans un tel contexte [39-40].
- Sur le plan des applications cliniques, la PDT s'adresse à des applications ophtalmologiques parfaitement réalisables en secteur privé (quoique en forte perte de vitesse comme toutes les applications vasculaires utilisant cette thérapie [41]), ainsi qu'à des applications cancérologiques qui sont

prises en charge soit par l'hôpital public, soit par les centres anticancéreux, deux entités qui ne travaillent pas forcément en symbiose. Il y a donc multiplicité d'acteurs et une réelle difficulté à mettre des essais cliniques en place compte tenu d'indications significatives au plan européen ou mondial, mais limitées quantitativement sur un territoire national donné.

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 passe 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. C'est pourquoi des méthodes de screening massif adaptées à des extraits complexes sont mises au point au lieu de suivre la voie laborieuse de la synthèse. De plus, les mécanismes sont soit profondément dépendants de la structure chimique de la molécule étudiée, soit au contraire profondément génériques mais souvent incomplètement élucidés comme la physico-chimie par exemple. Ce qui est vrai pour une molécule lui sera donc exclusivement limité, ce qui implique que les travaux mécanistiques entrepris le soient après une analyse stratégique rigoureuse et beaucoup de recul. Nous ne sommes en effet nullement à l'abri d'un changement de concept qui à la fois opérera la PDT mais rendra caduque des études réalisées. Il y a donc une forte divergence entre les besoins pharmaceutiques et la démarche cognitive rendant une mise en réseau indispensable, mais encore faut-il qu'elle le soit au plan européen, et dans une perspective rationnelle. Les organismes de recherche (Inserm, CNRS) initient cette mise en réseau, ce qui devrait permettre de meilleurs échanges et favoriser la recherche multidisciplinaire nécessaire à la PDT.

## Note et références

- Log(CP) correspond au logarithme du coefficient de partage du photosensibilisateur entre le 2-octanol et une solution aqueuse de tampon PBS selon le protocole décrit par dans Kessel D., Effects of photoactivated porphyrins at the cell surface of leukemia L1210, *Biochemistry*, **1977**, *16*, p. 3443.
- Tanielian C., Mechin R., Seghrouchni R., Schweitzer C., Mechanistic and kinetic aspects of photosensitization in the presence of oxygen, *Photochem. Photobiol.*, **2000**, *71*, p. 12.
- Schenck G.O., Photosensitization, *Ind. Eng. Chem.*, **1963**, *55*, p. 40.
- Foote C.S., Photosensitized oxidation and singlet oxygen: consequences in biological systems, *Free Radicals in Biology*, vol. 2, W.A. Pryor (ed), Ac. Press, New York, **1976**, p. 85.
- Tanielian C., Wolff C., Esch M., Singlet oxygen production in water: aggregation and charge transfer effects, *J. Phys. Chem.*, **1996**, *100*, p. 6555.
- Tanielian C., Schweitzer C., Seghrouchni R., Esch M., Mechin R., Polyoxometalate sensitization in mechanistic studies of photochemical reactions: the decatungstate anion as a reference sensitizer for photoinduced free radical oxygenations of organic compounds, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2003**, *2*, p. 297.
- Nieder M.J., Yu C.S., Patterson M.S., Wilson B.C., Singlet oxygen luminescence as an in vivo photodynamic therapy dose metric: validation in normal mouse skin with topical amino-levulinic acid, *Br. J. Cancer*, **2005**, *92*, p. 298.
- Snyder J.W., Skovsen E., Lambert J.D.C., Poulsen L., Ogilby P.R., Optical detection of singlet oxygen from single cells, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2006**, *8*, p. 4280.
- Lassalle H.P., Lourette N., Maunit B., Muller J.F., Guillemin F., Bezdetsnaya-Bolotina L., MALDI-TOF mass spectrometric analysis for the characterization of the 5,10,15,20-tetrakis-(*m*-hydroxyphenyl) bacteriochlorin (*m*-THPBC) photoproducts in biological environment, *J. Mass Spectrom.*, **2005**, *40*, p. 1149.
- Tirand L., Frochot C., Vanderesse R., Thomas N., Trinquet E., Pinel S., Viriot M.L., Guillemin F., Barberi-Heyob M., A peptide competing with VEGF165 binding on neuropilin-1 mediates targeting of a chlorin-type photosensitizer and potentiates its photodynamic activity in human endothelial cells, *J. Control. Release*, **2006**, *111*, p. 153.
- Frochot C., Di Stasio B., Vanderesse R., Belgy M.J., Dodeller M., Guillemin F., Viriot M.L., Barberi-Heyob M., Interest of RGD-containing linear or cyclic peptide targeted tetraphenylchlorin as novel photosensitizers for selective photodynamic activity, *Bioorg. Chem.*, **2007**, *35*, p. 205.
- Sasnouski S., Kachatkou D., Zorin V., Guillemin F., Bezdetsnaya L., Redistribution of Foscan® from plasma proteins to model membranes, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2006**, *5*, p. 770.
- a) Bonneau S., Vever-Bizet C., Morlière P., Mazière J.C., Brault D., Equilibrium and kinetic studies of the interactions of a porphyrin with low-density lipoproteins, *Biophys. J.*, **2002**, *83*, p. 3470 ; b) Brault D., Physical chemistry of porphyrins and their interactions with membranes: the importance of pH, *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, **1990**, *6*, p. 79 ; c) Bonneau S., Morlière P., Brault D., Dynamics of interactions of photosensitizers with lipoproteins and membrane-models: correlation with cellular incorporation and subcellular distribution, *Biochem. Pharmacol.*, **2004**, *68*, p. 1443.
- Maurice-Duelli A., Ndoye A., Bouali S., Leroux A., Merlin J.L., Enhanced cell growth inhibition following PTEN nonviral gene transfer using polyethylenimine and photochemical internalization in endometrial cancer cells, *Technol. Cancer Res. Treat.*, **2004**, *3*, p. 459.
- Dougherty T.J., Studies on the structure of porphyrins contained in Photofrin II, *Photochem. Photobiol.*, **1987**, *46*, p. 569.
- Detty M.R., Gibson S.L., Wagner S.J., Current clinical and preclinical photosensitizers for use in photodynamic therapy, *J. Med. Chem.*, **2004**, *47*, p. 3897.
- Ferrand Y., Bourré L., Simonneaux G., Thibaut S., Odobel F., Lajat Y., Patrice T., Hydrophorophyrins as tumour photosensitizers: synthesis and photophysical studies of 2,3-dihydro-5,15-di(3,5-dihydroxyphenyl) porphyrin, *Biorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, *13*, p. 833.
- Sobolev A.S., Jans D.A., Rosenkranz A.A., Targeted intracellular delivery of photosensitizers, *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, **2000**, *73*, p. 51.
- Konan Y.N., Gurny R., Allemann E., State of the art in the delivery of photosensitizers for photodynamic therapy, *J. Photochem. Photobiol. B*, **2002**, *66*, p. 89.
- Damoiseau X., Schuitmaker H.J., Lagerberg J.W., Hoebeke M., Increase of the photosensitizing efficiency of the Bacteriochlorin a by liposome-incorporation, *J. Photochem. Photobiol. B*, **2001**, *60*, p. 50.
- Sol V., Blais J.C., Carré V., Granet R., Guilloton M., Spiro M., Krausz P., Synthesis, spectroscopy, and phototoxicity of glycosylated amino acid porphyrin derivatives as promising molecules for cancer phototherapy, *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, p. 4431.
- Laville I., Pigaglio S., Blais J.C., Doz F., Looock B., Maillard P., Grierson D.S., Blais J., Photodynamic efficiency of diethylene glycol-linked glycoconjugated porphyrins in human retinoblastoma cells, *J. Med. Chem.*, **2006**, *49*, p. 2558.
- Croisy A., Lucas B., Maillard P., Les macrocycles tétrapyrroliques glycoconjugués. Utilisation en photothérapie dynamique (PDT), *Actualités de Chimie Thérapeutique*, **2005**, *31<sup>e</sup> série*, p. 181.
- Lamarche F., Sol V., Huang Y.M., Granet R., Guilloton M., Krausz P., Synthesis and biological evaluation of polyamine-porphyrin conjugates as potential agents in photodynamic therapy (PDT), *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2002**, *6*, p. 130.
- Schneider R., Schmitt F., Frochot C., Fort Y., Lourette N., Guillemin F., Muller J.-F., Barberi-Heyob M., Design, synthesis, and biological evaluation of folic acid targeted tetraphenylporphyrin as novel photosensitizers for selective photodynamic therapy, *Bioorg. Med. Chem.*, **2005**, *13*, p. 2799.
- Chaleix V., Sol V., Guilloton M., Granet R., Krausz P., Efficient synthesis of RGD-containing cyclic peptide-porphyrin conjugates by ring-closing metathesis on solid support, *Tetrahedron Lett.*, **2004**, *45*, p. 5295.
- Dougherty T.J., Photodynamic therapy (PDT) of malignant tumors, *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, **1984**, *2*, p. 83.
- www.sante.univ-nantes.fr/med/laser
- Potter W.R., Mang T.S., Dougherty T.J., The theory of photodynamic therapy dosimetry: consequences of photo-destruction of sensitizer, *Photochem. Photobiol.*, **1987**, *46*, p. 97.
- Mordon S., Thérapie photodynamique et dermatologie : photosensibilisants, *Réalités Thérapeutiques en Dermatologie-Vénérologie*, **2002**, *121*, p. 5.
- Mordon S., Maunoury V., Bulois P., Ducrotté P., Rochon P., Boyer J., La thérapie photodynamique en gastroentérologie, *Gastroenterol. Clin. Biol.*, **2005**, *29*, p. 949.
- Maunoury V., Mordon S., Bulois P., Mirabel X., Hecquet B., Mariette C., Photodynamic therapy for early oesophageal cancer, *Dig. Liver Dis.*, **2005**, *37*, p. 491.
- Jichlinski P., Leisinger H.J., Fluorescence cystoscopy in the management of bladder cancer: a help for the urologist!, *Urol. Int.*, **2005**, *74*, p. 97.
- Huang Z., Chen Q., Trncic N., LaRue S.M., Brun P.H., Wilson B.C., Shapiro H., Hetzel F.W., Effects of Pd-bacteriopheophorbide (TOOKAD)-mediated photodynamic therapy on canine prostate pretreated with ionizing radiation, *Radiat. Res.*, **2004**, *161*, p. 723.
- Hillemanns P., Untch M., Prove F., Baumgartner R., Hillemanns M., Korell M., Photodynamic therapy of vulvar lichen sclerosus with 5-aminolevulinic acid, *Obstet. Gynecol.*, **1999**, *93*, p. 71.
- Degen A.F., Gabrecht T., Mosimann L., Fehr M.K., Hornung R., Schwarz V.A., Tadir Y., Steiner R.A., Wagnieres G., Wyss P., Photodynamic endometrial ablation for the treatment of dysfunctional uterine bleeding: a preliminary report, *Lasers Surg. Med.*, **2004**, *34*, p. 1.

- [36] D'Cruz A.K., Robinson M.H., Biel M.A., *m*-THPC-mediated photodynamic therapy in patients with advanced, incurable head and neck cancer: a multicenter study of 128 patients, *Head Neck*, **2004**, *26*, p. 232.
- [37] Moghissi K., Dixon K., Is bronchoscopic photodynamic therapy a therapeutic option in lung cancer?, *Eur. Respir. J.*, **2003**, *22*, p. 535.
- [38] Goodell T.T., Muller P.J., Photodynamic therapy: a novel treatment for primary brain malignancy, *J. Neurosci. Nurs.*, **2001**, *33*, p. 296.
- [39] Patrice T., Olivier D., Bourre L., PDT in clinics: indications, results, and markets, *J. Environ. Pathol. Tox. Oncol.*, **2006**, *25*, p. 467.
- [40] Patrice T., Factors in the establishment and spread of photodynamic therapy, « *Photodynamic therapy* », sous l'égide de l'ESP par la Royal Society of Chemistry, Elsevier, **2004**.
- [41] Brown D.M., Kaiser P.K., Michels M., Soubrane G., Heir J.S., Kim R.Y., Sy J.P., Schneider S., Ranibizumab versus verteporfin for neovascular age-related macular degeneration, *N. Engl. J. Med.*, **2006**, *355*, p. 1432.



M. Barberi-Heyob



L. Bezdetsnaya-Bolotina



F. Guillemin



C. Frochot



D. Brault



D. Dumas



P. Krausz



P. Maillard



B. Maunit



J.-F. Muller



J.-L. Merlin



S. Mordon



G. Simonneaux



C. Tanielian

**Muriel Barberi-Heyob** (*coordinatrice*) est chercheur HDR dans l'axe « Adressage de molécules photoactivables », **Lina Bezdetsnaya-Bolotina** est chercheur HDR, responsable de l'action « Photobiologie en cancérologie », et **François Guillemin** est professeur et directeur du Centre Alexis Vautrin, Université de Nancy<sup>1</sup>.

**Céline Frochot** (*coordinatrice*) est chargée de recherche CNRS au Département de Chimie physique des réactions à l'Université de Nancy<sup>2</sup>.

**Daniel Brault** est directeur de recherche CNRS au Laboratoire de biophysique moléculaire cellulaire et tissulaire du Génomole d'Évry<sup>3</sup>.

**Dominique Dumas** est ingénieur de recherche au Plateau d'Imagerie et de biophysique cellulaire et tissulaire, Faculté de médecine de Nancy<sup>4</sup>.

**Pierre Krausz** est professeur à l'Université de Limoges, directeur du Laboratoire de chimie des substances naturelles<sup>5</sup>.

**Philippe Maillard** est directeur de recherche CNRS à l'Institut Curie à Orsay<sup>6</sup>.

**Benoît Maunit** est maître de conférences et **Jean-François Muller** est professeur émérite au Laboratoire de spectrométrie de masse et de chimie laser, Université de Metz<sup>7</sup>.

**Jean-Louis Merlin** est professeur dans l'Unité de biologie des tumeurs, Université de Nancy<sup>8</sup>.

**Serge Mordon** est directeur de recherche Inserm au CHU de Lille<sup>9</sup>.

**Thierry Patrice** est professeur au Département Laser de l'Hôpital Laënnec, Nantes<sup>10</sup>.

**Gérard Simonneaux** est directeur de recherche CNRS à l'Institut de Chimie de Rennes<sup>11</sup>.

**Charles Tanielian** est professeur honoraire à l'École Européenne de Chimie, Polymères et Matériaux de Strasbourg<sup>12</sup>.

<sup>1</sup> Équipe projet « Interactions Lumière-Tissus », Centre Alexis Vautrin, CRAN, UMR 7039 CNRS-INPL-UHP, Nancy-Université, Brabois, Avenue de Bourgogne, 54511 Vandœuvre-lès-Nancy Cedex.

Courriels : m.barberi@nancy.fnclcc.fr, l.bolotina@nancy.fnclcc.fr, f.guillemin@nancy.fnclcc.fr

<sup>2</sup> Département de Chimie Physique des Réactions, Nancy-Université, UMR 7630 CNRS-INPL, ENSIC, 1 rue Grandville, 54000 Nancy.

Courriel : Celine.Frochot@ensic.inpl-nancy.fr

<sup>3</sup> BioMoCeTi, UMR 7033 CNRS, Génomole Campus 1, 5 rue Henri Desbruères, 91030 Évry.

Courriel : dbrault@ccr.jussieu.fr

<sup>4</sup> Plateau d'Imagerie et de biophysique cellulaire et tissulaire, IFR 111 et UMR 7563 CNRS-INPL-UHP, Nancy-Université, Faculté de Médecine, Bât. E, 9 avenue de la Forêt de Haye, 54505 Vandœuvre-lès-Nancy.

Courriel : Dominique.Dumas@medecine.uhp-nancy.fr

<sup>5</sup> Laboratoire de chimie des substances naturelles, Faculté des Sciences et Techniques, Université de Limoges, 123 avenue Albert Thomas, 87060 Limoges Cedex.

Courriel : pierre.krausz@unilim.fr

<sup>6</sup> UMR 176 CNRS, Institut Curie, Bât. 110-112, Centre universitaire, 91405 Orsay.

Courriel : philippe.maillard@curie.u-psud.fr

<sup>7</sup> Laboratoire de spectrométrie de masse et de chimie laser (LSMCL), Université Paul Verlaine, 1 boulevard Arago, CP 87811, 57078 Metz Cedex 3.

Courriels : maunit@univ-metz.fr, jfmuller@ismcl.sciences.univ-metz.fr

<sup>8</sup> Unité de biologie des tumeurs, EA 3452 UHP, Nancy-Université, Avenue de Bourgogne, 54511 Vandœuvre-lès-Nancy Cedex.

Courriel : jl.merlin@nancy.fnclcc.fr

<sup>9</sup> EA 2689, Université de Lille, Inserm et IFR 22 CHU de Lille, Pavillon Vancostenobel, 59037 Lille Cedex.

Courriel : mordon@lille.inserm.fr

<sup>10</sup> Département Laser, Neurochirurgie, Hôpital Laënnec, 44093 Nantes Cedex 01.

Courriel : patrice.laserdpt@wanadoo.fr

<sup>11</sup> Institut de Chimie, UMR 6509 CNRS-Université Rennes, Bât. 10C, Campus de Beaulieu, avenue du Général Leclerc, 35042 Rennes Cedex.

Courriel : Gerard.Simonneaux@univ-rennes1.fr

<sup>12</sup> Laboratoire de photochimie/LIPHAT, École Européenne de Chimie, Polymères et Matériaux (ECPM), 25 rue Becquerel, 67087 Strasbourg Cedex 2.

Courriel : tanielian@chimie.u-strasbg.fr