

Modélisation système de la thérapie photodynamique

Thierry BASTOGNE¹, Loraine TIRAND², Muriel BARBERI-HEYOB², Alain RICHARD¹

¹Université Henri Poincaré, Nancy 1,
Centre de Recherche en Automatique de Nancy (CRAN), CNRS-INPL-UHP UMR 7039,
BP 239, F-54506 Vandœuvre-lès-Nancy Cedex, France

²Centre Alexis Vautrin, Centre de Lutte contre le Cancer
Centre de Recherche en Automatique de Nancy (CRAN), CNRS-INPL-UHP UMR 7039,
Brabois, Av. de Bourgogne, 54511 Vandœuvre-lès-Nancy Cedex, France

thierry.bastogne@cran.uhp-nancy.fr
<http://www.cran.uhp-nancy.fr>

Résumé—Cet article traite de la modélisation système de la thérapie photodynamique (PDT), un mode de traitement émergent des cancers. On y montre que la PDT est un système dynamique multivarié et que sa mise en oeuvre correspond à un problème de commande. Plus précisément, cet article présente le problème de la dosimétrie implicite, c'est-à-dire l'adaptation en temps réel de la dose de lumière d'excitation en fonction de la dose estimée d'oxygène singulet produite, comme un problème de commande par retour d'état. Cette nouvelle approche de la PDT ouvre des perspectives d'application en identification des systèmes dynamiques, synthèse d'observateur et calcul de correcteur dans un but précis : l'amélioration de l'efficacité thérapeutique de la PDT.

Mots-clés—Biologie intégrative, système dynamique, modélisation expérimentale, thérapie photodynamique, cancer.

I. INTRODUCTION

La thérapie photodynamique (PhotoDynamic Therapy, PDT) [1], [2], [3] est un traitement médical destiné en particulier à certains types de cancer. Cette thérapie utilise un agent photosensibilisant (PS) qui se concentre dans les tissus pathologiques. Cet agent est ensuite activé par une lumière de longueur d'onde précise produisant des molécules d'oxygène réactives comme l'oxygène singulet et une cascade de réactions visant à détruire les cellules cancéreuses.

Actuellement, un des problèmes majeurs de la PDT concerne la prédiction et la reproductibilité de son efficacité thérapeutique [4]. Cette dernière dépend essentiellement de la dose d'oxygène singulet produite au sein des cellules cancéreuses. Cette dose résulte de la conjugaison de trois facteurs : la dose d'agent photosensibilisant absorbée par les cellules, la concentration en oxygène du milieu et la dose de lumière reçue par les molécules photosensibilisantes intracellulaires. Un état de l'art sur la dosimétrie en PDT a été présentée en 1997 par Wilson *et al.* dans [5] et une évaluation des doses efficaces en PDT a été réalisée en 1999 par Streckyte *et al.* dans [6]. Plusieurs études ont montré la variabilité dans le temps et dans l'espace de la concentration en oxygène [7], [8], de la quantité de photosensibilisant incorporé au sein des cellules cancéreuses [9], [10] et de la dose de lumière délivrée à la zone de traitement [11], [5]. Dans [12], Georgakoudi et Forster suggèrent de prendre en compte également le caractère dynamique de ces facteurs, c'est-à-dire de leurs variations au cours du temps. Outre la variabilité,

l'interdépendance et le caractère dynamique des facteurs incidents, il faut aussi prendre en compte une évolution récente de la dosimétrie en PDT avec les approches dites *implicites*. Ces approches ne mesurent pas explicitement la concentration en oxygène singulet mais estiment sa valeur à partir de la mesure d'une quantité dépendante comme le taux de photoblanchiment du photosensibilisant [13], [4], le temps de luminescence de l'oxygène [14] ou le rapport fluorescence-phosphorescence [15]. Il reste cependant à analyser comment ces techniques dites de dosimétrie explicites et implicites peuvent améliorer l'efficacité de la PDT.

Il s'agit donc ici d'approcher la compréhension de fonctions biologiques complexes sous la forme de systèmes dynamiques, sujet au coeur de la biologie systémique [16], discipline émergente qui suscite un intérêt accru des automaticiens [17], [18], [19], [20]. Cette étude entre dans le cadre d'un projet interdisciplinaire entre biologistes spécialisés dans le développement de la PDT [10], [21], [22] et automaticiens spécialisés en modélisation expérimentale des systèmes dynamiques [23]. L'objectif de ce projet est de mieux comprendre les mécanismes inhérents à la PDT à l'aide d'une modélisation orientée système dynamique. Les principales équipes travaillant sur la modélisation de la PDT sont nord-américaines, citons en particulier les travaux de Foster *et al.* [24], [8], [13], [25] (University of Rochester, NY, USA), de Patterson *et al.* [4], [26] (MacMaster University, Ontario, Canada) et de Wilson *et al.* [5], [14] (University of Toronto, Canada). Tous ont examiné la modélisation de la PDT et le problème de la dosimétrie inverse sous l'angle de la Bio-Physique. L'approche *système* proposée dans cet article est complémentaire, sa finalité est de caractériser la nature mathématique du problème PDT et de décrire le problème de la dosimétrie dite *implicite* comme un problème de commande en automatique.

II. MODÉLISATION DE LA PDT

A. Hypothèses de modélisation

Les équations présentées dans cet article décrivent plusieurs comportements dynamiques à l'échelle d'une seule cellule. Toutefois, la modélisation de la PDT implique d'étudier le com-

portement d'une population de cellules cancéreuses issue d'une culture dans le cas d'une étude *in vitro* ou d'une tumeur dans le cas d'une application *in vivo*. La variabilité des caractéristiques d'une cellule à une autre peut être appréhendée en considérant les paramètres des modèles comme des variables aléatoires. La plupart des variables utilisées dans cette étude correspondent donc à des moyennes sur l'ensemble de la population cellulaire. De plus, certains phénomènes biologiques, comme l'agglomération des molécules du photosensibilisant ou le processus de désexcitation de l'oxygène par phénomène de *quenching* ne seront pas considérés pour simplifier le travail de modélisation de la thérapie. Les erreurs induites par ces simplifications sont représentées par des variables d'erreur ajoutées en sortie du modèle.

La thérapie photodynamique peut être décomposée en trois phases principales : la phase d'incorporation du photosensibilisant, la phase d'irradiation et la phase cytotoxique conduisant à la mort de la cellule. Les principales variables utilisées dans cette étude, en dehors des notations standards des éléments chimiques, sont répertoriées dans le tableau I.

TABLE I
PRINCIPALES NOTATIONS MATHÉMATIQUES

Symb.	Description	Unité
$[x]$	concentration de l'espèce x	$mol \cdot l^{-1}$
D_x	dose de $x = \int_{t=0}^T [x](t) \cdot dt$	$mol \cdot l^{-1} \cdot s$
Q_x	quantité de x	mol
t	temps	s
P	molécule du photosensibilisant intracellulaire	
1P	PS intraC. à l'état singulet repos	
${}^1P^*$	PS intraC. à l'état singulet excité	
${}^3P^*$	PS intraC. à l'état triplet excité	
M	substrat organique intracellulaire	
z_P	colocalisation du photosensibilisant	
Se	sérum du milieu	
I_λ	irradiance	$W \cdot m^{-2}$
λ	longueur d'onde	m
S	taux de survie des cellules cancéreuses	%
A	accumulation des dommages intracellulaires	

B. Phase d'incorporation

La phase d'incorporation intracellulaire du PS commence dès son injection dans le milieu. Le milieu désigne soit une culture soit un tissu selon le contexte *in vitro/in vivo* de l'étude. Les molécules du PS vont ensuite peu à peu s'accumuler préférentiellement dans les tissus tumoraux plutôt que dans les tissus sains adjacents. Il n'existe pas de modèle biologique décrivant clairement la dynamique d'incorporation du photosensibilisant dans le milieu. En conséquence, nous représenterons cette phase par un modèle comportemental dont les variables de sortie sont la concentration ($[{}^1P]$) en photosensibilisant dans les cellules cancéreuses et la colocalisation (z_P) des molécules du photosensibilisant par rapport à la position intracellulaire de quatre organites cibles : les mitochondries, le reticulum endoplasmique, les lysosomes et l'appareil de Golgi. En culture cellulaire, $[{}^1P]$ est mesuré par spectro-fluorimétrie et $z_P = (z_{P/MT} \ z_{P/ER} \ z_{P/GA} \ z_{P/LY}) \in \mathbb{R}^4$ est généralement déterminé à partir du coefficient de corrélation linéaire empirique de Pearson, défini à l'équation (1), calculé à partir de deux images de microscopie confocale.

$$r_{I_1, I_2} = \frac{C_{I_1, I_2}}{\sigma_{I_1} \cdot \sigma_{I_2}}, \quad (1)$$

avec les estimées de la covariance, de la variance et de la moyenne données par :

$$C_{I_1, I_2} = \frac{1}{\alpha} \sum_{x=1}^M \sum_{y=1}^N (I_1(x, y) - \bar{I}_1)(I_2(x, y) - \bar{I}_2)$$

$$\sigma_I^2 = \frac{1}{\alpha} \sum_{x=1}^M \sum_{y=1}^N (I(x, y) - \bar{I})^2$$

$$\bar{I} = \frac{1}{\alpha} \sum_{x=1}^M \sum_{y=1}^N I(x, y).$$

et $\alpha = (M + 1)(N + 1)$. I_1 et I_2 désignent deux images monochromes de dimension $M \times N$. La valeur $I(x, y)$ correspond à l'intensité du pixel (x, y) . On suppose que le photosensibilisant n'est pas réactif tant qu'il n'est pas éclairé. Dans ce cas, comme l'indique l'équation de conservation (2), le photosensibilisant se répartit en trois quantités variables Q_{P_i} , Q_{P_x} et Q_{P_p} . Les deux premières correspondent aux photosensibilisants intra- et extracellulaires et la dernière désigne la quantité de photoproduits du photosensibilisant (photosensibilisant modifié après photoréaction et qui perd ses propriétés de réaction à la lumière).

$$Q_{P_a}(t) = Q_{P_i}(t) + Q_{P_x}(t) + Q_{P_p}(t) \quad (2)$$

$$Q_{P_i}(t) = V_{cell} \cdot [{}^1P], \quad (3)$$

où V_{cell} est le volume intracellulaire cumulé calculé sur l'ensemble des cellules cancéreuses et Q_{P_a} correspond à la quantité de photosensibilisant administrée à la zone à traiter et constitue la variable d'entrée du système. On supposera que $Q_{P_i}(0) = 0$ et que $Q_{P_p}(t) = 0$ tant que $t < t_i$ où t_i représente l'instant de début de la phase d'irradiation. Selon le photosensibilisant utilisé, la phase d'incorporation peut durer plusieurs heures, généralement entre 3h et 24h avant de passer à la phase d'irradiation [27]. Dans [28], la cinétique d'incorporation *in vitro* d'un photosensibilisant (Chlorine e6) dans des cellules de lignée HT29-A4 (une lignée de cellules cancéreuses du colombe chez l'homme) est approchée significativement par une équation différentielle du premier ordre définie comme suit :

$$\tau_{inc} \frac{dQ_{P_i}}{dt} + Q_{P_i}(t) = \eta_{inc} \cdot Q_{P_a}(t). \quad (4)$$

τ_{inc} et η_{inc} correspondent respectivement à la constante de temps et au gain statique d'incorporation (rendement de la phase d'incorporation avec $\eta_{inc} < 1$). Ces paramètres sont eux-mêmes dépendants des paramètres biologiques et chimiques du milieu comme le type et le taux de protéines et de la nature du photosensibilisant. Pour généraliser ce résultat à l'ensemble des photosensibilisants et des lignées de cellules cancéreuses, la dynamique d'incorporation peut être approchée par une fonction de transfert $G_{inc}(p, \theta)$ définie par :

$$Q_{P_i}(t) = G_{inc}(p, \theta) \cdot Q_{P_a}(t) \quad (5)$$

où p désigne l'opérateur différentiation et θ le vecteur des paramètres à estimer à partir de méthodes d'identification des systèmes [29]. Plus précisément, il s'agit là d'un problème d'identification de système représenté par un modèle à temps continu à partir de données irrégulièrement échantillonnées. Les principales difficultés liées à l'identification de $G_{inc}(p, \theta)$ sont : (1) peu d'échantillons de mesure à disposition (généralement

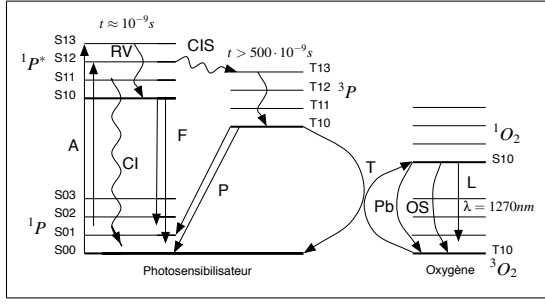
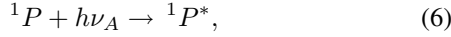


Fig. 1. Diagramme de Jablonski

$< 10\text{pts}$), (2) un faible rapport signal/bruit et (3) l'utilisation de signaux faiblement excitant (généralement un échelon). La dynamique de localisation associée à z_P n'est pas traitée dans cette étude car nous supposons que seule sa valeur en régime permanent influence l'efficacité du traitement.

C. Phase d'irradiation

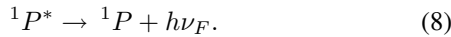
Trois types de sources de lumières sont utilisées en PDT : lasers, LEDs (Light Emitting Diodes) et lampes à longueur d'onde filtrée. Les réactions photochimiques induites par l'irradiation de la tumeur après incorporation du photosensibilisateur sont généralement décrites sur un plan énergétique par un diagramme de Jablonski représenté à la figure 1. L'absorption (A) d'un photon, émis à une longueur d'onde appropriée ($\lambda_A \in \Lambda_A$, par une molécule 1P du photosensibilisateur est décrite ainsi :



où $\nu_A = C/\lambda_A$ correspond à la fréquence de l'onde incidente et Λ_A désigne la largeur de bande d'excitation. L'état $^1P^*$ est à courte durée de vie et il existe plusieurs possibilités de retour à un état basal. Le plus souvent, ce surplus d'énergie est converti en énergie cinétique (vibrations moléculaires) communiquée aux molécules environnantes. Cette conversion interne (CI) est décrite par l'équation suivante :



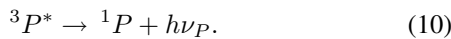
Une autre possibilité, la fluorescence (F), comporte l'émission d'un photon capable d'induire une différence énergétique correspondant à la transition entre une charge électrique élevée et faible :



La production de chaleur (relaxation non radiante) et la fluorescence sont des processus très rapides (de l'ordre de la nanoseconde). La molécule du photosensibilisateur peut aussi passer à un état d'énergie triplet ($^3P^*$) via une conversion intersystème (CIS) décrite par l'équation suivante :

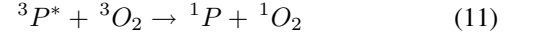


Le sensibilisateur à l'état triplet peut alors se désactiver par phosphorescence (P) :

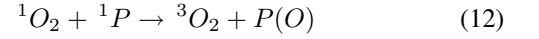


L'état triplet a un niveau d'énergie plus bas que celui de l'état singulet excité mais sa durée de vie est plus longue (typiquement $> 500\text{ns}$ pour la plupart des photosensibilisants). Cette

caractéristique augmente la probabilité de transfert d'énergie (T) vers d'autres molécules comme l'oxygène. Ce transfert s'effectue selon deux mécanismes distincts. Les réactions de type I sont caractérisées par un arrachement d'électron ou d'atome d'hydrogène au substrat [2], [27]. En PDT, ces réactions sont minoritaires par rapport aux réactions de type II ; elles ne seront donc pas prises en compte dans la suite de cette modélisation. Ces dernières correspondent à l'interaction directe de l'état excité triplet du photosensibilisateur avec une molécule d'oxygène, qui contrairement à l'habitude est au repos à l'état triplet. Cette interaction provoque le retour à l'état singulet du photosensibilisateur et la formation de l'oxygène singulet comme indiqué par l'équation suivante :



Les molécules d'oxygène singulet réagissent avec les molécules de leur environnement proche. Elles peuvent ainsi réagir et dégrader les molécules du photosensibilisateur, phénomène connu sous le nom de photoblanchiment (PB). Ce phénomène est à l'origine de la baisse en concentration du sensibilisateur au cours du temps. Le phénomène de photoblanchiment est généralement décrit comme suit :



où $P(O)$ désigne un photoproduit du sensibilisateur.

Le comportement cinétique ou dynamique des réactions (6), (7), (8), (9) et (10) est généralement défini par des équations différentielles linéaire du premier ordre établies en partant des vitesses de réactions définies en cinétique chimique. En revanche, les réactions de photoblanchiment et de transfert d'énergie de type II sont représentées par des équations différentielles quadratiques. En regroupant ces équations différentielles, on obtient une représentation d'état non linéaire d'ordre sept définie comme suit :

$$\begin{aligned} \frac{d[^1P]}{dt} &= +k_P \cdot [^3P^*] + k_T \cdot [^3P^*] \cdot [^3O_2] - V_a(t) + U_P(t) \\ &\quad + (k_F + k_{CI}) \cdot [^1P^*] - k_{Pb} \cdot [^1P] \cdot [^1O_2] \\ \frac{d[^1P^*]}{dt} &= V_a(t) - (k_F + k_{CI} + k_{CIS}) \cdot [^1P^*] \\ \frac{d[^3P^*]}{dt} &= -k_P \cdot [^3P^*] - k_T \cdot [^3P^*] \cdot [^3O_2] + k_{CIS} \cdot [^1P^*] \\ \frac{d[^3O_2]}{dt} &= +k_{Pb} \cdot [^1O_2] \cdot [^1P] + k_{OS} \cdot [^1O_2] \cdot [S] \\ &\quad + k_L \cdot [^1O_2] - k_T \cdot [^3O_2] \cdot [^3P^*] + U_{O_2}(t) \\ \frac{d[^1O_2]}{dt} &= -k_L \cdot [^1O_2] - k_{Pb} \cdot [^1O_2] \cdot [^1P] \\ &\quad - k_{OS} \cdot [^1O_2] \cdot [M] + k_T \cdot [^3O_2] \cdot [^3P^*] \\ \frac{d[M]}{dt} &= -k_{OS} \cdot [^1O_2] \cdot [M] \\ \frac{d(D^1O_2)}{dt} &= 1/\tau_\Delta \cdot [^1O_2] \end{aligned} \quad (13)$$

V_a est la vitesse d'absorption des photons, explicitement définie dans [24], [30], [26]. U_P désigne la vitesse d'incorporation de nouvelles molécules du PS dans les cellules cancéreuses. U_P et V_a correspondent aux deux variables d'entrée de la phase d'irradiation. U_{O_2} est la vitesse d'incorporation des molécules d'oxygène dans les cellules, plus difficilement manipulable que

U_P et V_a , cette variable peut être considérée soit comme une entrée soit comme une perturbation. L'avant-dernière équation de ce système correspond à la réaction d'oxydation de la phase cytotoxique décrite à la partie suivante. La dernière équation est la définition de la dose en oxygène singulet [26] où τ_D désigne le temps de vie moyen de l'oxygène singulet. Les systèmes d'équations utilisés dans [14], [15], [31] sont des modèles réduits de cette représentation d'état. Aucune des variables d'état, en particulier la concentration en oxygène singulet $[^1P]$, n'est directement mesurable. Toutefois, il est possible de mesurer par spectro-fluorimétrie l'intensité de fluorescence $I_{F,\lambda_E}(\lambda_F)$ définie par :

$$I_F(\lambda_F) = k \cdot F_\lambda(\lambda_F) I_0(\lambda_E) (1 - e^{-2,3\varepsilon(\lambda_E)l[^1P]}). \quad (14)$$

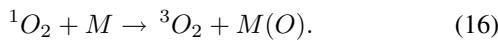
où λ_E et λ_F désignent les longueurs d'onde d'excitation et de fluorescence. $F_\lambda(\lambda_F)$ est le spectre de fluorescence du PS et $I_0(\lambda_E)$ est l'intensité lumineuse du faisceau incident. $\varepsilon(\lambda_E)$ désigne le coefficient d'absorption molaire et l l'épaisseur du milieu absorbant. Pour des solutions très diluées, un développement limité de cette équation à l'ordre 1 donne :

$$I_F(\lambda_F) = 2,3 \cdot k \cdot F_\lambda(\lambda_F) \cdot I_0(\lambda_E) \cdot \varepsilon(\lambda_E) \cdot l \cdot [^1P] \quad (15)$$

Cette relation montre la proportionnalité entre l'intensité de fluorescence et la concentration $[^1P]$ (suffisamment faible) du PS. $I_{F,\lambda_E}(\lambda_F)$ est considérée comme variable de sortie de la phase d'irradiation et l'équation 15 devient une équation de sortie venant compléter la représentation d'état définie précédemment. Sous l'hypothèse d'observabilité de la variable d'état D_{1O_2} , on peut alors concevoir d'estimer cette dose d'oxygène singulet à partir d'un observateur d'état en supposant également que les variables d'entrées, U_P et V_a , soient totalement connues. En pratique, il peut y avoir une différence significative entre la dose de lumière envoyée et celle reçue effectivement par la zone à traiter. En somme, l'estimation de D_{1O_2} , information indispensable à la mise en pratique de la dosimétrie implicite en PDT, se présente comme un problème de synthèse d'un observateur d'état en automatique.

D. Phase cytotoxique

La formation d'oxygène singulet, *via* des réactions d'oxydation, cause des dommages intracellulaires à l'origine de la mort cellulaire par nécrose ou apoptose. Une de ces réactions d'oxydation est décrite par l'équation suivante :



$M(O)$ désigne un substrat organique oxydé. La dégradation de certains organites intracellulaires par les molécules d'oxygène singulet, ou d'autres espèces toxiques, peut être vue comme la génération de signaux d'entrée d'une vaste cascade de transduction pouvant aboutir à la mort de la cellule. Toutefois, les réseaux de signalisation associés à la nécrose ou l'apoptose de la cellule sont très complexes du fait d'un nombre élevé de protéines impliquées et de la complexité de ces interactions. Pour cette raison, une modélisation fine du comportement dynamique de la phase cytotoxique reste jusqu'à présent un problème trop complexe à résoudre. Une autre façon, beaucoup plus abstraite, de modéliser cette phase est proposée dans [3]. Elle considère qu'une fraction f de l'oxygène singulet produit réussit à provoquer des dommages sur des organites critiques, dommages suffisamment importants pour conduire à la mort de la cellule. La

fraction restante, $(1 - f)$, attaque des sites ou structures relativement inertes ou non critiques. En conséquence, on peut supposer que l'accumulation A des dommages intracellulaires critiques est proportionnelle à la concentration en oxygène singulet, d'où :

$$A = f \cdot [^1O_2]. \quad (17)$$

Nous proposons d'étendre cette modélisation en tenant compte de la dynamique associée à cette phase. En effet, ce processus de mort cellulaire peut prendre plusieurs heures, entre 3h et 96h. L'accumulation moyenne des dommages est ici approchée par un processus dynamique du premier ordre, décrit par l'équation (18), dont la variable d'entrée est la dose intracellulaire en oxygène singulet.

$$\tau_S(z_P) \frac{dA}{dt} + A = \eta_S(z_P) \cdot [^1O_2]. \quad (18)$$

Le gain statique η_S est lié au rendement de la phase cytotoxique et τ_S correspond à la constante de temps de cette même phase. Ces deux paramètres dépendent essentiellement de la colocalisation intracellulaire moyenne z_P du photosensibilisant. Toutefois, on peut envisager un modèle linéaire d'ordre plus élevé pour décrire cette dynamique. La relation entre l'accumulation des dommages A et la mort des cellules peut être approchée par un modèle statique non-linéaire. Dans [3], un modèle discontinu de type relais tout-ou-rien est utilisé :

$$\text{si } A > A_{th} \Rightarrow \text{la cellule meurt}, \quad (19)$$

où le paramètre A_{th} désigne le seuil létal de la cellule. Ce seuil dépend de la lignée de cancer. Jusqu'à présent aucune étude expérimentale n'a permis de corroborer ce choix de modèle. En conséquence, il s'agit ici d'un problème d'identification de système dynamique non linéaire pouvant être approché par une structure de modèle de type Wiener.

E. Schéma bloc de la PDT

L'ensemble des équations précédentes sont regroupées au sein d'un schéma-bloc présenté à la figure 2. Ce schéma représente la structure de modèle *in vitro* : $\mathcal{M}_{P/CCL-Se}$ de la réponse PDT d'un photosensibilisant P sur une lignée de cellules cancéreuses CCL dans un milieu de culture Se . Il est composé de trois blocs principaux associés respectivement aux trois phases décrites précédemment. La PDT y est perçue comme un système dynamique doté de neuf variables d'état, une variable de sortie principale S et trois variables d'entrée : la dose de photosensibilisant administré $[P]_a$, le taux d'oxygénation $[^3O_2]$ du milieu de culture et la dose de lumière définie par le signal d'irradiance (I_{λ_A}) . Les équations liées aux systèmes de mesure, *e.g.* la mesure d'intensité de fluorescence du PS, n'ont pas été intégrées dans ce schéma. Les autres variables comme le taux acide/base, la température et le taux de protéines du milieu sont considérées comme des variables de perturbation.

III. APPROCHES DE MISE EN OEUVRE DE LA PDT

Les dommages photobiologiques générés par la PDT sont essentiellement le résultat de la génération d'oxygène singulet. La maîtrise du taux de survie S des cellules cancéreuses passe donc par un contrôle précis de la dose d'oxygène singulet D_{1O_2} produite pendant la PDT. Cette dose est définie par la dernière équation de la représentation d'état décrite à l'équation 13.

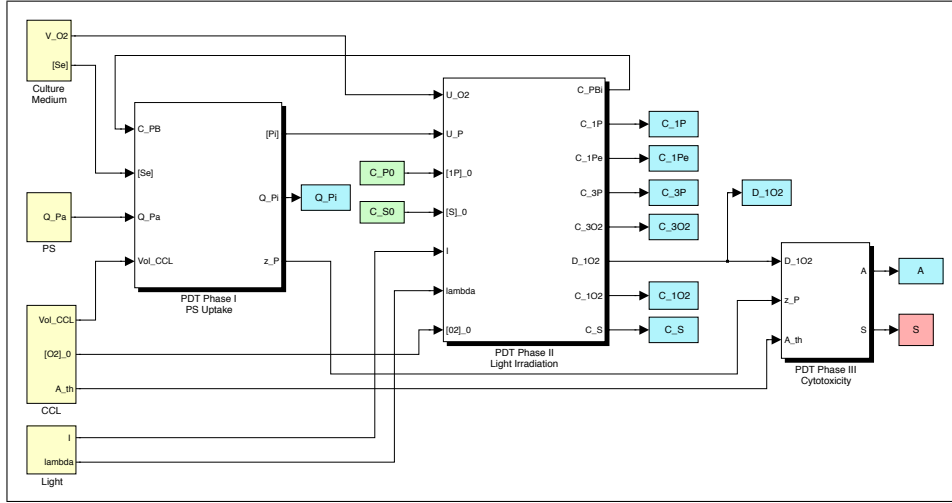


Fig. 2. Schéma-bloc de la PDT *in vitro*

A. PDT traditionnelle ou PDT clinique

En application clinique, la dose d'oxygène singulet produite est estimée à l'aide d'une formule de *dose photodynamique* : \widehat{D}_{1O_2} définie dans [32], [33], [3] par :

$$\widehat{D}_{1O_2} = k([\text{}^3\text{O}_2]) \cdot [P_i] \cdot D_L, \quad (20)$$

où k est un macroparamètre regroupant plusieurs paramètres physico-chimiques comme le coefficient de réflexion du tissu ou du milieu, le coefficient d'extinction, le rendement quantique, la longueur d'onde et plusieurs coefficients de rendements. Certains paramètres dépendent directement du taux d'oxygénation $[\text{}^3\text{O}_2]$ du milieu. $[P_i]$ correspond à la concentration du photosensibilisant incorporé dans les cellules cancéreuses et D_L est la densité d'énergie lumineuse ($J \cdot \text{cm}^{-2}$) reçue par la zone à traiter. La dose de photosensibilisant incorporée dans la tumeur peut être déterminée *in vivo* par des mesures d'absorption ou de fluorescence. En conséquence l'application de la PDT se réduit au choix de la dose de lumière à administrer, c'est-à-dire au choix de D_L . En pratique, l'irradiance (I_{λ_A}) correspond généralement à un signal rectangulaire d'amplitude I_0 et de largeur T_l correspondant à la durée d'irradiation. La dose de lumière est donc définie par $D_L = I_0 \cdot T_l$. A partir de la dose photodynamique prescrite (\widehat{D}_{1O_2}) et de la formule 20, le médecin choisit un niveau d'irradiance I_0 et en déduit la valeur de T_l . Par expérience, I_0 est plutôt choisi dans une gamme de valeur basse pour éviter une surconsommation de l'oxygène. Pour contrôler correctement la dose en oxygène singulet, il est nécessaire de connaître explicitement les valeurs de la concentration intracellulaire en photosensibilisant, en oxygène et la quantité de lumière reçue par la zone d'intérêt ; on parle donc souvent de cette approche en terme de *dosimétrie explicite*. Comme l'illustre la figure 3, cette approche s'apparente à une stratégie de commande en boucle ouverte en automatique. Malheureusement, cette stratégie de dosimétrie ne tient pas compte des variations dans le temps et dans l'espace des concentrations en oxygène et en photosensibilisant au sein de la tumeur pendant la durée du traitement. Elle ne tient pas compte non plus de la variation de certains paramètres comme le coefficient de réflexion. En outre, certaines variables de perturbation comme le seuil létal d'accumulation des dégâts intracellulaires peuvent facilement varier selon le patient et le type de cancer. Il n'est donc pas étonnant d'observer une grande

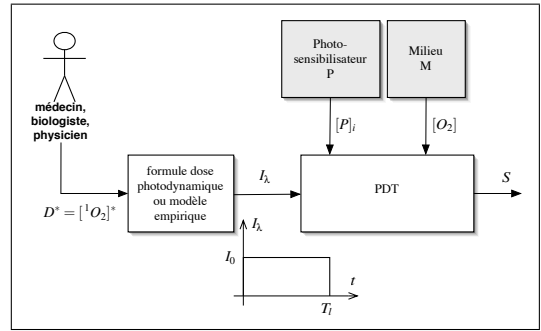


Fig. 3. Commande en boucle ouverte de la PDT clinique

variabilité des réponses au traitement selon les patients [4] car la sortie d'un schéma de commande en boucle ouverte est plus sensible aux variations des perturbations que celle d'un schéma en boucle fermée. Malheureusement, il n'est pas possible de procéder à une rétroaction provenant directement du taux de survie S car c'est un processus dynamique lent, pouvant durer jusqu'à 24h et plus. Or, il est impossible de maintenir un patient sous irradiation pendant une telle durée.

B. PDT avec dosimétrie implicite

La dosimétrie implicite est une évolution récente en PDT. Son principe consiste à estimer la dose d'oxygène singulet produite par la PDT soit en mesurant le taux de luminescence de l'oxygène singulet [34] soit en mesurant le taux de photoblanchiment du sensibilisateur par mesure de fluorescence [4], [26]. Comme décrit précédemment, cette approche correspond au développement d'un observateur de la dose d'oxygène singulet. Cette variable d'état estimée peut alors être utilisée dans le cadre d'une commande par retour d'état comme le montre le schéma de la figure 4 pour corriger en ligne le signal d'irradiance. Ce dernier peut être un signal d'irradiation d'intensité constante modulé en largeur d'impulsion comme proposé récemment dans [31].

Cette réflexion ouvre de nouvelles perspectives dont certaines sont liées à l'automatique comme la conception d'un régulateur en oxygène singulet pour rejeter au mieux les effets des perturbations et ainsi améliorer la reproductibilité des issues thérapeutiques de la PDT.

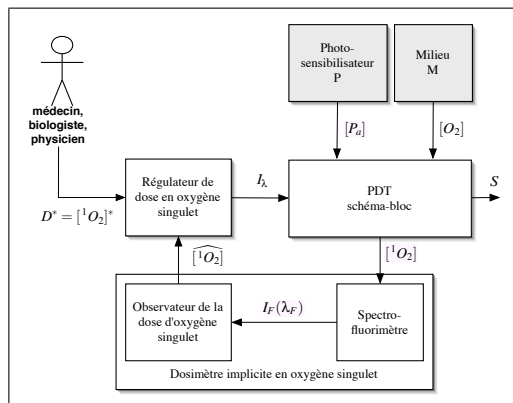


Fig. 4. Commande par retour d'état de la dosimétrie implicite en PDT

IV. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Jusqu'à présent, la mise en oeuvre de la PDT a toujours été définie comme un problème de dosimétrie explicite ou implicite par les biologistes et les bio-physiciens. Dans cette étude, nous proposons une nouvelle façon d'aborder le problème de la dosimétrie en PDT. Ce travail repose sur une modélisation de la PDT *in vitro* en tant que système dynamique. Nous montrons en particulier que la dosimétrie implicite est un problème de commande par retour d'état. Cette approche originale de la PDT est tout à fait complémentaire de celle des biologistes et physiciens. Elle ouvre de nouvelles perspectives de contribution de l'automatique pour l'amélioration de l'efficacité thérapeutique de la PDT. Parmi ces principales contributions, qu'il reste à évaluer *in vitro* dans un premier temps, citons l'identification de modèles dynamiques linéaires et non linéaires des phases d'incorporation et de cytotoxicité, la synthèse d'un observateur non linéaire de la dose en oxygène singulet et le développement d'un correcteur de la dose en oxygène singulet agissant en temps réel sur la dose de lumière d'excitation.

RÉFÉRENCES

- [1] J. G. Moser. *Photodynamic Tumor Therapy : 2nd and 3rd Generation*. Gordon & Breach Science Publishers, 1998.
- [2] R. Bonnett. *Chemical Aspects of Photodynamic Therapy*. Gordon and Breach Science Publishers, 2000.
- [3] F. W. Hetzel, S. M. Brahmavar, Q. Chen, S. L. Jacques, M. S. Patterson, B. C. Wilson, et T. C. Zhu. Photodynamic therapy dosimetry. AAPM report No.88. American Association of Physicists in Medicine by Medical Physics Publishing, July 2005.
- [4] J. S. Dysart, G. Singh, et M. Patterson. Calculation of singlet oxygen dose from photosensitizer fluorescence and photobleaching during mTHPC photodynamic therapy of MLL cells. *Photochem. Photobiol.*, (81) :196–205, 2005.
- [5] B. C. Wilson, M. S. Patterson, et L. Lilje. Implicit and explicit dosimetry in photodynamic therapy : a new paradigm. *Lasers Med. Sci.*, (12) :182–199, 1997.
- [6] G. Streckyte, D. Frolov, S. Bagdonas, P. Juzenas, et R. Rotomskis. Can photodynamic dose be predicted on sensitizer's photophysical parameters? *Second Internet Conference on Photochemistry and Photobiology*, July 16-Sept 7 1999.
- [7] B. J. Tromberg, A. Orenstein, S. Kimel, S. J. Barker, J. Hyatt, J. S. Nelson, et M. W. Berns. *In vivo* oxygen tension measurements for the evaluation of the efficiency of photodynamic therapy. *Photochem. Photobiol.*, 52 :375–385, 1990.
- [8] M. G. Nichols et T. H. Foster. Oxygen diffusion and reaction kinetics in photodynamic therapy of multicell tumor spheroids. *Phys. Med. Biol.*, 39(2161-2181), 1994.
- [9] T. S. Mang, T. J. Dougherty, W. R. Potter, D. O. Boyle, S. Somer, et J. Moan. Photobleaching of porphyrins used in photodynamic therapy and implications for therapy. *Photochemistry and Photobiology*, (45) :501–506, 1987.

- [10] L. Bezdetnaya, N. Zeghari, I. Belitchenko, M. Barberi-Heyob, J.-L. Merlin, A. Potapenko, et F. Guillemain. Spectroscopic and biological testing of photobleaching of porphyrins in solutions. *Photochem. Photobiol.*, 64 :382–386, 1996.
- [11] B. C. Wilson, M. S. Patterson, et D. M. Burns. Effect of photosensitizer concentration in tissue on the penetration depth of photoactivating light. *Laser Med. Sci.*, 1 :235–244, 1986.
- [12] I. Georgakoudi et T. H. Foster. Singlet oxygen- versus nonsinglet oxygen-mediated mechanisms of sensitizer photobleaching and their effects on photodynamic dosimetry. *Photochem. photobiol.*, 67(6) :612–625, 1998.
- [13] I. Georgakoudi, M. G. Nichols, et T. H. Foster. The mechanism of photofrin[®] photobleaching and its consequences for photodynamic dosimetry. *Photochem. Photobiol.*, 65(1) :135–144, 1997.
- [14] M. Niedre, M. S. Patterson, et B. C. Wilson. Direct near-infrared luminescence detection of singlet oxygen generated by photodynamic therapy in cells *in vitro* and tissues *in vivo*. *Photochemistry and Photobiology*, 75(4) :382–391, 2002.
- [15] H. J. C. M. Sterenborg, J. W. de Wolf, M. Koning, B. Kruijt, A. van den Heuvel, et D. J. Robinson. Phosopresence-fluorescence ration imaging for monitoring the oxygen status during photodynamic therapy. *Optics Express*, 12(9) :1873–1878, May 2004.
- [16] H. Kitano. *Foundations of Systems Biology*. MIT Press, Cambridge, Massachusetts, 2001.
- [17] D. A. Lauffenburger. Cell signaling pathways as control modules : Complexity for simplicity? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, (97) :5031–5033, 2000.
- [18] E. D. Sontag. Some new directions in control theory inspired by systems biology. *Systems Biology*, 1(1) :9–18, June 2004.
- [19] E. O. Voit, S. Marino, et R. Lall. Challenges for the identification of biological systems from *in vivo* time series data. *In silico Biology*, (5), 2004.
- [20] O. Wolkenhauer, M. Ullah, P. Wellstead, et K.-H. Cho. The dynamic systems approach to control and regulation of intracellular networks. *FEBS Letters*, (579) :1846–1853, 2005.
- [21] F. Guillemain, I. Cosserat-Gérardin, D. Notter, et C. Vigneron. Diagnostic et traitement des tumeurs de vessie par thérapie photodynamique. *Pathologie et biologie*, 49 :815–823, 2001.
- [22] M. Barberi-Heyob, P.-O. Védrine, J.-L. Merlin, R. Millon, J. Abecassis, M.-F. Poupon, et F. Guillemain. Wild-type p53 gene transfer into mutated p53 HT29 cells improves sensitivity to photodynamic therapy via induction of apoptosis. *Int. J. Oncol.*, (24) :951–958, 2004.
- [23] T. Bastogne. Behavioral descriptions of the object-oriented paradigm for physical system modeling. *World IFAC'05 congress*, Pragues, July 2005. Invited session 'Modeling and Interconnection of Open Dynamical Systems' organized by J.C. Willems.
- [24] T. Foster, R. S. Murant, R. G. Bryant, R. S. Knox, S. L. Gibson, et R. Hilf. Oxygen consumption and diffusion effects in photodynamic therapy. *Radiation Research*, 126 :296–303, 1991.
- [25] J. C. Finlay, S. Mitra, M. S. Patterson, et T. H. Foster. Photobleaching kinetics of photofrin *in vivo* and in multicell tumour spheroids indicate two simultaneous bleaching mechanisms. *Physics in Medicine and Biology*, 49 :4837–4860, 2004.
- [26] J. S. Dysart et M. S. Patterson. Characterization of photofrin photobleaching for singlet oxygen dose estimation during photodynamic therapy of mill cells *in vitro*. *Physics in Medicine and Biology*, 50 :2597–2616, 2005.
- [27] I. J. Macdonald et T. Dougherty. Basic principles of photodynamic therapy. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, (5) :105–129, 2001.
- [28] T. Bastogne, L. Tirand, M. Barberi-Heyob, et A. Richard. System identification of photosensitizer uptake kinetics in photodynamic therapy. *Internal Report, CRAN CNRS-INPL-UHP UMR 7039*, 2006.
- [29] E. Walter et L. Pronzato. *Identification of Parametric Models from experimental data*. Springer, Masson, 1997.
- [30] J. P. Henning, R. L. Fournier, et J. A. Hampton. A transient mathematical model of oxygen depletion during photodynamic therapy. *Radiation Research*, 142 :221–226, 1995.
- [31] S. Lee, L. Zhu, A. Minhaj, M. F. Hinds, A. A. Ferrante, D. H. Vu, D. Rosen, et S. J. Davis. Diode laser monitor for singlet molecular oxygen. *SPIE Photonics West*, San Jose, CA, 22 January - 7 February 2005 2005.
- [32] M.S. Patterson, B.C. Wilson, et R. Graff. *In vivo* tests of the concept of photodynamic threshold dose in normal rat liver photosensitized by aluminum chlorosulphonated phthalocyanine. *Photochem. Photobiol.*, 51 :343–349, 1990.
- [33] H. Stepp. Principles of clinical photodynamic therapy. *Acta Endoscopica*, 33(4), 2003.
- [34] M.J. Niedre, C.S. Yu, M.S. Patterson, et B.C. Wilson. Singlet oxygen luminescence as an *in vivo* photodynamic therapy dose metric : validation in normal mouse skin with topical amino-levulinic acid. *British Journal of Cancer*, 92 :298 – 304, 2005.