

RECHERCHES FRANÇAISES RÉCENTES POUR L'AMÉLIORATION DES TRAITEMENTS DÉCORPORANTS DE RADIOÉLÉMENTS

Olivier GREMY

Commissariat à l'Energie Atomique et aux Energies Alternatives
Laboratoire de RadioToxicologie, Bruyères-le-Châtel, 91297 Arpajon Cedex
olivier.gremy@cea.fr

Introduction

L'exploitation de radionucléides dans l'industrie électronucléaire conduit à un risque de contamination interne pour les manipulateurs. Les radionucléides concernés sont les éléments du combustible nucléaire neuf ou usagé (uranium, plutonium, américium, neptunium, curium) dont les produits de fission (césium, iode, strontium), et des produits d'activation (cobalt). Pour limiter le cumul de la dose radiologique délivrée aux tissus par le radionucléide internalisé, la seule stratégie thérapeutique est sa décorporation.

Toutefois, les traitements décorporants disponibles sont peu nombreux, parfois très peu efficaces voire inexistantes pour certains éléments. Celui le plus courant consiste en l'administration de chélateurs devant former avec le radionucléide un complexe stable et non métabolisable pour favoriser son élimination par les voies naturelles.

Pour améliorer l'efficacité des thérapies par chélation, différentes stratégies sont envisagées. Des exemples de l'effort français mené ces dernières années dans ce domaine sont présentés ci-après.

Amélioration du schéma thérapeutique d'un traitement du plutonium par le DTPA

La seule thérapeutique recommandée pour décorporer les actinides transuraniens plutonium (Pu) ou américium (Am) est une injection intraveineuse (iv) d'une solution du chélateur DTPA (acide diéthylènetriaminopentaacétique). Plus la posologie administrée est importante, plus le traitement est efficace. Puisqu'elle est limitée à $30 \mu\text{mol.kg}^{-1}$ (1g chez l'homme) par jour, une stratégie est de multiplier les iv pour augmenter l'efficacité.

Pour évaluer l'efficacité d'un traitement chronique différé selon l'intervalle de temps séparant deux iv successives, une étude expérimentale a été menée chez l'animal. Trois semaines après leur contamination pulmonaire par administration intratrachéale d'une solution de Pu-citrate, des rats ont reçu ou non un traitement différé par iv de DTPA à une posologie totale de $360 \mu\text{mol.kg}^{-1}$, selon différents protocoles : 1 seule iv ; 1 iv par semaine à $22,5 \mu\text{mol.kg}^{-1}$ sur 16 semaines ; 3 iv par semaine à $22,5 \mu\text{mol.kg}^{-1}$ sur 5,3 semaines ; ou selon le traitement chronique recommandé = 1 iv à $15 \mu\text{mol.kg}^{-1}$ pendant 3 jours puis 3 iv par semaine sur 3 semaines puis 1 iv par semaine sur 12 semaines.

A 18 semaines, la charge corporelle en Pu est très limitée quel que soit le protocole chronique différé testé, et ce d'une ampleur semblable (~80%, -84% et -39% du Pu pulmonaire, hépatique et osseux). Toutefois, un léger avantage sur la limitation des dépôts extrapulmonaires peut être noté en faveur des traitements fractionnés par rapport à une administration unique de la posologie totale (-59% et -23% du Pu hépatique et osseux).

Pour un protocole d'iv répétées débuté tardivement, le paramètre de l'intervalle de temps séparant deux iv successives ne semble pas déterminant pour son efficacité globale, au moins pour les intervalles testés. Dans ce cas, la valeur de la posologie cumulée serait bien plus importante que sa distribution dans le temps. Dans ces conditions, le traitement chronique recommandé ne semble pas plus efficace qu'un traitement chronique basé sur des iv plus régulières dès le début du protocole. Surtout, il est possible d'atteindre au moins la même efficacité qu'une forte posologie en la fractionnant et l'étalant dans le temps.

Puisqu'un traitement DTPA est d'autant plus efficace qu'il est donné précocement après la contamination, il est fort probable qu'une forte posologie injectée en une fois soit plus efficace que si elle est fractionnée dans le cas d'un traitement précoce. Ainsi, la première phase du traitement chronique recommandé (1 iv par jour pendant 3 jours) s'avérera certainement plus efficace qu'un traitement à 1 ou 3 administrations par semaine.

Ciblage du site primaire de contamination après dépôt pulmonaire de plutonium [1]

Une voie possible d'internalisation du Pu est l'inhalation, les poumons constituant alors un site primaire de contamination. Afin de concentrer localement le DTPA dans les poumons pour limiter la rétention locale et prévenir les dépôts extrapulmonaires, une poudre sèche inhalable de DTPA permettant un dépôt alvéolaire de 26% a été formulée.

Cette forme galénique a notamment été évaluée sur un modèle de contamination pulmonaire par administration intratrachéale de nitrate de Pu chez le rat. Une heure post-contamination, des rats ont été traités par une insufflation de poudre sèche de DTPA ou par une iv de DTPA en solution à la même posologie de $20 \mu\text{mol.kg}^{-1}$. Un troisième lot de rats a reçu le traitement combiné ; une insufflation à 1 heure puis une iv à 2 heures.

A 14 jours, le traitement systémique n'est que très peu efficace alors que le traitement local est très efficace pour limiter les dépôts pulmonaires (-71%). Le traitement combiné n'est pas meilleur, confirmant la difficulté du DTPA injecté à passer la barrière capillaro-alvéolaire en concentration suffisante.

L'insufflation du DTPA en poudre est également plus avantageuse que l'iv pour limiter les dépôts extrapulmonaires (-55% contre -46% pour le Pu hépatique et -43% contre -19% pour le Pu osseux). Si une action systémique du DTPA insufflé n'est pas exclue, son efficacité extrapulmonaire est principalement due à la chélation du Pu pulmonaire avant son absorption sanguine puis ses dépôts systémiques. La combinaison des deux voies d'administration, pulmonaire et veineuse, est encore plus efficace sur les dépôts extrapulmonaires (-81% pour le Pu hépatique et -64% pour le Pu osseux), le DTPA explorant en concentration suffisante les compartiments pulmonaires comme extrapulmonaires.

L'administration précoce du DTPA au site d'entrée est une bonne stratégie pour limiter la rétention locale et prévenir les dépôts secondaires de Pu. L'association des deux voies d'administration l'est davantage car elle améliore encore l'efficacité globale du traitement.

Prévention du passage transcutané de l'uranium par décontamination de la peau [2]

Le passage transcutané au travers d'une peau saine ou superficiellement lésée est aussi une voie possible de contamination interne. Dédiée à la décontamination cutanée de l'U sous une forme très soluble, une formulation pharmaceutique a été développée pour mobiliser l'élément et ainsi prévenir sa translocation vers le sang au travers de la peau. Il s'agit d'une nanoémulsion huile dans l'eau renfermant un calixarène tricarboxylique à 6 unités phénols, ce chélateur étant connu pour son affinité et sa sélectivité de l'U.

Afin d'évaluer son efficacité, des expériences *ex vivo* ont été menées en cellules de diffusion de Franz sur des explants de peau d'oreilles de porc, intacts ou excoriés. Suite à un dépôt surfacique sur l'explant de peau d'une solution à 10 mg.l^{-1} de nitrate d'uranyle, la nanoémulsion chargée ou non en calix[6]arène à 4 mg.g^{-1} est apposée immédiatement, 5, 15 ou 30 minutes post-contamination (rapport molaire calixarène/U ~ 80).

L'application immédiate de la nanoémulsion chargée sur la peau saine contaminée diminue le pourcentage de diffusion de l'U au travers de la peau d'environ 94% sur 24h (0,07% sans traitement contre 0,004% avec traitement). La même expérimentation menée sur une peau excoriée a montré une limitation de la diffusion transcutanée de l'U de 97,5% (39,5% de diffusion sans traitement contre 1% avec traitement). Notons que la nanoémulsion seule, en absence de calix[6]arène, limite déjà cette diffusion à 81%.

En cas d'application plus différée, la formulation est moins efficace et de même ampleur pour des traitements entre 5 et 30 min; le pourcentage de la diffusion transcutanée est limitée d'un facteur environ 3,5 (11,6% de diffusion).

Cette nanoémulsion de calix[6]arènes semble être un traitement prometteur pour la décontamination cutanée de composés diffusibles d'U.

Ciblage des tissus secondaires de dépôts après contamination au plutonium [3]

Administré par voie systémique, l'efficacité du DTPA est fortement diminuée par sa très courte demi-vie biologique et sa très faible internalisation cellulaire. Cette faible biodisponibilité du DTPA pourrait être améliorée en l'encapsulant dans des liposomes qui sont des vecteurs constitués de bicouches phospholipidiques. Deux formulations de liposomes d'environ 1,5 μm ont été synthétisées. La première, dite conventionnelle, pénètre rapidement les macrophages du système des phagocytes-mononucléés qui sont également des compartiments transitoires ou à plus long terme du Pu. La seconde, dite furtive, est capable d'augmenter significativement la rémanence vasculaire du DTPA.

Une fois injecté, le DTPA véhiculé par l'une ou l'autre forme liposomale s'accumule davantage dans l'os et le foie que le DTPA libre, avec un léger avantage pour l'os dans le cas des liposomes furtifs et un léger avantage pour le foie avec des liposomes conventionnels.

Ces liposomes de DTPA ont été testés sur un modèle de contamination systémique de rats par iv de Pu-citrate. Deux heures après contamination, les rats ont reçu ou non un traitement au DTPA sous sa forme libre à 4 $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ ou encapsulé dans des liposomes conventionnels à 6 $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ ou encapsulé dans des liposomes furtifs à 9,6 $\mu\text{mol.kg}^{-1}$. Les inhibitions obtenues à 16 jours post-contamination sont respectivement -25%, -68% et -46% pour les dépôts hépatiques, et -20%, -29% et -33% pour les dépôts osseux. Prenant en considération les posologies administrées, les deux formes liposomales encapsulant le DTPA restent plus efficaces que le DTPA libre pour limiter la rétention systémique en Pu. Les liposomes furtifs ne sont pas plus efficaces que les liposomes conventionnels qui ont pourtant une demi-vie plasmatique bien plus longue.

La vectorisation du DTPA par les liposomes mérite d'être encore étudiée car les propriétés physico-chimiques que l'on peut conférer aux liposomes sont nombreuses, laissant envisager des possibilités d'exploration plus poussée des compartiments de rétention ou de transfert des radionucléides. De plus, ces vecteurs ont l'avantage d'être biocompatibles en raison des matières qui les composent.

Synthèse de nouveaux chélateurs de l'uranium [4, 5, 6]

Dans l'optique de trouver des chélateurs toujours plus affins pour l'U, différentes supra-molécules ont été synthétisées en y intégrant des fonctions complexantes comme les sulfocatecholamides (CAMS), les hydroxypyridones (HOPO) ou les biphosphonates.

Par exemple, des chélateurs dipolaires composés de CAMS greffés sur différents squelettes diamnés à 5 carbones ont été créés. Le chélateur nommé CYCAMS s'est révélé le plus affin *in vitro* pour l'ion uranyle [4].

Un autre exemple est la synthèse de dérivés des acides polycarboxyliques EDTA et DTPA. Ceux associés à des amines n'ont pas montré *in vitro* d'efficacité accrue. Seul le dérivé EDTA-CAMS a présenté des propriétés de fixation intéressantes, semblables à celles du 5-LICAMS, un CAMS connu et présentant des capacités de décorporation *in vivo* [5]. Le dérivé DTPA-CAMS n'a pas pu encore être synthétisé.

Malheureusement, ces quelques chélateurs potentiellement efficaces pour décorporer l'U n'ont pas encore été testés chez l'animal contaminé.

Suite à un criblage sur leur affinité pour l'U, des chélateurs dipolaires et tripolaires avec des fonctions biphosphonates ont été retenus parmi une chimiothèque. Des rats ont été traités par certains de ces chélateurs à 30 $\mu\text{mol.kg}^{-1}$, 5 min après une contamination intraveineuse par du nitrate d'uranyle. Seul le chélateur nommé 3C rivaliserait d'efficacité avec les chélateurs déjà connus de l'U, l'HEDP (étidronate) et le 5-LICAM(S) [6].

Conclusion

Pour décorporer un radionucléide par un traitement chélatant, il est premièrement indispensable d'avoir un chélateur formant un complexe stable *in vivo* avec cet élément, et facilement excrétable. Le protocole thérapeutique d'administration du chélateur doit également être optimisé en prenant en considération différents paramètres comme le scénario de la contamination, les paramètres de dissolution du radiocontaminant ou bien encore la distribution tissulaire du radionucléide à l'instant du traitement. La formulation galénique du chélateur peut accroître l'efficacité du traitement en concentrant ce chélateur dans les compartiments de rétention et/ou de transfert du radionucléide, en l'y véhiculant. La voie d'administration, favorisée par une formulation galénique, est également importante pour encore augmenter la performance du traitement en ciblant le tissu primaire de contamination et/ou pour disposer d'une voie d'administration simple, indispensable dans le cas d'un traitement d'urgence et/ou de masse ou d'un protocole chronique au long cours.

Après l'obtention d'un trio efficace chélateur/galénique/voie d'administration, il faudra obtenir une autorisation de mise sur le marché. Actuellement, seul le DTPA injectable en a une, qui est détenue par la Pharmacie Centrale des Armées. Cette même institution a débuté les démarches et les tests réglementaires pour le Bleu de Prusse (ferrocyanure ferrique) qui est recommandé en cas de contamination par le césium [7].

L'arsenal thérapeutique doit grandement s'étoffer pour répondre à la contamination interne par les différents radionucléides d'intérêt. De plus, il serait très intéressant d'avoir plusieurs formulations pour différentes voies d'administration d'un même chélateur, afin de répondre de manière pertinente à différents scénarios de contamination ou de renforcer l'efficacité du traitement en les co-administrant. Les recherches en décorporation devraient donc se poursuivre au travers d'échanges et d'actions coordonnées entre chimistes, biologistes et pharmaciens galénistes.

D'autre part, les traitements non spécifiques (excision cutanée, lavages...) sont également importants à faire évoluer pour la décorporation de certaines formes physico-chimiques de radionucléides, comme les oxydes de Pu ou de Co qui ne peuvent pas être chélatés.

1. Grémy O, Tsapis N, Bruel S, Renault D, Van der Meeren A. Decorporation approach following rat lung contamination with a moderately soluble compound of plutonium using local and systemic Ca-DTPA combined chelation. *Radiat Res*, 2012. 178(3):217-23.
2. Spagnul A, Bouvier-Capely C, Phan G, Landon G, Tessier C, Suhard D et coll. Ex vivo decrease in uranium diffusion through intact and excoriated pig ear skin by a calixarene nanoemulsion. *Eur J Pharm Biopharm*, 2011.79(2):258-67.
3. Phan G, Ramounet-Le Gall B, Manceau J, Fanet M, Benech H, Fritsch P et coll. Targeting of diethylene triamine pentaacetic acid encapsulated in liposomes to rat liver: an effective strategy to prevent bone deposition and increase urine elimination of plutonium in rats. *Int J Radiat Biol*, 2004. 80(6):413-22.
4. Leydier A, Lecerclé D, Pellet-Rostaing S, Favre-Reguillon A, Taran F, Lemaire M. Sequestering agent for uranyl chelation: a new family of CAMS ligands. *Tetrahedron*, 2008. 64(28):6662-9.
5. Leydier A, Lin Y, Arrachart G, Turgis R, Lecerclé D, Favre-Reguillon A et coll. EDTA and DTPA modified ligands as sequestering agents for uranyl decorporation. *Tetrahedron*, 2012. 68(4):1163-70.
6. Sawicki M, Lecerclé D, Grillon G, Le Gall B, Sérandour AL, Poncy JL et coll. Bisphosphonate sequestering agents. Synthesis and preliminary evaluation for in vitro and in vivo uranium(VI) chelation. *Eur J Med Chem*, 2008. 43(12):2768-77.
7. Besse Bardot I, Bardot S, Ménétrier F, Leiterer A, Pech A. French contribution to develop Prussian blue. *Int J Radiat Biol*, 2014. 90(11):948-52.