

# À la recherche de nouvelles thérapeutiques

*Le traitement des personnes contaminées accidentellement par des radionucléides est un problème encore mal résolu. Plusieurs méthodologies ont été développées pour pallier cette carence dans le domaine du traitement de la contamination interne. Petit tour d'horizon des avancées et perspectives les plus prometteuses dans le développement de nouvelles thérapeutiques pour quelques-uns des radionucléides manipulés dans l'industrie nucléaire.*

**Éric Ansoborlo\*, Frédéric Taran, Henri Benech, Elias Fattal, Nicolas Tsapis, Florence Ménétrier, Jean-Robert Deverre, Ramon Burgada**

\* CEA-Marcoule  
DEN/DRCP/CETAMA  
BP17171  
30207 Bagnols-sur-Cèze  
eric.ansoborlo@cea.fr

En cas de rejet accidentel de radionucléides au sein d'une installation nucléaire ou dans l'environnement, il existe un risque de contamination interne par inhalation, ingestion ou blessure, en mode aigu ou chronique, conduisant à une toxicité chimique\*<sup>1</sup> (dose exprimée en masse ou en mole) et/ou radiologique\*<sup>2</sup> (dose exprimée en gray, Gy, ou sievert, Sv), suivant l'élément.

Le risque radiotoxique dépendra des propriétés physico-chimiques et radioactives du radionucléide mais également du statut physiologique du sujet contaminé. Ces paramètres moduleront d'une part la distribution de l'agent contaminant ou de ses métabolites dans les tissus cibles et/ou sensibles et d'autre part son élimination de l'organisme. Ainsi, la forme physico-chimique (spéciation) du composé avant incorporation orientera son devenir dans l'organisme (1).

Les actions de recherche dans le domaine du traitement de la contamination (décorporation\*<sup>3</sup>) demeurent extrêmement limitées comme en témoigne le faible nombre de publications sur le sujet, guère plus d'une centaine depuis presque 50 ans.

Dans le début des années 2000, le CEA a décidé d'intensifier ses recherches dans le domaine de la toxicologie nucléaire. Parmi les projets soutenus dans ce programme, une thématique consacrée à la décontamination a permis d'explorer et d'évaluer deux types d'approches pluridisciplinaires, soit chimique avec la synthèse de nouveaux agents décorporants, soit pharmaceutique avec le développement de nouvelles formulations pour des traitements existants.

## Éléments d'intérêt

Parmi les nombreux radionucléides rencontrés dans l'industrie nucléaire, la recherche et la médecine, le programme de toxicologie nucléaire s'est focalisé sur six éléments d'intérêt : l'uranium et le plutonium

(famille des actinides), qui sont des éléments majeurs du cycle du combustible nucléaire, le césium et l'iode, produits de fission du combustible nucléaire pendant la production d'énergie, le cobalt, produit d'activation des structures des réacteurs nucléaires, et enfin le tritium, formé par activation neutronique d'éléments légers comme le bore ou le lithium.

On notera que ces éléments ressortent également des listes de composés les plus répandus dans l'environnement suite à des incidents ou accidents majeurs : Tchernobyl (Ukraine, 1986), Mayak (Russie, 1957), Goiânia (Brésil, 1987), Palomares (Espagne, 1966), ou à des essais nucléaires des années 1940 à 1970, comme Maralinga (Australie, dans les années 1960).

## Généralités sur les solutions thérapeutiques disponibles

Suivant le mode de contamination (inhalation, ingestion ou voie cutanée) et l'élément concerné (forme physico-chimique solide, liquide ou gazeuse), il existe plusieurs types de traitements.

### Traitements non spécifiques du contaminant

Le thérapeute dispose de plusieurs méthodes permettant :

- de réaliser des lavages stomacaux ou de la plaie, rarement pulmonaires,
- d'administrer des laxatifs ou diurétiques,
- de procéder à une excision chirurgicale en cas de blessure.

### Traitements plus spécifiques du contaminant

Trois approches principales sont envisageables :

- une dilution isotopique du radionucléide par le même élément ou un analogue chimique (le calcium pour le strontium ou le radium et l'eau pour le tritium),
- un agent bloquant (iode stable pour saturer la thyroïde),

\*<sup>1</sup> Capacité d'une substance chimique incorporée à entraîner des effets nocifs (ou toxiques) pour l'organisme. La chimiotoxicité est reliée à la dose de l'élément exprimée en quantité (en masse ou mole).

\*<sup>2</sup> Capacité d'une substance radioactive incorporée à entraîner des effets nocifs (ou toxiques) pour l'organisme. La radiotoxicité est reliée à la dose du radio-élément ou de l'isotope radioactif exprimée en quantité d'énergie absorbée par unité de masse de matière (en Gray ou Gray par unité de temps avec 1 Gy=1 J/kg).

\*<sup>3</sup> Traitement visant à éliminer de l'organisme, au moyen d'une substance chimique, des éléments radioactifs ou toxiques qui ont été incorporés. La substance chimique utilisée est appelée « décorporant » ou « chélateur ».

(1) Fouillit M *et al.* (2004) *Int J Radiat Biol* 80, 683-9

### La famille des sidérophores

Ce sont des composés organiques complexes naturels du fer produits soit par les plantes, soit par les bactéries et dont le plus connu est la desferrioxamine. L'analogie chimique  $Fe^{3+}/Pu^{4+}$  mise en évidence par le rapport  $z/r$  (charge/rayon atomique) (4,6 ( $Fe^{3+}$ ) et de 4,3 ( $Pu^{4+}$ )) a conduit au développement d'un certain nombre de molécules comme les catécholates (CAM), les hydroxypyridonates (HOPO) pour les actinides (IV).

- des agents chélatants (ligands organiques ou inorganiques) capables de former avec les éléments à décorporer (actinides, cobalt, césium,...) des complexes stables et facilement excrétables (tableau).

### Situation de la recherche internationale en décorporation

Les principales avancées dans le domaine de la décorporation des actinides sont dues aux équipes américaines de Kenneth N. Raymond (2) et Patricia W. Durbin (3), de l'université de Berkeley. Au cours des vingt dernières années, ce groupe de chercheurs a synthétisé un nombre conséquent de molécules de la famille des sidérophores (encadré), susceptibles de complexer efficacement les actinides (4). Parmi celles-ci, deux molécules peuvent être mises en avant : le 3,4,3-LI(1,2-HOPO) et le 5-LIO(Me-3,2-HOPO), dont la capacité à complexer très fortement le plutonium mais aussi, dans une moindre mesure, l'uranium et le cobalt a été démontrée aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*. Des études complémentaires sur la toxicité de ces deux ligands auraient été nécessaires mais n'ont pas été réalisées à ce jour.

Concernant la décorporation du plutonium (Pu), le DTPA\*4 reste le traitement médical de référence et a été bien plus étudié biologiquement que le 3,4,3-LI(1,2-HOPO). Le DTPA présente, en effet, une aptitude non négligeable à la décorporation du Pu et possède, depuis février 2008, une autorisation de mise sur le marché. Pour l'uranium, peu de composés testés se sont révélés

efficaces et les résultats obtenus par Marie-Hélène Hengé-Napoli (5), sur la base d'un bisphosphonate simple, l'EHBP\*5, ont constitué une voie d'ouverture intéressante sur la piste de la famille des phosphonates. Pour le césium, le composé de référence utilisé chez l'homme suite à des accidents comme celui de Goiânia est le bleu de Prusse, ou ferrocyanure ferrique. D'autres pistes, notamment une pectine modifiée récemment utilisée en Ukraine, n'ont pas prouvé leur efficacité *in vivo* chez le rat (6).

### 2001-2007 : avancées récentes dans le domaine de la décorporation

#### Approche chimique : synthèse et criblage de nouveaux ligands

Cette approche a été plus particulièrement appliquée à l'uranium avec pour objectif de concevoir et de synthétiser des ligands susceptibles de complexer *in vivo* l'ion uranyle ( $UO_2^{2+}$ ), présent en milieu biologique, tout en répondant à de fortes contraintes pour ces ligands : forte association avec le métal, sélectivité par rapport aux cations biologiques (Ca, K,...), non toxicité et bonne biodisponibilité.

Deux stratégies ont ainsi été mises en œuvre. La première, fondée sur la prise en considération de facteurs physico-chimiques et stériques tels que l'adaptation géométrique du ligand aux dimensions atomiques de l'ion uranyle par modélisation moléculaire (7), a été validée par l'obtention de complexes d'uranyle très stables. La seconde a été basée sur la synthèse de banques de molécules et le criblage à haut débit permettant de sélectionner les ligands conjuguant forte affinité et bonne sélectivité *in vitro*. Cette approche est couramment utilisée par l'industrie pharmaceutique pour la recherche de nouveaux médicaments. Une chimiothèque composée de plus de 300 ligands d'une grande diversité de structures a ainsi pu être préparée par les techniques de chimie combinatoire (8). L'ensemble de ces molécules a été soumis aux étapes de criblage, ce qui a conduit à la mise en évidence des propriétés remarquables d'une famille de molécules bisphosphonates (9). Ces composés se sont révélés efficaces pour complexer l'ion uranyle (constantes d'association ( $K_a$ )  $> 10^{17}$ ) en milieu physiologique. Marcin Sawicki, doctorant du CEA, a comparé l'efficacité décorporante de ces bisphosphonates (10) en termes de rétention, d'excrétion et de distribution dans différents organes, suite à une contamination par l'uranyle chez le rat. Au final, le meilleur ligand est le composé L2 (figure 1) qui permet d'augmenter l'excrétion de 10 % de l'uranium injecté et de diminuer d'environ 50 % l'uranium fixé au niveau du rein.

#### Approche pharmacologique et pharmacocinétique

Cette approche a été plus spécifiquement développée pour le plutonium, et s'est déroulée en deux étapes :

- des recherches focalisées sur l'étude du devenir dans l'organisme (pharmacocinétique) à la fois de l'agent contaminant, le Pu, et de l'agent décorporant, le DTPA (11),
- le développement de formulations pharmaceutiques originales permettant de mieux diriger le décorporant vers les sites de dépôt et de transfert de l'agent contaminant. Pour le Pu, il s'agit du poumon, de l'os et du foie, selon la voie de contamination.

(2) Gorden AEV *et al.* (2003) *Chem Rev* 103, 4207-82

(3) Durbin PW (2006)

*The chemistry of the actinide and transactinide elements* 3<sup>e</sup> édition, Vol 5, 3339-425

(4) Ansaborlo E *et al.* (2007) *ACADS C R Chimie*, 1-10

(5) Hengé-Napoli MH *et al.* (2000) *Radiat Prot Dosim* 87, 11-57

(6) Le Gall B *et al.* (2006) *Biochimie* 88, 1837-41

(7) Burgada R *et al.* (2007) *Tetrahedron Letters* 48, 2315-9

(8) Meunier S *et al.* (2003) *J Comb Chem* 5, 201-4

(9) Sawicki M *et al.* (2005) *Chem Eur J* 11, 3689-97

(10) Sawicki M *et al.* (2008) *Eur J Med Chem* 43, 2768-77

(11) Phan G *et al.* (2006) *Biochimie* 88, 1843-9

\*4 Diéthylène triamine penta acide

\*5 Éthane-1-hydroxy-1,1-bisphosphonate

Ensemble des chélatants préconisés suivant l'organe cible, pour 5 éléments d'intérêt du programme de toxicologie nucléaire du CEA.

Organe cible	Chélatant	Éléments
Intestin	Al-phosphate	Ca, Sr, Ba, Ra
	Ba-sulphate	Ca, Sr, Ba, Ra
	Bleu de Prusse : $Fe_4[Fe(CN)_6]_3$	Cs, Tl, Rb
	Alginates, Pectine	Cs, Sr, Ra
Poumon	Aérosol DTPA <sup>(1)</sup>	Actinides : Th, Pu, Am, Cm
Thyroïde	Iodure de potassium (KI)	I
Sang	DTPA-(Ca/Zn)	Actinides : Th, Pu, Am, Cm, Co, Zr, Ni, Cr
	BAL <sup>(2)</sup>	Po, Sb, Au, As, Hg
	DMSA <sup>(3)</sup>	Po, Sb, Au, As, Hg
	DMPS <sup>(4)</sup>	Po, Sb, Au, As, Hg
	Bleu de Prusse : $Fe_4[Fe(CN)_6]_3$	Cs, Tl, Rb
	Bicarbonate de sodium	U

(1) DTPA : acide diéthylène triamine penta-acétique

(2) BAL : British Anti-Lawisite ou 2,3-dimercapto-1-propanol

(3) DMSA : acide dimercaptosuccinique

(4) DMPS : sodium 2,3-dimercaptopropane-1-sulfonate

Deux formulations galéniques de DTPA ont ainsi été développées pour deux voies d'administration différentes :

- des liposomes pour la voie intraveineuse et pour un traitement de deuxième intention en milieu hospitalier,
- une poudre sèche pour la voie pulmonaire et pour un traitement en urgence (12).

L'encapsulation du DTPA dans de grands liposomes (vésicules naturelles de diamètre supérieur à 100 nm composées de phospholipides) multilamellaires conventionnels ou furtifs (nommés SL-100nm et non reconnus par le système immunitaire) (figure 2) a permis de modifier profondément la pharmacocinétique du décorporant chez le rat en prolongeant son temps de circulation plasmatique et en augmentant sa distribution dans le foie et le squelette. La réduction du diamètre des liposomes à environ 100 nm a permis de moduler davantage les paramètres pharmacocinétiques en allongeant leur temps de circulation. Les liposomes furtifs induisent, quant à eux, une excrétion de plus de 90 % du Pu injecté au rat 16 jours après contamination, tandis que le DTPA libre à une dose 10 fois plus élevée produit moins de 50 % d'excrétion du Pu dans les mêmes conditions. L'administration hebdomadaire des SL-100nm permet, de plus, de réduire significativement la rétention du Pu dans le foie des rats à moins de 2 % de l'activité injectée et celle dans le squelette à moins de 0,2 % un mois après contamination. Contrairement au DTPA administré sous forme libre, les SL-100nm seraient capables d'interagir à la fois avec les macrophages et les hépatocytes au niveau du foie, d'intercepter le Pu et de prévenir son dépôt au niveau du squelette.

Le DTPA a aussi été formulé par atomisation-séchage de manière à obtenir des particules poreuses présentant des propriétés aérodynamiques optimales pour l'administration et le dépôt pulmonaire, avec en particulier une proportion non négligeable dans la région alvéolaire. L'efficacité de décorporation locale a été évaluée après administration pulmonaire de la poudre chez le rat, contaminé par des particules d'oxyde de Pu ( $\text{PuO}_2$ ). L'administration intratrachéale de poudre de DTPA ne permet pas de réduire significativement la rétention du Pu dans les poumons mais limite son transfert vers le foie et le squelette. Après contamination pulmonaire par le nitrate de Pu soluble, une administration de poudre de DTPA est deux fois plus efficace qu'une injection intraveineuse de DTPA libre et permet de réduire la rétention de Pu dans les poumons. En outre, l'administration pulmonaire est tout aussi efficace pour la décorporation systémique et tissulaire (foie, squelette).

## Les outils développés pour étudier la décorporation

Ce programme a conduit au développement de quelques outils spécifiques comme un test de criblage *in vitro* permettant de tester d'une part l'efficacité des nouveaux ligands synthétisés par rapport à un chromophore (complexant coloré) de référence, et d'autre part leur sélectivité par rapport à des métaux essentiels présents dans les milieux biologiques (Ca, Mg, K, Na, Fe,...). Des études *in silico* de modélisation ont été

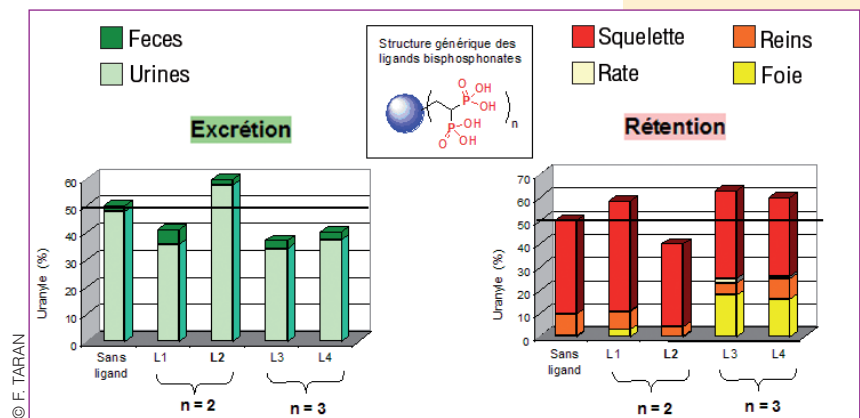


Figure 1 Biodistribution de l'ion uranyle après injection chez le rat de 30  $\mu\text{moles/kg}$  et efficacité décorporante de 4 ligands bisphosphoniques 5 minutes après contamination (d'après (10)).

poursuivies en dynamique moléculaire et calcul de chimie quantique.

Ces développements ont permis de limiter le nombre d'expérimentations *in vivo* et de mieux cibler les ligands d'intérêts sélectionnés.

## Perspectives en décorporation

Le programme de toxicologie nucléaire a permis de relancer la thématique de décorporation et de mettre l'accent sur trois axes à poursuivre :

- la synthèse de nouveaux ligands plus performants,
- l'optimisation pharmaceutique (meilleure formulation et vectorisation) de ligands efficaces afin d'adapter le devenir dans l'organisme de l'agent décorporant au radionucléide,
- la meilleure compréhension de la toxicité de certains ligands en rapport avec des critères structure-activité.

Citons aussi l'apparition récente d'une technique utilisant des nanoparticules de fer fonctionnalisées avec un ligand, biostabilisées avec des composés comme les polyéthylènes glycol (PEG), et qui, injectées dans l'organisme, complexeraient l'élément dans le sang avant d'être collectées par aimantation. À ce jour, de tels essais ont été réalisés uniquement *in vitro*, sur du sang contaminé soit avec des nanoparticules de magnétite additionnées d'un bisphosphonate-dopamine pour complexer l'ion uranyle (13) (efficacité ~70 %), soit avec ces mêmes nanoparticules traitées au bleu de Prusse, fonctionnalisées pour complexer le césium (14) (efficacité ~95 %). Cette dernière expérience est prévue prochainement *in vivo* chez la souris, par l'équipe d'Haitao Chen. ●

Figure 2 Liposomes (vésicules naturelles composées de phospholipides) conventionnels et furtifs (non reconnus par le système immunitaire). PEG : polyéthylène glycol

