

Les nanoparticules thérapeutiques : une voie novatrice pour la radiothérapie appliquée à la cancérologie

DES APPLICATIONS
INDUSTRIELLES INNOVANTES

La nanotechnologie permet une gestion et un assemblage de matériaux sans précédent dans l'histoire des produits utilisés en santé humaine. Cette révolution est apportée par la possibilité d'utiliser de nouveaux mécanismes thérapeutiques et de dissocier les différentes fonctions de la substance médicamenteuse (distribution, effet thérapeutique...), ce qui était jusqu'ici impossible avec les médicaments classiques.

La nanomédecine a permis de développer de nouvelles approches du traitement du cancer, à travers l'utilisation de nanoparticules capables de générer des effets physiques à l'échelle de la cellule maligne. Des nanoparticules dures d'oxydes métalliques ont été conçues de manière à ce qu'elles puissent jouer le rôle de véritables entités thérapeutiques lorsqu'on les active au moyen de rayons X.

Ces nanoparticules activables par des rayons X sont susceptibles de constituer une vraie révolution de la pratique de la radiothérapie visant à détruire des tumeurs malignes ou à les placer sous contrôle.

par **Elsa BORGHI***, **Patricia SAÏD***, **Agnès POTTIER*** et **Laurent LEVY***

* Nanobiotix – www.nanobiotix.com

QU'EST-CE QUE LA NANOMÉDECINE ?

La nanoscience et la nanotechnologie recouvrent l'ensemble des activités scientifiques et technologiques intervenant à l'échelle nanométrique, c'est-à-dire un millionième de millimètre, une taille qui correspond environ à celle d'un agrégat de quelques atomes et/ou molécules.

Un des aspects les plus révolutionnaires de ces nouvelles disciplines est la maîtrise de principes scientifiques et de matériaux dotés de propriétés entièrement nouvelles, qui apparaissent lorsque la taille d'un objet passe en dessous d'un certain seuil. Aussi, le fonctionnement des cellules du corps humain intervenant à cette échelle de taille, la combinaison de particules thérapeutiques, dont l'échelle nanométrique (nanoparticules) est finement ajustée aux molécules biologiques, peut-elle permettre d'intervenir à l'intérieur des cellules, d'une façon multifonctionnelle et plus précise que toutes les approches d'intervention connues jusqu'à maintenant.

La nanobiotechnologie désigne l'ensemble des sciences (physique, chimie et ingénierie) fondées sur l'échelle nanométrique et appliquées aux systèmes biologiques. Plus spécifiquement, son application en médecine, la nanomédecine, a permis de créer des moyens de diagnostic miniaturisés, des revêtements nanotechnologiques pour l'amélioration de la bio-activité et de la biocompatibilité des implants, des matériaux pour l'ingénierie tissulaire et des matériaux biomimétiques, ainsi que des moyens permettant une délivrance ciblée de médicaments.

Le concept de délivrance ciblée a des applications potentielles pour de nombreuses maladies (dont les cancers) et il est susceptible de réduire, dans une large mesure, les réactions indésirables et les effets secondaires des produits pharmaceutiques. En outre, ces systèmes de transport (les nanotransporteurs) et de délivrance dans un organe, un tissu cellulaire déterminé, voire un organite de la cellule, permettent d'assurer une distribution maîtrisée, raisonnée et ciblée des médicaments.

Cet aspect de la nanomédecine est celui qui a le plus progressé en termes d'applications en santé humaine. Ainsi, plusieurs nano-médicaments sont d'ores et déjà commercialisés.

D'autres approches de la nanomédecine, encore plus révolutionnaires, proposent de nouveaux principes thérapeutiques recourant à l'utilisation de nanoparticules capables de générer des effets physiques à l'échelle de la cellule. Des nanoparticules dures d'oxydes métalliques ont ainsi été conçues de manière à ce qu'elles fonctionnent en tant qu'entités thérapeutiques à l'intérieur même des cellules tumorales, lorsqu'on les active par des rayons X.

Ces nanoparticules activables par rayons X pourraient constituer une vraie révolution dans la pratique de la radiothérapie des tumeurs malignes.

Les nanotransporteurs permettent d'apporter le médicament au bon moment, au bon endroit et à la bonne concentration

Les vecteurs des médicaments à l'échelle nanométrique jouent un rôle important dans la tolérance et l'efficacité de la délivrance des composés actifs au site requis. La pharmacocinétique (étude de la distribution des substances médicamenteuses dans les tissus) permet aux investigateurs d'affiner les formulations d'un traitement donné, au cours de la phase de développement d'un nouveau médicament.

La concentration des substances thérapeutiques dans le sang du malade est fortement corrélée à leur efficacité et à leur toxicité.

De fait, une accumulation importante de produit dans le tissu cible se traduit, le plus souvent, par une amélioration de son effet thérapeutique. En revanche, une quantité importante de ce produit, répartie dans des organes non ciblés, peut avoir des effets toxiques indésirables : il est donc important de contrôler la concentration du produit, dans le temps et dans l'espace.

En optimisant la composition des traitements grâce à l'utilisation de nanotransporteurs, l'on crée un profil de distribution corporelle entièrement nouveau de la substance thérapeutique, qui permet une interaction complètement différente de celle permise par le (même) médicament administré seul.

Les nanoparticules thérapeutiques permettent l'apport ciblé d'une dose d'énergie, létale pour la tumeur

De manière générale, les compartiments biologiques agissent comme des barrières faisant obstacle au passage de matériaux, fussent-ils de taille nanométrique. De multiples barrières doivent ainsi être prises en compte, telles que la peau, la paroi intestinale, la muqueuse respiratoire ou, encore, la barrière hémato-méningée.

D'autres points, comme le ciblage de cellules de tissus spécifiques ou d'organes sont tout aussi importants. Chaque cellule est entourée d'une membrane constituant une enveloppe défensive de 8 à 12 nanomètres d'épaisseur, qui délimite le compartiment cellulaire en le séparant de l'environnement extérieur. La membrane cellulaire agit aussi comme un capteur de signaux extérieurs, donnant à la cellule la possibilité de répondre aux différents stimuli qu'elle reçoit.

L'administration de nanoparticules avec un minimum d'effets indésirables du médicament et en assurant une biodisponibilité efficace dans l'organisme fait partie des principales préoccupations des soins médicaux actuels (comme c'est d'ailleurs le cas pour tous les traitements). La biodisponibilité fait référence à la présence de nanoparticules thérapeutiques, à la concentration idoine, à l'intérieur même de la tumeur à traiter.

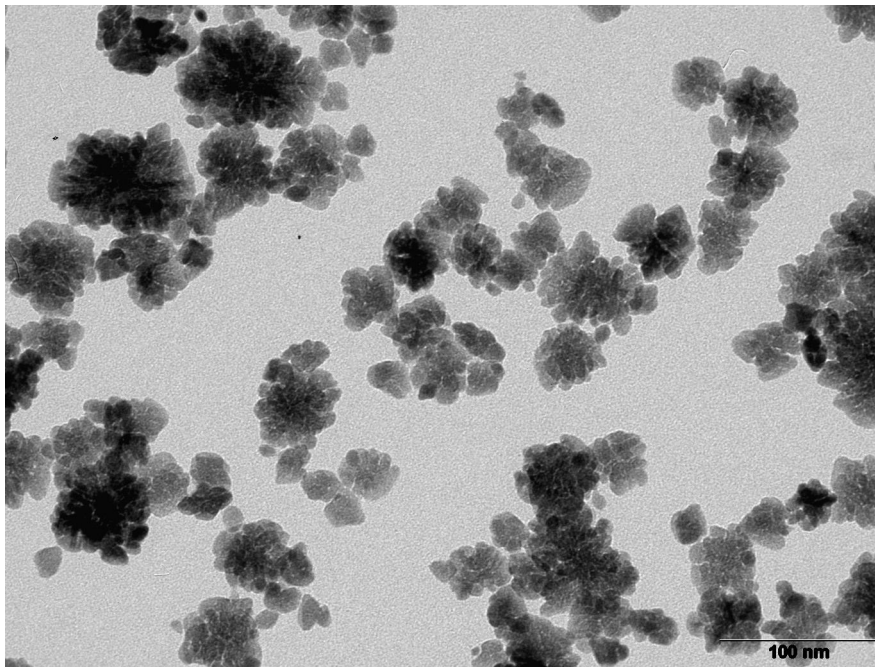


Figure 1 : Visualisation de nanoparticules nanoXray™ en microscopie électronique de transmission.

La nanotechnologie a permis une gestion et un assemblage de matériaux sans précédent dans l'histoire des produits utilisés en santé humaine. Cette révolution est apportée par la possibilité d'utiliser de nouveaux mécanismes thérapeutiques et de dissocier les différentes fonctions du produit (distribution, effet thérapeutique...), ce qui n'était jusqu'alors pas possible avec les médicaments classiques.

Dans ce cas spécifique, le noyau dur constituant la nanoparticule et apportant l'effet thérapeutique recherché peut être lui-même enrobé et modifié par des revêtements plus ou moins complexes (voir la figure 1). Chacun de ces revêtements détermine une distribution corporelle, une dispersion dans la tumeur et une captation différentielle du traitement par les cellules tumorales ; cet ensemble constitue un vecteur complet permettant d'envisager le traitement de tous les types tumoraux, puisqu'il permet l'administration ciblée de la dose de médicament létale pour la tumeur (voir la figure 1).

LE CANCER : UNE MALADIE D'APPARITION RELATIVEMENT RÉCENTE

Il n'y a pas d'évidence de l'existence de cancers en tant que processus dégénératifs chez les plantes, et ils semblent également absents chez les invertébrés contemporains, même si des formes d'excroissances anormales ont déjà été démontrées chez ces espèces. En réalité, l'analyse de millions de fossiles de reptiles du Jurassique et du Crétacé a seulement attesté une tumeur osseuse bénigne (non cancéreuse).

La présence des maladies tumorales chez des vertébrés inférieurs suggère l'hypothèse que le cancer est une

pathologie caractéristique des animaux vertébrés. Le premier cas de cancer bien documenté date du Jurassique. Il en va de même en ce qui concerne la première métastase observée chez un dinosaure terrestre de grande taille.

Par ailleurs, les cancers sont très rares chez les animaux sauvages. L'étude de l'épidémiologie des primates montre que seulement 1,8 % des chimpanzés vivant en communauté meurent d'un cancer. La prévalence des cancers dans la population humaine est particulièrement haute et presque tous les types de cancers ont déjà été observés chez des humains anciens. Cependant, les cas de cancers étaient rares et il est fort probable qu'à partir du Moyen Âge, le nombre de cas de cancer a fortement augmenté.

Le cancer est un paradigme de maladie dégénérative qui se développe sur des systèmes organiques différents, en fonction d'un terrain génétique favorable, des circonstances d'exposition à des composés toxiques pendant des périodes plus ou moins longues et probablement en relation avec d'autres facteurs tels que la résistance immunitaire et des composants psychosomatiques.

Bien que les tissus sains et le tissu cancéreux proviennent de la même information génétique, ils constituent un exemple de mosaïque corporelle, c'est-à-dire la coexistence, chez un individu, de deux systèmes biologiques différents. L'un, celui des tissus sains, est soumis au contrôle équilibré du milieu interne, et l'autre, chaotique, a la capacité d'envahir des structures voisines ou distantes de la tumeur (il s'agit, respectivement, d'invasion locorégionale et de métastases). Les deux systèmes sont similaires, mais les cellules malignes n'ont pas de systèmes de régulation appropriée des fonctions de prolifération, de différenciation, de croissance et de mort.

L'on comprend pourquoi, de ce fait, tous les traitements (y compris les traitements ciblés) interagissent avec les deux composantes de cette mosaïque corporelle, avec un manque de spécificité et d'action différentielle des traitements pour détruire les cellules anormales. Cette situation, qualifiée par la médecine de « fenêtre thérapeutique restreinte », représente la plus grande limitation à l'utilisation adéquate (dose et fréquence) des agents permettant de détruire des tumeurs.

L'oncologie (ou cancérologie)

Le mot « cancer » est très ancien : il remonte à l'Antiquité. Hippocrate (460-370 av. J.-C.) a décrit des cancers, utilisant le terme grec « carcinos ». Plus tard, le médecin romain Celsus (28 av. J.-C. – 50 ap. J.-C.) a traduit le mot grec « carcinos » par le mot latin « cancer » (signifiant écrevisse, chancre, crabe).

Par ailleurs, Galien (130-200) utilisa le terme grec « oncos » (ὄγκος) pour désigner une grosseur ou une tumeur d'allure maligne. Le terme « cancer » est attribué à un grand nombre de maladies hétérogènes présentant une étiologie, des manifestations et un pronostic très variés, impliquant, de ce fait, des approches thérapeutiques différentes. L'oncologie (ou cancérologie) est la discipline médicale qui englobe toutes les matières relatives aux tumeurs malignes (les cancers).

Les limitations des traitements anticancéreux

Les agents anticancéreux prenant pour cible l'ADN et le cycle de la reproduction cellulaire (comme les cytotoxiques ou les rayons X) figurent parmi les plus efficaces en utilisation clinique : ils ont démontré leur capacité à augmenter de manière significative la durée de survie des patients atteints de cancer, qu'ils soient utilisés seuls ou en combinaison avec d'autres thérapeutiques. Toutefois, ces agents anticancéreux sont également extrêmement toxiques, ce qui implique la nécessité d'en limiter la dose et la fréquence avec laquelle ils sont administrés aux patients.

Le succès des traitements d'éradication d'une tumeur dépend nettement de la dose totale administrée de l'agent anticancéreux. Une forte probabilité de guérison combinée à un risque relativement faible pour les tissus sains, et une bio-distribution optimale (à la fois systémique et locorégionale) de l'agent thérapeutique constituent les objectifs majeurs recherchés lors de la définition du traitement.

Le principal obstacle à l'efficacité d'un traitement résulte de l'échec de la thérapie initiale à supprimer un nombre suffisant de cellules tumorales afin d'empêcher la récurrence de la maladie, qui affecte significativement la survie à long terme du patient. Les cellules tumorales survivantes peuvent aller trouver refuge dans

des microenvironnements protecteurs en constituant des métastases.

Les stratégies thérapeutiques sont limitées par la marge de tolérance des tissus sains du corps : c'est cette limite qui entraîne dans bien des cas la délivrance d'une dose insuffisante pour éliminer la tumeur. C'est ainsi que le traitement initial serait susceptible de créer des conditions favorables à la résistance acquise des cellules tumorales.

L'étroitesse de la fenêtre thérapeutique

Pour toutes ces raisons, de nombreux efforts ont été mis en œuvre dans l'amélioration des traitements actuels tant en termes d'innovation technologique que de compréhension du fonctionnement des voies suivies par les signaux moléculaires intervenant dans les réponses au traitement. La chirurgie, la radiothérapie et les produits pharmaceutiques constituent l'arsenal thérapeutique utilisé contre la maladie cancéreuse. L'on assiste actuellement à un engouement indéniable, en matière de traitement du cancer, pour la modification du ratio thérapeutique permettant d'optimiser l'efficacité et la tolérance des traitements anticancéreux.

En ce qui concerne la radiothérapie, malgré les avancées technologiques dans les domaines des équipements, des logiciels de traitement des données et des techniques de radiation réalisées par de grands groupes industriels, la plupart des systèmes de radiothérapie disponibles dans le commerce présentent des limitations significatives qui restreignent la capacité des cliniciens à proposer le traitement le plus efficace. Ainsi, de nombreux patients atteints d'un cancer ne reçoivent pas les doses requises pour la destruction de leur tumeur ou ne répondent pas aux traitements qui leur sont administrés, voire développent des résistances à ces traitements.

La radiothérapie : un besoin d'innovation radicale

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

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

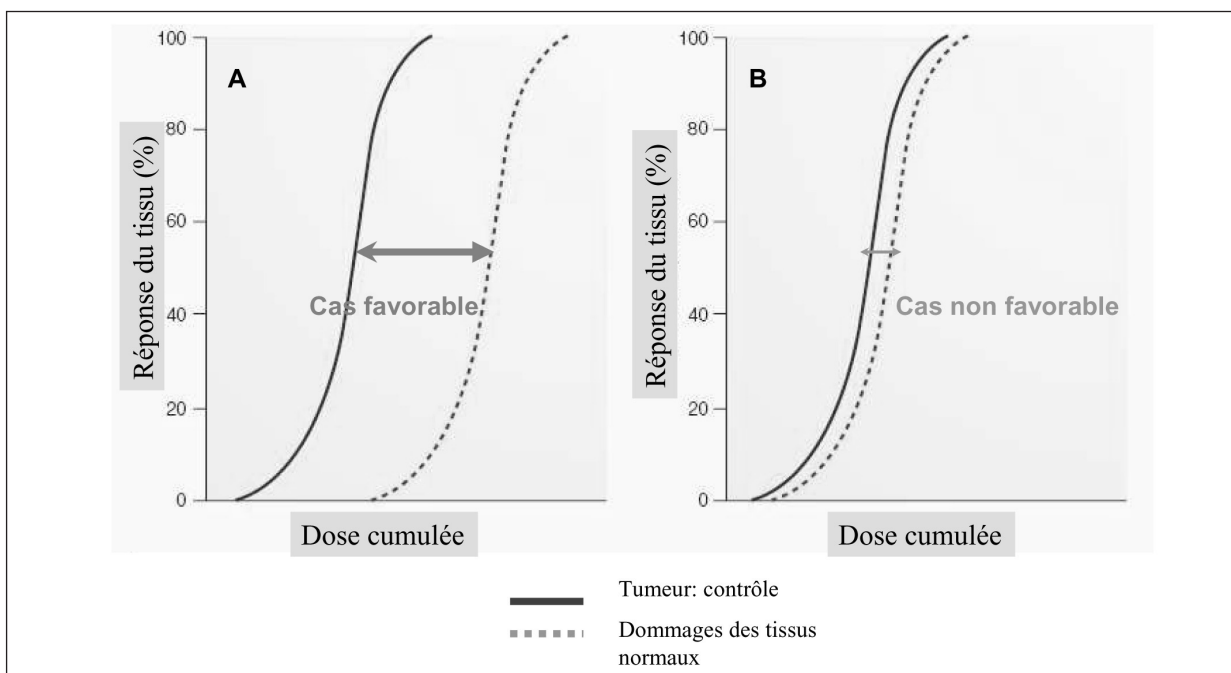


Figure 2 : L'index thérapeutique (Bernier *et al.*, 2004).

encore, la faible tolérance de l'intestin grêle réduit d'autant la quantité de radiations qui peut être administrée à des organes proches, tels que le pancréas et les reins. Au cours du temps, l'exposition des tissus sains aux radiations peut générer des dommages cumulatifs et cela limite les possibilités futures de traitement du patient par radiothérapie. Il est d'ailleurs reconnu que l'association d'une chimiothérapie à la radiothérapie (chimio-radiothérapie) a pour effet d'augmenter les effets secondaires du traitement.

La figure 2 montre l'ouverture de la fenêtre thérapeutique en ce qui concerne la dose cumulée grâce à laquelle la radiothérapie opère : plus la tumeur est radiosensible et plus large sera la fenêtre thérapeutique ; inversement, plus le tissu sain voisin sera radiosensible, plus grand sera le risque de dommage permanent.

LA PLATEFORME NANOXRAY™ PERMET UNE RÉCONCILIATION ENTRE DOSE CURATIVE ET DOSE TOLÉRÉE

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

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

La plupart des tumeurs solides possèdent des caractéristiques pathophysiologiques uniques qui ne sont pas observées dans les tissus ou les organes sains, comme, par exemple, l'augmentation de la perméabilité des vaisseaux et de l'effet de rétention (*Enhanced Permeability and Retention (EPR) effect*) des lipides et des agents macromoléculaires, qui vont permettre l'accumulation des nanoparticules nanoXray™ dans la masse tumorale.

Une fois les nanoparticules nanoXray™ accumulées dans la tumeur, un rayonnement X standard est appliqué en vue de générer une destruction cellulaire massive et ciblée à l'intérieur de la structure tumorale. Ce mécanisme suggère la possibilité d'un contrôle total de l'effet thérapeutique désiré.

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

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

Le mécanisme d'action des nanoparticules nanoXray™ activées par rayons X

L'interaction entre un photon X et une molécule d'eau peut générer l'ionisation de cette dernière, qui produit un électron (d'énergie cinétique élevée) et un photon (d'énergie réduite), l'énergie globale étant conservée. Les électrons ainsi générés vont perdre leur énergie par

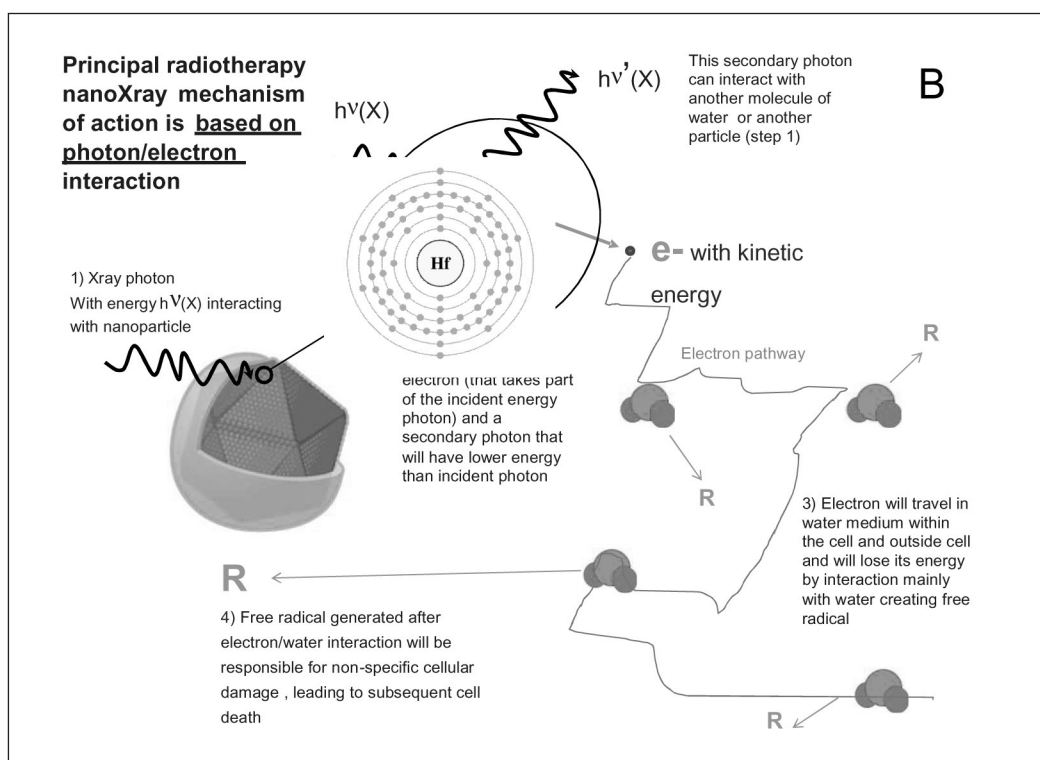


Figure 3 : Mécanisme d'action des nanoparticules nanoXray™.

de multiples interactions avec le milieu environnant, produisant des radicaux libres. *Via* la formation de radicaux libres, ce sont ces électrons qui sont majoritairement responsables des effets obtenus en radiothérapie. Le mode d'action des nanoparticules nanoXray™, analogue à celui des radiations ionisantes, peut être décrit comme suit :

Etape 1 : Principe d'activité/inactivité

Quand les nanoparticules ne sont pas activées, elles n'ont aucun effet, car elles sont inertes. Sous activation par des rayons X, l'on observe ce qui suit (voir la figure 3) :

- les rayons X sont absorbés par l'oxyde métallique. Cela signifie qu'un photon X va interagir (en perdant une partie de son énergie) avec l'électron d'un atome et créer a) une lacune, b) un électron avec une énergie cinétique et c) le photon incident, qui, ayant perdu une partie de cette énergie, pourra participer aux interactions ultérieures. La probabilité d'absorption d'un photon par un élément étant proportionnelle à son numéro atomique (Z), le cœur de la nanoparticule va générer les mêmes types d'effets que ceux de l'eau, mais bien supérieurs, en ordre de grandeur ;
- l'électron créé va traverser le milieu cellulaire et perdre son énergie en interagissant plusieurs fois avec les molécules d'eau (présentes dans tous les tissus), créant des radicaux libres (principaux responsables des atteintes cellulaires recherchées) ;
- la lacune qui a été créée à l'intérieur de l'atome va revenir à son état initial en prélevant un électron d'une molécule d'eau du milieu ambiant.

Ainsi, l'irradiation par rayons X peut être appliquée à plusieurs reprises sur les mêmes nanoparticules, car

celles-ci retrouvent leur état initial après avoir interagi avec les photons X.

Etape 2 : Les dommages cellulaires

Les radicaux libres générés par les électrons éjectés à partir de l'oxyde métallique et de l'eau sont très réactifs : ils ont tendance à détruire les liaisons covalentes des molécules qu'ils rencontrent. Ils vont ainsi causer des dommages non spécifiques aux cellules entourant les nanoparticules ou tout le long du parcours suivi par les électrons lors de leurs multiples interactions avec le milieu environnant.

Etape 3 : Actions ultérieures sur les cellules

La destruction cellulaire résultante est induite par l'effet habituel des radicaux libres, comme en radiothérapie, mais elle est accrue grâce aux nanoparticules activées par rayons X, dont le mode d'action est analogue à celui des radiations ionisantes sur les systèmes biologiques.

LA REMARQUABLE ACTIVITÉ ANTI-TUMORALE DES NANOPARTICULES ACTIVÉES

Etant donné que l'interaction des nanoparticules nanoXray™ avec les rayons X (et secondairement avec les systèmes biologiques) pourrait différer suivant la nature, la dose et le débit des irradiations, plusieurs sources d'énergie ont été explorées. De même, la spécificité biologique des cancers, qui diffèrent des organes/tissus dont ils sont issus, a été prise en compte et plusieurs lignées de cancers humains ont été étudiées,

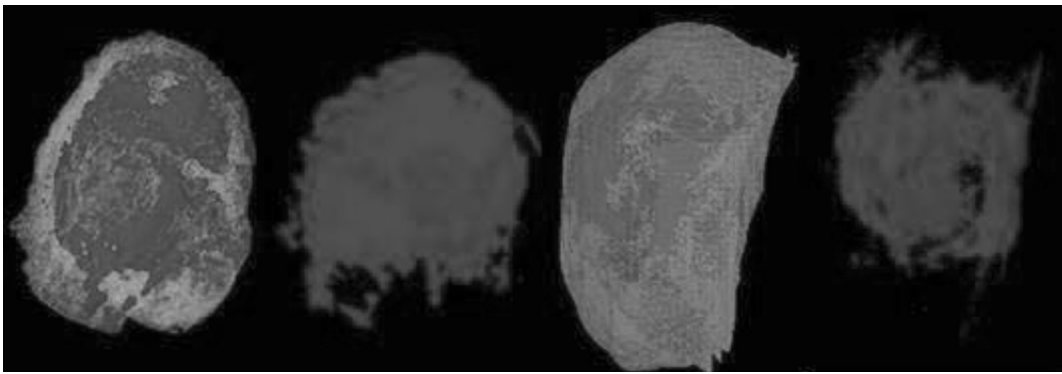


Figure 4 : Tomographie informatisée : reconstruction en 3D de tumeurs (2 et 15 jours après administration intratumorale de nanoparticules).

selon leur origine et leur radiosensibilité (lignées radio-résistantes ou radiosensibles).

Des études *in vitro* ont montré, pour une dose d'irradiation équivalente (2 grays), une viabilité cellulaire de 80 % chez des cellules exposées à une irradiation seule *versus* une viabilité cellulaire inférieure à 20 % pour des cellules traitées avec des nanoparticules activées par la radiothérapie, ce qui confirme une amplification significative de la dose déposée à l'intérieur de la tumeur.

L'imagerie par tomographie informatisée (CT-scan) a montré que les nanoparticules, qui sont des entités radio-opaques, conservent durablement (plus de 41 jours) une dispersion satisfaisante à l'intérieur d'une tumeur greffée sur des souris (voir la figure 4). Cela constitue un des aspects cruciaux de l'utilisation des nanoparticules nanoXray™ chez l'Homme, car une seule administration du produit suffit pour un traitement complet. Ce principe a déjà été démontré chez des animaux porteurs d'une tumeur.

Concernant le contrôle de la tumeur, des études de cancers épithéliaux et de sarcomes humains greffés sur des souris ont démontré un avantage substantiel des nanoparticules activées par rayons X par rapport à la radiothérapie délivrée seule en termes de retard de la croissance tumorale et de délai de prolifération, associés à une très bonne tolérance des animaux.

De plus, on a pu observer une augmentation significative de la survie des souris après traitement par les nanoparticules et ce, dans les deux cas de radiosensibilité et en recourant à différentes sources d'énergie.

EVALUATION DE LA TOXICITÉ POTENTIELLE DES NANOPARTICULES NANOXRAY™

Importance de la composition, de la surface, de la forme et du revêtement des nanoparticules

A l'échelle nanométrique, les propriétés fondamentales (notamment électriques, optiques, magnétiques, mécaniques et chimiques) des matériaux dépendent de la

taille des nanostructures et peuvent différer considérablement de celles du matériau massif. Ces différences ont plusieurs origines, comme le comportement quantique, l'importance des phénomènes interfaciaux, un ratio surface/volume élevé, etc. (la plupart des atomes des nanoparticules se situant à la surface).

Les caractéristiques physicochimiques des nanoparticules déterminent leur biocompatibilité dans le domaine de la nanothérapie. Ayant évalué plus de 130 types de nanoparticules différents, dont les fullerènes, les oxydes métalliques, les polymères, les liposomes, les dendrimères, les boîtes quantiques et les nanoparticules d'or, le NCL (*Nanotechnology Characterization Laboratory*) de l'Institut National du Cancer de l'Etat du Maryland a observé que la balance hydrophile/hydrophobe, la taille et la charge de surface sont les principaux paramètres influençant la biocompatibilité des nanoparticules.

Les nanoparticules hydrophobes ont généralement des durées de demi-vie *in vivo* très courtes (allant de quelques secondes à quelques minutes) parce qu'elles sont très rapidement éliminées de la circulation sanguine.

L'importance de la taille des nanoparticules est corroborée par des observations qui ont révélé le fait que les poumons, les voies gastro-intestinales et la peau constituent des barrières peu efficaces contre l'ingestion et la progression des nanoparticules. Lorsque des nanoparticules sont délibérément injectées dans la circulation sanguine, leur taille joue toujours un rôle dans la manière dont l'organisme réagit à l'introduction de ces nanomatériaux, dans leur diffusion et dans leur élimination. En outre, l'importance de la charge électrique des nanoparticules a été illustrée par des études de la tolérance des nanomatériaux *in vivo* et *in vitro* sur une série de nanoparticules de taille relativement constante, mais avec un potentiel zêta (charge de surface) variable. Les particules cationiques sont plus toxiques et plus favorables à l'induction de l'hémolyse et à l'agrégation des plaquettes que ne le sont les particules neutres, ou anioniques ; cette tendance a été confirmée par des études portant sur la capacité de chaînes de polystyrène cationiques à induire de la cytotoxicité, une fuite vasculaire et des

infiltrats inflammatoires, dans les poumons de rats et de souris exposés. Ce mécanisme de toxicité peut aussi expliquer la survenue d'œdèmes pulmonaires aigus et de bronchiolites chez les êtres humains exposés à des particules cationiques que l'on trouve, par exemple, dans les vaporisateurs de peintures.

Au-delà, les caractéristiques physicochimiques des nanoparticules (telles que leur composition chimique et leur forme) peuvent aussi induire une toxicité, à l'échelle cellulaire ou subcellulaire.

La composition chimique des nanoparticules peut avoir un effet sur la génération potentielle d'espèces réactives oxygénées. Les propriétés d'oxydoréduction des nanoparticules, ou des espèces métalliques solubles que celles-ci peuvent libérer (c'est le cas des ions Fe^{2+} des oxydes de fer magnétite), peuvent être à l'origine de la génération de ces espèces réactives toxiques pour la cellule. La solubilité des nanoparticules dans les fluides biologiques (notamment dans les organites des cellules) peut aussi conduire à une toxicité cellulaire potentielle, comme dans le cas de l'oxyde de zinc ou des boîtes quantiques à base de cadmium/sélénium, qui libèrent les cations Zn^{2+} ou Cd^{2+} .

Les nanoparticules peuvent prendre la forme de sphères parfaites, ainsi que celle de fibres et (plus récemment) de nanotubes. La forme des nanoparticules, autant que leur comportement désordonné, est connue pour affecter l'aérodynamique. Elle affecte aussi la phagocytose par les macrophages. Concernant les nanoparticules inorganiques (métalliques, ou d'oxydes de métaux), la forme sphérique est généralement reconnue comme étant la conformation la plus favorable à l'interaction cellulaire.

La fonctionnalisation de surface est une voie qui a démontré la possibilité d'applications prometteuses pour gérer la biodisponibilité et moduler la toxicité des nanoparticules. Cependant, les groupes fonctionnels ajoutés à la surface peuvent interagir avec des composants biologiques en en altérant les fonctions et permettre ainsi le passage à travers la paroi cellulaire de nanomatériaux qui, sans cela, ne seraient pas assimilés par certaines cellules.

Une tolérance démontrée des nanoparticules nanoXray™ sur des modèles animaux

Les nanoparticules nanoXray™ ont démontré une excellente tolérance chez les modèles animaux évalués. Ce nanomatériau est un isolant, sans possibilité d'échanges d'électron, d'où la nature inerte des nanoparticules nanoXray™ dans différents environnements biologiques, même lorsque les tissus sont exposés longtemps à des concentrations supra-thérapeutiques.

Selon la finalité recherchée, les nanoparticules nanoXray™ sont destinées à être administrées, chez l'Homme, par différentes voies (intra-tumorale, endo-

veineuse) ou appliquées sur le lit tumoral, après la résection chirurgicale de la tumeur. Les principaux paramètres explorés sont la toxicité potentielle des nanoparticules non activées, la toxicité potentielle des produits activés en cas de fuite, à partir de la masse tumorale vers les tissus sains environnants, et la stabilité du produit, en cas d'activation unique ou d'activations multiples par des rayons X. Cette utilisation très large en oncologie implique aussi une évaluation de risque déclinée en tenant compte de la partie de l'anatomie du corps devant être irradiée.

Des explorations de la toxicité cellulaire et de la géotoxicité ont établi l'innocuité des nanoparticules nanoXray™. En effet, aucune mutagenèse n'a été observée, que ce soit par test de mutation réverse/inverse bactérienne, ou par test de mutation génique *in vitro* sur des cellules de mammifères.

L'évaluation de la tolérance chez des animaux a été effectuée sur différentes espèces de rongeurs, comme cela est habituellement pratiqué pour les médicaments, les produits biologiques et les dispositifs médicaux. Ainsi, tous les organes du corps ont été évalués par des mesures biochimiques et par des analyses anatomopathologiques, après une exposition aux nanoparticules de courte, moyenne et longue durées et ce, sur toute la vie de l'animal (afin d'évaluer la toxicité subaiguë, la toxicité sub-chronique et la toxicité chronique du procédé thérapeutique).

Dans les conditions des études, après les injections intraveineuses et intramusculaires, aucune pathologie clinique et hématologique n'a été observée. Aucune preuve de rupture de la barrière hémato-encéphalique n'a été démontrée. En ce qui concerne la tolérance locale, aucun signe d'un potentiel irritant au niveau du site de l'injection intramusculaire n'a été mis en évidence. Comme pour beaucoup d'autres nanoparticules à noyau dur, une accumulation dans le système réticuloendothélial dans différentes populations de macrophages du foie, de la rate et des ganglions lymphatiques a été observée, mais aucun organe n'a montré de signes d'inflammation, de souffrance ou de troubles dégénératifs.

Par ailleurs, la distribution des produits dans l'organisme est un facteur déterminant d'une partie des effets délétères potentiels sur celui-ci. Des études, effectuées sur des animaux porteurs de tumeurs après une injection intra-tumorale de nanoparticules sans activation par rayons X, ont montré la permanence des nanoparticules dans la tumeur, sans relargage et avec une faible quantité de nanoparticules présentes dans le foie.

L'élimination de ces nanoparticules est longue : elles ont été mises en évidence 26 semaines après leur administration à l'intérieur des macrophages des animaux, bien qu'en quantité inférieure à celle administrée, d'où l'importance majeure de la démonstration de toute absence de signe de troubles inflammatoires ou dégénératifs dans les tissus corporels.

LE STATUT RÉGLEMENTAIRE DE LA NANOMÉDECINE

Les nanoparticules nanoXray™ représentent une voie très innovatrice en matière de traitement anticancéreux. S'agissant d'amplificateurs puissants de la dose d'irradiation à l'intérieur des cellules des tumeurs cancéreuses à des stades cliniques divers, leur activité thérapeutique potentielle est énorme.

Comme pour tout produit destiné à une utilisation en santé humaine, un dossier d'autorisation d'essai clinique doit être présenté et, si le bénéfice du produit est prouvé, un dossier obligatoire pour la mise sur le marché des nanoparticules nanoXray™ sera déposé et il devra comporter une évaluation étendue de leur toxicologie.

En raison de la nature des produits nanoXray™, les normes et réglementations en vigueur pour l'étude toxicologique ne sont pas toujours adaptées ou appropriées, en termes de méthodologie. Il en découle que celles-ci ne peuvent pas être appliquées aux produits issus de la nanotechnologie, et les industriels sont confrontés à la nécessité de mettre en place un environnement scientifique et méthodologique permettant de rendre robuste l'évaluation du rapport bénéfices/risques, qui représente le seul fondement pour le passage à l'utilisation chez l'Homme. La nanotoxicologie, en tant que science appliquée, est une discipline encore embryonnaire. Il est, par ailleurs, bien connu que les avancées des sciences appliquées n'égalent en aucune mesure le torrent des nouvelles connaissances qui surgissent des sciences fondamentales. Cette discordance est encore plus accentuée pour des disciplines telles que la toxicologie réglementaire. Les outils, autant que les objectifs employés couramment pour les tests d'évaluation préclinique, n'ont pas beaucoup évolué au cours des deux dernières décennies.

En outre, on constate une augmentation très significative du coût de développement des programmes non cliniques. De surcroît, la nanomédecine est une discipline pénalisée par le fait qu'elle doit réaliser, non seulement les études toxicologiques réglementaires (obliga-

toires), mais aussi des explorations, création de méthodes nouvelles, pour lesquelles, bien souvent, les étapes de mise en place, puis de validation, ne manquent pas d'allonger les délais et d'augmenter les coûts associés.

Perspectives

La production des nanoparticules nanoXray™ à l'échelle industrielle est mature.

Leur propriété, remarquable, qui est de constituer un dépôt local d'une source d'énergie substantielle *au cœur même de la cellule maligne* lorsqu'elles sont activées par des rayons X, leur capacité de prolonger la vie des animaux porteurs de cancer et leur innocuité, observée à des doses largement supra-thérapeutiques chez les animaux étudiés, déterminent un rapport bénéfices/risques hautement favorable pour leur utilisation en santé humaine. Le premier essai clinique chez l'Homme est en cours de préparation : il est basé sur l'administration du produit NBTXR3 (le plus avancé dans le « pipeline »), pour lequel tout le programme préclinique a été finalisé.

L'essai est destiné à traiter des patients atteints de sarcomes des tissus mous de type agressif (muscles, articulations, tissus adipeux...), qui sont des tumeurs malignes réfractaires aux traitements oncologiques actuels, avec un pronostic de survie réservé. Les patients recevront des nanoparticules NBTXR3 activées par la radiothérapie habituellement délivrée, après quoi leur tumeur sera retirée chirurgicalement. D'autres études cliniques chez l'Homme suivront, pour des maladies telles que le cancer primaire du foie et des tumeurs cérébrales malignes.

En outre, la réalisation des programmes précliniques pour les autres produits de la plateforme nanoXray™ est en cours. Leurs applications en radiothérapie se déclineront suivant leurs propriétés intrinsèques, dont la création a été adaptée en vue de différents modes d'administration chez les patients atteints d'un cancer.