

## La chimiothérapie anti-cancéreuse sans alopecie : une piste sérieuse

L'alopecie transitoire est un effet secondaire classique des nombreuses chimiothérapies anti-néoplasiques qui agissent sur le cycle cellulaire et sur la prolifération des cellules tumorales [1]. Elle est bien connue au point de constituer dans le public la marque du cancer, ce qui aggrave son retentissement psychologique. Elle est en général soudaine et sévère, atteignant la quasi-totalité des cheveux. L'impact de la perte de la chevelure sur la qualité de vie des patients est très important, en particulier chez l'enfant et la femme. Durant la phase de croissance des cheveux, appelée phase anagène, la prolifération des cellules de la matrice des cheveux est importante (figure 1). Chez l'homme, 80 à 90 % des 100 000 ou 150 000 cheveux sont en phase anagène à un instant donné. La durée de cette phase de croissance varie de 1 à 6 ans [2, 3]. Comme toutes les cellules qui prolifèrent activement, les cellules de la matrice pileuse en phase anagène sont particulièrement sensibles à l'effet cytotoxique des chimiothérapies anti-mitotiques. Celles-ci bloquent la multiplication de ces cellules dans les follicules anagènes ce qui induit un amincissement et une fragilisation de la tige pileuse. Les constrictions du cheveu migrent avec sa croissance en dehors du follicule pileux, ce qui entraîne leur chute à la suite de cassures de leurs tiges, spontanées ou induites par des microtraumatismes. Les cellules souches des follicules pileux [4] ne sont pas affectées de manière irréversible comme le démontre la repousse des cheveux après l'arrêt de la chimiothérapie anti-néoplasique.

Diverses stratégies de prévention de l'alopecie cytotoxique induite par différents agents pharmacologiques (cyclophosphamide, arabinofuranosylcytosine, ARA-C, etoposide) ont été

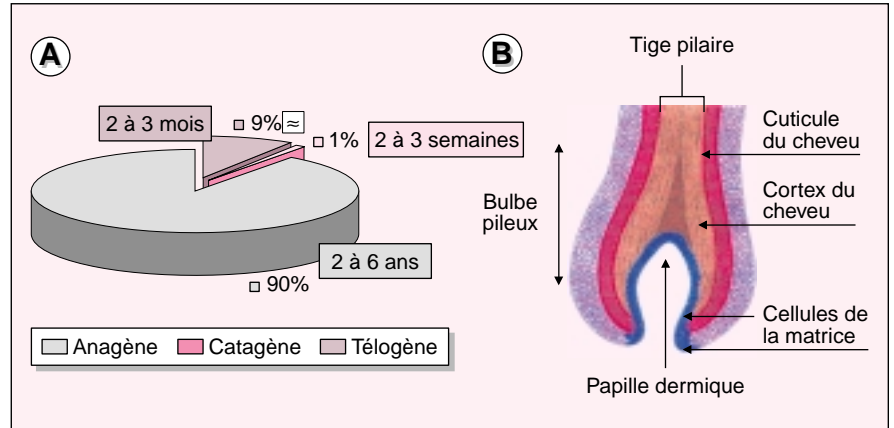


Figure 1. **Le cycle pileux.** A. La croissance des cheveux est cyclique pendant toute la vie. Chaque cheveu effectue son propre cycle, indépendamment du voisin. Ce cycle comporte 3 phases. La phase anagène ou phase de croissance est une période où la prolifération des cellules de la matrice du bulbe pileux est forte. Ces cellules donnent naissance à la tige pileuse qui croît de 1,5 cm par mois. La phase anagène dure 2 à 6 ans. La phase catagène suit la phase anagène. Elle correspond à l'interruption de l'activité des cellules matricielles. Les mitoses cessent. Un pour cent au moins des cheveux sont en phase catagène qui dure de 2 à 3 semaines. La dernière phase, dite télogène, est une phase de repos au cours de laquelle le cheveu est éliminé et remplacé par un autre. La durée de cette phase qui implique 10 % des follicules pileux dure de 2 à 3 mois. B. Structure des bulbes des follicules pileux.

étudiées dans deux modèles murins (rat nouveau-né et souris adolescente) [5, 6]. L'injection de cyclosporine A chez la souris prévient l'alopecie induite par le cyclophosphamide [6]. L'administration d'interleukine-1, d'EGF (*epidermal growth factor*) en application locale sur la peau ou de FGF (*fibroblast growth factor*) acide par voie sous-cutanée protègent les follicules pileux du rat de l'alopecie induite par l'ARA-C [7, 8]. L'utilisation du calcitriol\* par voie locale chez la souris s'est révélée être un échec pour la prévention de l'alopecie induite par le cyclophosphamide [9]. Aucune de ces approches thérapeutiques n'a abouti à une utilisation en

clinique humaine. Chez l'homme, les applications locales de minoxidil\*\* sont sans effet sur l'alopecie cytotoxique [10]. La compression de la vascularisation du cuir chevelu pour empêcher la diffusion du produit cytotoxique vers les follicules pileux a aussi été proposée, mais, en réalité, il n'existe aujourd'hui aucune solution satisfaisante pour la prévention de l'alopecie.

Dans ce contexte, de nouvelles stratégies thérapeutiques reposant sur l'inhibition du cycle cellulaire pourraient, en diminuant l'effet des agents cytotoxiques qui agissent par cette voie, s'avérer très efficaces. Le contrôle du cycle cellulaire des cel-

\* 1-25 (OH)<sub>2</sub> vitamine D<sub>3</sub>.

\*\* Utilisé en applications locales dans les cas d'alopecie androgénique de l'adulte.

lules eucaryotes est assuré en grande partie par une famille de sérine-thréonine kinases, appelées kinases dépendantes des cyclines (*cyclin-dependent kinases*, Cdk) [11]. L'une d'entre elles, Cdk2, joue un rôle majeur dans la progression du cycle cellulaire, de la phase G1 tardive à la fin de la phase G2. Cette protéine de 33 kDa acquiert son activité kinase en s'associant avec la cycline E et la cycline A. En association avec la cycline E, Cdk2 provoque l'entrée en phase S et participe à la phosphorylation de la protéine du rétinoblastome Rb. La dissociation du complexe E2F-1/Rb provoque une stimulation de la synthèse de cycline A avec laquelle Cdk2 interagit pour contrôler la progression de la phase S et la replication de l'ADN (figure 2). L'hypothèse selon laquelle l'inhibition de Cdk2 bloque l'activité mitotique des cellules du follicule pileux, les préservant ainsi de l'action cytotoxique des chimiothérapies antinéoplasiques, méritait d'être testée [12]. En se fondant sur l'étude cristallographique aux rayons X de l'interaction d'un inhibiteur de Cdk2 avec le complexe Cdk2-cycline E, l'efficacité de cet inhibiteur a pu être optimisée par des manipulations chimiques. *In vitro*, cet inhibiteur induit une forte réduction de la prolifération de fibroblastes diploïdes, mesurée par l'incorporation de bromodésoxyuridine (BrdU) dans l'ADN. L'analyse en cytométrie de flux montre que cet effet est dû à un blocage réversible du passage en phase S, sans apoptose cellulaire. Cet effet résulte d'une inhibition de l'activité catalytique du complexe Cdk2-cycline E induite par l'inhibiteur de Cdk2. Une réduction de la phosphorylation de la protéine Rb, corrélée à l'arrêt du cycle cellulaire, est également observée, ainsi qu'une diminution de la quantité de cycline A (protéine et ARN messagers) qui est dépendante de l'activité du complexe Cdk2-cycline E (figure 2). En revanche, les quantités de Cdk2 et de cycline E ne sont pas modifiées. Ces observations confirment que la molécule étudiée provoque une inhibition de l'activité catalytique de Cdk2, bloquant ainsi la phosphorylation de Rb et la synthèse de cycline A. Enfin, le pré-trai-

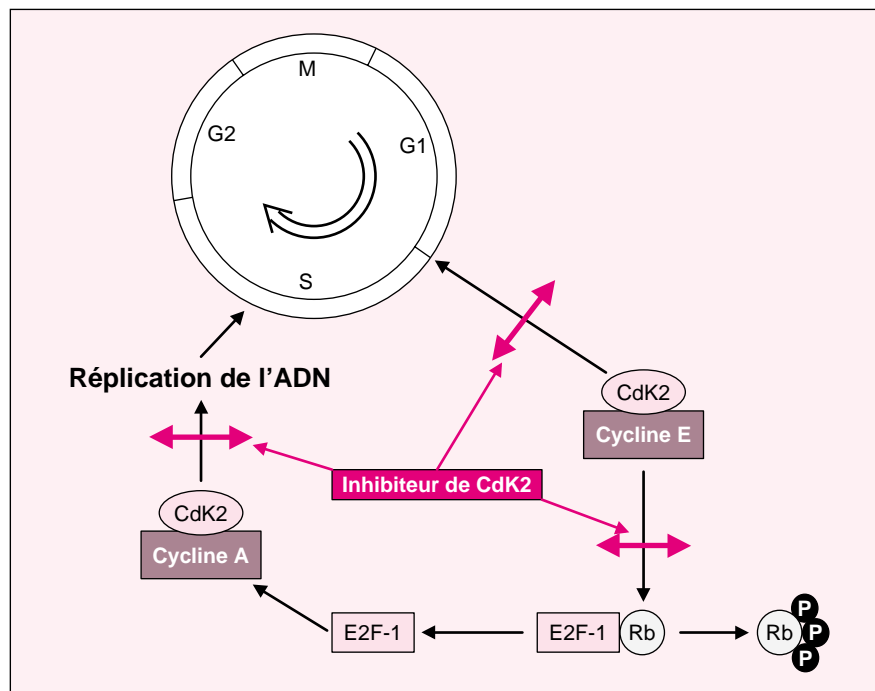


Figure 2. **Blocage du cycle cellulaire des cellules de la matrice des follicules pileux par l'inhibiteur de Cdk2.** Le complexe Cdk2-cycline E joue un rôle crucial pour l'entrée en phase S du cycle cellulaire. L'inhibition de son activité catalytique par l'inhibiteur de Cdk2 bloque le passage en phase S. Le complexe Cdk2-cycline E participe aussi à la phosphorylation de la protéine du rétinoblastome (Rb), levant ainsi l'inhibition de Rb sur le facteur de transcription E2F-1 et donc sur la synthèse de la cycline A. L'inhibiteur de Cdk2, en inhibant la phosphorylation de Rb, permet de maintenir son effet inhibiteur sur la synthèse de cycline A. Ceci empêche l'action du complexe Cdk2/cycline A dans la progression de la phase S, et en particulier la réplication de l'ADN.

tement des fibroblastes par l'inhibiteur de Cdk2 inhibe l'apoptose induite par l'étoposide, ce qui montre que cet inhibiteur réduit la cytotoxicité des médicaments antinéoplasiques dont le mécanisme d'action dépend du cycle cellulaire. Après avoir disséqué les conséquences moléculaires de l'inhibition de Cdk2, il fallait déterminer si les effets cytoprotecteurs observés *in vitro* pouvaient aussi être obtenus *in vivo*. La biodisponibilité de l'inhibiteur de Cdk2 administré par voie locale dans du DMSO (diméthylsulfoxyde) comme excipient a été étudiée dans un modèle de xénotreffes de follicules pileux humains (cheveux) à des souris immunodéficientes SCID. Après application locale de l'inhibiteur, l'étude immunohistologique de la zone traitée révèle une forte diminution du marquage nucléaire par le BrdU dans les

cellules des follicules pileux. Cet effet anti-prolifératif, qui atteint un niveau maximal 6 heures après l'application, disparaît à la 18<sup>e</sup> heure. Ces observations démontrent que l'inhibiteur de Cdk2 peut, *in vivo*, atteindre les cellules cibles et exercer son action inhibitrice de la prolifération.

Il ne restait plus qu'à démontrer que l'inhibiteur de Cdk2 prévient l'alopécie due aux chimiothérapies antinéoplasiques. Le traitement local de rats nouveau-nés avec l'inhibiteur de Cdk2 protège 50 % des animaux totalement, et 20 % partiellement, de l'alopécie induite par l'étoposide. Cette protection du pelage est observée électivement sur les sites d'application (crâne) de l'inhibiteur de Cdk2, les autres sites non traités (reste du corps) devenant alopéciques. Pour l'association cyclophosphamide-doxorubicine, la prévention de l'alopécie a été obtenue chez 33 %

des animaux pré-traités par l'inhibiteur de Cdk2. L'étude histologique montre que ce traitement de la peau entraîne une augmentation du nombre des follicules pileux viables et des papilles dermiques, et une diminution des altérations cellulaires épithéliales, de l'épaisseur épidermique et du nombre de cellules apoptotiques dans la matrice des follicules pileux.

Enfin, point essentiel, l'inhibiteur de Cdk2 n'antagonise pas l'effet antimétastatique de la chimiothérapie, comme le démontrent les études *in vitro* ou *in vivo* dans un modèle de xénogreffe de tumeur colique. De plus, l'administration locale du traitement limite sa diffusion systémique. Ces observations sont très encourageantes et méritent d'être poursuivies par des essais cliniques chez l'homme. Des formulations de l'inhibiteur de Cdk2 ne contenant pas de DMSO, donc utilisables chez l'homme, sont disponibles. Un grand nombre de cliniciens, confrontés aux effets secondaires des chimiothérapies anti-néoplasiques sont d'ores et déjà impatients de participer au développement clinique de ce produit qui pourrait considérablement améliorer

la prise en charge thérapeutique des patients atteints de néoplasies. Les follicules pileux ne sont en effet pas les seuls tissus normaux contenant des cellules en prolifération et susceptibles d'être lésés par les chimiothérapies anti-néoplasiques. En particulier, la possibilité d'administrer à la muqueuse digestive, par voie locale, ces inhibiteurs de Cdk représenterait un atout considérable pour la prévention des nausées et vomissements, qui sont des effets secondaires fréquents de ces thérapeutiques. Ainsi, l'inhibition de Cdk s'avère être une stratégie thérapeutique extrêmement prometteuse dont les applications potentielles sont nombreuses et variées.

1. Pillans PI, Woods DJ Drug-associated alopecia. *Int J Dermatol* 1995; 34: 149-58.
2. Paus R, Cotsarelis G. The biology of hair follicles. *N Engl J Med* 1999; 341: 491-7.
3. Paus R. Principles of hair cycle control. *J Dermatol* 1998; 25: 793-802.
4. Oshima H, Rochat A, Kedzia C, Kobayashi K, Barrandon Y. Morphogenesis and renewal of hair follicles from adult multipotent stem cells. *Cell* 2001; 104: 233-45.
5. Sundberg JP, King LE. Mouse models for the study of human hair loss. *Dermatol Clin* 1996; 14: 619-32.

6. Paus R, Handjiski B, Eichmüller S, Czarnetzki BM. Chemotherapy-induced alopecia in mice. Induction by Cyclophosphamide, inhibition by Cyclosporine A, and modulation by Dexamethasone. *Am J Pathol* 1994; 144: 719-34.
7. Jimenez JJ, Sawaya ME, Yunis AA. Interleukin-1 protects hair follicles from cytarabine (ARA-C)-induced toxicity *in vivo* and *in vitro*. *FASEB J* 1992; 6: 911-3.
8. Jimenez JJ, Yunis AA. Protection from 1-β-D-Arabinofuranosylcytosine-induced alopecia by epidermal growth factor in the rat model. *Cancer Res* 1992; 52: 413-5.
9. Paus R, Schilli MB, Handjiski B, Menrad A, Henz BM, Plonka P. Topical calcitriol enhances normal hair regrowth but does not prevent chemotherapy-induced alopecia in mice. *Cancer Res* 1996; 56: 4438-43.
10. Duvic M, Lemak NA, Valero V, et al. A randomized trial of minoxidil in chemotherapy-induced alopecia. *J Am Acad Dermatol* 1996; 35: 74-8.
11. Wolowiec D, French M. Kinases dépendantes des cyclines: rôle biologique et implications dans la pathologie humaine. *Med Sci* 1996; 12: 165-73.
12. Davis ST, Benson BG, Bramson HN, et al. Prevention of chemotherapy-induced alopecia in rats by CDK inhibitors. *Science* 2001; 291: 134-7.

#### Jean-Paul Ortonne

*Inserm U. 385, Faculté de médecine, avenue de Valombrose, Université de Nice, Sophia-Antipolis, 06107 Nice Cedex 02, France.*