

# Cancer

## Le double-jeu de l'oxygène

**Si l'oxygène est nécessaire à la croissance des tumeurs cancéreuses, il est aussi un facteur clé de la réponse aux traitements cytotoxiques, dont en particulier la radiothérapie. Le Laboratoire de résonance magnétique biomédicale de l'Université catholique de Louvain vient de mettre au point une technique non invasive et peu coûteuse permettant de cartographier les régions hypoxiques (mal oxygénées) des tumeurs. Une application en clinique humaine est envisageable à court terme**

30

Texte: **Philippe LAMBERT** • [ph.lambert.ph@skynet.be](mailto:ph.lambert.ph@skynet.be)

Photos: **SCIENCE** (p.30), **Ph. LAMBERT** (p.31), **UCL** (p.32), **Ph. LAMBERT** (p.33)

**L**a croissance d'une tumeur cancéreuse au-delà de quelques millimètres cubes serait impossible si des vaisseaux sanguins nouvellement formés ne lui apportaient l'oxygène et les éléments nutritifs nécessaires à son développement. La formation de ces néovaisseaux est au cœur du phénomène dit d'angiogenèse tumorale.

Dans un premier temps, une tumeur maligne grandit sans angiogenèse. Au stade précoce, en effet, elle peut se contenter des éléments nutritifs et de l'oxygène diffusant directement à partir des vaisseaux voisins. Bientôt cependant, cette diffusion devient insuffisante, de sorte que des zones d'hypoxie (manque

d'oxygène) apparaissent en son sein. Que font alors les cellules cancéreuses pour contourner l'écueil ? Elles induisent l'expression et la sécrétion de facteurs pro-angiogéniques qui stimulent l'apparition de nouveaux vaisseaux. Le plus connu et le plus étudié, car potentiellement le plus «efficace», est le *vascular endothelial growth factor (VEGF)* (1).

Annihiler l'action du VEGF afin d'«étouffer» la tumeur paraît donc une stratégie pertinente. Et, de fait, elle se révèle d'une remarquable efficacité dans tous les modèles de tumeurs induites chez la souris. Chez l'homme, par contre, les résultats sont beaucoup plus mitigés. Autorisé en médecine humaine en 2004 par la *Food and Drug Administra-*

*tion (FDA)*, le bevacizumab (Avastin®), premier anticorps anti-angiogénique, ne semble pas avoir d'avenir en monothérapie. Les bénéfices qu'il procure sont mineurs par rapport aux espoirs de départ. Plusieurs autres molécules anti-angiogéniques sont toutefois en cours d'étude.

### Normalisation vasculaire

Les vaisseaux nouvellement formés au sein des tumeurs sont tortueux, moins fonctionnels - en un mot, anormaux. C'est ici que la situation se révèle para-

doxale. Alors que le but final de la thérapie anti-angiogénique est de priver la tumeur d'oxygène, on observe que celle-ci est réoxygénée de façon temporaire dans les phases précoces du traitement. On parle de «normalisation de la vascularisation tumorale» ou, plus succinctement, de «normalisation vasculaire».

Comment expliquer le phénomène ? «Initialement, le traitement anti-angiogénique fait disparaître les vaisseaux les plus immatures, ce qui réduit la pression interstitielle dans la tumeur, favorisant ainsi sa perfusion (passage du flux sanguin) et son oxygénation», indique le professeur Bernard Gallez, responsable du Laboratoire de résonance magnétique biomédicale au sein du Louvain Drug Research Institute (LDRI) de l'Université catholique de Louvain (UCL). Chez l'animal, la normalisation vasculaire s'étend sur quelques jours. En revanche, la question de sa durée reste ouverte chez l'homme. Pourquoi ? Parce que jusqu'à présent, on ne disposait pas de technologies non invasives, donc éthiquement acceptables, permettant d'appréhender le phénomène.

Dans une tumeur à évolution spontanée, non seulement les néovaisseaux sont peu fonctionnels mais l'intense activité métabolique de la masse cellulaire en développement consomme de surcroît une large part de l'oxygène disponible. Aussi, malgré l'angiogénèse, les tissus tumoraux n'atteignent-ils que des valeurs de pression en oxygène de l'ordre de 10, voire 5 mm de mercure, alors que cette valeur est de 30-40 mm de mercure dans les tissus sains. Malheureusement, cette faible mise à disposition d'oxygène suffit à la survie des cellules malignes.

Cela étant, il est établi que l'oxygène représente un facteur clé de la réponse aux traitements cytotoxiques, dont en particulier la radiothérapie. Or quelque 60% des patients souffrant d'un cancer recevront des rayons, soit en monothérapie, soit en combinaison avec d'autres

traitements - chirurgie, chimiothérapie. «Les recherches in vitro, les expériences in vivo chez l'animal et les études effectuées chez l'homme grâce à des méthodes invasives utilisant des électrodes placées dans des tumeurs superficielles dévoilent la même réalité: une tumeur faiblement oxygénée répond moins bien à la radiothérapie qu'une tumeur mieux oxygénée, les cellules mal oxygénées devenant radio-résistantes, c'est-à-dire résistantes aux rayons», précise Bernard Gallez.

Les chiffres émanant d'études au cours desquelles des cohortes de patients ont été suivies durant plusieurs années livrent une vérité éloquent: la mortalité à l'horizon de 5 ans est supérieure de 15% environ chez les patients souffrant de tumeurs plus hypoxiques. En outre, il a été bien documenté que de telles tumeurs favorisent non seulement l'angiogénèse mais aussi la dissémination métastatique.

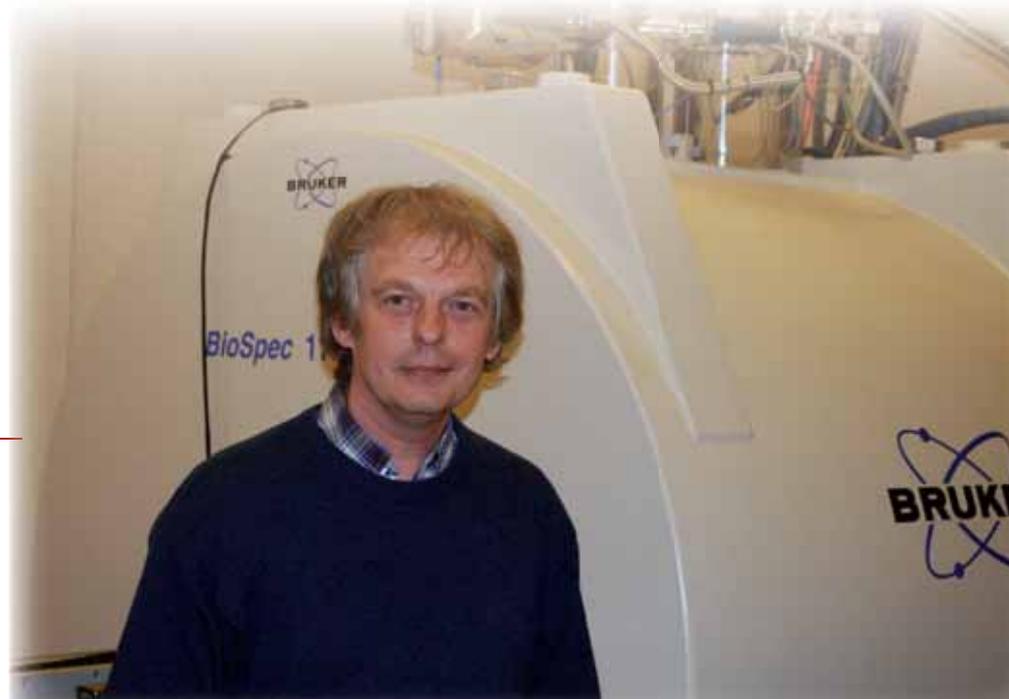
## Cartographier l'oxygénation

Par essence, les tumeurs cancéreuses sont hétérogènes, même s'il existe de rares cas, dans les modèles animaux, où elles sont globalement bien oxygénées ou, au contraire, extrêmement hypoxiques et partant, très radio-résistantes. Dans la grande majorité des tumeurs en développement (surtout chez l'être humain), des zones d'hypoxie cohabitent avec des zones où l'oxygénation est relativement normale. Dès lors, si

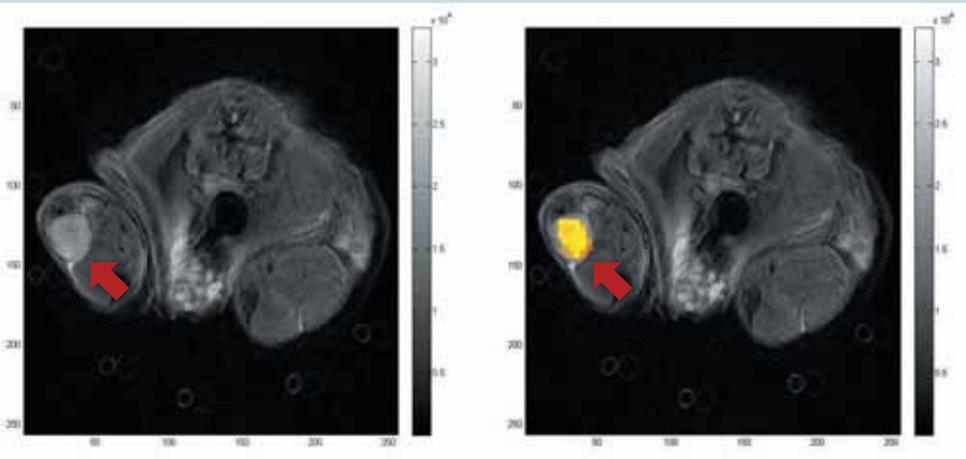
l'on ambitionne d'augmenter la réponse à la radiothérapie en incluant le concept d'oxygénation tumorale dans les protocoles thérapeutiques, encore faut-il être capable de dresser une cartographie de celle-ci.

À ce jour, les biomarqueurs qui permettraient de mener cette tâche à bien sont inexploitable dans la pratique clinique courante. Ils s'appuient tantôt sur des microélectrodes implantées dans la masse tumorale, tantôt sur la tomographie par émission de positons (PET scan) utilisant des nitroimidazoles fluorés, tel le fluor-18, comme traceurs de l'hypoxie. La première technique est invasive, et si elle a été utile pour permettre de démontrer la pertinence des théories relatives à l'oxygénation et à l'hypoxie des tumeurs, elle ne peut faire l'objet d'un usage répété chez les patients. «Elle n'est d'ailleurs plus commercialisée», souligne le professeur Gallez. Quant au PET scan recourant aux nitroimidazoles fluorés, actuellement en test chez l'homme, il présente plusieurs inconvénients. D'une part, la mise en œuvre de sources radioactives lui confère une toxicité potentielle et interdit son emploi répété chez un même patient. D'autre part, son coût est non négligeable.

Dans ces conditions, disposer d'une méthode alternative non invasive, sûre, peu coûteuse et dont un même patient pourrait bénéficier à plusieurs reprises si nécessaire constituerait une évidente plus-value. Ce «Graal», les chercheurs du Laboratoire de résonance magnétique biomédicale sont en passe de le trouver. Du moins les résultats des travaux qu'ils



Le professeur Bernard Gallez devant l'IRM de 11,7 Tesla qui lui a permis de mettre au point une technique non invasive visant à cartographier l'oxygénation des tumeurs.



Images de tumeur chez le petit animal (indiquées par la flèche):

À gauche, image anatomique.

À droite, image de l'oxygénation tumorale obtenue par la séquence «MOBILE»

mènent sur le sujet le laissent-ils augurer. Raison pour laquelle leurs études ont été couronnées cet automne par le prix de la Fondation Fournier-Majoie (190 000 euros). «Ce support financier va nous aider à passer d'une technologie innovante, établie au stade du laboratoire, à l'objectif ultime: son usage concret dans le traitement du cancer», dit Bernard Gallez.

32

## Une technique originale

La technique élaborée à l'UCL repose sur l'imagerie par résonance magnétique (IRM). Pour établir le contraste au sein des images, et donc permettre la discrimination entre certains tissus, cette technologie fait appel à un paramètre clé: les temps de relaxation, qui traduisent le temps nécessaire aux spins (2) des atomes d'hydrogène préalablement excités par l'onde de radiofréquence pour recouvrer leur état d'équilibre initial.

En général, le «matériau» sur lequel se fondent les examens en IRM n'est autre que la composante majeure des tissus: l'eau. Technique très prisée dans le domaine des neurosciences, l'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle (IRMf), par exemple, s'appuie essentiellement sur la mesure des changements s'opérant au niveau de certaines propriétés magnétiques de l'hémoglobine au sein des vaisseaux capillaires artériels ou veineux des régions cérébrales activées (signal BOLD - Blood Oxygenation Level Dependent). Dans ces régions, l'afflux de sang et d'oxygène qu'il transporte dépasse transitoirement les besoins énergétiques locaux. Par consé-

quent, on assiste à une arrivée massive d'oxyhémoglobine, combinaison de l'hémoglobine et de l'oxygène, et par là même, à une diminution relative de la déoxy-hémoglobine (3). Paramagnétique, cette dernière réduit le signal IRM. Aussi, dans les régions activées, la baisse de concentration de cette déoxyhémoglobine entraîne-t-elle une augmentation du signal. On détermine ainsi les régions cérébrales particulièrement sollicitées dans un contexte déterminé - effectuer une tâche motrice ou de mémoire, par exemple.

Dans le territoire vasculaire, une modification de l'oxygénation se traduit, comme nous venons de le voir, par un changement de la proportion relative d'oxyhémoglobine et de déoxyhémoglobine. Mais cette approche manque de sensibilité pour mesurer l'oxygénation des tissus. D'où l'idée du professeur Gallez de se focaliser sur les propriétés magnétiques de leur composante lipidique (graisse), et non plus sur celles de l'eau qu'ils contiennent. «Comme l'oxygène est beaucoup plus soluble dans les lipides que dans l'eau, le nombre de molécules d'oxygène dissoutes est beaucoup plus important dans les lipides que dans l'eau», rappelle-t-il. C'est cette propriété que son équipe a mise à profit pour obtenir une nouvelle source de contraste, plus performante.

Centrée sur les temps de relaxation T1 (4) des atomes d'hydrogène au sein des lipides, la technologie ainsi développée s'appelle MOBILE (Mapping of Oxygen By Imaging Lipids relaxation Enhancement) et a fait l'objet d'un dépôt de brevet au niveau européen, puis à l'échelon international. Elle peut potentiellement être introduite rapidement en oncologie humaine comme

un outil unique à même de guider les radiothérapies et les traitements ciblant la vascularisation tumorale (molécules anti-angiogéniques).

## Implémentation clinique ?

Au départ, la pertinence de la méthode MOBILE a été démontrée *in vitro* dans des homogénats tissulaires (5) plus ou moins oxygénés. Ensuite, *in vivo* chez l'animal, à travers des tumeurs expérimentales dont les chercheurs faisaient varier le taux d'oxygénation. Le but était de déterminer s'il y avait une corrélation significative entre la quantification de l'oxygénation tumorale par des méthodes invasives et les résultats obtenus en IRM. Ce fut le cas. «En outre, avec une équipe de la Katholieke Universiteit Leuven, nous avons confirmé, chez l'animal, le bien-fondé de la méthode dans le cadre d'accidents vasculaires cérébraux et, avec le groupe Nutrition et métabolisme de l'UCL, dans le cadre d'ischémies périphériques inhérentes à certains modèles de diabète», rapporte Bernard Gallez.

Les expériences *in vitro* et sur les modèles animaux furent réalisées au moyen d'une IRM très puissante - 11,7 Tesla (6). La méthode MOBILE était-elle transposable en médecine humaine ? Pour le prouver, l'équipe du Laboratoire de résonance magnétique biomédicale l'appliqua chez des volontaires sains en recourant à un appareillage IRM classique (3 Tesla) du service d'imagerie médicale de l'hôpital Saint-Luc, à Bruxelles. L'expérience consistait à mettre en évidence la variation de l'oxygénation cérébrale lorsque des sujets respiraient de l'oxygène pur. Le résultat fut concluant.

Il reste aux scientifiques à franchir les étapes qui conduisent de la conception d'une technique innovante à son utilisation courante en oncologie. Pour l'heure, le groupe de Bernard Gallez a plusieurs fers au feu. Tout d'abord, un travail

d'optimisation. En effet, les physiciens de l'équipe ont pour double objectif de réduire le temps d'acquisition des données et d'obtenir le meilleur signal IRM possible. «*Nous savons, par exemple, que certaines tumeurs ne sont pas faciles à appréhender en IRM, notamment celles qui siègent dans des organes difficiles à immobiliser, telle la langue, dit notre interlocuteur. Optimisée, la technique MOBILE pourra-t-elle contourner cet écueil ? Nous étudions la question.*» Au stade pré-clinique, les chercheurs s'efforceront également d'évaluer, entre autres, la valeur de la méthode en tant que biomarqueur prédictif de la réponse à la radiothérapie. Pour ce faire, ils prévoient de se pencher sur une dizaine de modèles de tumeurs expérimentales chez l'animal.

Parallèlement sera entreprise une étude de l'applicabilité, chez l'homme, de la technologie MOBILE dans des tumeurs «tête et cou» et des tumeurs cérébrales. Pour les volontaires concernés, cela signifie une prolongation d'environ 4 minutes de l'examen IRM standard (20 à 30 minutes) auquel ils sont généralement invités à se plier dans le cadre de la prise en charge de leur maladie; 4 minutes pour obtenir, on l'espère, une cartographie de l'oxygénation de leur tumeur. Les données fournies par l'IRM seront comparées à celles recueillies via d'autres marqueurs de l'hypoxie tumorale, dont en particulier les résultats d'études en PET scan au fluor-18. De même, des tumeurs résecables seront analysées, car elles recèlent des marqueurs endogènes de l'hypoxie, ce qui autorisera à nouveau le jeu des comparaisons. Il est également prévu de faire respirer du

carbogène (95% d'oxygène, 5% de dioxyde de carbone) à des patients, le but étant de mettre en évidence, au niveau individuel, une éventuelle réoxygénation de leur tumeur. «*Si les résultats de l'ensemble de ces travaux vont dans le sens escompté, une implémentation de la technique MOBILE en clinique humaine est envisageable dans 2 ou 3 ans*», estime le professeur Gallez.

## Fenêtres temporelles

Identifier les régions hypoxiques de la tumeur dont souffre un patient ouvrirait probablement la voie à une prise en charge individualisée et de ce fait, plus performante. Ainsi, lors d'une radiothérapie, une option serait de procéder à une escalade des doses de rayonnement dans les zones hypoxiques de la tumeur. Les techniques modernes de radiothérapie, telle l'*Intensity Modulated Radiation Therapy (IMRT)*, permettent cette modulation d'intensité de l'irradiation en misant sur la méthode des «feux croisés» et en épargnant de la sorte, autant que faire se peut, les tissus sains avoisinants.

Une autre stratégie consisterait à favoriser la réoxygénation transitoire des régions hypoxiques au moment de l'irradiation. «*Pour ce faire, on pourrait soit délivrer des traitements qui inhibent la consommation d'oxygène des cellules tumorales, soit augmenter la perfusion, comme dans la phase initiale des thérapies anti-angiogéniques (phase de "normalisation vasculaire")*», soit encore

oxygéner directement la tumeur en faisant respirer du carbogène au patient», souligne Bernard Gallez.

La cartographie de l'hypoxie tumorale peut se modifier au fil du temps. D'où l'intérêt de pouvoir disposer d'une méthode non invasive peu coûteuse permettant de la redessiner périodiquement. Qu'il existe des phases de réoxygénation durant un traitement par radiothérapie a été bien étayé. D'une part, la destruction de cellules réduit la consommation globale d'oxygène au niveau tumoral; d'autre part, des phénomènes de reperfusion ont été mis en lumière, du moins dans les modèles animaux. Par ailleurs, comme le précise Bernard Gallez, l'association fréquente de traitements médicamenteux avec la radiothérapie pourrait influencer sur l'oxygénation de la tumeur.

Dans ces conditions, tout semble plaider en faveur d'un fractionnement accru de la radiothérapie. Mais encore faut-il être en mesure de choisir, chez chaque patient, les fenêtres temporelles les plus appropriées (et les seules vraiment efficaces) pour l'irradiation. C'est ici, notamment, que la technique MOBILE pourrait se révéler d'un apport essentiel. ■

- (1) Le bFGF (basic fibroblast growth factor) et le PDGF (platelet-derived growth factor) sont les autres facteurs angiogéniques connus.
- (2) Le spin est en quelque sorte une version quantique du mouvement de rotation sur soi, c'est-à-dire une mesure quantique de la vitesse avec laquelle une particule tourne sur elle-même, à la façon d'une toupie.
- (3) Forme d'hémoglobine qui ne fixe pas l'oxygène.
- (4) On distingue plusieurs types de temps de relaxation
- (5) Préparation homogène d'un tissu à observer.
- (6) Tesla (T): unité de mesure d'induction et de densité de flux magnétique.

