

**UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

ANNEE : 2018

THESE 2018/TOU3/2069

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement
par

Kilian CASAGRANDE
Né le 11 Mars 1989 à Villiers-le-Bel

**^{68}Ga -PSMA-11, NOUVEAU TRACEUR TEP POUR
L'IMAGERIE DU CANCER DE LA PROSTATE : SYNTHÈSE,
CONTROLES QUALITE ET DOSSIER D'AUTORISATION**

Le Vendredi 5 Octobre 2018

Directeur de thèse :
Madame le Docteur Judith DELAGE

JURY

Président :	Monsieur le Professeur Franck SAINT-MARCOUX
1 ^{er} assesseur :	Madame le Docteur Judith DELAGE
2 ^{ème} assesseur :	Madame le Docteur Isabelle QUELVEN-BERTIN
3 ^{ème} assesseur :	Monsieur le Docteur Florent PUISSET
4 ^{ème} assesseur :	Monsieur le Docteur Dominique PLATS

PERSONNEL ENSEIGNANT
de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier
au 08 janvier 2018

Professeurs Emérites

M. BENOIST H.	Immunologie
M. BERNADOU J.	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G.	Physiologie
M. CHAVANT L.	Mycologie
M. MOULIS C.	Pharmacognosie
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire
M. SIE P.	Hématologie

Professeurs des Universités

Hospitalo-Universitaires

Mme AYYOUB M.	Immunologie
M. CHATELUT E.	Pharmacologie
M. FAVRE G.	Biochimie
Mme GANDIA P.	Pharmacologie
M. PARINI A.	Physiologie
M. PASQUIER C. (Doyen)	Bactériologie - Virologie
Mme ROQUES C.	Bactériologie - Virologie
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie
Mme SALLERIN B.	Pharmacie Clinique
M. VALENTIN A.	Parasitologie

Universitaires

Mme BARRE A.	Biologie
Mme BAZIARD G.	Chimie pharmaceutique
Mme BENDERBOUS S.	Mathématiques – Biostat.
Mme BERNARDES-GÉNISSON V.	Chimie thérapeutique
Mme COUDERC B.	Biochimie
M. CUSSAC D. (Vice-Doyen)	Physiologie
Mme SIXOU S.	Biochimie
M. FABRE N.	Pharmacognosie
M. GAIRIN J-E.	Pharmacologie
Mme GIROD-FULLANA S.	Pharmacie Galénique
Mme MULLER-STAU MONT C.	Toxicologie - Sémiologie
Mme NEPVEU F.	Chimie analytique
M. SALLES B.	Toxicologie
M. SEGUI B.	Biologie Cellulaire
M. SOUCHARD J-P.	Chimie analytique
Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique
M. VERHAEGHE P.	Chimie Thérapeutique

Maîtres de Conférences des Universités

Hospitolo-Universitaires

M. CESTAC P.	Pharmacie Clinique
Mme DE MAS MANSAT V. (*)	Hématologie
Mme JUILLARD-CONDAT B.	Droit Pharmaceutique
M. PUISSET F.	Pharmacie Clinique
Mme ROUZAUD-LABORDE C.	Pharmacie Clinique
Mme SERONIE-VIVIEN S.	Biochimie
Mme THOMAS F. (*)	Pharmacologie

Universitaires

Mme ARELLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme AUTHIER H.	Parasitologie
M. BERGE M. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme BON C.	Biophysique
M. BOUJILA J. (*)	Chimie analytique
Mme BOUTET E. (*)	Toxicologie - Sémiologie
M. BROUILLET F.	Pharmacie Galénique
Mme CABOU C.	Physiologie
Mme CAZALBOU S. (*)	Pharmacie Galénique
Mme CHAPUY-REGAUD S.	Bactériologie - Virologie
Mme COLACIOS-VIATGE C.	Immunologie
Mme COSTE A. (*)	Parasitologie
M. DELCOURT N.	Biochimie
Mme DERA EVE C.	Chimie Thérapeutique
Mme ECHINARD-DOUIN V.	Physiologie
Mme EL GARAH F.	Chimie Pharmaceutique
Mme EL HAGE S.	Chimie Pharmaceutique
Mme FALLONE F.	Toxicologie
Mme FERNANDEZ-VIDAL A.	Toxicologie
Mme HALOVA-LAJOIE B.	Chimie Pharmaceutique
Mme JOUANJUS E.	Pharmacologie
Mme LAJOIE-MAZENC I.	Biochimie
Mme LEFEVRE L.	Physiologie
Mme LE LAMER A-C.	Pharmacognosie
M. LEMARIE A.	Biochimie
M. MARTI G.	Pharmacognosie
Mme MIREY G. (*)	Toxicologie
Mme MONFERRAN S.	Biochimie
M. OUCHON A.	Biochimie
Mme REYBIER-VUATTOUX K. (*)	Chimie Analytique
M. SAINTE-MARIE Y.	Physiologie
M. STIGLIANI J-L.	Chimie Pharmaceutique
M. SUDOR J. (*)	Chimie Analytique
Mme TERRISSE A-D.	Hématologie
Mme TOURRETTE-DIALO A.	Pharmacie Galénique
Mme VANSTEELANDT M.	Pharmacognosie
Mme WHITE-KONING M. (*)	Mathématiques

(*) Titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

Enseignants non titulaires

Assistants Hospitolo-Universitaires

Mme COOL C.	Physiologie
M. MOUMENI A.	Biochimie
M. METSU D.	Pharmacologie
Mme PALUDETTO M.N.	Chimie thérapeutique
M. PAGES A.	Pharmacie Clinique
M. PERES M.	Immunologie
Mme SALABERT A.S.	Biophysique

Remerciements

Je tiens, tout d'abord, à adresser mes plus sincères remerciements aux membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail, pour le temps qu'ils ont consacré à la lecture de ce manuscrit et l'intérêt qu'ils y ont porté :

Monsieur le Professeur Franck SAINT-MARCOUX, je suis très sensible à l'honneur que vous me faites de présider le jury de cette thèse et de bien vouloir juger mon travail. Je vous remercie également pour votre implication dans notre formation d'interne. J'ai eu la chance de pouvoir effectuer mon premier semestre dans votre service où j'ai reçu un excellent accueil et une formation de qualité qui a parfaitement lancé mon internat. Tout au long de celui-ci, vous vous êtes montré disponible à chacune de mes sollicitations et j'ai toujours pu compter sur votre écoute et vos conseils avisés, je vous en suis grandement reconnaissant.

Monsieur le Docteur Florent PUISSET, vous me faites l'honneur d'accepter de juger ce travail, soyez assuré de ma reconnaissance et de mes remerciements.

Madame le Docteur Isabelle QUELVEN-BERTIN, je ne pouvais pas imaginer soutenir une thèse d'exercice avec un sujet en lien avec la Radiopharmacie sans pouvoir te compter parmi les membres du jury. Tu m'as toujours accompagné avec bienveillance au cours de mon internat et lors de la réalisation de mon Master II. Je te remercie sincèrement de m'avoir fait découvrir cette discipline et d'avoir partagé avec moi tes connaissances pour me former au métier de Radiopharmacien.

Monsieur le Docteur Dominique PLATS, je te remercie d'avoir accepté, avec un enthousiasme certain, de faire partie de mon jury de thèse. Merci Dominique pour ta compétence, ton sens pédagogique (oui je parle de tes dessins explicatifs), ta gentillesse, ta disponibilité et ton penchant pour le bon mot. Ce fut un réel plaisir de travailler et d'apprendre à tes côtés.

Madame le Docteur Judith DELAGE, tout d'abord, je te suis très reconnaissant pour m'avoir offert l'opportunité d'effectuer mes derniers semestres d'internat au sein de l'unité de Radiopharmacie du CHUV où j'ai énormément appris. Je tenais également à t'exprimer toute ma gratitude pour m'avoir accordé ta confiance en me déléguant un projet aussi important pour le service et d'avoir accepté d'encadrer cette thèse durant laquelle j'ai pu profiter de tes conseils et de tes connaissances. Je te remercie pour ton dynamisme, ta compétence, ton optimisme, ta gentillesse et tout le soutien que tu m'as apporté depuis mon arrivée en Suisse.

Je tiens à remercier **Messieurs les Professeurs Farshid SADEGHIPOUR et John PRIOR** pour m'avoir accueilli dans leurs services et pour les efforts qu'ils ont consentis pour que je puisse rester un semestre de plus au CHUV et terminer ma thèse dans les meilleures conditions.

Je souhaite également remercier les personnes qui m'ont encadré au cours de mon internat, par ordre chronologique d'apparition :

Jean-Baptiste WOILLARD, je t'associe aux remerciements que j'ai adressés à Franck, je suis admiratif de ton esprit brillant et suis ravi d'avoir effectué un semestre à tes côtés. Merci pour les connaissances que tu m'as transmises et pour l'aide que tu m'apportes encore à chaque fois que je fais appel à toi, pour ta bonne humeur et ton humour décalé !

Hélène CARPENET, merci pour ta disponibilité et les conseils que tu m'as prodigués lors de mes passages à la radiopharmacie de Limoges, merci aussi à Nico pour les branlées au squash !

Roy GERONA, I wanted to thank you for the three summers I had the pleasure to work under your supervision during my pharmacy school. You have been a great teacher to me, I learned a lot from you and I am very grateful for the degree of autonomy you entrusted me upon works of great importance for the lab while I was only a trainee. I sincerely hope that we will have the opportunity to work together again.

Hélène GENIAUX, j'ai grandement apprécié travailler avec toi et je te remercie pour ta gentillesse, ton sérieux et ta bonne humeur. Je te suis également reconnaissant pour m'avoir transmis ton savoir-faire en matière de recherche bibliographique ainsi que pour ton exigence, justifiée, vis-à-vis de la qualité de l'écriture. J'ai tenté d'appliquer tes précieux conseils pour la production de ce manuscrit. L'amie russe que tu m'as présentée m'a d'ailleurs été d'une grande aide, elle te salue bien chaleureusement.

Elodie CHASSEUIL, je te remercie pour le semestre que j'ai passé à Saint-Junien où ton dynamisme, ton sérieux et ton exigence nous ont mené à réaliser un projet très intéressant et extrêmement formateur. J'ai tiré grand bénéfice des méthodes de travail et de la rigueur que tu m'as enseignées.

Gregory PODILSKY, merci de m'avoir accueilli dans ton unité et pour la formation que j'y ai reçue, merci également pour ton soutien.

Mes pensées vont également à toutes les équipes des différents services que j'ai côtoyés qui m'ont toujours accueilli dans de très bonnes conditions et qui ont largement contribué à faire que mon internat passe, finalement, si vite.

Enfin, je tiens à remercier tout particulièrement,

Mes parents, Pierre et Nadine, mon frère, Patrick et ma sœur, Kelly, je vous remercie pour m'avoir soutenu et m'avoir fait confiance pendant ces onze années d'études. Je ne pense pas qu'immense soit un mot suffisamment puissant pour décrire toute la reconnaissance que j'ai pour vous.

Ma grand-mère, Renée, ma tante, Anne et mes cousins Quentin et Elisa, merci pour votre soutien, votre présence et les moments que nous avons passés ensemble.

Sommaire

Remerciements	3
Sommaire	6
Liste des Tables	13
Liste des Figures	14
Liste des Abréviations.....	17
INTRODUCTION	20
PARTIE 1 : Revue Bibliographique	22
I – TOMOGRAPHIE PAR EMISSION DE POSITRONS	22
A – La Désintégration β^+	22
B – Principe de Détection par Caméra TEP.....	24
C – Radioéléments Utilisables en TEP.....	25
II – LE GALLIUM-68	28
A – Le Gallium : Propriétés Chimiques	28
B – Le Gallium-68 : Propriétés Physiques	28
C – Production de l'Elément Père : le Germanium-68	30
D – Le Générateur de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$	33
1 - Générateurs : généralités	33
2- Principe d'équilibre.....	33
3 – Evolution des générateurs de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$	37
a - Procédés d'extraction	37
b - Les matrices.....	37
c - Contraintes techniques à relever pour les générateurs de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$	38

4 - Générateur Galliapharm®	39
E – Radiochimie : Complexation du ⁶⁸ Ga – les Chélateurs	40
1 – Chimie de coordination : stabilité des complexes	41
2 – Les chélateurs du ⁶⁸ Ga.....	42
a - Les chélateurs macrocycliques	43
b - Les chélateurs acycliques.....	46
III – LE CANCER DE LA PROSTATE	49
A – Epidémiologie.....	49
B – Diagnostic.....	50
1 – Diagnostic clinique	50
a – Les signes fonctionnels.....	50
b - Le toucher rectal.....	51
2 – Diagnostic biologique	51
a – Dosage du PSA total sérique.....	51
b - Rapport PSA libre/PSA total.....	52
c - Autre marqueur : PCA3	52
3 – Les biopsies prostatiques.....	54
C – Gradation Histopronostique et Stadification du Cancer de la Prostate.....	55
1 – Score de Gleason : gradation histopathologique.....	55
2 – Stadification clinique : classification TNM	57
3 – Classification D’Amico.....	58
D – L’Arsenal Thérapeutique pour le Cancer de la Prostate	59
1 - Surveillance active.....	59
2 – Prostatectomie totale	60
a - Indications et voies d’abord	60
b - Curage ganglionnaire.....	60
c - Traitements associés à la PT	60
3 – Radiothérapie externe.....	61
4 - Curiethérapie.....	61
5 – Ultrasons focalisés	62
6 - Cryothérapie	62
7 – Photothérapie dynamique.....	62

8 – Hormonothérapie – suppression androgénique.....	63
9 – Hormonothérapie de seconde génération.....	65
10 - Chimiothérapie.....	66
11 – Médicaments ciblant les os.....	66
E – Place de l’Imagerie dans le Cancer de la Prostate.....	67
1 – Échographie endorectale	67
2 - Tomodensitométrie	68
3 – Scintigraphie osseuse	68
4 - IRM multiparamétrique.....	68
a – Bilan initial	69
b – Bilan d’extension	69
IV – TEP ET CANCER DE LA PROSTATE : APPORTS DU ⁶⁸Ga-PSMA-11	71
A – Radiotraceurs Existants Marqués au Fluor-18 et au Carbone-11.....	71
1– [¹⁸ F]Fluoro-déoxy-glucose.....	71
2 – [¹⁸ F]Fluorure de Sodium	71
3 – [¹¹ C]Choline	71
4 – [¹⁸ F]Fluoro-choline.....	72
a – Place de la TEP-[¹⁸ F]Fluoro-Choline dans l’évaluation pré-chirurgicale	72
b – Intérêt de la TEP-[¹⁸ F]Fluoro-Choline en cas de rechute biologique	73
B – Inhibiteur de l’Antigène Membranaire Spécifique de la Prostate Marqué au Gallium-68 : ⁶⁸ Ga-PSMA-11.....	77
1 – L’antigène membranaire spécifique de la prostate	77
2 – Développement de traceurs ciblant le PSMA	78
3 – Propriétés du ⁶⁸ Ga-PSMA-11	80
4 – Applications potentielles du ⁶⁸ Ga-PSMA-11 : données cliniques	83
a – Stade initial : bilan d’extension	83
b – Diagnostic de récurrence	84
c – Autres applications potentielles	87
d – Limites	87
5 – Déroulement de l’examen pour le patient.....	88
6 – Exposition des patients aux radiations – dosimétrie	88

PARTIE 2 : Contrôles Qualité et Lots de Validation pour la Constitution du Dossier d'Autorisation de Production..... 90

I – MATÉRIELS 91

A – Locaux et Isolateurs Hautes Energies 91

B – Equipements de Production..... 91

1 - Générateur de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 91

2 – Modules de synthèse, consommables et réactifs 91

C – Equipements de Contrôle Qualité 93

1 – Chromatographie liquide haute performance 93

2 – Chromatographie gazeuse 94

3 – Chromatographie sur couche mince..... 94

4 – Compteur gamma..... 94

5 – pH 94

II – MÉTHODES 95

A – Synthèse du ^{68}Ga -PSMA-11 95

1 - Généralités..... 95

2 – Déroulement de la production..... 95

3 – Contrôles des réactifs et du processus de synthèse 97

B – Contrôles Qualité de la Solution Finale de ^{68}Ga -PSMA-11..... 98

1 – HPLC : détermination de la pureté radionucléidique et identification du ^{68}Ga -PSMA-11, détection du PSMA-11 et de ses complexes métalliques100

a – Spécifications.....100

b – Validation de la méthode HPLC-RAD pour l'identification du ^{68}Ga -PSMA-11 et la détermination de la pureté radiochimique.....101

c – Validation de la méthode HPLC-UV pour la détection du PSMA-11 et de ses complexes métalliques103

2 – CCM : détermination de la pureté radiochimique104

Spécifications104

3 – Chromatographie gazeuse : détermination des solvants résiduels.....104

Spécification105

4 – Détermination du pH de la solution finale de ⁶⁸ Ga-PSMA-11	105
a - Spécification	105
b - Validation de la méthode de détermination du pH	105
5 – Identification radionucléidique : détermination de la demi-vie.....	105
Spécification	105
6 – Identification radionucléidique : détermination de l'énergie des photons gamma du ⁶⁸ Ga	106
Spécification	106
7 – Détermination de la pureté radionucléidique	106
Spécification	106
8 – Détermination de la stérilité de la solution finale de ⁶⁸ Ga-PSMA-11 et dosage des endotoxines bactériennes.....	106
Spécifications	107
9 – Contrôle de l'activité volumique à la fin de la synthèse	107
Spécification	107
C – Etude de Stabilité.....	107
III – RESULTATS	108
A – Synthèse du ⁶⁸ Ga-PSMA-11	108
B - Contrôles Qualité de la Solution Finale de ⁶⁸ Ga-PSMA-11	109
1 - HPLC : Détermination de la Pureté Radionucléidique et Identification du ⁶⁸ Ga-PSMA-11, du PSMA-11 et de ses Complexes Métalliques.....	109
a - Identification du ⁶⁸ Ga-PSMA-11.....	110
b – Détermination de la pureté radiochimique.....	111
c - Détection du PSMA-11 et de ses complexes métalliques.....	111
d – Résultats de validation de la méthode HPLC-RAD pour l'identification du ⁶⁸ Ga-PSMA-11 et la détermination de la pureté radiochimique	112
e - Validation de la méthode HPLC-UV pour la détection du PSMA-11 et de ses complexes métalliques non radioactifs.....	116
2 - CCM : Détermination de la Pureté Radiochimique	118
3 - Chromatographie Gazeuse : Détermination des Solvants Résiduels	118
4 – Détermination du pH de la Solution Finale de ⁶⁸ Ga-PSMA-11.....	118
Validation de la méthode de détermination du pH	119
5 – Identification radionucléidique : détermination de la demi-vie.....	120

6 – Identification radionucléidique : Détermination de l'énergie des photons gamma du ⁶⁸ Ga	120
7 – Détermination de la pureté radionucléidique	120
8 – Détermination de la stérilité de la solution finale de ⁶⁸ Ga-PSMA-11 et dosage des endotoxines bactériennes.....	120
9 – Contrôle de l'activité volumique à la fin de la synthèse	121
C – Résultats des Contrôles Qualité pour les Lots de Validation.....	121
D – Etude de Stabilité	123
IV – DISCUSSION.....	124
A – Choix des Spécifications.....	124
1 - Identification radiochimique du ⁶⁸ Ga-PSMA-11	124
2 – Spécifications basées sur la Pharmacopée Européenne	125
3 – Quantité maximale de PSMA-11 par injection.....	125
B – Finalisation du Dossier.....	125
1 – Fortes activités.....	125
2 – Données supplémentaires requises par Swissmedic.....	126
C – Impact Budgétaire d'une Production de ⁶⁸ Ga-PSMA-11 sur Site	127
D – Vers un Ligand du PSMA marqué au Fluor-18 ?	127
E – Théranostique.....	128
CONCLUSION.....	130
Bibliographie	131
Annexes.....	142
ANNEXE 1 : Tableau périodique des éléments.....	142
ANNEXE 2 : Classification TNM 2010 pour le cancer de la prostate.....	143
ANNEXE 3 : Instructions Swissmedic et architecture du <i>Pharmaceutical Quality Dossier</i>	145

ANNEXE 4 : Détermination de la linéarité de la méthode HPLC-UV pour la détection du PSMA-11 et ses complexes métalliques.....	151
ANNEXE 5 : Détermination de la linéarité de la méthode HPLC-RAD pour le ⁶⁸ Ga-PSMA-11.....	153
ANNEXE 6 : Détermination de la limite de quantification de la méthode HPLC-UV154	
Serment de Galien	155

Liste des Tables

Table 1 : Principaux radioéléments utilisables en TEP	25
Table 2 : Carte d'identité du ⁶⁸ Ga	29
Table 3 : Différentes réactions pour la production du ⁶⁸ Ge en cyclotron	31
Table 4 : Spécifications de l'éluat de ⁶⁸ Ga du générateur Gallipharm®	40
Table 5 : Taux sérique de PSA en fonction du volume de la prostate	52
Table 6 : Gradation ISUP du cancer de la prostate selon le score de Gleason.....	56
Table 7 : Classification D'Amico : risque de progression du cancer de la prostate.....	59
Table 8 : Taux de détection de la TEP-choline et de la TEP-PSMA en fonction de la concentration en PSA.....	85
Table 9 : Indications potentielles pour l'utilisation de la TEP-PSMA/TDM.....	87
Table 10 : Spécifications des contrôles qualité pour le ⁶⁸ Ga-PSMA-11	99
Table 11 : paramètres de validation de la méthode HPLC-RAD.....	101
Table 12 : Performances du radiomarquage du ⁶⁸ Ga-PSMA-11	108
Table 13 : Composition du produit pharmaceutique final	109
Table 14 : Temps de rétention des pics d'intérêt en chromatographie HPLC	110
Table 15 : Temps de rétention et résolution pour la détermination de la spécificité de la méthode HPLC-RAD	112
Table 16 : Détermination de la précision de la méthode HPLC-RAD	113
Table 17 : Résultats des tests de validation de la méthode HPLC-RAD.....	116
Table 18 : Résultats des CQ des lots de validation de ⁶⁸ Ga-PSMA-11 - Certificat de conformité.....	122
Table 19 : Détermination de la pureté radiochimique jusqu'à 3h post-synthèse	123

Liste des Figures

Figure 1 : Equation générale de désintégration β^+ (1).....	23
Figure 2 : Réaction d'annihilation entre un positron et un électron (2).....	23
Figure 3 : Principe de détection d'une caméra TEP (3).....	24
Figure 4 : Transformation du photon γ incident en signal électrique (4).....	25
Figure 5 : Différence de taille entre un cyclotron et un générateur.....	27
Figure 6 : Equation de désintégration par capture électronique (1).....	29
Figure 7 : Schéma de filiation simplifié du ^{68}Ga (14).....	30
Figure 8 : schématisation du fonctionnement d'un accélérateur de particules.....	31
Figure 9 : Comparaison des rendements de production de ^{68}Ge pour les réactions.....	32
Figure 10 : Equilibre séculaire avec la décroissance de ^{68}Ge et l'accumulation de ^{68}Ga ...	36
Figure 11 : Cinétique de régénération de l'élément fils après trois éluions successives à l'équilibre.....	36
Figure 12 : Matrices cationiques inorganiques et organiques.....	38
Figure 13 : Générateur Galliapharm®.....	39
Figure 14 : Exemple schématique d'un chélateur bifonctionnel, le DOTA.....	42
Figure 15 : Structure du DOTA.....	44
Figure 16 : Structure du NOTA.....	45
Figure 17 : Structure du NODAGA.....	46
Figure 18 : Structures de l'HBED (1) et de l'HBED-CC (2).....	47
Figure 19 : Trois isomères géométriques possibles pour le chélate $[\text{Ga}(\text{HBED})]$	47
Figure 20 : La prostate.....	49
Figure 21 : Evolution de l'incidence et de la mortalité par cancer de la prostate de 1980 à 2012 en France métropolitaine.....	50
Figure 22 : Le risque de biopsies positives augmente avec le score urinaire PCA3.....	53
Figure 23 : Performances comparées du PSA sérique et du score urinaire PCA3.....	53
Figure 24 : Biopsies échoguidées par voie transrectale (61).....	54
Figure 25 : Les cinq grades histologiques de Gleason du cancer de la prostate.....	56
Figure 26 : Exemple de stades TNM pour le cancer de la prostate.....	58
Figure 27 : Action des différents traitements hormonaux.....	66
Figure 28 : Imagerie en TEP- ^{18}F -Choline dans un bilan initial d'une tumeur T3b.....	73

Figure 29 : Exploration en TEP-choline d'une rechute biologique avec temps de doublement du PSA > 6 mois	75
Figure 30 : Impact du taux de PSA avant une RT de rattrapage lors d'une récurrence du cancer de la prostate sur la survie des patients	76
Figure 31 : Structure schématique du PSMA	77
Figure 32 : Structure de l'inhibiteur du PSMA Lys-NH-CO-NH-Glu	79
Figure 33 : Structure du ⁶⁸ Ga-PSMA-11	80
Figure 34 : Répartition physiologique de l'absorption du ⁶⁸ Ga-PSMA-11 chez l'homme	82
Figure 35 : Contribution de la TEP-PSMA dans la stadification d'un cancer de la prostate à haut risque	84
Figure 36 : Taux d'examen TEP-PSMA/TDM positif en fonction du taux de PSA.....	85
Figure 37 : Comparaison de l'imagerie TEP-PSMA et TEP-choline chez un même patient en récurrence biologique	86
Figure 38 : Automate de synthèse MiniAiO®	92
Figure 39 : Exemple de kit de réactifs TRASIS	93
Figure 40 : Composition des flacons de PSMA-11 précurseur.....	93
Figure 41 : Interface logiciel TRASIS - instructions	95
Figure 42 : Interface logiciel TRASIS – schéma de montage de la cassette et placement des réactifs	96
Figure 43 : Etapes de la production du produit radiopharmaceutique ⁶⁸ Ga-PSMA-11 ...	97
Figure 44 : Programme d'élution de la méthode HPLC	100
Figure 45 : Graphique de température du four au cours de la synthèse	108
Figure 46 : Radio-chromatogramme de la solution finale de ⁶⁸ Ga-PSMA-11.....	109
Figure 47 : Chromatogramme UV (280nm) de la solution finale de ⁶⁸ Ga-PSMA-11	110
Figure 48 : Radio-chromatogramme de la solution de référence de ⁶⁸ Ga-PSMA-11.....	111
Figure 49 : Régression linéaire de l'aire des pics du ⁶⁸ Ga-PSMA-11 en HPLC-RAD	113
Figure 50 : Radio-chromatogramme d'une solution de 65670Bq/mL de ⁶⁸ Ga-PSMA-11	114
Figure 51 : Radio-chromatogramme du ⁶⁸ Ga-PSMA-11 avec une plus grande résolution	115
Figure 52 : Régression linéaire de l'aire du pic du PSMA-11 à en fonction de sa concentration. Détection UV à 280nm	116
Figure 53 : Chromatogramme-UV d'une solution de 0,044µg/mL de PSMA-11 (zoom)	117

Figure 54 : Validation des bandelettes pH utilisées pour le ^{68}Ga -PSMA-11119

Liste des Abréviations

β :	Constante de formation des complexes
β^+ :	Bêta + (émission)
γ :	Gamma (Rayonnement)
λ :	Constante radioactive
ACN :	Acétonitrile
ADN :	Acide DésoxyriboNucléique
AFU :	Association Française d'Urologie
Al₃O₂ :	Alumine
AMM :	Autorisation de Mise sur le Marché
ANSM :	Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé
AUC :	<i>Aire Under Curve</i> (Aire sous la courbe)
BGO :	Germanate de Bismuth
Ca :	Calcium
CCM :	Chromatographie sur Couche Mince
CE :	Capture Electronique
CHF :	Francs suisses
CHUV :	Centre Hospitalier Universitaire Vaudois
CK :	Choline Kinase
CPRC :	Cancer de la Prostate Résistant à la Castration
Cu :	Cuivre
DOTA :	Acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7,10-tétraacétique
EAU :	<i>European Association of Urology</i> (Association Européenne d'Urologie)
EDTA :	EthyleneDiamineTetraAcétate
F :	Fluor
FDA :	<i>Food Drug Administration</i>
FDG :	[¹⁸ F]Fluoro-déoxy-glucose
FDS :	à la Fin De la Synthèse
FID :	<i>Flame Ionization Detector</i> (détection par ionisation de flamme)
FNA :	[¹⁸ F]Fluorure de Sodium
Ga :	Gallium

Ga(OH) :	Hydroxyde de Gallium
Ge :	Germanium
GMP :	<i>Good Manufacturing Practice</i> (Bonnes pratiques de fabrication)
Gy :	Gray (J.kg ⁻¹)
HBED :	Acide N,N'-bis(2-Hydroxybenzyl)éthylenediamine-N,N'-diacétique
HCl :	Acide Chlorhydrique
HIFU :	<i>High Intensity Focused Ultrasound</i> (Ultrasons focalisés de haute intensité)
HPLC :	<i>High Performance Liquid Chromatography</i> (Chromatographie liquide haute performance)
HT :	HormonoThérapie
i.e. :	<i>id est</i> (c'est-à-dire)
In :	Indium
IRM :	Imagerie par Résonance Magnétique
ISUP :	<i>International Society of Urological Pathology</i> (Société international de pathologies urologiques)
IV :	Intra-Veineux
keV :	Kiloélectron Volt
Ki :	Constante inhibitrice (constante de dissociation enzyme-inhibiteur)
LDD :	Limite De Détection
LDQ :	Limite de Quantification
LH-RH :	<i>Luteinizing Hormone-Releasing Hormone</i> (Hormone de libération des gonadotrophines hypophysaires)
LRA :	Laparoscopie Robot Assistée
Lu :	Lutétium
MeV :	Mégaélectron Volt
Mg :	Magnésium
MiniAiO :	Mini All in One
MRP :	Médicament RadioPharmaceutique
NOTA :	Acide 1,4,7-triazacyclononane-1,4,7-triacétique
Ph. Eur. :	Pharmacopée Européenne
PSA :	<i>Prostate Specific Antigen</i> (Antigène spécifique de la prostate)
PSMA :	<i>Prostate-Specific Membrane Antigen</i> (Antigène membranaire spécifique de la prostate)

PT :	Prostatectomie Totale
r² :	Coefficient de détermination
RA :	Récepteur aux Androgènes
RAD :	Radioactif (HPLC couplé au détecteur de radioactivité)
Rs :	Résolution (chromatographie)
RT :	RadioThérapie externe
S/N :	Signal sur bruit
Sc :	Scandium
Se :	Sensibilité
Sp :	Spécificité
Sv :	Sievert
T_{1/2} = T :	Demi-vie ou période radioactive
TDM :	TomoDensitoMétrie (Scanner)
TEMP :	Tomoscintigraphie par Emission MonoPhotonique
TEP :	Tomographie par Emission de Positrons
TFA :	Acide TriFluoroacétique
TiO₂ :	Dioxyde de Titane
UICC :	Union Internationale Contre le Cancer
UV :	UltraViolet
Y :	Yttrium
Zn :	Zinc
Zr :	Zirconium

INTRODUCTION

Le cancer de la prostate est, selon les données de l'institut national du cancer, le cancer le plus fréquent chez l'homme en France.

Ce cancer est très hétérogène sur le plan histologique ainsi que sur sa présentation clinique. Il peut être localisé et peu évolutif, rapidement progressif ou bien d'emblée métastatique. Son dépistage est basé sur le dosage sérique de l'antigène spécifique de la prostate (PSA) et le toucher rectal. Son diagnostic relève de biopsies transrectales échoguidées qui permettent de définir le grade histologique du cancer. Pour déterminer le stade de la maladie, le bilan d'extension locale est actuellement dominé par l'imagerie par résonance magnétique (IRM). Cette technique manque cependant d'efficacité pour la recherche d'atteintes ganglionnaires secondaires ou de foyers métastatiques à distance. C'est la scintigraphie osseuse couplée à une acquisition tomодensitométrique (TDM) qui est, aujourd'hui, l'examen de référence pour la recherche de localisations osseuses secondaires, cet examen présente, toutefois, un manque de spécificité.

Le taux de PSA ainsi que le grade et le stade du cancer de la prostate renseignent sur son agressivité et sur la sévérité de l'atteinte tumorale, ce qui permet d'orienter le choix du traitement. Chez les patients ayant bénéficié d'un geste radical en prise en charge initiale, une récurrence biologique (augmentation de la concentration sérique du PSA) est un problème croissant se produisant dans environ 40% des cas. Dans ce contexte, le challenge de l'imagerie est de déterminer précisément et précocement l'extension tumorale au moment du diagnostic ou de la récurrence afin de mettre en place, le plus tôt possible, le traitement le plus adapté.

Dans cette optique, les nouvelles connaissances dans le domaine de la biologie moléculaire ont permis une ouverture vers l'imagerie métabolique par tomographie par émission de positrons (TEP) dans la prise en charge diagnostique du cancer de la prostate. Celle-ci semble très prometteuse car elle prend en compte les caractéristiques biologiques des cellules cancéreuses et donc l'hétérogénéité de ce cancer. L'intérêt de la TEP/TDM à la [¹⁸F]Fluoro-choline dans le diagnostic de récurrence est démontré depuis plusieurs années mais il peut manquer de sensibilité dans certaines circonstances. Récemment, le PSMA-11, un inhibiteur de l'antigène transmembranaire spécifique de la prostate (PSMA),

exprimé par une large majorité des cancers de la prostate, a été marqué au Gallium-68 (^{68}Ga), nucléide pour l'imagerie TEP. La TEP/TDM au ^{68}Ga -PSMA-11 a été décrite comme supérieure à la [^{18}F]Fluoro-choline, mais aussi à l'imagerie conventionnelle, notamment pour détecter les récidives.

Le service de Médecine Nucléaire et l'unité de Radiopharmacie du Centre Hospitalier Vaudois (CHUV), conscients de l'apport que représente le ^{68}Ga -PSMA-11 dans la prise en charge du cancer de la prostate, ont décidé de mettre en œuvre les démarches pour pouvoir synthétiser ce radiotracer au sein de l'unité de Radiopharmacie. Ce traceur n'étant pas enregistré, il est nécessaire de passer par une demande d'autorisation spécifique auprès de Swissmedic, l'autorité compétente en matière de produits de santé en Suisse.

Ce travail a été réalisé dans ce contexte et il s'articule en deux parties. La première présentera le principe de l'imagerie TEP et les caractéristiques du ^{68}Ga , elle s'intéressera également au cancer de la prostate et au rôle de la TEP-PSMA dans le diagnostic de cette maladie. Puis, la seconde partie, reprendra les travaux réalisés au sein de la radiopharmacie quant à la synthèse du ^{68}Ga -PSMA-11, la mise au point des contrôles qualités et la validation des méthodes analytiques employées.

PARTIE 1 : Revue Bibliographique

I – TOMOGRAPHIE PAR EMISSION DE POSITRONS

Une tomographie par émission de positrons est un examen d'imagerie médicale, réalisé après l'administration d'un traceur radioactif. Ce traceur va se fixer au niveau des tissus cibles et émettre, de façon temporaire, des rayonnements que l'on peut suivre dans l'organisme du patient grâce à une caméra TEP. Celle-ci détecte les rayonnements qui proviennent des organes du patient et est équipée d'un système informatique capable de donner des images en trois dimensions de la répartition du traceur au niveau du corps. Cette technique d'imagerie non invasive donne des images qui permettent d'étudier la fonctionnalité des organes, tissus ou cellules, on parle alors d'imagerie fonctionnelle ou métabolique.

Désormais, les caméras TEP sont le plus souvent couplées à de la tomодensitométrie (scanner), une technique d'imagerie anatomique qui permet de mieux visualiser les organes sur lesquels sont localisés les traceurs radioactifs injectés et les anomalies qu'ils mettent en évidence. D'autres types d'imageries anatomiques permettant également d'obtenir des informations sur l'anatomie et la structure des organes peuvent être couplés à la TEP (IRM notamment).

Le service dans lequel sont réalisés les examens TEP est le service de Médecine Nucléaire et les traceurs radioactifs sont produits au sein de l'unité de Radiopharmacie, dépendante de la Pharmacie à Usage Intérieur.

A – La Désintégration β^+

La TEP repose sur l'utilisation de radioéléments dont le noyau père instable va se désintégrer en un noyau fils plus stable par désintégration radioactive de type β^+ . L'instabilité du noyau père est due à un excès de protons, l'un d'eux est alors converti en neutron, cette transformation s'accompagnant de l'émission d'un positron, ou particule

β^+ , et d'un neutrino répondant ainsi aux lois de conservation de la charge électronique et de l'énergie totale (figure 1).

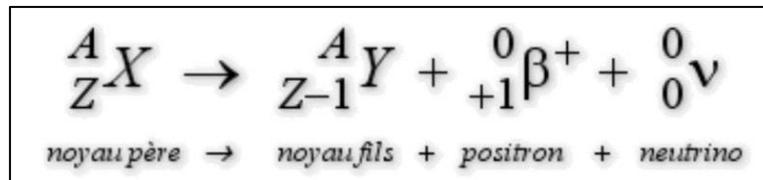


Figure 1 : Equation générale de désintégration β^+ (1)

Ce positron, antiparticule de l'électron, a la même masse qu'un électron et est de charge opposée. A la suite d'une désintégration β^+ il est émis hors du noyau avec une certaine énergie cinétique qu'il va progressivement perdre par interactions avec le milieu environnant. Son parcours dans le corps humain est de l'ordre du millimètre. Suite à son arrêt, le positron interagit avec un électron libre du milieu, il se produit alors une réaction d'annihilation où la masse du couple positron/électron se transforme en deux photons γ de 511keV émis à 180° l'un de l'autre (figure 2). Ce sont ces photons, dit d'annihilation, qui, détectés en coïncidence, seront utilisés pour la production d'images en TEP.

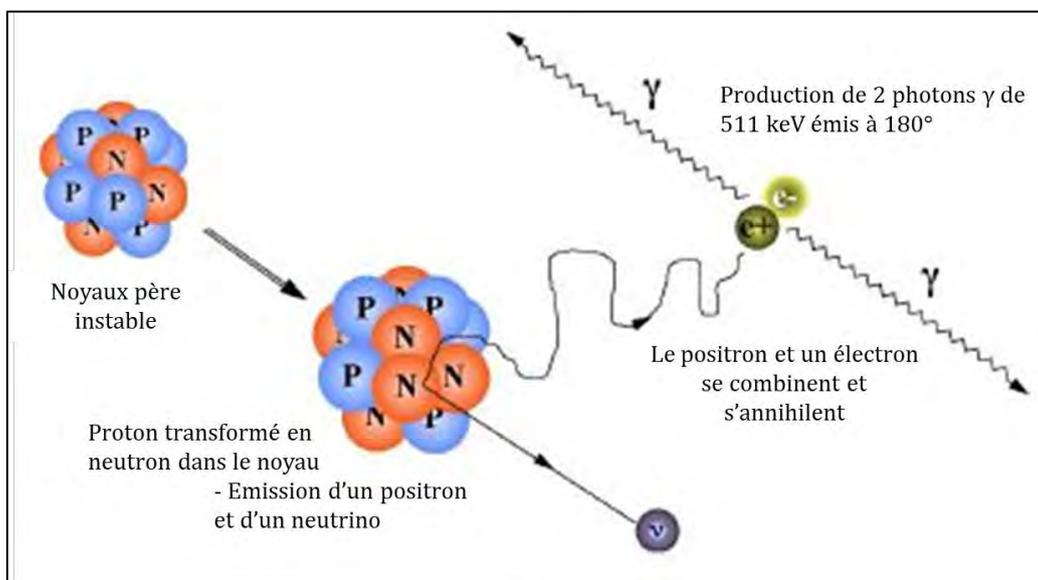


Figure 2 : Réaction d'annihilation entre un positron et un électron (2)

B – Principe de Détection par Caméra TEP

La caméra TEP est constituée d'une série de détecteurs positionnés en couronne autour du patient. La mesure d'un évènement en TEP correspond à la détection par les scintillateurs de deux photons d'annihilation émis en coïncidence. Deux critères importants interviennent dans ce système de détection, la fenêtre énergétique et la fenêtre temporelle qui permettent de détecter le lieu d'annihilation : deux photons en coïncidence sont validés s'ils ont une énergie proche de 511keV et s'ils sont détectés dans un intervalle de temps très proche, de quelques milliardièmes de secondes (figure 3).

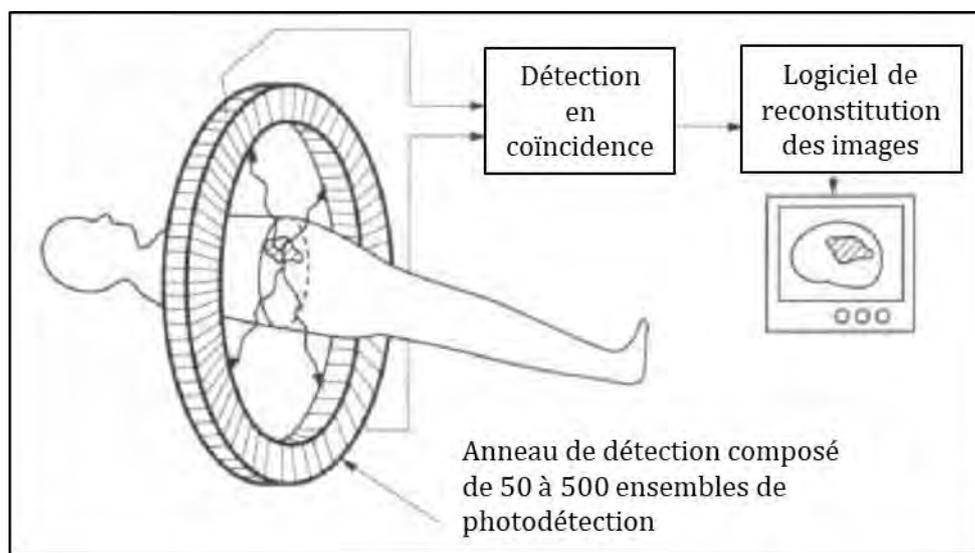


Figure 3 : Principe de détection d'une caméra TEP (3)

Chaque détecteur est constitué de plusieurs cristaux scintillants et de photomultiplicateurs (figure 4). Les cristaux scintillants peuvent être à base d'iodure de sodium dopé au thalium NaI(Tl) ou plus récemment de germanate de bismuth (BGO), d'orthosilicate de lutétium ou encore d'orthosilicate de gadolinium. Lors de l'arrivée d'un photon γ incident sur un détecteur, il interagit avec les électrons du réseau cristallin leur cédant une partie de son énergie (diffusion Compton) ou la totalité de son énergie (effet photoélectrique). La réorganisation du cortège électronique ainsi perturbé va provoquer l'émission de photons UV ou visibles. L'énergie des photons lumineux produits est proportionnelle à l'énergie du photon incident. Les photons de scintillation atteignent ensuite le photomultiplicateur qui converti l'énergie lumineuse en signal électrique par effet photo-électrique au niveau de la photocathode. Ce signal est amplifié dans le

photomultiplicateur par une série de dynodes jusqu'à l'anode du tube où l'impulsion électrique créée est collectée et analysée par un système électronique d'acquisition.

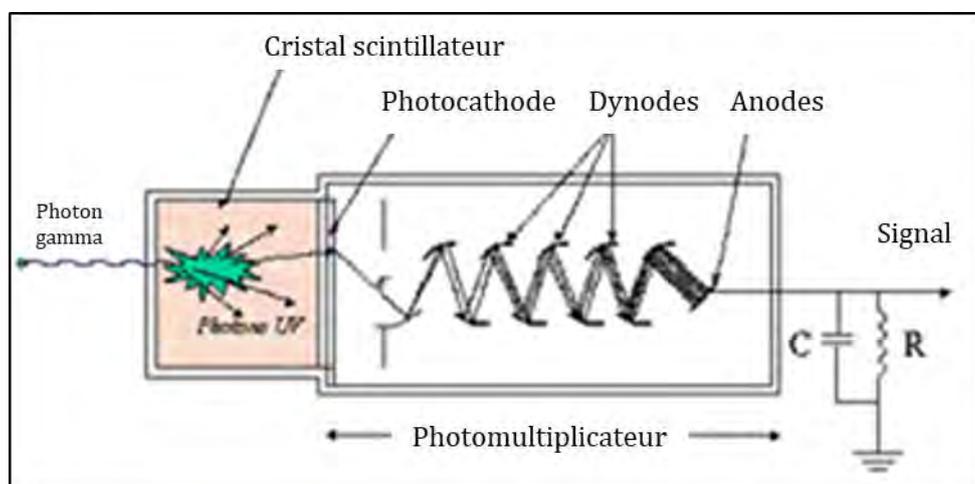


Figure 4 : Transformation du photon γ incident en signal électrique (4)

C – Radioéléments Utilisables en TEP

Les principaux radioéléments utilisés en imagerie nucléaire sont présentés dans le tableau suivant (table 1).

Radionucléides	Demi-vie (h)	β^+_{\max} (max)	ratio β^+ (%)	Production
Rubidium-82	0,02	3,15	100	générateur
Carbone-11	0,34	0,96	100	cyclotron
Gallium-68	1,1	1,9	89	générateur
Fluor-18	1,8	0,63	97	cyclotron
Cuivre-64	12,7	0,66	18	cyclotron
Yttrium-86	14,7	3,15	34	cyclotron
Zirconium-89	78,4	0,9	23	cyclotron
Iode-124	100,2	2,14	24	cyclotron

Table 1 : Principaux radioéléments utilisables en TEP

Les radioéléments émetteurs β^+ utilisables en TEP répondent à plusieurs caractéristiques liées à leurs propriétés physiques et chimiques et à leur mode de production.

Sur le plan physique, l'énergie des positrons est importante car elle doit être suffisamment faible pour obtenir une bonne résolution spatiale (lieu d'annihilation proche du lieu de désintégration) critère garant d'une bonne précision des images. De plus, il est préférable que le rapport d'embranchement de la voie de désintégration β^+ soit majoritaire et qu'il n'y ait pas d'émission de rayonnements γ dont l'énergie soit dans la fenêtre de détection des caméras TEP (*i.e.* proche de 511keV). En effet, cela pourrait engendrer de fausses coïncidences et altérer la qualité des images. Enfin la demi-vie radioactive du radionucléide est également à considérer, celle-ci doit être compatible avec la demi-vie biologique du vecteur utilisé. Elle ne doit pas non plus être trop longue afin de limiter l'irradiation des patients. L'activité doit être suffisante pour permettre la détection du traceur une fois qu'il a atteint sa cible et permettre l'obtention d'un rapport signal sur bruit de fond optimal.

Les caractéristiques chimiques des radioéléments utilisables en TEP sont également importantes car elles vont conditionner la technique de radiomarquage à mettre en œuvre. Le choix du radioélément devra se faire en fonction des possibilités de marquage offerte par le traceur, et inversement. Il est primordial que le radiomarquage n'altère pas les caractéristiques pharmacocinétiques et pharmacodynamiques initiales de la molécule vectrice. Le radiomarquage doit se faire avec un bon rendement et il doit être suffisamment stable *in vivo*.

Idéalement le radioélément doit pouvoir être produit facilement, à faible coût et avec une activité spécifique ainsi que des puretés radionucléidique et radiochimique satisfaisantes. Le mode de production des radioéléments est un critère important à considérer car il conditionne leur disponibilité. Les émetteurs de positrons utilisés actuellement en Médecine Nucléaire sont tous artificiels. Il existe deux grands modes de production : par cyclotron ou à partir de générateurs. Contrairement aux générateurs, les cyclotrons permettent souvent la production de plusieurs radioéléments et peuvent générer de grandes quantités du radioélément à chaque production. Ce sont des machines volumineuses nécessitant un investissement important en termes d'installation, de radioprotection, d'exploitation et de maintenance. Ils nécessitent des locaux appropriés et du personnel qualifié dédié (figure 5). Les générateurs sont de petite taille et ne produisent qu'un seul élément mais permettent une autonomie pour les services ne

possédant pas de cyclotron. Ils ont une durée de vie de quelques semaines à plusieurs mois et une pureté radiochimique et radionucléidique acceptable maintenue tout au long de celle-ci. De plus, les générateurs sont simples d'utilisation et limitent l'exposition du personnel.

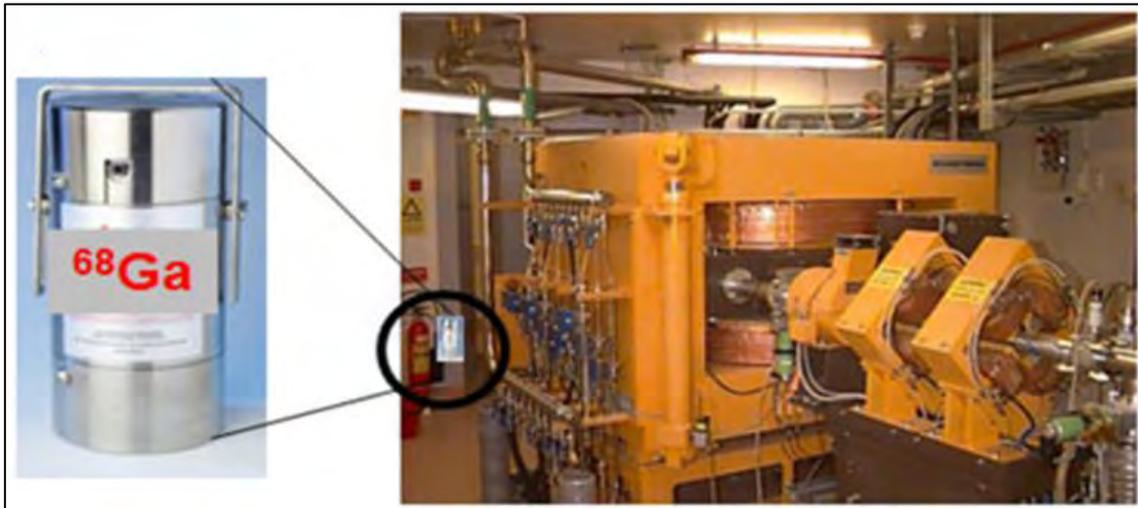


Figure 5 : Différence de taille entre un cyclotron et un générateur

Pour l'imagerie TEP, le Fluor-18 (^{18}F) est certainement le radio-isotope de choix du fait de ses caractéristiques radiophysiques favorables. Cependant sa courte période radioactive requiert une production dans un cyclotron situé à courte distance de chaque centre utilisateur. C'est pourquoi un intérêt croissant s'est développé pour des radioisotopes avec des courtes périodes physiques et qui peuvent être obtenus par générateur, ce qui est le cas pour le ^{68}Ga . Ce radioélément présente en outre l'intérêt d'être un métal et donc d'offrir des possibilités de fixations différentes du fluor ce qui le rend plus versatile (5).

II – LE GALLIUM-68

Le gallium (Ga) est un élément chimique appartenant à la famille des métaux de post-transition du groupe 13 dans le tableau périodique (Annexe 1). Il a été découvert en 1874 par Lecoq de Boisbaudran grâce à ses deux raies principales situées dans le violet. Il s'agit d'un métal d'aspect argenté, à l'état liquide à température ambiante. Il est caractérisé par une masse atomique de 69,72g/mol et une température de fusion de 29,8°C (6). Le gallium possède deux isotopes stables, le ^{69}Ga et le ^{71}Ga représentant respectivement 61,1% et 39,9% du gallium naturel.

A – Le Gallium : Propriétés Chimiques

Le gallium est un élément amphotère, selon le pH, son comportement sera celui d'un acide ou d'une base. En solution aqueuse, seul le degré d'oxydation (+III) est stable (Ga^{3+}). Cependant, la forme ionique Ga^{3+} n'est stable qu'en milieu très acide inférieur à pH 3. Lorsque la solution s'alcalinise, le Ga s'hydrolyse sous forme d'hydroxydes de type $\text{Ga}(\text{OH})^{2+}$, $\text{Ga}(\text{OH})_2^+$ puis finalement $\text{Ga}(\text{OH})_3$ insoluble en solution (7). En milieu basique (pH>9), l'hydroxyde de Ga se solubilise formant l'ion gallate $\text{Ga}(\text{OH})_4^-$, au sein duquel le gallium n'est plus disponible pour réaliser une complexation avec un éventuel ligand. Le Ga^{3+} a un nombre de coordination généralement de 6. C'est un acide fort de Lewis dont le caractère acide de l'état d'oxydation (+III) le conduit à se coordonner avec des espèces donneuses d'électrons, c'est-à-dire des ligands contenant des donneurs azotés, oxygénés ou soufrés tels que les groupements carboxylates, phosphonates, hydroxamates, amines, thiolates ou phénolates (8).

B – Le Gallium-68 : Propriétés Physiques

Le gallium possède plusieurs radio-isotopes dont trois ont fait l'objet de recherches pour leur intérêt potentiel en imagerie nucléaire : le ^{67}Ga , le ^{68}Ga et de façon plus marginale le ^{66}Ga (9). Le ^{67}Ga a un mode de décroissance par capture électronique (CE) et émission γ , il est utilisé sous forme de citrate en imagerie monophotonique pour des applications en oncologie et en infectiologie. Son utilisation se réduit cependant au profit de marqueurs TEP comme le ^{18}F et le ^{68}Ga (10).

Le ^{68}Ga n'est pas un isotope naturel, il est issu de la décroissance radioactive par capture électronique pure du Germanium-68 (^{68}Ge), lui-même artificiel. Le noyau du ^{68}Ga est formé de 31 protons et 37 neutrons. C'est un noyau instable qui présente un excès de protons. Il combine deux modes de décroissance, désintégration β^+ pour près de 89% et capture électronique (figure 6).

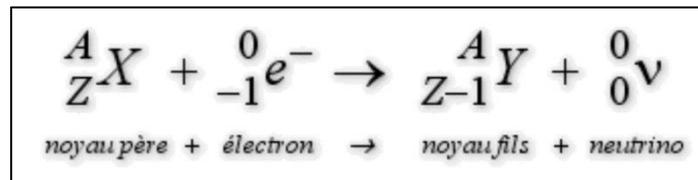


Figure 6 : Equation de désintégration par capture électronique (1)

Le ^{68}Ga a une demi-vie de 67,71min et l'élément fils stable résultant est le Zinc-68 (^{68}Zn). Lors d'une désintégration β^+ , le positron majoritairement émis à une énergie moyenne de 836,02keV et une énergie maximale de 1899,1keV (11). Il a un parcours moyen dans l'eau de 2,9mm. En comparaison, celui du ^{18}F est de 0,6mm (12), en TEP ce paramètre influe sur la résolution spatiale, un parcours court est au bénéfice d'une bonne résolution spatiale. Dans 3,22% des cas, la décroissance radioactive du ^{68}Ga s'accompagne de l'émission d'un photon γ de haute énergie : 1077,3keV (table 2 et figure 7).

Gallium-68	
Element père	Germanium-68
Obention	Générateur $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$
Période physique	67,71 min
Décroissance	β^+ et CE
Element Fils	Zinc-68
Emissions principales	Energie max (keV) et intensité (%)
β^+	1899,1 keV (87,72%)
β^+	821,7 keV (1,19%)
γ (annihilation)	511,0 keV (177,82%)
γ	1077,3 keV (3,22%)

Table 2 : Carte d'identité du ^{68}Ga

La proportion importante d'émission de positrons dans la décroissance du ^{68}Ga (89%) et sa demi-vie de 67,71min rendent cet isotope très intéressant pour une utilisation en médecine nucléaire avec des niveaux de radioactivité suffisants pour obtenir des images de bonne qualité tout en limitant l'irradiation des patients et du personnel (13).

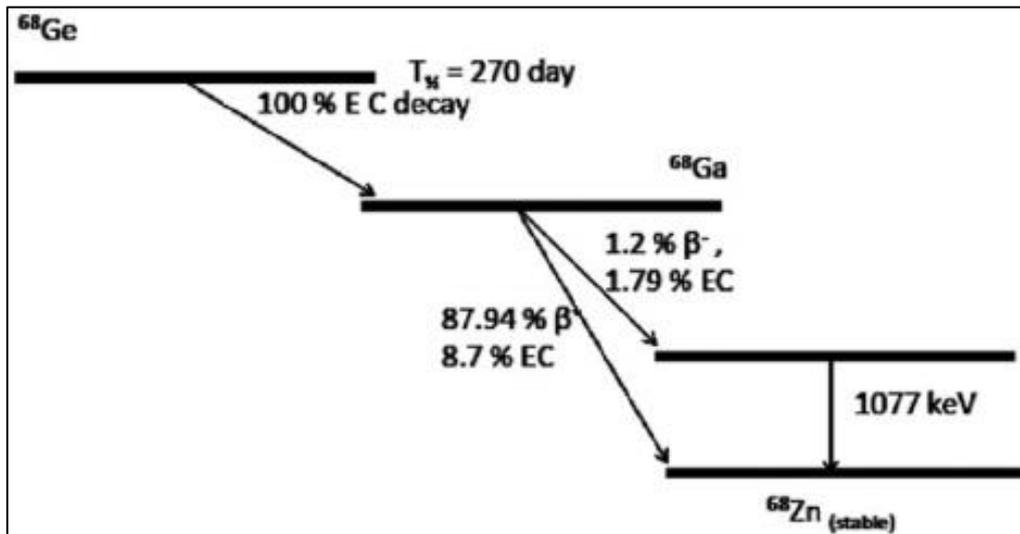


Figure 7 : Schéma de filiation simplifié du ^{68}Ga (14)

C – Production de l'Elément Père : le Germanium-68

Le ^{68}Ge (32 protons) est un radioisotope artificiel qui se désintègre par capture électronique en ^{68}Ga avec une demi-vie de 270,95 jours.

Il est produit artificiellement par un accélérateur de particules ou cyclotron (figure 8). Un cyclotron utilise l'action combinée d'un champ électrique et d'un champ magnétique afin d'accélérer à très haute vitesse un faisceau de particules qui seront projetées vers une cible à irradier pour en modifier la nature (15).

L'appareil présente une chambre d'accélération circulaire où l'application répétée de petits voltages augmente la vitesse des particules, et donc leur énergie cinétique. Lorsque les particules atteignent la vitesse souhaitée, elles sont orientées grâce à un champ magnétique vers une cible qui contient l'élément à transformer. L'irradiation du matériel de la cible produit l'isotope désiré par réaction nucléaire. L'isotope d'intérêt sera ensuite extrait de la cible et purifié pour permettre son utilisation. L'extraction est une étape délicate car les quantités en radionucléide sont généralement de l'ordre de la pico à la femtomole.

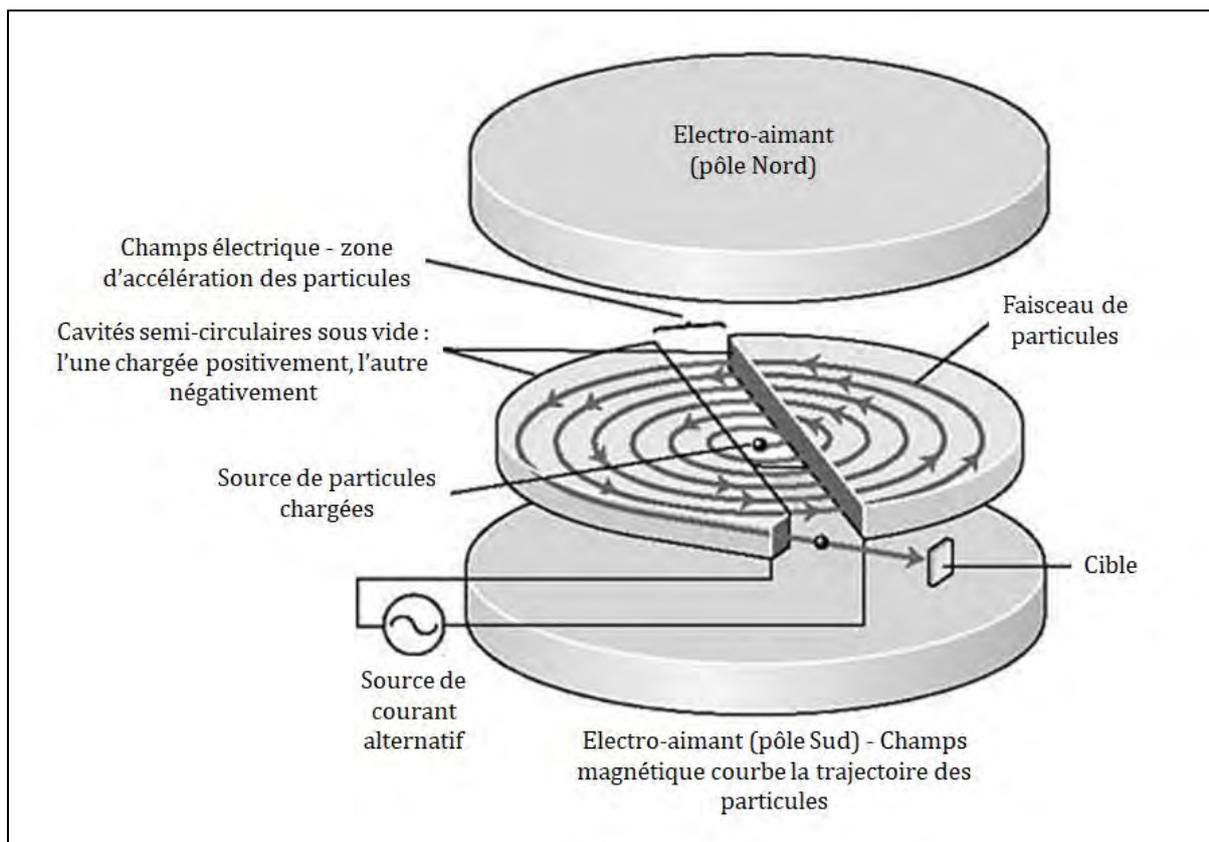


Figure 8 : schématisation du fonctionnement d'un accélérateur de particules

Le ^{68}Ge peut être obtenu par différentes méthodes (table 3), variant selon le type de particules accélérées, leur énergie et les caractéristiques de la cible irradiée (nature, forme et épaisseur) (16,17).

Particule	Réaction nucléaire	Nucléides de la cible
Proton	$(p, 2n)$	^{69}Ga
Proton	$(p, x n) \ x = 2, 4$	Ga naturel ($^{69}\text{Ga}, ^{71}\text{Ga}$)
Proton	$(p, px n)$	Ge naturel
Proton	$(p, x ny p) \ y = 2, 4, 6$	$^{71}\text{As}, ^{79}\text{Br}, ^{81}\text{Br}, ^{85}\text{Rb}, ^{87}\text{Rb}$
Deutéron	$(d, 3n)$	^{69}Ga
Hélium-4	$(\alpha, 2n)$	^{66}Zn
Hélium-3	$(^3\text{He}, x n) \ x = 1, 2, 3$	$^{66}\text{Zn}, ^{67}\text{Zn}, ^{68}\text{Zn}$

Table 3 : Différentes réactions pour la production du ^{68}Ge en cyclotron

p =proton ; n =neutron ; As =Arsenic ; Br =Brome ; Rb =Rubidium ; He =Hélium

Deutéron=noyau du Deutérium (isotope stable de l'Hydrogène) $1p1n$

α =noyau d'Hélium-4 : $2p2n$; Hélium-3 : $2p1n$

Actuellement le ^{68}Ge est produit dans des cyclotrons de haute énergie en utilisant majoritairement des cibles de gallium naturel ou enrichies en isotope de masse 69. Le choix de la cible est crucial pour la production d'un isotope. Elle doit permettre d'extraire de façon rapide et efficace le radionucléide produit en évitant les contaminants. Les cibles de gallium et de germanium sont irradiées par un flux de protons qui sera plus pénétrant qu'un flux de particules α (cibles de Zinc) ce qui augmente le nombre de réactions par unité de surface, donc le rendement. Les cibles de gallium ont cependant supplanté celles de germanium car présentent un meilleur rendement grâce à une meilleure pureté après extraction (figure 9) (16,18).

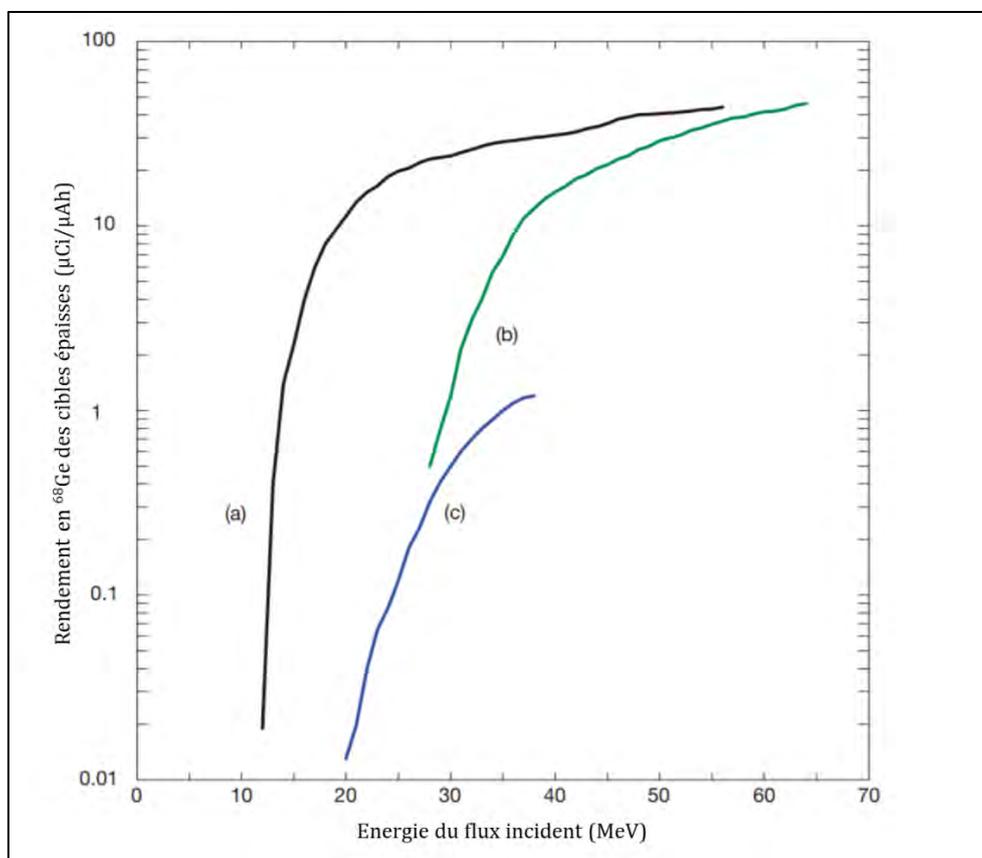


Figure 9 : Comparaison des rendements de production de ^{68}Ge pour les réactions (a) $\text{Ga}(p, xn)^{68}\text{Ge}$; (b) $\text{Ge}(p, pxn)^{68}\text{Ge}$; (c) $\text{Zn}(\alpha, xn)^{68}\text{Ge}$

La réaction nucléaire la plus utilisée pour la production de ^{68}Ge est donc $\text{Ga}(p, xn)^{68}\text{Ge}$. Elle a été validée par un groupe d'experts de l'Agence Internationale à l'Energie Atomique (IAEA) pour la production de générateurs à visée médicale (19). Au cours de cette réaction, les isotopes de ^{69}Ga (31p, 38n) et de ^{71}Ga (31p, 40n) de la cible sont bombardés

par un flux de protons. Un proton est alors intégré au noyau et deux neutrons (pour le ^{69}Ga) ou quatre (pour le ^{71}Ga) en sont éjectés pour aboutir au ^{68}Ge (32p, 36n).

Cette méthode de production nécessite une irradiation de plusieurs jours et des intensités de flux de protons importantes. Seuls quelques accélérateurs de particules dans le monde ont la capacité de produire du ^{68}Ge (Afrique du Sud, Allemagne, Etats-Unis, France, Kazakhstan, Russie) (16).

D – Le Générateur de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$

1 - Générateurs : généralités

Les générateurs de radionucléides étaient historiquement appelés « vaches » car, d'une façon assez imagée, le radioélément fils était « trait » (extrait) de son précurseur, le radioélément père générant un apport « frais » et régulier en élément fils.

Le concept des générateurs de radionucléides repose sur une séparation radiochimique efficace des radionucléides père et fils en décroissance, de sorte que l'élément fils soit obtenu avec une excellente pureté radionucléidique (sans contamination par d'autres radionucléides) et radiochimique (sous la forme chimique adéquate). Ce concept n'est possible que si l'élément père a une demi-vie supérieure à celle de l'élément fils. Ce couple père/fils doit être en équilibre pour pouvoir utiliser le générateur. Les radioéléments père et fils ne sont pas isotopes ce qui permet leur séparation car leurs propriétés chimiques sont suffisamment différentes (20).

En pratique, dans le cas des générateurs de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$, après production du précurseur par un cyclotron haute énergie, celui-ci est fixé dans le générateur sur une colonne d'absorption. Le générateur est ensuite livré dans le service de médecine nucléaire pour utilisation. L'élément fils produit par désintégration de son précurseur est récupéré par séparation chimique et cette étape est communément appelée élution. L'ensemble formé du radionucléide fils et du solvant d'élution est appelé éluat.

2- Principe d'équilibre

Un radionucléide décroît en suivant une loi exponentielle selon :

$$N = N_0 \cdot e^{-\lambda t} \quad \text{ou} \quad A = A_0 \cdot e^{-\lambda t}$$

Où N , N_0 , A et A_0 représentent respectivement le nombre d'atomes et l'activité au temps t et au temps $t=0$. γ est la constante de décroissance radioactive de l'isotope considéré, elle est liée à sa demi-vie T ou $T_{1/2}$ (temps au bout duquel $N=N_0/2$) selon la formule :

$$\lambda = \frac{\ln 2}{T_{1/2}}$$

Lorsqu'un radioélément (élément père, noté 1) décroît en un second (élément fils, noté 2) lui-même radioactif, les paramètres de décroissance du père doivent être pris en considération pour décrire ceux du fils. L'élément fils est formé selon le taux de décroissance du père $\lambda_1 \cdot N_1$ et décroît selon son propre taux de désintégration $\lambda_2 \cdot N_2$. Ainsi, le nombre de noyaux fils au cours du temps répond à l'équation suivante :

$$N_2 = \frac{\lambda_1}{\lambda_2 - \lambda_1} \cdot N_{(0)1} \cdot (e^{-\lambda_1 t} - e^{-\lambda_2 t}) + N_{(0)2} \cdot e^{-\lambda_2 t}$$

Lorsque l'élément père a une demi-vie plus longue que l'élément fils : $T_1 > T_2 \Leftrightarrow \lambda_1 < \lambda_2$; le facteur $e^{-\lambda_2 t}$ devient négligeable devant $e^{-\lambda_1 t}$; et pour un temps t suffisamment long, le terme $N_{(0)2} \cdot e^{-\lambda_2 t}$ devient également négligeable. L'équation devient :

$$N_2 = \frac{\lambda_1}{\lambda_2 - \lambda_1} \cdot N_{(0)1} \cdot e^{-\lambda_1 t}$$

Or, $N_{(0)1} \cdot e^{-\lambda_1 t} = N_1$, Le ratio entre le nombre de noyaux des deux radionucléides est :

$$\frac{N_1}{N_2} = \frac{\lambda_2 - \lambda_1}{\lambda_1}$$

Par conséquent le ratio des activités absolues A ($A=\lambda \cdot N$) des deux radionucléides est :

$$\frac{A_1}{A_2} = \frac{\lambda_2 - \lambda_1}{\lambda_2} = 1 - \frac{\lambda_1}{\lambda_2}$$

Ce ratio entre les deux activités doit avoir une valeur comprise entre 0 et 1, tendant vers 1 quand λ_2 est grand par rapport λ_1 .

Lorsque la radioactivité du père ne décroît pas significativement pendant plusieurs demi-vies de l'élément fils ; c'est-à-dire que la demi-vie du père est très grande devant celle du fils : $T_1 \gg T_2$, (donc $\lambda_1 \ll \lambda_2$) avec un facteur supérieur à 100, les équations peuvent se simplifier et on obtient alors :

$$\frac{N_1}{N_2} = \frac{\lambda_2}{\lambda_1}$$

et

$$\mathbf{A_1 = A_2}$$

On parle ici d'équilibre séculaire, la quantité du radioisotope fils reste constante du fait de son taux de production (désintégration du père) égal à son taux de désintégration et qui ne dépassera donc pas l'activité de l'élément père (16,21,22).

C'est le cas pour les générateurs de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ où le facteur entre la demi-vie du ^{68}Ge et celle du ^{68}Ga est de 5762.

Dans ce cas d'un équilibre séculaire, le temps t nécessaire pour obtenir l'activité maximum du fils est égal à :

$$t = \frac{1}{\lambda_2 - \lambda_1} \ln \frac{\lambda_2}{\lambda_1}$$

Avec le système $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$, l'activité théorique maximale générée est atteinte après 14,1h. Cependant, après un temps égal à trois demi-vies du ^{68}Ga , soit 3,4h, près de 91% de l'activité théorique maximale est déjà générée (13) (figure 10). Ceci permet, si nécessaire en utilisation clinique, une élution toutes les quatre heures environ selon l'activité initiale du générateur (en ^{68}Ge) et de son âge (figure 11).

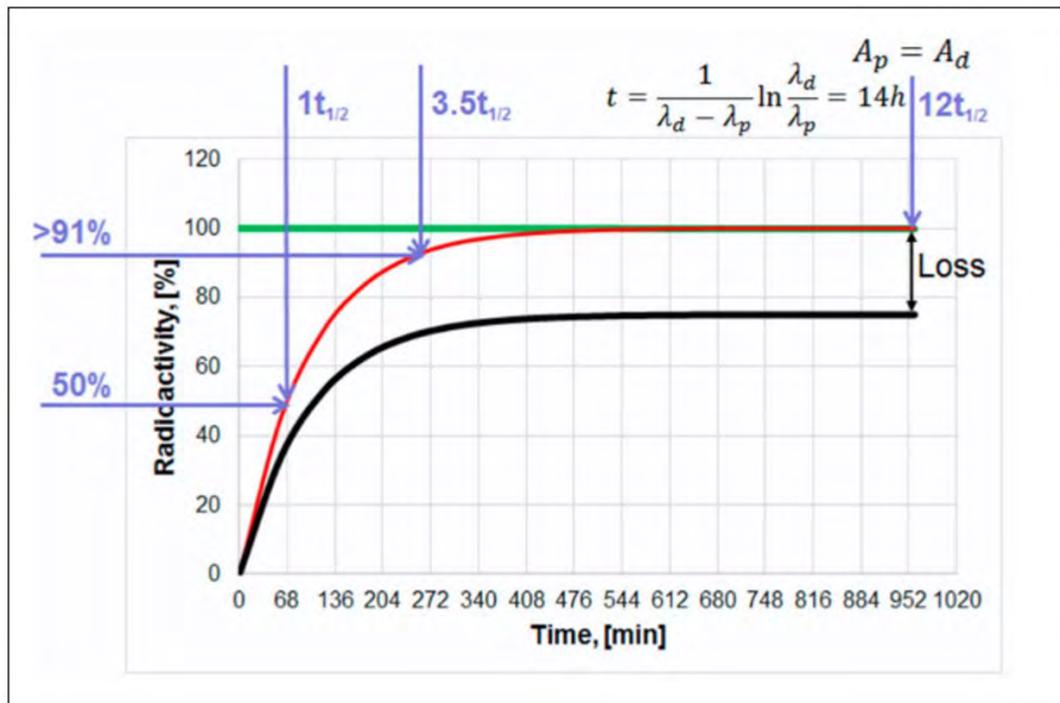


Figure 10 : Equilibre séculaire avec la décroissance de ^{68}Ge et l'accumulation de ^{68}Ga
 La ligne verte représente la décroissance du ^{68}Ge avec l'activité du ^{68}Ge notée A_p ; La ligne rouge représente la croissance du ^{68}Ga avec l'activité du ^{68}Ga notée A_d ; La ligne noire représente la cinétique d'accumulation du ^{68}Ga corrigée du rendement d'éluion

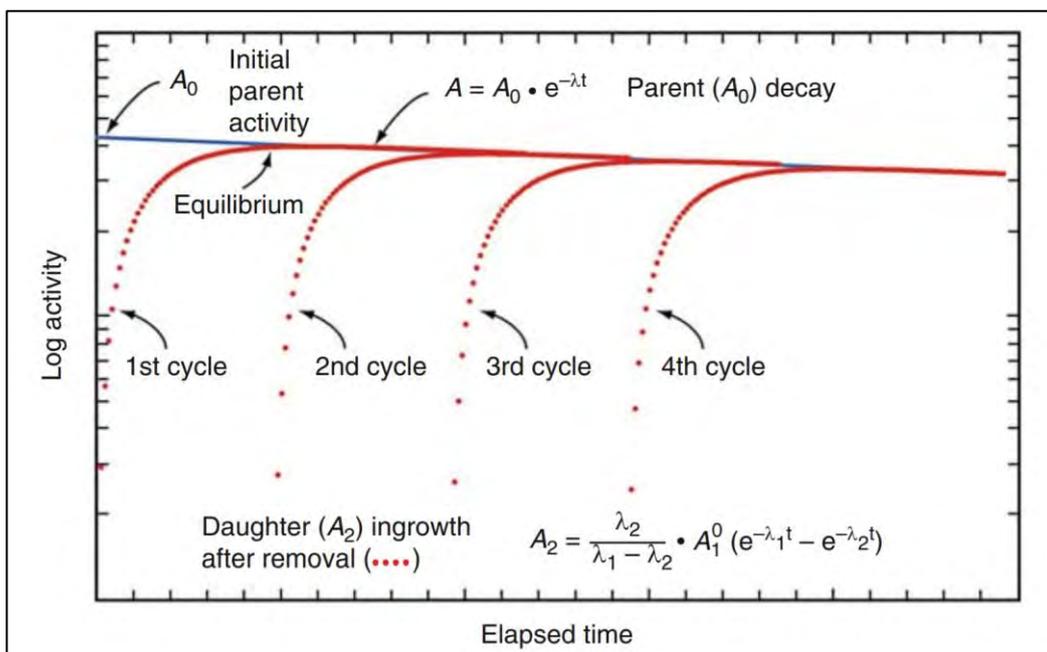


Figure 11 : Cinétique de régénération de l'élément fils après trois éluions successives à l'équilibre

3 - Evolution des générateurs de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$

a - Procédés d'extraction

Les générateurs de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$, bien que commercialisés depuis moins d'une dizaine d'années ne sont pas si récents que cela. La production de ^{68}Ga à partir de ^{68}Ge a été décrite dès les années 50 et le premier générateur pour l'obtention de ^{68}Ga date de 1960 et reposait sur un procédé d'extraction liquide/liquide (23). Le gallium obtenu était sous forme d'ion libre utilisable pour un possible marquage. Cependant il n'était utilisable en clinique car les volumes nécessaires à l'obtention d'une activité suffisante de ^{68}Ga étaient trop importants et les solvants d'extraction utilisés étaient toxiques. D'autres techniques développées ensuite ont montré un excellent rendement de purification mais le ^{68}Ga était obtenu sous forme d'hydroxyde inutilisable pour un marquage (24).

Le procédé d'extraction liquide/liquide est aujourd'hui supplanté par les générateurs utilisant une extraction solide/liquide via une résine échangeuse d'ions. Les premiers générateurs utilisant ce procédé remontent à 1964 (25,26).

Le principe repose sur une l'utilisation d'une phase stationnaire (matrice) constituée de macromolécules formant un solide poreux insoluble dans les solvants d'élution et ayant la propriété de pouvoir échanger des ions avec la phase mobile. Les colonnes développées pour la production de générateurs $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ sont constituées de matrices échangeuses de cations. Elles ont comme propriété principale de retenir sélectivement le ^{68}Ge tout en facilitant l'élution du ^{68}Ga .

b - Les matrices

Les premières matrices étaient en alumine (oxyde d'aluminium : Al_3O_2) et, l'élution réalisée par une solution d'EDTA (ÉthylèneDiamineTétraAcétate) fournissait un complexe ^{68}Ga -EDTA utilisé pour la détection de tumeurs cérébrales (27). Elles ne permettaient cependant que la production de ^{68}Ga -EDTA dont la décomplexation longue et difficile ne permettait pas de réaliser d'autres synthèses. D'autres matrices ont ensuite fait leur apparition avec pour ambition de fournir du ^{68}Ga en solution sous sa forme ionique $^{68}\text{Ga}^{3+}$. Elués par une solution d'acide chlorhydrique (HCl) ces nouveaux générateurs intègrent une matrice inorganique métallique de type $\text{Me}^{\text{IV}}\text{O}_2$ (avec Me^{IV} un métal au degré d'oxydation +IV) tels que le dioxyde d'étain (SnO_2), le dioxyde de zirconium (ZrO_2) ou le dioxyde de titane (TiO_2) (28,29).

L'utilisation de matrices organiques à base de résines de polymères (pyrogallol-formaldéhyde) a également été développée permettant l'élution de $^{68}\text{Ga}^{3+}$ par de l'acide chlorhydrique (figure 12).

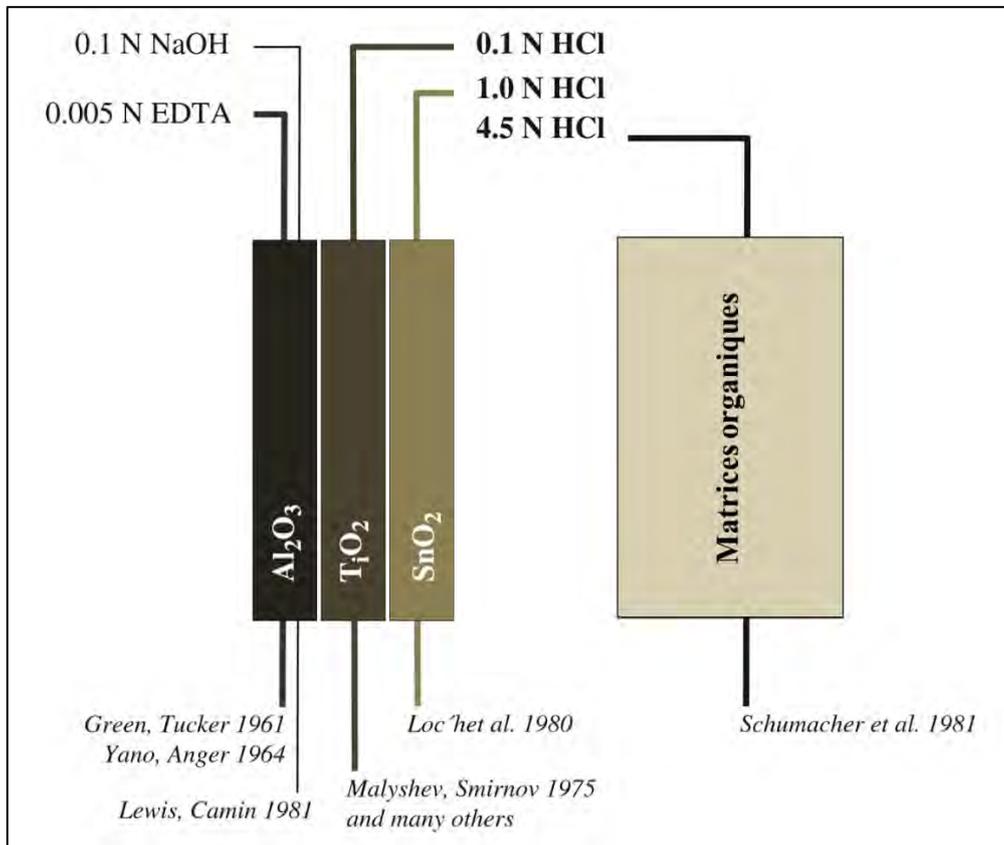


Figure 12 : Matrices cationiques inorganiques et organiques

c - Contraintes techniques à relever pour les générateurs de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$

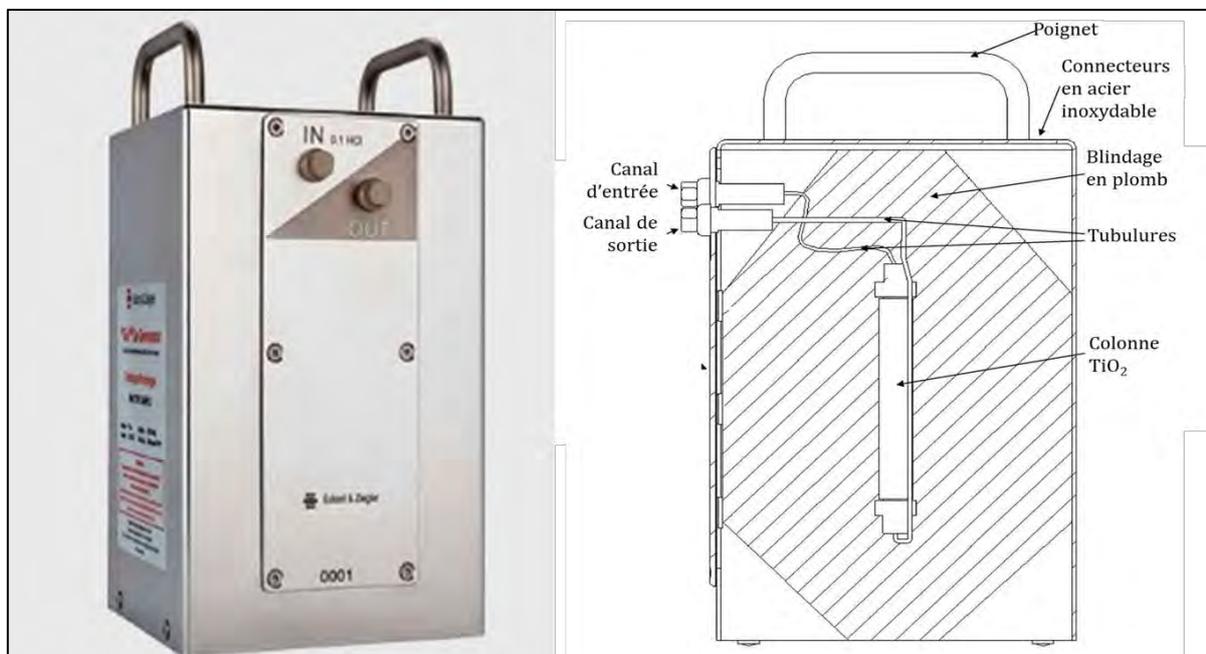
- Le ^{68}Ga doit être élué sous forme réactive d'ions libres $^{68}\text{Ga}^{3+}$ avec une très bonne pureté radiochimique et radionucléidique.
 - o Les matrices doivent être les plus sélectives possible pour réduire au maximum la présence de l'élément père et des impuretés métalliques pouvant se décrocher de la colonne et se retrouver dans l'éluat. Celles-ci entreraient alors en compétition avec le gallium lors du marquage, réduisant son rendement.
 - o Les matrices doivent posséder une bonne résistance à l'irradiation et une stabilité vis-à-vis de l'utilisation répétée des solvants d'élution.

- Le générateur et le solvant d'élué sont destinés à la fabrication de médicaments injectables à l'homme, le maintien de leur stérilité/apyrogénicité doit être assuré.
- Les solvants d'élués doivent être non toxiques pour l'homme.
- Le volume de l'éluat doit être limité ainsi que sa concentration en protons H⁺ qui peuvent interférer dans le radiomarquage et en diminuer son rendement.

4 - Générateur Galliapharm[®]

Actuellement, plusieurs générateurs sont commercialisés, ils sont tous composés d'une matrice solide et élués par une solution d'HCl pour obtenir le ⁶⁸Ga³⁺. Ces générateurs diffèrent entre eux par la composition de leur matrice, inorganique (ex : laboratoire Eckert&Ziegler) ou organique (ex : laboratoire ITG) et la concentration d'HCl utilisée pour l'élué. De ce fait, ils possèdent des caractéristiques propres, en termes de rendement d'élué et de relargage de ⁶⁸Ge dans l'éluat.

Le générateur Galliapharm[®] du laboratoire Eckert&Ziegler (Allemagne) a été le premier à répondre aux exigences de fabrications de grade GMP (Good Manufacturing Practice) pour la production de médicaments à usage humain (figure 13). Au premier semestre 2018, il est le seul à avoir une autorisation de mise sur le marché (AMM) en France (30).



*Figure 13 : Générateur Galliapharm[®]
(14kg, 23x13x13cm)*

Ce générateur utilise une matrice en TiO₂. Il est élué avec un volume de 5mL d'HCl 0,1N stérile ultrapur et a une durée de vie de 12 mois. Il ne relargue pas plus de 0,001% de ⁶⁸Ge par élution, même en fin de vie et son rendement en activité reste supérieur 60% de façon constante. Un générateur de 1,85GBq à la date de calibration aura une activité en ⁶⁸Ge en fin de vie de 0,7GBq ce qui permettra d'obtenir des éluations de ⁶⁸Ga de près de 1100MBq et 420MBq en début et fin de vie respectivement (31).

Les éluats sont conformes aux spécifications présentées dans la table 4 pendant toute la durée de vie du générateur (32).

Critères	Spécifications
Apparence	Solution claire et limpide
Identification ⁶⁸ Ga	Demi-vie de 62 à 74 min
Rendement en activité	> 60% de l'activité nominale
Impuretés chimiques	Fe < 10 µg/GBq Zn < 10 µg/GBq
Impuretés radionucléidiques (émissions γ)	< 0,001% de l'activité nominale
Pureté radiochimique	> 95% de ⁶⁸ Ga ³⁺ libre
pH	0,5 - 2,0
Qualité microbiologique	Stérile
Endotoxines bactériennes	< 30 EU/mL

Table 4 : Spécifications de l'éluat de ⁶⁸Ga du générateur Galliafarm®

L'éluat ainsi obtenu contient plus de 95% de ⁶⁸Ga³⁺ libre, directement utilisable pour réaliser le radiomarquage d'un traceur d'intérêt.

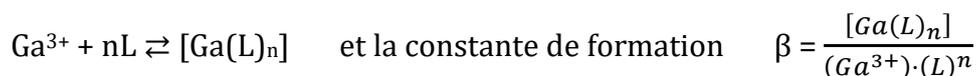
E – Radiochimie : Complexation du ⁶⁸Ga – les Chélateurs

Comme les autres ions métalliques utilisés en médecine nucléaire (Y³⁺, In³⁺, Cu²⁺, Zr⁴⁺, Sc³⁺), le gallium ne peut pas être directement incorporé à un vecteur par liaison covalente, mais doit être complexé avec un chélate en utilisant les principes bien établis de la chimie de coordination.

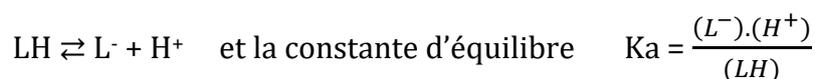
1 - Chimie de coordination : stabilité des complexes

Le cation Ga^{3+} est considéré comme un acide dur de Lewis du fait de sa forte densité cationique et de son court rayon ionique (62pm), c'est un accepteur d'électrons. Il a une configuration électronique lui permettant d'accepter différents nombres de coordinations, majoritairement 6 mais 4 ou 5 sont possibles également (33,34). Il va préférentiellement se coordonner avec des bases dures (espèces donneuses d'électrons, de forte électronégativité) telles que l'oxygène ou l'azote, ou bien le soufre dans une moindre mesure, pour former des complexes thermodynamiquement stables (35,36).

La stabilité des complexes est mesurée par la grandeur thermodynamique β , constante de formation du complexe qui représente l'équilibre chimique des espèces en solution (37). On parle aussi parfois de constante de dissociation K_d , qui est lié à β par la relation $K_d=1/\beta$. Plus β est grand (donc $\log(\beta)$ est grand), plus le complexe est stable (K_d petit et pK_d grand) (38). Dans le cas du ^{68}Ga , la réaction de complexation s'écrit :



Cependant il faut noter que les ligands (L) sont des bases de Lewis et qu'elles sont donc perpétuellement susceptibles de se protoner en solution aqueuse selon la réaction et la constante d'équilibre suivante :



Ces réactions de protonation d'un ligand entrent en compétition avec celle de complexation. Il est plus réaliste de calculer pM ($-\log[M]$) qui représente la concentration résiduelle de métal après complexation et reflète l'efficacité de complexation du ligand. Plus la valeur pM est élevée, plus le ligand est affiné. Elle permet ainsi de comparer directement l'affinité de différents ligands vis-à-vis des métaux en s'affranchissant de leurs pK_a et du nombre de groupes donneurs des ligands (denticité).

En effet certains ligands présentent plusieurs atomes donneurs susceptibles de former des liaisons avec un atome métallique, ce sont des ligands polydents ou chélatants. Ces

chélatants peuvent former des cycles autour de l'ion métallique ayant un effet stabilisant sur le complexe que l'on nomme effet chélate. Pour les ligands ayant des cycles chélates identiques, le nombre d'atomes engagés dans chaque cycle ainsi que le rayon ionique du cation métallique contribuent également à la stabilité du complexe (39). D'une manière générale, plus le rayon ionique est petit, plus le complexe est stable (40) et plus le cycle formé est large, moins le complexe est stable.

Outre la stabilité des complexes, un autre paramètre à considérer pour l'utilisation de chélates en clinique est l'inertie cinétique. Plus l'inertie cinétique est élevée plus la réaction de radioméallation/décomplexation sera lente. Elle peut se révéler essentielle pour limiter la déméallation *in vivo*. Ainsi, même un complexe avec une stabilité moyenne mais une inertie cinétique élevée pourra être utilisé en imagerie si la biodistribution du traceur employé est plus rapide que la décomplexation du métal. *A contrario*, dans le cas des radionucléides à demi-vie courte, comme le ^{68}Ga (67,71min), une inertie cinétique élevée n'est pas favorable car allonge le temps de complexation. Un compromis entre une complexation rapide et une décomplexation lente est donc le plus souvent recherché. Pour accroître la cinétique de complexation sans modifier celle de déméallation, des techniques de chauffage lors du radiomarquage peuvent être mises au point (41). Dans ce cas il faut veiller à utiliser des vecteurs non thermolabiles.

2 - Les chélateurs du ^{68}Ga

La conception de la plupart des radiotraceurs marqués au ^{68}Ga repose sur l'utilisation d'agents chélateurs bifonctionnels. Ces composés sont capables à la fois de coordonner le radiométal d'un côté et de se conjuguer par liaison covalente à des molécules vectrices par un groupe fonctionnel approprié de l'autre côté (souvent $-\text{NH}_2$ ou $-\text{COOH}$).

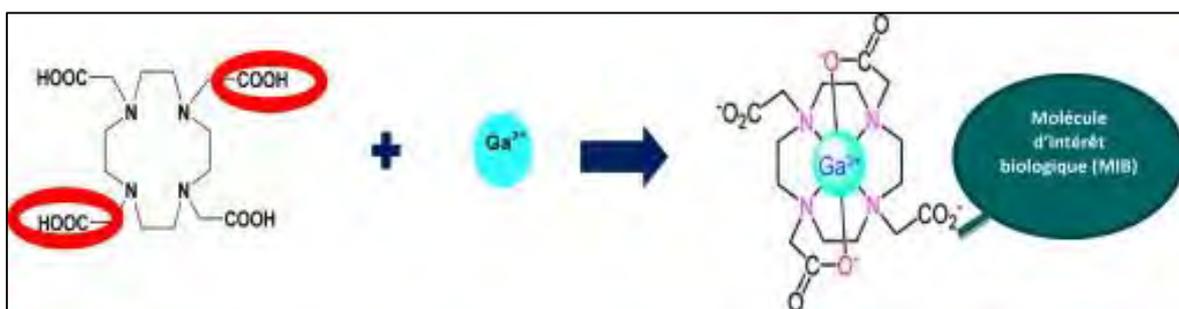


Figure 14 : Exemple schématique d'un chélateur bifonctionnel, le DOTA

Les chélatants bifonctionnels doivent remplir plusieurs critères pour développer des produits radiopharmaceutiques à base de gallium :

- Leur liaison à une molécule vectrice ne doit pas altérer leur complexation au métal. La chélation doit être rapide et efficace.
- Inversement leur liaison à la molécule vectrice ne doit pas trop perturber les caractéristiques chimiques et donc les paramètres pharmacodynamiques *in vivo* de celle-ci. La taille et la charge des chélates peuvent modifier l'affinité du traceur pour son récepteur. Leur lipophilie peut également perturber l'élimination du médicament radiopharmaceutique (MRP).
- Le chélate obtenu doit être cinétiquement stable face à la démétallation à pH 4-8 et en présence d'autres cations présents dans le sérum (Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+}).
- Il doit être stable vis-à-vis de l'hydrolyse pour éviter la formation d'hydroxydes de gallium insolubles (GaOH_3) et solubles (GaOH^{2+} et GaOH_2^+).
- Les complexes ^{68}Ga doivent être plus stables que le complexe ^{68}Ga -transferrine pour éviter la transchélation car la transferrine présente deux sites de liaison des ions métalliques. Le Ga^{3+} et le Fe^{3+} ont un état d'oxydation (III) et des rayons ioniques similaires, respectivement 62pm et 65pm. La constante de formation du complexe Ga-transferrine, $\log \beta$, est de 20,3 et 19,3 sur chacun des deux sites de liaison que porte la transferrine, et le pGa moyen est de 19,7 (42).

Une forte coordination du chélatant est toujours nécessaire pour obtenir une stabilité suffisante. Donc, les ligands qui forment des complexes hautement stables avec les ions Ga^{3+} sont hexadentés. Ils séquestrent le Ga^{3+} en utilisant son nombre de coordinations maximum ($n = 6$) et ils contiennent des groupes carboxyle, amine, phénol ou thiol.

Il existe deux grandes classes de chélatants bifonctionnels : les macrocycliques et les acycliques. En général, les complexes chélateurs acycliques sont moins inertes que les complexes macrocycles de stabilité comparable (43).

a - Les chélateurs macrocycliques

Les poly-aza-macrocycles dérivant du TACN (1,4,7-triazacyclononane) et du cyclène (1,4,7,10-tétraazacyclododécane) sont les plus étudiés actuellement. Ils ont généralement une bonne inertie cinétique réduisant les phénomènes de transchélation ou de

démétallation *in vivo*. C'est l'effet macrocyclique qui est à la base de ces propriétés de par la pré-organisation des sites de complexation limitant la perte d'énergie. Pour augmenter leur denticité, des atomes donneurs ont été additionnés sur des « bras » greffés aux amines secondaires du macrocycle. Ils ont pour rôle de saturer la sphère de coordination du ^{68}Ga à 6, ce qui stabilise le complexe et le radiomarquage et peut éventuellement offrir des sites de fonctionnalisation additionnels utiles pour la conjugaison à la molécule vectrice (44).

L'acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7,10-tétraacétique (DOTA)

Cyclène substitué par quatre bras carboxyliques, le DOTA est le plus commun des chélatant du gallium (figure 15) (45). Ses fonctions carboxyles supplémentaires lui permettent une coordination de maximum de 8 qui pourrait permettre la complexation de cations métalliques tels que In^{3+} . Dans le cas du ^{68}Ga , le nombre de coordinations maximum est de 6 donc seuls deux bras carboxyles servent à la complexation, en plus du cycle N_4 (46).

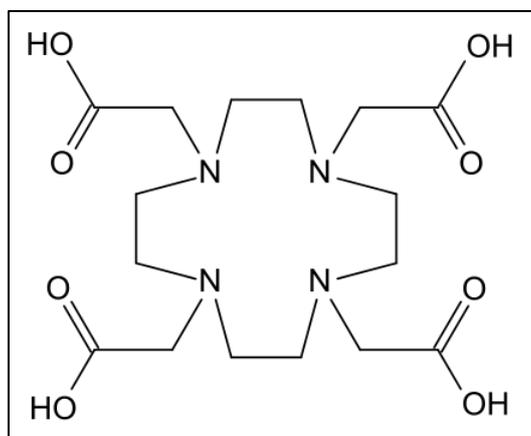


Figure 15 : Structure du DOTA

L'un des groupements carboxyle du DOTA est souvent transformé et utilisé pour permettre la conjugaison au vecteur sous forme d'ester activé très peu complexant. Ceci diminue la denticité du chélateur, ce qui provoque souvent la diminution de la stabilité des complexes impliquant des ions avec un nombre de coordination de 8 (47). De nombreux dérivés du DOTA ont été développés pour répondre à cette problématique. Ces

DOTA modifiés n'ont qu'un intérêt limité pour le ^{68}Ga (coordinance de 6) mais serviront essentiellement pour d'autres radiométaux tels que le ^{177}Lu ou l' ^{111}In .

Malgré une stabilité moyenne avec le Ga ($\log(\beta)$ de 21,33 avec le Ga^{3+} et pGa de 15,3 (45)), proche de celles du complexe Ga-transferrine, le DOTA possède une grande inertie cinétique. Mais ceci implique une réaction de complexation lente. Les protocoles de radiomarquage intègrent un chauffage à plus de 90°C pendant plusieurs minutes pour obtenir un rendement supérieur à 90%. Ceci limite son utilisation à des molécules thermorésistantes comme les peptides.

L'acide 1,4,7-triazacyclononane-1,4,7-triacétique (NOTA)

Dérivé du TACN, le NOTA est un chélatant hexadenté dont le cœur N_3O_3 procure une grande stabilité thermodynamique ($\log(\beta)$ de 30,98 et pGa de 26,4 (45)) de part la taille de son cycle plus adaptée au rayon ionique du Ga^{3+} comparément au DOTA (figure 16). Le NOTA engage ces trois bras carboxylates dans la complexation du Ga^{3+} et présente une charge neutre à pH physiologique. Dans cette configuration aucun des bras n'est disponible pour la fonctionnalisation. Si l'un de ses bras carboxylates est mobilisé pour créer une liaison directe à un vecteur, la stabilité thermodynamique du complexe est compromise car la coordination optimale de 6 du Ga^{3+} n'est plus possible. De plus, le complexe devient chargé positivement, ce qui peut modifier les propriétés biologiques du vecteur (48).

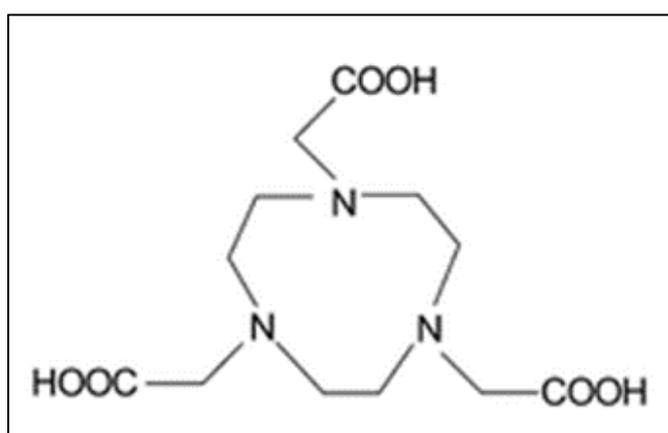


Figure 16 : Structure du NOTA

Différents dérivés fonctionnalisés ont été proposés pour être conjugués à des peptides tout en préservant la denticité maximale du NOTA, avec notamment une fonctionnalisation sur un carbone entre un carboxyle et un azote du cycle. On peut citer

parmi eux le NODAGA qui, marqué au ^{68}Ga et conjugué au RGD (motif arginine-glycine-aspartate) a montré un potentiel prometteur comme traceur des intégrines dans l'imagerie de l'angiogenèse avec des applications en cardiologie et en oncologie (49) (figure 17).

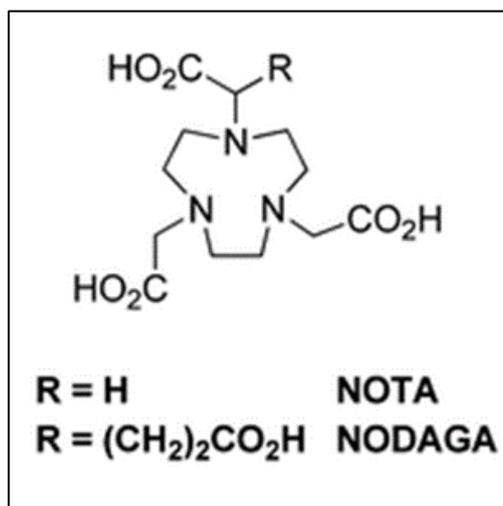


Figure 17 : Structure du NODAGA

b - Les chélateurs acycliques

La complexation des chélateurs acycliques impose un changement drastique de leur géométrie pour que les atomes donneurs se coordonnent avec l'ion métallique. Pour la plupart ils ont une inertie cinétique plus faible que les chélateurs macrocycliques, ce qui les rends plus vulnérables à une démétallation *in vivo*. Mais cela se traduit également par une réaction de complexation souvent plus rapide.

L'acide N,N'-bis(2-Hydroxybenzyl)éthylènediamine-N,N'-diacétique (HBED)

L'HBED est un dérivé voisin de l'EDTA qui a été décrit dans les années 60 (50). Il a une forte affinité pour le Ga^{3+} avec un $\log(\beta)$ de 38,51 et un pGa de 28,6. Il est caractérisé par une réaction de complexation rapide avec le Ga^{3+} avec de très bons rendements et sa stabilité dans le sérum est comparable à celle du NOTA (51) ce qui le singularise de la majorité des chélateurs acycliques. La réaction de complexation est rapide même à température ambiante, il est donc un ligand particulièrement intéressant pour le radiomarquage de molécules thermolabiles.

Parmi ces dérivés fonctionnalisés, l'HBED-CC a particulièrement été étudié et utilisé. Il présente une bifonctionnalisation avec deux bras carboxyles sur les cycles phényles qui permet sa conjugaison à de multiples molécules vectrices (52,53) (figure 18).

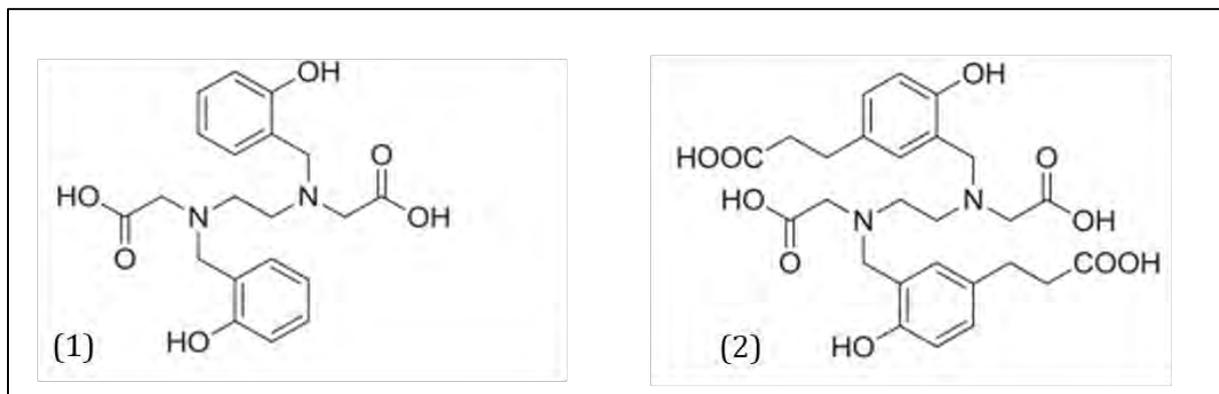


Figure 18 : Structures de l'HBED (1) et de l'HBED-CC (2)

L'HBED et l'HBED-CC ont une coordinance de 6 et engagent quatre atomes d'oxygène (les deux hydroxyles des cycles phényles et ceux des deux fonctions acétiques) et deux atomes d'azote (ceux de la fonction éthylènediamine) dans la complexation du Ga^{3+} . Cette complexation entraîne une modification de la conformation du ligand qui peut se trouver sous la forme de trois diastéréoisomères distincts présentant chacun deux énantiomères (54) (figure 19).

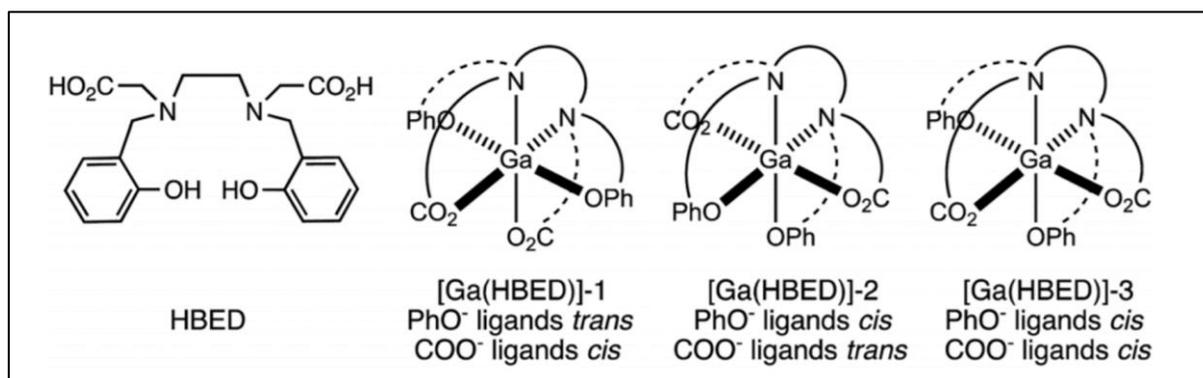


Figure 19 : Trois isomères géométriques possibles pour le chélate $[\text{Ga}(\text{HBED})]$

Ce panel de chélateurs bifonctionnels, encore en expansion, a permis le développement de traceurs marqués au ^{68}Ga pour une utilisation en TEP. Actuellement, encore peu de médicaments marqués au ^{68}Ga sont utilisés en clinique. Les plus répandus et les premiers

commercialisés sont des traceurs utilisant le DOTA comme chélateur du gallium. Ces traceurs, ^{68}Ga -DOTA-TOC, ^{68}Ga -DOTA-TATE et ^{68}Ga -DOTA-NOC essentiellement, ciblent les récepteurs à la somatostatine et sont indiqués dans le diagnostic des tumeurs neuroendocrines.

Dans le domaine de l'oncologie, d'autres traceurs sont en développement, ou au début de leur utilisation clinique, et explorent d'autres types de tumeurs. C'est le cas notamment du ^{68}Ga -PSMA-11 dans le cancer de la prostate.

III – LE CANCER DE LA PROSTATE

La prostate est une glande de l'appareil génital masculin située sous la vessie et en avant du rectum, elle entoure l'urètre au niveau de la confluence des voies urinaires et spermatiques (figure 20). Elle est de couleur blanche à rose pâle et a une consistance élastique, son volume moyen est de 20cm³ chez l'homme jeune et augmente avec l'âge. Son rôle principal est de sécréter et stocker une partie du liquide séminal.

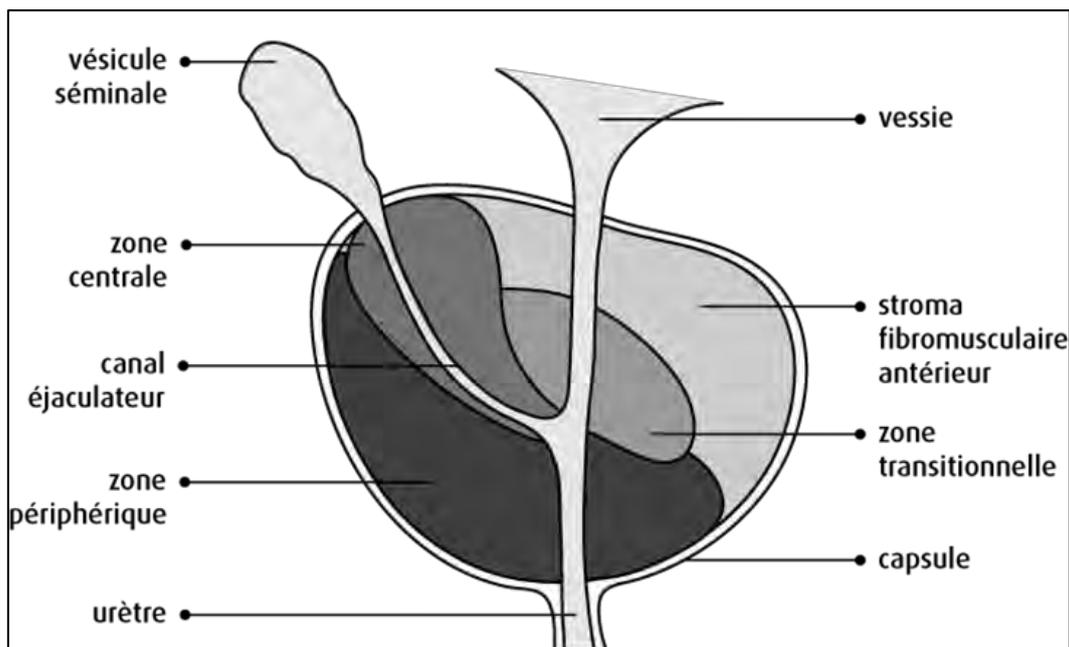


Figure 20 : La prostate

A – Epidémiologie

En France, le cancer de la prostate est le cancer le plus fréquent de l'homme de plus de 50 ans (près de 50000 nouveaux cas de cancer de la prostate en 2013 en France métropolitaine) et il représente la troisième cause de décès par cancer chez l'homme (8207 décès estimés en 2017 en France métropolitaine). Il survient dans environ 66% des cas chez des hommes âgés de 65 ans et plus et il reste exceptionnel avant 40 ans. La mortalité est en baisse constante depuis 1990 : elle est passée de 18,1/100000 en 1990 à 10,8/100000 en 2011 (55) (figure 21) et est estimée à 8,2/100000 en 2017 (56). Cela s'explique en partie par l'amélioration des traitements, notamment pour les cancers

évolués, et par l'accès au dépistage du cancer de la prostate, qui permet de les diagnostiquer à un stade précoce (57).

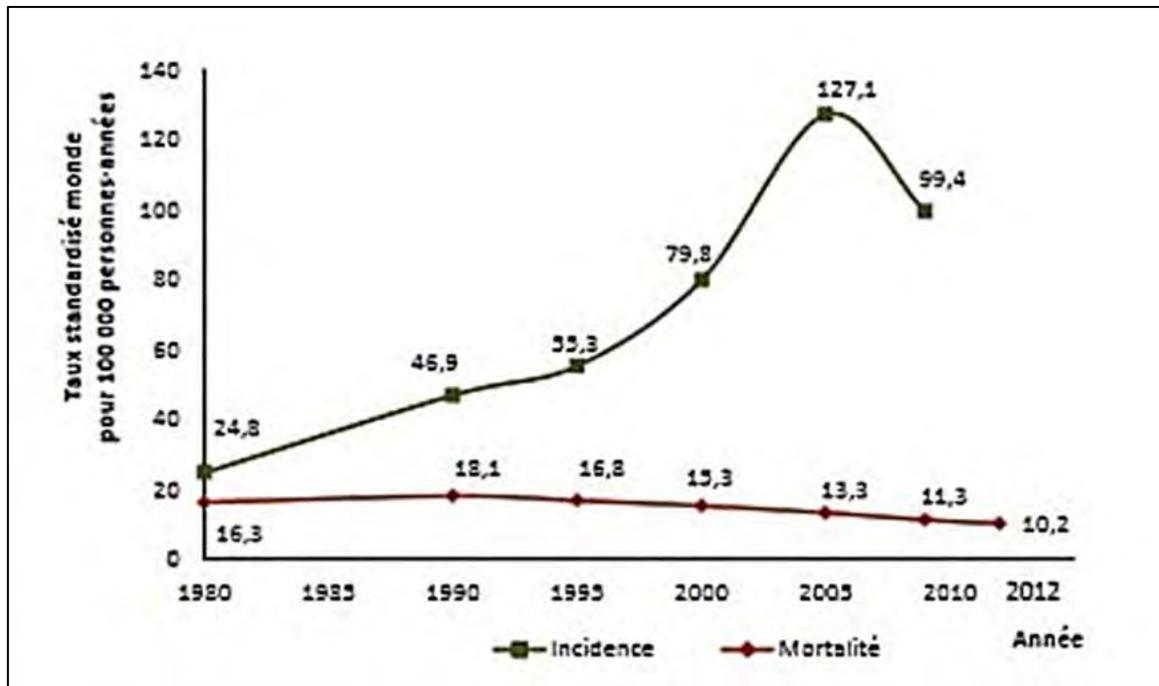


Figure 21 : Evolution de l'incidence et de la mortalité par cancer de la prostate de 1980 à 2012 en France métropolitaine

On estime qu'environ un français sur huit se voit révéler un cancer de la prostate au cours de sa vie. Bien qu'il soit parmi les localisations cancéreuses ayant un bon pronostic avec une survie à 5 ans de 94% tous stades confondus, le nombre de décès par cancer de la prostate représente 10% des décès par cancer chez l'homme.

B – Diagnostic

Le diagnostic du cancer de la prostate se fait le plus souvent alors que le patient est asymptomatique.

1 – Diagnostic clinique

a – Les signes fonctionnels

La présence de certains symptômes peut faire évoquer un cancer de prostate localement avancé ou métastatique :

- des troubles urinaires irritatifs ou obstructifs, signes d'un envahissement par le cancer de prostate,
- une hémospérmié, une hématurie,
- une altération de l'état général,
- des douleurs osseuses, révélatrices de métastases osseuses,
- des signes neurologiques (paresthésie, déficit musculaire des jambes, un syndrome de la queue-de cheval) faisant évoquer une compression médullaire par des métastases rachidiennes.

b - Le toucher rectal

Le toucher rectal doit être systématiquement réalisé, il permet d'apprécier l'aspect de la glande et de suspecter un cancer de la prostate de la zone périphérique.

Toute anomalie perçue au toucher rectal pose l'indication de la réalisation de biopsies de la prostate.

2 - Diagnostic biologique

Il est essentiellement basé sur le dosage du **PSA : *Prostate Spécific Antigen***.

Le PSA est une protéine de la famille des kallikréines jouant un rôle dans la liquéfaction du sperme. Dans certaines circonstances, son passage sérique est possible. Cette protéine est spécifique de la prostate mais pas du cancer de la prostate puisque d'autres pathologies comme l'hyperplasie bénigne de la prostate, l'inflammation ou l'infection vont modifier le taux sérique.

a - Dosage du PSA total sérique

La valeur normale du taux sérique du PSA est inférieure à 4 ng/mL pour l'ensemble de la population tout âge confondu. Mais dans la mesure où le taux de PSA est lié au volume de la prostate (table 5) (58) et donc à l'âge, il convient d'adapter le taux : < 3 ng/mL pour les hommes de 50 à 60 ans, < 4 ng/mL de 60 à 70 ans et de 5 ng/mL au-delà de 70 ans.

Une valeur du PSA supérieure à la normale doit faire discuter la réalisation de biopsies prostatiques échoguidées.

		Volume de la prostate		
		< 40 mL	40 - 60 mL	> 60mL
PSA sérique total (ng/mL)	Médiane	0,59	1,08	4,05
	Plage	0,50 - 0,68	0,89 - 1,27	3,54 - 4,54

Table 5 : Taux sérique de PSA en fonction du volume de la prostate

b - Rapport PSA libre/PSA total

Le PSA peut, soit rester libre dans le sang, soit se fixer à des macromolécules et il est possible de doser les différentes fractions.

Dans le cancer de prostate, la fraction de PSA libre est plus faible que dans l'hyperplasie de prostate. Il a été établi qu'un rapport PSA libre sur PSA total supérieur à 20% est plus en faveur d'une hyperplasie bénigne de la prostate, alors qu'un rapport de moins de 10% est en faveur d'un cancer ou d'une prostatite.

La réalisation de ce test est en seconde intention chez des patients ayant un PSA supérieur à la normale pour éventuellement affiner l'indication de biopsies de la prostate (59).

c - Autre marqueur : PCA3

La recherche fondamentale en clinique apporte régulièrement des pistes pour de nouveaux marqueurs du cancer de la prostate afin d'améliorer la sensibilité et la spécificité qu'offre le dosage du PSA.

Le PCA3 est un gène non codant surexprimé lors de cancer de la prostate. Contrairement au PSA, il n'augmente pas dans les pathologies prostatiques bénignes. Il est possible de doser les ARNm du PCA3 et du PSA dans les urines après massage prostatique. Le rapport ARNm PCA3/PSA urinaire augmente avec le risque de biopsies positives et son utilisation permettrait de réduire de moitié ou de deux tiers le nombre de biopsies prostatiques finalement négatives et a posteriori inutiles (figure 22). Le test urinaire PCA3 semble présenter des performances diagnostiques élevées pour le diagnostic précoce du cancer de la prostate (figure 23). Le marqueur d'agressivité tumorale montrant la meilleure corrélation avec le test PCA3 est le volume tumoral (60).

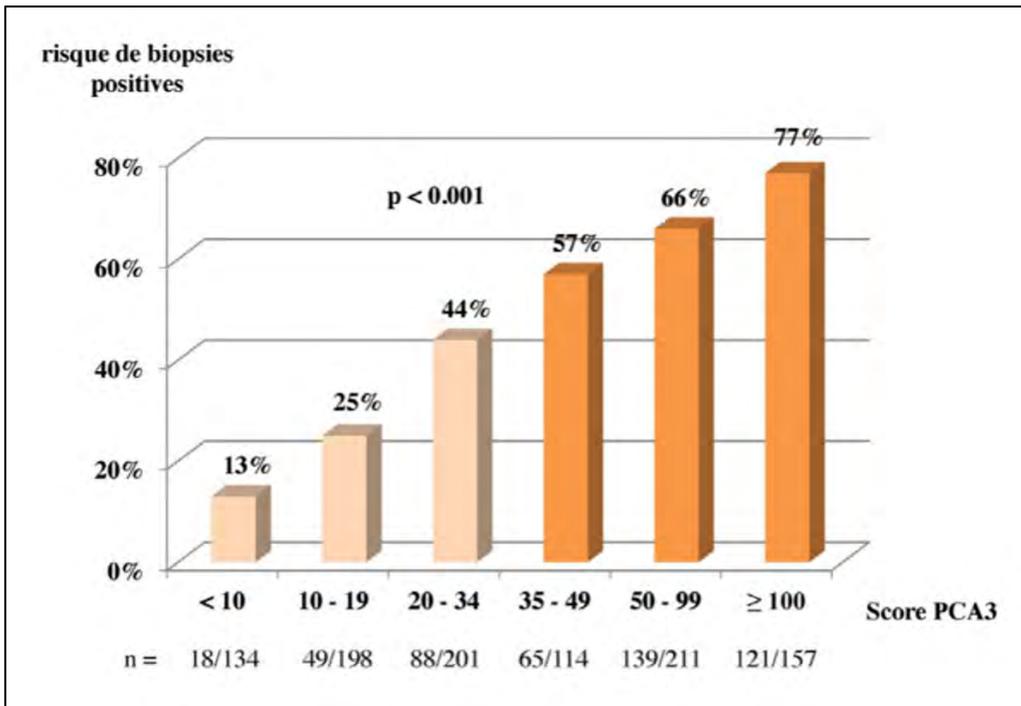


Figure 22 : Le risque de biopsies positives augmente avec le score urinaire PCA3

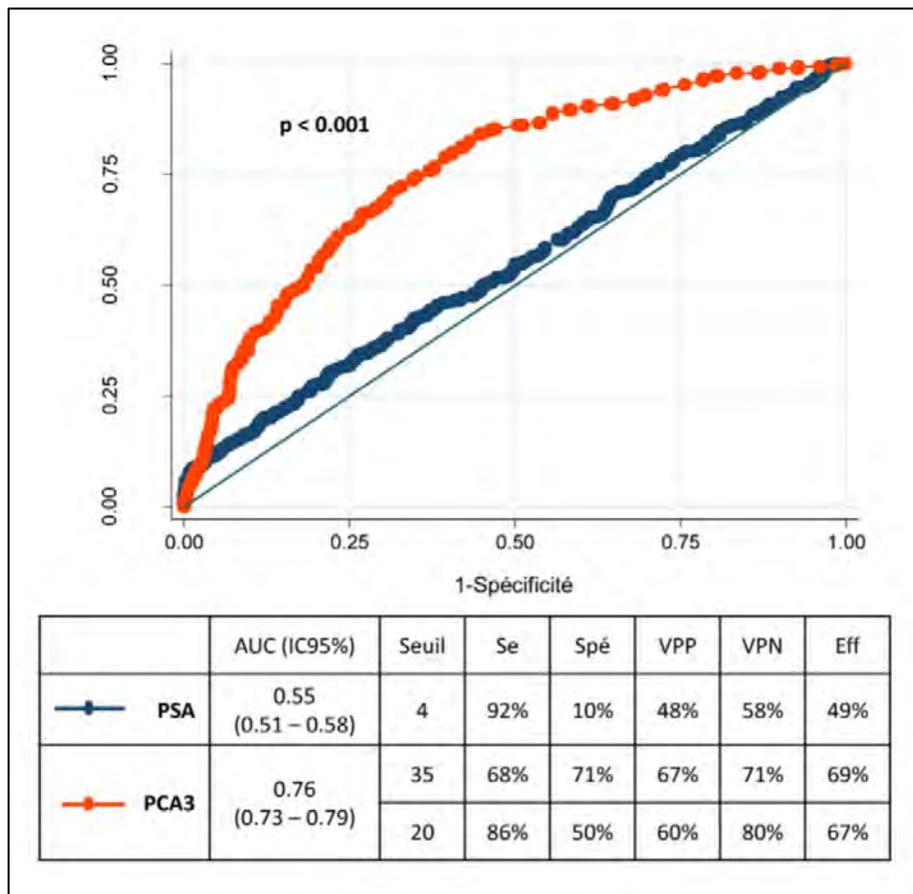


Figure 23 : Performances comparées du PSA sérique et du score urinaire PCA3
 AUC=Aire Sous la Courbe ; IC95%=Intervalle de Confiance à 95% ; Se=Sensibilité ; Sp=Spécificité ; VPP=Valeur Prédictive Positive ; VPN=Valeur Prédictive Négative ; Eff=Efficacité

Le dosage a été reconnu par la FDA (*Food Drug Administration*) comme pouvant aider le praticien à guider son indication de biopsies de la prostate. Mais il reste un examen coûteux en pratique courante et, même si disponible en France, son remboursement n'est pas pris en charge actuellement.

3 – Les biopsies prostatiques

Les biopsies sont le seul examen permettant d'affirmer le cancer de la prostate en cas de positivité. Elles sont donc indiquées en cas de suspicion de cancer sur le toucher rectal ou en cas de progression ou d'élévation du taux de PSA.

Les biopsies sont réalisées par échoguidage, par voie transrectale, sous anesthésie locale (ou rarement générale), sous antibioprofylaxie et après lavement rectal (figure 24). Le nombre moyen de biopsies est de 12 prélèvements.

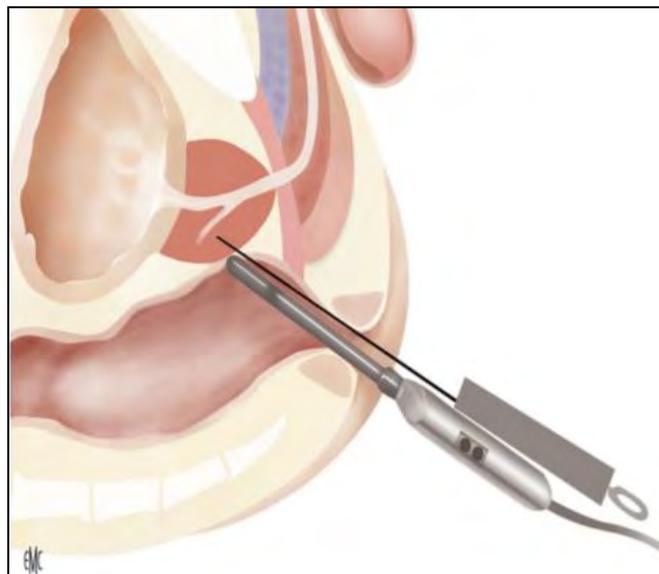


Figure 24 : Biopsies échoguidées par voie transrectale (61)

Les biopsies prostatiques permettent de faire le diagnostic de cancer mais aussi de préciser son agressivité par plusieurs paramètres :

- Le score de Gleason (degré de différenciation du cancer).
- Le nombre de biopsies positives sur la totalité des biopsies réalisées.
- La longueur d'envahissement du cancer sur les biopsies.
- L'infiltration ou l'envahissement de la capsule et des espaces péri-prostatiques.

C – Gradation Histopronostique et Stadification du Cancer de la Prostate

Dans 90% des cas, l'histologie du cancer de prostate est un adénocarcinome (*i.e.* : se développant aux dépens de l'épithélium glandulaire).

Il se développe préférentiellement dans la partie périphérique de la prostate par opposition à l'hyperplasie bénigne qui se développe dans la zone de transition, plus centrale.

Le grade et le stade du cancer de la prostate influencent grandement le choix du traitement. Le grade fait référence au degré de différenciation du cancer tandis que le stade fait référence au degré de propagation au-delà de la prostate.

1 – Score de Gleason : gradation histopathologique

Le **score de Gleason** est un score histopronostique caractérisant le degré de différenciation de la tumeur et un facteur pronostique essentiel dans la prise en charge du cancer de prostate. Il évalue l'agressivité du cancer de la prostate (62).

La prostate est une glande peu homogène et il y coexiste plusieurs foyers cancéreux d'évolutions différentes et à des stades de différenciations pouvant être différents. Le score de Gleason est basé sur l'aspect des tissus glandulaires cancéreux sur les pièces de biopsies prélevées. Une échelle allant du grade 1 au grade 5 permet d'évaluer le degré d'anomalie de ces tissus. Plus le grade est élevé, plus les cellules cancéreuses sont irrégulières et le degré d'agressivité important (figure 25).

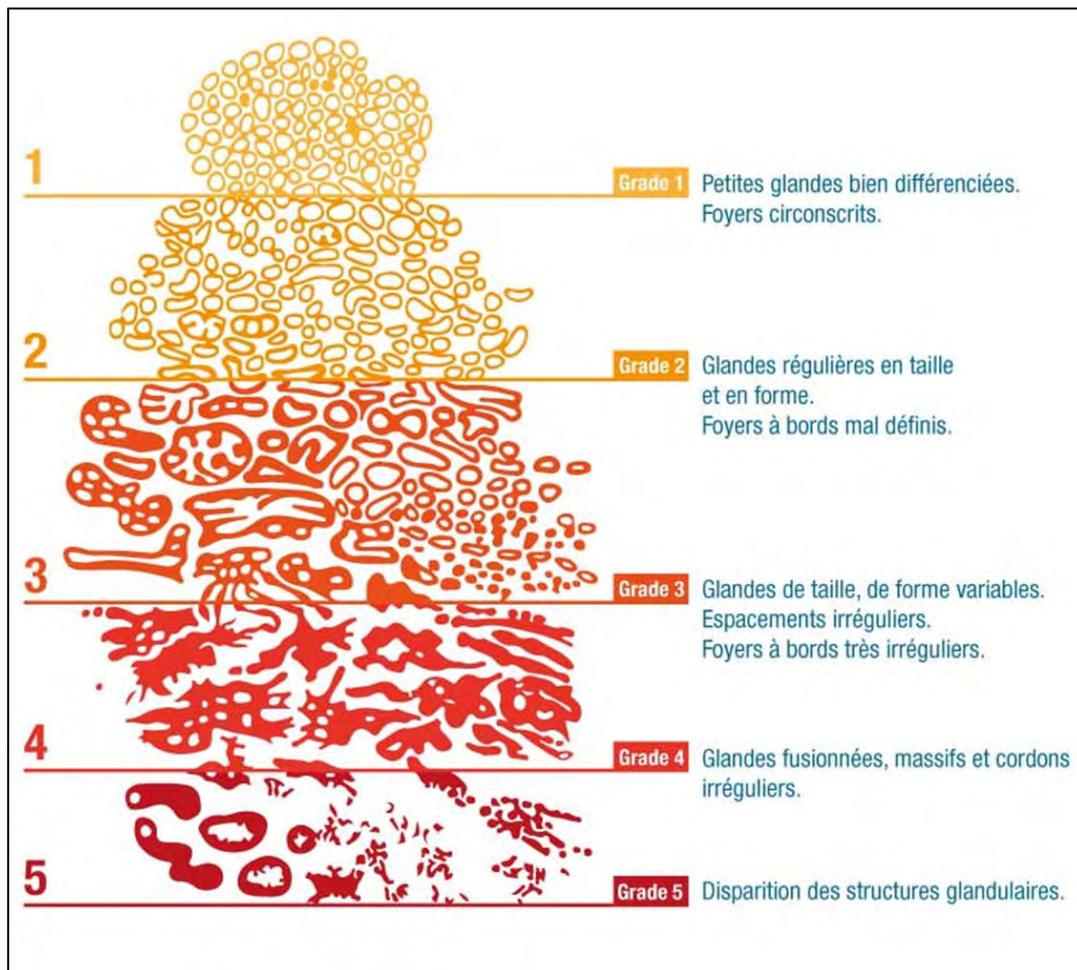


Figure 25 : Les cinq grades histologiques de Gleason du cancer de la prostate

Le score de Gleason est obtenu en additionnant les deux grades histologiques les plus représentés dans la tumeur. Il faut bien tenir compte de l'ordre, le premier chiffre représentant le grade prédominant.

Lors de la conférence de consensus de l'ISUP (*International Society of Urological Pathology*) en 2014, le système de gradation a été revu pour proposer une nomenclature en 5 groupes pronostiques, toujours basés sur le calcul du score de Gleason (table 6) (63).

Groupe 1	Score de Gleason 6 (3 + 3)
Groupe 2	Score de Gleason 7 (3 + 4)
Groupe 3	Score de Gleason 7 (4 + 3)
Groupe 4	Score de Gleason 8 (3 + 5 ; 4 + 4 ou 5 + 3)
Groupe 5	Score de Gleason 9 ou 10

Table 6 : Gradation ISUP du cancer de la prostate selon le score de Gleason

2 – Stadification clinique : classification TNM

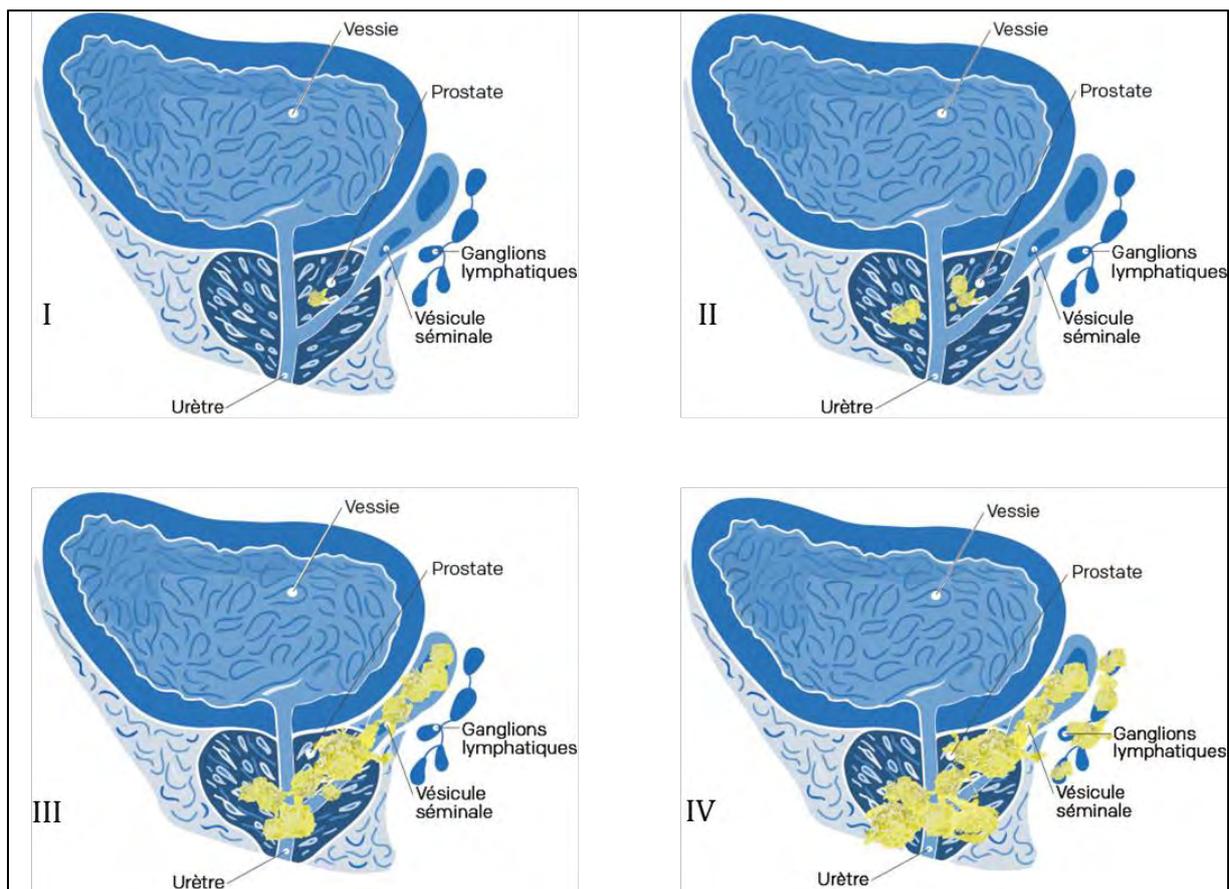
La **classification TNM** est un système international de classification des cancers selon leur extension anatomique, établie par l'UICC (l'Union Internationale Contre le Cancer). Les trois lettres symbolisent la propagation cancéreuse sur le site de la tumeur primitive (**T**), dans les ganglions lymphatiques (**N** pour *nodes*) et à distance pour d'éventuelles métastases (**M**). Cette classification considère seulement les données cliniques et ne s'applique qu'à des cancers qui n'ont pas encore été traités. Chaque lettre est affectée d'un coefficient.

- **T** est cotée de T0 à T4 pour les tumeurs les plus étendues.
- **N** est cotée de N0 à N3 en fonction du territoire ganglionnaire atteint, du nombre et des dimensions des adénopathies.
- **M** est cotée M0 en l'absence de métastases connues ou M1 en leur présence.

Selon les localisations tumorales la combinaison des trois repères TNM permet d'établir un stade (de I à IV) plus synthétique (figure 26) (64).

- Le stade I correspond à une tumeur unique et de petite taille (T1/T2a-N0-M0).
- Le stade II correspond à un volume local plus important (T2b/T2c-N0-M0).
- Le stade III correspond à un envahissement des tissus avoisinants (T3-N0-M0).
- Le stade IV correspond à une extension plus large et/ou une dissémination dans l'organisme sous forme de métastases (T4-N0-M0 ; Tn-N1-M0 ; Tn-N0/N1-M1).

La classification TNM complète pour le cancer de la prostate est proposée en Annexe 2.



*Figure 26 : Exemple de stades TNM pour le cancer de la prostate
En jaune : la localisation tumorale*

Dans le cas du cancer de la prostate traité par prostatectomie totale, l'UICC intègre à sa classification la présence ou non d'un reliquat.

Ce critère est symbolisé par la lettre **R** et les marges après prostatectomie sont alors codées :

- R0 : Absence de reliquat tumoral macroscopique ou microscopique.
- R1 : Reliquat microscopique (la longueur de la marge est un critère pronostique).
- R2 : Reliquat macroscopique.

3 – Classification D'Amico

Afin de mieux guider la prise en charge, la classification D'Amico propose de classer les cancers en trois groupes en fonction de leur risque de progression (table 7).

Risque faible	PSA ≤ 10ng/mL ET score de Gleason ≤ 6 ET stade clinique T1c ou T2a
Risque intermédiaire	PSA compris entre 10 et 20ng/mL OU score de Gleason = 7 OU stade clinique T2b
Risque élevé	PSA > 20ng/mL OU score de Gleason ≥ 8 OU stade clinique T2c

Table 7 : Classification D'Amico : risque de progression du cancer de la prostate

D – L' Arsenal Thérapeutique pour le Cancer de la Prostate

La décision d'un traitement ou d'une prise en charge du cancer de la prostate passe obligatoirement par une discussion au cours des réunions de concertation pluridisciplinaires réunissant urologues, oncologues, radiothérapeutes, radiologues, anatomopathologistes, oncogériatres et pharmaciens cliniciens (65). Les thérapeutes disposent de plusieurs options thérapeutiques qu'ils choisissent en fonction du stade cancer, des comorbidités du patient mais également de sa volonté.

1 - Surveillance active

La surveillance active est une option thérapeutique qui déplace l'éventuel moment du traitement tout en restant dans la fenêtre de curabilité de la maladie.

Les recommandations européennes de l'EAU (*European Association of Urology*) considèrent comme éligibles à une surveillance active les cancers de la prostate à très bas risque définis par les critères suivants : score de Gleason 6, PSA < 10ng/mL et une à deux biopsies positives envahissant moins de 50% des carottes.

Les modalités de surveillance active incluent systématiquement un contrôle régulier du PSA (tous les 3 à 6 mois avec le calcul du temps de doublement), un toucher rectal tous les 6 à 12 mois et un contrôle histologique par nouvelles biopsies entre 3 et 24 mois après la biopsie initiale. Ces biopsies de confirmation sont fondamentales pour réduire le risque de sous-évaluation initiale et détecter une progression précoce. L'aggravation d'un des critères de surveillance doit faire envisager un traitement curatif.

Le critère consensuel de progression est l'apparition d'un grade 4 de Gleason (score de Gleason de 7 ou plus).

2 - Prostatectomie totale

a - Indications et voies d'abord

La prostatectomie totale (PT) est un des traitements de référence du cancer de la prostate localisé, qui offre le plus de garantie de contrôle carcinologique à long terme. L'objectif est l'ablation de la totalité de la prostate et des vésicules séminales en permettant de respecter les structures responsables de la continence et de l'érection (66). Elle est indiquée dans le traitement curatif d'un cancer de la prostate localisé ou localement avancé. Envisageable dans les tumeurs de risque faible, la PT est indiquée dans les tumeurs de risque intermédiaire et peut être proposée dans les tumeurs de haut risque.

La PT peut être réalisée par voie d'abord chirurgicale ouverte rétropubienne ou périnéale (anciennement) ou par voie mini-invasive, laparoscopique ou laparoscopique robot assistée (LRA). Aucune voie d'abord n'a fait preuve d'une supériorité significative en termes de contrôle carcinologique ni même de récupération érectile ou de la continence, les deux complications postopératoires les plus fréquentes (67).

b - Curage ganglionnaire

Si le choix thérapeutique est la PT, il peut être réalisé un curage lymphonodal qui correspond à l'exérèse chirurgicale des ganglions de la zone iliaque. Le curage ganglionnaire est le meilleur moyen de stadification quand il est réalisé de façon étendue, aucun examen d'imagerie ne permet cette qualité de stadification. L'indication ou non du curage lymphonodal est définie par le calcul du risque d'envahissement ganglionnaire basé sur des calculateurs dédiés (nomogramme de Briganti (68), MSKCC ou formule de Roach). Un risque estimé supérieur à 5% d'envahissement doit indiquer un curage extensif.

Le taux de complication est augmenté en cas de curage extensif (de l'ordre de 20%).

c - Traitements associés à la PT

La radiothérapie externe (RT) adjuvante à la PT est proposée chez les patients présentant des facteurs de risque de récurrence sur la pièce opératoire. Elle améliore la survie sans progression biologique chez ces patients (69).

L'hormonothérapie (HT) néo-adjuvante n'est pas recommandée, elle ne montre pas d'amélioration de la survie globale ni de la survie spécifique (70). Cependant, chez les patients présentant un envahissement ganglionnaire, l'HT adjuvante semble améliorer significativement les survies globale et spécifique. Les patients ayant seulement un ou deux ganglions envahis présentent un excellent pronostic (71). L'HT adjuvante pourrait alors être proposée uniquement aux patients avec un envahissement ganglionnaire important.

3 - Radiothérapie externe

La RT est un traitement curatif qui consiste en l'irradiation guidée par l'image de la loge prostatique par une dose allant de 74- 80Gy en RT exclusive à 66-70Gy habituellement en RT adjuvante ou de rattrapage. La RT a également une place importante en situation palliative en particulier en présence de métastases osseuses symptomatiques. Elle est aujourd'hui utilisée selon une technique conformationnelle tridimensionnelle qui a pour but de diminuer l'irradiation des organes adjacents et les effets indésirables associés tout en augmentant la dose délivrée à la tumeur.

La RT peut être associée à une HT néo-adjuvante ou concomitante de courte durée (de 6 mois) pour les cancers à risque intermédiaire avec une amélioration de la survie globale par rapport à une RT exclusive (72). L'association de cette HT doit tenir compte des comorbidités cardiovasculaires.

Dans les formes de cancers prostatiques à haut risque, une HT de longue durée (de 3 ans) doit être associée à l'irradiation. L'HT adjuvante augmente la survie sans métastase et sans progressions clinique et biologique ; le gain pour la survie globale est de 10 à 18% pour des traitements hormonaux supérieurs à 2 ans.

L'hormono-radiothérapie améliore également la survie globale des cancers localement avancés par rapport à une HT seule.

4 - Curiethérapie

La curiethérapie interstitielle de la prostate consiste en l'implantation permanente de radioéléments dans la prostate par voie transpérinéale sous contrôle échographique

(sonde endorectale) et sous anesthésie générale. Le plus souvent, il s'agit de l'implantation de grains d'iode-125.

A ce jour, l'indication de la curiethérapie est essentiellement pour les patients atteints d'un cancer de la prostate localisé et de faible risque de D'Amico ayant une espérance de vie de plus de 10 ans. Elle n'est pas indiquée pour les patients dont le volume prostatique est supérieur à 50mL. Le contrôle biochimique à dix ans avoisine 90% (73). Le risque de trouble érectile est bien inférieur qu'avec la RT, ce qui explique le développement de cette technique.

Des pistes sont en cours d'évaluation pour l'utilisation de la curiethérapie à haut débit de dose avec l'iridium-192. Cette technique pourrait être utile notamment pour augmenter la dose délivrée à la prostate en association à la RT (74).

5 – Ultrasons focalisés

Le *High Intensity Focused Ultrasound* (HIFU) est un traitement encore en cours d'évaluation. C'est une thérapie non chirurgicale développée pour des patients présentant un cancer de la prostate localisé. Les ultrasons focalisés ont pour finalité de détruire le tissu prostatique via deux mécanismes prédominants à la lésion, l'effet thermique et la cavitation. Le HIFU est réalisé sous anesthésie générale et sous contrôle échographique endorectal.

6 - Cryothérapie

La cryothérapie est également une technique en cours d'évaluation (75). Elle repose sur la destruction des cellules cancéreuses par la congélation des tissus à -40°C conduisant à une dénaturation des protéines, une rupture des membranes cellulaires et des micro-thromboses vasculaire avec apoptose. La cryothérapie est envisagée comme traitement alternatif aux traitements de référence du cancer localisé de la prostate lorsque ceux-ci sont contre-indiqués. Très peu utilisée en France, elle est principalement proposée dans le rattrapage de la RT.

7 – Photothérapie dynamique

La photothérapie dynamique est une thérapie focale, concept relativement récent dans le cancer de la prostate. Il s'agit d'une nouvelle option thérapeutique pour l'instant

uniquement au stade d'essai clinique et qui ne peut donc pas être proposée en dehors d'essais thérapeutiques. Le principe est de sensibiliser ponctuellement les cellules de l'organisme du patient à la lumière et de traiter la prostate du patient par laser en utilisant une longueur d'onde spécifique. Elle serait réservée aux tumeurs les moins agressives.

8 - Hormonothérapie - suppression androgénique

La glande prostatique et le cancer de la prostate sont sensibles à la présence de testostérone et l'absence de cette dernière entraîne une apoptose massive des cellules.

Le blocage androgénique a pour but la suppression de l'effet des androgènes par suppression de leur production, associée ou non à un blocage des récepteurs périphériques aux androgènes. Ce traitement consiste donc à créer artificiellement une andropause, autrement dit, une castration. L'efficacité de l'HT ne vaut que pendant une période transitoire pouvant aller de quelques mois à plusieurs années car dans le cas des cellules tumorales, à terme, un contingent capable de survivre et de se développer en l'absence d'androgènes peut apparaître et être responsable d'une évolution péjorative. L'HT est donc un traitement palliatif.

Le traitement hormonal du cancer de la prostate, en cas de maladie localement avancée ou métastatique, a pour objectif de diminuer la testostéronémie en deçà d'un seuil empirique de 0,50ng/mL. Cependant, un seuil optimal, fixé sur avis d'experts, a été établi à 0,20ng/mL (76).

La suppression androgénique peut être chirurgicale par pulpectomie ou orchidectomie bilatérale. La castration est alors définitive, ou bien médicale par HT.

Plusieurs médicaments sont utilisés dans la castration médicale (cf figure 27) :

Les agonistes de la LH-RH (Luteinizing Hormone-Releasing Hormone)

Ces traitements ont pour but de saturer la voie de la LH-RH aboutissant progressivement à l'arrêt de production de la testostérone. Il existe un effet rebond à l'induction du traitement entraînant une élévation brutale de la testostéronémie avant son effondrement, cet effet est dit « *flare-up* » (flambée androgénique) nécessitant une co-prescription d'un antiandrogène pendant au moins 15 jours.

On peut citer parmi les molécules utilisées : Triptoréline (DECAPEPTYL®), Acétate de Leuproréline (ELIGARD®, ENANTONE®) ou Acétate de Goséréline (ZOLADEX®).

L'antagoniste de la LH-RH

Ce traitement bloque directement la voie de la LH-RH aboutissant à l'effondrement de la testostéronémie aussi rapidement qu'une castration chirurgicale et sans risque d'effet flare-up. C'est le Dégarelix (FIRMAGON®).

Les antiandrogènes stéroïdiens ou non stéroïdiens

Leur objectif est de bloquer le récepteur des androgènes directement et ils sont parfois associés à une inhibition centrale pour les antiandrogènes stéroïdiens.

Pour les antiandrogènes stéroïdiens on peut notamment citer l'Acétate de Cyprotérone (ANDROCUR®) et pour les antiandrogènes non stéroïdiens Bicalutamide (CASODEX®) et Nilutamide (ANANDRON®).

Classiquement, en cas de cancer de la prostate avancé hormono-dépendant, la prescription repose sur une monothérapie par agoniste LH-RH (associée à un antiandrogène pendant 15 jours en cas de cancer métastatique de forte masse tumorale pour prévenir l'effet flare-up) ou par antagoniste LH-RH.

Cette hormonosensibilité du cancer de la prostate n'est pas toujours durable et lorsque les cellules tumorales deviennent indépendantes de la testostérone produite par les testicules on parle alors de cancer de la prostate résistant à la castration (CPRC) qui se définit selon plusieurs critères selon les recommandations de l'Association Française d'Urologie (AFU) (77) :

- Testostéronémie à des taux de castration (< 0,50ng/mL ou 1,7 nmol/L).
- Trois augmentations de PSA à au moins une semaine d'intervalle.
- Progression clinique (apparition de douleurs osseuses) ou radiologique (en scintigraphie osseuse ou scanner abdomino-pelvien).

Ces médicaments d'HT bloquent la production de la testostérone par les testicules. Cependant, ils n'empêchent pas les glandes surrénales et les cellules cancéreuses de continuer à produire de petites quantités d'androgènes. Chez les patients présentant un CPRC, l'apport des nouvelles thérapies qui ont émergé ces dernières années aide à mieux

contrôler la progression tumorale. Le récepteur des androgènes (RA) reste une cible clé dans cette situation et les HT de nouvelle génération ont montré un bénéfice significatif en survie globale, une amélioration des symptômes et de la qualité de vie avec habituellement une bonne tolérance clinique et biologique.

9 – Hormonothérapie de seconde génération

La prescription d'un autre traitement hormonal chez les patients en phase de résistance à la castration et peu symptomatiques peut constituer une nouvelle étape dans l'escalade thérapeutique du cancer de la prostate.

Acétate d'Abiratéronne

L'Acétate d'Abiratéronne (ZYTIGA®), inhibiteur sélectif de la synthèse des androgènes, notamment en inhibant de façon irréversible le complexe CYP-17 au sein de la surrénale. Associé à la Prednisone, il a prouvé son efficacité chez les patients résistants à la castration avant ou après chimiothérapie (78,79). Son utilisation améliore la qualité de vie et le contrôle des douleurs. Il a montré une amélioration de la survie globale de 4 mois en post-chimiothérapie et retarde l'utilisation du Docétaxel chez les patients chimio-naïfs.

Enzalutamide

L'Enzalutamide (XTANDI®) est le premier agent d'une nouvelle classe d'inhibiteurs du RA de mécanisme d'action original, enregistré dans le CPRC métastatique. Une fois fixé au RA, il empêche sa translocation et sa fixation à l'ADN. Il diminue également le recrutement des co-activateurs de la transcription. Son affinité pour le RA est supérieure aux anti-androgènes de première génération et il n'a pas d'effet agoniste sur le RA. L'Enzalutamide en post-Docétaxel prolonge de façon significative la survie médiane de 4,8 mois (80). En pré-Docétaxel, il réduit le risque de décès de 29% et prolonge significativement la survie sans progression radiologique. Il retarde la mise en route d'une chimiothérapie avec une médiane de temps de 17 mois. Il améliore le contrôle des douleurs et la qualité de vie (81).

Apalutamide

L'Apalutamide est également un inhibiteur du RA. Il a obtenu, le 2 août 2018, une autorisation temporaire d'utilisation en France.

Les sites d'action des différents traitements hormonaux de première et deuxième génération sont présentés dans la figure suivante (figure 27).

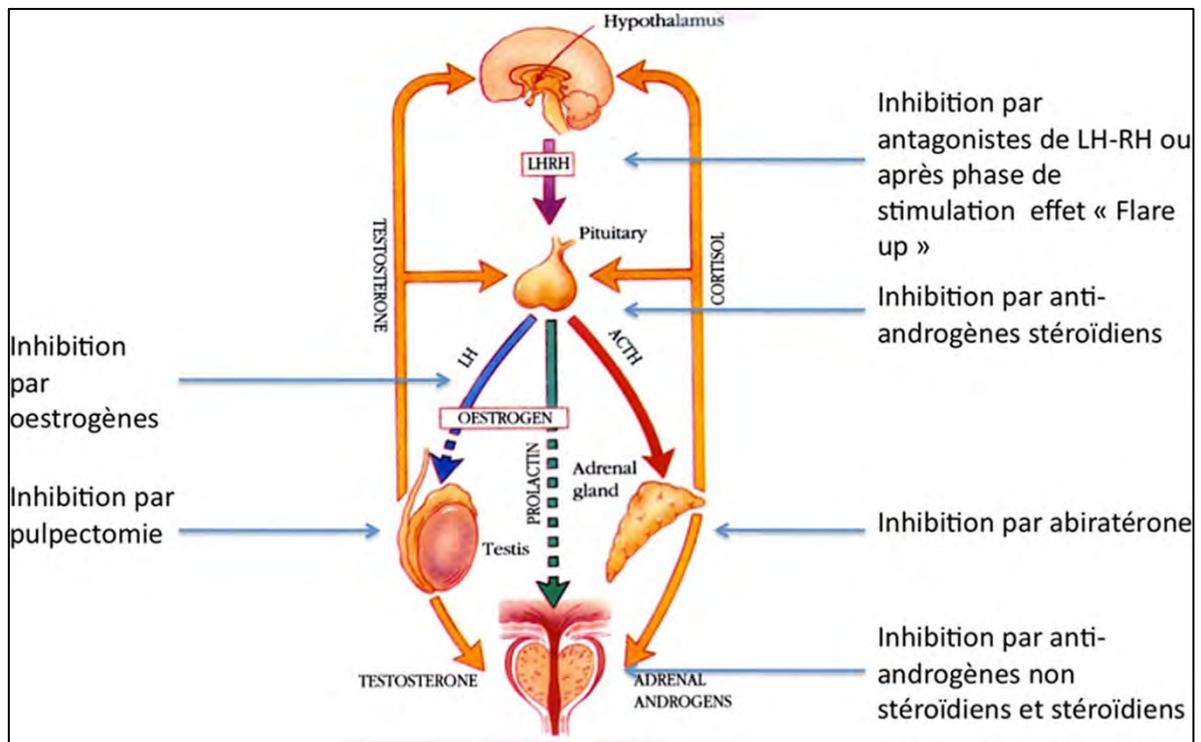


Figure 27 : Action des différents traitements hormonaux

10 - Chimiothérapie

La chimiothérapie a une place reconnue dans le CPRC métastatique et symptomatique (82). C'est une thérapie essentiellement palliative.

La molécule de première intention est le Docétaxel (TAXOTERE®) appartenant à la famille des inhibiteurs des microtubules. Il est associé à de la prednisone dans les CPRC métastatiques (83) et à l'HT dans les cancers de la prostate métastatiques hormono-naïfs (84).

Le Cabazitaxel (JEVTANA®) est une chimiothérapie nouvellement approuvée pour le traitement de deuxième ligne derrière le Docétaxel. Il s'agit d'un taxane semi-synthétique ayant également montré une amélioration de la survie globale (85).

11 - Médicaments ciblant les os

Le cancer de la prostate est associé à tout stade à une diminution du capital osseux et les traitements par HT favorisent ce processus, les androgènes étant en faveur de la

formation osseuse (86). Les métastases osseuses des cancers de la prostate avancés sont aussi une cause importante de fragilisation du squelette avec augmentation du risque de fracture et apparition de douleurs osseuses.

Les biphosphonates

Les biphosphonates et notamment l'acide zolédronique (ZOMETA®) inhibent la résorption osseuse liée à l'activité ostéoclastique. Sa place est démontrée dans le CPRO par son effet clinique sur les complications squelettiques (fracture osseuse, hypercalcémie, compression médullaire) et les douleurs osseuses.

Le dénosumab

Le Dénosumab (XGEVA®) est un anticorps anti RANK-Ligand qui a aussi son indication pour le CPRO avec métastases osseuses. Il a montré une efficacité supérieure au Zolédronate en termes de prévention des événements osseux (87).

Irradiation métabolique : Radium-223

Elle repose sur un principe simple : utiliser des molécules capables de se fixer sur l'os (comme pour une scintigraphie) afin qu'elles délivrent une irradiation locale sur les métastases. Deux émetteurs β^- ont été utilisées par le passé (Strontium-89 et Samarium-153) avec un effet limité aux douleurs osseuses. Une nouvelle molécule, le Chlorure de Radium-223 (XOFIGO®), émetteur α , a récemment obtenu une AMM dans le traitement du cancer de la prostate résistant à la castration, avec métastases osseuses symptomatiques et sans métastases viscérales connues. Son efficacité a été démontrée versus placebo sur la survie globale (+ 2,8 mois) et sur le délai de survenue du premier événement osseux symptomatique (+ 5,1 mois) (88).

E – Place de l'Imagerie dans le Cancer de la Prostate

1 – Échographie endorectale

Sa seule utilisation dans le cancer de la prostate est le guidage des biopsies (59). Elle n'a que très peu d'apport dans le bilan diagnostique excepté l'évaluation du volume prostatique.

2 - Tomodensitométrie

La TDM, ou scanner, peut être utilisée pour le bilan d'extension en cas de maladie localement avancée pour évaluer l'envahissement ganglionnaire mais sa sensibilité n'est pas très bonne. Elle reste utile en cas de cancer métastatique pour détecter d'éventuelles métastases viscérales, dont la présence est de mauvais pronostic.

En cas de maladie localisée, le scanner est actuellement supplanté par l'IRM pour le bilan initial mais reste indiqué en cas de contre-indication à ce dernier (port d'un pacemaker notamment) (59).

3 - Scintigraphie osseuse

La scintigraphie osseuse est un examen de médecine nucléaire qui se base sur l'incorporation d'un biphosphonate marqué au Technétium-99m dans la matrice osseuse. L'os répond à une agression locale par une accélération de son remodelage, le traceur est alors incorporé à la matrice en renouvellement et la scintigraphie osseuse permet d'objectiver et de localiser cette incorporation.

Dans le cadre du cancer de la prostate, elle est un examen de référence dans le bilan d'extension pour la recherche de métastases osseuses par la présence de foyers d'hyperfixation. Sa spécificité (Sp) et sa sensibilité (Se) se sont largement améliorées depuis la généralisation des caméras hybrides, qui permettent de réaliser une tomoscintigraphie par émission monophotonique (TEMP) couplée à un scanner osseux. La sensibilité de la scintigraphie osseuse dépend principalement du taux de PSA.

La scintigraphie osseuse est indiquée chez les patients à haut risque de D'Amico et à risque intermédiaire en cas de grade 4 majoritaire (Gleason) et est recommandée chez les patients symptomatiques, quel que soit le taux de PSA (59).

4 - IRM multiparamétrique

Actuellement, dans le bilan initial, l'IRM s'impose comme l'examen de référence d'aide au diagnostic et au pronostic du cancer de la prostate. Elle est recommandée, selon l'AFU, dans les cancers de la prostate de risque intermédiaire et élevé pour évaluer le siège des tumeurs, l'infiltration ou le franchissement de la capsule prostatique et l'envahissement des vésicules séminales. L'IRM peut également mettre en évidence des adénopathies suspectes pelviennes ou des lésions osseuses métastatiques.

a – Bilan initial

Dans le cadre du bilan initial, l'IRM prostatique permet la mesure du volume prostatique et la description des zones suspectes (ou cibles) identifiées et analysées avec une échelle de suspicion allant de 1 à 5 (1 : normal, 2 : probablement normal, 3 : équivoque ou douteux, 4 : suspect et 5 : très suspect).

La performance de l'IRM dépend de l'agressivité tumorale et du volume tumoral avec une très bonne sensibilité pour les scores de Gleason ≥ 7 . Les cancers de petit volume inférieur à 1cm³ et bien différenciés (score de Gleason ≤ 6) sont plus difficiles à détecter (89). L'IRM prostatique est donc un examen performant pour la détection des lésions « cliniquement significatives ». La réalisation d'une IRM avant une série de biopsies permet de cibler celles-ci sur les anomalies mises en évidence et de détecter plus de lésions significatives avec une meilleure estimation de la longueur tumorale et du score de Gleason (90).

b – Bilan d'extension

L'IRM est également utile pour le bilan d'extension et concourt à la stadification du cancer de la prostate selon la classification TNM, notamment au niveau de la tumeur primitive (T). En cas de lésion visible en IRM, son siège exact, ses contacts avec les structures anatomiques et les limites de la prostate (capsule, urètre, col vésical, vésicules séminales) sont des éléments majeurs qui permettent d'adapter le type de dissection afin d'éviter le risque de marges positives. Pour la stadification ganglionnaire (N), l'évaluation se fait dans le même temps que l'IRM prostatique. En se basant sur la taille et la forme des ganglions comme critères sémiologiques principaux, elle a une sensibilité de 39% et une spécificité de 82% (91). L'IRM a supplanté la TDM dans cette exploration mais les envahissements microscopiques restent indétectables. Enfin, pour la détection de métastases (M), l'IRM de diffusion corps entier permet une évaluation globale du squelette et des chaînes ganglionnaires de façon non irradiante.

L'IRM a également un rôle pour la surveillance des traitements focalisés et la détection des récidives locales après traitement curateur.

L'utilisation récente de la choline radiomarquée au Carbone-11 ou au Fluor-18 et le développement de nouveaux traceurs TEP ont fait preuve de leur intérêt dans l'exploration du cancer de la prostate. Ils se montrent utiles notamment pour la stadification ganglionnaire et métastatique et dans le diagnostic (localisations primitive, ganglionnaire ou métastatique) en cas de récidives biologiques (réapparition de dosages PSA positifs plusieurs mois après PT ou hausse rapide suite à la RT).

IV – TEP ET CANCER DE LA PROSTATE : APPORTS DU ⁶⁸GA-PSMA-11

A – Radiotraceurs Existants Marqués au Fluor-18 et au Carbone-11

1- [¹⁸F]Fluoro-déoxy-glucose

La TEP-FDG ([¹⁸F]Fluoro-déoxy-glucose) n'a pas d'indication dans le cancer de la prostate. En raison de son faible métabolisme glucidique, l'adénocarcinome prostatique est observé dans seulement 1% des examens TEP-FDG.

2 – [¹⁸F]Fluorure de Sodium

La TEP au [¹⁸F]Fluorure de Sodium (TEP-FNa) est un examen réalisé à la recherche de métastases osseuses. Le FNa est un traceur osseux exclusif de sensibilité et spécificité équivalentes à la scintigraphie osseuse couplée au scanner, de l'ordre de 92–98%, mais beaucoup plus onéreux. Il est moins spécifique que la TEP-choline et ne détecte pas les métastases extra-osseuses (59). Il est peu utilisé en France.

3 – [¹¹C]Choline

Physiologiquement, la choline est un précurseur de la biosynthèse des phospholipides. Elle entre dans les cellules via un transporteur membranaire et y subit ensuite une phosphorylation par la choline kinase (CK). A l'étape suivante, la phosphorylcholine est convertie en cytidine-diphosphate-choline [(CDP)-choline] puis en phosphatidylcholine, un composant de la membrane cellulaire. La choline est donc utilisée comme un marqueur de prolifération membranaire. L'activité de la CK est augmentée dans les cellules néoplasiques, ce qui explique l'accumulation plus intense de la choline radiomarquée en cas de cancer.

La Choline marquée au Carbone-11 a, la première, été étudiée dans l'imagerie TEP du cancer de la prostate mais la demi-vie très courte de ce radioélément (20,4min) a limité son utilisation aux sites ayant un cyclotron à proximité immédiate. Elle a ensuite fait place à la ¹⁸F-Choline qui présente une exactitude diagnostique équivalente (92).

4 - [¹⁸F]Fluoro-choline

La [¹⁸F]Fluoro-choline, ou plus simplement ¹⁸F-Choline, est un analogue de la choline dans laquelle un atome d'hydrogène a été remplacé par du ¹⁸F. Il a été montré que le métabolisme de l'analogue ¹⁸F-Choline correspondait à celui de la choline, et durant la période d'acquisition TEP (jusqu'à environ une heure après injection), le principal métabolite radiomarqué est la [¹⁸F]Fluoro-choline phosphorylée, située à l'intérieur des cellules (93).

Pour la TEP à la ¹⁸F-Choline l'AMM est attribuée dans l'indication : « détection des lésions métastatiques osseuses du cancer de la prostate chez les patients à haut risque ».

a - Place de la TEP-[¹⁸F]Fluoro-Choline dans l'évaluation pré-chirurgicale

La captation de choline est élevée dans la tumeur primaire avec une bonne corrélation entre le foyer de fixation et l'analyse de la pièce de PT. Cependant, il existe un risque de faux négatifs pour des tumeurs de taille inférieure à 5mm.

Concernant la mise en évidence des ganglions métastatiques pelviens, la sensibilité et la spécificité de la TEP-choline varient respectivement de 42 à 56% et de 94 à 99% (94). Il existe un risque de faux négatifs pour des ganglions de taille inférieure à 5mm. En revanche, il y a un gain majeur en sensibilité pour la détection de ceux de plus de 5mm, notamment ceux situés hors du territoire de curage ganglionnaire (iliaque commun, présacrés, pararectaux...).

Pour la détection des lésions osseuses précoces chez les patients à haut risque métastatique et pour lesquels une intention de traitement curatif est proposée, la TEP-choline a l'avantage de permettre de visualiser en un seul temps l'atteinte ganglionnaire et osseuse et de dépister des métastases additionnelles (figure 28).

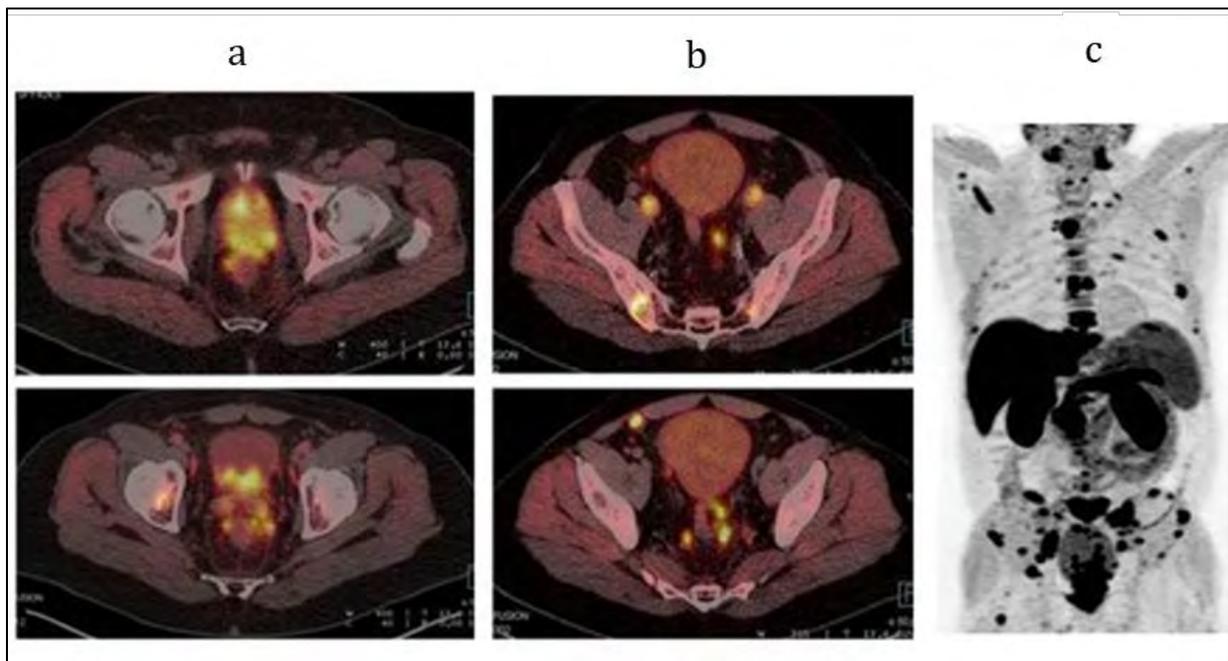


Figure 28 : *Imagerie en TEP-¹⁸F-Choline dans un bilan initial d'une tumeur T3b*
 a) foyers pan-prostatiques, extension aux vésicules séminales, à la graisse pararectale et au trigone vésical ; b) multiples adénopathies para-rectales et para-vésicales ; c) métastases osseuses en TEP-¹⁸F-Choline.

L'imagerie par TEP-choline fournit des informations supplémentaires par rapport à l'IRM, utiles pour la stadification des cancers de la prostate à haut risque. Elle montre notamment un intérêt pour l'établissement du stade ganglionnaire en raison de sa sensibilité et de sa spécificité plus élevées que l'IRM seule (95). Cependant, malgré de bonnes performances, elle ne peut pas remplacer l'IRM en bilan diagnostique initial qui reste meilleure pour établir la localisation tumorale et l'évaluation de l'envahissement locale, en particulier des vésicules séminales.

b – Intérêt de la TEP-[¹⁸F]Fluoro-Choline en cas de rechute biologique

La mesure du taux de PSA et le toucher rectal sont les examens de première intention dans le suivi du cancer de la prostate après PT ou RT.

Après PT, le PSA devient indétectable en 6 semaines, sa demi-vie étant de 3,15 jours (96). En cas de dosage PSA augmenté, la question se pose de savoir à quel endroit précis du corps la maladie est réapparue et quelle est l'ampleur de la rechute. Lors d'une récurrence locorégionale, un nouveau traitement chirurgical radical ou une radiothérapie peut à nouveau être considéré. Le délai de la récurrence et le temps de doublement du PSA après traitement local par chirurgie ou RT ont une valeur prédictive du site de la récurrence (locale ou métastatique) et pronostique de la survie et de la réponse aux traitements

complémentaires (par RT ou HT). Une cinétique lente (élévation du PSA après un délai de plus de 12 mois et un temps de doublement du PSA supérieur à 10 mois) est plutôt en faveur d'une rechute locale.

Il n'y a pas d'indication systématique à une imagerie en dehors d'une récurrence biochimique ou clinique après traitement local (PT ou RT). Dans ce cas, l'IRM est d'abord proposée avec pour intérêt d'identifier une récurrence locale pouvant justifier d'un traitement de rattrapage. Lorsqu'un traitement de rattrapage curatif est envisagé, la TEP-choline peut-être également proposée à la recherche de foyers à distance notamment.

Rechute biologique après PT

La capacité de détection des foyers de rechutes par la TEP-choline dépend du taux de PSA et de sa cinétique. Pour des valeurs de PSA $>2\text{ng/mL}$, le taux de détection tend vers 90%, avec une sensibilité et une spécificité de 91,8% et 95,6% respectivement et la cinétique du PSA influe peu sur la capacité de détection de la TEP-choline (97) (figure 29). En revanche, en cas de PSA $\leq 2\text{ng/mL}$ le taux de détection avec cet examen devient assez faible et est influencé par la cinétique du PSA. Pour une valeur de PSA $<1,5\text{ng/mL}$, la positivité de la TEP-choline passe de 20–28% à un peu plus de 50%, si le temps de doublement du PSA est inférieur à 6 mois ou si la vélocité du PSA est élevée $>1\text{ng/mL/an}$ (98–100). Au niveau de la détection ganglionnaire, la TEP-choline omet les ganglions micrométastatiques ($<4\text{mm}$) et sous-estime l'étendue de l'atteinte ganglionnaire. Cependant, elle identifie plus précocement les aires suspectes et l'analyse ganglionnaire comparée entre le site de TEP positive et l'histologie révèle de très rares faux positifs (101). La TEP modifie la stratégie thérapeutique chez plus de 40% des patients en évitant un traitement inapproprié (99,102).

Rechute biologique après traitement initial curatif par RT ou HIFU

Le taux de détection de la rechute par la TEP-choline est généralement élevé. La détection exacte du site de rechute permet d'envisager un traitement local de rattrapage par HIFU ou par cryothérapie après RT (103). La récurrence locale après HIFU est également identifiable par la TEP-choline (99).

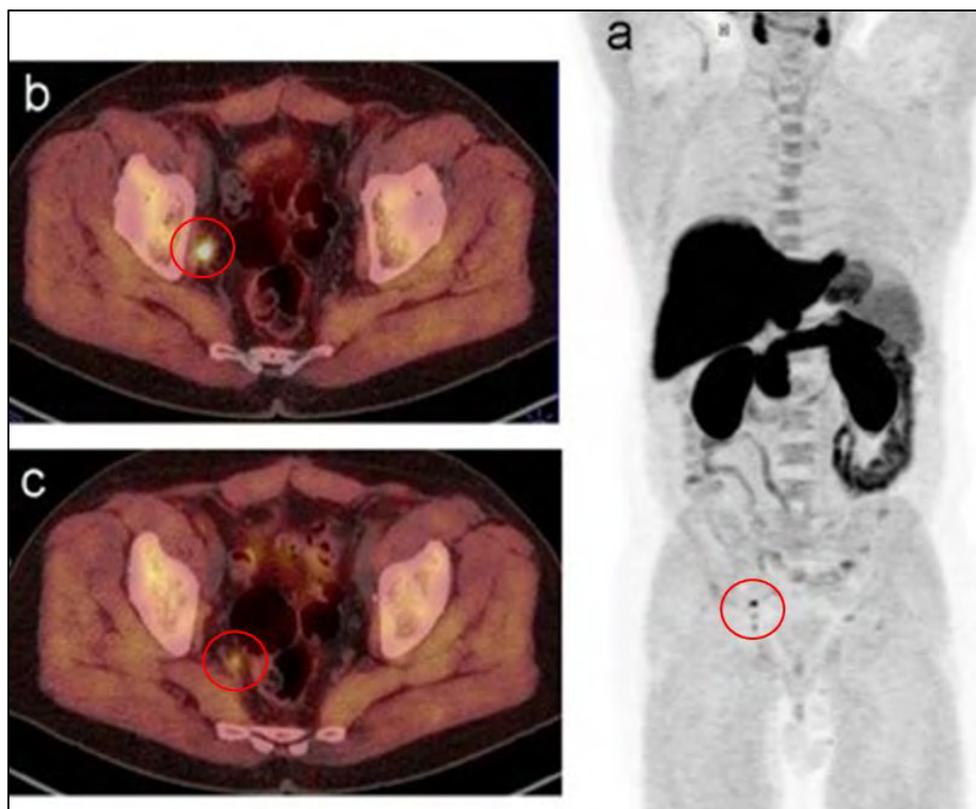


Figure 29 : Exploration en TEP-choline d'une rechute biologique avec temps de doublement du PSA > 6 mois

a) en vue frontale : présence de 2 adénopathies hypermétaboliques ; b) adénopathie iliaque interne droite distale ; c) adénopathie para-rectale droite.

En cas de récurrence, un traitement local agressif est de plus en plus souvent envisagé si la maladie présente peu de métastases (oligo-métastases) (104). L'hypothèse défendue est qu'une intervention précoce peut avoir un effet bénéfique sur la survie du patient. De plus, des études suggèrent qu'un traitement ciblé des oligo-métastases mène à un pourcentage plus élevé de contrôle de la maladie à long terme (51% sans progression après 1 à 3 ans) (105). Un défi majeur dans ce cas consiste à détecter la maladie à une valeur PSA aussi faible que possible, de préférence en dessous de 0,2 à 0,5 ng/mL, afin que ce type de traitement présente de meilleurs résultats (figure 30) (106). Ceci nécessite des techniques d'imagerie plus sensibles que la TEP-choline.

L'examen TEP au ^{68}Ga -PSMA-11 pourrait en l'occurrence y contribuer.

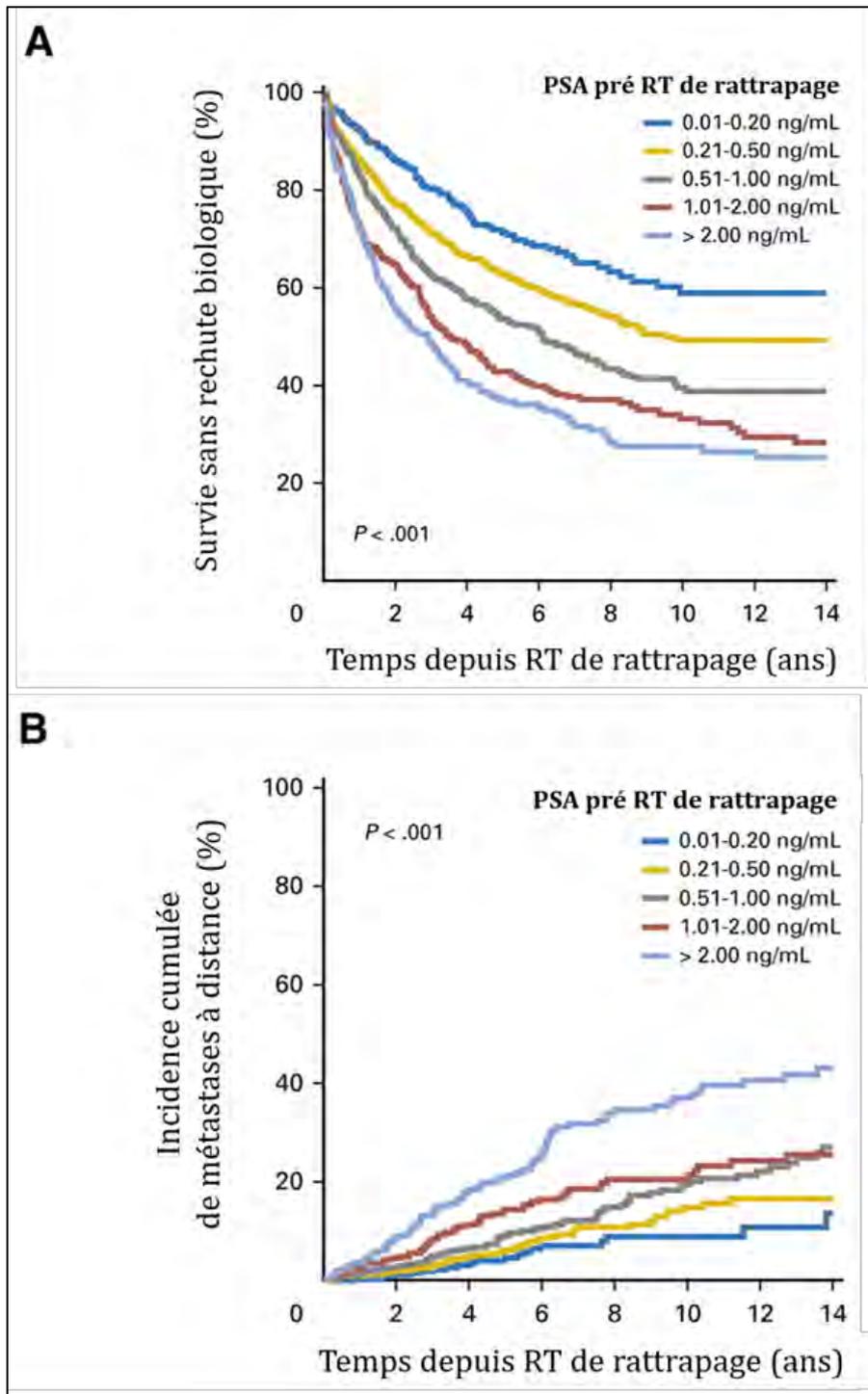


Figure 30 : Impact du taux de PSA avant une RT de rattrapage lors d'une récurrence du cancer de la prostate sur la survie des patients

A) taux estimés de survie sans rechute biologique en fonction des taux de PSA avant la RT de rattrapage ; B) taux estimés d'incidence cumulée de métastases à distance en fonction des taux de PSA avant la RT de rattrapage

B – Inhibiteur de l'Antigène Membranaire Spécifique de la Prostate Marqué au Gallium-68 : ^{68}Ga -PSMA-11

1 – L'antigène membranaire spécifique de la prostate

L'antigène membranaire spécifique de la prostate ou PSMA est une métalloprotéase transmembranaire de type II. Elle est composée de 750 acides aminés et possède une portion intracellulaire de 19 acides aminés, une partie transmembranaire de 24 acides aminés et une partie extracellulaire de 707 acides aminés (figure 31) (107).

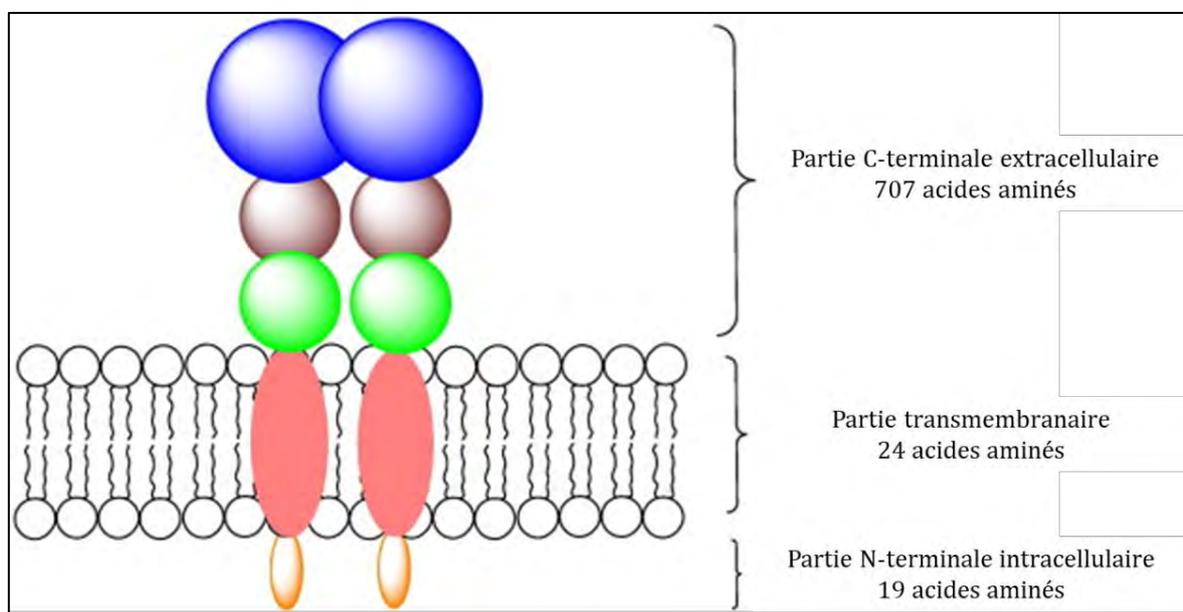


Figure 31 : Structure schématique du PSMA

Physiologiquement, la localisation du PSMA dans la prostate saine est uniquement associée au côté apical de l'épithélium entourant les canaux prostatiques, mais pas à l'épithélium basal. Cependant la transformation néoplasique du tissu prostatique s'accompagne d'une surexpression du PSMA quelles que soient les cellules concernées. Par ailleurs, il est également décrit une expression physiologique de PSMA au niveau de l'intestin grêle, des tubules rénaux et des glandes salivaires (108). Le PSMA est également exprimé sur les astrocytes du système nerveux central où il est décrit sous l'appellation glutamate carboxypeptidase 2 ou NAALADase (109). Enfin, l'expression du PSMA a également été rapportée dans la néovascularisation tumorale de certains cancers solides

(cancers du côlon, du sein, du rein et de la thyroïde et dans certains sous-types de cancer de la vessie) (110,111).

Contrairement à l'intestin grêle et au système nerveux, au niveau de la prostate, le rôle physiologique du PSMA est encore mal connu. Son activité enzymatique ne s'exprime que sous forme homodimérique et serait en lien avec le métabolisme des folates. Son site de liaison porté par la partie extracellulaire comporte deux ions zinc et il a une affinité particulière pour le glutamate ou les structures apparentées et ses ligands naturels possèdent un glutamate dans leur partie C-terminale (112). Lorsqu'un ligand se lie au PSMA, celui-ci est internalisé puis retenu dans le lysosome ou libéré dans le cytoplasme (113).

Le PSMA est une cible idéale pour l'imagerie moléculaire du cancer de la prostate en raison de ses caractéristiques biologiques.

- Il est largement surexprimé dans la membrane des cellules néoplasiques prostatiques par rapport à son expression dans les tissus sains (cent à mille fois plus).
- Son expression augmente avec l'agressivité tumorale (elle est corrélée au score de Gleason) et persiste dans les cancers de la prostate résistants à la castration (107).
- Il possède un large domaine extracellulaire avec plusieurs possibilités de ciblage.
- Son domaine intracellulaire porte un motif d'internalisation ce qui permet de piéger des quantités importantes de radiotraceurs dans la cellule tumorale avec pour effet l'amélioration de la performance de l'imagerie (114).

Ces caractéristiques font du PSMA une cible fort intéressante, notamment pour le développement de petites molécules radiomarquées qui ont généralement une clairance plasmatique rapide et génèrent peu de bruit de fond.

2 - Développement de traceurs ciblant le PSMA

Dès les années 1980 des radiotraceurs ont été développés dans le but de cibler le PSMA. Il s'agissait initialement d'anticorps monoclonaux marqués avec différents radioisotopes. L'un d'entre eux, l'anticorps 7E11 (Capromab) marqué à l'Indium-111 a, le premier, été approuvé par la FDA sous l'appellation PROSTASCINT® (115). L'un de ses désavantages est qu'il reconnaît un épitope de la partie intracellulaire du PSMA et cible donc mal les

cellules vivantes (112). Une seconde génération d'anticorps a alors été développée et parmi eux l'anticorps monoclonal J591 qui cible le domaine extracellulaire du PSMA permettant la fixation à des cellules tumorales vivantes (116). Dans le cadre d'une étude clinique, il a notamment été conjugué avec du DOTA et marqué à l' ^{111}In . Sa capacité à détecter les métastases osseuses du cancer de la prostate a été comparée aux techniques d'imagerie conventionnelles (scanner et scintigraphie osseuse) avec des résultats très satisfaisants (112). Cependant, l'efficacité des anticorps en tant que MRP à visée diagnostique est généralement limitée du fait d'une clairance lente des tissus non spécifiques et d'une faible pénétration tumorale due à leur taille importante. Il en résulte un bruit de fond important nécessitant parfois plusieurs jours entre l'injection et l'imagerie. L'utilisation de radioisotopes de longue demi-vie (tel que le ^{89}Zr) ou de fragments d'anticorps pourrait être une solution potentielle à cette limite.

L'identification du site de fixation des substrats du PSMA, structurellement et fonctionnellement homologue à la NAALADase (astrocytes), a favorisé le développement de petites molécules ligands ou inhibiteurs du PSMA. Les inhibiteurs du PSMA peuvent être regroupés en trois familles : les inhibiteurs phosphorés, les inhibiteurs soufrés et les inhibiteurs à base d'urée. Ces derniers ont une grande affinité et une bonne spécificité pour le PSMA ainsi qu'une internalisation rapide dans les cellules tumorales (107). La recherche et le développement d'inhibiteurs du PSMA ces dernières années ont donc majoritairement porté sur cette famille.

La petite molécule Lys-Urea-Glu (Lys-NH-CO-NH-Glu) formée de deux acides aminés, lysine et glutamate, réunis par un motif urée est l'un d'entre eux (figure 32).

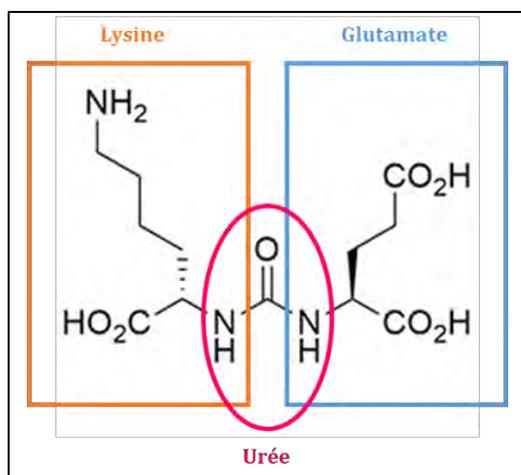


Figure 32 : Structure de l'inhibiteur du PSMA Lys-NH-CO-NH-Glu

Cet inhibiteur du PSMA couplé à l'HBED-CC, chélateur puissant du Ga^{3+} , et marqué au ^{68}Ga est le radiotracer TEP ciblant le PSMA le plus étudié ces dernières années. Il a été décrit la première fois en 2012 par Eder *et al* (117).

On retrouve plusieurs nomenclatures possibles pour ce radiotracer :

- Glu-CO-Lys(Ahx)-[^{68}Ga (HBED-CC)]
- Glu-NH-CO-NH-Lys(Ahx)-[^{68}Ga (HBED-CC)]
- ^{68}Ga -PSMA-HBED-CC
- ^{68}Ga -PSMA^{HBED}
- ^{68}Ga -PSMA-11

3 – Propriétés du ^{68}Ga -PSMA-11

Le motif Lys-CO-Glu et l'HBED-CC sont liés par l'acide 6-aminohexanoïque (Ahx), un « *spacer* », qui a pour rôle d'espacer suffisamment les deux parties de la molécule pour que l'une ne perturbe pas la fonction de l'autre (figure 33). La molécule finale de ^{68}Ga -PSMA-11 présente alors une masse molaire de 1013,69g/mol et a pour formule brute : $[\text{}^{68}\text{Ga}]\text{C}_{44}\text{H}_{59}\text{GaN}_6\text{O}_{17}$.

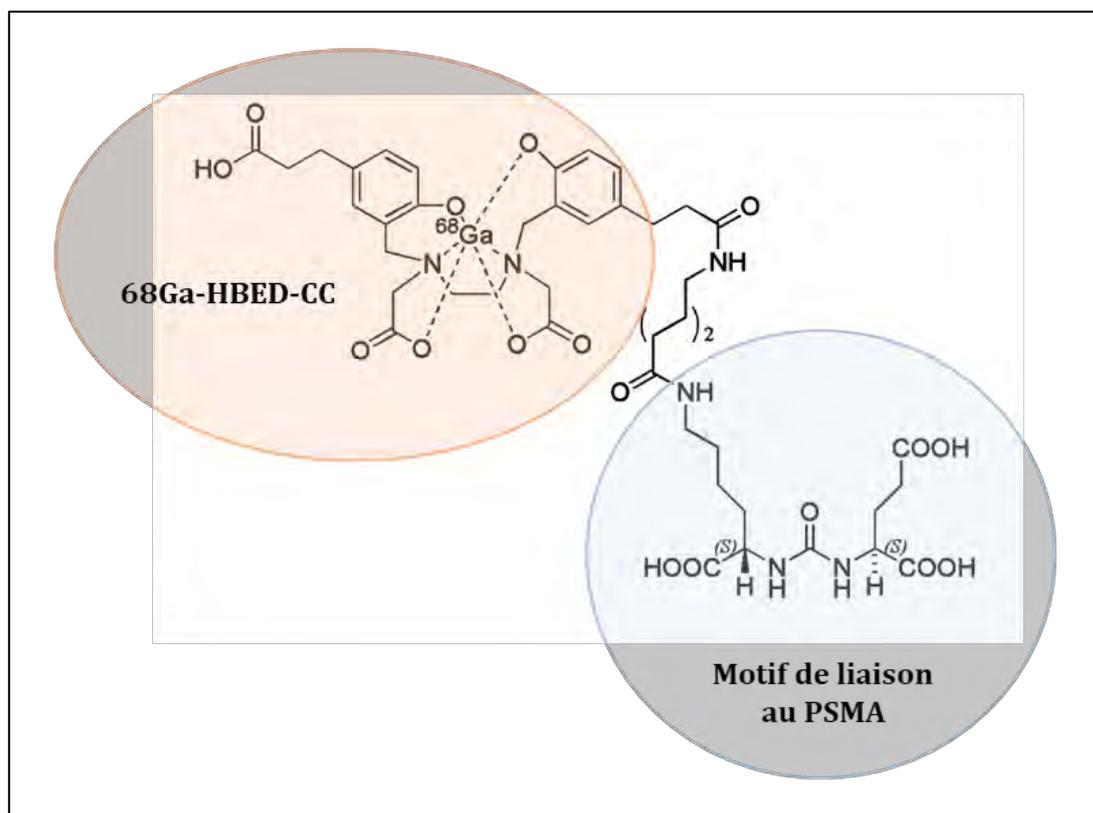


Figure 33 : Structure du ^{68}Ga -PSMA-11

L'HBED-CC représente un chélateur très efficace vis-à-vis du ^{68}Ga avec une très bonne stabilité thermodynamique (β de 10^{39} pour la complexation du gallium avec l'HBED) et une haute inertie cinétique (Partie 1, II-E-2-b). Ces propriétés lui confèrent de grandes capacités de complexation du gallium et une excellente stabilité *in vivo* (112).

De plus, la conjugaison de l'HBED-CC à l'inhibiteur de PSMA Glu-CO-Lys apporte une partie lipophile au traceur grâce à ses cycles aromatiques qui lui confèrent une interaction avec le PSMA plus durable et avec une plus forte affinité (118).

Cependant, de par sa nature acyclique, l'HBED-CC peut former trois diastéréoisomères lorsqu'il complexe le gallium (Partie 1, II-E-2-b). Il est démontré que la température, le pH et la concentration des réactifs influent sur la formation des diastéréoisomères. Eder *et al*, dans la suite de leurs travaux sur le ^{68}Ga -PSMA-11, se sont notamment intéressés à l'influence que la proportion des isomères pouvait avoir sur les caractéristiques de la liaison du radiotraceur sur sa cible (119). Le chauffage (proche de 100°C) lors d'un radiomarquage à pH 4 permet d'obtenir le diastéréoisomère le plus stable thermodynamiquement en proportion majoritaire comparé à une réaction à température ambiante où il ne représente que 50% du mélange. Ils ont néanmoins montré que la liaison spécifique au PSMA et l'internalisation du radiotraceur était comparable quelle que soit la proportion des isomères en présence.

Pour illustrer ces propriétés, une étude a comparé le ^{68}Ga -PSMA-11 et la même molécule où l'HBED-CC a été remplacé par du DOTA, un autre chélateur du ^{68}Ga (117). Dans les conditions de radiomarquage définies dans cette étude (pH 4,2 à température ambiante, 0,1nmol de PSMA-11 et 50-100MBq de ^{68}Ga) le rendement de marquage du ^{68}Ga -PSMA-11 était supérieur à 99% en moins d'une minute. L'activité spécifique était de l'ordre de 500-1000GBq/ μmol , la plus haute qui ait été reportée pour un inhibiteur de PSMA marqué au ^{68}Ga . Pour atteindre le même rendement de marquage avec l'inhibiteur couplé au DOTA, le radiomarquage a été réalisé à 80°C et a nécessité 1nmol de précurseur incubé pendant deux minutes. Dans cette étude, la constante de dissociation du complexe enzyme-inhibiteur (K_i), reflet de l'affinité, a également été évaluée sur une souche cellulaire issue d'une métastase ganglionnaire du cancer de la prostate (LNCaP). Avec un K_i de $12,0 \pm 2,8$ nmol/L le ^{68}Ga -PSMA-11 a montré une affinité légèrement supérieure à la molécule associée au DOTA ($37,6 \pm 14,3$ nmol/L). Enfin, dans cette étude, le ^{68}Ga -PSMA-11

a également montré moins d'absorption non spécifique sur une lignée de cellules prostatiques n'exprimant pas le PSMA.

Physiologiquement, ce radiotraceur présente une accumulation dans les glandes salivaires et lacrymales, le foie, la rate, l'intestin grêle proximal et les voies urinaires (figure 34). Toutefois, très peu d'absorption a été observée dans les tissus adipeux rétropéritonéaux, dans le tissu lymphatique et dans les os, localisations à risques les plus élevés de métastases du cancer de la prostate (120).

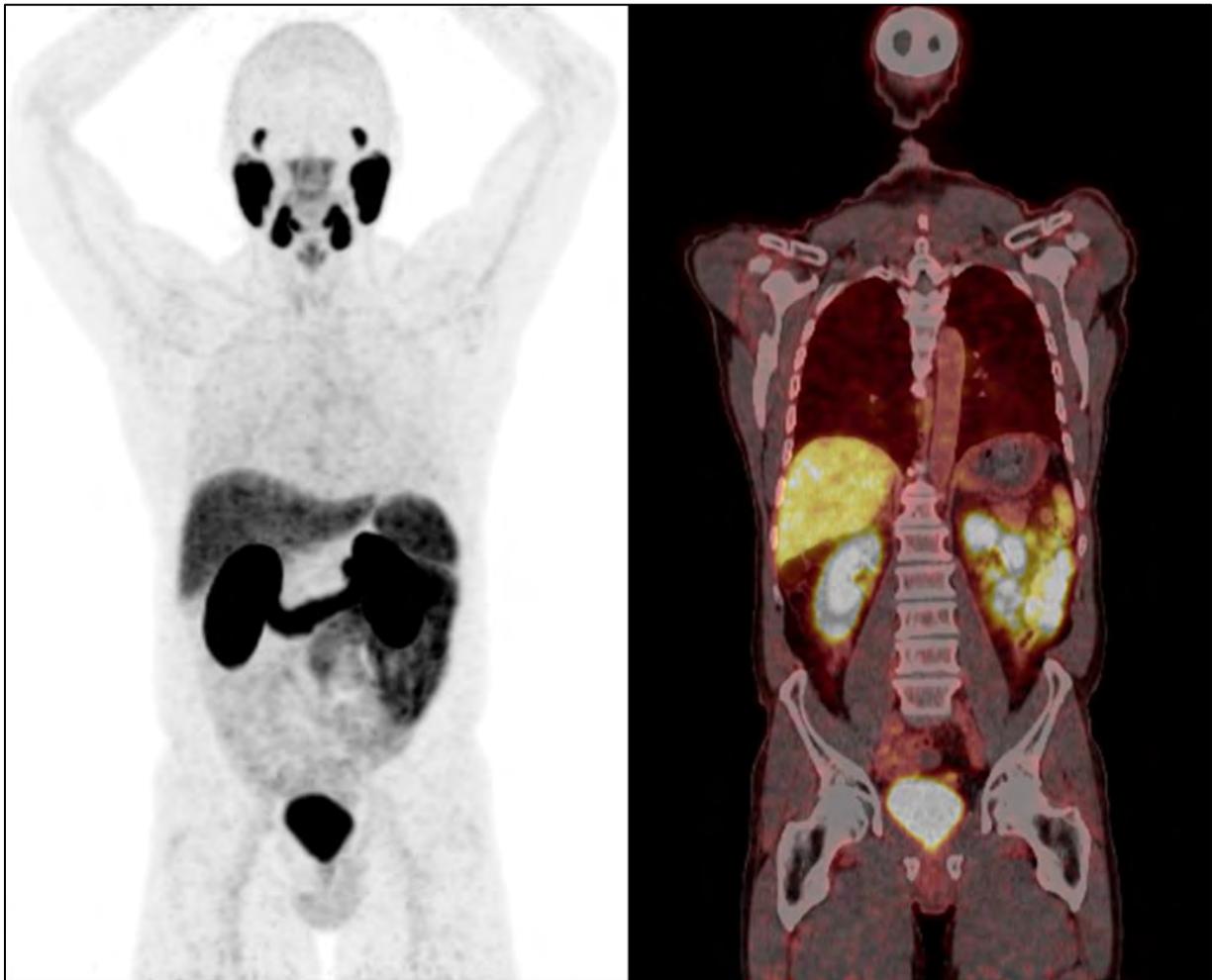


Figure 34 : Répartition physiologique de l'absorption du ^{68}Ga -PSMA-11 chez l'homme

De par ses caractéristiques prometteuses, le ^{68}Ga -PSMA-11 a rapidement fait l'objet d'évaluation en situation clinique. Des rapports sur sa valeur clinique dans l'imagerie TEP du cancer de la prostate en bilan initial ou de récurrence ont montré qu'il avait des taux de

détection élevés comparés aux données de la littérature et en comparaison directe avec la ¹⁸F-Choline (121).

4 – Applications potentielles du ⁶⁸Ga-PSMA-11 : données cliniques

a – Stade initial : bilan d’extension

Pour le bilan d’extension ganglionnaire, qui est un critère décisif pour le choix du traitement, l’IRM n’a une sensibilité que de 39% (Partie 1 - III-E-4-b).

Les études sont encore relativement peu nombreuses sur l’évaluation du ⁶⁸Ga-PSMA-11 dans cette indication et les résultats sont assez hétérogènes. Toutefois la comparaison de la TEP-PSMA/TDM à l’IRM ou à la TDM pour le dépistage de métastases au niveau des ganglions lymphatiques a été menée dans une étude regroupant 130 patients en situation préopératoire, présentant un risque intermédiaire à élevé de cancer de la prostate. Les résultats ont été comparés à l’examen histologique du tissu après une adénectomie lymphatique. Cette étude a montré une sensibilité de 66% pour le TEP-PSMA/TDM, comparé à 44% pour l’IRM ou la TDM. La spécificité de l’examen TEP était également plus élevée (99% contre 85%) (122). Dans cette indication, il était rapporté pour la TEP-Choline une sensibilité moyenne de 49% et une spécificité de 95% (94).

Dans l’exploration osseuse, la comparaison avec la scintigraphie osseuse planaire a montré la supériorité de la TEP-PSMA (Se > 98%) mais elle reste encore à être comparée à la TEMP couplée à la TDM qui présente de meilleurs résultats que la scintigraphie planaire.

Si des études additionnelles sont nécessaires pour l’évaluation du ⁶⁸Ga-PSMA-11 dans le bilan pré-thérapeutique du cancer de la prostate, les données les plus récentes tendent à démontrer que pour les patients à haut risque de métastases, la TEP-PSMA pourrait avoir un apport important dans le bilan d’extension.

Hofman *et al*, rapportent, par exemple, un cas d’adénocarcinome de la prostate (Gleason 4 + 5) nouvellement diagnostiqué chez un homme de 70 ans. L’imagerie conventionnelle par TDM et IRM de la région pelvienne et une scintigraphie osseuse n’ont révélé aucun signe de maladie métastatique, alors que l’imagerie TEP avec le ⁶⁸Ga-PSMA-11 a, elle, montré la maladie primaire au niveau de la prostate mais également une métastase de la côte et un ganglion métastatique infracentimétrique (figure 35). Le traitement a été

modifié et une hormonothérapie à été préférée la prostatectomie radicale initialement prévue. Les images de TEP-PSMA/TDM de suivi obtenues 12 mois plus tard ont montré une résolution de toutes les lésions initiales (123).

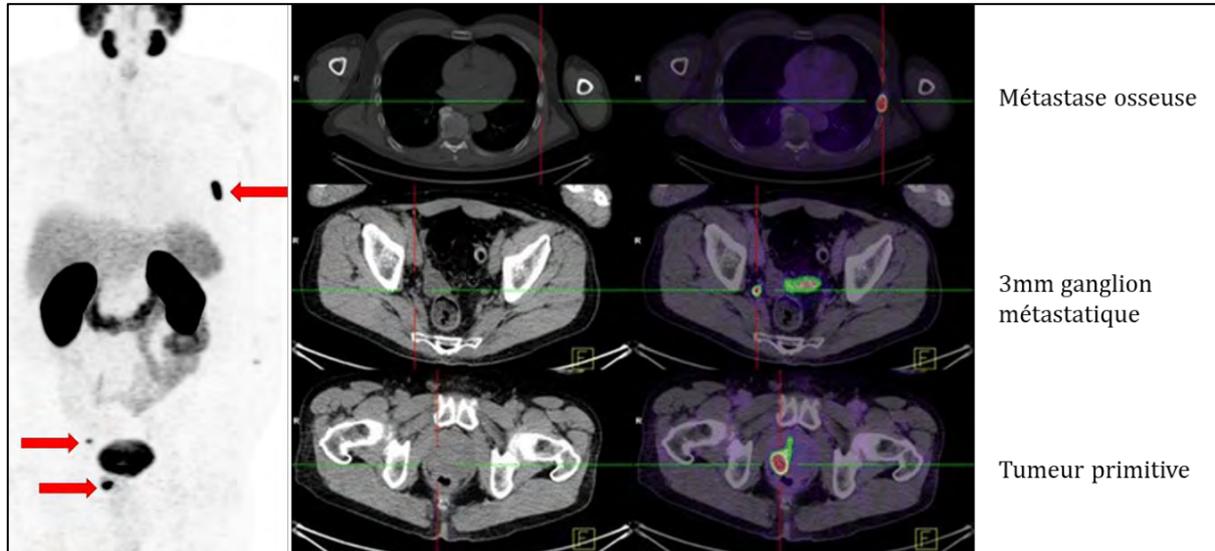


Figure 35 : Contribution de la TEP-PSMA dans la stadification d'un cancer de la prostate à haut risque

Gauche : PSMA-TEP ; Centre : TDM ; Droite : PSMA-TEP/TDM

b – Diagnostic de récurrence

La prise en charge de la récurrence du cancer de la prostate est basée sur les taux de PSA circulant, mais sans toujours identifier de lésion. Un traitement palliatif à base d'hormonothérapie est alors le plus souvent proposé ou une irradiation probabiliste peut être réalisée sur la loge de prostatectomie et sur les aires ganglionnaires. L'efficacité de ces traitements est évaluée sur l'évolution des taux de PSA. L'identification de lésions pouvant bénéficier d'un traitement local curatif est un enjeu majeur que les techniques d'imagerie actuelles peinent à relever. La plupart des études sur le ^{68}Ga -PSMA-11 ont été menées dans le but d'évaluer sa performance dans ce contexte.

En 2016, une méta-analyse réunissant 16 études et 1309 patients a montré que l'examen TEP-PSMA/TDM était positif pour 76% des patients en récurrence biologique. En analysant uniquement les études pour lesquelles un examen histologique était disponible à titre de comparaison, la sensibilité de l'examen TEP-PSMA/TDM atteignait 80% et la spécificité 97%. Les chances d'arriver à localiser la récurrence semblaient cependant dépendre du taux

de PSA et de sa cinétique. Ainsi il est rapporté une positivité de la TEP-PSMA/TDM dans 42%, 58%, 76% et 95% des cas pour des taux de PSA de 0-0,2ng/mL, 0,2-1ng/mL, 1-2ng/mL et >2ng/mL respectivement (124) (figure 36).

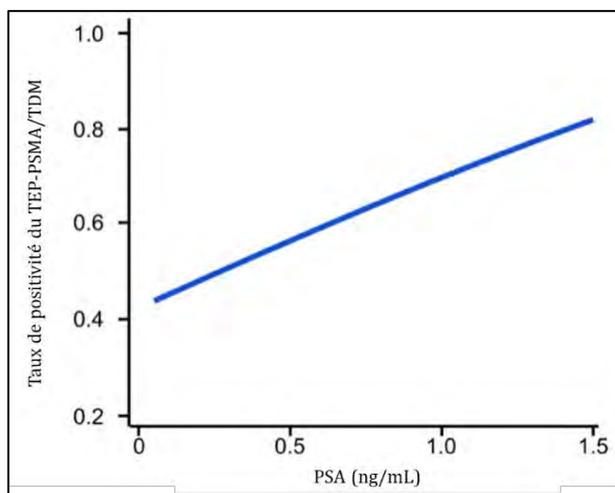


Figure 36 : Taux d'examen TEP-PSMA/TDM positif en fonction du taux de PSA

La TEP-choline a été utilisée ces dernières années dans le but également de localiser les sites de récurrence. Les études comparatives avec la TEP-PSMA montrent la supériorité de cette dernière dans cette indication. Dans une des premières études comparatives prospectives entre les deux radiotraceurs, 38 patients en récurrence biologique ont subi un examen TEP-choline et TEP-PSMA (125). Sur 26 patients avec au moins un examen positif, 25 l'étaient avec la TEP-PSMA et 12 avec la TEP-choline. La comparaison des taux de détection en fonction de la concentration en PSA a également été étudiée et les résultats sont reportés dans la table suivante (table 8).

PSA (ng/mL)	¹⁸ F-Choline	⁶⁸ Ga-PSMA	<i>p</i>
< 0,5	12,50%	50%	0,03
0,5 - 2	36%	71%	0,02
> 2	63%	88%	0,18
Total	32%	66%	< 0,001

Table 8 : Taux de détection de la TEP-choline et de la TEP-PSMA en fonction de la concentration en PSA

Au total sur l'ensemble des patients de cette étude, la TEP-PSMA a identifié 59 lésions contre 29 pour la TEP-choline (figure 37). De plus, le ratio tumeur sur bruit était trois fois plus important pour la TEP-PSMA.

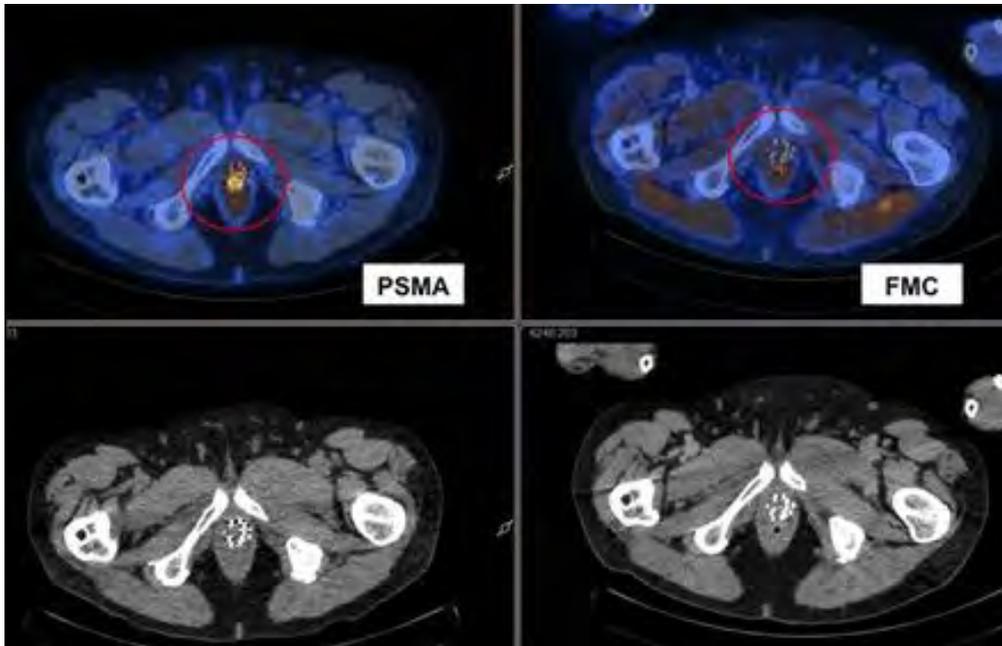


Figure 37 : Comparaison de l'imagerie TEP-PSMA et TEP-choline chez un même patient en récurrence biologique

Patient de 70 ans, cancer de la prostate traité par RT en récurrence biologique (PSA 8,9ng/mL et temps de doublement de 9,5mois). La TEP-choline (FMC) est négative alors que la TEP-PSMA montre une absorption importante du radiotraceur au niveau de la prostate suggérant une récurrence locale, confirmée secondairement par biopsie.

D'autres données issues d'une méta-analyse montrent que chez des patients en situation de récurrence avec un taux de PSA < 0,5ng/mL, le taux de détection médian de la TEP-PSMA est de 49% contre 20% pour la TEP-choline chez des patients avec un taux de PSA < 1ng/mL (126).

Ces études démontrent qu'à l'instar de la TEP-choline, la sensibilité de la TEP-PSMA est dépendante du taux et de la cinétique du PSA. Cependant la TEP-PSMA montre une sensibilité nettement supérieure en cas de taux faible de PSA et représente ainsi un apport conséquent dans la localisation précoce des lésions en cas de récurrence biologique. Sa positivité pouvant engendrer une modification de l'option thérapeutique choisie.

c – Autres applications potentielles

La TEP-PSMA pourrait également avoir un rôle dans le ciblage des biopsies chez les patients présentant un PSA augmenté et une première série de biopsies négatives. Il existe, en effet, une bonne conformité géographique entre les zones à forte absorption du radiotracer et la localisation de la tumeur sur le tissu diagnostique après prostatectomie (127). La TEP-PSMA a également une utilité potentielle dans le choix et le suivi des traitements ainsi que dans la délimitation des volumes d'irradiation en RT (128,129). Cependant, la privation androgénique pourrait représenter un facteur de confusion potentiel en raison de l'augmentation de l'expression du PSMA après l'initiation (*flare up*), suivie d'une diminution et finalement d'une surexpression dans les tumeurs résistantes aux androgènes, comme l'ont montré des études préliminaires (130).

La table suivante proposée par Hofman *et al*, résume les indications dans lesquelles un examen TEP au ⁶⁸Ga-PSMA-11 couplé à la TDM revêt un intérêt, dans l'état actuel des techniques d'imagerie disponibles et des études menées sur la TEP-PSMA (table 9) (123).

Bénéfice estimé	Indication
Important bénéfice estimé ou gain diagnostique	Bilan d'extension dans les maladies à haut risque de D'Amico ; Récidive biologique avec des valeurs basses de PSA (0,2 - 10 ng/mL)
Faible bénéfice estimé ou gain diagnostique	Bilan d'extension dans les maladies à bas risque et à risque intermédiaire de D'Amico
Applications potentielles avec des données préliminaires prometteuses	Ciblage des biopsies après premières biopsies négatives dans un contexte de forte suspicion de cancer de la prostate
Applications potentielles avec un manque actuel de données publiées	Suivi des traitements systémiques dans les cancers métastatiques résistants ou non à la castration ; Surveillance active (conjointement à l'IRM)

Table 9 : Indications potentielles pour l'utilisation de la TEP-PSMA/TDM

d – Limites

Environ 5% de tous les cancers de la prostate ne surexpriment pas significativement le PSMA. Dans ce contexte et du fait du bruit de fond plus important au niveau du foie, certaines métastases hépatiques peuvent ne pas être détectées, d'autant qu'il a été observé que les métastases pouvaient tendre à perdre leur expression du PSMA dans les maladies métastatiques avancées (131,132). Dans les cancers avancés la TDM couplée à la TEP peut donc avoir une importance accrue dans la détection des métastases osseuses.

5 – Déroulement de l'examen pour le patient

Pour un patient se présentant pour un examen TEP-PSMA, il n'y a pas de contre-indication à prendre ses médicaments habituels, il n'est pas non plus nécessaire pour lui d'être à jeun. La dose est administrée en bolus IV et les images sont réalisées sous caméra TEP/TDM entre 60 et 100 minutes plus tard. Ce laps de temps est suffisant pour que le traceur se distribue dans l'organisme, se fixe sur sa cible et soit internalisé par les cellules exprimant le PSMA. Il est demandé au patient de boire abondamment (500mL d'eau) sur cette période puis d'aller uriner juste avant l'installation sous caméra. Cela a pour but de drainer le produit non fixé et de vider la vessie avant l'examen pour que son contenu ne perturbe pas l'interprétation des images. Si l'examen réalisé une heure après l'injection conduit à des images douteuses, il est décrit que la réalisation d'une nouvelle acquisition d'images trois à quatre heures après l'injection peut améliorer la détection de lésions avec une faible expression de PSMA et une accumulation lente du traceur ou de lésions à proximité immédiate de l'uretère ou de la vessie (la fixation du traceur sur le PSMA augmentant avec le temps en parallèle de son élimination des tissus sains environnants) (133).

La posologie recommandée par les guidelines de l'EANM (*European Association of Nuclear Medicine*) et de la SNMMI (*Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*) est de 1,8 à 2,2MBq/kg (131).

6 – Exposition des patients aux radiations – dosimétrie

Lors d'un examen TEP-PSMA/TDM, la dose reçue est la combinaison de l'exposition aux rayonnements du produit radiopharmaceutique (émission β^+ et γ) et à ceux de l'examen TDM (rayons X). La dose moyenne pour une TDM dépend des applications, des protocoles et des systèmes de tomodensitométrie. Cependant, l'amélioration des performances des systèmes de détection des caméras TEP et les progrès technologiques sur les scanners les plus récents permettent de réduire considérablement les doses de rayonnement par rapport à un examen conventionnel par TDM ou TEP. Sur la base de l'étude de Afshar-Oromieh *et al*, la dose efficace moyenne pour le ^{68}Ga -PMSA-11 est de 0,023mSv/MBq, soit une dose efficace moyenne de 3,5mSv pour une activité administrée de 150MBq (134). L'exposition aux rayonnements liés au TDM réalisé dans le cadre d'un examen TEP-PSMA/TDM dépend de l'utilisation prévue. Selon le protocole (TDM à faible dose et/ou TDM diagnostique), la dose efficace de la TDM varie de 1 à 20 mSv. Compte tenu de la

diversité des caméras scanner et des protocoles de tomодensitométrie, il est difficile de généraliser et de donner une valeur de dosimétrie moyenne, celle-ci doit être estimée spécifiquement pour un équipement et un protocole donné. Le choix du protocole d'imagerie dépend de la question clinique et doit être considéré pour chaque cas.

Au vu du gain diagnostique qu'apporte la TEP-PSMA dans la prise en charge du cancer de la prostate, cet examen est régulièrement réalisé dans le service de Médecine Nucléaire du CHUV de Lausanne, les doses utilisées étant achetées à SWAN Isotopen Ag (Berne). Cependant étant confronté à un approvisionnement restreint et coûteux et dans une volonté d'accroître le nombre d'examens TEP-PSMA réalisés, il a été décidé d'entreprendre les démarches pour pouvoir réaliser la production de ^{68}Ga -PSMA-11 au sein de la radiopharmacie du CHUV.

PARTIE 2 : Contrôles Qualité et Lots de Validation pour la Constitution du Dossier d'Autorisation de Production

Dans l'optique de produire du ^{68}Ga -PSMA-11 pour une utilisation en clinique au sein du Centre Hospitalier Universitaire Vaudois (CHUV), le service de Médecine Nucléaire et l'unité de Radiopharmacie doivent soumettre un dossier auprès de Swissmedic, l'institut suisse des produits thérapeutiques. Swissmedic est l'organe d'autorisation et de contrôle des produits thérapeutiques en Suisse. On peut le comparer à l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM) en France.

Le ^{68}Ga -PSMA-11 n'étant encore enregistré dans aucun pays, le dossier à constituer est une demande d'autorisation à durée limitée de distribution de produit radiopharmaceutiques qui s'apparente à un *Investigational Medicinal Product Dossier* (IMPD), l'équivalent d'un Dossier de Médicament Expérimental (DME). Il associe un formulaire de demande d'autorisation, un dossier de documentation préclinique et clinique et un *Pharmaceutical Quality Dossier*.

Le but de ce travail est la constitution du *Pharmaceutical Quality Dossier*, qui est basé sur l'architecture du Module 3 du *Common Technical Document* (CTD) de l'*International Conference of Harmonization* (ICH). Les instructions de Swissmedic pour la réalisation du *Pharmaceutical Quality Dossier* sont présentées en Annexe 3.

Les travaux réalisés dans le cadre de la constitution du *Pharmaceutical Quality Dossier* ont nécessité la mise au point de méthodes analytiques et leur validation. Cela a notamment requis la production de trois lots de validation de ^{68}Ga -PSMA-11. Ceux-ci étant destinés à éprouver les contrôles qualité (CQ) que nous avons développés dans le but d'évaluer la pureté radiochimique et microbiologique du produit pharmaceutique ainsi que d'en garantir sa qualité et la sécurité de son utilisation.

Les données présentées dans cette Partie 2 reprennent une grande part de ces travaux.

I – MATERIELS

A – Locaux et Isolateurs Hautes Energies

L'ensemble des synthèses a été réalisé à l'intérieur d'isolateurs blindés à flux laminaire (COMECER, Italie) répondant aux normes GMP. Ceux-ci sont qualifiés microbiologiquement en classe A. Ils possèdent des sas de transfert qualifiés microbiologiquement en classe B et sont situés dans des locaux qualifiés microbiologiquement en classe C répondant également aux normes GMP.

Les isolateurs assurent une protection de l'opérateur vis-à-vis des rayonnements ionisants grâce à une épaisseur de 50mm de plomb recouvrant l'intégralité de l'enceinte et à une mise en dépression des isolateurs (-120Pa).

Les isolateurs sont équipés d'activimètres VDC 606 (COMECER, Italie) utilisés avec le logiciel MEDI 405 (MEDISYSTEM, France).

B – Equipements de Production

1 - Générateur de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$

Un générateur GalliaPharm® (ECKERT & ZIEGLER, Allemagne) d'une activité nominale en ^{68}Ge de 1850MBq à la date de calibration a été utilisé pour l'obtention de l'éluat de ^{68}Ga . Il possède une tubulure d'entrée et une tubulure de sortie. Le rendement d'élution est de 60% en utilisant un volume d'élution de 5mL d'une solution d'HCl 0,1N.

Ce générateur de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ possède une AMM en France depuis le 10 juin 2015.

2 – Modules de synthèse, consommables et réactifs

Les synthèses ont été réalisées via un automate de synthèse MiniAllinOne® (MiniAiO) (TRASIS, Belgique) placé dans un isolateur blindé (figure 38). Il est associé au logiciel TRASIS qui est utilisé pour piloter le MiniAiO depuis un ordinateur situé à l'extérieur de l'enceinte blindée. L'automate de synthèse présente notamment une loge munie d'un four pour le flacon de réaction, deux pousse-seringues verticaux et deux rangées de vannes rotatives horizontales sur lesquelles se fixe la cassette.



Figure 38 : Automate de synthèse MiniAiO®

Pour chaque synthèse, une cassette (*Ga68 without Prepurification Cassette for AllinOne and MiniAiO*, TRASIS) et ses composants à usage unique sont placés sur le MiniAiO. Chaque cassette comporte notamment, une prise à air munie d'un filtre 0,22 μ m, le flacon de réaction en verre, une seringue de 10mL, les emplacements pour fixer les réactifs et une cartouche d'extraction HLB (*hydrophylic-lipophilic-balanced*) (Waters, USA).

Un kit de réactifs (*Ga68-peptide Reagent Kit without Prepurification for use with E&Z Generator*, TRASIS) est utilisé pour chaque synthèse (figure 39). Il comprend une flasque de 50mL de chlorure de sodium 0,9% (NaCl 0,9%), une seringue de 5mL d'acide chlorhydrique 0,1N (HCl 0,1N), un flacon d'éthanol, une seringue de 1mL de tampon acétate et un spike. A ce kit s'ajoute un flacon de PSMA-11 précurseur contenant 7 μ g de PSMA-11, 2,5 μ g d'acide trifluoroacétique (TFA), 0,5 μ g d'eau ultrapure et 1760 μ g d'acide ascorbique (figure 40).

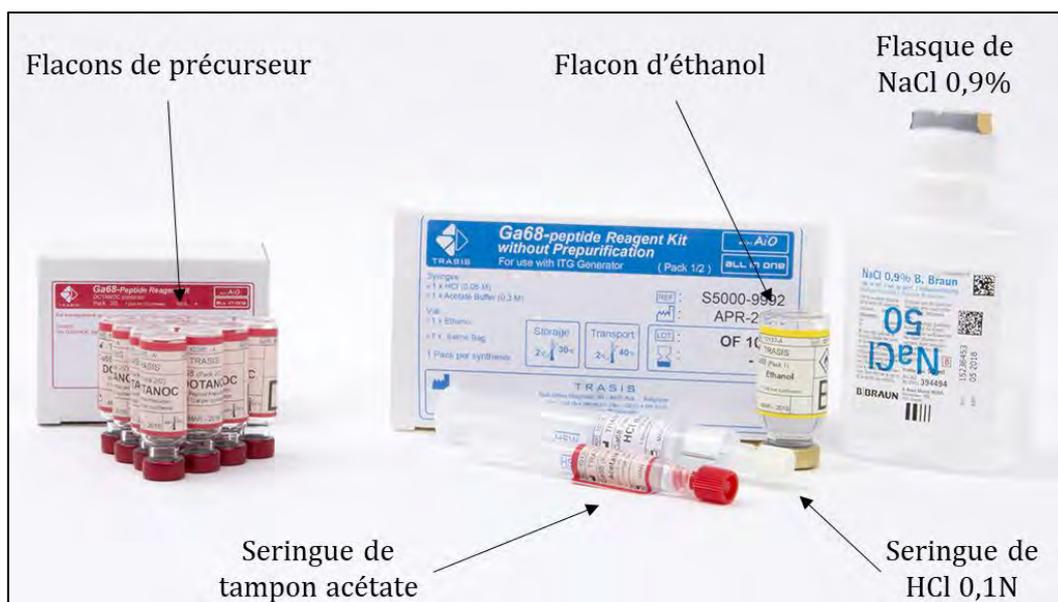


Figure 39 : Exemple de kit de réactifs TRASIS

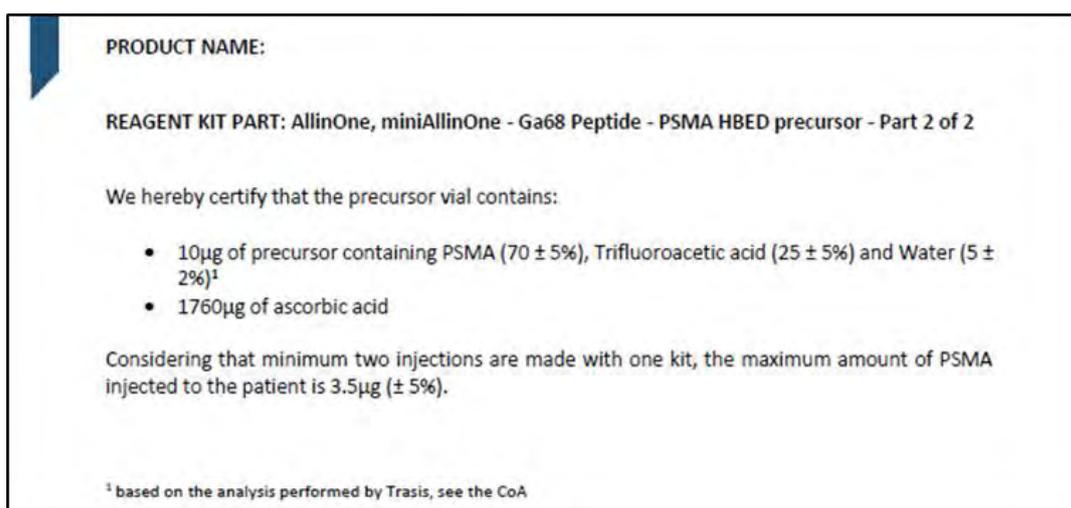


Figure 40 : Composition des flacons de PSMA-11 précurseur

C – Equipements de Contrôle Qualité

1 – Chromatographie liquide haute performance

Les analyses en chromatographie liquide à haute performance (HPLC) ont été réalisées sur un système Dionex ultimate 3000 (ThermoFisher scientific, Etats-Unis) couplé à un détecteur de radioactivité Gabi (Raytest, Allemagne).

Une colonne de chromatographie en phase inverse 150 x 3,0mm ACE 3 μ C18 (Advanced Chromatography Technologies, Ecosse) a été utilisée pour ces analyses.

Le logiciel Chromeleon® (ThermoFisher scientific) a permis le traitement des résultats.

2 – Chromatographie gazeuse

Les analyses en chromatographie gazeuse ont été réalisées sur le système Agilent 6850 (Agilent Technologies, Etats-Unis) intégrant une colonne HP-1 Methyl Siloxane de 30m et de 0,32mm de diamètre intérieur et un système de détection par ionisation de flamme (FID) à 300°C. Le logiciel utilisé pour le traitement des données est Chromeleon® (ThermoFisher scientific).

3 – Chromatographie sur couche mince

Les chromatographies sur couche mince (CCM) ont été réalisées sur des bandes iTLC-SG (Varian Medical System, Etats-Unis) et révélées en utilisant un détecteur de radioactivité MiniGita (Raytest, Allemagne) équipé d'un collimateur de 10mm et sur une gamme d'énergie de 30 à 750keV.

4 – Compteur gamma

Un compteur gamma Hidex AMG Gamma Counter 425-601 (Hidex, Finlande) a été utilisé pour l'identification radionucléidique du ⁶⁸Ga et la mesure de la pureté radionucléidique.

5 – pH

Le pH a été déterminé en utilisant des bandelettes de papiers pH 0,0 – 6,0 et pH 5,0 – 10,0 (Merck).

II – METHODES

A – Synthèse du ^{68}Ga -PSMA-11

1 - Généralités

La production du ^{68}Ga -PSMA-11 est totalement automatisée depuis l'élution du générateur jusqu'au transfert du peptide marqué dans le flacon final, c'est un processus continu effectué par le module de synthèse MiniAiO.

La radiosynthèse du produit pharmaceutique ^{68}Ga -PSMA-11 est réalisée par radiomarquage du précurseur PSMA-11 avec du ^{68}Ga . Dans la continuité de la synthèse, le ^{68}Ga -PSMA-11 est purifié et isolé via la cartouche HLB de la cassette et la formulation sous forme injectable intraveineuse (IV) est réalisée immédiatement par passage au travers d'un filtre stérilisant 0,22 μm . Ainsi le produit pharmaceutique obtenu est une solution stérile injectable prête à utilisation.

2 – Déroulement de la production

Avant de commencer la synthèse, une cassette à usage unique est placée sur le module de synthèse. Le tampon acétate est introduit dans le flacon de PSMA-11 précurseur en utilisant le spike dédié. L'opérateur suit ensuite les étapes détaillées sur l'interface du logiciel TRAVIS (figure 41).

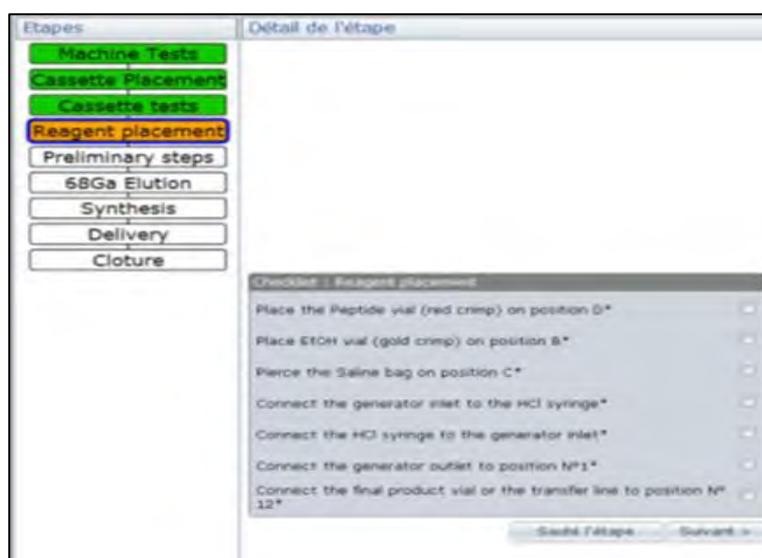


Figure 41 : Interface logiciel TRAVIS - instructions

La seringue d'HCl 0,1N est connectée à la tubulure d'entrée du générateur $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ et placée sur le pousse-seringue du module. La tubulure de sortie du générateur est raccordée à un filtre 0,22 μm puis connectée au port dédié sur la cassette. Les autres réactifs sont également positionnés sur leur emplacement spécifique (figure 42).

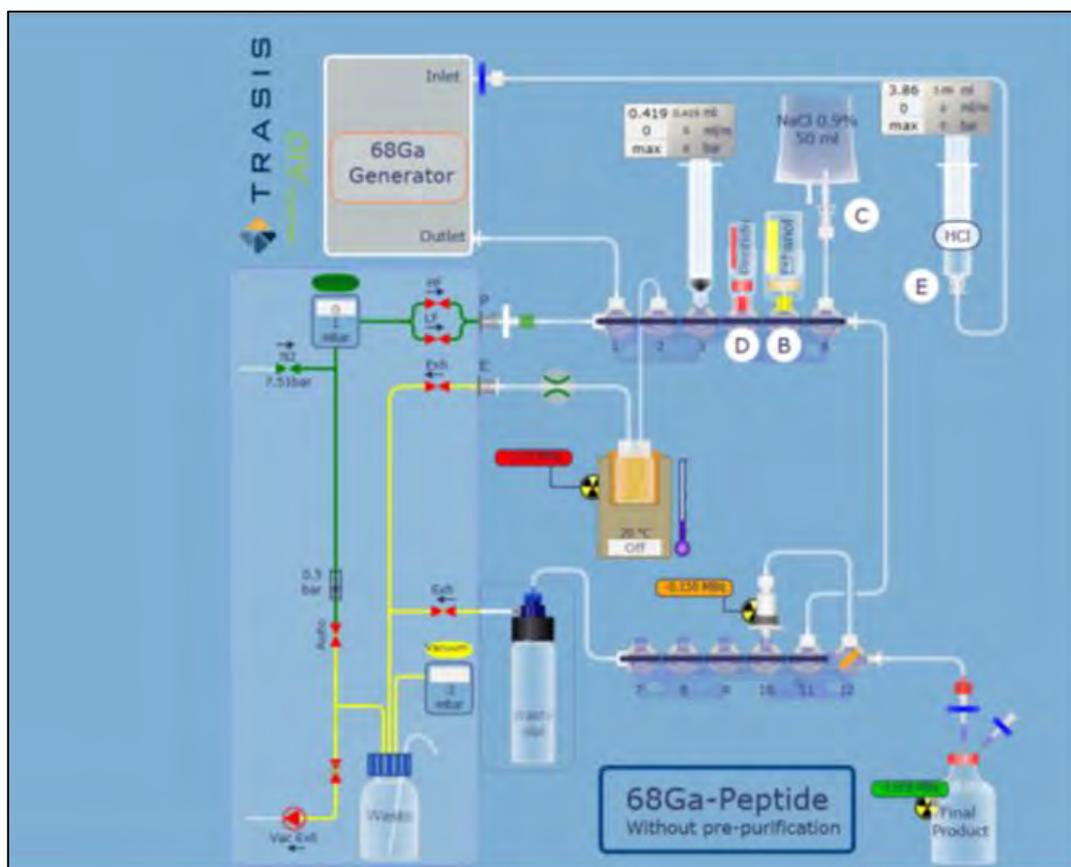


Figure 42 : Interface logiciel TRAVIS – schéma de montage de la cassette et placement des réactifs

Le ^{68}Ga est élué du générateur par 5mL d'une solution de d'HCl 0,1N, et l'éluat est directement introduit dans le réacteur. Les 10 μg du précurseur peptidique dissouts dans 1mL de tampon acétate sont ensuite transférés dans le réacteur où la complexation du PSMA-11 avec le ^{68}Ga a lieu. Le radiomarquage dure 6,5 minutes et est réalisé à pH 4,5. Le flacon de réaction est maintenu à 95°C tout au long de la réaction pour catalyser le processus. Après le radiomarquage, le mélange réactionnel est purifié par passage au travers d'une cartouche HLB qui piège les peptides marqués alors que le ^{68}Ga -libre est éliminé. La cartouche est d'abord rincée avec la solution de NaCl 0,9% pour éliminer les espèces non retenues par la cartouche. Le ^{68}Ga -PSMA-11 est ensuite élué de la cartouche par 0,7mL d'éthanol suivi de 9,3mL de NaCl 0,9% qui entraînent le produit

radiopharmaceutique vers le flacon final. La solution est alors stérilisée par passage au travers d'un filtre 0,22µm avant d'être collectée dans un flacon final stérile placé dans un protège-flacon plombé (figure 43).

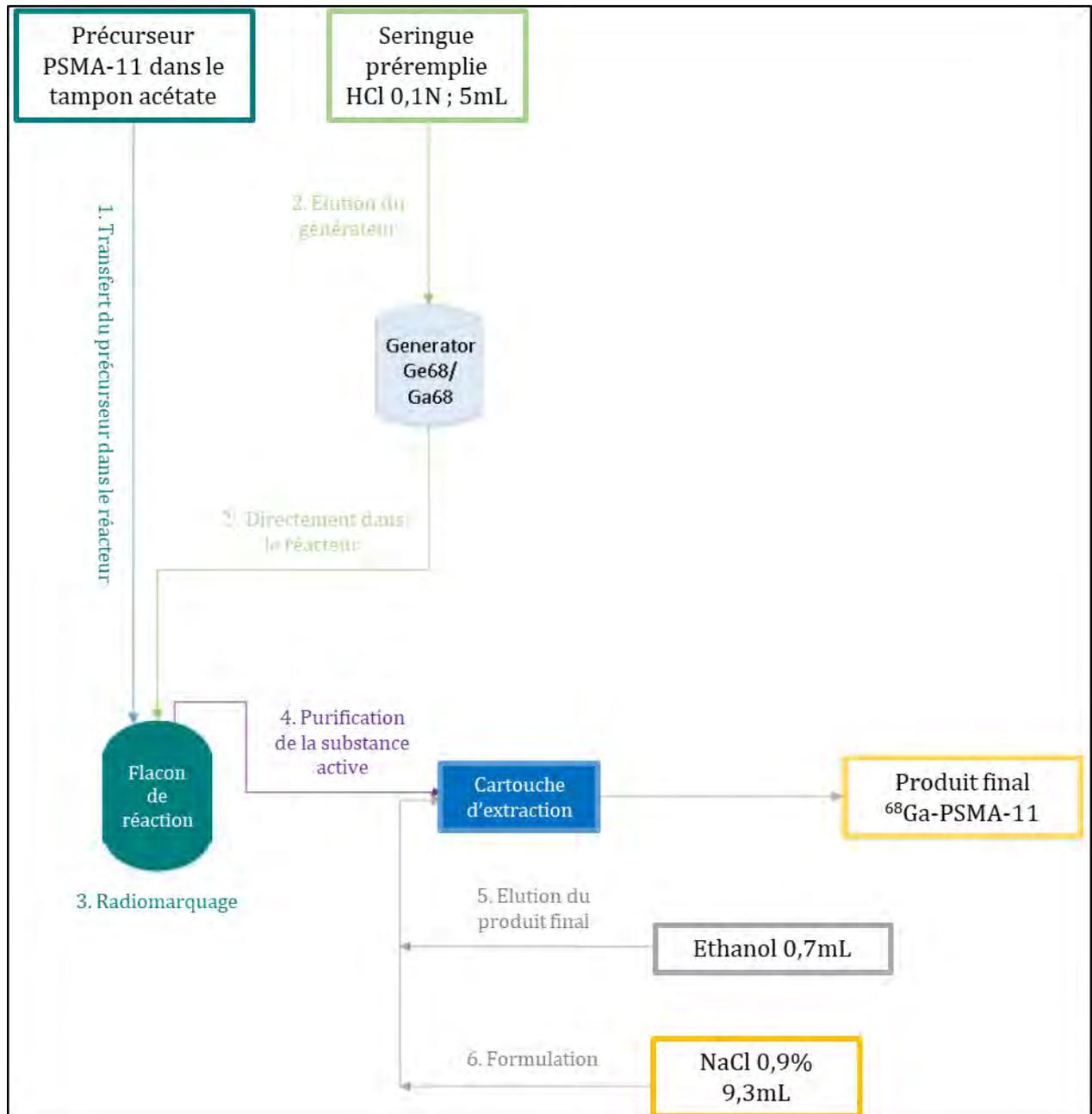


Figure 43 : Etapes de la production du produit radiopharmaceutique ^{68}Ga -PSMA-11

3 – Contrôles des réactifs et du processus de synthèse

Les matières premières entrant dans la composition des réactifs et utilisées pour la synthèse sont contrôlées par validation des certificats d'analyses du fournisseur ou par

contrôle de leur numéro d'autorisation pour les produits pharmaceutiques disposant d'un numéro d'autorisation.

Pour s'assurer du bon déroulement du processus de synthèse, trois paramètres sont contrôlés à l'issue de la production :

- La forme globale de la courbe de température du four sur le rapport de synthèse généré à l'issue de la synthèse (Partie 2 - III-A, figure 45). Elle doit correspondre à celles obtenues sur les lots de validation.
- Le volume de la solution dans le flacon final. Il est contrôlé visuellement et doit être de $10 \pm 0,5\text{mL}$.
- Le résultat du test d'intégrité du filtre $0,22\mu\text{m}$ utilisé pour la stérilisation finale avant le passage de la solution dans le flacon finale. Ce test est réalisé par l'automate de synthèse TRASIS à l'issue de la production.

Après la synthèse, un échantillon est prélevé de manière aseptique en utilisant une seringue de 1mL munie d'un protège-seringue plombé. Les contrôles qualité du produit sont ensuite réalisés sur cet échantillon, ils doivent respecter les spécifications que nous avons définies pour chacun d'entre eux.

B – Contrôles Qualité de la Solution Finale de ^{68}Ga -PSMA-11

Chaque production de ^{68}Ga -PSMA-11 est sujette à des contrôles de qualité qui ont pour but d'évaluer notamment la pureté microbiologique et radiochimique du produit pharmaceutique à libérer. Les tests à réaliser et leurs spécifications sont résumés dans la table suivante (table 10).

Pour valider ces CQ et leurs spécifications, trois synthèses test (= lots de validation = solutions test) ont été réalisées.

Test	Méthode	Spécification
Radioactivité volumique FDS (+)	Mesure de la radioactivité (activimètre)	10-100 MBq/mL
Apparence du flacon final (+)	Contrôle visuel	flacon incolore de 20mL avec septum serti
Apparence de la solution (+)	Contrôle visuel	Limpide et incolore
pH (+)	Bandelettes pH	4,0 - 8,0
Identification radionucléidique du ⁶⁸Ga (energie) (*)	Spectre d'émission gamma	0,50 - 0,52 MeV
Identification radionucléidique du ⁶⁸Ga (demi-vie) (*)	Mesure de l'intensité de l'émission gamma au cours du temps	62 - 74 min
Identification du ⁶⁸Ga-PSMA-11 (temps de rétention FDS) (+)	HPLC	Temps de rétention du ⁶⁸ Ga-PSMA-11
Purité radiochimique du ⁶⁸Ga-PSMA-11 (+)	HPLC CCM	≥ 95% de la radioactivité totale
	HPLC	≤ 2% d'ions ⁶⁸ Ga ³⁺ libres
	CCM	≤ 5% d'ions ⁶⁸ Ga ³⁺ libres et de colloïdes de ⁶⁸ Ga
PSMA-11 et complexes formés avec d'autres métaux (+)	Test aux limites HPLC-UV et certificats de TRASIS	≤ 6µg / volumue max. injecté
Proportion finale d'éthanol (v)	Chromatographie Gazeuse	≤ 10% (V/V)
Sterilité (v)	Test de stérilité	Conforme
Endotoxines bactériennes (v)	Ph. Eur.	≤ 17,5 E.U./mL
Pureté radionucléidique : ⁶⁸Ge (v)(x)	Spectrométrie NaI	≤ 0,001% de la radioactivité totale FDS (mesuré après > 48h)

(+) avant la libération de chaque lot
(v) seulement sur les lots de validation
(*) non réalisé sur le produit car couvert par les contrôles libérateurs du générateur de Gallium-68
(x) réalisé toutes les semaines sur chaque élution du générateur de Gallium-68

Table 10 : Spécifications des contrôles qualité pour le ⁶⁸Ga-PSMA-11 (FDS : Fin De la Synthèse)

1 - HPLC : détermination de la pureté radionucléidique et identification du ⁶⁸Ga-PSMA-11, détection du PSMA-11 et de ses complexes métalliques

Les analyses HPLC sont réalisées en utilisant un volume d'injection dans la rhéodyne de 20µl, une longueur d'onde de détection UV de 280nm et une fenêtre de détection de 400 – 600keV sur le détecteur de radioactivité.

L'élution est réalisée à débit constant de 0,6mL/min selon un gradient du mélange de deux phases mobiles :

- A : Acide trifluoroacétique (TFA) et eau en proportion 1:999 (V/V)
- B : TFA et acétonitrile (ACN) en proportion 1:999 (V/V)

Le régime du gradient est décrit dans la figure suivante (figure 44) :

No	Time	Flow [ml/min]	%B	%C	%D	Curve
1	0.000	Run				
2	0.000	0.600	5.0	0.0	0.0	5
3	0.500	0.600	5.0	0.0	0.0	5
4	10.000	0.600	40.0	0.0	0.0	5
5	11.000	0.600	5.0	0.0	0.0	5
6	16.000	0.600	5.0	0.0	0.0	5
7	New Row					
8	16.000	Stop Run				

Figure 44 : Programme d'élution de la méthode HPLC

a - Spécifications

Identification du ⁶⁸Ga-PSMA-11

Les pics radio-chromatographiques des deux principaux diastéréoisomères (de l'HBED-CC) obtenus sur les solutions tests doivent avoir des temps de rétention similaires aux deux pics principaux sur le radio-chromatogramme (RAD) obtenu avec une solution de ⁶⁸Ga-PSMA-11 de SWAN Isotopen Ag, utilisée comme référence.

Détermination de la pureté radiochimique

La somme des aires des pics radio-chromatographiques des principaux diastéréoisomères ne doit pas être inférieure à 95% de l'aire totale de tous les pics

radioactifs. Les pics correspondant aux ions $^{68}\text{Ga}^{3+}$ libre doivent être inférieurs à 2% de l'aire totale.

Détection du PSMA-11 et de ses complexes métalliques

Le PSMA-11 libre, et complexé à des métaux, ne doit pas excéder $6\mu\text{g}$ par volume injecté au patient (131). Le volume de la solution finale étant de 10mL, l'aire totale du PSMA-11 et de ses complexes métalliques doit être inférieure à l'aire obtenue sur le chromatogramme-UV avec une solution standard de PSMA-11 à $0,6\mu\text{g/mL}$.

b – Validation de la méthode HPLC-RAD pour l'identification du ^{68}Ga -PSMA-11 et la détermination de la pureté radiochimique

Les paramètres de validation de la méthode HPLC-RAD et leurs critères d'acceptation sont résumés dans la table suivante (table 11).

Paramètre	Critère d'acceptation
Spécificité	Résolution > 1,5 pour les deux isomères majoritaires du ^{68}Ga -PSMA-11
Linéarité	$r^2 \geq 0,99$
Précision	$100 \pm 10\%$
Limite de quantification (LDQ)	$S/N > 10$
Test de haute résolution	Pas de nouveau pic radio-chomatographique

Table 11 : paramètres de validation de la méthode HPLC-RAD

Spécificité

La détermination de la spécificité est réalisée en analysant une solution contenant tous les composants qui peuvent être présents dans la solution finale de ^{68}Ga -PSMA-11 et en démontrant que la méthode permet de séparer tous ces composants.

Les impuretés qui peuvent être rencontrées sont des ions $^{68}\text{Ga}^{3+}$ libres, des impuretés fixant du ^{68}Ga qui sont probablement des produits de radiolyse pour la plupart et

probablement le troisième diastéréoisomère que nous avons choisi d'inclure dans les impuretés.

Les analyses ont été réalisées sur les solutions test qui contiennent ces impuretés et les deux isomères principaux du ^{68}Ga -PSMA-11 : elles ont chacune été injectée trois fois (à la fin de la synthèse : T0, à t+1,5h : T1 et à t+3h : T2).

Les deux diastéréoisomères étant très proches chimiquement, il est considéré que si la résolution est bonne entre les deux pics correspondant à ces espèces ($> 1,5$), la spécificité de la méthode est suffisante.

Linéarité

Etant donné que la demi-vie du ^{68}Ga est courte, des analyses HPLC-RAD successives d'échantillons du même flacon final d'une synthèse de ^{68}Ga -PSMA-11 ont été réalisées. Les aires des deux pics principaux du ^{68}Ga -PSMA-11 ont ensuite été additionnées pour construire la courbe de ces aires sommées en fonction de l'activité volumique au moment de l'analyse. Le coefficient de détermination (r^2) a ensuite été extrapolé par régression linéaire. Il doit être supérieur ou égal à 0,99.

Précision

Pour l'évaluation de la précision d'une méthode HPLC-RAD, la radioactivité totale injectée dans la boucle de la rhéodyne doit être égale à la radioactivité totale dans la phase mobile récupérée en sortie de colonne avec une marge d'erreur de $\pm 10\%$.

Pour cela, suite à une injection de solution finale d'une production de ^{68}Ga -PSMA-11, dans la boucle de 20 μL de la rhéodyne de l'HPLC, la phase mobile éluante a été collectée en sortie de colonne pendant la totalité de la durée de la méthode dans un flacon préalablement taré. L'éluant récupéré a été pesé et une quantité équivalente de NaCl 0,9% a été introduite dans un flacon vide. Un volume de 20 μL de la solution finale de ^{68}Ga PSMA-11 a été ajouté dans le flacon de NaCl 0,9% (standard). Un aliquot du flacon contenant la phase mobile récupérée et un aliquot du standard correspondant ont été comptés sur le compteur gamma HIDEX. Cette analyse a été réalisée en triplicat. Les activités ont ensuite été comparées. Elles ne doivent pas varier de plus de 10%.

Limite de quantification

La limite de quantification (LDQ) a été déterminée expérimentalement par des analyses HPLC-RAD successives d'échantillons du même flacon final d'une synthèse de ⁶⁸Ga-PSMA-11 jusqu'à ce que la dernière activité volumique ayant un rapport signal sur bruit (S/N) supérieur à 10 soit atteinte.

Conformément à la Ph. Eur. (5.0, ch. 2.2.46), la formule pour calculer le rapport signal sur bruit est :

$$S/N = 2H/h$$

Avec H : la hauteur du pic du diastéréoisomère majoritaire du ⁶⁸Ga-PSMA-11, mesurée depuis le sommet du pic à la ligne de base extrapolée du signal. Et h : l'amplitude du bruit de fond.

La LDQ doit être suffisante pour quantifier les impuretés.

Test de haute résolution

Un échantillon de la solution finale d'une production de ⁶⁸Ga-PSMA-11 doit subir un test de haute résolution dans le but d'exclure la présence dans la solution de composés qui seraient co-élus avec l'un des composés principaux et qui ne serait donc pas mis en évidence par la méthode HPLC-RAD.

Pour réaliser ce test, la durée du gradient établi dans la méthode HPLC (9,5min) a été doublée afin d'améliorer la séparation des composés. Tous les autres paramètres sont restés les inchangés (débit, proportions du mélange de la phase mobile, température de la colonne...).

Aucun composé supplémentaire ne doit être mis en évidence.

c – Validation de la méthode HPLC-UV pour la détection du PSMA-11 et de ses complexes métalliques

Linéarité

Plusieurs dilutions d'un flacon de PSMA-11 précurseur ont été réalisées pour obtenir une gamme de neuf standards allant de 0,0045 à 13,76 µg/mL (Annexe 4-a). Ces standards ont été analysés, en duplicat, en HPLC avec une détection UV aux longueurs d'onde 205, 220 et 280nm (Annexe 4-b). Les courbes représentant l'aire du pic chromatographique

du PSMA-11 en fonction de la concentration en PSMA-11 ont été construites pour chaque longueurs d'ondes. Le coefficient de détermination (r^2) a ensuite été extrapolé par régression linéaire pour chacune de ces courbes. Il doit être supérieur ou égal à 0,99.

Limite de détection et limite de quantification

La limite de détection (LDD) est déterminée expérimentalement par analyses HPLC-UV de dilutions successives d'un flacon de PSMA-11 précurseur jusqu'à obtenir la plus petite concentration ayant un S/N supérieur à 3.

La LDQ est déterminée de la même manière jusqu'à obtenir la plus petite concentration ayant un S/N supérieur à 10.

2 – CCM : détermination de la pureté radiochimique

La détermination de la pureté radiochimique par CCM est réalisée en déposant 2 μ L de solution finale de ^{68}Ga -PSMA-11 sur la bande papier iTLC-SG qui est éluée sur 10cm par un mélange 1 : 1 (V/V) de méthanol et acétate d'ammonium 1M. La bande est ensuite révélée par passages répétés sous le détecteur de radioactivité réglé sur une gamme d'énergie de 30 à 750keV.

Spécifications

Le facteur de rétention du ^{68}Ga -PSMA-11 est compris entre 0,8 et 1 et l'aire de son pic chromatographique représente plus de 95% de la radioactivité totale.

Le facteur de rétention des impuretés radioactives (ions $^{68}\text{Ga}^{3+}$ et colloïdes de ^{68}Ga) est compris entre 0 et 0,1 et l'aire de leur pic chromatographique ne doit pas représenter plus de 5% de la radioactivité totale.

3 – Chromatographie gazeuse : détermination des solvants résiduels

La quantité d'éthanol résiduel dans la solution finale de ^{68}Ga -PSMA-11 a été mesurée en utilisant la chromatographie gazeuse. Un volume de 0,1 μ L a été injecté dans le système chromatographique avec un débit fixé à 3,0mL/min en utilisant de l'hélium comme phase mobile.

Spécification

L'éthanol résiduel doit être inférieur à 10% du volume final de la solution de ^{68}Ga -PSMA-11.

4 – Détermination du pH de la solution finale de ^{68}Ga -PSMA-11

Le pH de la solution est mesuré par des bandelettes pH en déposant une goutte de la solution de ^{68}Ga -PSMA-11 sur la partie réactive de bandelette. Le pH est ensuite déterminé par comparaison de la couleur de la bandelette avec le référentiel.

a - Spécification

Le pH de la solution finale de ^{68}Ga -PSMA-11 doit être entre 4,0 et 8,0.

b - Validation de la méthode de détermination du pH

Pour déterminer un pH compris entre 4,0 et 8,0 des bandelettes pH 0,0 – 6,0 et 5,0 - 10,0 ont été utilisées.

Les bandelettes pH 0,0 - 6,0 et 5,0 - 10,0 ont été humidifiées sur leur partie réactive avec un tampon pH 7,00, un tampon pH 4,00 ou une solution finale de ^{68}Ga -PSMA-11. Une minute plus tard, les bandes ont été comparées à l'échelle de couleur.

5 – Identification radionucléidique : détermination de la demi-vie

La détermination de la demi-vie a été réalisée sur les trois lots de validation en utilisant l'activimètre. Après synthèse, le flacon final est placé dans l'activimètre qui en mesure la décroissance radioactive au cours du temps pour déterminer la demi-vie.

Spécification

Le ^{68}Ga doit être le seul radioisotope présent. La demi-vie calculée par l'activimètre doit être celle du ^{68}Ga et comprise entre 62min et 74min.

6 – Identification radionucléidique : détermination de l'énergie des photons gamma du ⁶⁸Ga

Le compteur gamma HIDEX est utilisé pour l'identification du ⁶⁸Ga par spectrométrie γ . Cette analyse est réalisée sur une élution du générateur ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga lors des contrôles libérateurs du générateur.

A la suite d'une élution, un aliquot de l'éluat est placé dans le compteur gamma qui fournit le spectre γ de la solution. Ce spectre permet de déterminer les radioéléments en présence dans l'éluat. Le spectre d'émission γ du ⁶⁸Ga est composé d'un pic principal à 511keV et deux autres pics de 1,077MeV et 1,022MeV.

Spécification

L'émission γ principale du ⁶⁸Ga de 511keV doit être retrouvée. Aucun pic n'appartenant pas au spectre d'émission du ⁶⁸Ga ne doit être identifié.

7 – Détermination de la pureté radionucléidique

Le compteur gamma HIDEX ou un compteur NaI peuvent être utilisés pour la détermination de la pureté radionucléidique de la solution finale de ⁶⁸Ga-PSMA-11. Ce test correspond à la mesure de la quantité de ⁶⁸Ge et est réalisé sur les trois lots de validation et sur les éluions du générateur ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga chaque semaine.

Au moins 48h après la synthèse, afin d'éviter une saturation du signal, l'activité résiduelle du flacon final est mesurée. Elle est l'expression de la présence de ⁶⁸Ge qui peut ainsi être quantifiée pour déterminer sa proportion dans la solution finale de ⁶⁸Ga-PSMA-11.

Spécification

La proportion de ⁶⁸Ge doit être inférieure à 0,001% dans la solution finale de ⁶⁸Ga-PSMA-11.

8 – Détermination de la stérilité de la solution finale de ⁶⁸Ga-PSMA-11 et dosage des endotoxines bactériennes

La démonstration de la stérilité et le dosage des endotoxines bactériennes de la solution finale de ⁶⁸Ga-PSMA-11 ont été réalisés sur les trois lots de validation. Après avoir laissé les flacons finaux de ⁶⁸Ga-PSMA-11 décroître totalement, les tests de stérilité ont été

réalisés par l'unité de contrôle de qualité de la Pharmacie du CHUV selon le chapitre 2.6.1 de la Ph. Eur. et le dosage des endotoxines par un test LAL (Lysat d'Amoebocytes de Limule) comme décrit dans la Ph. Eur. 01/2008:20614.

Spécifications

Aucun microorganisme ne doit être retrouvé dans la solution finale de ^{68}Ga -PSMA-11.

La quantité d'endotoxines bactériennes de la solution finale de ^{68}Ga -PSMA-11 doit être inférieure à 17,5E.U/mL.

9 – Contrôle de l'activité volumique à la fin de la synthèse

A la fin de la synthèse du ^{68}Ga -PSMA-11, le flacon final contenant 10mL de solution ^{68}Ga -PSMA-11 est placé dans l'activimètre de l'isolateur blindé et l'activité de la solution est mesurée.

Spécification

L'activité volumique de la solution de ^{68}Ga -PSMA-11 doit être comprise entre 10 et 100MBq/mL.

C – Etude de Stabilité

Suite à la synthèse de ^{68}Ga -PSMA-11, la fenêtre d'utilisation du produit est relativement faible due à la demi-vie du ^{68}Ga (67,71min), sa stabilité n'a donc été étudiée que jusqu'à trois heures après la production. Pour la valider, les puretés radiochimiques, en HPLC-RAD et en CCM, ont été contrôlées sur une période de 3h après la synthèse. Les solutions ont été conservées à température ambiante (25°C) et les contrôles ont été réalisés aux temps T0, T+1,5h et T+3h sur les trois lots de validations.

III – RESULTATS

A – Synthèse du ^{68}Ga -PSMA-11

Les performances du radiomarquage sont présentées dans la table suivante (table 12).

Temps de synthèse	20 ± 2 min
Durée d'éluion du générateur	$5,0 \pm 0,5$ min
Durée du radiomarquage	$6,5 \pm 0,5$ min
Rendement de marquage	75 - 80%
^{68}Ga-PSMA-11 volume final	$10 \pm 0,5\text{mL}$
^{68}Ga-PSMA-11 composition finale	< 10% d'éthanol dans du NaCl 0,9%
Activité résiduelle dans la cassette	$\leq 1\%$ de l'activité initiale

Table 12 : Performances du radiomarquage du ^{68}Ga -PSMA-11

L'enregistrement de la température du four tout au long de la production est présentée sous forme de graphique dans le rapport de synthèse à l'issue de celle-ci (figure 45).

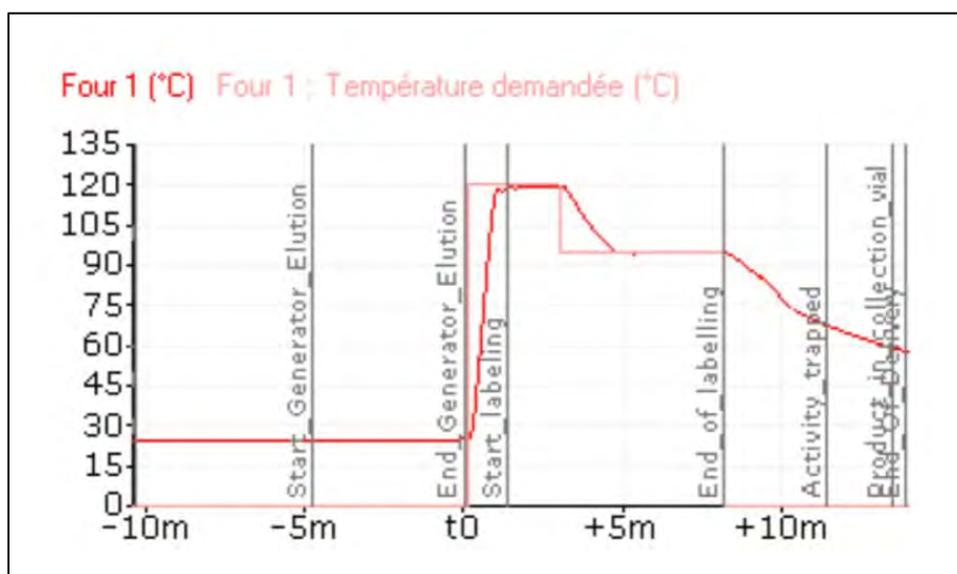


Figure 45 : Graphique de température du four au cours de la synthèse

La composition du produit pharmaceutique dans le flacon final est donnée dans la table suivante (table 13).

Nom des composés	Quantité	Fonction	Reference to standard
Substance active			
[⁶⁸ Ga]Ga-PSMA-11	10-100 MBq/mL	Radiotracteur	NA
Excipient			
Ethanol	0,7 ± 0,3mL	Eluant	Ph. Eur
NaCl 0,9% solution	9,3 ± 0,6mL	Isotonifiant	Ph. Eur

Table 13 : Composition du produit pharmaceutique final

B - Contrôles Qualité de la Solution Finale de ⁶⁸Ga-PSMA-11

1 - HPLC : Détermination de la Pureté Radionucléidique et Identification du ⁶⁸Ga-PSMA-11, du PSMA-11 et de ses Complexes Métalliques

Des exemples représentatifs des chromatogrammes RAD et UV de la solution finale de ⁶⁸Ga-PSMA-11 sont présentées dans les figures suivantes (figures 46 et 47) et les temps de rétention des pics d'intérêt sont donnés dans la table 14.

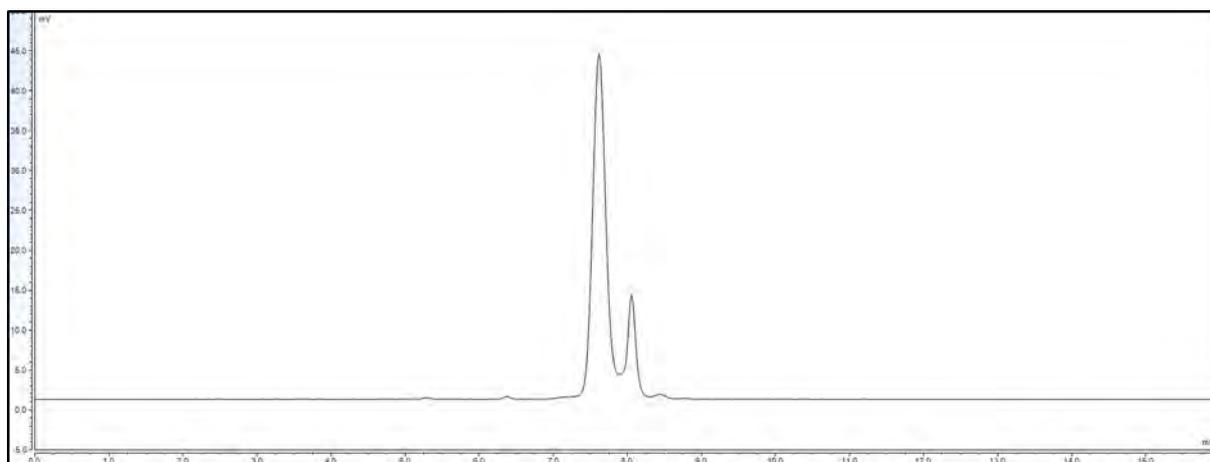


Figure 46 : Radio-chromatogramme de la solution finale de ⁶⁸Ga-PSMA-11

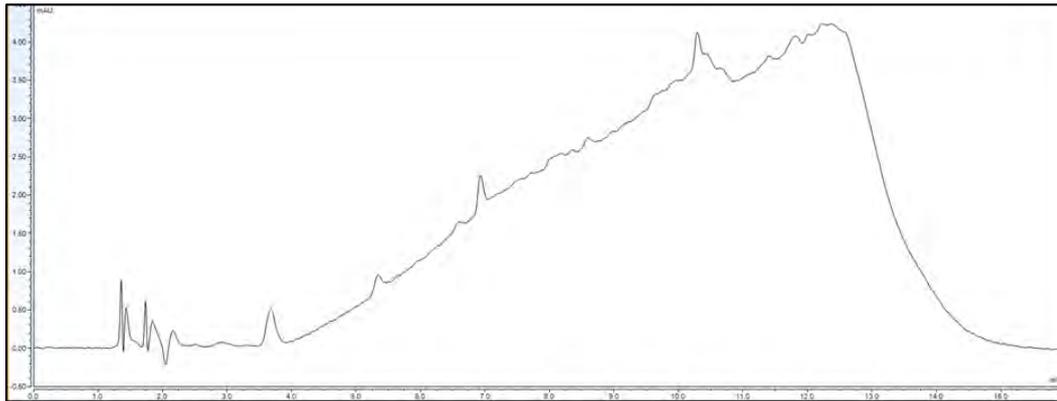


Figure 47 : Chromatogramme UV (280nm) de la solution finale de ^{68}Ga -PSMA-11

Substance	Temps de rétention	Spécification
Détection radiochimique		
^{68}Ga -PSMA-11 isomère 1	7,62 ± 0,30 min	> 95%
^{68}Ga -PSMA-11 isomère 2	8,06 ± 0,30 min	
ions $^{68}\text{Ga}^{3+}$	1,29 ± 0,30 min	< 2%
	1,91 ± 0,30 min	
Détection UV (280nm)		
PSMA-11	8,35 ± 0,30 min	< 0,6 µg/mL

Table 14 : Temps de rétention des pics d'intérêt en chromatographie HPLC

a - Identification du ^{68}Ga -PSMA-11

Les temps de rétention des deux pics principaux sur le radio-chromatogramme (RAD) obtenus avec une solution de référence de ^{68}Ga -PSMA-11 de SWAN Isotopen Ag sont 7,64min et 8,07min (figure 48).

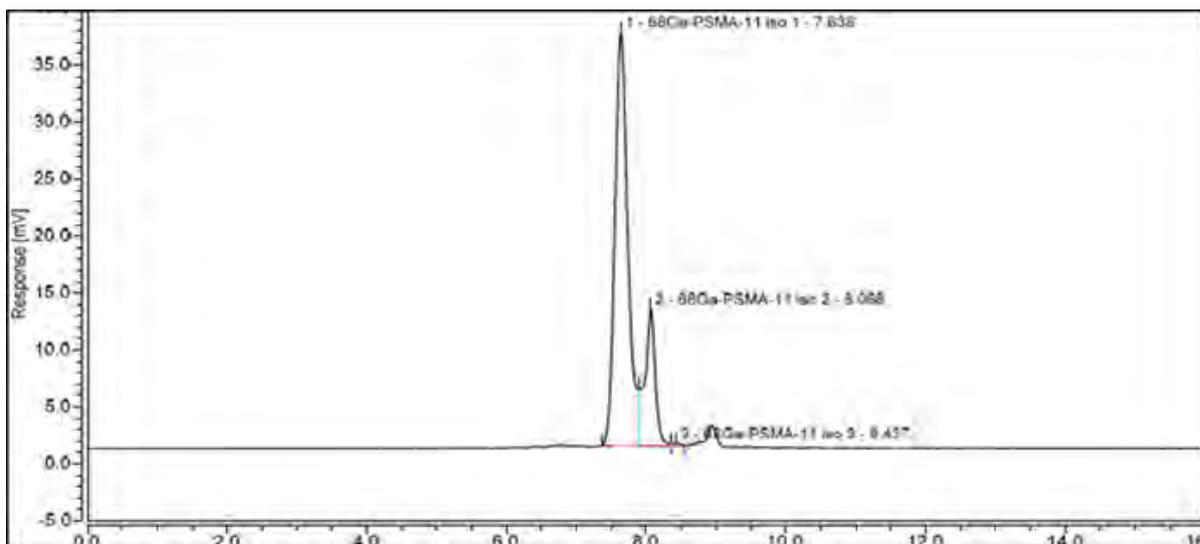


Figure 48 : Radio-chromatogramme de la solution de référence de ^{68}Ga -PSMA-11

Ces temps de rétention, obtenus par la méthode HPLC-RAD avec la solution de ^{68}Ga -PSMA-11 utilisée comme référence, sont comparables à ceux retrouvés avec notre propre solution de ^{68}Ga -PSMA-11.

Ce résultat est en accord avec la spécification établie pour ce CQ.

b - Détermination de la pureté radiochimique

Pour la détermination de la pureté radiochimique par HPLC-RAD dans le premier des trois lots de validation l'aire cumulée des pics des deux diastéréoisomères principaux de la solution finale de ^{68}Ga -PSMA-11 représente 98,23% de l'aire totale de tous les pics radioactifs. Les ions $^{68}\text{Ga}^{3+}$ libres représentent 0% de l'aire totale de tous les pics radioactifs.

Ces résultats sont en accord avec les spécifications établies pour ce CQ.

Les résultats complets sont présentés dans la table 18 (Partie 2 - III-C).

c - Détection du PSMA-11 et de ses complexes métalliques

L'HPLC-UV ne met pas en évidence de PSMA-11 libre dans les solutions finales des lots de validation (Partie 2 - III-B, figure 47).

Ce résultat est en accord avec la spécification établie pour ce CQ.

d – Résultats de validation de la méthode HPLC-RAD pour l'identification du ⁶⁸Ga-PSMA-11 et la détermination de la pureté radiochimique

Spécificité

Les résultats de la mesure de la résolution entre les composés les plus proches sur le radio-chromatogramme sont présentés dans la table suivante (table 15).

Injection	Temps de rétention (min)				Résolution	
	⁶⁸ Ga-impureté 1	⁶⁸ Ga-impureté 2	⁶⁸ Ga-PSMA-11 isomère 1	⁶⁸ Ga-PSMA-11 isomère 2	⁶⁸ Ga-impureté 2 vs. ⁶⁸ Ga-PSMA-11 isomère 1	⁶⁸ Ga-PSMA-11 isomère 1 vs. isomère 2
Lot de validation 1						
T0	5,29	6,38	7,64	8,08	5,1	1,7
T1	5,29	6,37	7,63	8,07	5,1	1,7
T2	5,29	6,37	7,63	8,07	5,3	1,7
Lot de validation 2						
T0	5,28	6,37	7,62	8,06	5,3	1,7
T1	5,29	6,37	7,62	8,06	5,1	1,7
T2	5,30	6,37	7,62	8,06	5,3	1,7
Lot de validation 3						
T0	5,29	6,38	7,63	8,07	5,0	1,7
T1	5,29	6,38	7,62	8,07	5,0	1,7
T2	5,28	6,37	7,63	8,07	5,0	1,6

Table 15 : Temps de rétention et résolution pour la détermination de la spécificité de la méthode HPLC-RAD

La résolution entre les deux diastéréoisomères du ⁶⁸Ga-PSMA-11 est supérieure à 1,5. La spécificité de la méthode HPLC-RAD est validée.

Linéarité

Pour la détermination de la linéarité, 13 analyses HPLC-RAD ont été réalisées entre 17min et 648min après la fin de la synthèse (Annexe 5). La courbe des aires sommées des 2 pics principaux du ⁶⁸Ga-PSMA-11 en fonction de l'activité volumique est présenté dans la figure suivante (figure 49).

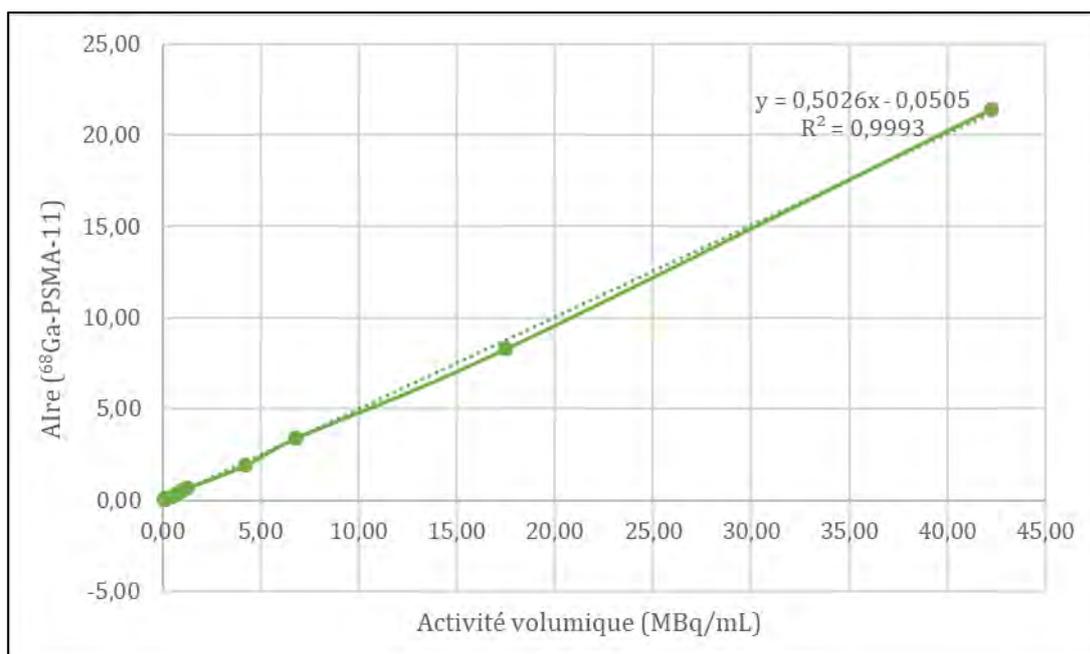


Figure 49 : Régression linéaire de l'aire des pics du ^{68}Ga -PSMA-11 en HPLC-RAD

L'aire des pics radio-chromatographiques du ^{68}Ga -PSMA-11 est linéaire avec l'activité volumique des échantillons injectés lors des analyses HPLC avec un r^2 de 0,9993 dans la gamme 0,07 – 42,3 MBq/mL.

Le r^2 est supérieur à 0,99. La linéarité de la méthode HPLC-RAD est validée (sur la plage d'activité volumique 0,07 – 42,3 MBq/mL).

Précision

Les activités mesurées sur les aliquots des flacons contenant les phases mobiles récupérées et ceux des standards correspondants sont reportées dans la table suivante (table 16).

	Heure	Acti vol (MBq/mL)	Masse de l'éluant collecté (g)	Masse du standard (g)	Radioactivité de l'éluant (Bq)	Radioactivité du standard (Bq)	Erreur
1	10:25:00	25,6	13,02	13	3869	3989	-3,01%
2	11:25:00	13,8	12,89	12,91	2072	2073	-0,05%
3	12:07:00	9,0	16,58	16,59	691	681	1,47%

Table 16 : Détermination de la précision de la méthode HPLC-RAD

Pour les trois analyses, la radioactivité totale injectée dans la rhéodyne est égale à la radioactivité totale dans la phase mobile récupérée en sortie de colonne avec des erreurs inférieures à 10%.

La précision de la méthode HPLC-RAD est validée.

Limite de quantification

Avec une injection dans la rhéodyne de 20 μ L d'une solution de 65670Bq/mL l'aire du pic du diastéréoisomère majoritaire du ^{68}Ga -PSMA-11 était de 0,029mV*min et le radio-chromatogramme obtenu est présenté dans la figure suivante (figure 50).

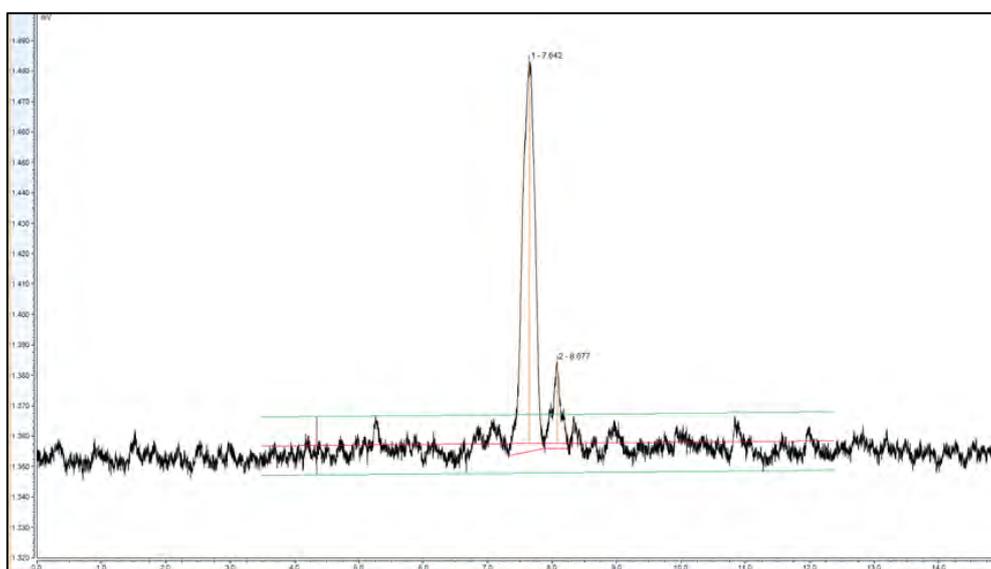


Figure 50 : Radio-chromatogramme d'une solution de 65670Bq/mL de ^{68}Ga -PSMA-11

L'amplitude du bruit de fond représenté par les deux lignes vertes est de 89 pixels (h). La hauteur du pic (orange), du sommet du pic à la ligne de base extrapolée du signal (rouge) est de 582 pixels (H).

Le rapport S/N est donc de :

$$S/N = 2H/h = 2 \times 582 / 89 = 13,08$$

Le rapport S/N est supérieur à 10. La LDQ est établie à 65670Bq/mL pour la méthode HPLC-RAD.

Quand le générateur $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ est proche de sa fin de vie, la radioactivité totale de la solution finale de ^{68}Ga -PSMA-11 est aux alentours de 400MBq dans 10mL. Le maximum

acceptable de l'impureté $^{68}\text{Ga}^{3+}$ libre est 2%, ce qui représenterait 8MBq, soit 0,8MBq/mL ou 800000Bq/mL. Donc, une LDQ de 65670Bq/mL permet toujours la quantification des impuretés ioniques $^{68}\text{Ga}^{3+}$ lorsque le générateur est en fin de vie.

La méthode HPLC-RAD a une LDQ suffisamment basse pour quantifier les impuretés.

Test de haute résolution

En doublant le temps d'établissement du gradient de la méthode HPLC, le radio-chromatogramme obtenu est présenté dans la figure suivante (figure 51).

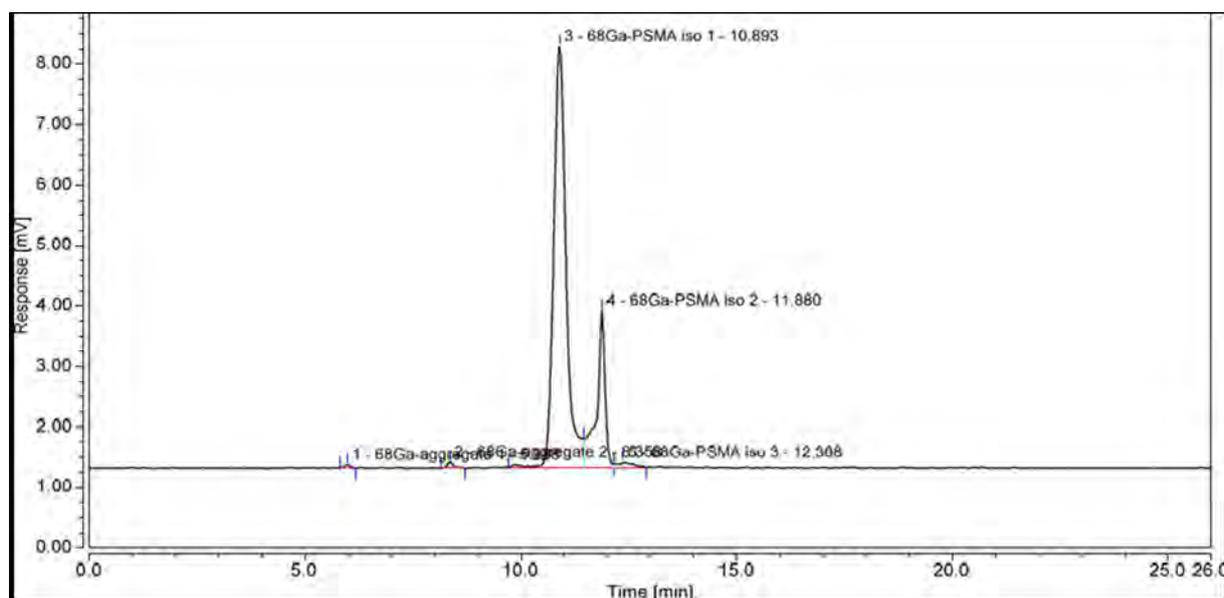


Figure 51 : Radio-chromatogramme du ^{68}Ga -PSMA-11 avec une plus grande résolution

Les temps de rétention des deux diastéréoisomères principaux du ^{68}Ga -PSMA-11 sont de 10,89min et 11,88min respectivement comparément à 7,64min et 8,08min avec la méthode HPLC-RAD et leur résolution a été améliorée, passant de 1,7 à 2,7. Ce test de haute résolution ne met pas en évidence de pic additionnel.

La discrimination de tous les composés radioactifs présents dans la solution finale de ^{68}Ga -PSMA-11 par la méthode HPLC-RAD est validée.

Les paramètres de validation de la méthode HPLC-RAD, résumés dans la table suivante, sont tous conformes (table 17).

Paramètre	Critère d'acceptation	Résultat du test de validation de la méthode
Spécificité	Résolution > 1,5 pour les deux isomères majoritaires du ⁶⁸ Ga-PSMA-11	> 1,6 entre ⁶⁸ Ga-PSMA-11 isomère 1 et isomère 2
Linéarité	$r^2 \geq 0,99$	$r^2 = 0,9993$
Précision	100±10%	erreur de -3,01% à 1,47%
Limite de quantification (LDQ)	S/N > 10	S/N = 13,08
Test de haute résolution	Pas de nouveau pic radio-chromatographique	Pas de co-élution mise en évidence

Table 17 : Résultats des tests de validation de la méthode HPLC-RAD

La méthode RAD-HPLC est validée et peut être utilisée pour l'identification du ⁶⁸Ga-PSMA-11 et la détermination de la pureté radiochimique de la solution finale de ⁶⁸Ga-PSMA-11 (dans la gamme de radioactivité volumique de 0,07 - 42,3MBq/mL).

e - Validation de la méthode HPLC-UV pour la détection du PSMA-11 et de ses complexes métalliques non radioactifs

Linéarité

La régression linéaire de la courbe représentant l'aire du pic chromatographique du PSMA-11, en détection UV à 280nm, en fonction de la concentration en PSMA-11 est présentée dans la figure suivante (figure 52).

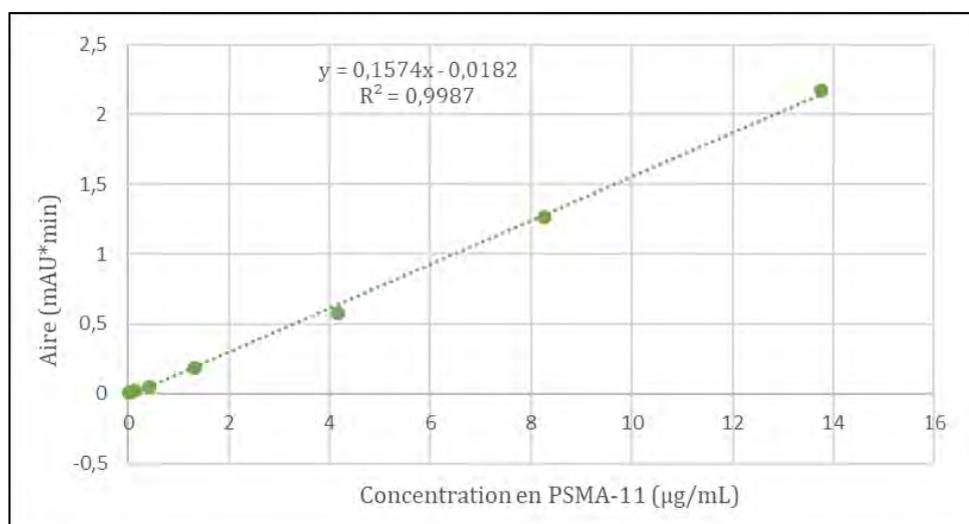


Figure 52 : Régression linéaire de l'aire du pic du PSMA-11 à en fonction de sa concentration. Détection UV à 280nm

Les courbes obtenues avec une détection aux longueurs d'ondes 205nm et 220nm sont présentées en Annexe 4-c. Pour ces deux longueurs d'ondes, les r^2 sont respectivement de 0,9981 et 0,998 sur une gamme de concentrations en PSMA-11 allant de 0,14 à 13,76 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

A la longueur d'onde 280nm, le r^2 est de 0,9987 sur une gamme de concentrations en PSMA-11 allant de 0,014 à 13,76 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Pour chaque longueur d'onde r^2 est supérieur à 0,99. La linéarité de la méthode HPLC-UV est validée. La longueur d'onde 280nm est choisie pour la suite des analyses car la linéarité est validée sur une gamme de concentrations plus importante : 0,014 à 13,76 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Limite de détection

Avec une injection dans la rhéodyne de 20 μL d'une solution de 0,044 $\mu\text{g}/\text{mL}$, soit une quantité de 0,85ng de PSMA-11, l'aire du pic du PSMA-11 était de 0,09mAU*min et le chromatogramme-UV obtenu est présenté dans la figure suivante (figure 53).

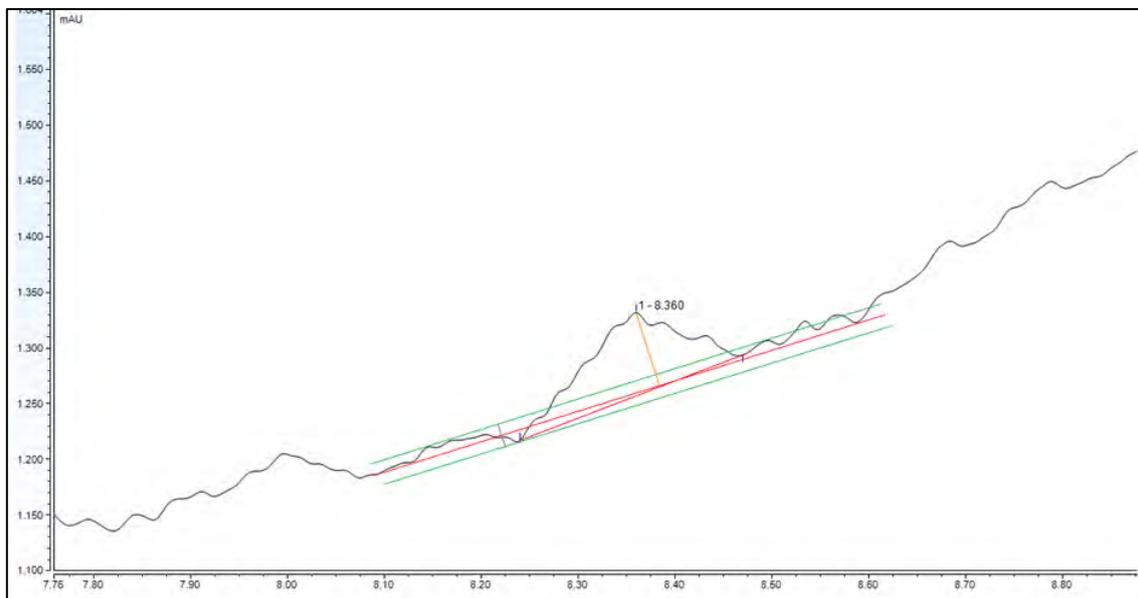


Figure 53 : Chromatogramme-UV d'une solution de 0,044 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de PSMA-11 (zoom)

La ligne de base n'est pas horizontale car le pic du PSMA-11 est situé dans le gradient. L'amplitude du bruit de fond représenté par les deux lignes vertes est de 23 pixels (h). La hauteur du pic (orange), du sommet du pic à la ligne de base extrapolée du signal (rouge) est de 76 pixels (H).

Le rapport S/N est donc de :

$$S/N = 2H/h = 2 \times 76 / 23 = 6,60$$

Le rapport S/N est supérieur à 3. La LDD est établie à 0,044µg/mL pour la méthode HPLC-UV.

Limite de quantification

Avec une injection dans la rhéodyne de 20µL d'une solution de 0,14µg/mL, soit une quantité de 2,7ng de PSMA-11, l'aire du pic du PSMA-11 était de 0,21mAU*min et le chromatogramme-UV obtenu est présenté en Annexe 5. Le rapport S/N est de 38,8.

Le rapport S/N est supérieur à 10. La LDQ est établie à 0,14µg/mL pour la méthode HPLC-UV.

2 - CCM : Détermination de la Pureté Radiochimique

Pour la détermination de la pureté radiochimique par CCM dans le premier des trois lots de validation l'aire correspondant au ⁶⁸Ga-PSMA-11 représente 99,58% de la radioactivité totale et son facteur de 0,915. L'aire des ions ⁶⁸Ga³⁺ libres et des espèces colloïdales de ⁶⁸Ga représente 0,42% de la radioactivité totale et son facteur de rétention est de 0,059.

Ces résultats sont en accord avec les spécifications établies pour ce CQ.

Les résultats complets sont présentés dans la table 18 (Partie 2 - III-C).

3 - Chromatographie Gazeuse : Détermination des Solvants Résiduels

La détermination de la quantité d'éthanol résiduel par chromatographie gazeuse dans le premier des trois lots de validation donne un résultat de 8,35% (V/V).

Ce résultat est en accord avec la spécification établie pour ce CQ.

Les résultats complets sont présentés dans la table 18 (Partie 2 - III-C).

4 - Détermination du pH de la Solution Finale de ⁶⁸Ga-PSMA-11

La détermination du pH par l'utilisation de bandelettes pH sur les solutions finales de ⁶⁸Ga-PSMA-11 des trois lots de validation établit un pH de 5 pour chacune d'entre elles (table 18 - Partie 2 - III-C).

Ces résultats sont en accord avec la spécification établie pour ce CQ.

Validation de la méthode de détermination du pH

La figure suivante illustre le résultat du test de validation de la méthode de détermination du pH de la solution finale de ^{68}Ga -PSMA-11 (figure 54).

Les bandelettes pH 0,0 - 6,0 sont représentées dans la partie supérieure. Celle humidifiée avec le tampon pH 7,0 est hors échelle. La bandelette utilisée avec le tampon pH 4,0 a une couleur conforme à un pH de 4 selon l'échelle de couleur. La bandelette de pH humidifiée avec la solution de ^{68}Ga -PSMA-11 a un pH de 5.

Les bandelettes pH 5,0 - 10,0 sont représentées dans la partie inférieure. Celle humidifiée avec le tampon pH 4,0 est hors échelle. La bandelette utilisée avec le tampon pH 7,0 a une couleur conforme à un pH de 7 selon l'échelle de couleur. La bandelette de pH humidifiée avec la solution de ^{68}Ga -PSMA-11 a un pH de 5.

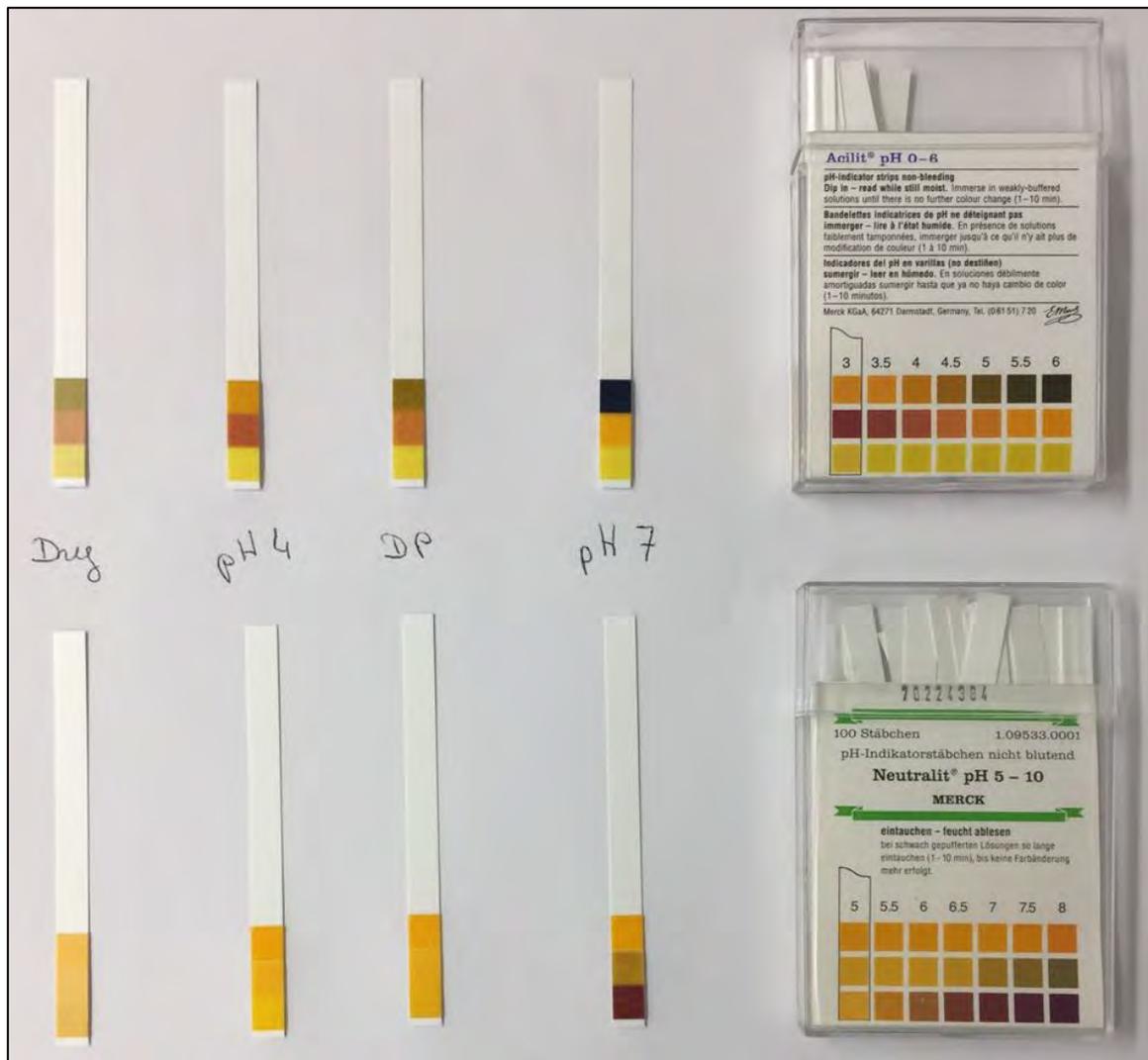


Figure 54 : Validation des bandelettes pH utilisées pour le ^{68}Ga -PSMA-11
(Dry : bandelette sèche ; DP : solution finale de ^{68}Ga -PSMA-11)

Les couleurs des bandelettes pH utilisées avec les solutions tampons de référence correspondent au pH de ces solutions. La méthode de détermination du pH de la solution finale de ^{68}Ga -PSMA-11 est validée.

5 – Identification radionucléidique : détermination de la demi-vie

La demi-vie mesurée par l'activimètre pour la solution finale de ^{68}Ga -PSMA-11 des trois lots de validation est de 69min.

Ces résultats sont en accord avec la spécification établie pour ce CQ.

6 – Identification radionucléidique : Détermination de l'énergie des photons gamma du ^{68}Ga

Le spectre retrouvé par spectrométrie γ correspond à celui du ^{68}Ga . Aucun pic suspect n'est présent sur le spectre d'émission γ de l'éluat du générateur $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$.

Ce résultat est en accord avec la spécification établie pour ce CQ.

7 – Détermination de la pureté radionucléidique

La mesure de la radioactivité résiduelle (plus de 48h après la synthèse) de la solution finale de ^{68}Ga -PSMA-11 du premier lot de validation a permis de déterminer une proportion de $1,44 \cdot 10^{-7}\%$ de ^{68}Ge dans la solution.

Ce résultat est en accord avec la spécification établie pour ce CQ.

Les résultats complets sont présentés dans la table 18 (Partie 2 - III-C).

8 – Détermination de la stérilité de la solution finale de ^{68}Ga -PSMA-11 et dosage des endotoxines bactériennes

Les certificats d'analyse fournis par l'unité de contrôle qualité de la Pharmacie du CHUV ont établi la stérilité de la solution finale de ^{68}Ga -PSMA-11 des trois lots de validation et que le dosage des endotoxines bactériennes est inférieur à 0,2E.U./mL dans chacune d'entre elles.

Ces résultats sont conformes aux spécifications établies pour ce CQ.

9 – Contrôle de l'activité volumique à la fin de la synthèse

Une radioactivité FDS de 470MBq a été mesurée par l'activimètre de l'isolateur blindé pour la solution finale de ^{68}Ga -PSMA-11 du premier lot de validation. Le volume de la solution finale étant de 10mL, l'activité volumique est de 47,0MBq/mL.

Ce résultat est en accord avec la spécification établie pour ce CQ.

Les résultats complets sont présentés dans la table 18 (Partie 2 - III-C).

C – Résultats des Contrôles Qualité pour les Lots de Validation

Les résultats complets des CQ réalisés sur les trois lots de validation sont présentés dans la table suivante (table 18).

Test	Méthode	Spécification	Lots de validation		
			Lot 1	Lot 2	Lot 3
Radioactivité volumique FDS (+)	Mesure de la radioactivité (activimètre)	10-100 MBq/mL	47,0 MBq/mL	51,1 MBq/mL	50,3 MBq/mL
Apparence du flacon final (+)	Contrôle visuel	flacon incolore de 20mL avec septum serti	conforme	conforme	conforme
Apparence de la solution (+)	Contrôle visuel	Limpide et incolore	conforme	conforme	conforme
pH (+)	Bandelettes pH	4,0 - 8,0	5	5	5
Identification radionucléidique du ⁶⁸Ga (energie) (*)	Spectre d'émission gamma	0,50 - 0,52 MeV	conforme	conforme	conforme
Identification radionucléidique du ⁶⁸Ga (demi-vie) (*)	Mesure de l'intensité de l'émission gamma au cours du temps	62 - 74 min	69 min	69 min	69 min
Identification du ⁶⁸Ga-PSMA-11 (temps de rétention FDS) (+)	HPLC	Temps de rétention du ⁶⁸ Ga-PSMA-11	7,64 min et 8,08 min	7,62 min et 8,06 min	7,63 min et 8,07 min
Purité radiochimique du ⁶⁸Ga-PSMA-11 (+)	HPLC CCM	≥ 95% de la radioactivité totale	98,23% 99,58%	98,28% 98,62%	98,01% 98,97%
	HPLC	≤ 2% d'ions ⁶⁸ Ga ³⁺ libres	0%	0%	0%
PSMA-11 et complexes formés avec d'autres métaux (+)	CCM	≤ 5% d'ions ⁶⁸ Ga ³⁺ libres et de colloïdes de ⁶⁸ Ga	0,42%	1,38%	1,03%
	Test aux limites HPLC-UV et certificats de TRASIS	≤ 6µg / volumue max. injecté	< 6µg	< 6µg	< 6µg
Proportion finale d'éthanol (v)	Chromatographie Gazeuse	≤ 10% (V/V)	8,35%	9,68%	7,28%
Sterilité (v)	Test de stérilité	Conforme	conforme	conforme	conforme
Endotoxines bactériennes (v)	Ph. Eur.	≤ 17,5 E.U./mL	conforme	conforme	conforme
Pureté radionucléidique : ⁶⁸Ge (v)(*)	Spectrométrie NaI	≤ 0,001% de la radioactivité totale FDS (mesuré après > 48h)	1,44*10 ⁻⁷ %	5,50*10 ⁻⁸ %	3,48*10 ⁻⁷ %

(+) avant la libération de chaque lot
(v) seulement sur les lots de validation
(*) non réalisé sur le produit car couvert par les contrôles libérateurs du générateur de Gallium-68
(x) réalisé toutes les semaines sur chaque élution du générateur de Gallium-68

Table 18: Résultats des CQ des lots de validation de ⁶⁸Ga-PSMA-11 - Certificat de conformité

D – Etude de Stabilité

Les résultats de la détermination de la pureté radiochimique au temps T0, T+1,5h et T+3h après la synthèse pour les trois lots de validation sont présentés dans la table suivante (table 19).

	Pureté radiochimique (HPLC)			Pureté radiochimique (CCM)		
	T + 0h	T + 1,5h	T + 3h	T + 0h	T + 1,5h	T + 3h
Lot 1	98,23%	98,28%	98,31%	99,58%	99,06%	99,47%
Lot 2	98,28%	98,20%	98,62%	98,62%	99,04%	99,19%
Lot 3	98,01%	97,96%	98,04%	98,97%	99,37%	99,48%

Table 19 : Détermination de la pureté radiochimique jusqu'à 3h post-synthèse

La pureté radiochimique (HPLC-RAD et CCM) reste supérieure à 95%, elle est donc conforme à la spécification de ce contrôle qualité, et ce jusqu'à trois heures après la synthèse.

La stabilité de la solution finale de ^{68}Ga -PSMA-11 est ainsi établie jusqu'à 3h post-production.

IV – DISCUSSION

A – Choix des Spécifications

Le choix des spécifications des contrôles qualité présentés a été fait en fonction de bases légales d'une part, mais également en fonction des caractéristiques physiques du ^{68}Ga , des propriétés physicochimiques du radiotraceur et des performances de nos équipements d'autre part.

1 - Identification radiochimique du ^{68}Ga -PSMA-11

Du fait de la courte demi-vie du ^{68}Ga , il n'existe pas de standard radioactif du Ga-PSMA-11. Il existe cependant des standards non radioactifs (^{69}Ga -PSMA-11) détectables en HPLC-UV, mais leur utilisation ne nous a pas paru pertinente pour deux raisons. D'une part car la quantité de Ga-PSMA-11 dans la solution finale est extrêmement faible. En effet, 5mL d'un éluat du générateur $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ en tout début de vie contient au maximum 1,2ng de gallium (30), soit environ 17pmol, qui, s'ils se complexent au PSMA-11 avec un rendement de 100%, donneraient une masse de 17,88ng de ^{68}Ga -PSMA-11. Ce qui représente, dans le volume de 10mL de la solution finale, une concentration d'environ 1,8ng/mL. Or, la limite de détection pour la méthode HPLC-UV a été déterminée à 0,044 $\mu\text{g}/\text{mL}$, donc, en détection UV, nos équipements ne nous permettent pas de visualiser le ^{68}Ga -PSMA-11 produit pour pouvoir le comparer à un standard. De plus, nous utilisons des systèmes de détection RAD et UV montés en série, ainsi, lors d'une analyse HPLC, l'éluant passe d'abord par le détecteur de radioactivité puis par le détecteur UV. Ceci entraîne un décalage de temps de rétention entre les chromatogrammes UV et radioactifs obtenus, d'autant plus prononcé que le débit de notre méthode est lent. Les temps de rétentions obtenus avec un standard non radioactifs seraient, de ce fait, difficilement transposable à la molécule radiomarquée détectée avec le module RAD. Ceci nous a poussé à utiliser le ^{68}Ga -PSMA-11 produit par SWAN Isotopen Ag, déjà approuvé par Swissmedic, comme standard radioactif de Ga-PSMA-11 pour l'identification du ^{68}Ga -PSMA-11 dans nos solutions.

2 – Spécifications basées sur la Pharmacopée Européenne

La pureté radiochimique du ^{68}Ga -PSMA-11 est déterminée par deux méthodes, l'HPLC-RAD et la CCM car l'HPLC seule ne met pas en évidence les éventuels colloïdes de ^{68}Ga contrairement à la CCM. Ainsi, les spécifications (tirées de celles de la monographie de la Ph. Eur. « *Gallium (^{68}Ga) Edotreotide injection solution* », la seule existante à ce jour pour un traceur radiotraceur marqué au ^{68}Ga) donnent une limite de 2% pour les ions $^{68}\text{Ga}^{3+}$ en HPLC-RAD et de 5% pour la CCM car elle englobe les ions $^{68}\text{Ga}^{3+}$ et les colloïdes de ^{68}Ga .

Les spécifications utilisées pour l'identification radionucléidique du ^{68}Ga , basée sur la détermination de sa demi-vie et l'identification de son spectre d'émission γ , sont également issue de la monographie de la Ph. Eur. « *Gallium (^{68}Ga) Edotreotide injection solution* ». Il en est de même des spécifications pour la détermination de la pureté radionucléidique et pour la quantification de l'éthanol résiduel.

3 – Quantité maximale de PSMA-11 par injection

La limite de $6\mu\text{g}$ par volume maximal injecté au patient est tirée des guidelines de l'EANM et de la SNMMI qui établissent cette limite (131). Elle est issue d'une étude de toxicité aiguë du PSMA-11 réalisée chez le rat où une dose IV de $86\mu\text{g}/\text{kg}$ a montrée être en dessous du *no-observed-adverse-effect-level* (NOAEL). Un facteur de 1000 a été appliqué pour déterminer la dose maximale de PSMA-11 chez l'homme soit $6\mu\text{g}$ par injection pour un patient standard de 70kg.

B – Finalisation du Dossier

A l'occasion d'une rencontre avec un expert de Swissmedic, membre du comité d'évaluation de notre futur dossier d'autorisation, nous avons pu faire état de l'avancée de nos travaux et déterminer des tests complémentaires que Swissmedic voudrait voir figurer dans la version définitive de notre dossier.

1 – Fortes activités

La réalisation des synthèses test et la validation de la méthode HPLC-RAD ont été effectuées avec un générateur de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ qui avait plus de 6 mois par rapport à sa date de calibration. Les activités de ^{68}Ga qu'il fournissait étaient donc moindre par rapport à

celles que fournirait un générateur en début de vie (Partie 1 – II-D-4). Ainsi certaines validations seront à effectuer de nouveau pour vérifier que les spécifications sont toujours respectées, même avec des solutions finales de fortes activités.

D'une part une validation de la linéarité de la méthode HPLC-RAD sera à réaliser de nouveau car actuellement elle n'est validée que pour des solutions d'activité volumique de 0,07 à 42,3MBq/mL. Or les synthèses réalisées avec un générateur $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ en début de vie atteindront 80 à 100MBq/mL FDS. La linéarité de la méthode doit couvrir ces plus hautes activités.

D'autre part, on peut suspecter que les impuretés identifiées sur le radiochromatogramme sont des produits issus de la radiolyse du ^{68}Ga -PSMA-11. Si tel est le cas, l'augmentation de la radioactivité peut en augmenter leur proportion. Il sera donc nécessaire de contrôler la pureté radiochimique et s'assurer que la proportion d'impuretés soit toujours conforme aux spécifications (*i.e.* < 5%).

Enfin, de la même façon, il faudra reconstrôler la stabilité des solutions finales de ^{68}Ga -PSMA-11 pour s'assurer que de plus fortes activités ne détériorent pas le produit au cours du temps.

2 – Données supplémentaires requises par Swissmedic

L'expert de Swissmedic nous a également demandé de réaliser une validation des cassettes en effectuant un test de biocharge, c'est-à-dire une numération de germes présents dans la cassette, sur trois cassettes test. Ces tests seront réalisés par l'unité de contrôle qualité de la Pharmacie du CHUV après avoir mimé des synthèses de ^{68}Ga -PSMA-11 en conditions réelles mais sans radioactivité et sans filtration stérilisante terminale. En effet, le test devant être réalisé immédiatement après la synthèse et ne pouvant pas envoyer un produit radioactif à l'unité de contrôle qualité, les synthèses seront réalisées dans les conditions classiques, seule l'élution du générateur sera remplacée par l'injection de 5mL de NaCl 0,9% dans le flacon de réaction. L'absence de filtration finale doit permettre de récupérer dans le flacon finale une solution qui seraensemencée pour dénombrer, s'il y a lieu, les germes présents, issus de la cassette.

De plus, bien que les lots de validation aient fait la preuve de la stérilité du produit final, l'expert s'est montré très attentif à la qualité du test d'intégrité du filtre, réalisé par l'automate à l'issue de la synthèse. Il préfèrerait que nous réalisions ce test de manière manuelle par la méthode du point bulle. Chose que nous voudrions éviter car impliquant

des manipulations du filtre, porteur d'une forte radioactivité, en dehors de l'enceinte blindée (nécessité d'une bouteille de gaz à proximité). Cela représente une source d'exposition à des rayonnements ionisants pour le manipulateur alors que le test proposé par le module de synthèse permet de s'en affranchir. Nous devons donc fournir à Swissmedic la documentation nécessaire sur les caractéristiques exactes de ce test qui utilise la méthode du maintien de pression pour qu'il en valide l'utilisation.

C – Impact Budgétaire d'une Production de ^{68}Ga -PSMA-11 sur Site

Le service de Médecine Nucléaire du CHUV a réalisé 73 examens TEP-PSMA en 2017 et envisage d'augmenter ce nombre à plus de 200 par an lorsque la production du ^{68}Ga -PSMA-11 sera possible sur site. Actuellement, le coût d'une dose, pour un patient, s'élève environ à 1700CHF, transport inclu. Si nous effectuons la synthèse au sein de la radiopharmacie, le coût d'un kit de réactif est d'environ 210CHF et une production permettra l'injection à deux patients, voir même trois avec un générateur en début de vie. A ce coût il faut rajouter le prix des équipements, générateur $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ notamment et automate de synthèse, mais ceux-ci ne sont pas uniquement dédiés à la production de ^{68}Ga -PSMA-11, d'autres traceurs marqués au ^{68}Ga sont réalisés à la radiopharmacie du CHUV. Il est donc financièrement très intéressant d'internaliser la production de ce MRP.

D – Vers un Ligand du PSMA marqué au Fluor-18 ?

Le ^{68}Ga -PSMA-11 est aujourd'hui le traceur TEP le plus performant pour cibler le cancer de la prostate et, face à l'absence de radiotraceur de même potentiel enregistré, les générateurs de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ offrent, à chaque centre désireux de réaliser cet examen, la possibilité de le produire sur site. Cependant, outre le PSMA-11 marqué au ^{68}Ga , d'autres petites molécules à base d'urée et ciblant le PSMA ont été radiomarquées au ^{18}F et étudiées ces dernières années. Certaines se sont révélées très prometteuses et pourraient offrir une alternative future au ^{68}Ga -PSMA-11 si une production massive se voyait envisagée par les firmes possédant un parc important de cyclotrons. En effet, comparativement au ^{68}Ga qui, issu de générateurs, ne permet la réalisation que de 2 à 3 examens par synthèse, le ^{18}F , notamment grâce à une demi-vie plus longue (110 minutes), peut être produit en masse par cyclotron sur un site central et combiné au vecteur d'intérêt puis distribué à des sites satellites via des infrastructures de distribution

préexistantes. Ceci augurant la possibilité de réaliser plus d'examens tout en s'affranchissant du temps de préparation que requière une synthèse sur site et de l'exposition aux rayonnements qu'elle génère pour l'opérateur. De plus, bien que le ^{68}Ga présente des résultats dosimétriques tout à fait convenable pour un émetteur TEP de par notamment sa courte demi-vie assurant une diminution rapide de l'activité portée par le patient, le ^{18}F possède également des caractéristiques favorables sur le plan dosimétrique. Il est caractérisé par l'émission d'un β^+ moins énergétique et ne possède pas de γ de haute énergie contrairement au ^{68}Ga (3,2%, 1077keV). Enfin sur le plan clinique, comparativement au ^{68}Ga , les positrons émis par le ^{18}F , de par leur énergie plus faible, ont un parcours avant annihilation plus court et, par conséquent, des images TEP présentant une meilleure résolution spatiale.

Jusqu'à présent, au moins trois radiotraceurs marqués au ^{18}F , le ^{18}F]DCFBC (135), le ^{18}F]DCFPyL (136) et le ^{18}F -PSMA-1007 (137) ont montré une efficacité dans la détection du cancer de la prostate. Parmi ceux-ci, le ^{18}F]DCFPyL est le plus avancé dans le développement clinique.

Outre ces molécules ligands du PSMA, d'autres radiotraceurs TEP ayant des cibles différentes sont en développement et pourraient avoir, un jour, leur place dans l'arsenal diagnostique du cancer de la prostate. On peut notamment citer la Fluciclovine ou ^{18}F]FACBC, un analogue synthétique de la leucine qui a été étudiée comme radiotraceur dans le cancer de la prostate du fait de la demande énergétique accrue des cellules cancéreuses et du transport de substrats que cela nécessite. Le mécanisme d'absorption du ^{18}F]FACBC se fait par l'intermédiaire de transporteurs d'acides aminés transmembranaires, principalement ASCT2 et LAT1, qui seraient régulés positivement dans le cancer de la prostate (138). D'autres études encore portent sur des traceurs ciblant le récepteur GRPr (*Gastrin Release Peptide receptor*), les analogues de la bombésine marqués au ^{68}Ga , au ^{18}F ou encore au ^{64}Cu (139).

E – Théranostique

L'utilisation de ^{68}Ga -PSMA-11 permet une approche théranostique du cancer de la prostate qui associe la cartographie des cellules cancéreuses (imagerie) à un traitement ciblé sur ces cellules, on parle alors de radiothérapie interne vectorisée. Avec cette approche, une fois les lésions tumorales localisée par le ^{68}Ga -PSMA-11 on utilise ensuite

un traceur ciblant également le PSMA mais cette fois marqué avec un radioisotope émetteur α ou β . Les particules α ou β déposant beaucoup d'énergie sur un parcours court dans la matière auront pour effet de lyser les cellules irradiées et ainsi détruire les tissus tumoraux surexprimant le PSMA. Actuellement, le Lutétium-177 (^{177}Lu) est un des émetteurs β utilisé pour cette application. Deux vecteurs sont majoritairement rapportés pour le radiomarquage au ^{177}Lu , le PSMA-617 et le PSMA I&T qui associent tous deux le motif Lys-Urea-Glu conjugué à un chélateur dérivé de DOTA (140,141).

Une fois que le dossier du ^{68}Ga -PSMA-11 sera approuvé et que sa production pourra être réalisée en routine à la radiopharmacie du CHUV de Lausanne, le développement d'un ligand du PSMA marqué au ^{177}Lu sera entrepris pour traiter les patients répondant positivement à cet examen.

CONCLUSION

L'imagerie TEP du cancer de la prostate par le ^{68}Ga -PSMA-11 représente une avancée dans la prise en charge diagnostique de la maladie à plusieurs stades de son évolution. Elle permet la mise en évidence de lésions tumorales dans différents tissus en un seul temps diagnostique et, dans certaines indications, avec une meilleure sensibilité que les techniques d'imagerie conventionnelle. Après des travaux de mise en conformité et l'acquisition d'équipements de production et de contrôle, la radiopharmacie du CHUV s'est dotée de tous les outils nécessaires pour synthétiser un tel radiotraceur. Seule l'approbation de Swissmedic est encore nécessaire pour utiliser en clinique le ^{68}Ga -PSMA-11 produit par la radiopharmacie. Ce travail de mise au point des contrôles qualité et de validation des méthodes analytiques a permis d'alimenter le *Pharmaceutical Quality Dossier*, pièce majeure du dossier d'autorisation de production du ^{68}Ga -PSMA-11 en vue de sa soumission prochaine.

Bibliographie

1. Radioactivité - Nature des particules émises [Internet].
2. Introduction to PET Physics: The physical principles of PET [Internet].
3. **Pitre S.** Développement d'un imageur gamma haute résolution pour la cancérologie : du traitement chirurgical du cancer à l'étude sur petits animaux. (Thèse).
4. Sylvain Pilaire | Physique. [internet].
5. Généralités - ARRONAX [Internet].
6. **Downs AJ.** Chemistry of Aluminium, Gallium, Indium and Thallium. Springer; 1993.
7. **Kulprathipanja S,** Hnatowich DJ. A method for determining the pH stability range of gallium radiopharmaceuticals. Int J Appl Radiat Isot. janv 1977;28(1-2):229-33.
8. **Maecke HR,** André JP. 68Ga-PET Radiopharmacy: A Generator-Based Alternative to 18F-Radiopharmacy. Springer; 2007
9. **Engle JW,** Hong H, Zhang Y, Valdovinos HF, Myklejord DV, Barnhart TE, et al. Positron Emission Tomography Imaging of Tumor Angiogenesis with a ⁶⁶ Ga-Labeled Monoclonal Antibody. Mol Pharm. 7 mai 2012;9(5):1441-8.
10. **Al-Suqri B,** Al-Bulushi N. Gallium-67 Scintigraphy in the Era of Positron Emission Tomography and Computed Tomography: Tertiary centre experience. Sultan Qaboos Univ Med J. 24 août 2015;15(3):e338-343.
11. Decay Radiation Results [Internet].
12. Positron Ranges [Internet].
13. **Velikyan I.** 68Ga-Based Radiopharmaceuticals: Production and Application Relationship. Molecules. 16 juill 2015;20(7):12913-43.
14. **Dash A,** Knapp R, Mra P. Industrial radionuclide generators: A potential step towards accelerating radiotracer investigations in industry. RSC Adv. 3 juin 2013;3.
15. **El-Saftawy AAM.** REGULATING THE PERFORMANCE PARAMETERS OF ACCELERATED PARTICLES. (Thèse).
16. Production Of Long Lived Parent Radionuclides For Generators: 68Ge, 82Sr, 90Sr And 188W: IAEA Radioisotopes And Radiopharmaceuticals Series No. 2 [Internet]
17. Production of Radionuclides in Accelerators. Handbook of Radiopharmaceuticals [Internet].

18. **Horiguchi T**, Kumahora H, Inoue H, Yoshizawa Y. Excitation function of Ge(p,xnyp) reactions and production of ⁶⁸Ge. *Int J Appl Radiat Isot.* 1 nov 1983;34(11):1531-5.
19. **IAEA**. Charged Particle Cross-Section Database for Medical Radioisotope Production: Diagnostic Radioisotopes and Monitor Reactions. 2001
20. Radionuclide Generators. Handbook of Nuclear Chemistry [Internet].
21. **Rösch** - Radionuclide Generators [Internet].
22. Cours de physique nucléaire : filiation radioactive [Internet].
23. **Gleason GI**. A positron cow. *Int J Appl Radiat Isot.* 1 juill 1960;8(2):90-4.
24. **Shehata M**, Scholten B, Spahn I, Qaim S, Coenen H. Radiochemical studies relevant to the separation of ⁶⁸Ga and ⁶⁸Ge. *J Radioanal Nucl Chem.* 2 mars 2011;288(3):887-93.
25. **Greene MW**, Tucker WD. AN IMPROVED GALLIUM-68 COW. *Intern J Appl Radiat Isot* [Internet].
26. **Yano Y**, Anger HO. A Gallium⁶⁸ Positron Cow for Medical Use. *J Nucl Med.* 6 janv 1964;5(6):484-7.
27. **Schaer LR**, Anger HO, Gottschalk A. Gallium Edetate ⁶⁸Ga Experiences in Brain-Lesion Detection With the Positron Camera. *JAMA.* 21 nov 1966;198(8):811-3.
28. **Rösch F**. Past, present and future of ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga generators. *Appl Radiat Isot.* 1 juin 2013;76:24-30.
29. **Loc'h C**, Mazière B, Comar D. A new generator for ionic gallium-68. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* févr 1980;21(2):171-3.
30. Haute Autorité de Santé - GALLIAPHARM [Internet].
31. Résumé des Caractéristiques du Produit [Internet].
32. EZ-Galliapharm-Radionuclide-Generator-7132-0025.pdf [Internet].
33. **Wadas TJ**, Wong EH, Weisman GR, Anderson CJ. Coordinating Radiometals of Copper, Gallium, Indium, Yttrium and Zirconium for PET and SPECT Imaging of Disease. *Chem Rev.* 12 mai 2010;110(5):2858-902.
34. **Bandoli G**, Dolmella A, Tisato F, Porchia M, Refosco F. Mononuclear six-coordinated Ga(III) complexes: A comprehensive survey. *Coord Chem Rev.* 1 janv 2009;253(1):56-77.
35. **Green MA**, Welch MJ. Gallium radiopharmaceutical chemistry. *Int J Rad Appl Instrum B.* janv 1989;16(5):435-48.
36. **Bartholomä MD**, Louie AS, Valliant JF, Zubieta J. Technetium and gallium derived radiopharmaceuticals: comparing and contrasting the chemistry of two important radiometals for the molecular imaging era. *Chem Rev.* 12 mai 2010;110(5):2903-20.

37. Apprendre - Complexes de coordination : géométries, stabilité cinétique et thermodynamique [Internet].
38. EQUILIBRES_DE_COMPLEXATION.pdf [Internet].
39. **Hancock RD**, Martell AE. Ligand design for selective complexation of metal ions in aqueous solution. *Chem Rev.* 1 déc 1989;89(8):1875-914.
40. Universalis E. Composés de coordination - COORDINATION [Internet].
41. **Velikyan I**, Lendvai G, Vällilä M, Roivainen A, Yngve U, Bergström M, et al. Microwave accelerated ⁶⁸Ga-labelling of oligonucleotides. *J Label Compd Radiopharm.* 1 janv 2004;47(1):79-89.
42. **Harris WR**, Pecoraro VL. Thermodynamic binding constants for gallium transferrin. *Biochemistry.* 18 janv 1983;22(2):292-9.
43. **Morgat C, Hindié E**, Mishra AK, Allard M, Fernandez P. Gallium-68: Chemistry and Radiolabeled Peptides Exploring Different Oncogenic Pathways. *Cancer Biother Radiopharm.* mars 2013;28(2):85-97.
44. **Lamesa C**. Production de médicaments radiopharmaceutiques marqués au Gallium-68: évaluation des contraintes à l'hôpital (Thèse).
45. **Fani M**, André JP, Maecke HR. ⁶⁸Ga-PET: a powerful generator-based alternative to cyclotron-based PET radiopharmaceuticals. *Contrast Media Mol Imaging.* mars 2008;3(2):53-63.
46. **Heppeler A**, Froidevaux S, Mäcke HR, Jermann E, Béhé M, Powell P, et al. Radiometal-Labelled Macrocyclic Chelator-Derivatised Somatostatin Analogue with Superb Tumour-Targeting Properties and Potential for Receptor-Mediated Internal Radiotherapy. *Chem – Eur J.* 2 juill 1999;5(7):1974-81.
47. **Mier W**, Hoffend J, Krämer S, Schuhmacher J, Hull WE, Eisenhut M, et al. Conjugation of DOTA Using Isolated Phenolic Active Esters: The Labeling and Biodistribution of Albumin as Blood Pool Marker. *Bioconjug Chem.* 1 janv 2005;16(1):237-40.
48. **Šimeček J**, Schulz M, Notni J, Plutnar J, Kubíček V, Havlíčková J, et al. Complexation of Metal Ions with TRAP (1,4,7-Triazacyclononane Phosphinic Acid) Ligands and 1,4,7-Triazacyclononane-1,4,7-triacetic Acid: Phosphinate-Containing Ligands as Unique Chelators for Trivalent Gallium. *Inorg Chem.* 2 janv 2012;51(1):577-90.
49. **Veran N**, Remy S, Collet C, Karcher G. Radiomarquage du NODAGA RGD par le gallium 68 : premiers résultats avec l'automate Trasis miniAIO. *Médecine Nucl.* mai 2016;40(3):175.
50. **Eplattenier FL**, Murase I, Martell AE. New Multidentate Ligands. VI. Chelating Tendencies of N,N'-Di(2-hydroxybenzyl)ethylenediamine-N,N'-diacetic Acid. *J Am Chem Soc.* 1 févr 1967;89(4):837-43.

- 51. Eder M**, Krivoshein AV, Backer M, Backer JM, Haberkorn U, Eisenhut M. ScVEGF-PEG-HBED-CC and scVEGF-PEG-NOTA conjugates: comparison of easy-to-label recombinant proteins for [68Ga]PET imaging of VEGF receptors in angiogenic vasculature. *Nucl Med Biol.* mai 2010;37(4):405-12.
- 52. Spang P**, Herrmann C, Roesch F. Bifunctional Gallium-68 Chelators: Past, Present, and Future. *Semin Nucl Med.* sept 2016;46(5):373-94.
- 53. Eder M**, Wängler B, Knackmuss S, LeGall F, Little M, Haberkorn U, et al. Tetrafluorophenolate of HBED-CC: A versatile conjugation agent for 68Ga-labeled small recombinant antibodies. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 1 juin 2008;35:1878-86.
- 54. TSIONOU MI**, Knapp CE, Foley CA, Munteanu CR, Cakebread A, Imberti C, et al. Comparison of macrocyclic and acyclic chelators for gallium-68 radiolabelling. *RSC Adv.* 2017;7(78):49586-99.
- 55.** Estimation nationale de l'incidence et de la mortalité par cancer en France entre 1980 et 2012 / 2013 / Maladies chroniques et traumatismes / Rapports et synthèses / Publications et outils / Accueil [Internet].
- 56.** Projections de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine en 2017 - Tumeurs solides / Estimations de l'incidence, de la mortalité et de la survie, stade au diagnostic / Surveillance épidémiologique des cancers / Cancers / Maladies chroniques et traumatismes / Dossiers thématiques / Accueil [Internet].
- 57.** Le cancer de la prostate - Les cancers les plus fréquents | Institut National Du Cancer [Internet].
- 58. Coric J**, Mujic J, Kucukalic E, Ler D. Prostate-Specific Antigen (PSA) and Prostate Volume: Better Predictor of Prostate Cancer for Bosnian and Herzegovina Men. *Open Biochem J.* 2015;9:34-6.
- 59. Rozet F**, Hennequin C, Beauval J-B, Beuzeboc P, Cormier L, Fromont G, et al. Recommandations en onco-urologie 2016-2018 du CCAFU : Cancer de la prostate. *Prog En Urol.* nov 2016;27:S95-143.
- 60. Vlaeminck-Guillem V**, Devonec M, Champetier D, Decaussi-Petrucci M, Paparel P, Perrin P, et al. Test urinaire PCA3 et diagnostic du cancer prostatique : étude à partir de 1015 patients. *Prog En Urol.* déc 2015;25(16):1160-8.
- 61. Djavan B.** Biopsie prostatique : techniques et indications [Internet].
- 62. Salomon L.** Le score de Gleason pour les nuls. *Prog En Urol - FMC.* mars 2014;24(1):F13-5.
- 63. Egevad L**, Delahunt B, Srigley JR, Samaratunga H. International Society of Urological Pathology (ISUP) grading of prostate cancer – An ISUP consensus on contemporary grading. *APMIS.* 1 juin 2016;124(6):433-5.
- 64.** Fondation québécoise du Cancer. Classification [Internet].

65. Chapitre 16 - Tumeurs de la prostate | Urofrance [Internet].
66. **Bianco FJ**, Scardino PT, Eastham JA. Radical prostatectomy: long-term cancer control and recovery of sexual and urinary function (« trifecta »). *Urology*. nov 2005;66(5 Suppl):83-94.
67. **Haglund E**, Carlsson S, Stranne J, Wallerstedt A, Wilderäng U, Thorsteinsdottir T, et al. Urinary Incontinence and Erectile Dysfunction After Robotic Versus Open Radical Prostatectomy: A Prospective, Controlled, Nonrandomised Trial. *Eur Urol*. 2015;68(2):216-25.
68. **Pradere B**, Roumiguié M, Sanson S, Huyghes E, Malavaud B, Doumerc N, et al. Utilisation du nomogramme de Briganti : doit-il devenir systématique dans la décision du curage dans le cancer de prostate de risque intermédiaire ? Évaluation de son application. *Prog En Urol*. 1 nov 2016;26(13):767.
69. **Bolla M**, van Poppel H, Tombal B, Vekemans K, Da Pozzo L, de Reijke TM, et al. Postoperative radiotherapy after radical prostatectomy for high-risk prostate cancer: long-term results of a randomised controlled trial (EORTC trial 22911). *Lancet Lond Engl*. 8 déc 2012;380(9858):2018-27.
70. **Shelley MD**, Kumar S, Wilt T, Staffurth J, Coles B, Mason MD. A systematic review and meta-analysis of randomised trials of neo-adjuvant hormone therapy for localised and locally advanced prostate carcinoma. *Cancer Treat Rev*. févr 2009;35(1):9-17.
71. **Briganti A**, Karnes JR, Da Pozzo LF, Cozzarini C, Gallina A, Suardi N, et al. Two positive nodes represent a significant cut-off value for cancer specific survival in patients with node positive prostate cancer. A new proposal based on a two-institution experience on 703 consecutive N+ patients treated with radical prostatectomy, extended pelvic lymph node dissection and adjuvant therapy. *Eur Urol*. févr 2009;55(2):261-70.
72. **Jones CU**, Hunt D, McGowan DG, Amin MB, Chetner MP, Bruner DW, et al. Radiotherapy and short-term androgen deprivation for localized prostate cancer. *N Engl J Med*. 14 juill 2011;365(2):107-18.
73. **Hennequin C**, Cormier L, Richaud P, Bastide C, Beuzeboc P, Fromont G, et al. Curiethérapie exclusive du cancer de la prostate par implants permanents : indications et résultats. *Revue du CC-AFU. Prog En Urol*. mai 2013;23(6):378-85.
74. **Zaorsky NG**, Doyle LA, Yamoah K, Andrel JA, Trabulsi EJ, Hurwitz MD, et al. High dose rate brachytherapy boost for prostate cancer: a systematic review. *Cancer Treat Rev*. avr 2014;40(3):414-25.
75. **Mohammed A**, Miller S, Douglas-Moore J, Miller M. Cryotherapy and its applications in the management of urologic malignancies: a review of its use in prostate and renal cancers. *Urol Oncol*. janv 2014;32(1):39.e19-27.
76. **Oefelein MG**, Feng A, Scolieri MJ, Ricchiutti D, Resnick MI. Reassessment of the definition of castrate levels of testosterone: implications for clinical decision making. *Urology*. 20 déc 2000;56(6):1021-4.

- 77. Pignot G.** Cancer de prostate résistant à la castration : quelle prise en charge en 2014 ? Prog En Urol - FMC. sept 2014;24(3):F73-9.
- 78. Fizazi K,** Scher HI, Molina A, Logothetis CJ, Chi KN, Jones RJ, et al. Abiraterone acetate for treatment of metastatic castration-resistant prostate cancer: final overall survival analysis of the COU-AA-301 randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 study. Lancet Oncol. oct 2012;13(10):983-92.
- 79. Ryan CJ,** Smith MR, Fizazi K, Saad F, Mulders PFA, Sternberg CN, et al. Abiraterone acetate plus prednisone versus placebo plus prednisone in chemotherapy-naïve men with metastatic castration-resistant prostate cancer (COU-AA-302): final overall survival analysis of a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 study. Lancet Oncol. févr 2015;16(2):152-60.
- 80. Scher HI,** Fizazi K, Saad F, Taplin M-E, Sternberg CN, Miller K, et al. Increased survival with enzalutamide in prostate cancer after chemotherapy. N Engl J Med. 27 sept 2012;367(13):1187-97.
- 81. Beer TM,** Armstrong AJ, Rathkopf DE, Loriot Y, Sternberg CN, Higano CS, et al. Enzalutamide in metastatic prostate cancer before chemotherapy. N Engl J Med. 31 juill 2014;371(5):424-33.
- 82. Quinn DI,** Sandler HM, Horvath LG, Goldkorn A, Eastham JA. The evolution of chemotherapy for the treatment of prostate cancer. Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol. 1 nov 2017;28(11):2658-69.
- 83. Tannock IF,** Wit RD, Berry WR, Horti J, Pluzanska A, Chi KN, et al. Docetaxel plus prednisone or mitoxantrone plus prednisone for advanced prostate cancer. N Engl J Med. 7 oct 2004;351(15):1502-12.
- 84. Vale CL,** Burdett S, Ryzdewska LHM, Albiges L, Clarke NW, Fisher D, et al. Addition of docetaxel or bisphosphonates to standard of care in men with localised or metastatic, hormone-sensitive prostate cancer: a systematic review and meta-analyses of aggregate data. Lancet Oncol. 1 févr 2016;17(2):243-56.
- 85. de Bono JS,** Oudard S, Ozguroglu M, Hansen S, Machiels J-P, Kocak I, et al. Prednisone plus cabazitaxel or mitoxantrone for metastatic castration-resistant prostate cancer progressing after docetaxel treatment: a randomised open-label trial. Lancet Lond Engl. 2 oct 2010;376(9747):1147-54.
- 86. Cortet B,** Lartigau E, Caty A, Moulinier F, Staerman F, Villamizar-Vesga J, et al. Suppression androgénique dans le cancer de la prostate et risque ostéoporotique. Prog En Urol. sept 2012;22:S31-8.
- 87. Fizazi K,** Carducci M, Smith M, Damião R, Brown J, Karsh L, et al. Denosumab versus zoledronic acid for treatment of bone metastases in men with castration-resistant prostate cancer: a randomised, double-blind study. Lancet Lond Engl. 5 mars 2011;377(9768):813-22.

- 88. Parker C**, Nilsson S, Heinrich D, Helle SI, O'Sullivan JM, Fosså SD, et al. Alpha emitter radium-223 and survival in metastatic prostate cancer. *N Engl J Med*. 18 juill 2013;369(3):213-23.
- 89. Kim JY**, Kim SH, Kim YH, Lee HJ, Kim MJ, Choi MS. Low-Risk Prostate Cancer: The Accuracy of Multiparametric MR Imaging for Detection. *Radiology*. 23 janv 2014;271(2):435-44.
- 90. van Hove A**, Savoie P-H, Maurin C, Brunelle S, Gravis G, Salem N, et al. Comparison of image-guided targeted biopsies versus systematic randomized biopsies in the detection of prostate cancer: a systematic literature review of well-designed studies. *World J Urol*. août 2014;32(4):847-58.
- 91. Hövels AM**, Heesakkers R a. M, Adang EM, Jager GJ, Strum S, Hoogeveen YL, et al. The diagnostic accuracy of CT and MRI in the staging of pelvic lymph nodes in patients with prostate cancer: a meta-analysis. *Clin Radiol*. avr 2008;63(4):387-95.
- 92. Brogsitter C**, Zöphel K, Kotzerke J. 18F-Choline, 11C-choline and 11C-acetate PET/CT: comparative analysis for imaging prostate cancer patients. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. juill 2013;40 Suppl 1:S18-27.
- 93.** Haute Autorité de Santé - IASOCHOLINE (chlorure de fluorocholine 18F), radiopharmaceutique à usage diagnostique [Internet].
- 94. Evangelista L**, Guttilla A, Zattoni F, Muzzio PC, Zattoni F. Utility of Choline Positron Emission Tomography/Computed Tomography for Lymph Node Involvement Identification in Intermediate- to High-risk Prostate Cancer: A Systematic Literature Review and Meta-analysis. *Eur Urol*. 1 juin 2013;63(6):1040-8.
- 95. Pinaquy J-B**, De Clermont-Galleran H, Pasticier G, Rigou G, Alberti N, Hindie E, et al. Comparative effectiveness of [(18) F]-fluorocholine PET-CT and pelvic MRI with diffusion-weighted imaging for staging in patients with high-risk prostate cancer. *The Prostate*. 15 févr 2015;75(3):323-31.
- 96. Simmons MN**, Stephenson AJ, Klein EA. Natural history of biochemical recurrence after radical prostatectomy: risk assessment for secondary therapy. *Eur Urol*. mai 2007;51(5):1175-84.
- 97. Evangelista L**, Zattoni F, Guttilla A, Saladini G, Zattoni F, Colletti PM, et al. Choline PET or PET/CT and biochemical relapse of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Clin Nucl Med*. mai 2013;38(5):305-14.
- 98. Beheshti M**, Haim S, Zakavi R, Steinmair M, Waldenberger P, Kunit T, et al. Impact of 18F-choline PET/CT in prostate cancer patients with biochemical recurrence: influence of androgen deprivation therapy and correlation with PSA kinetics. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med*. juin 2013;54(6):833-40.
- 99. Renard Penna R**, Brenot-Rossi I, Salomon L, Soulié M. Imagerie du cancer de la prostate : IRM et imagerie nucléaire. *Prog En Urol*. nov 2015;25(15):933-46.

- 100. Schillaci O**, Calabria F, Tavolozza M, Caracciolo CR, Finazzi Agrò E, Miano R, et al. Influence of PSA, PSA velocity and PSA doubling time on contrast-enhanced 18F-choline PET/CT detection rate in patients with rising PSA after radical prostatectomy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. avr 2012;39(4):589-96.
- 101. Tilki D**, Reich O, Graser A, Hacker M, Silchinger J, Becker AJ, et al. 18F-Fluoroethylcholine PET/CT identifies lymph node metastasis in patients with prostate-specific antigen failure after radical prostatectomy but underestimates its extent. *Eur Urol*. mai 2013;63(5):792-6.
- 102. Picchio M**, Berardi G, Fodor A, Busnardo E, Crivellaro C, Giovacchini G, et al. (11)C-Choline PET/CT as a guide to radiation treatment planning of lymph-node relapses in prostate cancer patients. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. juill 2014;41(7):1270-9.
- 103. Baco E**, Gelet A, Crouzet S, Rud E, Rouvière O, Tonoli-Catez H, et al. Hemi salvage high-intensity focused ultrasound (HIFU) in unilateral radiorecurrent prostate cancer: a prospective two-centre study. *BJU Int*. oct 2014;114(4):532-40.
- 104. Tosoian JJ**, Gorin MA, Ross AE, Pienta KJ, Tran PT, Schaeffer EM. Oligometastatic prostate cancer: definitions, clinical outcomes, and treatment considerations. *Nat Rev Urol*. janv 2017;14(1):15-25.
- 105. Ost P**, Bossi A, Decaestecker K, De Meerleer G, Giannarini G, Karnes RJ, et al. Metastasis-directed therapy of regional and distant recurrences after curative treatment of prostate cancer: a systematic review of the literature. *Eur Urol*. mai 2015;67(5):852-63.
- 106. Stish BJ**, Pisansky TM, Harmsen WS, Davis BJ, Tzou KS, Choo R, et al. Improved Metastasis-Free and Survival Outcomes With Early Salvage Radiotherapy in Men With Detectable Prostate-Specific Antigen After Prostatectomy for Prostate Cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 10 nov 2016;34(32):3864-71.
- 107. Maurer T**, Eiber M, Schwaiger M, Gschwend JE. Current use of PSMA-PET in prostate cancer management. *Nat Rev Urol*. avr 2016;13(4):226-35.
- 108. Silver DA**, Pellicer I, Fair WR, Heston WD, Cordon-Cardo C. Prostate-specific membrane antigen expression in normal and malignant human tissues. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. janv 1997;3(1):81-5.
- 109. Carter RE**, Feldman AR, Coyle JT. Prostate-specific membrane antigen is a hydrolase with substrate and pharmacologic characteristics of a neuropeptidase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 23 janv 1996;93(2):749-53.
- 110. Chang SS**, O'Keefe DS, Bacich DJ, Reuter VE, Heston WD, Gaudin PB. Prostate-specific membrane antigen is produced in tumor-associated neovasculature. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. oct 1999;5(10):2674-81.
- 111. Noto B**, Weckesser M, Buerke B, Pixberg M, Avramovic N. Gastrointestinal Stromal Tumor Showing Intense Tracer Uptake on PSMA PET/CT. *Clin Nucl Med*. mars 2017;42(3):200-2.

- 112. Ristau BT**, O’Keefe DS, Bacich DJ. The prostate-specific membrane antigen: Lessons and current clinical implications from 20 years of research. *Urol Oncol Semin Orig Investig.* avr 2014;32(3):272-9.
- 113. Schülke N**, Varlamova OA, Donovan GP, Ma D, Gardner JP, Morrissey DM, et al. The homodimer of prostate-specific membrane antigen is a functional target for cancer therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 28 oct 2003;100(22):12590-5.
- 114. Rajasekaran SA**, Anilkumar G, Oshima E, Bowie JU, Liu H, Heston W, et al. A Novel Cytoplasmic Tail MXXXL Motif Mediates the Internalization of Prostate-specific Membrane Antigen. *Mol Biol Cell.* déc 2003;14(12):4835-45.
- 115. Taneja SS.** ProstaScint® Scan: Contemporary Use in Clinical Practice. *Rev Urol.* 2004;6(Suppl 10):S19-28.
- 116. Smith-Jones PM**, Vallabahajosula S, Goldsmith SJ, Navarro V, Hunter CJ, Bastidas D, et al. In vitro characterization of radiolabeled monoclonal antibodies specific for the extracellular domain of prostate-specific membrane antigen. *Cancer Res.* 15 sept 2000;60(18):5237-43.
- 117. Eder M**, Schäfer M, Bauder-Wüst U, Hull W-E, Wängler C, Mier W, et al. ⁶⁸Ga-complex lipophilicity and the targeting property of a urea-based PSMA inhibitor for PET imaging. *Bioconj Chem.* 18 avr 2012;23(4):688-97.
- 118. Gourni E**, Henriksen G. Metal-Based PSMA Radioligands. *Molecules.* 24 mars 2017;22(4):523.
- 119. Eder M**, Neels O, Müller M, Bauder-Wüst U, Remde Y, Schäfer M, et al. Novel Preclinical and Radiopharmaceutical Aspects of [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-HBED-CC: A New PET Tracer for Imaging of Prostate Cancer. *Pharmaceuticals.* 30 juin 2014;7(7):779-96.
- 120. Afshar-Oromieh A**, Malcher A, Eder M, Eisenhut M, Linhart HG, Hadaschik BA, et al. PET imaging with a [⁶⁸Ga]gallium-labelled PSMA ligand for the diagnosis of prostate cancer: biodistribution in humans and first evaluation of tumour lesions. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* avr 2013;40(4):486-95.
- 121. Lenzo N**, Meyrick D, Turner J. Review of Gallium-68 PSMA PET/CT Imaging in the Management of Prostate Cancer. *Diagnostics.* 11 févr 2018;8(1):16.
- 122. Maurer T**, Gschwend JE, Rauscher I, Souvatzoglou M, Haller B, Weirich G, et al. Diagnostic Efficacy of ⁶⁸Gallium-PSMA Positron Emission Tomography Compared to Conventional Imaging for Lymph Node Staging of 130 Consecutive Patients with Intermediate to High Risk Prostate Cancer. *J Urol.* 1 mai 2016;195(5):1436-43.
- 123. Hofman MS**, Hicks RJ, Maurer T, Eiber M. Prostate-specific Membrane Antigen PET: Clinical Utility in Prostate Cancer, Normal Patterns, Pearls, and Pitfalls. *RadioGraphics.* 1 déc 2017;38(1):200-17.
- 124. Perera M**, Papa N, Christidis D, Wetherell D, Hofman MS, Murphy DG, et al. Sensitivity, Specificity, and Predictors of Positive ⁶⁸Ga-Prostate-specific Membrane

Antigen Positron Emission Tomography in Advanced Prostate Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *Eur Urol.* 1 déc 2016;70(6):926-37.

125. Morigi JJ, Stricker PD, van Leeuwen PJ, Tang R, Ho B, Nguyen Q, et al. Prospective Comparison of 18F-Fluoromethylcholine Versus 68Ga-PSMA PET/CT in Prostate Cancer Patients Who Have Rising PSA After Curative Treatment and Are Being Considered for Targeted Therapy. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* août 2015;56(8):1185-90.

126. Evangelista L, Briganti A, Fanti S, Joniau S, Reske S, Schiavina R, et al. New Clinical Indications for 18 F/ 11 C-choline, New Tracers for Positron Emission Tomography and a Promising Hybrid Device for Prostate Cancer Staging: A Systematic Review of the Literature. *Eur Urol.* juill 2016;70(1):161-75.

127. Zamboglou C, Schiller F, Fechter T, Wieser G, Jilg CA, Chirindel A, et al. (68)Ga-HBED-CC-PSMA PET/CT Versus Histopathology In Primary Localized Prostate Cancer: A Voxel-Wise Comparison. *Theranostics.* 2016;6(10):1619-28.

128. Amzalag G, Rager O, Tabouret-Viaud C, Wissmeyer M, Sfakianaki E, de Perrot T, et al. Target Definition in Salvage Radiotherapy for Recurrent Prostate Cancer: The Role of Advanced Molecular Imaging. *Front Oncol [Internet].* 2016 [cité 25 août 2018];6. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2016.00073/full>

129. Habl G, Sauter K, Schiller K, Dewes S, Maurer T, Eiber M, et al. 68Ga-PSMA-PET for Radiation Treatment Planning in Prostate Cancer Recurrences After Surgery: Individualized Medicine or New Standard in Salvage Treatment. *Int J Radiat Oncol. Biol. Phys.* 1 oct 2017;99(2):S98-9.

130. Schwarzenböck SM, Rauscher I, Bluemel C, Fendler WP, Rowe SP, Pomper MG, et al. PSMA Ligands for PET-Imaging of Prostate Cancer. *J Nucl Med.* 7 juill 2017;jnumed.117.191031.

131. Fendler WP, Eiber M, Beheshti M, Bomanji J, Ceci F, Cho S, et al. 68Ga-PSMA PET/CT: Joint EANM and SNMMI procedure guideline for prostate cancer imaging: version 1.0. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* juin 2017;44(6):1014-24.

132. Parimi V, Goyal R, Poropatich K, Yang XJ. Neuroendocrine differentiation of prostate cancer: a review. *Am J Clin Exp Urol.* 9 déc 2014;2(4):273-85.

133. Afshar-Oromieh A, Sattler LP, Mier W, Hadaschik BA, Debus J, Holland-Letz T, et al. The Clinical Impact of Additional Late PET/CT Imaging with 68Ga-PSMA-11 (HBED-CC) in the Diagnosis of Prostate Cancer. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* mai 2017;58(5):750-5.

134. Afshar-Oromieh A, Hetzheim H, Kübler W, Kratochwil C, Giesel FL, Hope TA, et al. Radiation dosimetry of (68)Ga-PSMA-11 (HBED-CC) and preliminary evaluation of optimal imaging timing. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* août 2016;43(9):1611-20.

135. Rowe SP, Macura KJ, Ciarallo A, Mena E, Blackford A, Nadal R, et al. Comparison of Prostate-Specific Membrane Antigen-Based 18F-DCFBC PET/CT to Conventional Imaging Modalities for Detection of Hormone-Naïve and Castration-Resistant Metastatic Prostate Cancer. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* janv 2016;57(1):46-53.

- 136. Szabo Z**, Mena E, Rowe SP, Plyku D, Nidal R, Eisenberger MA, et al. Initial Evaluation of [(18)F]DCFpyL for Prostate-Specific Membrane Antigen (PSMA)-Targeted PET Imaging of Prostate Cancer. *Mol Imaging Biol MIB Off Publ Acad Mol Imaging*. août 2015;17(4):565-74.
- 137. Giesel FL**, Kesch C, Yun M, Cardinale J, Haberkorn U, Kopka K, et al. 18F-PSMA-1007 PET/CT Detects Micrometastases in a Patient With Biochemically Recurrent Prostate Cancer. *Clin Genitourin Cancer*. juin 2017;15(3):e497-9.
- 138. Odewole OA**, Tade FI, Nieh PT, Savir-Baruch B, Jani AB, Master VA, et al. Recurrent prostate cancer detection with anti-3-[(18)F]FACBC PET/CT: comparison with CT. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. sept 2016;43(10):1773-83.
- 139. Mansi R**, Minamimoto R, Mäcke H, Iagaru AH. Bombesin-Targeted PET of Prostate Cancer. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med*. oct 2016;57(Suppl 3):67S-72S.
- 140. Fendler WP**, Rahbar K, Herrmann K, Kratochwil C, Eiber M. 177Lu-PSMA Radioligand Therapy for Prostate Cancer. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med*. août 2017;58(8):1196-200.
- 141. Chatalic KLS**, Heskamp S, Konijnenberg M, Molkenboer-Kuenen JDM, Franssen GM, Groningen MCC, et al. Towards Personalized Treatment of Prostate Cancer: PSMA I&T, a Promising Prostate-Specific Membrane Antigen-Targeted Theranostic Agent. *Theranostics*. 2016;6(6):849-61.

ANNEXE 2 : Classification TNM 2010 pour le cancer de la prostate

1 - CLASSIFICATION CLINIQUE

- **T : Tumeur primitive**

- **T0** : Absence de tumeur
- **T1** : Tumeur non palpable ou non visible en imagerie
 - **T1a** < 5% du tissu réséqué* et score de Gleason 6
 - **T1b** > 5% du tissu réséqué* et/ou score de Gleason 7
 - **T1c** : découverte par élévation du PSA et réalisation de biopsies
- **T2** : Tumeur limitée à la prostate (apex et capsule compris)
 - **T2a** : Atteinte de la moitié d'un lobe ou moins
 - **T2b** : Atteinte de plus de la moitié d'un lobe sans atteinte de l'autre lobe
 - **T2c** : Atteinte des deux lobes
- **T3** : Extension au-delà de la capsule
 - **T3a** : Extension extra-capsulaire
 - **T3b** : Extension aux vésicules séminales
- **T4** : Extension aux organes adjacents (sphincter urétral, rectum, paroi pelvienne) ou tumeur fixée

- **N : Ganglions régionaux**

- **Nx** : ganglions régionaux non évalués
- **N0** : Absence de métastase ganglionnaire
- **N1** : Atteinte ganglionnaire(s) régionale(s)
- **N1mi** : Métastase ganglionnaire < 0,2 cm

- **M : Métastases à distance**

- **M0** : Absence de métastases à distance
- **M1** : Métastases à distance
 - **M1a** : Ganglions non régionaux
 - **M1b** : Os
 - **M1c** : Autres sites

* Ces deux stades concernent les hommes qui ont bénéficié d'une résection de la prostate par les voies naturelles.

2 - CLASSIFICATION ANATOMOPATHOLOGIQUE (PTNM)

- **pT0** : Absence de tumeur identifiée après prostatectomie
- **pT2** : Tumeur limitée à la prostate (apex et capsule compris)
 - **pT2a** : Atteinte de la moitié d'un lobe ou moins
 - **pT2b** : Atteinte de plus de la moitié d'un lobe sans atteinte de l'autre lobe
 - **pT2c** : Atteinte des deux lobes
- **pT3** : Extension au-delà de la capsule
 - **T3a** : Extension extra-capsulaire uni- ou bilatérale incluant le col vésical
 - **T3b** : Extension aux vésicules séminales (uni- ou bilatérale)
- **T4** : Extension aux organes adjacents (sphincter urétral externe, rectum, muscles releveurs de l'anus, paroi pelvienne)

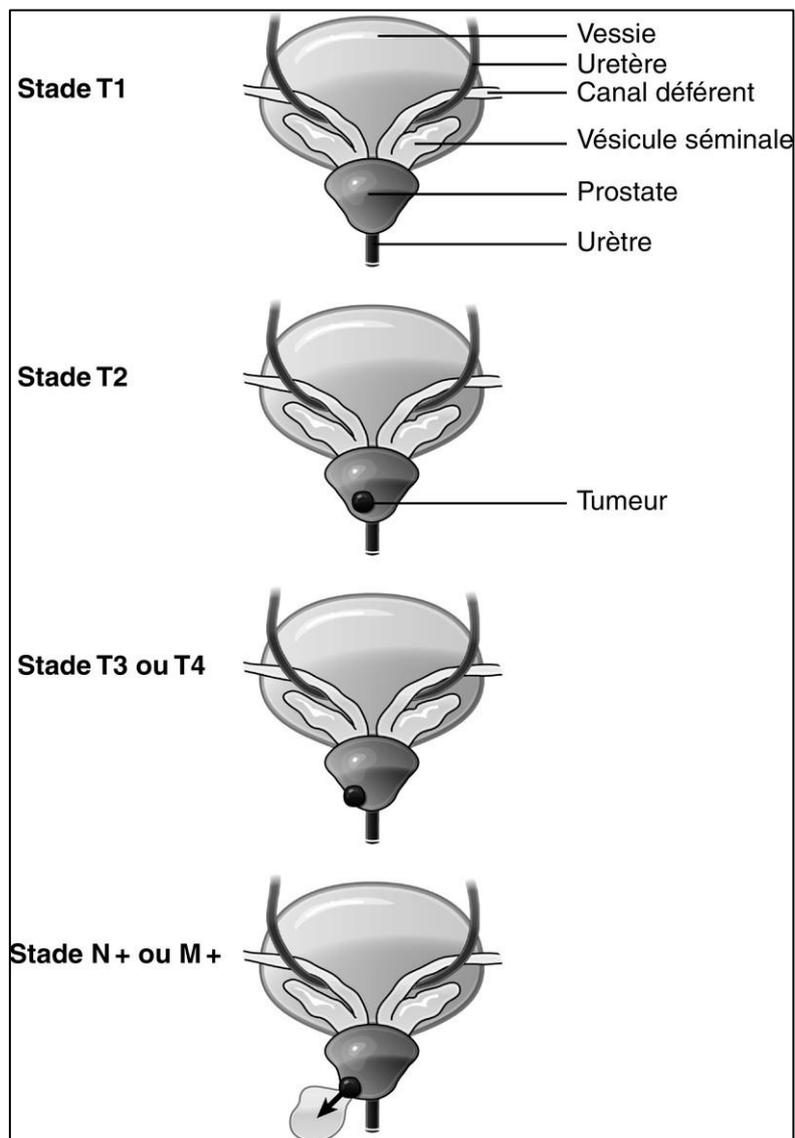


Illustration de la classification TNM

ANNEXE 3 : Instructions Swissmedic et architecture du *Pharmaceutical Quality Dossier*



AW-Instruction Pharmaceutical Quality Dossier

Change history

Version	Valid and binding as of:	Modified without version change	Description, comments (by author)	Author's initials
01	01.04.15		QM ident. changed old: BW101_10_005e_AL_Guidance_Pharmaceutical_Quality_Dossier new: BW101_10_006e_AA_Guidance_Pharmaceutical_Quality_Dossier	sel
		30.07.14	Dropdown field inserted in the header	wis
		30.06.14	Telephone and fax numbers updated, link revised, new change history inserted in the document	sel

Part Quality

Foreword

Guidance documents are meant to provide assistance to industry and health care professionals on how to comply with governing statutes and regulations. Guidance documents are administrative instruments not having force of law and, as such, allow for flexibility in approach. Alternate approaches to the principles and practices described in this document may be acceptable provided they are supported by adequate justification. As a corollary to the above, it is equally important to note that Swissmedic reserves the right to request information or material, or define conditions not specifically described in this document, in order to allow the Agency to adequately assess the pharmaceutical quality of the investigational medicinal product.

This document should be read in conjunction with the accompanying notice and the relevant sections of other applicable guidance documents.

The objective of this guidance document is to specify the pharmaceutical quality data to be provided by the sponsor before implementing a clinical trial.

2.1.S DRUG SUBSTANCE **2.1.S.1 General Information** **2.1.S.1.1 Nomenclature**

Provide INN, chemical or other Name (e.g. code).

2.1.S.1.2 Structure

For chemical substances and if applicable biological and biotechnological substances indicate the following: structural formula, molecular weight.

For biological and biotechnological substances: specify the primary structure, higher order structures, post-translation modifications as appropriate.

2.1.S.1.3 General Properties

Indicate the main physico-chemical characteristics (e.g. pH / pK, melting point, solubility, physical form).

2.1.S.2 Manufacture
2.1.S.2.1 Manufacturer(s)

Indicate the manufacturer(s) name(s) and address(es).

2.1.S.2.2 Description of Manufacturing Process and Process Controls

For chemical substances: provide a flow chart of manufacture. Indicate at least for the last steps of synthesis the starting materials, intermediates, solvents and reagents used.

For biological and biotechnological substances: provide a description of the cell culture system, the purification steps applied and information regarding storage of intermediates.

2.1.S.2.3 Control of Material

All material used in the manufacture (agents, solvents and any other materials) including the purity grade should be listed.

For biotechnological substances: provide information on the genetic development, which led to the selection of the processing strain. Describe the cell bank system and their control (identity, purity, stability).

2.1.S.2.4 Controls of Critical Steps and Intermediates

Provide information as available.

2.1.S.2.5 Process Validation and/ or Evaluation

2.1.S.3 Characterization
2.1.S.3.1 Elucidation of structure and other characteristics

For chemical substances briefly summarize available results. For phase II studies, data and methods are to be provided on request.

For biological and biotechnological substances: provide any information, which can contribute to establish the primary structure, higher order structures, biological activity, post translational modification or any other transformation.

2.1.S.3.2 Impurities

This paragraph should be used to discuss potential impurities arising either from synthesis of chemical substances or from degradation.

For biological and biotechnological substance a distinction between process- and product related impurities is required.

Typical levels of impurities observed should be listed.

2.1.S.4 Control of Drug Substance
2.1.S.4.1 Specification

This paragraph should provide the specification of the drug substance including methods used and the acceptance criteria applied.

Upper limits are to be set for impurities. They can be preliminary and have to be justified taking the safety of use into account.

2.1.S.4.2 Analytical procedures

Refer to Pharmacopoeias or provide a brief summary of the non-compendial methods used. For phase II studies, data and methods are to be provided on request.

2.1.S.4.3 Validation of Analytical Procedures

The suitability of analytical methods needs to be demonstrated.

2.1.S.4.4 Batch Analyses

Batch results, preferably in tabular format, or certificates of analysis are to be provided for the active substance batches used in non-clinical studies and for actual batch(es) or representative batch(es) of the Drug Substance to be used in clinical trials.

The batch number, batch size, manufacturing site, manufacturing date, testing methods, acceptance criteria and test results are to be listed.

2.1.S.4.5 Justification of specification

Justify the choice of specification at this stage of development. Include methods used and the acceptance criteria applied. The limit of individual and total impurities should be explained with a reference to related preclinical results. For genotoxic impurities refer to the guidance EMEA/CHMP/QWP/251344/2006.

2.1.S.5 Reference standards or materials

Not required.

2.1.S.6 Container and closure system

A brief description should be provided.

2.1.S.7 Stability

Stability data including results (also from forced degradation studies for phase II studies) are to be summarized in tabular form. Re-test period for chemical substances and storage conditions are to be defined.

2.1.P DRUG PRODUCT**2.1.P.1 Description and Composition of the Drug Product**

Provide the qualitative and quantitative composition of the Investigational Drug Product. In case of reconstitution, a description of the diluents used is necessary.
The declared formula should be the formulation of the batches used in the concerned clinical trial.

2.1.P.2 Pharmaceutical Development

Briefly describe the suitability of the selected dosage form to its intended use.

2.1.P.3 Manufacture**2.1.P.3.1 Manufacturer(s)**

Indicate the manufacturer(s) name(s) and control site(s) name(s) and address(es).

2.1.P.3.2 Batch formula

Not required.

2.1.P.3.3 Description of Manufacturing Process and Process Controls

A flow chart should be provided.

2.1.P.3.4 Control of critical steps and intermediates

In case of sterile products, the means or strategy used to guarantee product sterility have to be described.

2.1.P.3.5 Process Validation and/ or Evaluation

Only for non-standard dosage forms required as available.

2.1.P.4 Control of Excipients**2.1.P.4.1 Specifications**

Refer to Pharmacopoeias or, if not described there, attach a certificate of analysis.

2.1.P.4.2 Analytical procedure

Refer to Pharmacopoeias or provide a brief summary of the non-compendial methods used.

2.1.P.4.3 Validation of analytical procedure

Not applicable.

2.1.P.4.4 Justification of specifications

Not applicable.

2.1.P.4.5 Excipients of Human or Animal Origin

Provide necessary details with standard formular [ZL000_00_010e FO Substances of animal or human origin](#)

2.1.P.4.6 Novel Excipients

If applicable, provide detailed information as outlined for Drug Substance.

2.1.P.5 Control of Drug Product**2.1.P.5.1 Specifications(s)**

This paragraph should provide the specifications of the Investigational Drug Product including methods used and the acceptance criteria applied.

Upper limits are to be set for impurities. They can be preliminary and have to be justified taking the safety of use into account.

2.1.P.2 Analytical procedures

Refer to Pharmacopoeias or provide a brief summary of the non-compendial methods used. For phase II studies, data and methods are to be provided on request.

2.1.P.5.3 Validation of Analytical Procedures

The suitability of analytical methods needs to be demonstrated.

2.1.P.5.4 Batch Analyses

Batch results, preferably in tabular format, or certificates of analysis are to be provided for actual batch(es) or representative batch(es) of the Investigational Drug Product to be used in clinical trials.

The batch number, batch size, manufacturing site, manufacturing date, testing methods, acceptance criteria and test results are to be listed.

2.1.P.5.5 Characterisation of the Impurities

Only those impurities must be described here, which have not been mentioned under 2.1.S.3.2.

2.1.P.5.6 Justification of Specification(s)

Justify the choice of specification at this stage of development. Include methods used and the acceptance criteria applied. The limit of individual and total impurities should be given here.

Upper limits are to be set for impurities. They can be preliminary and have to be justified taking the results of the preclinical studies into account.

2.1.P.7 Container Closure System

Briefly describe the packaging and labeling of the investigational drug product and if applicable for the diluents for reconstitution.

2.1.P.8 Stability

Results from stability studies should be summarised in a tabular form. Conclusions of all stability tests performed so far should be drawn. An evaluation of the available data and justification of the proposed shelf-life to be assigned to the Investigational Drug Product in the clinical study should be provided.

Information presented should include the proposal for the assigned shelf-life of Investigational Drug Product. Criteria based on which the shelf life will be extended during an ongoing study need to be defined.

In the case batches of the Investigational Drug Product do not meet specifications requirements throughout the entire period of uses, the Agency should be informed of the situation, including any corrective action proposed.

2.1.A Appendices
2.1.A.2 Adventitious Agents Safety Evaluation

TSE Safety: Provide detailed information on minimization of TSE risk or avoidance of TSE agents.

Viral safety: Information assessing the risk with respect to potential viral contamination should be provided. The risk of introducing viruses into the product and the capacity of the manufacturing process to remove or inactivate viruses should be evaluated.

Other adventitious agents: Detailed information regarding other adventitious agents (bacteria, mycoplasma, fungi) should be provided in chapter 3.2.S.2.3.

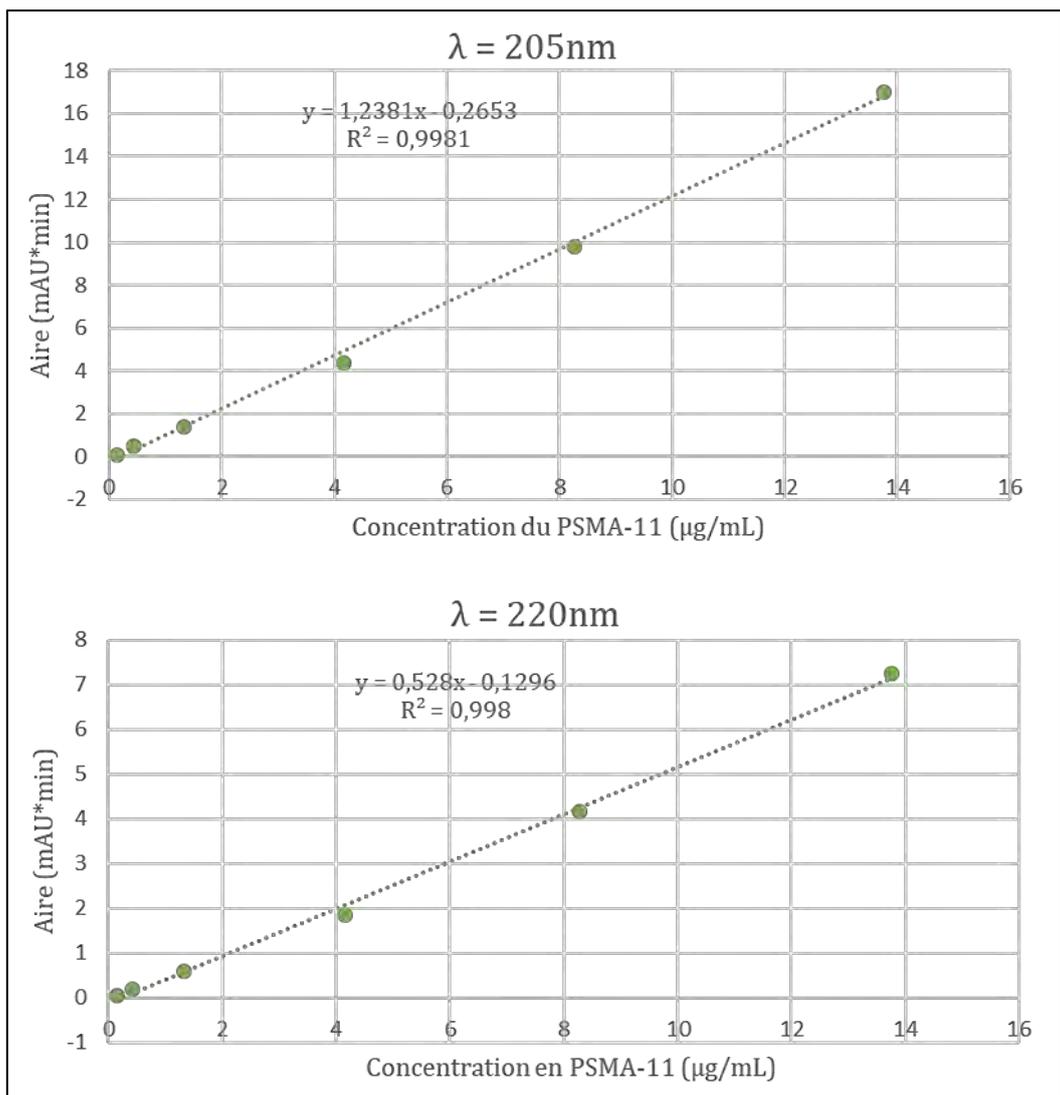
ANNEXE 4 : Détermination de la linéarité de la méthode HPLC-UV pour la détection du PSMA-11 et ses complexes métalliques

Theorique							Réel par pesées					
	m _{PSMA} (µg)	V _{S-1} (µL)	V _{NaCl} (µL)	Conc _{PSMA} (µg/mL)	V _f (mL)	m _{PSMA} inj (µg)		m _{NaCl} (g)	m _{S-1} (g)	m _{totale}	FDD	C
S _{mère}	7		500	14	200	0,28	S _{mère}	0,5086				13,76
S1		300	200	8,40	250	0,17	S1	0,2043	0,3081	0,5124	0,60	8,27
S2		250	250	4,20	183	0,084	S2	0,2535	0,2568	0,5103	0,50	4,16
S3		317	683	1,33	683	0,027	S3	0,6931	0,3250	1,0181	0,32	1,33
S4		317	683	0,42	683	0,0084	S4	0,6876	0,3250	1,0126	0,32	0,43
S5		317	683	0,13	683	0,0027	S5	0,6894	0,3267	1,0160	0,32	0,14
S6		317	683	0,042	683	0,00085	S6	0,6933	0,3252	1,0185	0,32	0,044
S7		317	683	0,013	683	0,00027	S7	0,6923	0,3250	1,0174	0,32	0,014
S8		317	683	0,0043	1000	0,000085	S8	0,6881	0,3261	1,0142	0,32	0,0045

a. Gamme de dilution du PSMA-11 précurseur

Conc. (µg/mL)	205nm			220nm			280nm		
	TR (min)	Aire		TR (min)	Aire		TR (min)	Aire	
			moyenne			moyenne			moyenne
0,004	nd	nd		nd	nd		nd	nd	
	nd	nd		nd	nd		nd	nd	
0,014	nd	nd		nd	nd		8,36	0,003	0,003
	8,39	0,51		nd	nd		8,36	0,002	
0,044	8,35	0,30		8,373	0,020	0,0200	8,37	0,007	0,008
	nd	nd		nd	nd		8,36	0,009	
0,14	8,35	0,094	0,091	8,35	0,043	0,0415	8,35	0,021	0,020
	8,36	0,087		8,36	0,040		8,36	0,018	
0,43	8,36	0,478	0,516	8,37	0,198	0,1795	8,36	0,053	0,053
	8,36	0,553		8,36	0,161		8,36	0,052	
1,33	8,36	1,401	1,377	8,36	0,589	0,5785	8,36	0,184	0,182
	8,36	1,353		8,36	0,568		8,36	0,179	
4,16	8,35	4,553	4,396	8,35	1,916	1,8560	8,35	0,601	0,580
	8,35	4,239		8,35	1,796		8,35	0,559	
8,27	8,35	9,927	9,784	8,35	4,199	4,1520	8,35	1,273	1,264
	8,35	9,640		8,35	4,105		8,35	1,255	
13,76	8,35	16,887	17,025	8,35	7,181	7,2465	8,35	2,161	2,178
	8,35	17,162		8,35	7,312		8,35	2,194	

b. Aires des pics du PSMA-11 en HPLC-UV



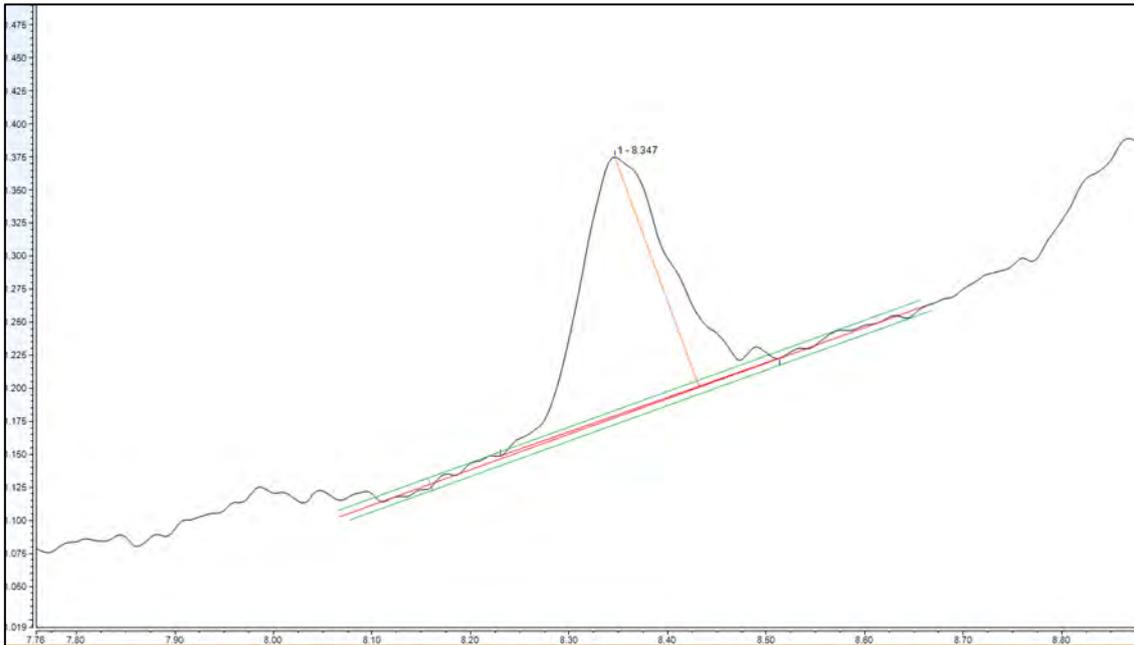
c. Régressions linéaires de l'aire du pic du PSMA-11 à en fonction de sa concentration. Détection UV à 205nm et 220nm

ANNEXE 5 : Détermination de la linéarité de la méthode HPLC-RAD pour le ⁶⁸Ga-PSMA-11

Acti (T₀) (MBq)	T₀	V_{inj} (μL)	T_{1/2} (min)	λ (min⁻¹)	V flacon final	Acti.vol_{T0} (MBq/mL)
503,2	09:03:00	20	67,629	0,0102493	10mL	50,32
T_{cq}	Δt (min)	A.vol injectée (MBq/mL)	A injectée (MBq)	Aire de l'isomère 1	Aire de l'isomère 2	Aire totale
09:20:00	17	42,27	0,85	17,23	4,17	21,40
10:46:00	103	17,51	0,35	6,76	1,53	8,28
12:18:00	195	6,82	0,14	2,77	0,63	3,41
13:04:00	241	4,26	0,09	1,56	0,36	1,92
15:00:00	357	1,30	0,03	0,57	0,12	0,69
15:21:00	378	1,05	0,02	0,42	0,10	0,52
15:44:00	401	0,83	0,02	0,33	0,07	0,40
16:01:00	418	0,69	0,01	0,28	0,07	0,35
16:33:00	450	0,50	0,01	0,17	0,04	0,21
18:04:00	541	0,20	0,00	0,08	0,01	0,09
18:27:00	564	0,16	0,00	0,07	0,01	0,08
18:55:00	592	0,12	0,00	0,05	0,01	0,06
19:51:00	648	0,07	0,00	0,03	0,00	0,03

Aire des pics radiochromatographiques du ⁶⁸Ga-PSMA-11 en fonction de l'activité volumique de la solution finale de ⁶⁸Ga-PSMA-11

ANNEXE 6 : Détermination de la limite de quantification de la méthode HPLC-UV



Chromatogramme-UV d'une solution de 0,14 µg/mL de PSMA-11 (zoom)

La ligne de base n'est pas horizontale car le pic du PSMA-11 est situé dans le gradient. L'amplitude du bruit de fond représenté par les deux lignes vertes est de 14 pixels (h). La hauteur du pic (orange), du sommet du pic à la ligne de base extrapolée du signal (rouge) est de 272 pixels (H).

Le rapport S/N est donc de :

$$S/N = 2H/h = 2 \times 272 / 14 = 38,8$$

Serment de Galien

Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- d'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- de ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

⁶⁸Ga-PSMA-11, nouveau traceur TEP pour l'imagerie du cancer de la prostate : synthèse, contrôles qualité et dossier d'autorisation

Le cancer de la prostate est le premier cancer masculin en termes de prévalence en France. Pourtant, les techniques d'imageries conventionnelles, utilisées dans le cadre du bilan d'extension, peinent parfois à mettre en évidence l'ensemble des lésions de cette maladie. L'imagerie fonctionnelle par tomographie par émission de positrons (TEP) pourrait être l'une des clefs pour améliorer la prise en charge diagnostique de ce cancer. En effet, l'utilisation récente du ⁶⁸Ga-PSMA-11 a démontré sa supériorité par rapport aux autres techniques d'imagerie, notamment dans le diagnostic précoce des foyers tumoraux en cas de récurrence après un traitement radical. Devant le gain diagnostique que représente l'utilisation de ce médicament radiopharmaceutique (MRP), il a été décidé par le service de Médecine Nucléaire du CHUV de Lausanne, de soumettre auprès de Swissmedic, un dossier d'autorisation de production de ⁶⁸Ga-PSMA-11. Pour cela, au sein de l'unité de Radiopharmacie du CHUV, nous avons réalisé la synthèse de ce MRP et mis au point les contrôles qualité de cette production via des méthodes analytiques que nous avons validées.

Mots clefs : Cancer de la prostate, TEP/TDM, ⁶⁸Ga-PSMA-11, contrôles qualité, radiopharmacie

⁶⁸Ga-PSMA-11, new PET tracer in prostate cancer imaging: synthesis, quality controls and authorization dossier

Prostate cancer is the first cancer for males in terms of prevalence in France. However, conventional imaging techniques, used for the disease staging, sometimes struggle to highlight all the lesions involved. Functional imaging by positron emission tomography (PET) could be a key examination to improve the diagnostic performances associated to this cancer. Indeed, the recent use of ⁶⁸Ga-PSMA-11 has demonstrated its superiority compared to other imaging techniques, especially in the early diagnosis of tumor location in case of recurrence after radical treatment. Given the diagnostic benefit of using this radiopharmaceutical drug (RD), it was decided by the Lausanne CHUV's Nuclear Medicine Department to submit a production authorization dossier to Swissmedic for this RD. To this end, at CHUV's Radiopharmacy Unit, we have synthesized this RD and developed the quality controls for this production using analytical methods that we validated.

Keywords: Prostate cancer, PET/CT, ⁶⁸Ga-PSMA-11, quality controls, radiopharmacy

⁶⁸Ga-PSMA-11, nouveau traceur TEP pour l'imagerie du cancer de la prostate : synthèse, contrôles qualité et dossier d'autorisation

Le cancer de la prostate est le premier cancer masculin en termes de prévalence en France. Pourtant, les techniques d'imageries conventionnelles, utilisées dans le cadre du bilan d'extension, peinent parfois à mettre en évidence l'ensemble des lésions de cette maladie. L'imagerie fonctionnelle par tomographie par émission de positrons (TEP) pourrait être l'une des clefs pour améliorer la prise en charge diagnostique de ce cancer. En effet, l'utilisation récente du ⁶⁸Ga-PSMA-11 a démontré sa supériorité par rapport aux autres techniques d'imagerie, notamment dans le diagnostic précoce des foyers tumoraux en cas de récurrence après un traitement radical. Devant le gain diagnostique que représente l'utilisation de ce médicament radiopharmaceutique (MRP), il a été décidé par le service de Médecine Nucléaire du CHUV de Lausanne, de soumettre auprès de Swissmedic, un dossier d'autorisation de production de ⁶⁸Ga-PSMA-11. Pour cela, au sein de l'unité de Radiopharmacie du CHUV, nous avons réalisé la synthèse de ce MRP et mis au point les contrôles qualité de cette production via des méthodes analytiques que nous avons validées.

MOTS-CLES : Cancer de la prostate, TEP/TDM, ⁶⁸Ga-PSMA-11, contrôles qualité, radiopharmacie

Titre et résumé en Anglais : voir au recto de la dernière page de la thèse

DISCIPLINE administrative : PHARMACIE

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR : Université Paul SABATIER Toulouse III – Faculté des Sciences Pharmaceutiques – 31062 Toulouse Cedex 09

Directeur de thèse : Madame le Docteur Judith DELAGE