

Microparticules à base d'amidon (SBMP) comme agent théranostique unique pour la radiothérapie sélective interne des tumeurs hépatiques: radiomarquage au gallium-68 et rhénium-188 et étude préliminaire in vivo

Elise Verger

▶ To cite this version:

Elise Verger. Microparticules à base d'amidon (SBMP) comme agent théranostique unique pour la radiothérapie sélective interne des tumeurs hépatiques : radiomarquage au gallium-68 et rhénium-188 et étude préliminaire in vivo. Médecine humaine et pathologie. Université d'Angers; Université de Liège, 2016. Français. NNT : 2016ANGE0054 . tel-02188193

HAL Id: tel-02188193 https://theses.hal.science/tel-02188193

Submitted on 18 Jul 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers. L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.





Thèse de Doctorat

Elise VERGER

Département de Médecine Nucléaire

et d'imagerie oncologique

Sart-Tilman B35 - 4000 Liège

CHU de Liège

Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de Docteur de l'Université d'Angers sous le sceau de l'Université Bretagne Loire

Écoles doctorales : Biologie-Santé, Nantes-Angers / Sciences biomédicales et pharmaceutiques, Liège

Discipline : Biomolécules, pharmacologie, thérapeutique

Unités de recherche : INSERM UMR-S 1066 MINT (Micro- et Nano-médecines Biomimétiques) IBS Institut de Biologie en Santé - CHU d'Angers 4, Rue Larrey - 49933 Angers Cedex9

Soutenue le 7 Décembre 2016

Microparticules à base d'amidon (SBMP) comme agent théranostique unique pour la radiothérapie sélective interne des tumeurs hépatiques : radiomarquage au gallium-68 et rhénium-188 et étude préliminaire *in vivo*

JURY

Rapporteurs :	Benjamin GUILLET, PU-PH, Département de Médecine Nucléaire, CHU Nord de Marseille, France Pierre-Yves LE ROUX, MCU-PH, Département de Médecine Nucléaire CHU de Brest, EA3878 (GETBO) IFR 148, France
Examinateur :	Pierre DRION, Professeur à l'Université de Liège, Animalerie Centrale CHU de Liège, GIGA-R & CREDEC, Belgique
Directeurs de Thèse :	François HINDRE, MCU, INSERM UMR-S 1066 MINT, Université d'Angers, France Roland HUSTINX, Professeur à l'Université de Liège, Département de Médecine Nucléaire, CHU de Liège, Belgique
Co-directeur de Thèse :	Franck LACOEUILLE, MCU-PH, INSERM UMR-S 1066 MINT, Université d'Angers, CHU d'Angers, France

2015-2016

Thèse de Doctorat

Spécialité : Pharmacologie expérimentale et clinique (Université d'Angers) Sciences biomédicales et pharmaceutiques (Université de Liège)

Microparticules à base d'amidon (SBMP) comme agent théranostique unique pour la radiothérapie sélective interne des tumeurs hépatiques : radiomarquage au gallium-68 et rhénium-188 et étude préliminaire in vivo

VERGER Elise

Sous la direction des Dr HINDRE François et Pr HUSTINX Roland

Membres du jury Guillet Benjamin | Rapporteur Le Roux Pierre-Yves | Rapporteur Drion Pierre | Examinateur Hindré François | Directeur de Thèse Hustinx Roland | Directeur de Thèse Lacoeuille Franck | Co-Directeur de Thèse



Soutenu publiquement le : 07 Décembre 2016



L'auteur du présent document vous autorise à le partager, reproduire, distribuer et communiquer selon les conditions suivantes :



- Vous devez le citer en l'attribuant de la manière indiquée par l'auteur (mais pas d'une manière qui suggérerait qu'il approuve votre utilisation de l'œuvre).
- Vous n'avez pas le droit d'utiliser ce document à des fins commerciales.
- Vous n'avez pas le droit de le modifier, de le transformer ou de l'adapter.

Consulter la licence creative commons complète en français : http://creativecommons.org/licences/by-nc-nd/2.0/fr/



Ces conditions d'utilisation (attribution, pas d'utilisation commerciale, pas de modification) sont symbolisées par les icônes positionnées en pied de page.

Cette thèse, financée par le Ministère de l'Education Nationale et de la Recherche dans le cadre du programme NanoFar Erasmus Mundus de Doctorat Européen en nanomédecines et innovations pharmaceutiques, a été réalisée en cotutelle entre l'Université d'Angers et l'Université de Liège.

Remerciements

Tous mes remerciements vont d'abord aux membres du jury qui ont accepté d'évaluer mon travail de thèse.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à Monsieur le Professeur Benjamin Guillet ainsi qu'à Monsieur le Docteur Pierre-Yves Le Roux d'avoir accepté de prendre la charge de rapporteur de cette thèse.

Je remercie sincèrement Monsieur le Professeur Pierre Drion d'avoir accepté d'examiner ce travail, avec ma très vive reconnaissance pour son soutien et sa disponibilité ainsi que ses prouesses en microchirurgie.

J'adresse toute ma gratitude à mes directeurs de thèse, Monsieur le Professeur Olivier Couturier, Monsieur le Professeur Roland Hustinx, Monsieur le Docteur François Hindré et Monsieur le Docteur Franck Lacoeuille de m'avoir fait confiance pour ce travail, ainsi que pour leur disponibilité et leurs conseils avisés.

Mes remerciements vont également à tous ceux qui, de près ou de loin, m'ont apporté leur soutien scientifique, technique et moral au cours de ces années entre Angers et Liège, en passant par : le laboratoire INSERM UMRS-1066 MINT, la plateforme PRIMEX, le SCAHU, le Service de médecine nucléaire du CHU d'Angers; l'animalerie centrale, le CREDEC et le Service de médecine nucléaire du CHU de Liège.

Un merci chaleureux à tous les membres du programme Erasmus Mundus NanoFar. Ce doctorat m'a permis de faire de belles rencontres internationales très enrichissantes.

Au terme de ce parcours, je remercie enfin celles et ceux qui me sont chers et que j'ai quelque peu délaissés ces derniers mois pour finir cette thèse. Merci à mes parents pour leur soutien sans faille, à ma famille et mes amis, pour leur attention et leurs encouragements tout au long de ces années.

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE - Le Carcinome hépatocellulaire

- 1. Incidence
- 2. Facteurs de risques
- 3. Pathogénèse du CHC
- 4. Prévention
- 5. Diagnostic
- 6. Algorithmes et systèmes de classement
- 7. Traitements

CHAPITRE 1 - La radioembolisation ou Radiothérapie Sélective Interne (SIRT)

- 1. Introduction
- 2. La Radiothérapie Sélective Interne : Concept et principe
- 3. Microsphères radiomarquées à l'yttrium-90
- 4. Procédure
- 5. Etudes cliniques
- 6. Autre système de radiothérapie sélective interne transartérielle pour le cancer du foie utilisé en clinique : le Lipiodol
- 7. Conclusion

Chapitre 2 - Microparticules à base d'amidon (SBMP) marquée au ⁶⁸Ga et au ¹⁸⁸Re comme outil théranostique pour le Carcinome Hépatocellulaire : radiomarquage et étude préliminaire in vivo chez le rat. (Partie expérimentale – article [146])

- 1. Résumé
- 2. Introduction
- 3. Matériel et Méthodes
- 4. Résultats
- 5. Discussion
- 6. Conclusion
- 7. Article Publié

Chapitre 3 - Discussion : Perspective pour le développement des SBMP vers la clinique

- 1. Introduction
- 2. Systèmes en développement pour la SIRT
- 3. Développement d'un nouvel agent microparticulaire pour la théranostique du CHC : les SBMP : Comparaison aux systèmes en développement
- 4. Modèles animaux de tumeur hépatique
- 5. Perspectives proposées pour le développement des SBMP vers la clinique
- 6. Perspectives : développement de nouveaux radiomarquages des SBMP par d'autres radionucléides d'intérêts
- 7. Application des SBMP à d'autres maladies : l'embolie pulmonaire

CONCLUSION GENERALE

Table des Matière

SOMMAIRE	6
Table des Matière	7
Liste des abréviations	13
Table des illustrations	19
Table des tableaux	20
INTRODUCTION GENERALE - Le Carcinome hépatocellulaire	21
1. Incidence	21
2. Facteurs de risques	22
3. Pathogénèse du CHC	22
4. Prévention	23
5. Diagnostic	24
6. Algorithmes et systèmes de classement	25
7. Traitements	27
7.1. Traitements curatifs	28
7.1.1. La résection hépatique	28
7.1.2. La transplantation hépatique	28
7.1.3. Les traitements locorégionaux d'ablation (RFA et PEI)	28
7.2. Traitements palliatifs	29
7.2.1. Les techniques d'injection transartérielles	29
7.2.1.1. L'embolisation transartérielle et la chimioembolisation transartérielle (TACE).	30
7.2.1.2. La radiothérapie sélective interne ou radioembolisation (SIRT)	30
7.2.2. Biothérapie ciblée (ou thérapie ciblée): le Sorafénib	31
CHAPITRE 1 - La radioembolisation ou Radiothérapie Sélective Interne (SIRT)	32
1. Introduction	32
1.1. Définition du cancer	32
1.2. La médecine nucléaire	33
1.3. Rayonnements ionisants utilisés en imagerie	34
1.3.1. Rayonnement β^+ et Tomographie par Emission de Positons	34
1.3.2. Capture électronique	38
1.3.3. Les rayons γ et les rayons X	38
1.3.3.1. Rayonnements gamma et Tomographie par Emission Monophotonique	39
1.3.3.2. Rayons X et Tomodensitométrie	40
1.4. Principaux rayonnements ionisants utilisés en radiothérapie	40
1.4.1. Rayonnements α	41

1.4	.2. R	ayonnement β^{-}	42
1.5.	La Thé	ranostique	43
2. La l	Radioth	érapie Sélective Interne : Concept et principe	46
2.1.	Prései	ntation	46
2.2.	Histor	ique et concept	47
2.3.	Partic	ularité des tumeurs hépatiques	48
2.4.	Biodis	tribution des micropshères d' ⁹⁰ Y	50
2.5.	Anato	mie des artères hépatiques	50
3. Mie	crosphè	res radiomarquées à l'yttrium-90	52
3.1.	L'Yttri	um-90	53
3.2.	Les m	crosphères actuellement en clinique	53
3.2	.1. T	heraSphere [®]	54
3.2	.2. S	IR-Spheres [®]	54
3.2	.3. A	vantages et inconvénients des microsphères d'yttrium-90	56
4. Pro	océdure		57
4.1.	Indica	tion de la SIRT	58
4.1	.1. P	lace de la SIRT dans les algorithmes et systèmes de classement	59
4.2.	Etape	pré-thérapeutique	60
4.2	.1. P	remière étape pré-thérapeutique : Evaluation clinique	61
2	4.2.1.1.	Historique clinique des patients	61
Z	4.2.1.2.	Score de performance	62
Z	4.2.1.3.	Imagerie hépatique pré-thérapeutique	63
Z	4.2.1.4.	Evaluation de la fonction hépatique et marqueurs tumoraux	64
	4.2.1.4	4.1. Les transaminases	64
	4.2.1.4	4.2. La bilirubine	64
	4.2.1.4	4.3. Les protéines produites spécifiquement par le foie	65
	4.2.1.4	1.4. Le score de Child-Pugh	66
	4.2.1.4	4.5. L'alpha-fœtoprotéine (AFP)	67
	4.2.1.4	4.6. Facteurs pronostics de survie	68
4.2	.2. C	euxième étape pré-thérapeutique	68
Z	4.2.2.1.	Angiographie	68
Z	4.2.2.2.	Scintigraphie de perfusion (99mTc-MAA)	70
4.2	3. S	élection des patients (résumé)	74
2	4.2.3.1.	Critères d'inclusions	75
2	4.2.3.2.	Critères d'exclusion	76
4.3.	Dosim	étrie	76

	4.3	.1. T	heraSphere®	76
	4.3	.2. S	IR-Spheres [®]	78
	4	1.3.2.1.	La méthode Empirique	79
	4	1.3.2.2.	La méthode SC (Surface Corporelle ou BSA pour Body Surface Area)	80
	4	1.3.2.3.	Le modèle de partition (ou méthode multi-compartimentale de macro-dosimét MIRD)	rie 81
	4	1.3.2.4.	Dosimétrie des SIR-Spheres [®] : Prise en compte du pourcentage de shunt pulmonaire	82
	4.3	.3. A d	vantages et inconvénients des méthodes de calcul de dose pour les microsphère ′ ⁹⁰ Y	s 83
	4.3	.4. D	osimétrie basée sur les voxels	84
	4.4.	Traiter	ment : Injection des microsphères d' ⁹⁰ Y	85
	4.4	.1. A	dministration des SIR-Spheres [®]	86
	4.4	.2. A	dministration des TheraSphere [®]	87
	4.5.	Suivi p	ost-traitement : Imagerie post-traitement et évaluation du traitement	87
	4.5	.1. P	articularité de l'yttrium-90	87
	4.5	.2. E	valuation post-traitement de la biodistribution des microsphères	88
	4.5	.3. E	valuation du traitement	88
	4.5	.4. E	valuation de la réponse au traitement par imagerie	89
	4	1.5.4.1.	Critères d'évaluation de la réponse au traitement par imagerie	90
	4.5	.5. B	iomarqueurs tumoraux et tests sanguins	93
	4.6.	Compl	ications, effets secondaires	93
5.	Etu	des clini	ques	94
6.	Aut en e	re systè clinique	me de radiothérapie sélective interne transartérielle pour le cancer du foie utilis : le Lipiodol1	é .00
7.	Cor	nclusion		.02
Cha outi prél	pitre 2 l thér limina	2 - Micr anostiq aire in v	oparticules à base d'amidon (SBMP) marquée au 68Ga et au 188Re comm jue pour le Carcinome Hépatocellulaire : radiomarquage et étude vivo chez le rat. (Partie expérimentale – article [146])1	ıe 04
1.	Rés	umé		.04
2.	Intr	oductio	n1	.04
3.	Ma	tériel et	Méthodes 1	.06
	3.1.	Matér	iel 1	.06
	3.2.	La syn [.]	thèse des Microparticules à base d'amidon (SBMP)1	.07
	3.2	.1. N	1esure de taille1	.07
	3.3.	Formu	llation des SBMP sous forme de kits prêts-à-l'emploi1	.07
	3.4.	Mesur	e de la Pureté Radiochimique1	.07

3	.5.	Radi	iomarquage au ¹⁸⁸ Re	108
	3.5	5.1.	Détermination de la composition optimale des kits de radiomarquage pour le 18	³⁸ Re .
				108
	3.5	5.2.	Etude de stabilité in vitro	108
3	.6.	Radi	iomarquage au ⁶⁸ Ga	108
	3.0	6.1.	Radiomarquage direct avec l'éluat de ⁶⁸ GaCl ₃	108
		3.6.1.1	Marquage des particules natives d'amidon	108
		3.6.1.2	2. Marquage des SBMP	109
	3.0	6.2.	Optimisation du marquage au ⁶⁸ Ga : ajout de tampon pH 4,1	109
	3.0	6.3.	Etudes de stabilité in vitro	109
		3.6.3.1	Test de compétition Histidine	109
		3.6.3.2	2. Etude de stabilité dans du Sérum de Veau Fœtal (SVF)	109
3	.7.	Etuc	les in vivo	110
	3.	7.1.	Déclaration éthique	110
	3.7	7.2.	Modèle d'induction tumorale du CHC	110
	3.1	7.3.	Marquage au ⁶⁸ Ga des kits SBMP	110
	3.7	7.4.	Injection intra-artérielle des SBMP marquées au ⁶⁸ Ga	110
	3.	7.5.	Imagerie TEP/TDM	111
	3.7	7.6.	Analyses statistiques	112
4.	Ré	sultats	;	112
4	.1.	Radi	iomarquage des SBMP au ¹⁸⁸ Re	112
4	.2.	Radi	iomarquage des SBMP au ⁶⁸ Ga	114
4	.3.	Etuc	de in vivo des ⁶⁸ Ga-SBMP	116
5.	Di	scussio	n	118
6.	Со	onclusio	on	123
7.	Ar	ticle Pu	ıblié	123
Chapi	itre	3 - Di	scussion : Perspective pour le développement des SBMP vers la cliniqué	e141
1.	Int	troduct	tion	141
2.	Sy	stèmes	s en développement pour la SIRT	142
2	.1.	Mici	roparticules pour le diagnostic	142
	2.:	1.1.	Marquage des MAA par des radionucléides émetteurs de positons (⁶⁸ Ga et ¹⁸ F) la TEP	pour 142
		2111	⁶⁸ Ga-MAA	142
		2.1.1.2	2 ¹⁸ F-MAA	143
	2	<u>.</u> .2	Microparticules d'albumine sérique humaine (HSA) marquées au ⁶⁸ Ga ou au ^{99m}	<u>-</u>
			⁶⁸ Ga-HSA ou ^{99m} Tc-HSA	144

2	.2.	Mici	roparticules pour la thérapie	. 145
	2.2.	1.	Microsphères de verre marquées au phosphore-32 (³² P)	. 145
	2.2.	2.	Microsphères de verre radiomarquées au ¹⁸⁶ Re/ ¹⁸⁸ Re	. 146
	2.2.	3.	Microparticules d'albumine sérique humaine marquée au ¹⁸⁸ Re : ¹⁸⁸ Re-HSA	. 147
	2.2.	4.	¹⁶⁶ Ho-PLLA-MS	. 148
	2.2.	5.	¹⁶⁶ Ho-Chitosane	150
3.	Dév SBN	elopp 1P : C	pement d'un nouvel agent microparticulaire pour la théranostique du CHC : les omparaison aux systèmes en développement	. 151
4.	Mo	dèles	animaux de tumeur hépatique	156
4	.1.	Туре	es de modèles	156
	4.1.	1.	Modèles spontanés	. 157
	4.1.	2.	Implantation cellulaire	. 157
	4.1.	3.	Modifications génétiques	. 159
	4.1.	4.	Induction chimique	. 161
	4.1.	5.	Modèles d'infection virale	162
4	.2.	Мос	dèle souris	163
4	.3.	Мос	dèle rat	164
4	.4.	Мос	dèle lapin	165
4	.5.	Autr	es modèles	168
	4.5.	1.	Porc	168
	4.5.	2.	Marmotte	169
	4.5.	3.	Tupai et Spermophile (écureuil terrestre)	170
	4.5.	4.	Singe	. 171
	4.5.	5.	Chien	. 171
	4.5.	6.	Cochon d'inde	. 173
	4.5.	7.	Hamster	. 173
	4.5.	8.	Poisson zèbre (Zebrafish)	173
4	.6.	Con	clusion	. 174
5.	Pers	specti	ives proposées pour le développement des SBMP vers la clinique	. 176
5	.1.	Cho	ix d'un nouveau modèle animal	176
	5.1.	1.	Inconvénients du modèle du porc	. 176
	5.1.	2.	Avantages du modèle VX2 pour les études de radiothérapie interventionnelle	. 176
5	.2.	Expe	ériences supplémentaires nécessaires pour le développement des SBMP vers la	
		clini	que	. 177
	5.2.	1.	Etude in vitro : Amélioration du radiomarquage des SBMP par le rhénium-188	. 177
	5.2.	2.	Etude in vivo	. 177

	5.2.2.1.	Biodistribution par imagerie	177
	5.2.2.2.	Efficacité	177
6.	Perspective	es : développement de nouveaux radiomarquages des SBMP par d'autres	
	radionucléi	des d'intérêts	178
7.	Application	des SBMP à d'autres maladies : l'embolie pulmonaire	179
CONC	LUSION GE	NERALE	180
Biblio	graphie		181

Liste des abréviations

¹⁶⁶ Ho-Chitosane	Microparticules de chitosane (2-déoxy-2-amino-D-glucose) marquées à l'holmium-166
¹⁶⁶ Ho-PLLA-MS	Microparticules de PLLA marquées à l'holmium-166
¹⁸⁶ Re	Rhénium-186
¹⁸⁸ Re	Rhénium-188
¹⁸⁸ Re-HSA	Microparticules d'albumine sérique humaine marquées au rhénium-188
¹⁸⁸ Re-SBMP	SBMP marquées au ¹⁸⁸ Re
¹⁸⁸ W	Tungstène-188
¹⁸ F	Fluor-18
¹⁸ F-FCCA	Acide 1-amino-3-18F-fluorocyclobutane-1-carboxylique
¹⁸ F-FDG	¹⁸ F-Fluorodésoxyglucose : glucose marqué au fluor-18 : 2- ¹⁸ F-fluoro-2-désoxy-D-glucose
¹⁸ F-FDOPA	6-fluoro-(¹⁸ F)-L-DOPA
¹⁸ F-FES	$16\alpha^{-18}$ F-Fluoro-17 β -estradiol
¹⁸ F-FHBG	9-[4-18F-fluoro-3-(hydroxyméthyl)butyl]guanine
¹⁸ F-FMT	¹⁸ F-Fluoro-α-Méthyl Tyrosine
¹⁸ F-MAA	Macroagrégats d'albumine sérique humaine marqués au fluor-18
¹⁸ F-MISO	¹⁸ F-Fluoromisonidazole
¹⁸ F-SFB	N-succinimidyl 4-18F-fluorobenzoate
⁶⁷ Ga	Gallium-67
⁶⁸ Ga	Gallium-68
⁶⁸ GaCl₃	Trichlorure de gallium
⁶⁸ Ga-HSA	Microparticules d'albumine sérique humaine marquées au gallium-68
⁶⁸ Ga-MAA	Macroagrégats d'albumine sérique humaine marqués au gallium-68
⁶⁸ Ga-SBMP	SBMP marquées au ⁶⁸ Ga
⁶⁸ Ge	Germanium-68
⁸⁶ Y	Yttrium-86
⁸⁹ Y	Yttrium-89
⁹⁰ Sr	Strontium-90
⁹⁰ Y	Yttrium-90
⁹⁰ Zr	Zirconium-90
⁹⁹ Mo	Molybdène-99

^{99m} Tc	Technetium-99m
99mTc-HSA	Microparticules d'albumine sérique humaine marquées au technetium-99m
99mTc-MAA	Macroagrégats d'albumine sérique humaine marqués au technétium-99m
99mTc-SBMP	SBMP marquées au ^{99m} Tc
AASLD	American Association for the study of liver diseases
ADN	Acide Désoxyribonucléique
AFP	Alpha-fœtoprotéine
AHDD	HDD acétylé (chélateur)
AJCC-TNM7	Système de classement AJCC-TNM7 (pour American Joint Committee on Cancer tumour node metastasis version 7)
ALAT	Enzyme Alanine-aminotransférase
ASAT	Enzyme Asparatate-aminotransférase
BCLC	Système de classement pour Barcelona Clinic Liver Cancer
Bq	Becquerel (unité)
CCl ₄	Tétrachlorure de carbone
CE	Capture Electronique
CEA	Antigène Carcinoembryonnaire pour Carcinoembryonic Antigen
СНС	Carcinome Hépatocellulaire
Ci	Curie (unité)
CLIP	Classification du CLIP (Cancer of the Liver Italian Program)
СОТС	Consortium de cliniques vétérinaires regroupées pour des études cliniques vétérinaires d'oncologie comparative pour <i>Comparative Oncology Trials Consortium</i>
СТР	Classification de Child-Turcotte-Pugh
CUPI	Classification CUPI (Chinese University Prognostic Index)
DCP	Des-gamma carboxyprothrombine
DEB-TACE	Drug-Eluting Bead TACE : Chimioembolisation transartérielle utilisant des particules encapsulant l'agent chimiothérapeutique.
DENA	Diéthylnitrosamine
DMN	Diméthylnitrosamine
DOTA	Acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane-N,N',N'',N'''-tétraacétique
DOTANOC	DOTA-1-Nal(3)-octreotide
DOTATOC	DOTA(0)–Phe(1)–Tyr(3)–octréotide
DTPA	Acide diéthylène triamine penta acétique (chélateur)

DVH	Histogrammes dose-volume pour Dose-Volume Histogram
EASL	European Association for the Study of the Liver
ECD	Ethyl cystéinate dimère (chélateur)
ECOG	Score de performance Eastern Cooperative Oncology Group
EDTA	Acide éthylène diamine tétraacétique (chélateur)
EDTB	N,N,N',N'-tétrakis(2-benzymidazolylméthyl)-1,2-éthanediamine (chélateur)
E _{max}	Energie maximale
eV	électron Volts (unité)
FCH	¹⁸ F-Fluorocholine : choline marquée au fluor-18
FDA	Food and Drug Administration
FLT	¹⁸ F-Fluorothymidine : thymidine marquée au fluor-18
G6P	Enzyme glucose-6-phosphatase
GLUT	Transporteurs transmembranaires du glucose
GP73	Protéine de Golgi 73
GPC-3	Glypican-3
GRETCH	Classification du Groupe d'Etude et de Traitement du Carcinome Hepatocellulaire
GSHV	Virus de l'hépatite du spermophile (pour Ground Squirrel Hepatitis Virus)
Gy	Gray (unité)
HDD	4-hexadécyl-TDD (chélateur)
HGF	Facteur de croissance des hépatocytes (Hepatocyte Growth Factor)
нк	Hexokinases
HKLC	Classification HKLC pour Hong Kong Liver Cancer
HSA	Microparticules d'albumine sérique humaine (Human Serum Albumin)
HSD de Tukey	Test statistique (Honest Significant Difference) de Tukey
IRM	Imagerie par Résonnance Magnétique
iv	intraveineux
JIS	Classification JIS (Japanese Integrated System)
LCSGJ	Liver Cancer Study Group of Japan (Système de classification)
MAA	Macroagrégat d'albumine sérique humaine
MIP	Projection d'Intensité Maximale (pour Maximum Intensity Projection)
MIRD	Medical Internal Radiation Dose (Formules dosimétriques)

mRECIST	Critères d'évaluation de la réponse des tumeurs solides modifiés (pour modified Response Evaluation Criteria in Solid Tumors).
NaBH ₄	Borohydrure de sodium
NaCl	Chlorure de sodium
NAFDL	Stéatose hépatique non alcoolique (pour Non-Alcoholic Fatty Liver Disease)
NalO ₄	Métapériodate de sodium
NASH	Stéato-hépatite non alcoolique ou Stéato-hépatite métabolique (pour <i>Non</i> Aloolic Steato Hepatitis)
N-DEDC	bis-(diethyldithiocarbamato)nitrido (chélateur)
OGM	Organisme Génétiquement Modifié
OMS	Organisation Mondiale de la Santé (ou WHO : World Health Organisation)
p53	Gène suppresseur de tumeur produisant la protéine p53
p53	Protéine p53 : facteur de transcription, facteur suppresseur de tumeur
PEI	Alcoolisation percutanée (pour Percutaneous Ethanol Injection)
рН	Potentiel Hydrogène
PLLA	Polymère d'acide polylactique
PRC	Pureté radiochimique
PRRT	Radiothérapie ciblant les Récepteurs de peptides (pour <i>Peptide Receptors Radionuclide Therapy</i>)
PS	Phosphatidylsérines
PSMA	Prostate-Specific Membrane Antigen
PTEN	Phosphatase and Tensine Homologue
Rb	Gène suppresseur de tumeur produisant la protéine Rb
Rb	Protéine du Rétinoblastome, facteur suppresseur de tumeur
RECIST	Critères d'évaluation de la réponse des tumeurs solides (pour <i>Response Evaluation Criteria in Solid Tumors</i>)
RFA	Ablation par Radiofréquence (pour Radiofrequence Ablation)
RGD	Peptide RGD (Arginine : R ; Glycine : G; Acide Aspartique : D)
RILD	Hépatites subaiguës induites par les radiations ou Hépatites radiques (pour Radiation-induced liver disease)
RIN	Rapport International Normalisé
RIT	Radioimmunothérapie
ROI	Régions d'intérêt (pour Regions of Interest)
ROS	Dérivés réactifs de l'oxygène (ROS pour Reactive Oxygen Species)

SBMP	Microparticules à base d'amidon (pour Starch-Based Microparticles)
SBRT	Radiothérapie stéréotaxique (pour Stereotactic body radiaotherapy)
SC	Modèle dosimétrique de Surface Corporelle (ou BSA pour Body Surface Area)
SCCA	Antigène du carcinome épidermoïde (pour <i>Squamous Cell Carcinoma</i> <i>Antigen</i>)
SCID	Déficience immunitaire sévère (pour Severe Combined Immunodeficience)
SFB	N-succinimidyl 4-fluorobenzoate
SIRT	Radiothérapie sélective interne ou radioembolisation (pour Selective Internal Radiation Therapy)
SnCl ₂ , 2H ₂ O	Chlorure stanneux dihydrate (ou chlorure d'étain dihydrate)
SSS	Super Six Sulphur : [¹⁸⁸ Re ^{III} (PhCS ₃) ₂ (PhCS ₂)]) (chélateur)
SV40	ADN du virus simien 40 (pour Simian vacuolating virus 40)
SVF	Sérum de Veau Fœtal
ТАА	Thioacétamide
TACE	Chimioembolisation transartérielle (pour Transarterial Chemoembolization)
T-Ag	Antigène-T (protéine oncogénique issue du génome du virus SV40)
TDD	2,2,9,9-tétraméthyl-4,7-diaza-1,10-décanédithiol (chélateur)
TDM	Tomodensitométrie (ou CT pour Computed Tomography)
TEL	Transfert d'Energie Linéique
ТЕМР	Tomographie par Emission Monophotonique (ou SPECT pour Single Photon Emission Computed Tomography)
ТЕР	Tomographie par Emission de Positons (ou PET pour <i>Positron Emission Tomography</i>)
TGF-α	Transforming Growth Factor- $lpha$ (cytokine)
TGF-β1	Transforming Growth Factor- eta 1 (cytokine)
TIS	Classification TIS (pour Taipei Integrated Scoring System)
TNM	Classification TNM (pour Tumor-Node-Metastasis)
TOF	Temps de vol (pour <i>Time Of Flight</i>)
ТР	Temps de Prothrombine
TQ	Temps de Quick
ТТР	Délai de progression : temps avant la progression (de la maladie) (pour <i>Time to progression</i>).
TVP	Thrombose de la veine porte
UV	Rayonnements Ultra-Violets

VEGF	Facteur de croissance vasculaire endothéliale (pour Vascular Endothelial Growth Factor)							
VHB	Virus de l'Hépatite B							
VHC	Virus de l'Hépatite C							
WHO	Organisation Mondiale de la Santé : OMS (pour World Health Organisation)							
WHV	Virus de l'hépatite de la marmotte (pour Woodchuck Hepatitis Virus)							

Table des illustrations

Figure 1 :	Mécanismes et séquence chronologique de la carcinogénèse du CHC	. 23
Figure 2 :	Système de classement BCLC (Barcelona Clinic Liver Cancer)	. 27
Figure 3 :	Caractéristiques des cellules tumorales définies par Hanahan et al	. 33
Figure 4 :	Schéma de la TEP	. 35
Figure 5 :	Schéma de la captation du ¹⁸ F-FDG par les cellules	. 37
Figure 6 :	Schéma concept Théranostique	. 44
Figure 7 :	Schéma des étapes de la SIRT	. 46
Figure 8 :	Schéma de l'anatomie des artères hépatiques chez l'homme s'appliquant à 55-65 9 de la population d'après la description classique	% . 51
Figure 9 :	Schéma de la vascularisation artérielle	. 52
Figure 10 :	Schéma des étapes de la SIRT suivies par les patients atteints de tumeur hépatique primaire ou secondaire dirigés vers ce traitement	58
Figure 11 :	Algorithme BCLC avec proposition de la SIRT dans les références de traitement	. 60
Figure 12 :	Arbre décisionnel pour l'utilisation des ^{99m} Tc-MAA dans la planification de la SIRT selon les cas d'accumulations extra-hépatiques rencontrés	73
Figure 13 :	Schéma critères RECIST 1.1	. 91
Figure 14 :	Schéma des critères mRECIST : critères RECIST modifiés d'après les critères EASL	. 92
Figure 15 :	Développement d'un nouveau vecteur unique pour la SIRT des tumeurs hépatiques les SBMP	: : 103
Figure 16 :	Schéma des étapes de la synthèse des SBMP	107
Figure 17 :	Schéma de l'injection intra-artérielle	111
Figure 18 :	Influence de plusieurs paramètres sur la PRC pendant le radiomarquage des SBMP le ¹⁸⁸ Re	par 113
Figure 19 :	Radiomarquage des SBMP au ⁶⁸ Ga	115
Figure 20 :	Imagerie TEP/TDM de rats induits par DENA, injectés en intra-artériel avec des ⁶⁸ Ga-SBMP et vue macroscopique du foie	117
Figure 21 :	Analyse des Volumes d'intérêt des données du TEP/TDM	118
Figure 22 :	Types de modèles animal de CHC	157
Figure 23 :	Schéma du modèle de tumeur VX2 chez le lapin New Zealand White Rabbit	166

Table des tableaux

Tableau I :	Facteurs pris en comptes par les différents algorithmes et systèmes de classement 26					
Tableau II :	Radiopharmaceutiques utilisés en TEP et leur mécanisme d'action					
Tableau III :	Couples de radionucléides théranostiques					
Tableau IV :	Caractéristiques des microsphères d'yttrium-90					
Tableau V :	Statut de performance ECOG et équivalence Score Karnofsky					
Tableau VI :	Définition du score de Child-Pugh					
Tableau VII :	Indications et contre-indications relatives et absolues communes de la SIRT	75				
Tableau VIII :	Dosimétrie des SIR-Spheres [®] : Méthode de calcul Empirique basée sur la charge tumorale	79				
Tableau IX :	Prise en compte du shunt pulmonaire dans la dosimétrie de planification de dose d SIR-Spheres®	es 83				
Tableau X :	Références d'études cliniques de SIRT	97				
Tableau XI :	Références d'études cliniques comparant la TACE et la SIRT					
Tableau XII :	Stabilité dans le temps et tests de competition de kits de 300 mg de SBMP avec 1 n de SnCl ₂ radiomarqué par du 188 Re	ng 114				
Tableau XIII :	Etude de stabilité in vitro : radiomarquage par le 68 Ga de kit de 100 mg de SBMP contenant 55 µg de SnCl2	116				
Tableau XIV :	Activité et nombre d'atomes radioactifs théoriques par particule SBMP lors du marquage de kits à 300 mg de particules par le rhénium-188 avec une pureté radiochimique de 96,4 % en fonction de l'activité de marquage et comparaison ave les microparticules marquées à l'yttrium-90	?с 120				
Tableau XV :	Comparaison des SBMP et des différentes microparticules en développement pour SIRT	la 152				
Tableau XVI :	Améliorations apportées par l'utilisation des SBMP pour la SIRT	155				
Tableau XVII :	Lignées cellulaires syngéniques de modèle de CHC chez la souris	163				
Tableau XVIII :	Lignées cellulaires de modèles syngéniques de CHC chez le rat	164				
Tableau XIX :	Comparaison des différents modèles de tumeur hépatique existant : avantages et inconvénient	175				

INTRODUCTION GENERALE - Le Carcinome hépatocellulaire

Le Carcinome Hépatocellulaire (CHC) est le principal cancer du foie ; il représente 90 % des maladies hépatiques primaires [1] et touche les hépatocytes et le parenchyme hépatique [2]. La seconde forme de tumeur d'origine hépatique beaucoup plus rare est le cholangiocarcinome qui touche les voies biliaires intrahépatiques. Le foie est un foyer de métastases pour de nombreux cancers primaires tels que le cancer du poumon, du sein, colorectal et du pancréas dont les tumeurs neuroendocrines. Mais presque toutes les tumeurs peuvent métastaser vers le foie, par conséquent, les tumeurs secondaires du foie sont plus nombreuses que les tumeurs primaires [3].

1. Incidence

Le CHC a une incidence mondiale élevée, il est le 5^{ème} cancer le plus commun chez l'homme et le 7^{ème} chez la femme [4]. Le CHC est une tumeur agressive qui est associé à un mauvais pronostic, il présente un taux de mortalité élevé [5], c'est la deuxième cause de décès par cancer chez les hommes et la 6^{ème} chez les femmes [4].

L'incidence géographique du CHC est hétérogène et correspond à différents facteurs étiologiques [5–7].

- Le taux d'incidence le plus élevé se trouve dans les régions ou le virus de l'hépatite B est endémique comme en Asie du Sud-Est et Afrique Subsaharienne (85 % des cas de CHC dans le monde) [8]. Un autre facteur de risque dans ces régions est l'exposition à l'aflatoxine B1 [5,6,9] (une mycotoxine produite par un champignon qui pousse sur les céréales conservées dans de mauvaises conditions qui a des effets carcinogène [9,10]). De plus les patients atteints sont en moyenne plus jeunes que dans les pays développés où l'incidence est plus faible, l'infection par le virus de l'hépatite B étant contractée durant l'enfance ou au moment de la naissance (transmission de la mère à l'enfant) [7].
- Le Japon (avec l'Italie et l'Espagne) constitue une zone d'incidence intermédiaire dont le principal facteur de risque est le virus de l'hépatite C [5]. L'âge moyen de diagnostic du CHC chez des patients avec une infection chronique du virus de l'hépatite C est de 62 ans au Japon [7].
- Dans les pays développés (en Europe, Amérique et Australie) l'incidence est plus faible, mais le nombre de cas est en augmentation [7,11]. Les principaux facteurs de risque sont le virus de l'hépatite C, l'alcoolisme et l'hémochromatose. La stéatose dysmétabolique non alcoolique et les maladies métaboliques associées à l'obésité sont un autre facteur qui est de plus en plus fréquent dans les pays occidentaux [2,7]. La stéatose dysmétabolique non alcoolique est la maladie du foie la plus commune dans les pays occidentaux [7].

2. Facteurs de risques

Depuis 15 ans, l'incidence du CHC a plus que doublé et elle augmente également avec l'âge [11]. Les hommes sont plus touchés que les femmes. Le premier facteur de risque est l'infection par le virus de l'hépatite B (plus de 50 % de tous les cas [7,12]), suivi par celui de l'hépatite C. Les autres facteurs sont l'abus d'alcool, l'ingestion d'aflatoxine, l'hémochromatose, les maladies métaboliques liées à l'obésité telles que la stéatose dysmétabolique non alcoolique. La hausse de l'incidence du CHC est attribuée à l'augmentation de deux facteurs de risques : l'infection par le virus de l'hépatite C et les maladies métaboliques du foie liées à l'obésité : la stéatose hépatique non alcoolique (NAFDL) et la stéato-hépatite non alcoolique (NASH) [7,13,14].

Le virus de l'hépatite B, à la différence du virus de l'hépatite C, peut intégrer son génome dans l'ADN de l'hôte. Le processus par lequel le virus de l'hépatite C induit le CHC est inconnu, mais la plupart des tumeurs induites par le VHC surviennent dans un contexte de cirrhose ou d'hépatite chronique induite par une inflammation chronique [7].

3. Pathogénèse du CHC

L'hépato-carcinogénèse est un processus en plusieurs étapes qui implique différentes altérations génétiques qui conduisent à la transformation maligne des hépatocytes matures ou de leurs cellules souches (cf. Figure 1) [15,16]. Cependant les mécanismes moléculaires et les multiples facteurs impliqués dans la carcinogénèse hépatique restent mal compris, et la génétique des CHC est très hétérogène [5,15].

La plupart des facteurs de risques conduisent à la formation et à la progression de la cirrhose [8]. Le CHC se développe dans 85 % des cas dans le contexte d'une cirrhose chronique [17]. La cirrhose est la première cause de prédisposition au CHC [2]. Trente à 40 % des cirrhoses donne naissance à un CHC [5]. La cirrhose du foie se développe suite à des lésions chroniques du foie qui conduisent à la régénération des cellules du foie et à la formation de nodule et de structures anormales, conduisant à la fibrose [2]. La fibrose correspond à une cicatrisation pathologique du tissu hépatique (régénération des cellules du foie) suite à une inflammation prolongée causée par des lésions chroniques du foie, elle se caractérise par l'accumulation de tissus fibreux qui vont altérer la physiologie et l'architecture du foie c'est le stade précédent la cirrhose [18]. Les cellules responsables de ce mécanisme sont les myofibroblastes. Ils résultent de l'activation et de la transformation de cellules du foie, en particulier les cellules étoilées du foie responsable notamment du stockage de la vitamine A et qui, lorsqu'elles sont activées, assurent la réparation des lésions hépatiques [19]. Sous l'influence de facteurs de l'inflammation ces cellules activées vont produire en excès les composants de la matrice extracellulaire (collagène, glycosaminoglycanes, protéoglycanes et glycoprotéines) qui en temps normal assure l'intégrité fonctionnelle et structurale du foie. Une sur-activation de ces cellules conduit à la fibrose qui conduit à la cirrhose et enfin au CHC. Les cellules sinusoïdales du foie contribuent ainsi à l'initiation et la progression de la carcinogénèse des hépatocytes [20].



Figure 1 : Mécanismes et séquence chronologique de la carcinogénèse du CHC : Modifié d'après [21,22].

4. Prévention

Les symptômes du CHC n'apparaissent qu'à un stade avancé de la maladie, d'où l'importance de la prévention, car les traitements curatifs ne sont applicables qu'à un stade précoce. La prévention du CHC passe par la compréhension des facteurs de risques afin de définir des stratégies adaptées. Le but est d'empêcher la survenue du CHC ou de pouvoir le traiter à un stade précoce où les traitements curatifs existent. Parmi les stratégies préventives on retrouve la vaccination contre le virus de l'hépatite B et C, l'utilisation d'antiviraux et la surveillance de patients à risque atteint de maladie chronique du foie [11,23].

La vaccination contre le VHB a permis une diminution de l'incidence du CHC dans certaines zones. En Chine l'efficacité de la vaccination a permis de réduire la prévalence du VHB (de 16 % à 1,4 %) ainsi que l'incidence du CHC [23]. A Taiwan la mise en place de la vaccination universelle du nouveauné a permis de grandement réduire l'incidence du CHC chez les jeunes de 70 % [23,24].

Les traitements antiviraux contre l'infection chronique du VHB et du VHC réduisent le risque de développement du CHC chez les patients infectés. Une étude a montré que des patients infectés de façon chronique par le VHB et traités par un antiviral sur 5 ans maximum, développaient le CHC dans 3,9 % des cas comparé à 7,9 % des cas pour le groupe traité avec un placébo [24].

La surveillance des patients à risques a pour but de diagnostiquer la survenue du CHC à un stade précoce permettant l'application des traitements curatifs. Les patients à risque sont ceux présentant une maladie chronique du foie : ceux avec une infection chronique par le VHB, une fibrose à un stade avancé due au virus de l'hépatite C et tous les patients présentant une cirrhose [25,26]. Le dépistage du CHC est réalisé par une échographie hépatique et un dosage de la concentration sérique d'alpha-fœtoprotéine (AFP) tous les 6 mois [2,8,24–28]. Le dosage de l'AFP seul n'est pas assez sensible (il est par ailleurs de moins en moins utilisé) et est combiné avec l'échographie qui est efficace pour la détection du CHC à un stade précoce afin d'augmenter les taux de détection et d'éviter les faux positif [6,23,24].

Ainsi les causes du CHC peuvent être réduites grâce à la prévention, et un changement de distribution géographique du CHC au cours du temps est attendu, notamment grâce à une meilleure prévention et prise en charge de l'hépatite B et C en Asie [2]. Cependant il y a malgré tout parfois certains obstacles à la prévention (vaccination moins accessible dans certaines zones, coût de traitements anti-viraux, etc.) et la surveillance n'est pas largement utilisée [28].

5. Diagnostic

Bien souvent le CHC est diagnostiqué tardivement à un stade avancé. Plusieurs facteurs sont en cause : la possible croissance rapide de la tumeur, le fait que le CHC doit atteindre une certaine taille pour qu'il devienne symptomatique, le fait que le foie a une capacité de réserve importante avant l'apparition d'une insuffisance hépatique et la présence d'hépatopathies sous-jacentes qui peuvent masquer les symptômes qui relèvent de la tumeur [29].

Le diagnostic du CHC est réalisé à l'aide d'une combinaison de différentes techniques : l'échographie, le dosage sanguin du taux d'AFP, la tomodensitométrie (TDM), l'imagerie par résonnance magnétique (IRM) et dans certains cas la biopsie. Le CHC est le seul cancer pour lequel un diagnostic définitif peut être obtenu sans biopsie dans le cas des patients cirrhotiques [17,28]. Les résultats des biopsies sont souvent des faux-négatifs (jusqu'à 40 % pour les CHC de taille inférieure à 2 cm) [30].

La première technique de diagnostic et de surveillance du CHC est l'échographie. Une métaanalyse rapporte une sensibilité de 94 % [31] de l'échographie dans la détection des lésions et une spécificité > 90 % [32,33]. Le CHC est une tumeur très vascularisée. La vascularisation de la tumeur est majoritairement artérielle alors que le système veineux irrigue le parenchyme hépatique sain. De cette différence résulte un motif, qui est facilement reconnaissable par imagerie par tomodensitométrie (TDM) et par IRM (Imagerie par Résonance Magnétique). Si un nodule de dimètre supérieur à 1 cm est détecté des analyses complémentaires par TDM et IRM sont alors réalisées. Chez des patients avec suspicion de CHC, avec absence de cirrhose ou pour lesquels les imageries sont atypiques une biopsie est réalisée [6,17]. Ces examens permettent de caractériser les lésions et aident à la classification du stade de la tumeur afin de proposer au patient un traitement adapté. Ceci est réalisé à l'aide d'algorithmes.

6. Algorithmes et systèmes de classement

Une fois le diagnostic posé, des algorithmes décisionnels permettent de catégoriser les patients en fonction de l'évolution et de la sévérité du CHC et de choisir le traitement approprié. Ces algorithmes prennent en compte différents paramètres pronostics : la fonction hépatique, la charge tumorale (taille et nombre de nodules tumoraux et invasion vasculaire), le niveau d'AFP et l'indice de performance (cf. Tableau I) [34].

Le choix du traitement approprié parmi les options disponibles est établi à l'aide d'algorithmes tels que le système de classement BCLC (*Barcelona Clinic Liver Cancer*) [35]. Ce système est l'un des plus communément utilisé [2]. Mais plusieurs systèmes de classement ont été proposés au cours du temps : la classification Okuda (premier système créé pour le CHC), la classification de Child-Turcotte-Pugh (CTP), la classification TNM (*Tumor-Node-Metastasis*), la classification GRETCH (Groupe d'Etude et de Traitement du Carcinome Hepatocellulaire), la classification du CLIP (*Cancer of the Liver Italian Program*), la classification CUPI (*Chinese University Prognostic Index*), la classification JIS (*Japanese Integrated System*) etc. [36,37]. Il existe actuellement 11 systèmes de classement [38,39] (cf. Tableau I). Chaque système a ses avantages et ses inconvénients et il n'y a pas vraiment de système de classification et de pronostic idéal pour le CHC qui soit adapté à tous les cas de CHC [37]. Il n'y a pas vraiment de consensus sur l'utilisation d'un système [14,29,36,40] bien que le système BCLC soit celui recommandé par l'EASL (*European Association for the Study of the Liver*) et l'AASLD (*American Association for the study of liver diseases*).

			_					
Système de	Fonction hépatique	Etat de la performance	Taux d'AFP		Autre			
classement				Nombre	Taille	Invasion vasculaire	Métastases	
Okuda (1984) [41]	Ascites, albumine et bilirubine	Non	Non	Non	Oui	Non	Non	
CLIP (1998) [42]	Score de Child- Pugh	Non	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	
GRETCH (1999) [43]	Bilirubine	Echelle de Kamofsky	Oui	Non	Non	Oui	Non	Phosphatase alcaline
BCLC (1999) [35]	Score de Child- Pugh	Score de Performance ECOG	Non	Oui	Oui	Oui	Oui	
CUPI (2002) [44]	Ascites et bilirubine	Symptômes	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Phosphatase alcaline
TNM [LCSGJ] (2003) [45]	Non	Non	Non	Oui	Oui	Oui	Oui	
JIS (2003) [46]	Score de Child- Pugh	Non	Non	Oui	Oui	Oui	Oui	
Tokyo system (2005) [47]	Albumine et bilirubine	Non	Non	Oui	Oui	Non	Non	
AJCC-TNM7 (2010) [48]	Non	Non	Non	Oui	Oui	Oui	Oui	
TIS (2010) [49]	Score de Child- Pugh	Non	Oui	Volume tumoral total		Non	Non	
HKLC (2014) [50]	Score de Child- Pugh	Score de Performance	Non	Oui	Oui	Oui	Oui	

Tableau I : Facteurs pris en comptes par les différents algorithmes et systèmes de classement

Modifié d'après [34,36–39]. CLIP : Cancer of the Liver Italian Program; GRETCH : Groupe d'étude et de Traitement du Carcinome Hepatocellulaire ; BCLC : Barcelona Clinic Liver Cancer ; CUPI : Chinese University Pronostic Index; TNM : Tumor-Node-Metastasis par le LCSGJ : Liver Cancer Study Group of Japan ; JIS : Japanese Integrated Score; AJCC-TNM7 (American Joint Committee on Cancer tumour node metastasis version 7); TIS : Taipei Integrated Scoring System; HKLC : Hong Kong Liver Cancer.

Le système BCLC classe les patients atteints de CHC en 5 catégories : stade très précoce, précoce, intermédiaire, avancé et terminal. Ce système a l'avantage de relier classification du CHC, pronostique et indication du traitement de première ligne [30,36,37,51]. A chaque catégorie sont associés un pronostic et des options de traitements (cf. Figure 2).





7. Traitements

Etant donné l'hétérogénéité du CHC en terme de génétique et de son comportement biologique et clinique [55], le choix du traitement est décidé par une équipe multidisciplinaire d'hépatologistes, de radiologistes, de chirurgiens, de pathologistes et d'oncologistes [6].

Pour les patients à un stade précoce, la résection et la transplantation sont les traitements curatifs optimaux, mais ces techniques ne peuvent être appliquées que dans moins de 40 % des cas [17]. Seulement 5 % des patients aux USA et en Europe sont éligibles pour la résection chirurgicale à cause de maladies du foie sous-jacentes [6,8,36]. Des techniques alternatives d'ablation comme la radiofréquence percutanée (RFA) ou l'alcoolisation percutanée (PEI) peuvent être appliqués chez les patients inéligibles pour les traitements chirurgicaux [17]. Cependant malgré les traitements disponibles, le risque de récurrences du CHC reste présent.

Parmi les traitements palliatifs, la chimioembolisation transartérielle (TACE) est considérée comme le traitement le plus adapté pour les stades intermédiaires [29,52]. Cependant certains patients présentent des contre-indications pour cette technique (thrombose de la veine porte par exemple) [56]. La radioembolisation ou radiothérapie sélective interne (SIRT) est une alternative prometteuse pour ces patients [52,57]. Ces traitements palliatifs peuvent également être appliqués afin de rendre des patients éligibles pour une transplantation hépatique (traitement de *downstaging*).

7.1. Traitements curatifs

7.1.1. La résection hépatique

C'est le traitement de choix pour les patients non cirrhotiques avec une lésion unique (qui sont à un stade très précoce du CHC). Pour les patients dont la cirrhose est compensée, les meilleurs résultats sont obtenus si la tumeur est petite [8]. Les patients non cirrhotiques supportent des résections majeures, alors que les patients cirrhotiques ont plus de risque de décompensation ou d'insuffisance hépatique. Cependant la récurrence tumorale est élevée (taux de récidive à 5 ans est de 70 %) car la cirrhose est toujours présente avec le risque de développer un nouveau CHC [8,17].

7.1.2. La transplantation hépatique

La transplantation hépatique présente un risque moins élevé de récidive que la résection hépatique car la tumeur ainsi que la cirrhose sont traités. Cependant des critères stricts de sélection (critères de Milan) sont appliqués pour sélectionner les patients qui présentent les meilleures conditions de réussite du traitement, notamment en raison de la pénurie d'organe. Dans certains cas un traitement palliatif au préalable peut permettre au patient de satisfaire les critères de sélection (*downstaging*).

7.1.3. Les traitements locorégionaux d'ablation (RFA et PEI)

Ces traitements sont indiqués chez les patients qui ne peuvent pas recevoir les traitements chirurgicaux (résection hépatique, transplantation hépatique). Les techniques d'ablations percutanées consistent en l'application d'agents chimiques ou physiques au sein de la tumeur sous contrôle d'une méthode d'imagerie (échographie ou tomodensitométrie), dans le but d'induire une nécrose tumorale. [58,59].

L'ablation par radiofréquence (RFA) est une ablation tumorale thermique. Le but de la RFA est d'obtenir une hyperthermie de la tumeur conduisant à la nécrose des tissus grâce à l'introduction d'une ou de plusieurs électrodes sous forme d'aiguilles au sein de la tumeur. La technique repose sur la transformation de l'énergie électromagnétique en énergie thermique [60]. Les tissus tumoraux sont détruits par une température comprise entre 70°C et 90°C. Un courant électrique alternatif de hautefréquence permet d'obtenir le phénomène de radiofréquence. Le courant engendre une agitation ionique dans les tissus et donc une augmentation de la température ce qui provoque la nécrose des cellules par coagulation. Les cellules tumorales sont plus sensibles à la chaleur que les cellules saines [59].

L'ablation par injection percutanée d'éthanol repose également sur l'utilisation d'aiguilles par lesquelles l'éthanol est injecté. C'est une ablation tumorale chimique. L'injection d'éthanol engendre une déshydratation du cytoplasme des cellules et conduit également à une nécrose par coagulation des cellules tumorales. Elle engendre également une thrombose de petits vaisseaux et donc une ischémie du tissu tumoral par son action sur les cellules endothéliales (nécrose) et des plaquettes (aggrégation) [60].

L'ablation par radiofréquence (RFA) est actuellement plus utilisée que l'injection percutanée d'éthanol (PEI) car elle est associée à de meilleurs résultats en termes de récidive et de survie et elle nécessite moins de séances de traitement comparé à la PEI [14,17,29]. La survie globale de 1 à 3 ans, ainsi que la survie de 1 à 3 ans sans récurrence est supérieure pour la RFA par rapport à la PEI [61,62]. Des études ont montré une survie globale à 1 an de 81-97 % pour la PEI et de 85-100 % pour la RFA, à 3 ans de 42-82 % (PEI) versus 46-89 % (RFA), et une survie globale à 5 ans de 14-63 % pour la PEI contre 31-64 % pour la RFA [60]. La PEI présente un taux de récurrence locale qui peut atteindre 33 % pour des lésions inférieures à 3 cm et jusqu'à 43 % pour des lésions supérieures. Ces résultats peuvent s'expliquer par le fait que l'éthanol peut présenter une distribution inégale au sein de la tumeur, et qu'il ne peut atteindre les éventuels nodules satellites à la périphérie de la caspule tumorale. La technique de PEI ne permet donc pas de créer une marge d'ablation de sécurité [29,63]. La RFA peut traiter des lésions de diamètre plus important que la PEI et souvent en une seule session, ce qui n'est pas le cas de la PEI [64]. L'utilisation des techniques de PEI ou de cryoablations est réservée à des lésions dont la localisation est associée à des risques de complication en cas de traitement par RFA [17,65]. Cependant l'incidence de récurrences reste élevée même avec la RFA et est similaire à celle obtenue suite à une résection chirurgicale (50 % à 3 ans et > 70 % à 5 ans) [29].

7.2. Traitements palliatifs

Ils ont pour but de retarder la progression tumorale et d'augmenter la survie du patient.

7.2.1. Les techniques d'injection transartérielles

Ces techniques reposent sur une particularité du CHC. Comme l'approvisionnement sanguin de la tumeur se fait principalement par l'artère hépatique et non par la veine porte qui irrigue plutôt le parenchyme hépatique sain, le ciblage de la tumeur se fait par une injection sélective du traitement dans le système artériel hépatique. Elles sont indiquées pour le traitement des patients de stade intermédiaire du CHC (patients avec une importante charge tumorale ou des lésions multifocales qui ne peuvent être éligibles pour les traitements curatifs). Elles reposent sur l'utilisation de particules embolisantes associées à des chimiothérapies cytotoxiques (cisplatine ou doxorubicine [14]) ou de microparticules radioactives [6].

7.2.1.1. L'embolisation transartérielle et la chimioembolisation transartérielle (TACE)

Le but de l'embolisation transartérielle est de supprimer l'apport sanguin de la tumeur, d'engendrer une ischémie par occlusion des vaisseaux artériels qui irriguent la tumeur conduisant à la mort par nécrose des cellules tumorales. Les particules utilisées ont une action embolisante de par leur taille de l'ordre de 100 µm à 500 µm [66].

A la différence de l'embolisation transartérielle, la TACE combine l'occlusion des vaisseaux artériels et l'action d'un agent thérapeutique. La TACE conventionnelle consiste à l'infusion intraartérielle d'agents cytotoxiques en solution dans le lipiodol (huile qui sert de vecteur aux drogues par tropisme pour les cellules tumorales), suivi par une occlusion artérielle par l'injection de particules synthétiques [14,52]. Une autre méthode consiste à utiliser des particules embolisantes qui ont la capacité d'encapsuler les drogues chimiothérapeutiques puis de les libérer lentement sur le site de la tumeur une fois injectées. Cette technique comparée à la TACE conventionnelle utilisant le lipiodol, réduit la diffusion systémique de la chimiothérapie cytotoxique et permet d'augmenter la concentration in situ des drogues [52].

Une étude comparative entre l'utilisation de particules sans agent chimiothérapeutique et la TACE n'a pas montré de bénéfice de survie à l'utilisation de la TACE. Cependant l'utilisation de la TACE est recommandée par les guides internationaux [17]. La TACE est le traitement standard des patients de stade intermédiaire [52].

7.2.1.2. La radiothérapie sélective interne ou radioembolisation (SIRT)

Le CHC est une tumeur radiosensible. Cependant, le foie est également un organe radiosensible. L'utilisation de la radiothérapie doit donc être ciblée afin de préserver le parenchyme hépatique sain. C'est pour cela que l'utilisation de la radiothérapie externe conventionnelle est limitée.

La radiothérapie sélective interne est une modalité thérapeutique relativement nouvelle. C'est une forme de brachythérapie. Cette technique est basée comme toutes les techniques transartérielles sur la différence de vascularisation de la tumeur et du parenchyme hépatique sain. En effet le CHC est irrigué majoritairement par le système artériel tandis que le parenchyme sain est vascularisé par le système veineux. Elle consiste à l'injection intra-artérielle de particules en verre ou en résine de taille comprise entre 20-40 µm marquées par un radionucléide : l'yttrium-90, un émetteur de rayonnement bêta afin d'irradier sélectivement les cellules tumorales. La demi-vie de l'yttrium est de 2,67 jours, les rayonnements traversent les tissus sur une moyenne de 2,5 mm avec un parcours maximal de 11 mm [52]. Selon l'emplacement de la tumeur au sein du foie, la sélection du volume tumoral à irradier se fait en fonction du positionnement du cathéter délivrant les particules dans le système artériel hépatique. On peut ainsi sélectionner tout le foie, un ou plusieurs lobes du foie ou encore un segment seulement. Le mécanisme de la SIRT diffère de la TACE, il repose sur l'action des rayonnements ionisants plutôt que sur une embolisation des vaisseaux, la taille des particules étant beaucoup plus petite que celles des particules d'embolisation (20-40 μm contre 100 à 500 μm) [17,66].

Elle est en général bien tolérée et son utilisation n'est pas contre-indiquée chez les patients avec une thrombose de la veine porte ce qui est le cas pour la TACE. Des données montrent que la SIRT donne des taux de survie similaires voire meilleurs comparé à la TACE [57]. Actuellement la SIRT est indiquée en première ligne de traitement chez les patients de stade intermédiaire (ou entre le stade intermédiaire ou avancé) qui ont peu de chance de répondre à la TACE (tumeur volumineuse) ou qui présentent des contre-indications au traitement. Les patients légèrement au-dessus des critères de transplantation, de résection ou d'ablation peuvent également être dirigés vers la SIRT comme traitement de réduction de la tumeur afin de répondre aux critères de sélection des traitements chirugicaux curatifs (*downstaging*) [57,66].

Le travail de cette thèse portant sur ce sujet, cette technique fait l'objet d'un chapitre dédié.

7.2.2. Biothérapie ciblée (ou thérapie ciblée) : le Sorafénib

Le CHC est résistant à la chimiothérapie systémique conventionnelle. Depuis 2007, Le sorafénib est le seul agent systémique ayant montré un bénéfice dans la survie des patients avec un CHC [65]. Le sorafénib est une thérapie ciblée, un inhibiteur des tyrosines kinases qui sont des enzymes impliqués dans les mécanismes moléculaires du CHC (voies de signalisation cellulaires). Sur la base des résultats de l'étude SHARP, qui a montré un gain de survie de 2 mois dans le bras de traité par sorafénib versus placebo [17], le traitement par sorafénib est indiqué chez les patients de stade avancé.

CHAPITRE 1 - La radioembolisation ou Radiothérapie Sélective Interne (SIRT)

1. Introduction

1.1. Définition du cancer

Le cancer résulte de la prolifération anarchique et incontrôlée de cellules anormales au sein d'un tissu sain. Les cellules cancéreuses peuvent se disséminer secondairement à distance du site d'envahissement primitif pour donner des métastases [67]. Le terme cancer désigne un ensemble de maladies pouvant se déclarer dans n'importe quel site du corps humain. C'est la cause majeure de mortalité dans le monde avec 7,6 millions de morts et 12,7 millions de nouveaux cas par an dans le monde [10,68]. Il existe plus de 200 types de cancers [69] dont : les carcinomes qui sont des cancers de la peau ou des organes, les sarcomes qui sont des cancers des os, les leucémies qui touchent les tissus produisant les cellules sanguines tels que la moelle osseuse et conduisent à une surproduction de cellules anormales dans le sang, les lymphomes et les myélomes multiples qui sont des cancers touchant les cellules du système immunitaire et les cancers du système nerveux central qui prennent leur origine dans les tissus du cerveau ou de la moelle épinière [67].

Le cancer est une maladie systémique complexe multigénique et multicellulaire qui résulte de l'altération des gènes suppresseurs de tumeur et des oncogènes qui en temps normal régulent la maturation, la division et la migration cellulaire. La cause du cancer est également complexe, plusieurs facteurs génétiques et environnementaux conduisent à un cancer : par exemple les prédispositions génétiques (mutation d'un gène conduisant au cancer), les mutations induites par des facteurs environnementaux comme le tabac pour le cancer des poumons, les UV pour le cancer de la peau ou l'inflammation chronique pour le cancer du colon ou du foie. Mais les mutations de l'ADN précèdent l'apparition de la tumeur [70–72] et conduisent à des altérations caractérisant les cellules tumorales (cf. Figure 3). Selon Hanahan *et al.* [70,73] ces altérations recouvrent :

- l'auto-suffisance en signaux de prolifération,
- l'échappement aux suppresseurs de croissance.
- a résistance à la mort cellulaire (apoptose),
- la capacité de réplication à l'infini (immortalité),
- la promotion de l'angiogénèse,
- l'induction de l'invasion et des métastases,
- la reprogrammation du métabolisme énergétique (caractéristique émergente) : l'effet
 Warburg,
- l'échappement aux mécanismes immunitaires de destruction (caractéristique émergente),

- l'instabilité du génome et l'apparition de mutations (caractéristiques propices à l'apparition des critères précédents, qui aident les tumeurs à se développer),
- la promotion par la tumeur de l'inflammation (caractéristique propice à l'apparition des critères précédents, qui aident les tumeurs à se développer).



Figure 3 : Caractéristiques des cellules tumorales définies par Hanahan et al. *:* modifié d'après Hanahan *et al.* [70,73].

En médecine nucléaire, ces caractéristiques peuvent être imagées et conduire au diagnostic des tumeurs (e.g. : l'utilisation du fluorodésoxyglucose (¹⁸F-FDG) en imagerie TEP pour l'analyse du métabolisme (cf. paragraphe 1.3.1), ou l'utilisation de traceurs de l'angiogénèse comme les peptides RGD radiomarqués [74–76]. Mais elles doivent être contrées afin de pouvoir traiter la tumeur (engendrer la mort cellulaire tumorale) ce qui est réalisé en médecine nucléaire par l'utilisation des rayonnements ionisants.

1.2. La médecine nucléaire

La médecine nucléaire est une technique d'imagerie fonctionnelle, basée sur l'administration à des patients de médicaments radiopharmaceutiques utilisés à des fins médicales. Ces médicaments radiopharmaceutiques sont constitués de l'association d'un marqueur (noyaux radioactifs) et d'un vecteur ou traceur qui permet de cibler une fonction ou un tissu dans l'organisme. Les noyaux radioactifs ou radionucléides, sont par nature instables, ils ont la caractéristique de pouvoir modifier

la structure propre de leur noyau atomique pour gagner en stabilité. Au cours de cette réaction de transformation nucléaire les noyaux radioactifs vont émettre de l'énergie sous forme de rayonnements électromagnétiques (γ) ou particulaires (α , β). Ces rayonnements ionisants seront, en fonction de leur nature utilisés pour des applications diagnostiques ou thérapeutiques [77].

Un rayonnement ionisant est un rayonnement qui a une énergie suffisante pour enlever un électron à un atome ou une molécule de la matière traversée, produisant ainsi des espèces ioniques potentiellement toxiques [78]. Le diagnostic et donc l'imagerie passent par l'utilisation de radionucléides émetteurs de rayonnements β^+ ou γ et d'appareils qui peuvent détecter ces types de rayonnements. La thérapie passe par l'utilisation de radionucléides émetteurs de rayonnements α ou β^- qui peuvent être couplés à des vecteurs afin de mieux cibler la tumeur dans le cas de la radiothérapie interne vectorisée. Par ailleurs, la radiothérapie externe qui utilise des accélérateurs de particules produisant des faisceaux de photons ou d'électrons de haute énergie (rayons électromagnétiques X ou γ) est externe à la médecine nucléaire [79].

1.3. Rayonnements ionisants utilisés en imagerie

Parmi les techniques d'imagerie nucléaire les principales sont la tomographie par émission monophotonique (TEMP ou SPECT pour *Single Photon Emission Computed Tomography*) détectant les rayonnements gamma et la tomographie par émission de positons (TEP ou PET pour *Positron Emission Tomography*) détectant les photons γ émis en coïncidence suite à la réaction d'annihilation d'une particule β^+ et de son antiparticule (élection) dans la matière. Afin de compenser le manque de références anatomiques de ces techniques, elles peuvent être couplées à des techniques d'imageries morphologiques et anatomiques telles que la tomodensitométrie (TDM ou CT pour *Computed Tomography*) ou l'Imagerie par Résonnance Magnétique (IRM), c'est ce qu'on appelle l'imagerie multimodale [80].

1.3.1. Rayonnement β^+ et Tomographie par Emission de Positons

Les noyaux émetteurs β^+ sont des radionucléides instables par un excès de protons. Ces types de radionucléides ont deux méthodes pour revenir à un état stable en diminuant la charge positive, soit par l'émission d'un positon (particule β^+), soit par capture électronique (cf. paragraphe 1.3.2). La transformation par émission de positons concerne généralement des éléments de faible numéro atomique, alors que la capture électronique (CE) est observée plutôt pour des radionucléides de numéros atomiques plus élevés [77]. L'émission de positon est accompagnée par l'émission d'un neutrino v et dans le noyau un proton est transformé en neutron [81].

Equation : ${}^{A}_{Z}X \rightarrow {}^{A}_{Z-1}Y + e^{+}$

Exemples: ${}^{68}_{31}Ga \rightarrow {}^{68}_{30}Zn + e^+$ ou ${}^{18}_9F \rightarrow {}^{18}_8O + e^+$

La particule β^+ fait un court trajet dans la matière avant de rencontrer un électron, les deux particules s'annihilent ce qui engendre l'émission de deux rayonnements γ d'énergie 511keV dans des directions opposées à 180° [81–83]. Ce sont ces deux rayons γ émis en coïncidance que l'anneau de détecteurs de la caméra TEP enregistre, permettant de localiser le point d'émission initial (cf. Figure 4) [80,84].



Figure 4 : Schéma de la TEP : adapté d'après [80,85]

L'imagerie TEP utilise des vecteurs marqués par des radionucléides émetteurs de rayonnement β + pour détecter des changements biochimiques au niveau cellulaire ou moléculaire [80] chez le patient (cf. Tableau II). Elle permet la visualisation en 3D (tomographie) de ces traceurs in vivo.
Processus	Radiotraceur	Mécanisme de localisation ou de captation	
biochimique suivi			
Flux/Perfusion sanguin(e)	¹⁵ O-eau	Diffuse librement à travers les membranes	
Métabolisme du glucose	¹⁸ F-FDG	Diffuse dans les cellules via les transporteurs de glucose. Substrat des hexokinases dans le métabolisme du glucose	
Métabolisme osseux	¹⁸ F-Fluorure	S'incorpore dans les cristaux d'hydroxyapatite des os.	
Synthèse membranaire	¹¹ C-Choline, ¹⁸ F- Fuorocholine (FCH)	Substrats des cholines kinases du métabolisme de la choline	
Synthèse lipidique	¹⁸ F-Fluoroacétate	Activé en acétyl-CoA par les acétyl-CoA synthétases à la fois dans le cytosol et les mitochondries	
Synthèse d'ADN	¹¹ C-Thymidine, ¹⁸ F-Fluorothymidine (FLT)	Substrats des thymidines kinases (TK-1) dans la synthèse d'ADN. Reflètent la prolifération des cellules tumorales	
Нурохіе	¹⁸ F-MISO	Réduction et liaison intracellulaire	
Liaison à des récepteurs	¹⁸ F-FES	Liaison spécifique aux récepteurs aux œstrogènes (cancer du sein)	
spécifiques	⁶⁸ Ga-DOTATOC	Liaison spécifique aux récepteurs de la somatostatine (SSTR-II)	
	⁶⁸ Ga-DOTANOC	Liaison spécifique aux récepteurs de la somatostatine (SSTR-II, III, V)	
	⁶⁸ Ga-PSMA	Liaison spécifique du peptide à l'antigène PSMA	
Transport d'acide aminé et synthèse	¹⁸ F-FDOPA	Précurseur pour la synthèse de dopamine	
protéique	¹¹ C-L-méthionine, ¹⁸ F- FMT	Transport dans les cellules qui implique des protéines porteuses d'acides aminés.	
	¹⁸ F-FCCA	Piégeage intracellulaire qui implique la synthèse protéique ou la transméthylation.	
Liaison à des antigènes tumoraux	Anticorps radiomarqués (¹²⁴ I-, ⁶⁴ Cu-, ⁸⁶ Y-)	Liaison spécifique à des antigènes associés à la tumeur (tels que CEA pour le cancer colorectal, PSMA pour le cancer de la prostate, CD20 et CD22 pour le lymphome)	
Apoptose	¹²⁴ I-Annexine, ⁶⁴ Cu-Annexine V	Liaison spécifique aux Phosphatidylsérines (PS) de la membrane cellulaire	
Angiogénèse	Peptide RGD, ¹⁸ F-FB-E[c(RGDyK)]2	Liaison spécifique au récepteur de l'intégrine α _ν β ₃ sur les cellules endothéliales des néovaisseaux	
Expression génique	¹⁸ F-Oligonucléotide,	Hybridation in vivo avec l'ARNm	
	¹⁸ F-FHBG	Substrat de la thymidine kinase de l'herpès virus.	

Tableau II : Radiopharmaceutiques utilisés en TEP et leur mécanisme d'action

Source : [71,77]

Parmi ces traceurs le fluorodésoxyglucose (¹⁸F-FDG [86]) ($t_{1/2}$ [¹⁸F] = 109 min [82]) synthétisé pour la première fois par Ido *et al.* [87] en 1978, est le plus utilisé [88,89]. C'est un analogue du glucose qui permet de visualiser l'activité métabolique des tissus et de détecter notamment les tumeurs qui ont un métabolisme exacerbé par rapport aux cellules normales. Ce n'est pas un traceur spécifique [71] car d'autres cellules, immunitaires notamment, présentent également cette particularité [90].

L'augmentation de consommation de glucose est caractéristique de la plupart des cancers et est en partie due à une surexpression des transporteurs de glucose et d'une augmentation de l'activité des hexokinases [91]. Cette consommation augmentée de glucose par les cellules tumorales est liée à une adaptation du métabolisme que l'on appelle l'effet Warburg décrit en 1956 par le scientifique qui lui a donné son nom [92]. Cette caractéristique est définie par le fait que les cellules cancéreuses utilisent une voie métabolique du glucose (normalement utilisée par les cellules normales uniquement en absence d'oxygène : la transformation du glucose en lactate au lieu du pyruvate) quelles que soient les conditions d'oxygénation. Cependant cette voie n'est pas la plus efficace et pour pallier à cela, la cellule tumorale surexprime donc les transporteurs du glucose et les hexokinases pour augmenter le bilan énergétique [73,90,93]. L'imagerie TEP au ¹⁸F-FDG utilise cette caractéristique pour détecter les tumeurs.

Le ¹⁸F-FDG est absorbé par les cellules par des transporteurs transmembranaires du glucose (GLUT) et est ensuite phosphorylé par les hexokinases (HK). Cependant suite à sa phosphorylation, à la différence du glucose, il ne poursuit pas les autres étapes de la glycolyse et s'accumule donc dans le cytoplasme des cellules métabolisant le plus de glucose (notamment les cellules tumorales), amplifiant ainsi le signal (cf. Figure 5) [80,91,94,95].

Cependant, dans le cas du CHC, l'imagerie TEP au ¹⁸F-FDG n'est pas une méthode sensible pour le diagnostic initial du CHC dû au fait que les CHC de stade précoce très différenciés ont une captation variable du FDG. Environ 30 % des CHC n'assimilent pas le ¹⁸F-FDG [96]. La captation du ¹⁸F-FDG est observable pour des stades avancés et les facteurs comme la taille de la tumeur, la différenciation cellulaire et le niveau d'alpha-fœtoprotéine sont prédictifs de la visualisation du CHC en TEP au ¹⁸F-FDG [97,98]. Par conséquent, le ¹⁸F-FDG peut être utilisé dans certains cas comme facteur pronostic [99,100]. La raison de cette différence de captation est la surexpression dans certaines tumeurs de l'enzyme glucose-6-phosphatase (G6P) qui empêche l'accumulation du ¹⁸F-FDG dans les cellules par l'action inverse de l'hexokinase : la déphosphorylation du ¹⁸F-FDG-6-phosphate en ¹⁸F-FDG (cf. Figure 5) [94,96].



Figure 5 : Schéma de la captation du ¹⁸F-FDG par les cellules : modifié d'après [94,96].

Le ⁶⁸Ga est également un des premiers émetteurs β^+ à avoir été utilisé en médecine nucléaire [101]. Il est notamment couplé à des peptides analogues de la somatostatine pour la détection des tumeurs neuroendocrines [101–104]. Dans ces tumeurs les récepteurs de la somatostatine sont surexprimés [105–107].

L'imagerie TEP est utilisée en oncologie pour le diagnostic, la définition du stade tumoral, la planification du traitement ou pour le suivi de la réponse au traitement [80,91,95].

1.3.2. Capture électronique

La capture électronique est un autre moyen pour les radionucléides déficients en neutrons (comme les émetteurs de rayonnements β^+) de revenir à un état stable. Afin de réduire l'excès de charge positive, un électron du cortège électronique (couche électronique k) de l'atome est capturé. Il en résulte la transformation d'un proton en neutron dans le noyau. La capture de l'électron du cortège électronique engendre une émission de rayons-X ou d'électrons Auger caractéristiques mais peuvent être également accompagnés d'émissions γ qui peuvent être utilisés pour l'imagerie TEMP (cf. paragraphe suivant 1.3.3). L'élément fils possède un numéro atomique plus faible que l'élément père (Z-1). Le gallium-67 (⁶⁷Ga), l'indium-111 (¹¹¹In) et l'iode-123 (¹²³I) sont des exemples de radionucléides se transformant par capture électronique suivie par une désexcitation du noyau transformé par émission de rayonnements γ [77,108].

Equation : ${}^{A}_{Z}X + e^{-} \rightarrow {}^{A}_{Z-1}Y$ Exemple : ${}^{111}_{49}In + e^{-} \rightarrow {}^{111}_{48}Cd$ ou ${}^{67}_{31}Ga + e^{-} \rightarrow {}^{67}_{30}Zn$

1.3.3. Les rayons γ et les rayons X

Les rayons X et les rayonnements γ sont tous les deux des rayonnements électromagnétiques de haute énergie qui sont indifférenciables à l'exception de leur origine :

- Les rayons γ sont émis par des noyaux atomiques possédant un excès d'énergie lorsque qu'ils reviennent à un état stable (désexcitation nucléaire).
- Les rayons X proviennent du réarrangement d'électrons du cortège électronique de l'atome ou d'électrons accélérés (dans le cas des rayonnements de type bremsstrahlung) et ont donc une origine périphérique [77,78,109].

Les rayonnements γ , de même que les rayons-X, sont des rayonnements de faible énergie de transfert linéique (TEL) et sont donc peu ionisantes [68]. Le TEL correspond à la quantité d'énergie perdue ou transférée par unité de distance parcourue (keV.µm⁻¹) [85,110,111].

De par leurs caractéristiques ils sont principalement utilisés pour l'imagerie, mais peuvent être dans certains cas utilisés pour la thérapie (rayonnements de haute énergie, en radiothérapie externe) [68].

1.3.3.1. Rayonnements gamma et Tomographie par Emission Monophotonique

De nombreux radionucléides émettent des rayonnements gamma au cours de leur réaction de transformation [112]. Les rayonnements γ représentent un excès d'énergie, ces rayonnements électromagnétiques (photons) sont émis par des radionucléides instables dont le noyau est excité pour revenir à un état stable. La désexcitation nucléaire peut se traduire par l'émission uniquement de rayonnements γ comme c'est le cas du technétium-99m (^{99m}Tc) (transition isomérique) ou être accompagnée d'autres types de rayonnements comme dans le cas du rhénium-188 (¹⁸⁸Re) dont l'émission de particules β ⁻ est accompagnée de rayonnements γ . L'énergie du photon gamma correspond à la différence d'énergie entre l'état initial d'excitation et l'état final : stable ou de transition [77]. Pour la transition isomérique du ^{99m}Tc, le retour à l'état stable se fait par l'émission de rayonnements γ [77,83]. L'élément père et l'élément fils se distinguent seulement par la différence d'énergie et sont appelés isomères, il n'y a pas de modification du numéro atomique ou du nombre de masse. Le technetium-99m est dit métastable (ou état isomérique), c'est-à-dire qu'il est dans un état excité mais cet état instable dure dans le temps alors qu'habituellement la demi-vie d'un état excité est extrêmement courte [81,83].

Equation : (Transition isomérique) ${}^{A}_{Z}X^* \rightarrow {}^{A}_{Z}Y + \gamma$

Exemple : ${}^{99m}_{43}Tc^* \rightarrow {}^{99}_{43}Tc + \gamma$

Comme les rayonnements γ ne sont pas chargés, ils ionisent faiblement le milieu environnant et de manière indirecte [77,111]. Les photons interagissent avec la matière de 3 manières : l'effet photoélectrique, l'effet Compton et la production de paires [81] ou peuvent traverser la matière sans interaction (et permettent l'imagerie) [81].

La tomographie par émission monophotonique (TEMP) utilise des vecteurs marqués par des émetteurs de rayonnements γ qui ont un mode de décroissance soit par capture électronique comme l'iode-123 (¹²³I) ou l'indium-111 (¹¹¹In ; t_{1/2} = 2,8 jours [82]), soit par transition isomérique tels que le ^{99m}Tc (t_{1/2} = 6 h). La gamme commune d'énergie des rayonnements γ varie approximativement de 75 à 360 keV [85,108]. La TEMP permet la détection des photons γ grâce à une ou plusieurs têtes contenant les détecteurs qui vont tourner autour du patient pendant l'acquisition permettant ainsi d'obtenir plusieurs images en deux dimensions qui sont combinées pour obtenir une reconstruction

tomographique en 3D. Comparée à la TEP la TEMP est beaucoup moins sensible. Cette technique peut également être couplée à la tomodensitométrie [80,85].

1.3.3.2. Rayons X et Tomodensitométrie

Les rayons X sont des rayonnements électromagnétiques utilisés pour l'imagerie en tomodensitométrie (TDM ou CT pour *Computed Tomography*). Cette technique allie l'imagerie par rayon-X (radiologie) à la tomodensitométrie (imagerie par coupes) permettant une imagerie anatomique en 3D du sujet imagé. Le scanner CT est constitué d'une source de rayons X et d'un ensemble de détecteurs, les deux étant opposés. La source produisant le faisceau de rayons X et les détecteurs tournent ensemble autour du patient permettant l'imagerie anatomique 3D. Les rayons-X traversent le patient et vont être plus ou moins atténués en fonction des tissus rencontrés. Les tissus qui absorbent les rayons-X comme les os vont apparaitre en blanc, tandis que les tissus laissant passer les rayons-X vont apparaitre en noir (e.g. : tissus mous ou l'air) [80]. Chaque tissu ayant son propre degré d'atténuation des rayons-X, on obtient une image contrastée des détails anatomiques et morphologiques du patient en fonction de la densité des tissus traversés, on parle d'imagerie d'atténuation. Dans certains cas, afin d'améliorer la qualité de l'image un agent de contraste peut être injecté.

La tomographie par émission de positon (TEP) est souvent couplée à la tomodensitométrie (TEP/TDM). Cette imagerie multimodale permet de combiner l'information anatomique hauterésolution de la TDM à l'information métabolique et physiologique de la TEP [77,95,109]. L'évaluation et le diagnostic de la maladie est donc plus précis et plus complet avec les techniques d'imagerie multimodale.

1.4. Principaux rayonnements ionisants utilisés en radiothérapie

La radiothérapie repose sur l'action des rayonnements ionisants afin d'induire une destruction des cellules tumorales. L'énergie déposée au passage des radiations endommage, soit directement, soit indirectement par la génération de radicaux libres, les biomolécules de la cellule et notamment l'ADN [113]. Si ces dommages ne sont pas réparés, par exemple une cassure double-brin de l'ADN, ils conduisent à la mort cellulaire (par apoptose, catastrophe mitotique ou senescence [114]).

Les rayonnements ionisants produisent des dommages complexes à l'ADN et particulièrement les cassures double-brin qui sont les plus difficiles à réparer par rapport à une cassure simple-brin par exemple. Selon l'énergie de transfert linéique (TEL) des radionucléides les dommages à l'ADN seront plus ou moins complexes. Les rayonnements de faible TEL comme les rayons-X, γ ou β induisent une

plus faible concentration d'évènement d'ionisation et provoquent donc des dommages moins complexes que les rayonnements α par exemple qui possèdent un TEL élevé et qui vont engendrer plus de cassure double-brin [115]. Les dommages à l'ADN engendrés par les rayonnements ionisants peuvent être une altération de base ou des cassures de brins de l'ADN. Les radicaux libres générés par la radiolyse de l'eau engendrent principalement des cassures de type simple-brin. Les rayonnements ionisants ionisants induisent des dommages à l'ADN par cluster (plusieurs sites de l'ADN sont endommagés sur un ou deux tour d'hélice de l'ADN) par le passage d'une radiation [116].

Une fois qu'un dommage à l'ADN se produit dans la cellule, soit la cellule peut le réparer et survit, soit la réparation est réalisée mais avec des erreurs ce qui engendre des mutations, soit les dommages sont trop important et la cellule n'arrive pas à réparer, dans ces cas-là la cellule meurt.

Les rayonnements ionisants sont à double tranchant, ils peuvent traiter les tumeurs (qui sont plus sensibles aux rayonnements ionisants que les tissus sains) mais ils peuvent engendrer des mutations et une instabilité génétique dans les tissus sains [115]. Il est donc important de réaliser le traitement de radiothérapie de façon sélective en ciblant le plus précisément la zone tumorale et en préservant au maximum le parenchyme sain. La radiothérapie sélective interne (SIRT pour *Selective Internal Radiation Therapy*) ou radioembolisation est une méthode de traitement palliatif des tumeurs hépatiques qui permet justement d'administrer la radiothérapie de façon ciblée en épargnant le parenchyme hépatique sain.

1.4.1. Rayonnements α

Les rayonnements α sont de type particulaire et ont une énergie de transfert linéique (TEL) très élevée (100 keV.µm⁻¹[82]), c'est-à-dire qu'ils cèdent rapidement leur énergie lors de leur parcours dans la matière. Le TEL élevé des α limite la capacité des cellules à réparer les dommages à l'ADN, et les α sont efficaces même en milieu hypoxique, ce qui n'est pas le cas des β^{-} [117–119]. Au cours de leur parcours dans la matière le dépôt d'énergie est très important; cependant ce trajet (linéaire à la différence des particules β [117,120]) est très court (< 100 µm ; ordre de grandeur de 10 diamètres cellulaires [82]). Cette énergie engendre une ionisation importante qui conduit à des cassures d'ADN double-brin (les plus difficiles à réparer) de manière plus fréquente qu'avec les particules β^{-} . La quantité d'ionisation engendrée par les radionucléides de faible TEL (β , γ ou rayons-X) est moins importante et les dommages à l'ADN moins complexes [108,115].

Les rayonnements α sont produits par des noyaux lourds (ayant un nombre de masse A > 210 [77]) tels que l'uranium-238 (²³⁸U), l'actinium-225 (²²⁵Ac), le bismuth-213 (²¹³Bi), l'astate-211 (²¹¹At) ou encore le Radium-223 (²²³Ra) [121]. Ils sont instables et émettent donc une particule α (constituée de

deux protons et deux neutrons formant un noyau d'hélium) afin de perdre de la masse et gagner en stabilité. Certains émetteurs α peuvent aussi émettre des rayonnements γ [77].

Equation :
$${}^{A}_{Z}X \rightarrow {}^{A-4}_{Z-2}Y + {}^{4}_{2}\alpha$$

avec A : nombre de masse ; Z : numéro atomique ; X : élément père ; Y : élément fils.

Exemple :
$${}^{211}_{85}At \rightarrow {}^{207}_{83}Bi + {}^4_2\alpha$$

De par leurs caractéristiques ces radionucléides sont adaptés au traitement de certains cancers hématologiques comme la leucémie ou le myélome multiple (cellules isolées) [122] et moins adaptés pour le traitement des tumeurs solides étant donné leur faible parcours dans la matière qui n'engendre pas un effet de feux-croisés (*crossfire effect*) [123].

1.4.2. Rayonnement β^{-}

Les rayonnements β^{-} sont de type particulaire, ils sont utilisés en radiothérapie interne. Les émetteurs de rayonnements β^{-} sont des radionucléides instables possédant un excès de neutrons. Ils retournent à un état stable par la conversion dans le noyau d'un neutron en proton et par l'émission d'un électron (ou particule β^{-}), accompagné par l'émission d'un antineutrino ($\bar{\nu}$). Au cours de la transformation l'excès d'énergie est transféré aléatoirement à la particule β^{-} et à l'antineutrino. L'énergie maximale (E_{max}) du rayonnement β^{-} est atteinte dans le cas où toute l'énergie a été transférée à la particule β^{-} , sans aucun transfert d'énergie à l'antineutrino. L'élément fils obtenu a un numéro atomique plus élevé (Z+1) que l'élément père et correspond à l'élément suivant dans le tableau de Mendeleïev [77,81,83,112]. Tout comme les émetteurs α les rayonnements β^{-} peuvent être accompagnés de rayonnements γ comme le ¹⁸⁸Re ou non (⁹⁰Y).

Equation : ${}^{A}_{Z}X \rightarrow {}^{A}_{Z+1}Y + \beta^{-}$

avec A : nombre de masse ; Z : numéro atomique ; X : élément père ; Y : élément fils.

Exemple :
$${}^{188}_{75}Re \rightarrow {}^{188}_{76}Os + e^- \text{ ou } {}^{90}_{39}Y \rightarrow {}^{90}_{40}Zr + e^-$$

Les rayonnements β^{-} en interagissant avec les atomes de la matière, perdent de l'énergie et engendrent des atomes ionisés et radicaux libres qui sont responsables à la fois des effets thérapeutiques en causant des dommages à l'ADN des cellules cancéreuses, et des effets toxiques lorsque ces dommages touchent les cellules saines environnantes [112]. A la différence des particules α qui sont lourdes et ne sont pas déviées lors de leur parcours dans la matière par les cortèges électroniques des atomes du milieu, les particules β^{-} ont un parcours dans la matière qui n'est pas linéaire. Cependant elles sont moins freinées que les α et ont un parcours plus long. Elles sont déviées de leur course lors des collisions avec les atomes du milieu environnant. Plus leur énergie est faible plus les interactions avec la matière seront importantes. A chaque collision l'énergie transférée par la particule β^{-} éjecte un électron de l'atome rencontré (ionisation) et celui-ci va également engendrer l'ionisation d'autres atomes autour de lui [120].

Les rayonnements β^{-} ont une énergie de transfert linéique (TEL) moins élevée que les α , de l'ordre de 0.2 keV.µm⁻¹ avec une portée plus grande que les α de 0,5-10 mm (représentant 50-1000 diamètres cellulaires) [82]. Ils sont donc plus adaptés pour le traitement de tumeurs plus larges.

Les particules β^{-} peuvent, lors de leur interaction avec la matière, créer des rayonnements de freinage ou bremsstrahlung (rayonnements X). Un pourcentage de la perte d'énergie survenant à la rencontre avec les atomes de la matière se traduit par l'émission de ces rayons X [83]. Ce phénomène peut servir pour l'imagerie indirecte de radionucléides tels que l'yttrium-90 (⁹⁰Y) qui est un émetteur β^{-} pur, à la différence du rhénium-188 (¹⁸⁸Re) dont l'émission de β^{-} est accompagnée par une émission γ .

1.5. La Théranostique

La théranostique (ou théragnostique) est un terme qui combine la thérapie et le diagnostic afin de fournir une thérapie personalisée [85,124]. Ce terme a été introduit pour la première fois par Funkhouser en 2002, et définissait un médicament qui comportait à la fois une fonction diagnostique et thérapeutique [85,125]. Le but de la théranostique est de fournir "le bon médicament à la bonne dose au bon moment" pour chaque patient individuellement [126,127]. Le terme théranostique a un sens large et possède deux définitions se rapportant néanmoins toutes les deux à la médecine personnalisée : fournir un traitement spécifique spécialisé à chaque patient. La première définition désigne l'utilisation d'une méthode permettant la prédiction de l'efficacité du traitement avec dans un premier temps un test diagnostic suivi par la thérapie effectuée de manière personnalisée en fonction des résultats obtenus. La deuxième définition, désigne une plateforme unique combinant simultanément un agent diagnostique et un agent thérapeutique (injecté au même moment, dans la même dose [125]), ainsi le traitement est suivi par une technique d'imagerie permettant l'évaluation de ses effets et de prédire la réponse au traitement (cf. Figure 6) [80,85,128–130]. Par exemple un vecteur intégrant les deux caractéristiques telles que des nanoparticules théranostiques (liposomes, dendrimères, nanoparticules polymériques, nanoparticules métalliques, quantum dots, et nanotubes de carbone...) [127]. Ces nanoparticules peuvent traiter et suivre simultanément une maladie [128]. Le but est d'éviter les évènements non désirables (tels qu'une différence de biodistribution et/ou de sélectivité) qui peuvent survenir parfois avec l'utilisation d'agents de diagnostic et de thérapie distincts [125].



Figure 6 : Schéma concept Théranostique

Dans le contexte de la médecine nucléaire, la radiothéranostique fait référence à l'utilisation d'un même vecteur marqué séquentiellement par des radionucléides aux propriétés diagnostiques et thérapeutiques [85,131,132].

En ce qui concerne la définition du terme théranostique avec l'utilisation simultanée diagnostique et thérapeutique, il existe des radionucléides qui possèdent les deux qualités pour l'imagerie et la thérapie (dits radionucléides « double usage »). Ils émettent différents types de rayonnements : principalement des rayonnements γ permettant l'imagerie en TEMP (voir des rayonnements β^+ pour la TEP, dans le cas du ¹⁴⁹Tb un émetteur α [133,134]) et des rayonnements thérapeutiques tels que les β^- (e.g. : ¹⁸⁸Re ; ¹⁷⁷Lu ; ²¹³Bi ; ¹³¹I ; ⁴⁷Sc etc.) ou encore les α (²¹¹At ; ²¹³Bi ; ¹⁴⁹Tb) [85,123,135]. Cependant l'utilisation de certains de ces radionucléides peut avoir certains inconvénients : une production et une disponibilité limitée ; une énergie γ associée trop élevée qui peut conduire à une dose trop élevée de radiations aux organes sains pendant la thérapie [85]. Néanmoins si l'énergie γ associée n'est pas trop élevée elle offre l'avantage de permettre une imagerie post-traitement, renforçant l'aspect théranostique du vecteur.

C'est pourquoi la radiothéranostique est plutôt classée dans la première définition du terme avec une utilisation séquentielle des fonctions de diagnostic et de thérapie. Elle utilise donc plutôt des paires diagnostic/thérapie de radionucléides. Certains radionucléides possèdent plusieurs isotopes, qui possèdent des propriétés diagnostiques tandis que d'autres sont thérapeutiques. D'autre radionucléides de différents éléments chimique, peuvent être considérés comme une paire permettant d'associer la thérapie au diagnostique. Ils possèdent en effet des caractéristiques physicochimiques proches (e.g. : ^{99m}Tc/¹⁸⁸Re [136,137]) ou la même chimie de coordination (ou d'état d'oxydation) [132,138]. Ces deux types de paires de radionucléides peuvent donc être utilisés pour marquer le même vecteur pour en faire un vecteur radiothéranostique [85,123,135]. Leur utilisation séquentielle permet d'éviter une exposition aux rayonnements thérapeutiques lors de l'étape diagnostique. Le marquage d'un même vecteur permet de conserver la même biodistribution. Le Tableau III présente des exemples de ces couples de radionucléides.

Paire de	Radionucléides	Demi-vie (t _{1/2})	Rayonnements pour imagerie, Energie, keV (%)	Particules thérapeutiques, (Energie moyenne, keV)	Exemple d'utilisation	
44Sc/47Sc	Scandium-44	2,4 j	β+:±511keV (94%)	-	DOTA-conjugué Folate (cm09/cm10) ciblant les récepteurs de l'acide folique surexprimés dans certaines tumeurs [139,140].	
	Scandium-47	3,35 j	γ : 159 keV (68%)	β [.] :162keV		
⁶⁴ Cu∕ ⁶⁷ Cu	Cuivre-64	12,7 h	β+: ± 511 keV (35%)	-	Anticorps dirigés contre	
	Cuivre-67	2,6 j	γ : 185 keV (49%)	β^{-} :141keV	des antigènes tumoraux (RIT) [141,142].	
⁶⁸ Ga/ ⁶⁷ Ga	Gallium-68	68 min	β+: ± 511 keV (176%)	-	Analogue de la	
	Gallium-67	3,26 j	γ : 93 keV (37%)	e ⁻ Auger : 0,04- 9,5 keV (572%)	somatostatine pour le traitement des tumeurs neuroendocrines [143].	
⁸⁶ Y/ ⁹⁰ Y	Yttrium-86	14,7 h	β^+ : ± 511 keV (66%) γ : 1077 keV (82,2%), et beaucoup d'autres	-	Citrate et EDTMP pour le traitement des métastases osseuses	
	Yttrium-90	2,7 ј	-	β⁻ : 935 keV	[144].	
¹²⁴ I/ ¹³¹ I	lode-124	4,2 j	β+:±511 keV (44%)	-	Traitement par l'iode du	
	lode-131	8 j	γ : 365 keV (82%)	β^{-} : 181 keV	cancer de la thyroïde [145].	
⁶⁸ Ga/	Technétium-99m	6 h	γ : 140 keV (100%)	-	SBMP (SIRT) [146].	
^{99m} Tc/ ¹⁸⁸ Re	Rhénium-188	17 h	γ : 155 keV (15%)	β⁻ 785 keV (85%)		
	Gallium-68	68 min	β+: ± 511 keV (176%)	-		
⁶⁸ Ga/	Gallium-68	68 min	β^{+} : ± 511 keV (176%)	-	Analogues de la	
(⁹⁰ Y ou ¹⁷⁷ Lu)	Yttrium-90	2,7 j	-	β ⁻ : 935 keV	somatostatine pour le traitement des tumeurs	
,	Lutétium-177	6,7 j	γ : 208 keV (11%)	β ⁻ : 140 keV	neuroendocrines [131].	

Tableau III : Couples de radionucléides théranostiques

Modifié d'après : [123,135]

Historiquement, depuis les années 1940 le premier radionucléide qui correspondait au concept de théranostique est l'iode, l'iode comprenant des isotopes avec des propriétés diagnostiques ou thérapeutiques [85,127]. L'isotope ¹²³I (émetteur γ) peut être imagé en TEMP, l'isotope ¹²⁴I (émetteur β^+) peut être imagé en TEP et l'isotope ¹³¹I (émetteur β^- et γ) est utilisé pour la thérapie [85]. Une autre paire est l'isotope diagnostic de l'yttrium : ⁸⁶Y (émetteur β^+) et sa paire thérapeutique : ⁹⁰Y (émetteur β^-).

La théranostique englobe plusieurs domaines se rapportant à la médecine personnalisée [130,147], tels que :

 Les tests diagnostiques des biomarqueurs (génomique, transcriptomique, protéomique et métabolomique) permettant l'identification de patients susceptibles de répondre ou non à une thérapie donnée. Ces tests peuvent être réalisés *in vitro* (fluides), *ex vivo* (biopsies) ou *in vivo* (bioimagerie : imagerie moléculaire).

- L'imagerie moléculaire qui permet d'étudier les processus biologiques in vivo et de diagnostiquer des maladies, de suivre leur progression et de la traiter au niveau moléculaire avec le même vecteur.
- Les techniques guidées par imagerie pour le traitement des cancers (radiologie interventionnelle):
 - Techniques d'ablation (par radiofréquence ; par micro-ondes ; cryoablation)
 - Techniques d'injection intra-artérielles (Chimioembolisation transartérielle ; Radiothérapie Sélective Interne [SIRT])
- Les plateformes combinant diagnostic et thérapie telles que les nanovecteurs.

2. La Radiothérapie Sélective Interne : Concept et principe

2.1. Présentation

La radiothérapie sélective interne (SIRT pour *Selective Internal Radiation Therapy*) ou radioembolisation est de plus en plus utilisée pour le traitement des cancers du foie primaires et secondaires.

La SIRT est une méthode de traitement palliative. C'est une forme de brachythérapie, mais qui à la différence des techniques de brachythérapie conventionnelles d'implantation, passe par l'infusion du vecteur thérapeutique (microsphères radiomarquées) par le système artériel sanguin. C'est donc une technique peu invasive qui est guidée par l'imagerie.

La SIRT du cancer du foie à laquelle ce chapitre est dédié est un exemple de traitement reposant sur les principes de la médecine personnalisée et de la théranostique au sens large du terme (cf. Figure 7). Dans cette thérapie l'étape pré-thérapeutique de diagnostic correspond à une simulation du traitement, elle est très importante car elle détermine la manière dont va se dérouler le traitement pour chaque patient.



Figure 7 : Schéma des étapes de la SIRT

Cependant les deux vecteurs utilisés lors des deux étapes ne sont pas les mêmes ce qui peut conduire à des différences de biodistribution et donc une dosimétrie et une planification du traitement

approximative. Ainsi le travail exposé dans le chapitre 2 suivant, propose une nouvelle approche théranostique avec un vecteur unique : les microparticules à base d'amidon (SBMP pour *Starch-Based Microparticles*) radiomarquées au ⁶⁸Ga et au ¹⁸⁸Re [146], afin de pallier aux problèmes actuellement rencontrés lors de la SIRT des tumeurs hépatiques.

2.2. Historique et concept

Historiquement la radiothérapie externe n'a pas été utilisée pour le traitement des tumeurs hépatiques. En effet malgré le fait que les cellules du foie peuvent se régénérer, cette capacité ne rend pas pour autant le foie peu sensible aux rayonnements ionisants. Les hépatocytes matures ne se divisent presque jamais et ont une durée de vie de plus d'un an [148]. Le pouvoir régénératif du foie (i.e. la prolifération des cellules souches hépatocytaires) est activé à la suite d'une hépatectomie partielle conduisant à la restauration de la masse perdue. Cette activation des cellules souches se rencontre également en cas de nécrose et d'inflammation chronique telle que la cirrhose qui survient souvent avant l'apparition du CHC [149].

Le foie a une faible tolérance aux rayonnements ionisants avec une limite de 30-40 Gray (Gy) pour la totalité du foie (doses de radiothérapie externe fractionnées de 1,8 Gy/jour) [150]. Les hépatocytes sains ont une tolérance encore plus faible aux irradiations que les cellules tumorales [151]. Des doses supérieures à 35-43 Gy entrainent une toxicité avec l'apparition d'hépatites subaiguës induites par les radiations aussi appelées hépatites radiques (RILD pour *Radiation-Induced Liver Disease* ou *radiation hepatitis*) pour des doses plus élevées [66,149,151–153]. Cette maladie apparait entre 2 semaines et 4 mois suivant l'irradiation hépatique et se définie par une hépatomégalie, l'apparition d'ascite avec une augmentation des enzymes hépatiques phosphatases alcalines et transaminases [149,154,155]. Cependant cette limite de 35 Gy n'est pas une dose suffisante pour être thérapeutique [156,157]. Une dose d'au moins 70 Gy est nécessaire pour détruire une tumeur solide [150]. Il est possible par de nouvelles techniques de radiothérapie externe telles que la radiothérapie stéréotaxique (SBRT pour *Stereotactic body radiaotherapy*) d'administrer de plus hautes doses à la tumeur en épargnant le foie sain [158,159], mais ces techniques ne sont applicables que pour de petites masses tumorales et focalisées. Or bien souvent les patients avec un CHC sont diagnostiqués tardivement avec des tumeurs multifocales, de taille importante et de forme irrégulière [151].

Afin de contourner ce problème des techniques d'injection intra-artérielles de microparticules ont été développées [66,156,160,161]. L'administration de microparticules par voie artérielle remonte en 1947 avec l'injection de microparticules de carbone de 40-50 μm de diamètre, marquées au ⁶³Zn ou à l'¹⁹⁸Au pour le traitement de métastases pulmonaires de cancer rénal [112,161–163]. Des microparticules de résine marquées au ³²P (30-50 μm) en suspension, ont également été utilisées en

injection intra-artérielle pour le traitement de diverses tumeurs solides [112,163–165], mais ce sont principalement les microsphères d'⁹⁰Y qui se sont développées pour la radiothérapie sélective interne des tumeurs hépatiques. L'utilisation de la SIRT pour le traitement d'autres organes que le foie a également été rapportée récemment dans la littérature [166–168] pour la rate [169], le carcinome à cellules rénales [170] ou les métastases du poumon [171] mais ces applications sont minoritaires pour le moment par rapport aux tumeurs hépatiques.

La SIRT des tumeurs hépatiques résout le problème de la radiosensibilité du foie et permet d'administrer des doses élevées de radioactivité (supérieure à 150 Gy pouvant aller jusqu'à 3000 Gy) tout en préservant le parenchyme hépatique sain [56,66,151,161,172–176]. Cette technique se base sur l'administration de microparticules plus larges que le diamètre à l'extrémité des capillaires nouvellement formés des tumeurs [112,175] et sur la spécificité des tumeurs hépatiques qui ont un apport sanguin artériel hypervascularisé [161,163,175], tandis que le parenchyme sain est irrigué par la veine porte [177–180]. En 1951, Bierman *et al.* ont été dans les premiers à découvrir cette particularité [181,182], ce qui a permis le développement des techniques d'injection transartérielles ciblant le traitement à la tumeur grâce à l'utilisation d'un cathéter.

Ainsi le principe de la radiothérapie sélective interne du foie a été exploré en 1964 par Blanchard *et al.* [151,182,183] avec l'injection de microparticules marquées à l'yttrium-90 dans l'artère hépatique de lapins porteurs de tumeurs, avec des résultats prometteurs. Peu après, Les premières études cliniques des microsphères d'⁹⁰Y [183–187] ont commencées au début des années 1960 [161,163,174,182], et les premiers essais cliniques de radioembolisation trans-artérielle utilisant des microparticules d'yttrium-90 en céramique dans les années 1980. Cependant une partie de l'yttrium-90 de ces particules était relarguée, entrainant une myélosuppression chez les patients, mettant fin aux essais. Afin d'y remédier, des microsphères en verre incorporant l'yttrium-90 ont été développées en 1986, les TheraSphere[®] [182].

Les microparticules utilisées sont de plus petite taille (25-35 μ m de diamètre) que les particules utilisées en chimioembolisation (100-500 μ m) [156,188,189]. De fait, la SIRT ne repose pas sur le même principe d'ischémie et d'occlusion des vaisseaux, qui s'accompagne de l'action cytotoxique de l'agent chimiothérapeutique, observé en chimioembolisation ; mais sur l'irradiation de la tumeur accompagnée d'une microembolisation, les particules atteignant les artérioles [152,188,189].

2.3. *Particularité des tumeurs hépatiques*

Le foie normal est irrigué à 80 % par le système veineux (la veine porte) et à 20 % par l'artère hépatique [163,190,191]. Au cours de la carcinogénèse des tumeurs hépatiques, avec la néoangiogénèse [192], l'approvisionnement en sang change, au cours de la croissance tumorale sa

vascularisation devient quasiment uniquement artérielle (90-100 %) [177,178,181,190,193] afin de pallier au besoins important en oxygène et en nutriments. L'apport nutritionnel et d'oxygène pour les petites tumeurs (de 1 à 2 mm) se fait par diffusion et transport, par la suite la croissance tumorale dépend de la néoangiogénèse [194–196]. En effet la construction d'un nouveau réseau microvasculaire est essentielle pour le développement des tumeurs solides. Au cours de leur croissance le microenvironnement devient hypoxique, pauvre en oxygène et en nutriments, ces conditions initient la néoangiogénèse par l'activation de voie de signalisation favorisant l'action des facteurs pro-angiogéniques tels que le facteur de croissance vasculaire endothéliale (VEGF pour *Vascular Endothelial Growth Factor*) [197–199]. A mesure que la tumeur grossit, le centre devient nécrotique et hypoxique [161].

Un plexus microvasculaire, c'est-à-dire, un réseau dense de néo-vaisseaux interconnectés, se forme à la périphérie des tumeurs hépatiques [163,178,180,196,200]. La densité de vaisseaux autour des tumeurs est beaucoup plus importante que celle perfusant le parenchyme hépatique sain, avec des ratios de 3 jusqu'à 20 vaisseaux perfusant la tumeur pour 1 vaisseau perfusant le parenchyme hépatique sain [161,163,175,180,196]. De plus, les tumeurs hépatiques peuvent recruter des artères extra-hépatiques proches du foie pour augmenter leur apport sanguin artériel [180].

Le CHC est une tumeur hautement vascularisée [199,201,202]; cependant, les tumeurs hépatiques, et surtout les métastases qui sont moins vascularisées que le CHC, peuvent développer des régions ischémiques qui contribuent à la distribution non uniforme des microsphères d'yttrium-90 [203]. La densité des vaisseaux tumoraux et le flux sanguin est variable entre les tumeurs hépatiques primaires et secondaires et même au sein d'une même tumeur, ce qui engendre une hétérogénéité des doses absorbées intra-tumorales [175].

Une autre particularité des tumeurs hépatiques est la formation de shunts artério-veineux lors de la néoangiogénèse tumorale [180]. Les shunts sont des anastomoses, des jonctions directes entre les artères et les veines qui ne se font pas par l'intermédiaire d'un réseau de capillaires, dans le parenchyme hépatique ou au sein de la tumeur [204]. A la différence des métastases hépatiques, le CHC est associé à une incidence élevée de shunts artério-veineux qui contournent ainsi le lit de capillaires tumoraux [173,205–209]. Les microparticules d'⁹⁰Y injectées peuvent donc via ces shunts rejoindre les poumons et engendrer un risque de pneumopathie radique [173,205,207,208]. Dans le cas de la présence de shunts artério-veineux, les poumons sont perfusés par la veine porte et les artères du cœur et des poumons [205]. Dans le cas des cancers métastatiques du foie les shunts sont plus rares [208]. Des shunts artério-veineux peuvent également détourner le flux sanguin vers d'autres organes tels que les intestins ou encore l'estomac. L'anatomie des artères hépatiques doit donc être

analysée précisément par angiographie et scintigraphie avant l'administration des microparticules d'⁹⁰Y [205].

Le carcinome hépatocellulaire se développe généralement dans un contexte de foie cirrhotique, il est dans la plupart des cas multifocal et atteint les deux lobes du foie [210]. Les lésions les plus vascularisées retiennent un plus grand nombre de microsphères [205].

2.4. Biodistribution des micropshères d'⁹⁰Y

Du fait des caractéristiques des tumeurs hépatiques précédemment décrites, les microsphères d'yttrium-90 une fois injectée en intra-artériel s'accumulent préférentiellement à la périphérie de la tumeur. Leur biodistribution présente le même ratio tumeur/foie sain que la distribution des vaisseaux : de 3 pour 1 voire 20 pour 1 [161,163,175,180,196] (cf. paragraphe précédent 2.3). Ainsi des doses élevées de radioactivité peuvent être administrées à la tumeur sans compromettre le parenchyme hépatique sain. De par l'anatomie microvasculaire du foie les microsphères ne se déposent pas dans le parenchyme hépatique mais restent confinées au niveau des espaces portes des lobules hépatiques (triade) [19,211]. Les microparticules d'⁹⁰Y se logent à l'extrémité des artérioles et capillaires du plexus dans une zone d'environ 6 mm de large autour de la tumeur et permettent ainsi une irradiation ciblée. Les microsphères d'⁹⁰Y se distribuent de manière uniforme si elles sont injectées au sein d'un foie normal, tandis qu'elles se concentrent de manière hétérogène à la périphérie des tumeurs au sein d'un foie malade [161,211–213]. Plus les tumeurs sont hypervascularisées meilleur sera le ratio de microparticules distribuées au sein de la tumeur et plus faible sera la dose au foie sain [208]. L'irradiation de la tumeur par les rayonnements β^{-} engendre des dommages irréversibles au niveau cellulaire (dommages à l'ADN) qui conduisent à une réduction de la tumeur ou un retard de la croissance. La dose absorbée délivrée est importante car les microsphères sont au plus proche de la tumeur [151,175,196]. De plus l'arrivée de sang chargé en oxygène est conservée du fait de la taille des microsphères d'⁹⁰Y qui n'engendrent pas d'embolisation permettant ainsi une meilleure efficacité de la radiothérapie par la formation des radicaux libres de l'oxygène sous l'effet ionisant des radiations [214].

2.5. Anatomie des artères hépatiques

Le degré de variations anatomiques du système mésentérique et du lit artériel hépatique est très élevé. L'anatomie des artères hépatiques varie beaucoup d'un individu à un autre [180,215–220]. Les variations anatomiques du système artériel irriguant le foie ont été pour la première fois décrite et classifiée par Michels [217,221] au début des années 50, puis la classification a été modifiée par Hiatt *et al.* en 1994 [222], et les connaissances s'étendent grâce à l'évolution des techniques d'imagerie [216,223]. La Figure 8 présente l'anatomie majoritaire des artères hépatiques chez l'homme. La

vascularisation artérielle du foie prend son origine du tronc cœliaque chez 55-65 % des patients. Le tronc cœliaque se divise en trois artères : l'artère hépatique commune, l'artère splénique et l'artère gastrique gauche. De l'artère hépatique commune part l'artère gastroduodénale (dans 90 % des cas) ; à la suite de cette bifurcation l'artère hépatique s'appelle l'artère hépatique propre. Elle est suivie par l'artère hépatique principale qui se divise ensuite entre l'artère hépatique droite et l'artère hépatique gauche [175,220]. Le schéma de la Figure 9 représente la vascularisation artérielle hépatique. L'artère iliaque externe se prolonge par l'artère fémorale, lieu d'entrée du cathéter utilisé pour la radiothérapie sélective interne des tumeurs hépatiques. L'injection des microparticules est réalisée à l'aide d'un cathéter inséré au niveau de l'artère fémorale qui remonte l'artère iliaque jusqu'au tronc cœliaque pour arriver à l'artère hépatique (méthode de Seldinger [158,175,210,224]) pour administrer les microsphères d'⁹⁰Y à la tumeur de façon ciblée [210,214,225,226]. C'est pourquoi il est important de réaliser une angiographie afin d'obtenir la cartographie des artères pour chaque patient avant le traitement et d'emboliser si besoin certains vaisseaux collatéraux pour éviter la dispersion des microsphères vers d'autres organes que le foie [227].



Figure 8 : Schéma de l'anatomie des artères hépatiques chez l'homme s'appliquant à 55-65 % de la population d'après la description classique : d'après [220].



Figure 9 : Schéma de la vascularisation artérielle : adapté de plusieurs sources : [216,218,228–232]

3. Microsphères radiomarquées à l'yttrium-90

Il existe deux types de vecteurs et trois radionucléides généralement utilisés pour la radioembolisation [176] : le lipiodol (mélange d'esters iodés d'acides gras de l'huile de graine de pavot) radiomarqué à l'iode-131 (¹³¹I) ou au rhénium-188 (¹⁸⁸Re) et les microsphères radiomarquées à l'yttrium-90 (⁹⁰Y) [227]. Nous allons pour l'instant nous concentrer sur les microsphères marquées à l'⁹⁰Y pour revenir dans un autre chapitre sur le lipiodol.

Le terme microsphères (ou microparticules) se rapporte à des petites particules sphériques qui peuvent être constituées de différents matériaux, et dont la taille est comprise de 10 nm à 2000 µm. Néanmoins les tailles de 10 à 500 nm font plutôt référence aux nanoparticules [112].

Les microsphères sont utilisées en médecine majoritairement pour l'administration de médicaments de manière passive ou active. Dans le cadre de la radioembolisation les microsphères délivrent des rayonnements ionisants de manière passive [112], mais sont injectées de manière sélective grâce à la particularité vasculaire des tumeurs hépatiques qui sont spécifiquement perfusées par les artères. Dans le cadre du lipiodol, l'administration est similaire aux microsphères, cependant il cible activement les cellules tumorales hépatiques par affinité [233–235].

3.1. L'Yttrium-90

L'yttrium-90 pour traiter les tumeurs du foie a d'abord été utilisé en application topique et en injection intra-tumorale directe avant le développement des techniques d'administration intraartérielles [151]. Il est l'un des radionucléides métalliques thérapeutiques le plus fréquemment utilisé en clinique [136]. Il peut être administré en injection directe dans le cas de la synovectomie par exemple et est également utilisé dans différentes techniques de radiothérapie ciblée :

- La radioimmunothérapie (RIT) : anticorps radiomarqués (anti-CD20, anti-CD22) administrés en intraveineux (iv) pour le lymphome.
- La radiothérapie interne ciblant les récepteurs peptidiques de la somatostatine (PRRT pour Peptide Receptors Radionuclide Therapy) : analogues de la somatostatine radiomarqués (DOTATOC) administrés en iv pour les tumeurs neuroendocrines.
- La radiothérapie sélective interne (SIRT) : microsphères radiomarquées infusées de manière sélective par cathéter en intra-artériel pour les tumeurs hépatiques [236,237].

L'yttrium-90 est un émetteur β^{-} pur ($E_{max} = 2,3 \text{ MeV}$; $E_{moy} = 0,9 \text{ MeV}$) avec une demi-vie de 64 h (2,67 jours) et décroit en zirconium-90 (90 Zr) stable [108,136,151,238]. C'est un radiométal qui fait partie de la famille des terres-rares et est considéré comme un analogue des lanthanides car il a des propriétés chimiques similaires. En effet l' 90 Y et les lanthanides sont des radiométaux trivalents : Me(III), qui préfèrent être dans un état d'oxydation +3 (90 Y³⁺ sous forme ionique) [138,145,237,239,240]. Les rayonnements de haute énergie traversent les tissus sur une moyenne d'environ 2,5 mm pour un maximum de 11 mm [66,151,172], correspondant à 50-200 diamètres cellulaires [211], ce qui permet d'avoir une irradiation homogène de la tumeur même avec une absorption tumorale hétérogène [176]. Un gigabecquerel d' 90 Y délivre une dose absorbée de 50 Gy.kg⁻¹ [151]. L'yttrium-90 est obtenu par bombardement de neutron de l'yttrium-89 dans le cas des microsphères d' 90 Y qui sont livrées déjà radiomarquées [241] ; cependant il est également disponible par l'élution d'un générateur 90 Sr/ 90 Y sous forme de 90 YCl₃ [108,238,242].

3.2. Les microsphères actuellement en clinique

Deux types de microsphères marquées à l'yttrium-90 sont commercialisés, les SIR-Spheres[®] en résine et les TheraSphere[®] en verre (cf. Tableau IV comparatif). Elles ne sont pas biodégradables et restes implantées de manière permanente [209]. Bien que les données cliniques en terme d'efficacité soient similaires, elles présentent des caractéristiques différentes [66,175].

- Chapitre 1 : SIRT -

3.2.1. TheraSphere®

Les TheraSphere[®] sont des particules de verre de taille comprise entre 20-30 µm (moyenne de 25 µm) [66,151,205]. De l'yttrium-89 non-radioactif est incorporé directement dans le verre des particules ce qui empêche le radionucléide de se détacher du vecteur, il est ensuite bombardé de neutrons afin d'obtenir les microsphères chargées d'yttrium-90 par activation de l'yttrium-89 [161,215].

Elles ont été développées en 1986 [182] et approuvées en 1991 au Canada pour le traitement des cancers du foie, et en 1999 par la FDA (Food and Drug Administration) pour le traitement du CHC [152,208]. En Europe, Australie et Asie leur utilisation s'applique aux cancers du foie qu'ils soient primaires ou secondaires [152,243].

L'activité spécifique par sphère (2500 Bq/sphère) [66] est beaucoup plus importante que celle des SIR-Spheres[®] tout comme leur densité (3,3 g.mL⁻¹ [182]). Leur densité est supérieure à celle du sang alors que celle des SIR-Spheres[®] en est proche [244]. Un milligramme de TheraSphere[®] correspond à 22 000 à 73 000 sphères [151]. Ainsi les TheraSphere[®] n'ont pas d'effet embolique étant donné le faible nombre de particules injectées par traitement, c'est pour cette raison qu'elles peuvent être injectées, même en présence de thrombose de la veine porte (TVP). Ce symptôme est souvent une caractéristique du CHC de stade avancé [245]. Les techniques de chimioembolisation transartérielle sont par ailleurs contre-indiquées en présence de thrombose de la veine porte, car elles risquent de compliquer encore plus ce symptôme.

A la différence des SIR-Spheres[®] où seule une dose de 3 GBq peut être commandée, plusieurs doses sont disponibles pour les TheraSphere[®] : 3 GBq (81 mCi), 5 GBq (135 mCi), 7 GBq (189 mCi), 10 GBq (270 mCi), 15 GBq (405 mCi) et 20 GBq (540 mCi) [208]. Un flacon de 3 GBq correspond à 1,2 millions de particules [66,246]. Le flacon de TheraSphere[®] peut être conservé 12 jours [243].

3.2.2. SIR-Spheres®

Les SIR-Spheres[®] sont des particules de résine en polymère acrylique, de taille comprise entre 20-60 µm (moyenne de 32 µm), marquées à l'yttrium-90 qui est greffé à leur surface [66,205,215]. L'⁹⁰Y est lié de façon stable au groupement carboxylique du polymère suite à la production des microparticules de résine [205,215]. Le transfert des atomes d'yttrium-90 sur la résine se fait par échange de cation [108,182]. Le risque de relargage de l'yttrium-90 est très faible [161,247].

Leurs activité spécifique et leur densité sont beaucoup plus faibles que celle des TheraSphere[®] avec 50 Bq/sphère [66] et 1,6 g.mL⁻¹ [66,108]. Une plus faible densité permet théoriquement une meilleure suspension [208]. Elles sont disponibles par dose de 3 GBq (correspondant à 40-80 millions

de microsphères) [246], qui peut, à la différence des TheraSphere[®], être divisée en plusieurs doses [243]. Cependant, leur durée de conservation est uniquement d'un jour [243].

Caractéristiques	SIR-Spheres®	TheraSphere®	
Fabricant	Sirtex Medical, Lane Cove Australia	Therasphere BTG, Ontario, Canada	
Utilisation	Thérapie		
Approuvé pour	- CHC pour les USA ;	 Métastases du carcinome 	
	 Les tumeurs hépatiques non 	colorectal pour les USA	
	résécables (CHC et tumeurs	- Toutes les tumeurs hépatiques	
	secondaires) pour l'Europe,	(CHC et métastases) pour l'Europe,	
	l'Australie et autres pays en-	l'Australie et pays en-dehors des	
	dehors des USA [243]	USA [243]	
Radionucléide	90γ		
Demi-vie	64,2 h		
Constante radioactive λ_{90Y}	3,0.10 ⁻⁶ s ⁻¹		
Matière des particules	Résine en polymère acrylique [205,215]	Verre	
Méthode de radiomarquage	Attaché à la surface de la résine [66]	Incorporation dans la matrice de verre [66,208]	
Activité spécifique par microparticules	50Bq	2500Bq	
Nombre d'atomes radioactifs par particules ^a	1,7.107	8,3.10 ⁸	
Taille	20-60 μm [208]	20-30 μm [208]	
Diamètre moyen	32,5 μm [66]	25 μm [66]	
Densité	Faible : 1,6 g/mL [66,108]	Elevée : 3,6g/mL [66,108]	
Activité commercialement	3	3, 5, 7, 10, 15, 20	
disponibles (GBq)			
Nombre approximatif de particules par traitement (~3GBq)	Elevé (~40-80 millions) [208]	Faible (~2-4 millions) [208]	
Quantité approximative de	1 370 [248]	110 [248]	
particules par traitement (mg)			
Nombre de particules par GBq	20 millions en moyenne [243]	0,4 millions [243]	
Nombre de particules pour 1mg		22 000 à 73 000 sphères [151,208]	
Modèles dosimetriques de calcul de	Plusieurs formules existent :	Une seule formule : modele non-	
dose	- Methode Empirique (abandonnee)	compartimental MIRD (Medical	
	- Modele Surface Corporelle (SC)	Internal Radiation Dose) [57,204,243]	
	(Bouy Surface Area . BSA) Modèle de Partition (ou modèle		
	- Modele de Partition (ou modele multi-compartimental MIRD		
	[Medical Internal Radiation Dose])		
	[57,204,243,249]		
Durée de vie du produit	1 jour [243]	12 jours [243]	
Administration	Eau stérile iniectable [175]	Solution saline [175]	
	Injection des microsphères en	Pas de produit de contraste.	
	suspension dans de l'eau stérile	·	
	injectable alternées avec l'injection		
	d'un produit de contraste [208].		
Pression relative pour l'infusion	Basse [209]	Elevée [209]	
Effet embolisant	Modéré [208]	Léger [208]	
Nécessité d'utiliser un agent de	Oui [57,243]	Non [57,243]	
contraste lors de l'injection			

Tableau IV : Caractéristiques des microsphères d'yttrium-90

^aValeurs calculées

3.2.3. Avantages et inconvénients des microsphères d'yttrium-90

La principale différence entre les TheraSphere[®] et les SIR-Spheres[®] est leur activité spécifique. Du fait de la plus faible activité spécifique des SIR-Spheres[®] (50 Bq/sphère) le nombre de microparticules injectées est élevé (environ 40-80 millions) et peut entrainer une saturation du lit vasculaire empêchant l'administration de la dose thérapeutique calculée (observée dans 35 % des cas) [205,208,246]. De plus, la saturation entraine une hypoxie, ce qui limite les effets des rayonnements ionisants [246]. Néanmoins, cette activité spécifique plus faible peut être un avantage pour les traitements par fractionnement [208].

Ce phénomène de saturation n'est pas observé avec les TheraSphere® qui ont une activité spécifique plus élevée de 2500 Bq/sphère et donc un nombre de particules injectées plus faible de l'ordre de 2 à 4 millions de microparticules [208]. De ce fait l'oxygénation nécessaire à l'action thérapeutique des rayonnements ionisants est maintenue [208,246,250]. Cependant de manière opposée, la zone tumorale à traiter peut ne pas être entièrement couverte par la biodistribution des TheraSphere® du fait du faible nombre de particules injectées [205,208,246]. De plus, si la dose maximale tolérable a été atteinte, un nouveau traitement par fractionnement ne peut être envisagé [208]. Lewandowski *et al.* [246] propose de laisser des flacons de TheraSphere® de haute activité décroitre avant d'administrer les particules ce qui augmente le nombre de particules injectées pour une même dose administrée afin d'améliorer la zone tumorale couverte par la distribution des TheraSphere® [243].

La densité diffère selon le type de microparticules d'⁹⁰Y ; celles en verre ont une densité de 3,6 g.mL⁻¹, contre 1,6g.mL⁻¹ pour les particules en résine [66,108], ce qui pourrait limiter leur biodistribution [205,208].

Le processus de fabrication des microsphères d'⁹⁰Y de verre implique une longue activation (supérieure à 2 semaines) de l'⁸⁹Y en ⁹⁰Y par bombardement de neutrons. Bien que sans conséquences cliniques, ce processus peut engendrer la présence de traces de radionucléides contaminants de demivie longue tels que l'europium-152 (¹⁵²Eu) et l'europium-154 (¹⁵⁴Eu) (également retrouvées chez les microsphères en résine) [205,208].

La durée de vie des SIR-Spheres[®] est de 1 jour, ce qui réduit la flexibilité dans la plannification clinique des patients, à la différence des TheraSphere[®] qui ont une durée de vie de 12 jours [208,243].

En ce qui concerne la dosimétrie (cf. paragraphe dédié 4.3), il existe 3 méthodes de calcul de doses pour les SIR-Spheres[®], ce qui engendre une variabilité assez élevée selon les utilisateurs, et ne facilite pas la comparaison des études inter-centres. Les TheraSphere[®] présentent une unique

méthode de calcul ; cependant, cette méthode ne prend pas en compte la charge tumorale mais seulement le volume ciblé. Dans certains cas, un plus grand nombre de particules peut être nécessaire pour traiter une charge tumorale plus importante [208].

Ainsi, le vecteur idéal combinant la dose thérapeutique et l'effet embolique adéquat se situant entre les TheraSphere[®] et les SIR-Spheres[®] n'a pas encore été développé [246]. Les microparticules SBMP développées dans ce travail peuvent potentiellement pallier à ce problème (cf. Chapitre 2).

4. Procédure

La SIRT se déroule selon des étapes essentielles (cf. Figure 10) [205,227]:

- Une pré-sélection des patients atteints de tumeurs hépatiques qui sont éventuellement éligibles pour ce traitement par une évaluation multidisciplinaire correspondant au diagnostic et au choix du traitement à l'aide d'algorithmes et de systèmes de classement.
- Une première étape pré-thérapeutique permettant la vérification de l'éligibilité des patients.
- 3) Une deuxième étape pré-thérapeutique constituée :
 - a. D'une angiographie : permettant la cartographie des vaisseaux hépatiques perfusant la tumeur, et d'envisager l'embolisation des vaisseaux collatéraux qui engendrerait une distribution extra-hépatique des microsphères.
 - b. De l'injection intra-artérielle de macroagrégats d'albumine marqués au ^{99m}Tc (^{99m}Tc-MAA) permettant une simulation du traitement et l'évaluation des shunts hépatopulmonaires ou gastro-intestinaux.
- Cette évaluation scintigraphique permet le calcul de la dose thérapeutique optimale par l'évaluation dosimétrique des images des ^{99m}Tc-MAA.
- 5) Le traitement avec l'injection des microsphères d'⁹⁰Y.
- 6) L'imagerie et l'évaluation post-traitement.



Figure 10 : Schéma des étapes de la SIRT suivies par les patients atteints de tumeur hépatique primaire ou secondaire dirigés vers ce traitement : Modifié d'après [215].

4.1. Indication de la SIRT

La SIRT est indiquée pour les tumeurs hépatiques primaires ou secondaires et notamment les CHC de stade intermédiaire qui ne sont pas éligibles pour la résection chirurgicale (ablation ou transplantation) [172,201,205,251]. La majorité des patients avec un CHC (95 %) ne sont pas éligibles pour les techniques chirurgicales (CHC non résécable) pour diverse raisons : tumeur bilobaire, invasion de la veine porte par la tumeur ou cirrhose sévère associée [210].

Toutefois la SIRT est également utilisée dans le cas des patients atteint de CHC de stade précoce (BCLC-A) en attente de transplantation pour éviter que, la tumeur étant devenue trop importante, les patients ne répondent plus aux critères de transplantation et soient retirés de la liste d'attente. Elle est également utilisée chez certains patients pour réduire le volume tumoral afin qu'ils répondent aux critères de sélection pour la transplantation ou la résection chirurgicale (traitement de *downstaging*) [66,227].

Ainsi trois catégories de patients sont des candidats potentiels pour la SIRT [57] :

- Les patients de stade intermédiaire qui ne sont pas éligibles pour la chimioembolisation à cause de tumeurs trop nombreuses ou trop volumineuses.
- Les patients de stade avancés avec une tumeur CHC unique et une thrombose de la veine porte.
- Les patients avec un CHC en attente d'une approche chirurgicale éligibles pour un traitement de *downstaging*.

La SIRT est une technique bien tolérée [57,66,172,196,252] de plus elle n'implique pas d'hospitalisation ou de confinement en chambre plombée [176], tandis que la chimioembolisation transartérielle considérée comme le traitement standard pour les patients avec un CHC de stade intermédiaire [29,52,172,253], nécessite une hospitalisation pour le suivi et la prise en charge des effets secondaires du traitement, ainsi que plusieurs interventions [227]. La présence de thrombose de la veine porte, bien que prédictif de moins bons résultats chez certains patient (Child Pugh B), n'est pas une contre-indication de la SIRT [251]. Beaucoup de patients CHC développent une thrombose de la veine porte et sont donc inéligibles pour la TACE. Ils peuvent donc être dirigés vers la SIRT dans le but de prolonger la durée et la qualité de vie [251].

Les techniques de diagnostic et les algorithmes et systèmes de classement permettent une présélection des patients pour le traitement le plus adapté à chaque cas. Cette pré-sélection pour la SIRT est ensuite vérifiée au cours de l'étape pré-thérapeutique de la SIRT afin de déceler d'éventuelles contre-indications relatives à ce type de traitement. Après le diagnostic, tous les patients considérés pour la SIRT doivent être soumis à plusieurs examens pré-thérapeutiques afin vérifier leur éligibilité pour cette technique de traitement et l'absence de contre-indications. Cette étape pré-thérapeutique est importante car elle est indispensable à la planification du traitement et permet également de garantir la sécurité des patients [252,254].

4.1.1. Place de la SIRT dans les algorithmes et systèmes de classement

La chimioembolisation transartérielle est considéré comme le traitement standard traditionnel dans les algorithmes pour les CHC non résécables et est très utilisée dans ces cas de figure [210]. Cependant cette technique n'est pas bien tolérée par les foies trop endommagés par des hépatopathies sous-jacente comme la cirrhose qui survient dans 80 % des CHC. Le foie cirrhotique peut ne pas supporter le traitement de chimioembolisation transartérielle et cela peut conduire à une insuffisance hépatique irréversible. La SIRT permet de pallier à ce problème, elle combine efficacité avec beaucoup moins d'effets secondaires et de toxicité que la TACE [210]. Le nombre de traitements ainsi que le temps d'hospitalisation est beaucoup moins contraignant que la chimioembolisation transartérielle. Cependant la SIRT à un coût plus élevé que la TACE.

Des comparaisons sont en cours d'investigation, mais à ce jour la SIRT donne des résultats similaires voire meilleurs en terme de taux de survie [57]. Elle est de plus mieux tolérée avec moins d'effets secondaires que la chimioembolisation transartérielle et implique moins de sessions de traitement et d'hospitalisation [255]. Dans l'étude de Carr *et al.* (2004) [210] les patients de l'étude et de l'hôpital devaient répondre à un sondage sur la qualité de vie, et la SIRT a obtenu de meilleurs scores que la TACE [256].

L'algorithme BCLC, le plus souvent utilisé, prend en compte la charge tumorale, l'état de la fonction hépatique et le score de performance afin de déterminer le stade des patients [2], ces facteurs sont d'ailleurs des éléments pronostiques de survie [34]. Il permet de choisir le traitement le plus approprié et a l'avantage de relier le stade de la maladie à un traitement ainsi qu'à un pronostic de survie. Cependant la SIRT n'est pas incluse dans le schéma des traitements du système BCLC. Les résultats des études des essais cliniques montrent que la radioembolisation peut être positionnée entre la TACE et le traitement par Sorafénib. La Figure 11 montre un exemple de proposition d'incorporation de la SIRT dans l'algorithme BCLC qui prend en charge les patients atteints de CHC intermédiaires et avancés [204,257].



Figure 11 : Algorithme BCLC avec proposition de la SIRT dans les références de traitement : Comme l'indication de la SIRT pour le stade intermédiaire et le stade avancé du CHC se chevauchent ces deux stades ont été rassemblés dans ce schéma. *La taille des tumeurs indiquée est une proposition, la taille a encore besoin d'être approfondie. Modifié d'après [204]

4.2. Etape pré-thérapeutique

La SIRT est une option de traitement sûre et efficace pour les patients atteints de tumeur hépatique dont le traitement chirurgical n'est pas possible dans le cas où elle est appliquée dans les bonnes conditions et pour les bons patients. Elle peut ne pas être appropriée pour tous les patients. C'est pourquoi le traitement de la SIRT commence par une sélection rigoureuse des patients [258]. Afin de vérifier que les patients soit bien éligibles pour ce traitement, qu'ils ne présentent aucune contreindication et assurer ainsi leur sécurité, une étape pré-thérapeutique est indispensable avant l'injection des microsphères d'⁹⁰Y [175]. L'évaluation des patients candidats pour la radioembolisation est réalisée par une équipe multidisciplinaire composée d'hépatologues, d'oncologues médicaux, de radiologues interventionnels, de chirurgiens, de physiciens médicaux et de médecins nucléaires [57,208,232,241]. Les patients peuvent ainsi être dirigés vers la radioembolisation par des sources de spécialités médicales variées [208]. Différentes analyses doivent être pratiquées au cours de l'étape pré-thérapeutique : une évaluation clinique (historique du patient, statut de performance...), biologique (tests sanguins pour tester la fonction hépatique), radiologique (évaluation des lésions, charge et volume tumoral), angiographique (évaluation de la vasculature hépatique) et scintigraphique (simulation du traitement et évaluation du shunt hépatopulmonaire) [205,232,252]. Tous ces tests sont effectués afin de vérifier l'absence de contre-indication, de statuer sur l'éligibilité du patient à ce type de traitement, d'assurer sa sécurité et de planifier au mieux le traitement de radioembolisation en l'absence de contre-indication. Cette phase pré-thérapeutique doit être réalisée une à trois semaines avant le premier traitement planifié [57].

Elle est constituée de deux étapes :

- La première étape pré-thérapeutique consiste à un historique médical du patient, un examen clinique, l'évaluation des performances du patient, des dosages biologiques (évaluation de la fonction hépatique) et l'analyse des images TDM et IRM des tumeurs. Elle permet de vérifier l'éligibilité des patients pour la SIRT [175,259].
- La deuxième étape pré-thérapeutique consiste à une angiographie pour l'évaluation de la vascularisation hépatique tumorale et à une scintigraphie suite à l'injection des macro-agrégats d'albumine marqués au ^{99m}Tc (^{99m}Tc-MAA). Cette étape permet de planifier le traitement et d'évaluer le niveau de shunt hépato-pulmonaire qui, s'il est trop élevé, est une contre-indication au traitement. Elle sert également au calcul de dose à administrer au patient par la suite [175].

4.2.1. Première étape pré-thérapeutique : Evaluation clinique

Plusieurs analyses sont effectuées lors de cette première étape pré-thérapeutique afin de vérifier l'éligibilité des patients pour la SIRT. Elle comprend un bilan de santé et sanguin pour certains marqueurs, une évaluation de l'historique du patient et une évaluation par imagerie (TDM ou IRM) de l'état des lésions du foie permettant également une première évaluation de la vascularisation [57].

4.2.1.1. Historique clinique des patients

Les éventuels antécédents de traitements sont également passés en revue au cours du bilan de santé, les patients avec tumeur hépatique ayant souvent un historique médical complexe [193,208],

et certains cas sont contre-indiqués pour la SIRT. De plus, certains traitements doivent être arrêtés quelques semaines (2-3) avant la thérapie, tels que la chimiothérapie systémique ou certaines molécules qui sont connues pour avoir des propriétés radio-sensibilisantes. Ces traitements peuvent être repris 2 semaines après la SIRT [193,208].

Les patients atteints de CHC ont souvent un historique chirurgical ou thérapeutique précédant la SIRT, tel qu'une résection chirurgicale, une ablation par radiofréquence ou une chimioembolisation [208]. Les patients ayant reçu des traitements de chimio-embolisation sont plus prompts à présenter des altérations des artères hépatiques. En effet la chimio-embolisation induit une ischémie liée à l'injection de microparticules de taille comprise entre 300 et 700 µm. Cette ischémie induit un recrutement par les hépatocytes d'apport sanguin de la veine porte ou de vaisseaux artériels extrahépatiques. Ce réarrangement de l'architecture vasculaire augmente les chances de viabilité des cellules tumorales et augmente le nombre de traitements de chimio-embolisation nécessaire. Ce mécanisme est indépendant de la tumeur et intervient à chaque procédure d'embolisation [208,223].

Les patients qui sont dirigés vers la SIRT, doivent notamment avoir une confirmation du chirurgien que leur tumeur ne peut pas être enlevée chirurgicalement [175].

4.2.1.2. Score de performance

Une évaluation de l'état de santé général et physique du patient est effectuée à l'aide du score de performance ECOG (*Eastern Cooperative Oncology Group*) ou d'un score équivalent tel le score Karnofsky (cf. Tableau V) [208]. C'est un des facteurs les plus important dans la détermination de l'éligibilité et de la pré-sélection du patient pour la SIRT [193]. Il comporte 5 niveaux tels que décrits dans le Tableau V suivant. Les patients éligibles pour la SIRT doivent avoir un score entre 0-2 pour ECOG, ou au moins 60 % pour le score de Karnofsky [152]. Les patients avec un score ECOG supérieur à 2 sont contre-indiqués pour la SIRT car ils ont plus de risques de présenter une insuffisance hépatique et une mortalité associée au traitement [172,258]. L'apparition d'effets secondaires sévères ou d'une insuffisance hépatique liée aux radiations est plus commune chez les patients avec un mauvais score de performance [215]. Malgré tout chaque patient est un cas unique et certains patients avec un faible score de performance peuvent éventuellement bénéficier du traitement.

Echelle ECOG	Description	Equivalence au Score Karnofsky (%) [193,208]
0	Pleinement actif, capable de réaliser toute activité telle qu'avant l'apparition de la maladie sans aucune restriction. (Asymptomatique).	100
1	Restreint dans les activités physiques fatigantes, mais capable de marcher et capable de réaliser un travail léger ou de nature domestique ou de bureau. (Symptomatique)	80-90
2	Capable de marcher et de s'occuper de soi mais incapable de réaliser des activités de travail. Debout plus de 50% de la journée. (Symptomatique)	60-70
3	Capacité limitée à s'occuper de soi, confiné au lit ou la chaise plus de 50% de la journée. (Symptomatique)	40-50
4	Complètement handicapé. Ne peux s'occuper de soi seul. Totalement confiné au lit ou à la chaise.	20-30
5	Mort	0

Tableau V : Statut de performance ECOG et équivalence Score Karnofsky

Sources : Oken, M.M., Creech, R.H., Tormey, D.C., Horton, J., Davis, T.E., McFadden, E.T., Carbone, P.P.: Toxicity And Response Criteria Of The Eastern Cooperative Oncology Group. Am J Clin Oncol 5:649-655, 1982. et [193,208].

4.2.1.3. Imagerie hépatique pré-thérapeutique

La réalisation d'un scanner (TDM) ou/et d'une IRM permet de définir l'état des lésions hépatiques, d'évaluer l'ampleur de la maladie et de visualiser la présence ou non de maladie extrahépatique [260]. Les patients avec des tumeurs extra-hépatiques ne sont pas éligibles pour la SIRT qui est une intervention localisée au foie et n'aura donc aucune influence sur les métastases extrahépatiques. Ces patients doivent être dirigés vers une thérapie systémique plutôt qu'une approche locorégionale. Une TEP-TDM au ¹⁸F-FDG peut aider à visualiser les lésions extra-hépatiques ou des métastases hépatiques dans le cas où ces tumeurs sont avides de glucose ce qui n'est pas toujours le cas des CHC. La sensibilité de la détection du CHC par la TEP-TDM au ¹⁸F-FDG entre 50-70 % est sousoptimale [209]. L'évaluation des lésions hépatiques par imagerie permet de définir le stade de l'évolution de la maladie afin de diriger les patients vers le traitement le plus approprié au moment du diagnostic. Dans le cadre de la SIRT cette évaluation permet la détection d'éventuelles contreindications mais aussi la planification de traitement [57]. Les images hépatiques TDM et IRM sont utilisées pour localiser la tumeur, évaluer la charge tumorale et calculer le volume de la tumeur et du foie à des fins dosimétriques. Elles permettent une première visualisation et évaluation de l'anatomie des artères et de la vascularisation tumorale qui sera plus approfondie dans la deuxième étape préthérapeutique avec une angiographie [232]. L'imagerie permet également d'évaluer la perméabilité de la veine hépatique et donc l'éventuelle présence d'une thrombose de la veine porte (TVP). La TVP n'est pas une contre-indication pour un traitement par les TheraSphere®. En revanche, du fait de l'effet embolique plus prononcé des microsphères de résine, la TVP était indiquée comme contre-indication pour les SIR-Spheres[®] [152]. Cependant, des études récentes ont montrées qu'elles pouvaient également être utilisées chez des patients ayant une TVP [57,173,209,261,262]. Ces images sont aussi nécessaires pour évaluer la réponse tumorale au traitement en les comparant aux images post-traitement [208].

4.2.1.4. Evaluation de la fonction hépatique et marqueurs tumoraux

Le succès de la SIRT et l'apparition d'effets secondaires sont directement liés à l'état de la fonction hépatique après le traitement. Une évaluation de l'état de la fonction hépatique et de l'état cirrhotique du foie doit donc être réalisé dans cette première étape pré-thérapeutique [175].

Les fonctions du foie sont multiples : fonction biochimique, de synthèse et d'excrétion [263]. Les fonctions et le métabolisme du foie peuvent être évalués indirectement par la réalisation d'un dosage sanguin (bilan hépatique) de certaines enzymes ou substances produites ou transformées par le foie [264]. Un taux anormal de ces protéines traduit un dysfonctionnement hépatique et donc un dommage éventuel au foie [263].

L'évaluation de la fonction hépatique se fait ainsi par l'analyse sanguine : des transaminases (ASAT : Asparatate-aminotransférase et ALAT : Alanine-aminotransférase) enzymes du cytoplasmes des hépatocytes [265] et dont une élévation du taux traduit des dommages au foie, de la bilirubine sérique (composé issu de la dégradation des hématie, métabolisé par le foie), et l'albumine et des facteurs de coagulation (protéines produites spécifiquement par le foie).

4.2.1.4.1. Les transaminases

Les transaminases normalement intra-cellulaires sont libérées dans la circulation sanguine en cas de lésions au foie [263,264]. Elles interviennent dans la synthèse de la glutamine et de l'acide pyruvique [265]. L'ALAT ne se trouve que dans le foie (et les muscles) tandis que l'ASAT se retrouve dans plusieurs organes tels que les muscles, le cœur, les reins, le cerveau et le foie, dans le cytoplasme des cellules mais également au niveau mitochondrial. Le dosage de l'ALAT est donc plus spécifique que celui de l'ASAT [263,264,266]. Les taux sériques des transaminases augmentent en cas de maladie hépatique : hépatite aigue ou chronique, cirrhose, infection ou cancer. Le degré d'augmentation variant en fonction de la maladie [263,266]. Le taux sérique maximal considéré comme normal de ces enzymes est de 19 U.L⁻¹ pour les femmes et de 31 U.L⁻¹ pour les hommes [265].

4.2.1.4.2. La bilirubine

La bilirubine est un pigment biliaire jaune qui provient de la dégradation des globules rouges et plus particulièrement de la partie contenant le fer : l'hème [267,268]. Cette dégradation est effectuée principalement dans la rate et aboutit à la production de bilirubine non conjuguée (ou bilirubine IX alpha). C'est une forme libre de la bilirubine (toxique) qui est lipophile et insoluble en milieu aqueux. Elle est transportée vers le foie par liaison à l'albumine dans la circulation sanguine afin d'être éliminée dans la bile. La métabolisation de la forme libre de la bilirubine en forme conjuguée est réalisée par le foie. La bilirubine non conjuguée est captée par les hépatocytes dans le cytoplasme puis est conjuguée à l'acide-D-glucuronique afin de la rendre soluble, elle peut ensuite être excrétée par une protéine transmembranaire dans la bile dans le canal biliaire. Elle est ensuite dégradée dans la lumière intestinale [268–270]. En cas de défaut d'excrétion biliaire des hépatocytes la bilirubine conjuguée peut être excrétée dans le plasma, mais elle est normalement absente du sérum [264]. Un taux élevé de bilirubine dans le sang peut traduire un dysfonctionnement hépatique (bien que d'autres facteurs tels que l'hémolyse ou une obstruction du canal biliaire peuvent également jouer sur le niveau de bilirubine sérique) [270]. Le dosage de la bilirubine (totale) prend en compte les deux formes libres et conjuguées. Le taux normal de bilirubine (< 17 μ mol.L⁻¹; < 10 mg.L⁻¹[264]) est une balance entre sa production et son élimination par le foie [266].

4.2.1.4.3. Les protéines produites spécifiquement par le foie

Le foie produit et excrète dans le sang de manière spécifique des protéines importantes telles que l'albumine et les facteurs de coagulation. Une diminution du taux de ces protéines peut indiquer une maladie hépatique. Ainsi le taux d'albumine sérique et le temps de prothrombine sont des indicateurs plus spécifique de la fonction hépatique [267,270].

L'albuminémie est diminuée en cas d'insuffisance hépatique [264]. Le dosage du taux d'albumine sérique fait partie des systèmes de classement comme le score de Child-Pugh par exemple [266].

Le temps de Quick (TQ) ou temps de prothrombine (TP) dont l'expression des résultats a été standardisée par le rapport international normalisé (RIN) évalue la fonction de synthèse de facteurs de coagulation du foie. Le temps de prothrombine est un indicateur universel de l'insuffisance hépatique. Ce test permet de mesurer le temps nécessaire à la coagulation du sang. Un temps de coagulation plus long, indiquant un taux de facteurs de coagulation plus faible peut indiquer des dommages ou une maladie du foie [264,266].

L'évaluation des patients avec un CHC est très différente de celle des patients atteints de maladie métastatique hépatique. Il est rare pour les patients atteints de tumeur hépatiques secondaires de présenter des fonctions hépatiques élevées, en particulier le taux de bilirubine sérique qui est habituellement normal [193].

Les meilleurs indicateurs de la fonction hépatique générale sont le temps de prothrombine, le dosage sérique de l'albumine et celui de la bilirubine totale [208].

4.2.1.4.4. Le score de Child-Pugh

Une partie de ces analyses biologiques est ainsi reprise dans le système de Child-Pugh qui fait partie de certains algorithmes de classement du CHC comme le système BCLC (Barcelona Clinic Liver Cancer ou le CLIP (Cancer of the Liver Italian Program) [37]. Ce système d'évaluation de la fonction hépatique prenant en compte 5 paramètres a été premièrement développé en 1964 sous le nom de score de Child-Turcotte. Ce premier système a été développé à l'origine pour prédire le résultat de la chirurgie de traitement de l'hypertension de la veine porte chez les patients cirrhotiques. Un des 5 critères a été ensuite modifié par Pugh *et al.* en 1973 prenant alors le nom de score de Child-Pugh [270]. Le score de Child-Pugh permet une classification du niveau de la cirrhose. Cette classification comprend l'évaluation de 5 variables différentes [232]:

- la bilirubine sérique,
- l'albumine sérique,
- le temps de prothrombine (PT) (ou temps de Quick)/Ratio International Normalisé (RIN),
- la présence ou non d'encéphalopathie,
- la présence ou non d'ascites.

Selon le niveau de chaque variable, des points sont attribués afin de définir le score de Child-Pugh (cf. Tableau VI). Le score obtenu est défini selon le total de points atteint [14,270]:

- de 5 à 6 points : Classe A,
- de 7 à 9 points : Classe B,
- de 10 à 15 points : Classe C.

Tableau VI : Définition du score de Child-Pugh

	1 point	2 points	3 points
Encéphalopathie	Absente	Confusion	Coma
		(Grade I-II)	(Grade III-IV)
Ascite	Absente	Minime	Abondante
		(Facile à contrôler)	(Difficile à contrôler)
Taux Bilirubine	< 35 µmol.L ⁻¹	35 à 50 μmol.L ⁻¹	> 50 μmol.L ⁻¹
	< 2,0 mg.mL ⁻¹	2,0-3,0 mg.mL ⁻¹	> 3,0 mg.mL ⁻¹
Taux Albumine	> 35 g.L ⁻¹	28 à 35 g.L ⁻¹	< 28 g.L ⁻¹
Taux de prothrombine	> 50 %	40 à 50 %	< 40 %
Ou Temps de Quick	< 4,0 sec	4,0-6,0 sec	> 6,0 sec
Rapport International	< 1,7	1,7-2,3	> 2,3
Normalisé (RIN)			
Modifié d'après [14,270]			

4.2.1.4.5. L'alpha-fœtoprotéine (AFP)

Plusieurs marqueurs du CHC ont été proposés et certains sont utilisés en clinique pour la détection du CHC [271] dont l'alpha-fœtoprotéine (AFP). Ce marqueur tumoral du CHC peut également être dosé au cours du diagnostic et de l'évaluation pré-thérapeutique [208]. C'est une protéine qui est produite par le foie en cas de tumeur ou de cirrhose [264].

L'alpha-fœtoprotéine est une glycoprotéine sérique d'environ 70 kD [271] qui a été reconnue comme marqueur du CHC il y a plus de 50 ans [272]. Elle a été premièrement décrite dans les années 1960 [271]. La concentration sérique de l'AFP décroit rapidement après la naissance et sa production est réprimée chez l'adulte en temps normal. Mais une élévation du taux d'AFP est observée lors de l'hépatocarcinogénèse, dans les carcinomes embryonnaires et dans les cancers gastriques et des poumons [271].

C'est le biomarqueur le plus utilisé dans les programmes de surveillance du CHC et jusqu'à récemment il était inclus dans les recommandations internationales pour la surveillance du CHC [32,273]. Il présente en effet des limites : dans 35 % des cas le taux d'AFP est normal (< 100 ng.mL⁻¹) dans les CHC de petite taille (< 5 cm) [32,271], de plus un taux élevé peut être non-spécifique. En effet chez des patients atteints d'hépatite chronique le taux d'AFP peut être élevé en l'absence de cancer car ils possèdent un taux de régénération d'hépatocytes élevé [271]. De ce fait, le taux d'AFP est plus utilisé dans le cadre du diagnostic que pour la surveillance [32]. Le test a une sensibilité de 39-65 %, une spécificité de 76-94 % et une valeur prédictive positive de 9-50 % pour la présence de CHC [271]. L'utilisation de l'AFP est complexe et sous-optimale à cause des différentes recommandations existantes sur la limite maximale du taux normal d'AFP. De plus on observe une variabilité dans la sensibilité et la spécificité des différents taux maximum utilisés qui peuvent varier selon les différentes étiologies et les différentes populations [271,273]. Toutefois, une augmentation du taux d'AFP est associée à un risque accru de développement du CHC [273].

Il y a débat sur les valeurs, mais un taux d'alpha-fœtoprotéine supérieur à 400-500 ng.mL⁻¹ est considéré comme limite diagnostique pour la présence d'une tumeur chez les patients avec cirrhose [208,271]. S'il est couplé à d'autres techniques de diagnostic tel que l'échographie il permet une augmentation de la détection dans 6-8 % des cas [32]. Le taux d'AFP semble avoir une valeur pronostique au moment du diagnostic chez les patients atteint de CHC : un taux supérieur à 400ng.mL⁻¹ est associé à une charge hépatique plus importante, des lésions multi-lobaires, une invasion de la veine porte et une médiane de survie réduite. Son suivi peut être également utilisé pour évaluer la réponse au traitement chez les patients. De plus l'AFP est un excellent marqueur de l'apparition d'une récurrence *de novo* après le traitement [271].

Parmi les autres marqueurs tumoraux du CHC proposés on trouve [271] :

- des variantes de l'AFP au niveau de la chaine des sucres telles que AFP-L1, -L2 et -L3 ;
- la des-gamma carboxyprothrombine (DCP) qui est une prothrombine anormale présente dans le plasma des patients CHC mais également en cas de déficience en vitamine K ;
- le glypican-3 (GPC-3) qui n'est pas exprimé en temps normal sauf dans le placenta ou le foie fœtal mais qui est exprimé dans la majorité des CHC ;
- l'antigène du carcinome épidermoïde (SCCA : squamous cell carcinoma antigen) qui est surexprimé dans le sang et les tissus tumoraux des patients HCC ;
- la protéine de Golgi 73 (GP73) ;
- le facteur de croissance des hépatocytes (HGF : Hepatocyte Growth Factor) qui dont le taux sérique est plus élevé chez les patients HCC par rapport à des patients cirrhotiques ou avec une hépatite chronique qui n'ont pas développé de cancer ;
- le TGF-β1 ;
- le VEGF.

4.2.1.4.6. Facteurs pronostics de survie

Les principaux facteurs pronostics de survie du CHC sont l'état de la fonction hépatique, la charge tumorale incluant la taille et le nombre de nodules tumoraux et l'invasion vasculaire, le niveau d'alpha-fœtoproteine et le score de performance [34]. Bien que la TEP-TDM au ¹⁸F-FDG ne soit pas une méthode optimale pour l'évaluation pré-traitement ou post-traitement des patients atteints de CHC, elle a une valeur pronostic étant donné que les CHC pour qui l'absorption de ¹⁸F-FDG est négative ont un meilleur pronostic que les CHC ayant une absorption de ¹⁸F-FDG élevée [209].

4.2.2. Deuxième étape pré-thérapeutique

Les patients qui répondent aux critères de sélection de la première étape pré-thérapeutique sont soumis à une angiographie et une scintigraphie de perfusion hépatique artérielle qui constitue la seconde étape pré-thérapeutique. Le but de cette deuxième étape pré-thérapeutique est d'assurer une distribution ciblée des microsphères d'yttrium à la tumeur [151].

4.2.2.1. Angiographie

Etant donné la variabilité de la vasculature hépatique et de la tendance des tumeurs hépatiques à présenter des shunts artério-veineux, tous les patients doivent passer un examen angiographique [152,208,209,259]. Les malformations artérioveineuses peuvent être soit liées à la tumeur mais également être congénitales [260]. Le but de l'angiographie est d'obtenir une carte détaillée de l'anatomie des artères, d'identifier les variations anatomiques et d'isoler la circulation hépatique en embolisant les vaisseaux extra-hépatiques [152]. L'identification des variations de l'anatomie vasculaire est une étape essentielle dans la SIRT afin de prévenir une distribution hors du foie des microsphères d'yttrium-90 [204].

Une première évaluation de l'organisation vasculaire ainsi que des lésions hépatiques est effectuée par imagerie au scanner (TDM) ou par IRM au cours de la première étape pré-thérapeutique permettant une première cartographie artérielle afin d'envisager l'abord de la tumeur [179,232]. L'évaluation angiographique permet une cartographie plus précise, notamment des petits vaisseaux qui ne sont pas visualisables en TDM ou IRM qui sont en-dessous de la résolution spatiale de ces techniques d'imagerie [274].

L'évaluation angiographique est réalisée 1 à 2 semaines précédant l'injection des microparticules marquées à l'yttrium-90 [252,275,276], afin de visualiser l'organisation du lit vasculaire artériel et de définir les artères perfusant la tumeur. Il est parfois nécessaire d'emboliser certains vaisseaux collatéraux avant le traitement, telle que l'artère gastroduodénale afin que les microsphères d'yttrium-90 ne diffusent pas vers d'autres organes risquant d'engendrer des complications cliniques [179,180,215,227].

L'angiographie hépatique est réalisée par l'introduction d'un cathéter au niveau de l'artère fémorale par la méthode de Seldinger [175]. Le cathéter remonte jusqu'au foie en passant par l'artère iliaque puis dans l'aorte au niveau de l'artère mésentérique supérieure, puis par le tronc cœliaque pour arriver dans les artères hépatiques. Une première angiographie de l'aorte abdominale est réalisée, suivie par celle de l'artère mésentérique supérieure. Ceci afin de vérifier qu'il n'y a pas d'artère hépatique accessoire ou de remplacement qui prend son origine au niveau de l'artère mésentérique supérieure. La perméabilité de la veine porte ainsi que la présence de shunts artérioveineux sont également évalués. La présence d'une thrombose tumorale de la veine porte augmente le risque de shunts hépatopulmonaires [260]. L'état des artères et l'absence de sténoses qui pourraient entrainer un risque d'occlusion et un reflux des microsphères vers des organes extra-hépatiques, sont également vérifiées. Les artères du tronc cœliaque présentent de nombreuses variations. Une angiographie du tronc cœliaque est ensuite réalisée pour évaluer l'apport sanguin artériel hépatique et analyser l'anatomie des branches hépatiques : artères hépatiques commune et propre ; pour finir par les angiogrammes des artères hépatiques gauche et droite (qui irriguent les différent segments du foie), ainsi que de l'artère gastroduodénale (qui irrigue vers le pancréas, l'estomac, le petit intestin et l'omentum) [151,152,180,193,208,218,226,232,274,275]. Toutes les artères irriguant la tumeur doivent être identifiées pour assurer un traitement complet et permettre de calculer les volumes

tumoraux à cibler de manière précise. Les calculs dosimétriques doivent être basés sur le volume irrigué par l'artère cathétérisée [208,259].

De plus, de nombreuses artères prenant leur origine des branches de l'artère hépatique vont irriguer des organes extra-hépatiques telles que l'artère falciforme, l'artère cystique, les artères de l'arcade pancréatico-duodénales, l'artère gastroduodénale ou encore l'artère gastrique droite (cf. Figure 9). L'injection des particules d'yttrium-90 via ces artères collatérales conduit à une distribution extra-hépatique des microparticules et à de sérieuses complications qu'il faut donc éviter [275]. Une embolisation prophylactique de certaines artères telle que l'artère gastroduodénale ou l'artère gastrique droite peut être réalisée par la mise en place d'hydrocoïls ou de coïls métalliques qui vont obstruer le flux artériel afin de limiter la distribution des microparticules au foie [179,182,205,259,276]. Si possible l'embolisation des artères est évitée au maximum, les principales artères embolisées sont l'artère gastroduodénale, gastrique droite et cystique. L'embolisation systématique de toutes les collatérales des artères hépatiques n'est plus pratiquée [204].

Cette étape permet également d'évaluer le meilleur placement du cathéter pour le traitement [227]. Dans le cas d'une administration via l'artère hépatique principale, l'irradiation est distribuée aux deux lobes du foie (bien qu'un traitement du foie entier avec les TheraSphere® ne soit pas recommandé). Si la tumeur est restreinte à un seul lobe du foie, le cathéter peut être positionné dans l'artère hépatique droite ou gauche en fonction du lobe affecté par la tumeur. Dans certains cas des traitements hypersélectifs de certains segments de lobe peuvent également être réalisés (en fonction de l'avancement du cathéter dans l'artère artériel) [66,205].

4.2.2.2. Scintigraphie de perfusion (^{99m}Tc-MAA)

Au cours de l'angiographie, (une fois les artères analysées et les embolisations prophylactiques effectuées [152]), une simulation du traitement est réalisée par l'injection de macro-agrégats d'albumine marqués au technétium-99m (^{99m}Tc-MAA) via le cathéter afin de faire une scintigraphie de perfusion hépatique en scintigraphie planaire, TEMP ou TEMP/TDM.

La première utilisation des ^{99m}Tc-MAA pour la prédiction de la biodistribution des microsphères date de la fin des années 1980, précédées au même moment par les microsphères d'albumine sérique humaine marquées au ^{99m}Tc. Dans les années 1960, la biodistribution était évaluée par l'injection des mêmes microsphères de céramique utilisées pour le traitement mais marquées à l'ytterbium-169, un émetteur γ (¹⁶⁹Yb ; E_{γ} = 198 keV ; T_{1/2} = 32 jours) au lieu de l'⁹⁰Y [182]. A la fin des années 70, Grady *et al.* [187] utilisèrent un colorant fluorescent (la fluorescéine) illuminé par de la lumière ultra-violette pour vérifier le positionnement du cathéter placé par laparotomie [182]. Le ^{99m}Tc offre l'avantage

d'être un émetteur γ pur, de faible énergie (E_{max} = 140 keV ; t_{1/2} = 6,02h) qui peut être imagé par TEMP ou TEMP/TDM.

Les ^{99m}Tc-MAA de taille (diamètre : 10-100 µm et 35 µm de moyenne) sont utilisés pour mimer leur comportement, en partant du principe que leur biodistribution sera la même que celle des microsphères [173,175,208,243].

Le CHC présente souvent des shunts artério-veineux à la différence des métastases hépatiques [207,208,259]. Les shunts artériels peuvent détourner une quantité non négligeable de microsphères vers les poumons (shunts pulmonaires) engendrant un risque de pneumopathie radique [112]. Les shunts peuvent également détourner le flux artériel hépatique vers d'autres organes extra-hépatiques tels que les intestins ou encore l'estomac [209].

Cette étape permet de prédire la biodistribution des micropshères dans le foie et de vérifier que la totalité de la zone tumorale est couverte, d'évaluer l'impact éventuel des microsphères sur les tissus sains et de visualiser l'absence de biodistribution extra-hépatique. Elle permet également de mesurer le shunt hépato-pulmonaire et de planifier la dose à administrer par délimitation des volumes de distribution observés en scintigraphie à des fins dosimétriques [175,179].

Une activité de 3-5 mCi (111-185 MBq) de ^{99m}Tc-MAA dans 5mL de solution saline est injectée (avec le même débit que celui du traitement) dans le cathéter pour la réalisation de la scintigraphie de perfusion hépatique [175,260,277]. Avant l'injection il est recommandé d'agiter la seringue pour resuspendre les macroagrégats et éviter leur agglutination afin d'éviter une distribution non homogène [180].

L'angiographie initiale et le site planifié du traitement définissent la manière dont les ^{99m}Tc-MAA vont être injectés. Les shunts hépatiques étant rares dans les métastases hépatiques, l'injection des ^{99m}Tc-MAA en totalité est souvent réalisée au niveau de l'artère hépatique afin d'évaluer en une seule fois leur distribution hépatique totale que ce soit pour le CHC ou les tumeurs hépatiques secondaires. Dans le cas d'une tumeur solitaire et d'un seul traitement planifié, l'injection des ^{99m}Tc-MAA est réalisée avec la position du cathéter déterminée par angiographie. Cependant pour le CHC, les tumeurs sont souvent bilobaires, et dans ce cas si des shunts sont observés, il est nécessaire de diviser par deux la dose des ^{99m}Tc-MAA et de réaliser deux injections et scintigraphies séparées : une dans l'artère hépatique gauche. En effet, chaque tumeur peut engendrer des shunts pulmonaires de degrés variés [152,173,180,193,205,208].

Dans le cas d'un CHC avec une seule lésion, une seule évaluation du shunt pulmonaire est requise ; cependant, si un traitement par fractionnement dans le cadre de lésions multiples est planifié, pour
chaque fraction du traitement le shunt pulmonaire doit être réévalué avec l'injection des ^{99m}Tc-MAA pour chaque artère [208]. De plus dans le cas de traitements répétés, les lésions précédemment traitées peuvent avoir une microsvascularisation remaniée, et donc les scintigraphies ^{99m}Tc-MAA doivent être répétées [205].

La scintigraphie ou TEMP/TDM doit être réalisée dans l'heure qui suit l'injection des ^{99m}Tc-MAA pour éviter au maximum la dégradation normale des ^{99m}Tc-MAA au cours du temps qui peut altérer la qualité de l'image et faussement augmenter le taux de shunt aux poumons. L'activité de la thyroïde et de l'estomac est aussi augmentée par absorption du ^{99m}Tc libre. L'origine de l'activité dans l'estomac n'est pas toujours facile à déterminer (due au ^{99m}Tc libre ou à la présence d'un shunt du foie à l'estomac) [175,180,208,215]. C'est pourquoi du perchlorate de sodium ou de potassium (600 mg) est donné par voie orale quelques heures avant l'angiographie et l'injection des ^{99m}Tc-MAA [175,205,209,215].

La fraction de shunt pulmonaire peut être calculée grâce à une imagerie scintigraphique planaire antéro-postérieure ou une TEMP corps entier, et la biodistribution des microsphères au sein de la tumeur et du parenchyme hépatique sain peut être évaluée sur les images TEMP/TDM [57].

Des régions d'intérêt (ROI) sont délimitées sur les images (projection antérieure et postérieure) autour des poumons et du foie pour mesurer l'activité dans chaque compartiment (poumons, foie, et tumeur pour certains modèles dosimétriques) [57,175,180,209]. La fraction de shunt pulmonaire en pourcentage est calculée par l'équation suivante [249] : le nombre de coups mesuré dans les poumons divisé par la somme du nombre de coups mesuré dans les poumons et le foie, multiplié par 100 [57,180].

Fraction de shunt pulmonaire % = $\frac{Coups ROI_{Poumons} \times 100}{Coups ROI_{Poumons} + Coups ROI_{Foie}}$

- Coups ROI_{Poumons}= moyenne géométrique du nombre total de coups dans la région d'intérêt des poumons sur les vues antérieure et postérieure des scintigraphies ^{99m}Tc-MAA.
- Coups ROI_{Foie}= moyenne géométrique du nombre total de coups dans la région d'intérêt du foie sur les vues antérieure et postérieure des scintigraphies ^{99m}Tc-MAA.

Selon la fraction de shunt pulmonaire, la dose administrée peut être réduite ou le traitement annulé si la fraction de shunt pulmonaire est trop importante (> 20 %).

Il est important de corréler les données de la scintigraphie aux analyses angiographiques et au images TDM si possible, car certaines parties de la scintigraphie peuvent être difficile à lire par la

proximité du tube digestif avec le foie par exemple ou la présence de plusieurs organes dans une petite zone [209,276].

La scintigraphie de perfusion hépatique permet ainsi de visualiser la biodistribution des microsphères au sein du foie, de calculer le shunt hépato-pulmonaire, mais également d'observer des shunts extra-hépatiques (dans la région gastro-intestinale par exemple) qui peuvent ne pas avoir été identifiés au cours de l'angiographie. Si ces shunts sont observés dans l'estomac ou les intestins les patients sont contre-indiqués pour le traitement. Une nouvelle angiographie peut être effectuée pour tenter d'identifier l'artère incriminée afin de l'emboliser, mais ce n'est pas toujours possible si le diamètre de l'artère est trop petit. Une autre alternative est d'avancer le cathéter au-delà de l'origine de l'artère pour éviter le shunt de cette artère mais le volume de biodistribution risque d'être réduit et la thérapie moins efficace (cf. Figure 12) [151,175,209].



Figure 12 : Arbre décisionnel pour l'utilisation des ^{99m}Tc-MAA dans la planification de la SIRT selon les cas d'accumulations extra-hépatiques rencontrés : modifié d'après [278].

L'hypothèse sur laquelle se base la perfusion hépatique scintigraphique selon laquelle les 99m Tc-MAA et les microsphères d'yttrium-90 est la même est source de débat [243]. En effet les 99m Tc-MAA et les microsphères d'yttrium ont un diamètre similaire en moyenne (MAA : 35 µm ; SIR-Spheres[®] : 32,5 µm ; TheraSphere[®] : 25 µm) cependant leur distribution de taille est différente. La distribution de taille des 99m Tc-MAA varie de 10-100 µm et peut aller jusqu'à 150 µm, tandis que la taille des SIR-Spheres[®] est comprise entre 20-60 µm et celle des TheraSphere[®] entre 20-30 µm [66,175,279]. Leur morphologie est également très différente les 99m Tc-MAA sont des agrégats de

forme hétérogène et les microparticules d'yttrium sont sphériques. La densité des ^{99m}Tc-MAA (1,1 g.mL⁻¹) est différente de celle des microsphères ; elle est plus proche des SIR-Spheres® (1,6 g.mL⁻¹) que des TheraSphere® (3,3 g.mL⁻¹) [182]. De plus le nombre de microsphères d'⁹⁰Y injectées diffère par rapport au nombre de ^{99m}Tc-MAA. Les SIR-Spheres® sont environ 300 fois plus nombreuses que les agrégats qui sont environ 50 fois plus nombreux que les TheraSphere®. Les macro-agrégats n'ont pas d'effet embolique sur la circulation artérielle hépatique tandis que les SIR-Spheres® présentent un potentiel embolique plus important que les TheraSphere® [243]. Les ^{99m}Tc-MAA ne sont pas l'analogue optimal des microsphères d'⁹⁰Y [182]. Malgré ces différences, des études ont montré la corrélation des biodistributions des ^{99m}Tc-MAA et des microsphères d'⁹⁰Y [243,278,280]. Cependant, plusieurs études ont montré que ces différences peuvent conduire à une biodistribution non corrélée entre l'étape pré-thérapeutique et le traitement, ainsi qu'à une dosimétrie approximative [182,243,281–284].

Actuellement il n'y a pas d'alternatives au ^{99m}Tc-MAA, c'est pourquoi dans ce travail de thèse, nous proposons une alternative avec le développement d'un vecteur radiothéranostique unique : les microparticules à base d'amidon (SBMP pour *Starch-Based Microparticles*) qui peuvent être marquées au ^{99m}Tc ou au ⁶⁸Ga pour l'étape pré-thérapeutique et au ¹⁸⁸Re pour le traitement (cf. chapitre 2 ; [146]).

4.2.3. Sélection des patients (résumé)

La sélection des patients basée sur les analyses précédemment décrites, est réalisée par une équipe multidisciplinaire. Les patients éligibles pour la SIRT doivent avoir un score de performance et une fonction hépatique favorable, une absence de shunt hépato-pulmonaire significatif et de flux artériel collatéral dirigé vers le système gastro-intestinal et une espérance de vie supérieure à 3 mois [175,209,215]. Selon Salem *et al.* le patient idéal pour la SIRT est un patient de stade Okuda 1 qui présente une charge tumorale inférieure à 50 % du volume hépatique, aucune ascite, un taux de bilirubine normal et un taux d'albumine supérieur à 3 g.dL⁻¹ [208].

La SIRT présente plusieurs contre-indications générales, la grossesse ou l'allaitement ainsi qu'une espérance de vie inférieure à 1 mois ; ce sont des contre-indications absolues [205,251].

Certaines contre-indications sont relatives : un degré élevé de cirrhose du foie (caractérisé par un score de Child-Pugh supérieur à B7), une charge tumorale intra- ou extra-hépatique trop importante, une insuffisance rénale, la présence d'une maladie pulmonaire et la présence de contreindications au cathétérisme de l'artère hépatique et si le patient a reçu un traitement antérieur par radiothérapie externe ou un traitement de chimiothérapie oral dans les deux mois qui précèdent la SIRT à cause de l'augmentation du risque de RILD [205,251]. Au cours de l'évaluation pré-thérapeutique, principalement dans la deuxième étape des contre-indications spécifiques aux microsphères d'yttrium sont recherchées. Deux contre-indications sont absolues : un shunt artério-portal important ; un shunt hépatopulmonaire trop élevé (risque de pneumopathie radique) et la présence de reflux dans les artères irriguant la région gastroduodénale ou un shunt important vers d'autres organes comme les intestins ou le pancréas (risque de pancréatite) [151,251].

Le Tableau VII suivant résume les indication et contre-indications communes pour la SIRT.

Tableau VII : Indications et contre-indications relatives et absolues communes de la SIRT

Indication	Contre-indications relatives	Contre-indications absolues
Maladie non traitable par résection chirurgicale, transplantation hépatique ou par techniques ablatives curatives	Thrombose de la veine porte de la branche principale	Hypertension portale étendue ou non traitée
Maladie non traitable ou réfractaire aux alternatives chimiothérapeutiques ou patient ne souhaitant pas recourir à ces alternatives	Anomalie des voies biliaires ou stents ; exceptions : papillotomie et cholécystectomie	Espérance de vie < 3 mois
Cirrhose du foie compensée ou début de décompensation (Child-Pugh ≤ B7)	Bilirubine sérique > 34,2 μmol.L ⁻¹ (2 mg.dL ⁻¹)	Hépatite active
Score de Performance (ECOG) ≤ 2	Leucocytes > 2.10 ⁹ .L ⁻¹ ou numération plaquettaire > 60.10 ⁹ .L ⁻¹	Distribution extra-hépatique des ^{99m} Tc-MAA en TEMP/TDM
Maladie confinée au foie ou majoritairement hépatique	Débit de filtration glomérulaire < 35 mL.min ⁻¹	Shunts pulmonaires non acceptable (≥ 30 Gy si session unique ; ≥ 50 Gy si session multiples)
Indications pré-opératoires (downstaging)	Rapport International Normalisé (RIN) (coagulation sanguine) > 1,5	

Modifié d'après Braat et al. [204]

4.2.3.1. Critères d'inclusions

Résumé des critères d'inclusion des patients pour la SIRT [57,152,259,261,285] :

- La nature non résécable (inopérable) de la tumeur.
- L'âge du patient doit être supérieur à 18 ans.
- ECOG supérieur à ou égal à 2.
- Paramètre biologiques :
 - o Données hématologiques adéquates :
 - Nombre de granulocytes $\geq 1,5.10^9$.L⁻¹
 - Numération plaquettaire ≥ 50.10⁹.L⁻¹
 - Fonction rénale : taux de créatinine sérique \leq 2,0 mg.dL⁻¹
 - Fonction hépatique : taux de bilirubine sérique \leq 2,0 mg.dL⁻¹
- La possibilité, capacité à subir une angiographie et une cathéterisation sélective des vaisseaux.

- La majorité des patients ont un score de Child-Pugh ≤ 7, cependant un score de Child Pugh plus élevé n'est pas une contre-indication absolue.
- Pour les patients cirrhotiques, le volume tumoral ne doit pas dépasser 50 % du volume total du foie, et pour les patients avec une fonction hépatique normale le volume tumoral ne doit pas dépasser 70 % du volume total du foie.

4.2.3.2. Critères d'exclusion

Résumé des critères d'exclusion des patients pour la SIRT [57,259,261,285] :

- La présence d'un autre type de traitement du cancer du foie.
- Insuffisance hépatique (taux de bilirubine sérique > 2,0 mg.dL⁻¹)
- Un flux sanguin vers le tube digestif qui ne peut pas être corrigé.
- Un shunt pulmonaire trop important (> 30 Gy pour un traitement unique ou > 50 Gy pour un traitement fractionné).
- La présence d'une maladie extra-hépatique.

4.3. Dosimétrie

Le but principal de la SIRT est de délivrer une dose thérapeutique de microsphères d'⁹⁰Y à la tumeur tout en épargnant les tissus sains [57]. La dosimétrie est l'estimation de la dose (exprimée en Gray : Gy) de radiations absorbées dans les tissus qui va être délivrée ou qui vient d'être délivrée. Elle est lié à la quantité de radionucléides délivrée à l'organe cible qui s'exprime en GBq [249].

Avant le traitement il est nécessaire de planifier la dose à administrer et de vérifier qu'il n'y a pas de shunts vers les poumons. L'injection des macroagrégats d'albumine permet de faire une simulation du traitement afin de vérifier la biodistribution des microparticules une fois injectée, mais aussi de calculer la dose à administrer.

Le calcul de dose est basé sur l'analyse des images de la scintigraphie obtenues suite à l'injection des ^{99m}Tc-MAA et sur l'analyse des volumes du foie ou de la charge tumorale sur les images de tomodensitométrie [57].

La méthode de calcul de dose est différente selon le type de microsphères utilisées. Ceci est dû au fait que la biodistribution des microsphères en résine et en verre n'est pas la même [175]. Pour les TheraSphere[®] il existe une méthode, et pour les SIR-Spheres[®] 3 méthodes existent [204,243].

4.3.1. TheraSphere®

La dose recommandée pour le traitement par TheraSphere[®] est comprise entre 80 et 150 Gy (dose cible nominale moyenne [209]) afin d'adapter la dose à chaque cas selon la gravité des hépatopathies sous-jacentes. Les patients CHC atteints de cirrhose sont plus sensible et reçoivent donc une dose moins élevée (de 80-100 Gy) par rapport à des patients sans cirrhose (100-150 Gy) [173,208].

De plus si l'injection d'une seule dose importante pose un problème concernant la tolérance au traitement, une approche fractionnée peut être envisagée, avec par exemple l'injection de deux doses de 50-70 Gy au lieu d'une seule dose de 100-150 Gy [208], tout en vérifiant la dose aux poumons qui ne doit pas dépasser 50 Gy dans le cas d'un traitement par fractionnement (30 Gy dans le cas d'une administration unique) [209,286]. L'évaluation du shunt pulmonaire doit être réalisée avant chaque injection [208].

La dosimétrie est basée sur les formules MIRD (*Medical Internal Radiation Dose* [287,288]). Le modèle de calcul de dose pour les TheraSphere[®] repose sur une équation simplifiée du modèle macrodosimétrique multi-compartimenté MIRD [243] qui correspond au modèle de partition utilisé pour les SIR-Spheres[®]. Il est ainsi également appelé macro-dosimétrie MIRD mono-compartimenté.

Ce modèle part du principe que la biodistribution des particules est homogène au sein du volume traité et que l'yttrium-90 décroit totalement *in situ* [205,208,289]. C'est pour cela qu'elle ne prend en compte que le volume du foie [175]. En réalité la distribution des microsphères est hétérogène et inégale [161,211,212]. Malgré cela cette formule permet d'estimer la dose appropriée pour le traitement de manière constante et reproductible [288].

La méthode de calcul de dose pour les TheraSphere[®] est indépendante du volume tumoral, elle se base uniquement sur la masse de tissu hépatique ciblée définie par imagerie [204,208,243]. Le volume ciblé du foie du patient est déterminé par imagerie TDM ou IRM puis converti en masse en se basant sur un facteur de conversion de 1,03 g.cm⁻³ [173,249,288].

L'équation de base permettant le calcul de la dose d'activité à injecter au patient [151,161,208,215,241,286] :

$$A(GBq)_{verre} = \frac{D(Gy) \times M(kg)}{50}$$

Avec A : l'activité à injecter ; D : la référence de dose et M : la masse du tissu hépatique ciblé.

Cependant cette équation ne prend pas en compte les pertes d'activité dues à la fraction de shunt pulmonaire, une estimation de la dose administrée au foie en prenant en compte le shunt pulmonaire peut donc être apportée par l'équation suivante [249]:

Activité nécéssaire (GBq) =
$$\frac{[Dose désirée (Gy)][Masse de foie ciblée (kg)]}{50 [1-F]}$$

 F : Fraction de l'activité injectée déposée dans les poumons telle que mesurée par l'injection des ^{99m}Tc-MAA. F peut être estimée au maximum à 0,61 ce qui représente l'activité maximale qui peut être administrée aux poumons lors d'une administration de TheraSphere[®].

Une estimation encore plus précise peut également être calculée en prévoyant également l'activité résiduelle du flacon contenant la dose à injecter qui peut être estimée à 2 % pour le calcul avant le traitement, suivant cette éguation [173]:

$$A = \frac{D \times M}{50 \times \left(1 - \frac{\% LSF}{100}\right) \times \left(1 - \frac{\% R}{100}\right)}$$

- A : Activité injectée au volume cible du foie en GBq
- D : Dose absorbée (en Gy) par la masse de foie ciblée
- M : Masse de foie ciblée (kg)
- % LSF : Lung Shunt Fraction : La fraction de shunt pulmonaire calculée à partir des images obtenues suite à l'injection des macro-agrégats d'albumine marqués au ^{99m}Tc à la suite de la cartographie angiographique réalisée lors de l'étape pré-thérapeutique.
- %R : Activité résiduelle du flacon qui est mesurée après l'injection des particules d'yttrium-90, une valeur de 2 % est utilisée pour estimer au plus proche l'activité à injecter avant le traitement.

Après l'injection la dose réellement absorbée par le foie peut être calculée par cette équation [249]:

$$Dose \ au \ Foie \ (Gy) = \frac{50 \ [Activité injectée \ (GBq)][1-F]}{Masse \ de \ foie \ sélectionnée \ comme \ cible \ (kg)}$$

• *F* : fraction de l'activité injectée déposée dans les poumons telle que mesurée par l'injection des ^{99m}Tc-MAA lors de l'étape pré-thérapeutique.

Et en prenant compte de l'activité résiduelle du flacon [208] :

$$Dose (Gy) = \frac{50 [mesure de l'activité avant l'injection (GBq)] \times (1 - LSF) \times (1 - R)}{Masse de foie ciblée (kg)}$$

- A : activité injectée.
- D : Dose délivrée absorbée par la masse de foie ciblée.
- LSF : Fraction de shunt pulmonaire mesurée sur les images obtenues après l'injection des ^{99m}Tc-MAA lors de l'étape pré-thérapeutique.
- R : Activité résiduelle du flacon après l'injection.

L'activité injectée ne doit pas engendrer une dose aux poumons supérieure à 0,61 GBq [204]:

% Fraction pulmonaire x A (GBq) = 0,61 GBq au maximum.

4.3.2. SIR-Spheres®

Pour les SIR-Spheres[®], il existe 3 méthodes permettant de calculer l'activité de la dose à injecter :

- la méthode empirique,
- la méthode SC (Surface Corporelle ou BSA pour Body Surface Area),
- le modèle de partition (méthode MIRD [227]).

Ces méthodes se basent également sur le principe d'une biodistribution uniforme des microsphères au sein du foie et d'une décroissance complète *in situ* [208].

4.3.2.1. La méthode Empirique

C'est la première méthode développée pour les microsphères en résine [205,249]. Et c'est cette méthode qui a été utilisée lors de l'essai clinique des SIR-Spheres[®] [290].

Cette méthode se base sur la charge tumorale du foie pour définir la quantité d'activité à injecter (cf. Tableau VIII) [249]:

- Si la tumeur représente 25 % ou moins de la masse totale du foie définie par TDM : la dose recommandée est de 2 GBq.
- Si la charge tumorale est supérieure à 25% de la masse totale du foie définie par TDM : la dose recommandée est de 2,5 GBq.
- Si la tumeur est supérieure à 50% de la masse totale du foie définie par TDM : la dose recommandée est de 3 GBq.

Tableau VIII : Dosimétrie des SIR-Spheres[®] : Méthode de calcul Empirique basée sur la charge tumorale

Pourcentage de	Activité				
charge tumorale	recommandée				
au sein du foie					
< 25 %	2,0 GBq				
25-50 %	2,5 GBq				
> 50 %	3,0 GBq				
Source : [205,208,290].					

L'inconvénient de cette méthode est que la dose au foie sain (et donc la tolérance au traitement) n'est pas prise en compte, ce n'est donc pas une approche individualisée, et elle peut exposer les patients à un risque de toxicité liée à des irradiations non nécessaire ou une dose insuffisante à la tumeur [205,215,227,243].

Du fait de la faible activité spécifique des SIR-Spheres[®], un grand nombre de particules est donc injecté, cependant chez certains patients on observe une saturation du lit vasculaire artériel qui ne peut accepter la totalité des microparticules de la dose initialement prescrite [205,208,246]. Cette saturation engendre une embolisation qui limite l'action des rayonnements ionisants dû à l'hypoxie engendrée [291,292]. L'aspect sélectif et les bénéfices de la SIRT sont donc perdus. Cette situation est souvent rencontrée avec l'utilisation de ce modèle empirique avec jusqu'à 50 % de la dose non injectée pour cause de saturation des vaisseaux [249]. La méthode SC ou le modèle de partition est donc recommandé pour les SIR-Spheres[®] [249].

4.3.2.2. La méthode SC (Surface Corporelle ou BSA pour Body Surface Area)

Cette méthode qui est la plus utilisée pour la radioembolisation avec les microsphères en résine [203,243,290], est une variante de la première méthode empirique présentée dans le paragraphe précédent. L'activité est calculée et adaptée en fonction de la taille de la tumeur et de la taille du patient (surface corporelle) [209,290]. Ce modèle part du principe que la taille des patients est en corrélation avec la surface corporelle et permet donc d'ajuster la dose en fonction de ces proportions [203].

Elle a été introduite par Van Hazel à la suite de l'observation d'hépatites dues aux radiations (RILD pour *radiation-induced liver disease*), chez des patients avec des foies de petite taille [249]. Elle suppose une corrélation entre la surface corporelle et la masse du foie ou la charge tumorale hépatique, mais des expériences ont montré qu'il n'y en avait pas [243].

Cette méthode permet également le traitement de différentes lésions situées dans des lobes différents [227], un facteur de correction est appliqué pour les traitements concernant un lobe particulier du foie (cf. équation 3) [293].

Cependant la première méthode empirique présentée et la méthode BSA, ne prennent pas en compte le degré d'absorption tumorale, les méthodes dosimétriques telles que le modèle de partition doivent donc être plutôt utilisées [205].

Cette méthode de calcul est appropriée pour de petites lésions avec une marge diffuse, tout comme les métastases [203].

Cette approche comme la précédente méthode empirique peut également exposer les patients à un risque de toxicité liée à des irradiations non nécessaires ou une dose insuffisante à la tumeur [205,215,227,243].

La méthode SC est basée sur les calculs suivants [204,205,208,215,243,249,290] :

1) Premièrement la Surface corporelle (BSA) en m² est calculée :

 $BSA(m^2) = 0.20247 \times [hauteur(m)]^{0.725} \times [poids(kg)]^{0.425}$

2) L'activité est ensuite calculée selon l'équation suivante :

 $A (GBq) = (BSA - 0,2) + \frac{volume \ tumoral}{volume \ tumoral + volume \ du \ foie}$

3) Dans le cas d'un traitement d'un lobe, un facteur de correction est apporté dans l'équation. L'apport du facteur de correction ne change rien entre les deux équations dans le cas d'un traitement du foie entier [293]. $Activité (GBq) = \left(BSA - 0.2 + \frac{Volume \ tumoral}{Volume \ du \ lobe \ du \ foie}\right) \times \frac{Volume \ du \ Lobe \ du \ foie}{Volume \ total \ du \ foie}$

4.3.2.3. Le modèle de partition (ou méthode multi-compartimentale de macro-dosimétrie MIRD)

Cette méthode a été développée à partir de la méthode MIRD (*Medical Internal Radiation Dose*) : elle considère la tumeur et le foie sain comme deux organes différents [215]. Elle repose donc sur la délimitation de 3 compartiments distincts (les poumons, la tumeur et le parenchyme hépatique sain). Cette méthode peut être appliquée uniquement si une délimitation de la tumeur et du parenchyme hépatique sain est réalisable [203].

Ce modèle de calcul s'applique généralement pour des tumeurs hépatiques uniques et discrètes [243], mais suite à une modification il peut également être appliqué dans le cadre de lésions multiple si celle-ci sont bien localisables. Il est donc très peu utilisé dans le cadre de métastases hépatiques étant donné leurs caractéristiques : lésions diffuses infiltrant le parenchyme hépatique [203].

Bien qu'en réalité la distribution des microsphères d'yttrium-90 ne soit jamais uniforme et plutôt inégale, ce modèle MIRD d'estimation de dose part du principe d'une biodistribution uniforme. Malgré cela cette méthode donne des estimations de doses consistantes et reproductibles [288].

Afin d'appliquer cette méthode, plusieurs paramètres doivent être parfaitement déterminés : le volume tumoral, le volume du parenchyme sain et celui des poumons [249], ainsi que leur masse et l'activité retrouvée dans chacun de ces volumes à partir de la scintigraphie des ^{99m}Tc-MAA. Le rapport d'activité Tumeur/Foie sain (T/N), ainsi que le pourcentage de shunt pulmonaire sont également calculé et pris en compte dans le schéma de cette méthode pour déterminer la dose à administrer au patient [290].

La dose maximale de rayonnements au foie sain et aux poumons est déterminée comme facteur limitant. L'activité maximale qu'il est possible d'administrer au patient est calculée tout en respectant ces limites. Ainsi la dose au foie sain ne doit pas dépasser 80 Gy pour les patients sans hépatopathie sous-jacente, et 70 Gy pour les patients atteints de cirrhose. Concernant la dose aux poumons elle ne doit pas dépasser 25 Gy et être de préférence inférieure à 20 Gy. La dose reçue par la tumeur n'est pas limitée [290].

Selon cette méthode la formule suivante permet de calculer la dose de rayonnement reçue par un organe (ici le foie) ayant reçu des SIR-Spheres[®] [249,290] :

Dose de rayonnement du foie (Gy) = $\frac{49670 \times Activité totale d'Y^{90} \text{ dans le foie (GBq)}}{Masse du foie (g)}$

 Où 49670 est une constante de conversion de dose absorbée qui dérive des équations du modèle dosimétrique MIRD et qui exprime l'énergie moyenne relarguée par l'⁹⁰Y pendant le processus de décroissance en supposant que toute l'énergie β⁻ est absorbée dans les tissus.

L'activité calculée la plus faible obtenue par ces deux équations doit être utilisée. Certains paramètres de ces équations se calculent selon les équations suivantes :

Le rapport T/N se calcul selon l'équation suivante :

$$T: N = \frac{A_{tumeur} / M_{tumeur}}{A_{foie} / M_{foie}}$$

- Atumeur : l'activité au sein de la tumeur, calculée à partir du scanner des ^{99m}Tc-MAA.
- M_{tumeur}: Masse tumorale en gramme (excluant le parenchyme hépatique sain) déterminée à partir du scanner TDM.
- A_{foie} : l'activité dans le foie total, calculée à partir du scanner des ^{99m}Tc-MAA.
- M_{foie} : Masse totale du foie en gramme (excluant le tissu tumoral hépatique) déterminée à partir du scanner TDM.
- L : Le pourcentage de Shunt pulmonaire : il est calculé selon l'équation suivante [249] :

$$L [Shunt Pulmonaire \%] = \frac{Coups ROI_{Poumons} \times 100}{Coups ROI_{Poumons} + Coups ROI_{Foie}}$$

L'utilisation de ce modèle permet de définir précisément la dose absorbée. Cependant, s'il est appliqué dans un mauvais contexte, par exemple un patient avec une maladie diffuse, les activités calculées ne sont pas adaptées pour la sécurité du patient comme l'a montré Kennedy *et al.* [249].

4.3.2.4. Dosimétrie des SIR-Spheres[®] : Prise en compte du pourcentage de shunt pulmonaire

Les trois méthodes de calcul de dose pour les SIR-Spheres[®] prennent en compte le shunt pulmonaire [243], en réduisant la dose prescrite en fonction de l'importance du shunt pulmonaire afin de réduire le risque d'irradiation des poumons (cf. Tableau IX) [208,243]. Un pourcentage de shunt pulmonaire > 20% est une contre-indication du traitement. Tableau IX : Prise en compte du shunt pulmonaire dans la dosimétrie de planification de dose des SIR-Spheres®

Pourcentage de shunt	Pourcentage de réduction de la				
pulmonaire	dose à administrée				
< 10 % LSF	Pas de réduction de dose				
10-15 % LSF	20 % de réduction de dose				
15-20 % LSF	40 % de réduction de dose				
> 20 % LSF	Contre-indication : pas de				
	traitement				

Source : [208,290].

La dose finale prescrite peut également être ajustée de manière à ce que la dose aux poumons reste en dessous de 30 Gy [260]. La dose cumulée aux poumons peut être calculée selon l'équation suivante :

$$D_{Poumons} = \frac{49\,670 \times (A_{total} \times \frac{LSF}{100})}{M_{Poumons}}$$

- D_{Poumons} : Dose cumulée aux poumons en Gy.
- Atotal : Activité totale prescrite en GBq.
- LSF : Fraction de shunt pulmonaire.
- M_{Poumons} : Masse totale des poumons estimée à 1 kg.

4.3.3. Avantages et inconvénients des méthodes de calcul de dose pour les microsphères d'⁹⁰Y

Concernant les méthodes dosimétriques SIR-Spheres® :

- La méthode la plus ancienne : la méthode empirique n'est plus utilisée. En effet ce n'est pas une approche de calcul personnalisée car elle est basée uniquement sur la charge tumorale et ne tient pas compte des autres données cliniques du patient. Elle est associé à un profil de toxicité défavorable [204,243,260].
- La méthode SC est celle qui est la plus utilisée car elle est plus simple et pratique en routine clinique [175]. Elle est semi-empirique et plus personnalisée car elle prend en compte plus de données spécifiques du patient (Surface corporelle, masse tumorale et masse hépatique saine). Néanmoins l'hypothèse d'une corrélation entre la charge tumorale et la surface corporelle sur laquelle elle est basée n'est pas fondée [243]. La limite de cette méthode est l'absence de prise en compte du volume ciblé dans la méthode de calcul, ce qui peut conduire à un traitement sous optimal (patient de petite taille avec un foie conséquent) ou toxique (patient de grande taille avec un foie de petite taille). Le ratio de biodistribution individuel des microsphères dans la tumeur versus le foie sain ne fait

également pas parti de l'équation. Prendre en compte ce ratio permet de corriger l'activité en fonction d'une tumeur hypervascularisée ou hypovascularisée [204].

La méthode de partition (ou méthode multi-compartimentale) est celle qui prend en compte le plus de données pertinentes relatives au patient. Elle se base sur les données scintigraphiques obtenues suite à l'injection des ^{99m}Tc-MAA et prend en compte la différence de distribution des microsphères entre la tumeur et le foie sain [227,293]. La méthode de partition est la plus précise, mais ne s'applique pas à tous les cas de tumeurs. Elle est parfois difficile à utiliser dans des cas où la ou les lésions tumorales ne peuvent pas être délimitées facilement. De plus, la plupart des patients dirigés vers la SIRT ayant de multiples lésions, son utilisation n'est souvent pas possible. Sa complexité la rend moins attrayante pour une utilisation en routine [204,260].

Concernant la méthode dosimétrique TheraSphere[®] ou méthode MIRD non-compartimentale [57], c'est une méthode simplifiée de la méthode de partition et elle ne prend pas en compte le ratio de biodistribution des microsphères à la tumeur versus le foie sain, ce qui constitue une limite majeure [204,243].

Les méthodes, SC et la méthode TheraSphere[®] sont attrayante par leur simplicité d'utilisation, mais sont cependant sous-optimales. La méthode de partition (muti-compartimentale) fournit une base scientifique plus solide pour le calcul de la dose, et il a été montré par Garin *et al.* [294] qu'elle est applicable aux TheraSphere[®] [204,243]. Elle est supérieure aux méthodes SC et devrait être utilisée lorsque c'est possible [293]. Le modèle de partition offre une amélioration, néanmoins il considère une biodistribution uniforme de l'activité au sein du compartiment tumoral ou du compartiment foie sain ce qui simplifie la réalité [289]. Les microsphères ont en effet une biodistribution hétérogène au sein de la tumeur [213]. Afin d'améliorer la dosimétrie de la SIRT des méthodes dosimétriques basées sur les voxels sont en cours de développement [227,289].

4.3.4. Dosimétrie basée sur les voxels

L'aspect dosimétrique de la SIRT est de plus en plus étudié à la fois pour l'imagerie prétraitement (^{99m}Tc-MAA) et pour les images post-traitement (cf. paragraphe 4.5.2) [295]. Une autre méthode possible est la dosimétrie basée sur les voxels [227]. La méthode des voxels se base sur l'imagerie (scintigraphie pré-traitement ou imagerie post-traitement), et assigne à chaque voxel une dose absorbée. La méthode de dosimétrie voxel 3D permet d'obtenir des cartes de distribution de dose et des histogrammes dose-volume (DVH pour *Dose-Volume Histogram*). Elle permet d'appliquer des modèles de radiobiologie permettant de prédire la probabilité de la toxicité, les complications au niveau des tissus sains, la réponse tumorale et la probabilité de contrôle de la tumeur [243]. Cette méthode à la différence de la méthode de partition est indépendante de la segmentation tumeur/organes à risques. La segmentation de la tumeur et des organes à risque est nécessaire mais à la différence des autres méthodes cette segmentation n'est pas utilisée pour calculer la dose absorbée, mais pour rapporter les valeurs calculées de dose absorbée [289]. Elle prend en compte les dommages biologiques à la tumeur et aux tissus sains en évaluant voxel par voxel la distribution des ^{99m}Tc-MAA. Le but étant d'optimiser la dose maximale à la tumeur tout en tenant compte des limites tolérables pour les tissus sains pour un patient donné et ainsi optimiser la personnalisation du traitement [227]. Elle peut être appliquée aux images pré-traitement pour le calcul de la dose à injecter (scintigraphie ^{99m}Tc-MAA), mais également aux images réalisées post-traitement pour vérifier la distribution des microsphères post-traitement et évaluer la dose absorbée réelle du traitement [295].

4.4. Traitement : Injection des microsphères d'⁹⁰Y

Une fois les examens pré-thérapeutiques (vérification que le patient ne présente aucune contreindication) et la plannification du traitement effectués (avec le calcul de la dose à administrer), l'administration des microsphères peut alors se faire. Etant donné que les vaisseaux peuvent se réarranger rapidement, un artériogramme de contrôle doit être effectué juste avant la SIRT afin de vérifier qu'il n'y a eu aucune revascularisation depuis l'étape de pré-traitement [209,260].

L'injection des microsphères d'yttrium-90 est réalisée à l'aide d'un cathéter (type 3-F [208,226,259]) introduit au niveau de l'artère fémorale. La position du cathéter est la même que celle utilisée lors de l'angiographie et de la simulation du traitement avec l'injection des ^{99m}Tc-MAA. Le traitement doit être effectué dans les 4 semaines qui suivent la sélection du patient et l'étape préthérapeutique [151,227]. Un examen angiographique par fluoroscopie est effectué pour confirmer qu'il n'y a pas eu de formation de nouveaux vaisseaux créant une connexion avec le tube digestif et que toutes les collatérales sont bien embolisées. Cet examen permet également le placement du cathéter de la même manière que lors de l'administration des 99mTc-MAA. L'administration des microsphères d'⁹⁰Y se fait à l'aide de kits d'infusion dédiés à chaque type de microsphères. Ces kits sont conçus pour réduire l'exposition aux radiations des personnes réalisant l'injection [57,296]. Malgré leurs différences, ils sont tous constitués d'une boite en méthacrylate, pour protéger des rayonnements contenant le flacon blindé de microsphères à administrer, d'où partent les connexions d'entrées reliées à une seringue pour exercer la pression et de sortie reliée au cathéter [175]. L'administration des microsphères est dépendante du flux sanguin de l'artère hépatique qui suit la fin du cathéter, par conséquent le cathéter ne doit pas stopper la circulation sanguine. De plus le débit de perfusion des microsphères doit correspondre au flux sanguin de l'artère hépatique [208,259].

Avant le traitement les patients peuvent être soumis à des traitements prophylactiques pour que la SIRT soit plus tolérable et prévenir des effets secondaires indésirables. Par exemple dans le cas où de petits vaisseaux parcourant le système gastro-intestinal ne seraient pas identifiés, les patients peuvent prendre des inhibiteurs de pompes à protons 1 semaine avant la SIRT et continuer 4 semaines au moins après l'intervention, afin de prévenir l'apparition ulcères gastro-intestinaux. Des antiémétiques peuvent parfois être prescrits également [209,215,259]. A la suite de l'injection des antiémétiques et des antidouleurs peuvent être administrés sur demande des patients en fonction des symptômes rencontrés [209].

4.4.1. Administration des SIR-Spheres®

Les SIR-Spheres® en suspension dans de l'eau stérile injectable sont injectées lentement en alternance avec un produit de contraste qui n'est pas en contact avec les microsphères. La pression exercée sur la seringue permettant l'administration des microsphères ne peut pas être mesurée [208]. L'injection du produit de contraste permet un suivi en direct de la distribution des microsphères de résine. Ce suivi est nécessaire et essentiel car les SIR-Spheres® ont tendance, du fait du nombre important de particules injectées, à engendrer une embolisation lorsque le lit vasculaire ne peut accueillir la totalité de la dose. Le suivi fluoroscopique permet d'interrompre l'injection si un reflux ou une stagnation des particules indiquant l'embolie de la vascularisation apparait. Les SIR-Spheres® doivent être injectées à un débit ne dépassant pas 5 mL.min⁻¹ pour éviter tout reflux [205]. Un reflux des particules peut engendrer également la dispersion des particules vers d'autres organes que le foie, ce qu'il faut éviter [209]. L'injection est considérée terminée si toute la dose a été administrée ou si une saturation du lit vasculaire a été observée et dans ce cas l'injection est interrompue. Une méthode indirecte permet de vérifier si toute la dose a bien été injectée ou d'estimer quel pourcentage de la dose a été administré. Une mesure des rayonnements émis par un compteur de radioactivité peut être effectuée des quatre côtés de la boite d'injection par un radiophysicien et comparée avant et après l'injection [175,208]. Le temps d'injection des microsphères recommandé est d'environ 30 à 40 min [259]. Le nombre de SIR-Spheres[®] injectées par traitement est typiquement de 40-80 millions [205]. Selon le fabriquant, la majorité des patients reçoivent entre 1,3 et 2,5 GBq si le foie total est traité. Cependant, les doses absorbées recommandées varient en fonction de la méthode dosimétrique employée et sont encadrées par des limites de sécurité définies (cf. paragraphe 4.3.2). Par exemple pour la méthode SC (ou BSA) la dose recommandée varie entre 2 et 3 GBq et peut être diminuée par selon l'importance du shunt hépatopulmonaire [290].

4.4.2. Administration des TheraSphere®

Les TheraSphere® sont injectées lentement de manière continue dans une solution saline (20 mL pour l'injection et 40 mL pour rincer les tubulures et être sûr que toute la dose a été administrée). Le débit sanguin peut être évalué par l'injection d'une petite quantité test de produit de contraste avant l'administration des particules [208,259]. Une injection à un débit plus rapide que celui de l'artère peut conduire à un reflux et une dispersion des microsphères dans d'autres organes que le foie [208]. La visualisation en direct de la distribution des microsphères de verre n'est pas possible mais est moins importante que lors de l'injection des SIR-Spheres® du fait du faible nombre de particules injectées [209]. Cependant, à la différence du kit des SIR-Spheres®, la dose administrée est suivie au cours de l'injection grâce à un compteur portable qui fait partie du kit d'administration des microsphères [175,208]. Le temps d'injection des microsphères est habituellement de 3 à 5 min [259]. Le nombre de microsphères injectées par traitement est communément de 1,2 à 8 millions de microparticules et la saturation du lit vasculaire n'est donc pas observée avec les TheraSpheres®. La dose absorbée moyenne recommandée par le fabriquant est située entre 80 et 150 Gy. Les patients plus sensibles atteints de cirrhose sont traités avec une dose réduite entre 80 et 100 Gy. La dose recommandée pour un CHC est de 120 Gy tandis qu'elle est de 150 Gy pour les métastases qui ne sont pas associées à une cirrhose [205].

4.5. Suivi post-traitement : Imagerie post-traitement et évaluation du traitement

Une évaluation précise de la distribution des microsphères après le traitement est crucial pour vérifier qu'il n'y a eu aucune déposition extra-hépatique et afin d'évaluer la dose délivrée à la tumeur [252].

4.5.1. Particularité de l'yttrium-90

L'yttrium-90 émet presque exclusivement des rayonnements β^{-} et n'émet pas de rayonnements γ ce qui rend son imagerie difficile.

L'imagerie indirecte de l'yttrium-90 est cependant possible en scintigraphie ou TEMP grâce à l'émission de rayonnements de bremsstrahlung produits au cours de l'interaction des particules β^{-} avec la matière. Les rayonnements de bremsstrahlung sont générés lorsque des électrons rapides sont déviés de leur course par des forces électrostatiques lorsqu'ils s'approchent d'un noyau atomique environnant, ils perdent alors de l'énergie qui est émise sous forme de rayonnements γ (photons) qui peuvent être imagés en scintigraphie ou TEMP. L'imagerie des photons issus du processus bremsstrahlung est inhabituelle en médecine nucléaire, en effet il y a beaucoup de photons diffusés

en bremsstrahlung qui participent au bruit de fond, leur imagerie n'est pas souhaitée habituellement. Par conséquent l'imagerie bremsstrahlung présente beaucoup d'artefacts et une qualité d'image de résolution spatiale faible [96,237,297,298].

L'imagerie directe TEP de l'⁹⁰Y est également possible grâce à la transformation avec une probabilité de 32 atomes d'⁹⁰Y sur 1 million par un effet de production de paires. Une petite proportion d'⁹⁰Y donne naissance à du ⁹⁰Zr qui est dans un état excité, et la désexcitation peut se faire soit par l'émission d'un électron de conversion ou par la création d'une paire électron-positon interne. C'est ce dernier processus qui conduit à l'émission d'un positon qui peut alors être imagé en TEP [96]. Cependant, même si un gain de résolution est obtenu par l'imagerie TEP par rapport à la TEMP bremsstrahlung, du fait d'un très faible rendement de production de positons par l'⁹⁰Y (0,003 %) l'obtention d'une image TEP acceptable prend beaucoup plus de temps que l'imagerie TEMP bremsstrahlung (environ 30 min par position) [175,237,297–300].

L'yttrium-90 possède une autre particularité : l'émission de radiations luminescentes bleues appelée radiations Cerenkov ou luminescence Cerenkov. C'est de la lumière visible et des ultra-violets, émis en présence de particules β^- de haute énergie ou de particule β^+ (positons). L'yttrium-90 est le radionucléide qui produit le plus de rayonnements Cerenkov. L'imagerie en temps réel de cette luminescence est une autre approche innovante pour imager l'yttrium-90, mais celle-ci n'est pas encore utilisée en clinique à ce jour [237].

4.5.2. Evaluation post-traitement de la biodistribution des microsphères

La dose réellement délivrée à la tumeur ainsi qu'aux poumons peut être calculée grâce à ces images post-traitement et peuvent aider à prédire la réponse au traitement [204]. Elles permettent également de vérifier l'absence de biodistribution extra-hépatique. L'identification d'une accumulation dans la zone gastro-intestinale dans l'heure qui suit le traitement permet de prévenir l'apparition d'un ulcère par l'administration d'inhibiteurs de pompes à protons [252].

4.5.3. Evaluation du traitement

Afin d'évaluer la réponse au traitement et de vérifier qu'aucune toxicité sévère ne survient, un suivi du patient clinique, radiologique et par des tests biologiques est effectué après le traitement. Il inclut des tests de la fonction hépatique, un bilan sanguin complet, une analyse des marqueurs de tumeurs (AFP par exemple) et des imageries TDM ou IRM, voir également TEP. Ce suivi est réalisé 2 à 4 semaines après le traitement puis tous les 3 mois pour mesurer la réponse au traitement et la progression de la tumeur [57,215,259].

4.5.4. Evaluation de la réponse au traitement par imagerie

L'analyse de la réponse tumorale par imagerie n'est pas toujours facile à interpréter [57] car l'effet des radiations apparait seulement après 30 jours. Les premières images à 1 mois ne sont pas représentatives de la réponse tumorale. Cependant l'observation d'une augmentation du signal du pourtour de la tumeur (en TDM ou IRM) est un signe précoce de formation d'une capsule fibrotique (et non d'une tumeur résiduelle) qui est un indicateur de réponse au traitement [57]. Une réduction du volume tumoral est généralement observée autour de 8 à 12 semaines après la SIRT. Le parenchyme s'atrophie due à la formation de la fibrose hépatique autour de la zone traitée qui se rétracte. Une altération de la vascularisation est aussi observée dans la zone traitée [57].

La radioembolisation induit habituellement une régression tumorale de degré varié, avec un taux de réponse évalué par imagerie qui varie entre 11 et 70 % selon les critères d'analyse utilisés [254]. Mais la progression tumorale des lésions traitées par SIRT est stoppée dans plus de 90 % des cas [66]. La variation dans le taux de réponse peut être due à plusieurs raisons. Une des raisons principales est le fait que la régression tumorale soit lente et le taux de réponse varie en fonction de la date d'analyse [254]. La réduction du volume tumoral met plusieurs mois à apparaitre. La réponse maximale volumétrique est observée après 3-6 mois et le temps médian de réponse est de 6,6 mois selon les critères WHO selon une étude [301] sur un large panel de patient de Salem *et al.* [66,254]. La régression clinique des tumeurs solides traitées par radiothérapie est un processus lent, ceci est dû au mécanisme de catastrophe mitotique induit par les radiations. Ce terme désigne une mort cellulaire qui intervient pendant ou après une mitose ratée (aberrante). Elle est considérée comme le mécanisme de mort cellulaire par lequel les tumeurs solides répondent à la radiothérapie qui induit des dommages à l'ADN. C'est un processus qui est observé plusieurs jours après le traitement [114].

Une deuxième raison est que la réponse tumorale dépend de la dose réellement délivrée au tissu tumoral (intensité du traitement). Les effets biologiques de la radiothérapie sont médiés par la dose absorbée. Celle-ci dépend de l'activité administrée mais également de la dynamique du flux sanguin artériel hépatique et de la densité des vaisseaux au sein de la tumeur. Ces deux derniers paramètres influencent la biodistribution des particules et donc la dose absorbée.

Après le traitement, des changements intratumoraux de nécrose tumorale et de fibrose apparaissent. Ils peuvent être suivis par imagerie et reflètent la réponse tumorale. En termes de réponse, la nécrose précède la réponse par la réduction du volume tumoral. Mais la fibrose ou la nécrose des tissus tumoraux ne sont pas considérées dans la réponse au traitement si l'on ne tient compte que du volume tumoral [66,302]. Ces critères sont pris en compte par les recommandations de l'EASL [302] (*European Association for the Study of the Liver*) pour l'évaluation de la réponse au traitement des tumeurs.

La TDM permet de visualiser des changements dans la taille des tumeurs ; une altération de la vascularisation ainsi qu'un réhaussement du signal (contraste). Cependant elle n'est pas capable de donner d'information sur la nécrose tumorale. L'IRM peut permettre de mieux identifier la nécrose et de manière plus précoce (à partir de 6-8 semaines post-traitement) que la TDM [57].

Si le patient a été imagé en TEP-TDM au ¹⁸F-FDG avant le traitement, cet examen peut être répété 4-6 semaines après le traitement pour évaluer la réponse précoce à la SIRT [175]. La réponse métabolique est plus sensible et précise pour prédire la réponse tumorale que l'évaluation morphologique par imagerie IRM ou TDM [215].

4.5.4.1. Critères d'évaluation de la réponse au traitement par imagerie

Il existe des recommandations développées au cours du temps pour l'évaluation de la réponse tumorale à la thérapie [259] :

- Les critères de l'Organisation Mondiale de la Santé [303] (OMS ou WHO pour World Health Organization) publiés en 1979 qui se basent sur l'évaluation anatomique des tumeurs
- En 2000, les critères RECIST 1.0 [304] (*Response Evaluation Criteria in Solid Tumors*) mettent à jour les critères WHO. Une nouvelle version RECIST 1.1 est publié en 2009 [305].

Ces méthodes se basent sur une mesure bidimensionnelle ou unidimensionnelle des lésions. Ils permettent de définir 4 situations de réponse tumorale au traitement en fonction des critères définis : la réponse complète, la réponse partielle, la progression de la maladie ou la stabilité de la maladie. L'évaluation se fait en comparant les images post-traitement et à la référence pré-traitement. Des lésions cibles et non cibles sont définies sur l'image de référence. Concernant l'évaluation de la progression de la maladie, celle-ci est effectuée par comparaison d'une image post-traitement à l'image post-traitement qui a permis d'obtenir la plus petite taille des lésions, appelée nadir.

L'évaluation RECIST 1.1 définit les différentes situations de la façon suivante (cf. Figure 13) :

- La réponse complète : disparition de la totalité des lésions.
- La réponse partielle : la somme des plus grands diamètres des lésions cibles est inférieure ou égal à 30 % par rapport à l'examen de référence.

- La progression de la maladie : augmentation de 5 mm ou de 20 % au moins de la plus petite somme des diamètres des lésions cibles du nadir, ou apparition d'une nouvelle lésion ou augmentation de taille des lésions non cible.
- La stabilité de la maladie : critères qui se situent entre la réponse partielle et la progression tumorale [306].



Figure 13 : Schéma critères RECIST 1.1 : modifié d'après [306].

Cependant ces deux systèmes sont plutôt adaptés pour les traitements systémiques et ils présentent des limites lors de leur application à des traitements locorégionaux tels que la SIRT. Ces méthodes sont basées uniquement sur des critères dimensionnels et ne prennent pas en compte la nécrose des tissus par exemple. C'est pourquoi d'autres méthodes d'évaluation ont été proposées proposant une amélioration des critères.

- Un autre méthode : les critères EASL [302] (European Association for the Study of the Liver) publiés en 2001 prennent en compte la nécrose tumorale en se basant sur le pourcentage de changement dans le signal (réhaussement) des tissus tumoraux post-traitement [259,306]. Des études comparatives des critères WHO, RECIST et EASL ont montrés que l'EASL était le plus adapté à l'étude de la réponse tumorale du CHC après traitement locorégional. Elle se base sur l'appréciation du volume tumoral viable.
 - Une réponse complète est définie par l'absence totale d'augmentation du contraste (absence de réhaussement) dans la zone traitée lors d'une étude vasculaire dynamique en IRM ou TDM.
 - Une réponse partielle : correspond à une diminution supérieure à 50 % de l'aire tumorale viable.
 - La progression tumorale correspond à une augmentation supérieure à 25 % de l'aire tumorale viable ou par l'apparition de nouvelle(s) lésion(s).

- La stabilité se situe entre la réponse partielle et la progression et est obtenue par une diminution inférieure à 50 % de l'aire tumorale viable ou une augmentation inférieure à 25 % de l'aire tumorale.
- En 2010, l'AASLD (American Association for the Study of Liver Disease) a modifié les critères RECIST en incluant les critères de l'EASL : mRECIST (cf. Figure 14) [307]. Selon cette méthode la réponse au traitement est évaluée selon la réduction du diamètre de la portion résiduelle vitale de la tumeur [227].
 - La réponse complète est définie de manière identique aux critères EASL.
 - La réponse partielle est définie par une augmentation de la nécrose tumorale supérieure à 30 % ou diminution supérieure à 30 % du plus grand diamètre de l'aire tumorale viable.
 - La stabilité est définie par une baisse inférieure à 30 % ou une augmentation inférieure à 20 % du plus grand diamètre de l'aire tumorale viable.
 - La progression tumorale correspond à une augmentation supérieure à 20 % du plus grand diamètre de l'aire tumorale viable.



Figure 14 : Schéma des critères mRECIST : critères RECIST modifiés d'après les critères EASL : modifié d'après [306].

Il a été montré que la méthode mRECIST permettait d'identifier précisément la nécrose complète de masses tumorales après la SIRT [227]. Cependant l'évaluation post-radioembolisation reste sujette à débats notamment sur le moment optimal d'évaluation. De plus l'évaluation de la portion vitale n'est pas toujours facile surtout pour les patients avec une réponse partielle ou une maladie stable, qui représentent la majorité des cas. La distribution et le réhaussement de contraste de nécrose tumorale sont en effet souvent irréguliers, rendant difficile la mesure de la portion métaboliquement active de la lésion. Par conséquent la mesure de la portion nécrotique a été proposée comme une méthode plus précise, plus reproductible et sensible [227].

4.5.5. Biomarqueurs tumoraux et tests sanguins

Suite au traitement un bilan sanguin des patients est effectué avec vérification du profil de coagulation, des tests de vérification de la fonction hépatique et de la fonction rénale (dosage de l'albumine, de la bilirubine totale, des aminotransférases, de l'urée sanguine et de la créatinine). Ces tests sanguins sont ensuite vérifiés de manière hebdomadaire pendant un mois [175,215]. Le taux d'AFP est également dosé et peut permettre d'évaluer la réponse au traitement [259]. Ces analyses sont comparées aux résultats pré-traitement. Cependant, les marqueurs tumoraux et en particulier l'AFP sont habituellement non-spécifiques. La baisse du taux d' α -fœtoprotéine peut traduire une réponse au traitement. En effet, cette augmentation du taux n'est pas significative d'une non réponse au traitement. En effet, cette augmentation peut provenir soit d'une progression tumorale, soit du phénomène lithique, d'une infection ou de changement dans la fonction hépatique [227].

4.6. Complications, effets secondaires

Suite au traitement, les patients n'ont souvent pas besoin d'être hospitalisés, cependant certains centres préfèrent hospitaliser sur une courte période (sur la nuit principalement) les patients qui sont en stade terminal associé à des comorbidités [175].

De manière globale si les patients sont sélectionnés de manière appropriée et que l'injection du traitement est réalisée de manière ciblée et méticuleuse l'incidence des complications est faible [151]. Les hépatites subaiguës induites par les radiations ou hépatites radiques (RILD) sont rares si les critères de sélection des patients sont bien appliqués [308]. L'incidence de l'insuffisance hépatique ou l'hépatite radique est inférieure à 4 % [227].

Les effets secondaires de la SIRT sont très différents de ceux observés pour les autres techniques d'embolisation [308]. Les effets secondaires les plus communs rencontrés après la SIRT sont la fatigue transitoire principalement, les nausées/vomissements et les douleurs abdominales [309,310]. Dans le cas d'une distribution des microsphères vers d'autres organes que le foie, d'autres effets indésirables peuvent subvenir tels que la formation d'ulcères, de cholécystites [308].

Les principales complications de la SIRT regroupent : le syndrome de post-radioembolisation (incidence 20-55 %), la dysfonction hépatique, les complications biliaires (incidence < 10 %), les ulcères gastro-intestinaux (incidence des complications gastro-intestinales < 5 %), la pneumonite radique (rare avec une incidence inférieure à 1 %, étant donné l'évaluation du shunt hépato-pulmonaire) et la lymphopénie (légère à modérée) [57,227].

Le syndrome de post-radioembolisation rassemble les symptômes suivant : une fatigue (54-61 %) ; les nausées et les vomissements (20-32 %), la fièvre (3-12 %), une gêne abdominal (23-56 %) ; la cachexie et l'anorexie. Ces symptômes sont moins sévères qu'avec la chimioembolisation transartérielle, ne sont que transitoires et ne requièrent pas d'hospitalisation [57,296]. On pense que ces symptômes sont une réaction systémique due aux lésions endothéliales des suites de l'accès intraartériel. Par conséquent des antipyrétiques et des antiémétiques peuvent être prescrits le jour de l'intervention suivant le traitement pour quelques jours [175].

Ces complications apparaissent si une irradiation excessive des tissus sains du foie ou d'organes non ciblés se produit [253] :

- Une irradiation excessive des poumons à cause de shunts hépatopulmonaires trop importants.
- La présence de particules dans l'appareil digestif.
- L'irradiation du parenchyme hépatique sain.

Ces évènements augmentent le risque d'insuffisance hépatique [252] voir même le risque de mortalité dans certains cas, c'est pourquoi l'étape pré-thérapeutique est très importante et doit permettre de détecter toute contre-indication afin d'éviter à tout prix ces complications.

La SIRT est plutôt bien tolérée (aussi bien chez les sujets âgés que chez les jeunes [311]), les patients traités par SIRT ont moins d'effets secondaires que les patients traités par chimioembolisation [57,312].

Lau *et al.* [312] rapportent dans leur étude (71 patients), qu'aucun des symptômes, habituellement observés lors d'un traitement par chimiothérapie, n'est apparu chez les patients de l'étude. De plus, la majorité des patients ont pu suivre une vie normale après le traitement. La médiane de survie de l'étude est de 9,4 mois, avec 2 patients qui ont montré une réponse histologique complète.

5. Etudes cliniques

Les bénéfices de la SIRT pour les patients CHC ont été largement décrits [57,208,313] dans plusieurs études [157,210,286,310,312,314] (cf. Tableau X et Tableau XI).

La sécurité des microsphères d'yttrium a été évaluée dans des études de phase I et de phase II [314], avec une médiane de survie qui varie de 7 à 27 mois pour le CHC de stade intermédiaire [189] et qui s'étend de 7 à 42 mois dans des cohortes de patients présentant des CHC de différents stades [201], basées sur des études rétrospectives d'analyse différentes cohortes. La SIRT est un traitement assez récent et les études de phase III sont limitées, c'est pourquoi la SIRT n'est pas encore répertoriée dans certains algorithmes et recommandations pour le traitement du CHC [227,313].

De nombreuses études ont montré une réponse radiologique et clinique obtenue avec les microsphères d'⁹⁰Y [251]. Une étude de Salem R. *et al.* [301] de SIRT par TheraSphere® chez 291 patients atteints de CHC a montré que plus le score de Child-Pugh est élevé, les résultats et les bénéfices de la SIRT sont plus faible : le bénéfice de la SIRT est plus important chez les patients avec un score de Child-Pugh A qui même avec une thrombose de la veine porte obtiennent de bons résultats tandis que les patients avec un score de Child-Pugh B ont de mauvais résultats. Le délai de progression (TTP pour *Time To Progression* : le temps avant la progression [de la maladie]) global observé était de 7,9 mois [301].

Une méta-analyse de 2009 [248] a comparé plusieurs études cliniques de SIRT (microsphères de verre ou de résine) pour le traitement des tumeurs hépatiques (primaires : CHC, ou secondaires). Toutes les réponses que ce soit réponse complète, partielle ou maladie stable ont été considérées comme une seule catégorie : réponse favorable au traitement ; étant donné que les résultats peuvent varier en fonction des critères utilisés pour évaluer la réponse au traitement (WHO, RECIST, etc. ...). En prenant en compte ce critère, l'étude a montré que pour le CHC, 89 % de réponse était obtenue avec les microsphères de verre.

Les patients de CHC de stade intermédiaire (BCLC-B) représentent une population très hétérogène. La TACE est considérée comme le traitement standard pour ces patients et la SIRT est également une indication pour cette même population. Peu d'essais contrôlés randomisés ont été réalisés pour comparer la TACE à la SIRT dans le traitement du CHC de stade intermédiaire, et les données étaient jusqu'à présent issues d'analyses rétrospectives [227] (cf. Tableau XI). Une étude rétrospective de Salem *et al.* [315] a comparé des patients de CHC de stade intermédiaire traités soit par SIRT soit par TACE et a montré que le TTP était plus long après radioembolisation qu'après la TACE (13 mois versus 8 mois) et que la SIRT était associée avec moins d'effets indésirables que la TACE. Plusieurs études ont également rapporté des résultats similaires. Ainsi selon plusieurs études, la SIRT et la TACE n'ont pas de différence en termes de survie et sont également efficaces, cependant la SIRT semble associée avec une incidence plus faible d'effets secondaires, moins de sessions de traitement et moins de temps d'hospitalisation par rapport à la TACE [214,227].

Le premier essai contrôlé randomisé « SIRTACE », comparant la SIRT et la chimioembolisation transartérielle en tant que première ligne de traitement pour des patients atteints de CHC non éligibles pour des techniques chirurgicales, a été réalisé récemment par Kolligs *et al.* [316] (cf. Tableau XI). Cette étude compare l'impact de la SIRT et de la TACE sur la qualité de vie liée à la santé des patients ainsi

que la sécurité des deux techniques. La SIRT est effectuée en une seule session, tandis que la TACE requière plusieurs sessions. Les deux traitements ont été efficaces pour contrôler la tumeur et ont été bien tolérés. Un autre premier essai contrôlé randomisé par Pitton *et al.* [317] (cf. Tableau XI) comparant la SIRT et une technique particulière de chimioembolisation utilisant des particules encapsulant l'agent chimiothérapeutique (DEB-TACE pour *Drug-Eluting Bead TACE*) a été mené et n'a pas montré de différence entre les deux techniques de traitement.

Plusieurs études de phase III (essais cliniques contrôlés randomisés) de la SIRT sont en cours ou terminés chez les patients CHC de stade intermédiaire ou avancé (STOP-HCC, YES-P, SIRVENIB, SARAH, SORAMIC,...) pour étudier son rôle et son impact clinique, afin de définir sa place dans le traitement du CHC [295,313].

Tableau X : Références d'études cliniques de SIRT

Etudo référence	Microsphères	Tumeur	Dose	Nombre		Résultats	Conclusion	
Liude rejerence	wheres	Tumeur	Dose	patients	Taux de réponse	Survie globale	ТТР	Conclusion
Salem et al. (2010) [301]	TheraSphere [®]	СНС	Médiane : 103 Gy par traitement (99 à 108 Gy)	291 patients (Child Pugh A : 131 CP B : 152 CP C : 8)	42 % (WHO) 57 % (EASL)	Child-Pugh A : 17,2 mois Child-Pugh B : 7,7 mois	7,9 mois	La SIRT peut être utilisée de manière sûre, avec un gain de survie encourageante chez les patients sélectionné correctement.
Carr et al. (2004) [210]	TheraSphere®	CHC non résécable	134 Gy (médiane) 5-10 GBq (2- 4 millions sphères)	65 patients Okuda I : 42 Okuda II : 23	-	Okuda stade I : 649 j (21,3 mois) Okuda stade II : 203 j (6,8 mois)	-	La SIRT par Therasphere® semble étendre de manière significative la survie des patients avec un CHC non résécable avec ou sans thrombose de la veine porte. Elle présente moins de toxicité comparée à la TACE, avec un nombre de traitement et un temps d'hospitalisation plus faible que la TACE. Cependant la SIRT est plus onéreuse que la TACE.
Geschwind <i>et al.</i> (2004) [157] (étude rétrospective de différents centres)	TheraSphere [®]	CHC non résécable	45-270 Gy	80 patients sélectionnés dans une base de 108 patients traités par ⁹⁰ γ Okuda-I : 54 Okuda-II : 26	-	Okuda stade I : 628 j (20,9 mois) Okuda stade II : 384 j (12,8 mois)	-	Chez les patients sélectionnés la SIRT est sûre et bien tolérée et est un traitement prometteur. La survie semble similaire aux rapports des études de TACE au temps de l'étude.
Salem et al. (2005) [286]	TheraSphere [®]	CHC non résécable		43 patients	47 % Réponse objective (Critère : % de réduction taille tumeur) 79 % Réponse (Critère : % de réduction taille et/ou nécrose tumeur)	Médiane de survie Okuda-I : 24,4 mois Okuda-II : 12,5 mois CP-A : 22,7 mois CP-B/C : 13,6 mois		L'utilisation des microspheres d' ³⁰ Y (TheraSphere [®]) fournit une méthode sécurisé et efficace pour le traitement d'un large spectre de patients avec CHC non résécable.
Sangro et al. (2011) [309] (étude multicentrique)	SIR-Spheres®	CHC non résécable	1,6 GBq (médiane)	325 patients (82,5% CP A) (56,3% BCLC C (CHC avancé) et 26,8% BCLC B (CHC intermédiaire))		12,8 mois (médiane de survie générale) BCLC A : 24,4 mois BCLC B : 16,9 mois BCLC C : 10,0 mois		Cette étude fourni une évidence du gain de survie atteinte par la SIRT chez les patients atteints de CHC même avancés avec peu d'option de traitement.

Etude référence	Microsphères	Tumeur	Dose	Nombre patients	Taux de réponse	<i>Résultats</i> Survie alobale	ТТР	Conclusion
Hilgard <i>et al.</i> <i>(2010)</i> [310]	SIR-Spheres®	CHC de stade avancé	120 Gy (±18) (moyenne par traitement)	108 patients (Child-Pugh [CP]-A : 84 CP B : 24) (BCLC A : 2 BCLC B : 51 BCLC C : 55)	Réponse complète : 3 % Réponse partielle : 37 % Maladie stabilisé : 53 % Progression : 6 %	Médiane globale de survie : 16,4 mois Child-Pugh : 17,2 mois Child-Pugh : 6 mois	10,0 mois	La SIRT est un traitement efficace et sûr qui peut être utilisé chez des patients donc la fonction hépatique est compromise. Le délai de progression semble comparable aux études menées avec la TACE.
Mazzaferro <i>et al.</i> (2013) [314]	Therasphere®	CHC intermédaire et avancé	Activité injectée médiane : 2,6 GBq 101 Gy (médiane par traitement)	52 patients BCLC B : 17 BCLC C : 35 CP A : 43 CP B : 9	40,4 % (WHO) 40,4 % (EASL)	Médiane globale de survie : 15 mois	11 mois	Première étude de phase II sur l'efficacite de la SIRT dans les CHC de stade intermédiaire et avancé. La SIRT est un traitement efficace pour les CHC de stade intermédiaire et avancé, particulièrement pour les cas de thrombose de la veine porte.
Kousik <i>et al.</i> 2016 [318]	SIR-Spheres®	CHC et métastase hépatiques		30 patients - 21 CHC (dont 12 avec cirrhose CP A [3] et B [9]) - 9 métastases hépatiques (7 cancer colorectal ; 1 mélanome ; 1 carcinome ovarien)	Réponse complète : 7 % Réponse partielle : 23 % Maladie stabilisée : 50 % Progression : 20 %			Cette étude fournit des preuves de la sécurité et de l'efficacité de la radioembolisation pour le traitement du CHC non résécable et des métastases de tumeurs solide d'origines variées. De plus l'imagerie TEP post- traitement est plus efficace par rapport à l'imagerie bremsstrahlung.
Young et al. (2007) [319]	TheraSphere [®]	СНС	Okuda I : 247 Gy Okuda II : 198 Gy	41 patients		Médiane de survie : Okuda-I : 660 j (22 mois) Okuda-II : 431 j (14,4 mois) (Aucune différence statistique entre ces 2 groupes)		Les patients avec CHC peuvent tolérer une dose cumulative élevée de radiation avec la SIRT. Les patients de stade Okuda I tolèrent mieux les doses cumulées de radiation sans apparition de toxicité hépatique par rapport aux patients de stade Okuda II.

Tableau X (suite) : Références d'études cliniques de SIRT

	Répons		Réponse	au traitement		Movenne de jours			
Etude référence	Traitement	Tumeurs	Doses	de Patients	Taux de réponse (Complète et Partielle)	Survie globale	ТТР	d'hospitalisation par traitement	Conclusion
Lewandowski et SIRT al. (2009) [321] (TheraSphere®) TACE	SIRT (TheraSphere®)	CHC non résécable	110,2 Gy (médiane)	43	61 % (WHO/RECIST) 86 % (EASL)	35,7 mois	33,3 mois	0	
	TACE		-	43	37 % (WHO/RECIST) 71 % (EASL)	18,7 mois	18,2 mois	3	
Kooby et al. (2010) [322]	SIRT (SIR- Sphere®) CHC non résérable	CHC non résécable	-	27	11 % (WHO/RECIST)	6 mois	-	1,7	
	TACE		-	44	6 % (WHO/RECIST)	6 mois	-	6	
Carr et al. (2010) [323]	Carr et al. (2010) SIRT [323] (TheraSphere®)	CHC non	-	99	41 % (WHO/RECIST)	11,5 mois	-	-	
	TACE	resecable	-	691	60 % (EASL)	8,5 mois	-	-	
Salem et al. SIRT (2011) [315] (TheraSphere®)	CUC	110Gy	123	49 % (WHO/RECIST) 72 % (EASL)	20,5 mois	13,3 mois	0		
	TACE	СПС	-	122	46 % (WHO/RECIST) 69 % (EASL)	17,4 mois	8,4 mois	1,8	
Moreno-Luna <i>et</i> <i>al. (2013) [324]</i>	reno-Luna et SIRT 2 013) [324] (TheraSphere®) СНС	CHC non	-	61	51 % (mRECIST)	15,0 mois		0 (médiane) (0-1)	(Réponse complète : 12 % (différence non significative avec la TACE) Réponse partielle : 39 % Maladie stabilisée : 39 % Progression : 9 %)
	TACE	résécable	-	55	51 % (mRECIST)	14,4 mois		1 (médiane) (1-12)	(Réponse complète : 4% -différence non significative avec la SIRT) Réponse partielle : 47% Maladie stabilisée : 34% Progression : 15%)
Kolligs <i>et al.</i> (2015) [316] 1 ^{er} essai contrôlé	SIRT (SIR- Spheres®) CHC non lé résécable (Child	CHC non résécable (Child-	1,6 GBq (activité médiane)	13	76,9 % (RECIST)		3,6 mois	-	Les deux procédures (SIRT et TACE) sont bien tolérées sans effets délétères sur la qualité de vie liée à la santé des patients
randomisé	TACE	Pugh ≤B7)	-	15	73,3 % (RECIST)		3,7 mois	-	et efficaces.
Pitton et al.	SIRT	CHC non	1,8 GBq	12		19,7 mois	12,4 mois	-	Pas de différence significative entre la
(2015) [317] 1 ^{er} essai contrôlé randomisé	(DEB-)TACE	résécable (BCLC stade B)	-	12		26,3 mois	11,2 mois	-	SIRT et la DEB-TACE

Tableau XI : Références d'études cliniques comparant la TACE et la SIRT : modifié d'après Mosconi et al. [57] et Ni et al. [320]

6. Autre système de radiothérapie sélective interne transartérielle pour le cancer du foie utilisé en clinique : le Lipiodol

Le lipiodol est un mélange d'esters éthylique iodés d'acides gras de l'huile de graine de pavot contenant 38 % d'iode (à une concentration de 480 mg.mL⁻¹) [233,325]. Il a été synthétisé pour la première fois en 1901 par Marcel Guerbet et a premièrement été utilisé pour des propriétés thérapeutique dans certaines maladies avant que l'on découvre ses propriétés opacifiantes des rayons-X en 1921 [325]. Il a ensuite été utilisé comme agent de contraste en radiologie notamment pour la lymphographie [159]. Le lipiodol peut parfois être utilisé en thérapie comme source d'iode pour le traitement du goitre [325].

Le lipiodol est également utilisé en tant que traitement palliatif du CHC, soit dans des procédures de chimioembolisation transartérielle lorsqu'il est associé à des composés de chimiothérapie, soit en tant que procédure de radioembolisation transartérielle comme les microsphères d'⁹⁰Y. Dans ces procédures trans-artérielles, le lipiodol est administré de la même manière que les microsphères d'yttrium-90 cependant, à la différence des microsphères, il possède un mécanisme d'action actif [233–235]. En effet le lipiodol a une affinité pour les cellules hépatiques tumorales, qui présentent une rétention intracellulaire prolongée par mécanisme d'endocytose, à la différence des cellules hépatiques saines qui l'excrètent rapidement. Il peut permettre la détection des CHC de petite taille (2 mm) [233]. Une angiographie au lipiodol précédant une TDM permet une augmentation de la sensibilité pour la détection du CHC [326]. Le lipiodol seul n'a pas d'action thérapeutique contre le cancer [233,235]. Cependant lorsqu'il est radiomarqué il sert de vecteur à la radiothérapie sélective interne. Le fait qu'il soit riche en iode fait qu'un simple échange isotopique permet d'incorporer de fortes activités d'iode-131 et d'obtenir du lipiodol radiomarqué [176]. Il a été marqué par plusieurs radionucléides dont l'iode-131 [327,328], le rhénium-188 [329,330], l'yttrium-90 [235,331,332], l'holmium-166 [333], le lutétium-177 [334] et le phosphore-32 [234]. Seulement le lipiodol marqué à l'¹³¹I et au ¹⁸⁸Re ont été utilisé chez l'homme [158], le lipiodol radiomarqué à l'¹³¹I (Lipiocis) ayant obtenu une autorisation de mise sur le marché (AMM) [234].

Le lipiodol marqué à l'¹³¹l a été utilisé comme traitement palliatif du carcinome hépatocellulaire [327,328,335]. La technique d'administration du lipiodol radiomarqué est simple et consiste à l'injection de 3-5 mL de lipiodol radiomarqué (2,2 GBq) dans l'artère hépatique propre de manière non sélective s'il y a plusieurs foyers ou plus sélective si la tumeur est unique ou ne concerne qu'un seul lobe [176]. Le traitement palliatif au lipiodol marqué à l'¹³¹l a donné de bon résultat en terme de taux de survie pour les CHC non opérables [159]. Lintia-Gaultier *et al.* ont montré un bénéfice de survie de 32 semaines pour des patients atteints de CHC avancés traité avec le lipiodol marqué à l'¹³¹l, contre 8 semaines chez les patients non traités [335]. Une réponse partielle ou incomplète (réduction de la taille tumorale ou des marqueurs sanguins) a été retrouvé dans 71 % des patients [158]. Des réponses complètes ont été également observées mais dépendent du type et de la taille de la tumeur. Les tumeurs multinodales ou infiltrantes répondent moins bien et le taux de réponse est inversement proportionnel à la taille de la tumeur. Les petites tumeurs ont une meilleure réponse au traitement que les plus volumineuses (80 % pour une tumeur de taille inférieure à 5 cm contre 22 % de réponse pour une tumeur de 10 cm) [158,159]. Cependant, récemment le lipiodol marqué à l'¹³¹l a été retiré du marché car il présentait des effets secondaires indésirables sur les poumons [336,337]. Ces effets ont également été décrits avec l'utilisation du lipiodol marqué au ¹⁸⁸Re [176].

Le marquage au ¹⁸⁸Re a été développé pour contourner certains problèmes rencontrés avec le lipiodol marqué à l'¹³¹I. En effet l'¹³¹I a une demi-vie longue de 8 jours et émets des rayonnements γ de haute énergie (364 keV) qui sont des inconvénients. Les patients traités doivent être isolés pendant plusieurs jours à l'hôpital après le traitement pour des raisons de radioprotection, ce qui n'est pas nécessaire avec le ¹⁸⁸Re dont les rayonnements y sont moins énergétiques que ceux de l'¹³¹I [175,234,336]. A la différence de l'¹³¹l le marquage du lipiodol par le ¹⁸⁸Re ne se fait pas par échange isotopique et nécessite un chélateur. Différents agents chélatants ont été utilisés et développés au cours du temps [338] : l'EDTB (dérivé de l'EDTA) [339,340], le TDD [341], l'HDD [342], l'AHDD, le N-DEDC [343], le SSS [344] et l'ECD [345]. Le premier marquage du lipiodol par le ¹⁸⁸Re a été réalisé par Wang et al. en 1998 [339,340] par l'utilisation de l'EDTB (N,N,N',N'-tétrakis(2-benzymidazolylméthyl)-1,2-éthanediamine) un dérivé de l'EDTA (acide éthylène diamine tétraacétique). Le marquage se fait par liaison covalent du ¹⁸⁸Re-EDTB et du lipiodol [344]. Cependant la toxicité de l'EDTB n'est pas connue et n'a pas été approuvée pour une utilisation en clinique [345]. Une autre méthode plus facile a été développée par la suite avec l'utilisation de chélateurs lipophiles qui peuvent être solubilisés dans le lipiodol [344]. Le TDD (2,2,9,9-tétraméthyl-4,7-diaza-1,10-décanédithiol) a été développé en 2001 à l'Université Nationale de Séoul. C'est un subtrat lipophile qui une fois marqué par le ¹⁸⁸Re se dissous dans le lipiodol [341]. Le ligand HDD (4-hexadécyl-TDD) a par la suite été développé par la même équipe avec l'avantage d'être encore plus lipophile que le TDD [342]. De plus une étude préclinique sur le modèle de cancer hépatique VX2 chez le lapin a montré que le ¹⁸⁸Re-HDD-lipiodol avaient une meilleure rétention dans les cellules tumorales que le ¹⁸⁸Re-TDD-lipiodol [346]. Une amélioration du kit de radiomarquage a été réalisée par le développement de l'AHDD (HDD acétylé) [338]. Le ¹⁸⁸Relipiodol a une biodistribution similaire au ¹³¹I-lipiodol. Des études de phase I et de phase II ont été menées montrant la faisabilité du traitement par le ¹⁸⁸Re-lipiodol et que le traitement était bien toléré [176]. Le HDD est le chélateur qui a été utilisé dans des études cliniques de phase I [347,348] et II [329,349]. Le rendement de radiomarquage par le ¹⁸⁸Re du lipiodol étant compris entre 50 % et 70 %,

101

d'autres agents chélatants lipophiles ont été développé afin d'améliorer le radiomarquage [350] : comme le N-DEDC (bis-(diethyldithiocarbamato)nitrido) [343], l'EDC (éthyl cystéinate dimer) [345] et le SSS (Super Six Sulphur : [¹⁸⁸Re^{III}(PhCS₃)₂(PhCS₂)]) [344]. Le ¹⁸⁸Re-N-DEDC est obtenu avec une pureté radiochimique de 97 % et le lipiodol est marqué par extraction de phase avec 96 % de l'activité totale initiale du complexe utilisé [338]. L'EDC marqué au ^{99m}Tc est utilisé en clinique comme traceur de perfusion scintigraphique pour le cerveau. Le ¹⁸⁸Re-EDC-Lipiodol a été obtenu avec une pureté radiochimique de 94 % [345]. Le ¹⁸⁸Re-SSS-lipiodol a été développé dans le but d'obtenir un meilleur rendement et une meilleure reproductibilité [344]. Il est obtenu avec un rendement de 87 % avec une pureté radiochimique de 93 % [351]. Une méthode d'automatisation de sa production avec une pureté radiochimique de 92 % et un rendement d'extraction de 98 % [352]. Le ¹⁸⁸Re-EDC- et le ¹⁸⁸Re-SSS-lipidod ont montré une bonne rétention dans les cellules tumorales hépatiques *in vivo* et une stabilité d'au moins 48 h [338].

7. Conclusion

La SIRT est un traitement qui donne des résultats intéressants pour les patients atteints de tumeur hépatique qui ne peuvent pas être traités par chirurgie. Cependant, nous avons vu que l'utilisation des vecteurs cliniques actuels, les microsphères d'⁹⁰Y ou le ¹³¹l-lipiodol présentent certains inconvénients :

- SIRT ⁹⁰Y-microsphères :
- Utilisation d'un vecteur différent pour l'étape pré-thérapeutique (^{99m}Tc-MAA).
- Difficulté d'imagerie post-traitement avec un émetteur β pur.
- Microsphères non biodégradables.
- Couverture de la tumeur non complète (TheraSphere[®]).
- Saturation du lit vasculaire conduisant à une administration de dose non complète (SIR-Spheres[®]).
- Coûts de production.
 - SIRT ¹³¹I-lipiodol :
- Energie élevée de l'émission γ de l'¹³¹I.
- Besoin d'isoler le patient quelques jours après le traitement pour des raisons de radioprotection.
- Présence d'effets secondaires non désirables dans les poumons.
- Coût de la production d'¹³¹I.

Certains aspects de la SIRT nécessitent d'être améliorés. Afin de pallier à ces problèmes différents systèmes microparticulaires ont été développés qui seront présentés dans le Chapitre 3. Ces systèmes cependant présentent également quelques inconvénients.

C'est pourquoi dans ce travail de thèse nous avons développé et optimisé un nouveau vecteur microparticulaire unique pour la SIRT des tumeurs hépatiques : les microparticules à base d'amidon (SBMP pour *Starch-Based Microparticles*), qui peuvent être marquées au ^{99m}Tc ou au ⁶⁸Ga pour l'étape pré-thérapeutique et au ¹⁸⁸Re pour le traitement et l'imagerie post-traitement (cf. Figure 15). Ce vecteur présente plusieurs avantages par rapport à certains systèmes développés présentés dans le Chapitre 3, et pallie à certains inconvénients observés en clinique chez la SIRT.



Figure 15 : Développement d'un nouveau vecteur unique pour la SIRT des tumeurs hépatiques : les SBMP

Chapitre 2 - Microparticules à base d'amidon (SBMP) marquée au ⁶⁸Ga et au ¹⁸⁸Re comme outil théranostique pour le Carcinome Hépatocellulaire : radiomarquage et étude préliminaire in vivo chez le rat. (Partie expérimentale – article [146])

1. Résumé

Objectif : Ce travail vise à développer, valider et optimiser le radiomarquage par le ¹⁸⁸Re et le ⁶⁸Ga des Microparticules à base d'amidon (SBMP pour *Starch-Based Microparticles*) sous forme de kits prêts-àl'emploi, le but final étant d'obtenir un vecteur théranostique unique pour le traitement du Carcinome Hépatocellulaire.

Méthodes : Les conditions optimales de radiomarquage et de la composition des kits lyophilisés ont été définies par le suivi de la pureté radiochimique tout en variant plusieurs paramètres. Des études de stabilité *in vitro* ont été menées, ainsi qu'une étude de biodistribution *in vivo* en tant qu'approche préliminaire avec l'injection intra-artérielle de SBMP radiomarquées au ⁶⁸Ga au niveau de l'artère hépatique de rats induits au DENA suivi d'une imagerie TEP/TDM.

Résultats : Des kits pour le ¹⁸⁸Re et le ⁶⁸Ga ont été optimisés avec une pureté radiochimique élevée et stable (> 95 % et > 98 % respectivement). L'étude préliminaire *in vivo* a été réussie avec plus de 95 % d'activité observée dans le foie et plus particulièrement dans les régions tumorales.

Conclusion : Les SBMP sont un agent théranostique prometteur pour la radiothérapie sélective interne (SIRT) du Carcinome Hépatocellulaire.

2. Introduction

Le Carcinome Hepatocellulaire (CHC), un cancer du foie est le 5^{ème} cancer le plus commun dans le monde et la seconde cause de mort par cancer chez les hommes (7^{ème} cancer le plus commun et 6^{ème} cause de mort par cancer chez les femmes) [4]. Le CHC est associé à un mauvais pronostic, (avec une survie à 5 ans de 12 %) [17]. Selon le stade de la maladie et d'autres paramètres pronostiques [29,35– 37] plusieurs options thérapeutiques sont disponibles, cependant le seul traitement curatif est la chirurgie : la résection ou la transplantation [6,8,17,353].

La Radiothérapie Sélective Interne (SIRT pour *Selective Internal Radiation Therapy*) est une modalité thérapeutique relativement nouvelle [56] qui est de plus en plus utilisée à la fois pour les tumeurs primaires et secondaires du foie [281]. Cette technique consiste à injecter des microsphères marquées à l'yttrium-90 (⁹⁰Y) au sein de la tumeur à travers les artères hépatiques qui la vascularisent.

La SIRT permet ainsi de délivrer des doses élevées d'irradiation tout en épargnant le parenchyme hépatique sain qui est vascularisé par le système veineux [177–179,284]. L'Yttrium-90 est un émetteur β^{-} pur (E_{max} = 2,3 MeV) avec une demi-vie de 64 h (2,67 jours) [136] et un court parcours au sein des tissus (moyenne 2,5 mm et maximum 11 mm) [66].

La SIRT est une procédure en deux temps, avec une étape pré-thérapeutique réalisée avant la thérapie. Une évaluation pré-thérapeutique est tout d'abord effectuée pour évaluer la vascularisation tumorale, les potentielles captations extra-hépatiques et le shunt hépatopulmonaire. A la suite d'une angiographie hépatique de diagnostic, un cathéter est positionné de manière sélective selon la localisation de la tumeur et des objectifs thérapeutiques. Les macroagrégats d'albumine sérique humaine (MAA) marqués au technetium-99m (^{99m}Tc) sont injectés via ce cathéter dans le but de mimer la biodistribution des microsphères d'⁹⁰Y qui seront injectées pour la thérapie dans la seconde étape de la procédure [182]. Les scanners post-infusion ^{99m}Tc-MAA permettent premièrement, l'exclusion des patients présentant un pourcentage élevé de radioactivité ayant diffusé dans les poumons ou dans n'importe quel autre organe, telle que la zone gastroduodénale et deuxièmement, de définir une prédiction de la dosimétrie tumorale. Les deux étapes (pré-thérapeutique et la thérapie en elle-même) sont basées sur la supposition que la biodistribution des microsphères d'90Y et des 99mTc-MAA est identique [243]. Cependant, les MAA ont une taille et une morphologie différente (agrégats de formes hétérogènes dont la taille est comprise entre 10 et 100 μ m [354]) comparé aux microsphères d'⁹⁰Y (de forme sphérique dont la taille est comprise entre 20 et 40 µm [241]) ce qui peut conduire à une biodistribution différente et une dosimétrie tumorale approximative [182,281–284].

Dans le but de pallier à ce problème nous proposons un outil théranostique original, les microparticules à base d'amidon (SBMP pour *Starch-Based Microparticles*), comme système unique à la fois pour l'étape pré-thérapeutique après radiomarquage au ^{99m}Tc ou au gallium-68 (⁶⁸Ga) et pour le traitement après radiomarquage au rhénium-188 (¹⁸⁸Re). Ces radionucléides offrent l'avantage d'être facilement obtenu par l'élution de générateurs (⁹⁹Mo/^{99m}Tc ; ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga et ¹⁸⁸W/¹⁸⁸Re) et ne requièrent pas de cyclotron sur site comme le fluor-18 (¹⁸F) [132,355–357]. Le ^{99m}Tc est un émetteur γ pur (E_{max} = 140 keV ; t_{1/2} = 6,02 h) tandis que le ⁶⁸Ga est un émetteur β^+ (E_{max} = 1,9 MeV ; t_{1/2} = 68 min) ; ils sont utilisés à des fins de diagnostic pour la tomoscintigraphie par émission monophotonique (TEMP ou SPECT pour *Single-photon emission computed tomography*) et la Tomographie par émission de positons (TEP) respectivement. Le ¹⁸⁸Re est un émetteur β^- (E_{max} = 2,1 MeV ; t_{1/2} = 16,98 h) permettant la radiothérapie mais il émet également des rayonnements γ (de 155 MeV) qui peuvent être imagés. Les SBMP ont tout d'abord été développées et brevetées dans notre laboratoire pour la scintigraphie de perfusion pulmonaire et formulées sous forme de kits prêts-à-l'emploi de radiomarquage au ^{99m}Tc [358–360].

Ces microparticules présentent plusieurs caractéristiques intéressantes comme vecteur théranostique pour la SIRT du CHC, *i.e.* une origine non-humaine et non-animale qui garantit une sécurité par rapport à un risque de transmission de maladie et une capacité de complexation des radioisotopes. Utiliser la même particule dans les deux étapes de la SIRT représente un avantage majeur, étant donné que la biodistribution des agents diagnostiques et thérapeutiques doit être identique. De plus les SBMP radiomarquées au ⁶⁸Ga offrent pour l'imagerie et la dosimétrie en TEP une meilleure sensibilité, une meilleure résolution spatiale et une meilleure quantification du signal par comparaison à la SPECT [80,88,361]. Enfin, les SBMP radiomarquées au ¹⁸⁸Re pour le traitement permettent une imagerie post-traitement plus facile, afin de vérifier la distribution de l'agent thérapeutique. Ceci nous a donc conduit à considérer les SBMP comme un vecteur théranostique prometteur pour la SIRT du CHC.

Dans ce travail nous avons été capable de développer et d'optimiser des kits prêts-à-l'emploi permettant un marquage rapide et stable, à température ambiante des SBMP par le ¹⁸⁸Re ou le ⁶⁸Ga. Une biodistribution *in vivo* par TEP/TDM (TEP couplée à un scanner de tomodensitométrie) des SBMP radiomarquées au ⁶⁸Ga et injectées en intra-artériel dans un modèle de rat CHC induit par carcinogène chimique a également été réalisée en tant que test très préliminaire de l'étape pré-thérapeutique, avant les études complètes obligatoires de biodistribution et de dosimétrie, dont la réalisation est nécessaire avant de considérer une utilisation humaine.

3. Matériel et Méthodes

3.1. Matériel

L'amidon de pomme de terre est un don généreux de Roquette Frères (Lestrem, France). Le métapériodate de sodium (NaIO₄), le borohydrure de sodium (NaBH₄), le chlorure stanneux dihydrate (SnCl₂, 2H₂O), le gluconate de sodium et la cadavérine proviennent de Sigma Aldrich (Etats-Unis). L'argon médical a été fourni par Air Liquide Santé (Gentilly, France), et l'eau déionisée a été obtenue d'un système Milli-Q plus (Merck Millipore, Darmstadt, Allemagne). La solution de perrhénate de sodium a été obtenue par une élution saline d'un générateur ¹⁸⁸W/¹⁸⁸Re (IRE, Belgique) et a été ensuite concentrée. La solution de trichlorure de gallium (⁶⁸GaCl₃) est obtenue d'un générateur ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga (50 mCi IGG-100, Eckert&Ziegler, Allemagne), basé sur la technologie de la résine TiO₂. Le générateur est élué avec 5 mL de solution HCl 0,1 N obtenue à partir d'HCl 30 % suprapure (Merck Millipore, Allemagne) dilué dans de l'eau ultrapure (J.T.Baker, Etats-Unis). Les filtres hydrophiles 5 mm pour seringue proviennent de Sartorius (Palaison, France). L'acétate de sodium trihydrate 1 M (pH = 4,1) a été fourni par Eckert&Ziegler (Allemagne).

3.2. La synthèse des Microparticules à base d'amidon (SBMP)

Les microparticules ont été préparées selon une méthode précédemment décrite et brevetée [360]. Brièvement, des microparticules d'amidon natif de la taille désirée, ont été sélectionnées par tamisage, puis oxydées par ajout de périodate de sodium pour obtenir de l'amidon dialdéhyde. Cette étape permet de greffer le ligand, une polyamine : la cadavérine sur les particules d'amidon modifié. La greffe du ligand est stabilisée par une étape de réduction, par ajout de borohydrure de sodium pour obtenir les SBMP (cf. Figure 16). Les fonctions amines de la cadavérine agissent comme agent complexant pour les radiométaux tels que le ^{99m}Tc, le ¹⁸⁸Re et le ⁶⁸Ga.





3.2.1. Mesure de taille

Les mesures de la distribution de taille des particules ont été réalisées à l'aide d'un compteur Coulter Multisizer 3 Coulter Counter (Beckman Coulter, France). Cinq à 10 mg de SBMP ont été mis en suspension dans de l'Isoton II une solution électrolytique faible (Beckman Coulter, France) et aspirés à travers une petite ouverture (200 µm) jusqu'à ce qu'au moins 20 000 particules aient été comptées.

3.3. Formulation des SBMP sous forme de kits prêts-àl'emploi

Les kits prêts-à-l'emploi ont été préparés en ajoutant la quantité désirée de SBMP et 1 mL de NaCl 0,9 %, et selon les besoins des différentes expériences réalisées, une quantité de SnCl₂ et de gluconate de sodium si nécessaire à un flacon stérile. Les microparticules ont été ensuite lyophilisées et conservées sous vide.

3.4. Mesure de la Pureté Radiochimique

La pureté radiochimique (PRC) a été mesurée selon une méthode précédemment décrite [358]. Elle consiste à la filtration de 0,5 à 1 mL de la suspension de microparticules radiomarquées sur un filtre de seringue 5 µm. La PRC est déterminée à l'aide de l'équation suivante :
$PRC (\%) = \frac{Activit\acute{e} \, du \, filtre \, (MBq)}{Activit\acute{e} \, du \, filtre \, (MBq) + Activit\acute{e} \, du \, filtrat \, (MBq)} \times 100$

3.5. Radiomarquage au ¹⁸⁸Re

3.5.1. Détermination de la composition optimale des kits de radiomarquage pour le ¹⁸⁸Re

Afin de déterminer l'influence de chaque paramètre sur la PRC, différentes variations dans la composition du kit et les conditions de radiomarquage ont été testées. Le SnCl₂ est un agent réducteur requis pendant le processus de radiomarquage des SBMP avec le ^{39m}Tc [358,359], ainsi qu'avec le ¹⁸⁸Re [136,137,362,363]. Pour définir la quantité optimale nécessaire pour la complexation du ¹⁸⁸Re avec les SBMP, une gamme de SnCl₂ de 50 µg à 2 mg (n = 3) a été testée sur des kits contenant 300 mg de SBMP. Par la suite, la quantité de particules la plus adaptée a été déterminée sur une gamme de kits contenant de 50 à 400 mg de SBMP et 1 mg de SnCl₂ (n = 3). L'influence de la quantité de radioactivité a été testée avec l'ajout de 100 MBq et de 3 GBq, sur des kits de 300 mg de SBMP avec 1 mg de SnCl₂ (n = 3). L'étape d'optimisation finale a été réalisée avec l'addition de gluconate de sodium : avec une gamme de 0 à 60 mg (n = 3) sur les kits de 300 mg de SBMP sélectionnés. Le gluconate est un chélateur faible qui permet la formation d'un complexe intermédiaire qui facilite la complexation du ¹⁸⁸Re avec le ligand [344]. A l'exception des variations décrites précédemment, dans la plupart des expériences les kits ont été marqués avec environ 100 MBq de perrhénate, 2 mL ou 4 mL de volume réactionnel et 30 min d'agitation au vortex (Vortex-Genie 2T, Scientific Industries, Etats-Unis) avant la mesure de la PRC.

3.5.2. Etude de stabilité in vitro

Des kits contenant 300 mg de SBMP, 1 mg de SnCl₂ et 9 mg de NaCl (n = 3) ont été marqués avec 2,5 mL de perrhénate (3107 ± 422 MBq), suivi par une agitation de 30 min au vortex. Après 1 h de radiomarquage la première PRC est mesurée suivi par des mesures à 6 h et 24 h, dans le but de déterminer la stabilité du radiomarquage au cours du temps. Après la première PRC, 2 aliquots de 0,5 mL ont été prélevés, pour être incubés avec soit 4 mL de plasma de rat pendant 1 h à 37°C, soit avec 4 mL d'histidine 10⁻³ M un chélateur d'ions métalliques pendant 3 h à température ambiante.

3.6. Radiomarquage au ⁶⁸Ga

3.6.1. Radiomarquage direct avec l'éluat de 68 GaCl₃

3.6.1.1. Marquage des particules natives d'amidon

Vingt milligrammes de particules d'amidon native (n = 3) ont été marquées avec du trichlorure de gallium (GaCl₃) (552 ± 223 MBq), avec addition de NaCl ou de HCl 0,1N si nécessaire pour obtenir

4 mL de volume réactionnel et ont été mis sous agitation (vortex). La PRC a été mesurée à différents temps (5, 10 et 30 min) par filtration.

3.6.1.2. Marquage des SBMP

Vingt milligramme (n = 6), 50 mg (n = 3) ou 100 mg (n = 3) de SBMP, ainsi que des kits (à l'origine optimisés pour le radiomarquage par le ^{99m}Tc [358,359]) contenant 100 mg de SBMP, 9 mg de NaCl et 55 µg de SnCl₂ ont été marqués avec 4 mL de ⁶⁸GaCl₃ (552 ± 120 MBq et 785 ± 171 MBq pour les kits de 100 mg), et mis sous agitation avec le vortex. La PRC a été prise à différents temps (5, 10 et 30 min).

3.6.2. Optimisation du marquage au ⁶⁸Ga : ajout de tampon pH 4,1

Des kits de 20 mg de SBMP et 9 mg de NaCl, 50mg de SBMP et des kits de 100 mg de SBMP et 9 mg de NaCl ont été marqués avec 4 mL de 68 GaCl₃ (522 ± 36 MBq) et 0,5 mL d'acétate de sodium trihydraté 1 M (pH 4,1) et mis sous agitation au vortex (n = 3). La PRC a été mesurée à 5, 10 et 30 min. Le pH a été mesuré sur les filtrats de PRC avec des bandelettes indicatrices de pH MColorpHast 2.0-9.0 (Merck Millipore, Allemagne).

3.6.3. Etudes de stabilité in vitro

Des kits ont été marqués avec 4,5 mL de ⁶⁸GaCl₃ (698 ± 33 MBq) sous agitation au vortex. Après la première mesure de la PRC à 5 min, 0,5 mL d'acétate de sodium trihydraté 1 M a été ajouté au kit pour augmenter le pH de 1 jusqu'à 4 et obtenir une solution injectable. La PRC a été suivi à différents temps (à 5, 10, 30 [n = 3] et 60 min [n = 2]).

3.6.3.1. Test de compétition Histidine

Juste après l'ajout d'acétate de sodium dans les kits, 1 mL de SBMP (*i.e.* 20 mg de microparticules) a été incubé avec 4 mL de solution d'histidine (10^{-3} M) (Sigma-Aldrich, Etats-Unis) à température ambiante sous agitation au vortex pendant 30 min (n = 3). La stabilité du marquage a été évaluée en mesurant la PRC avant et après l'incubation avec l'histidine à 5, 10 et 30 min.

3.6.3.2. Etude de stabilité dans du Sérum de Veau Fœtal (SVF)

De la même manière, juste après l'ajout d'acétate de sodium dans les kits, 1 mL de SBMP (*i.e.* 20 mg de microparticules) a été incubé dans 4 mL de SVF à température ambiante, sous agitation au vortex pendant 30 min (n = 3). Le SVF est un milieu complexe qui contient notamment, parmi d'autre protéine la transferrine, un chélateur naturel du fer qui peut également chélater l'ion Ga³⁺. La PRC a été suivie dans le temps et mesurée avant et après l'incubation avec le SVF (à 5, 10 et 30 min).

3.7. Etudes in vivo

3.7.1. Déclaration éthique

Toutes les procédures expérimentales et les protocoles utilisés dans cette étude ont été examinés et approuvés par la commission d'éthique de l'utilisation des animaux à l'université de Liège (Belgique). Le "*Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*" (Guide pour la protection et l'utilisation des animaux de laboratoire), rédigé par l'*Institute of Laboratory Animal Resources, National Research Council*, et publié par la *National Academy Press*, a été attentivement suivi tout comme la législation Européenne et locale. Le bien-être des animaux a été vérifié au moins une fois par jour, et tous les efforts ont été fait pour minimiser la souffrance animale pendant les expériences (principalement les conditions d'hébergement, aucune souffrance n'ayant été constatée).

3.7.2. Modèle d'induction tumorale du CHC

La carcinogénèse hépatique a été induite chimiquement chez des rats Wistar mâles de 7 semaines pesant entre 180 et 296 g, provenant de l'animalerie centrale du Centre Hospitalier Universitaire de Liège (Licence d'élevage LA2610359). De la diéthylnitrosamine (DENA) (Sigma-Aldrich, Etats-Unis), un carcinogène chimique a été administrée dans l'eau de boisson des rats (100 mg.L⁻¹) pendant 8 semaines [364]. Les animaux ont été hébergés dans des cages en polycarbonate contenant une protection plastique jetable en polyéthylène de la forme de la cage (liner) (Tecniplast, Italie), avec 2 animaux par cage, dans une salle avec contrôle de la température (20-22°C), de l'humidité (50-70 %) et de la lumière (cycles jour/nuit de 12 heures). L'air de la salle était renouvelé à un taux de 10 vol/heures. L'eau et la nourriture ont été fournies *ad libitum*.

3.7.3. Marquage au ⁶⁸Ga des kits SBMP

Des kits prêts-à-l'emploi contenant 20 mg de SBMP, 55 μ g de SnCl₂ et 9 mg de NaCl ont été radiomarqués avec 4 mL de ⁶⁸GaCl₃ (626 ± 55 MBq) sous agitation au vortex. Après l'ajout de 0,5 mL d'acétate de sodium trihydraté 1 M et la vérification de la PRC par filtration, la seringue a été remplie avec la solution de SBMP radiomarquées une fois que la PRC ait atteint au moins 98 %. Pour 2 rats, 100 ou 50 μ M de bleu de méthylène ont été ajoutés dans la seringue, pour faciliter le suivi de la solution radiomarquée pendant l'injection.

3.7.4. Injection intra-artérielle des SBMP marquées au ⁶⁸Ga

La totalité de la procédure a été réalisée sous anesthésie générale jusqu'au sacrifice. Trois rats ont été injectés avec succès 10 ± 1 semaines après la fin de l'induction. Les rats ont été pesés et anesthésiés séquentiellement par une injection de pentobarbital de sodium (60 mg.kg⁻¹) (Solution de Nembutal de sodium, Abbott Laboratories, North Chicago, IL) suivi par une anesthésie isoflurane (1,5 % d'isoflurane, 3 % d'oxygène, Abbott Laboratories, Etats Unis) jusqu'à l'euthanasie. La procédure chirurgicale a été réalisée dans des conditions aseptiques sous un microscope à dissection. Une laparotomie a été effectuée pour exposer le foie et les artères hépatiques. Le tronc cœliaque, les artères hépatiques et gastroduodénales ont été identifiées et toutes les artères collatérales visibles de l'artère hépatique ligaturées afin d'éviter la diffusion des particules vers d'autres organes que le foie. L'injection des ⁶⁸Ga-SBMP (21 ± 26 MBq) a été réalisée directement dans le tronc cœliaque à l'aide d'une aiguille 27 G ¹/₂ 0,4 x 13 (BD, Etats-Unis) connectée à une seringue de 1 mL, dans le but que la solution atteigne l'artère hépatique puis le foie (cf. Figure 17). Au moment de la perforation, l'artère a été clampée pour stopper temporairement le flux artériel. Le flux a été restauré au moment de l'injection, puis une ligature finale du tronc cœliaque a été effectuée après l'injection. La paroi musculaire et la peau du rat ont été recousues avant l'imagerie TEP/TDM. Finalement, après l'imagerie le rat a été gardé sous anesthésie et euthanasié par une injection létale de pentobarbital de sodium (200 mg.kg⁻¹) (Solution de Nembutal de sodium, Abbott Laboratories, North Chicago, IL). Le foie a été prélevé et préservé dans du formol 4 % (Q-Path Chemicals, VWR Chemicals, Etats-Unis).



Figure 17 : Schéma de l'injection intra-artérielle

3.7.5. Imagerie TEP/TDM

La biodistribution *in vivo* des ⁶⁸Ga-SBMP a été suivi avec un TEP/scanner TDM Gemini TF16 (Philips Medical Systems, Les Pays-Bas). Les acquisitions d'images statiques ont été réalisées 17 ± 1 min après l'injection des ⁶⁸Ga-SBMP. Les rats ont été maintenus sous anesthésie isoflurane (1,5 % d'isoflurane, 3 % d'oxygène, Abbott Laboratories, Etats Unis) pendant le temps d'acquisition de 20 min. La fonctionnalité temps de vol (TOF pour *Time Of Flight*) a été désactivée dans la méthode de reconstruction utilisée à cause de la petite taille des animaux [365]. Les images ont été analysées avec

PMOD (version 3.607). Les volumes d'intérêt (VOI pour *Volume-of-Interest*) pour le foie, pour l'activité non-spécifique dans la zone intrapéritonéale et pour le corps entier ont été délimités manuellement avec l'aide de l'outil isovolumétrique.

3.7.6. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été menées sur le logiciel Prism 6.0 (v6.0f, logiciel GraphPad, La Jolla, Etats-Unis). Pour tester l'hypothèse nulle, une valeur seuil de 0,05 pour p (erreur α) a été choisie pour déterminer la différence statistique. Une analyse Anova suivi par un test HSD de Tukey a été utilisée pour effectuer les comparaisons multiples des moyennes des PRC pour les études de radiomarquage au rhénium-188 et au gallium-68.

4. Résultats

4.1. Radiomarquage des SBMP au ¹⁸⁸Re

Pour développer le kit optimal de radiomarquage par le ¹⁸⁸Re, la variation de plusieurs paramètres a été étudiée avec un suivi de la PRC. Ainsi plusieurs quantités de SnCl₂ nécessaire pour le kit ont été testées tout comme la quantité de particules, l'activité et l'ajout de gluconate. Les SBMP ont une taille moyenne de 29,65 ± 11,73 µm et 1 g de SBMP contient 87,64.10⁶ particules.

Une gamme de SnCl₂ allant de 50 µg à 2000 µg, a été testée sur des kits SBMP de 300 mg pour définir les meilleures conditions réductrices pour la complexation du ¹⁸⁸Re (cf. Figure 18a). La PRC maximale (91,6 ± 0,9 %) a été obtenue avec des kits contenant 1000 µg de SnCl₂, et était significativement plus élevée que la PRC obtenue avec 50 µg de SnCl₂ (p < 0,0001) ou 500 µg de SnCl₂ (p < 0,0018). L'ajout d'une plus grande quantité de SnCl₂ (2000 µg) n'a pas provoqué de changement significatif dans la PRC (p = 0,2839). Pour les études ultérieures, la quantité de SnCl₂ par kit a donc été fixée à 1000 µg. L'influence de la quantité des particules sur la PRC, a été déterminée par augmentation de la quantité de SBMP de 50 mg à 400 mg (cf. Figure 18b). La PRC augmente avec la quantité de SBMP jusqu'à 300 mg. La PRC maximale (91,6 ± 0,9 %) a été obtenue avec 50 mg de SBMP (p < 0,0001), avec 100 mg de SBMP (p < 0,0001) et avec 200 mg de SBMP (p < 0,0321). Ajouter une plus grande quantité de SBMP (400 mg) n'a pas permis de changement significatif dans la pureté radiochimique (p = 0,742).



Figure 18 : Influence de plusieurs paramètres sur la PRC pendant le radiomarquage des SBMP par le ¹⁸⁸Re :

(a) PRC de kits de 300 mg de SBMP radiomarqués en fonction de la quantité de SnCl₂. (b) PRC de kits radiomarqués de 1 mg de SnCl₂ en fonction de la quantité de SBMP. (c) PRC de kits de 300 mg de SBMP et 1 mg de SnCl₂ en fonction de l'activité de radiomarquage. (d) PRC de kits de 300 mg de SBMP et 1 mg de SnCl₂ en fonction de la quantité de gluconate.

Cette composition de 300 mg de SBMP et 1 mg de SnCl₂ a été choisie pour mener les investigations ultérieures. La capacité des kits SBMP pour complexer une activité élevée de ¹⁸⁸Re a été testée (cf. Figure 18c). Les PRC n'étaient pas significativement différentes (p = 0,4602), que les études de radiomarquage soient réalisées avec des activités élevées (3097 ± 345 MBq) ou faibles (116 ± 16 MBq).

Des kits contenant 300 mg de SBMP et 1 mg de SnCl₂, ont été marqués avec 3 GBq de perrhénate et ont été soumis à des tests de stabilité dans le temps, ainsi qu'à des tests de compétition dans du plasma de rat ou dans une solution d'histidine à 10⁻³ M, un chélateur d'ions métalliques (cf. Tableau XII). Le radiomarquage est stable dans le temps et en compétition.

Tableau XII : Stabilité dans le temps et tests de competition de kits de 300 mg de SBMP avec 1 mg de SnCl₂ radiomarqué par du ¹⁸⁸Re

	Stabilité dans le temps Temps après radiomarquage (h)		Tests de Compétition Temps d'incubation		
	1	6	24	Plasma Rat + 1 h	Histidine + 3 h
PRC (%)	88,8 ± 0,5	88,0 ± 0,7	83,8 ± 5,4	84,4 ± 1,5	83,7 ± 1,3

Dans le but d'optimiser le radiomarquage du kit de SBMP, l'influence de l'ajout de gluconate dans le kit a été testée (cf. Figure 18d). Avec l'ajout de 30 mg de gluconate de sodium la PRC a atteint 96,4 \pm 0,1 % et était significativement supérieure à l'ajout dans le kit SBMP, de 10 mg de gluconate (p = 0,0013), de 60 mg de gluconate (p = 0,0071) ou à l'absence de gluconate (p = 0,0011).

4.2. Radiomarquage des SBMP au ⁶⁸Ga

L'étude de la complexation du ⁶⁸Ga par les microparticules a premièrement été réalisée par l'utilisation directe de l'élution de ⁶⁸GaCl₃ sans aucun ajout de tampon et à température ambiante (cf. Figure 19a). La cinétique dans le temps du radiomarquage au ⁶⁸Ga a été suivie avec la mesure de la PRC à 5 min, 10 min et 30 min après le début de la réaction de radiomarquage. Comme observé sur la Figure 19a, les particules d'amidon natif ne réagissent pas avec le ⁶⁸Ga, étant donné que la PRC n'atteint pas les 3 %, alors que les SBMP ont été radiomarquées avec succès. En utilisant le marquage direct avec l'éluat de ⁶⁸GaCl₃, on observe que la quantité de SBMP a eu une influence sur la PRC. En effet, la cinétique de la PRC des 20 mg de SBMP radiomarquées avec le ⁶⁸GaCl₃ était lente et la PRC maximale n'a pas atteint les 70 %, donnant une PRC entre 35,6 ± 26,1 % et 61,6 ± 25,6 % (cf. Figure 19a). Le radiomarquage s'est amélioré avec l'utilisation d'un kit contenant 50 mg de microparticules, donnant une PRC égale à 91,7 ± 1,0 % après 10 min de réaction, et atteignant une PRC de 94,5 ± 0,3 % après une augmentation du temps de réaction à 30 min (p = 0,0218). Cependant, une cinétique de réaction de marquage encore meilleure, a été obtenue avec des kits contenant 100 mg de SBMP : la PRC atteignant 98,7 \pm 0,2 % après 10 min de réaction (p = 0,0001), en étant maximale (99,1 \pm 0,1 %) après 30 min (p = 0,0002). Nous avons observé une cinétique similaire avec les kits de 100 mg de SBMP déjà optimisés pour le ^{99m}Tc contenant 55 µg de SnCl₂, l'agent réducteur nécessaire pour le ^{99m}Tc ou le ¹⁸⁸Re [136,137,362,363].



Figure 19 : Radiomarquage des SBMP au ⁶⁸Ga :

(a) Radiomarquage direct de quantités variées de SBMP ou d'amidon natif avec l'éluat de ⁶⁸GaCl₃. (b) Optimisation du radiomarquage par le ⁶⁸Ga de quantités variées de SBMP avec l'ajout de 0,5 mL d'acétate de sodium trihydraté 1 M (pH 4,1).

Le radiomarquage optimisé des SBMP par le ⁶⁸Ga, a été atteint par l'ajout d'acétate de sodium trihydraté 1 M (pH 4,1) dans le kit, juste après l'ajout de l'éluat de ⁶⁸Ga (cf. Figure 19b). Ces conditions de marquage ont permis d'obtenir une cinétique stable de radiomarquage avec une PRC élevée supérieure à 95 % dès 5 min, et d'au moins 99 % dès 10 min, pour n'importe quelle quantité de microparticules dans le kit, avec aucune différence statistique observée entre 20 mg, 50 mg et 100 mg. Pour la même quantité d'acétate de sodium trihydraté (0,5 mL), nous avons observé de légères variations dans le pH selon la quantité de SBMP avec un pH allant de 3,0 à 3,6 pour 20 mg ; 3,9 pour 50 mg et un pH de 4,0 convenable pour l'injection avec 100 mg de SBMP.

Des études de stabilité *in vitro* (cf. Tableau XIII) ont montré un radiomarquage stable avec une PRC élevée de presque 100 %, à la fois dans le milieu complexe tel que le Sérum de Veau Fœtal, mais aussi dans la solution d'histidine, un chélateur d'ion métallique. Cette étude mime la stabilité dans le

sang après injection. Comme contrôle, la PRC a été suivie en parallèle avec les SBMP qui n'étaient pas en compétition, jusqu'à 60 min avec une PRC également supérieure à 99 %.

	Pureté radiochimique			
Temps de radiomarquage	5 min	10 min	30 min	60 min
Stabilité dans le temps	95,6 ± 2,2 %	99,7 ± 0,1 %	99,9 ± 0,1 %	99,9% (100%; 99,8%)
Temps d'incubation	5 min	10min	30min	
Compétition Histidine	99,6 ± 0,2 %	99,8 ± 0,1 %	99,8 ± 0,1 %	
Compétition SVF	99,3 ± 0,2 %	99,5 ± 0,1 %	99,2 ± 0,1 %	

Tableau XIII : Etude de stabilité in vitro : radiomarquage par le 68 Ga de kit de 100 mg de SBMP contenant 55 μg de SnCl_2

4.3. Etude in vivo des ⁶⁸Ga-SBMP

Une bioévaluation des ⁶⁸Ga-SBMP a été réalisée chez 3 rats induits avec un carcinogène chimique pour développer la tumeur CHC, en tant qu'étude préliminaire de l'étape pré-thérapeutique diagnostique de la SIRT, dans le but d'évaluer le comportement, la stabilité et la biodistribution des particules in vivo (cf. Figure 20 et Figure 21). Pour cette expérience, des kits de 20 mg de SBMP (optimisés pour le marquage par le ^{99m}Tc, *i.e.* avec 55 µg de SnCl₂) ont été marqués avec 626 MBq ± 55 MBq et l'ajout de 0,5 mL d'acétate de sodium trihydraté 1 M (pH = 4,1), avec une PRC obtenue supérieure à 98 %. L'imagerie TEP/TDM montre que toutes les injections donnent lieu à une localisation des particules dans le foie, sans diffusion dans le corps (cf. Figure 20). Ceci est confirmé par l'analyse de la biodistribution TEP : les ⁶⁸Ga-SBMP sont concentrées dans le foie avec une moyenne de 96,4 ± 0,9 % (rat n°1 : 97,4 %; n°2 : 96,3 % et n°3 : 95,6 %) de l'activité totale dans le rat, avec le reste de l'activité dans la zone intrapéritonéale environnant le foie avec une moyenne de 3,4 ± 1,2 % (rat n°1 : 2,1 %; n°2 : 3,7 % et n°3 : 4,4 %) (cf. Figure 21). Dans le reste du corps, on ne retrouve pas d'activité (moyenne de $0,2 \pm 0,3 \%$, avec rat n°1 : 0,5 % et les deux autres rats : 0,0 %) (cf. Figure 21). L'aspect macroscopique du foie a montré que parmi les 3 rats, l'un d'eux ne présentait aucune lésion (rat n°1) malgré l'induction au DENA. Le second rat (n°2) avait des nodules tumoraux bien définis et plutôt large avec plusieurs autres petites lésions parcourant le foie, avec un parenchyme environnant d'aspect lisse. Le rat n°3 présentait un CHC largement étendu dans les lobes gauches du foie avec un aspect granuleux, tandis que le lobe droit n'était pas affecté par la tumeur. Chez le rat sans aucune lésion (n°1), les particules radiomarquées se sont distribuées de façon homogène à travers tout le foie, alors que l'activité dans les deux autres rats a été retrouvée principalement dans les régions tumorales du foie (cf. Figure 20).



Figure 20 : Imagerie TEP/TDM de rats induits par DENA, injectés en intra-artériel avec des ⁶⁸Ga-SBMP et vue macroscopique du foie :

Sur la vue macroscopique du foie, (vue de l'abdomen ouvert) les principaux nodules tumoraux sont identifiés par des *têtes de flèches* blanches pour le rat n°2, et pour le rat n°3 la *ligne en pointillés* délimite la zone supérieure tumorale du foie. Dans la colonne exposant les Régions d'intérêt (ROI pour *Regions-of-interests*) sur les coupes correspondantes du TEP/TDM : la ROI *orange* correspond au foie, la *verte* à la zone intrapéritonéale et la *rose* à l'activité comptée dans le reste du corps (cf. Figure 4). *Abréviations : TDM (Tomodensitométrie); TEP (Tomographie par Emission de Positons); MIP (Projection d'Intensité Maximale pou Maximum Intensity Projection) et ROI (Régions d'intérêt pour Region-of-Interest)*



Figure 21 : Analyse des Volumes d'intérêt des données du TEP/TDM

5. Discussion

Dans le contexte du CHC, le développement d'un vecteur radiomarqué unique, à la fois pour l'évaluation pré-thérapeutique (⁶⁸Ga-SBMP) et le traitement en lui-même (¹⁸⁸Re-SBMP), peut résoudre les problèmes de biodistribution non corrélées entre ces deux étapes rencontrés dans la pratique clinique avec l'utilisation des ^{99m}Tc-MAA et les microsphères d'yttrium-90 [182,281–283].

La taille des SBMP varie de 7 à 60 µm avec une moyenne de 30 µm [359,360]. Leur taille moyenne est comparable à celle des microsphères d'⁹⁰Y actuellement utilisées en SIRT. Cependant, la distribution de taille des SBMP est différente, avec quelques particules plus petites, qui peuvent théoriquement conduire à une distribution plus en aval dans la microvascularisation hépatique. Ceci peut modifier favorablement la dosimétrie microscopique mais cet aspect nécessitera des études comparatives appropriées avec les microparticules d'⁹⁰Y. De par leur origine (non-humaine et non-animale), elles évitent le risque de transmission de maladie. La gamme de parcours des rayonnements au sein des tissus et l'E_{max}, entre l'⁹⁰Y et le ¹⁸⁸Re est similaire. L'⁹⁰Y (E_{max} = 2,3 MeV) a une portée maximale de 12 mm et une moyenne de 2,8 mm dans les tissus, tandis que le ¹⁸⁸Re (E_{max} = 2,1 MeV) a une portée maximale de 11 mm et une moyenne de 2,4 mm [108,136]. La demi-vie du ¹⁸⁸Re est plus courte que celle de l'⁹⁰Y (17,0 h contre 64,1 h respectivement). Cependant, au contraire de l'⁹⁰Y, un émetteur β pur, le ¹⁸⁸Re a l'avantage de posséder une émission γ avec une énergie similaire au ^{99m}Tc (E_{max} [^{99m}Tc] = 140 keV et E_{max} [¹⁸⁸Re] = 155 keV, 15 % [108,136]), permettant une imagerie TEMP des microparticules après leur injection d'une manière plus simple qu'avec l'⁹⁰Y. L'imagerie post-traitement est importante afin d'évaluer la précision de l'administration de la dose thérapeutique :

vérifier la distribution des particules, l'absence de déposition extra-hépatiques et prédire l'efficacité du traitement [151,209,215,241]. L'⁹⁰Y peut être imagé indirectement par TEMP grâce aux rayonnements de bremsstrahlung qui sont créés lorsque les particules β interagissent avec la matière. Cependant, cette imagerie a une faible résolution spatiale et cela aboutit seulement à une évaluation approximative. Un gain de résolution peut être gagné avec la TEP en imageant la très petite quantité de positons (0,003 %) émis lors de la décroissance de l'⁹⁰Y [96,298–300,366]. L'imagerie directe du ¹⁸⁸Re pourrait permettre une évaluation plus facile et plus quantitative.

Notre étude précédente a démontré que les SBMP n'étaient pas sensibles à la dégradation enzymatique par l'alpha-amylase [359]. Dans les poumons la demi-vie des SBMP approche les 3 h à cause de la dégradation mécanique des forces de friction rencontrées dans les poumons. C'est un avantage pour les patients passant une scintigraphie de perfusion pulmonaire, étant donné que le temps pour l'acquisition est déjà suffisant. Ces forces de friction ne sont pas présentes dans le foie et nous n'avons pas observé de dégradation des SBMP *in vitro* ou *in vivo* au cours de nos expériences. Cependant, la stabilité *in vivo* des composés est de première importance, en considérant particulièrement la stabilité pour la thérapie *i.e.* les SBMP marquées au ¹⁸⁸Re, et de plus amples investigations chez des modèles animaux sont nécessaires.

Les kits optimisés dédiés pour le ¹⁸⁸Re (300 mg de SBMP, 1 mg de SnCl₂, 9 mg de NaCl et 30 mg de gluconate de sodium) contiennent une plus grande quantité de SnCl₂ que les kits dédiés pour le ^{99m}Tc (1 mg contre 55µg); ceci est dû au fait que le perrhénate est plus difficile à réduire que le perrtechnétate [136,137]. L'ajout de 30 mg de gluconate dans les kits semble aider la réaction de complexation. Le gluconate est un chélateur faible qui peut former des complexes de transition avec le perrhénate et réduire son état d'oxydation pour faciliter la complexation [344].

Le kit SBMP offre des avantages et une flexibilité. Le ¹⁸⁸Re est facilement disponible à partir d'un générateur interne au service et est rentable [176,279,367]. La production des microsphères d'⁹⁰Y dépend directement d'un cyclotron et actuellement leur coût élevé est un challenge pour une utilisation plus répandue [108,279]. De plus, le processus de marquage par le ¹⁸⁸Re est rapide, effectué à température ambiante et l'activité par particules peut être ajustée selon la quantité d'activité injectée dans le kit. Le kit ¹⁸⁸Re de 300 mg contient approximativement 26 millions de particules. Avec une PRC de 96,4 % et une élution de perrhénate d'activité comprise entre 3 GBq et 22 GBq [279], l'activité spécifique théorique des SBMP peut varier de 110 Bq/particule (9,7 millions d'atomes radioactifs/particule) à 807 Bq/particule (71,1 millions d'atomes radioactifs/particule) (cf. Tableau XIV). Cela place les SBMP entre les SIR-Sphere[®] (2500 Bq/particule; 844 millions d'atomes radioactifs/particule) et les TheraSphere[®] (2500 Bq/particule; 844 millions d'atomes

9,7

16,2

22,6

32,3

48,5

64,7

71,1

844,0

radioactifs/particule) (cf. Tableau XIV) [66,182,208,241]. Elles offrent ainsi une alternative intermédiaire pour surmonter les limites rencontrées dans certains cas avec les deux systèmes cliniques. Les TheraSphere® et les SIR-Spheres® présentent des caractéristiques distinctes et notamment leur activité spécifique par particule. L'activité spécifique plus basse des SIR-Spheres® implique un plus grand nombre de particules injectées (approximativement 40-80 millions de microsphères par traitement) et cela peut conduire à la saturation de la totalité du lit vasculaire avec une administration incomplète de la dose thérapeutique [205,208,246] et une potentielle limitation de l'effet des radiations à cause de l'hypoxie. En effet, les cellules oxygénées sont plus sensibles aux rayonnements que les cellules hypoxiques [291,292]. Au contraire, les TheraSphere® ont une activité spécifique élevée, et par conséquent un nombre plus faible de particules est nécessaire pour le traitement (approximativement 2-4 millions de microsphères) [208]. Ceci évite les problèmes de saturation et l'oxygénation est maintenue [250], mais une couverture inadéquate du volume tumoral peut se produire [205,208,246]. Le but d'un système idéal serait d'obtenir une balance optimale entre le nombre de particules (l'effet embolique) et la dose thérapeutique injectée (l'effet radioactif) [246], pour obtenir une bonne distribution (couverture de la totalité du volume tumoral par les particules) sans atteindre un état de saturation de la totalité du lit vasculaire qui peut empêcher l'administration de la dose prévue [193,208]. Les caractéristiques du kit ¹⁸⁸Re-SBMP constituent une alternative prometteuse pour la SIRT du CHC.

<i>96,4 % en fonction de l'activité de marquage et comparaison avec les microparticules marquées à l'yttrium-90</i>					
Type de particules (Radionucléide)	Activité de marquage (SBMP – kit 300 mg) (en GBq)	Activité par particule (en Bq)	Nombre d'atome radioactifs par particule (en millions)		
SIR-Spheres® (⁹⁰ Y)	-	50	16,6		
SBMP (¹⁸⁸ Re)	0,1	4	0,3		

110

183

257

367

550

733

807

2500

Tableau XIV : Activité et nombre d'atomes radioactifs théoriques par particule SBMP lors du
marquage de kits à 300 mg de particules par le rhénium-188 avec une pureté radiochimique de
96,4 % en fonction de l'activité de marquage et comparaison avec les microparticules marquées à
l'yttrium-90

Détails calculs : N = A/ λ (N : nombre d'atomes radioactifs ; A : activité en Bq et λ : constante de
désintégration radioactive en s ⁻¹ ; $\lambda = \ln 2/t_{1/2}$). $\lambda [^{188}Re] = 1,1.10^{-5} s^{-1}$ et $\lambda [^{90}Y] = 3,0.10^{-6} s^{-1}$.

3

5

7

10

15

20

22

SBMP (¹⁸⁸Re)

SBMP (¹⁸⁸Re)

SBMP (¹⁸⁸Re)

SBMP (¹⁸⁸Re)

SBMP (¹⁸⁸Re)

SBMP (188Re)

SBMP (¹⁸⁸Re)

TheraSphere® (⁹⁰Y)

Des kits SBMP pour le ^{99m}Tc ont déjà été optimisés pour la scintigraphie de perfusion pulmonaire, mais nos résultats prouvent qu'ils sont aussi appropriés pour le radiomarquage par le

⁶⁸Ga. De plus, le radiomarquage des SBMP par le ⁶⁸Ga est une amélioration pour le dévelopement d'un vecteur radiothéranostique optimisé pour la SIRT. En comparaison des ^{99m}Tc-MAA utilisés en clinique, les ⁶⁸Ga-SBMP fournissent deux avantages : (i) le vecteur est le même pour l'étape pré-thérapeutique et la thérapie (SBMP), et (ii) le ⁶⁸Ga permets l'utilisation de la TEP qui est plus précise pour la dosimétrie que la TEMP, avec une meilleure sensibilité et résolution spatiale [80,88,361]. Par conséquent, l'utilisation des ⁶⁸Ga-SBMP peut fournir une évaluation plus précise et quantitative de la biodistribution, permettant ainsi d'améliorer la dosimétrie individuelle et la planification du traitement. L'utilisation des ^{99m}Tc-SBMP à la place des ⁶⁸Ga-SBMP est également possible pour l'étape pré-thérapeutique si aucune TEP n'est disponible, mais l'utilisation des ⁶⁸Ga-SBMP doit être privilégiée lorsque les deux techniques (TEMP et TEP) sont disponibles.

Le fait que l'amidon natif ne soit pas marqué par le ⁶⁸Ga met en relief l'importance du ligand greffé sur les SBMP dans la chélation des radiométaux. Le ligand, une polyamine, permet la complexation à la fois du ¹⁸⁸Re (probablement dans un état d'oxydation +5) et du ⁶⁸Ga (dans un état d'oxydation +3) par les nombreux atomes d'azote qui créent de bonnes conditions en tant que donneur dur pour la chélation [104,136,368]. Le marquage des SBMP par le ⁶⁸Ga avec une PRC de 95 % ou supérieure, a été obtenu dans plusieurs conditions de marquage différentes, à température ambiante et dans les 5 min de réaction. Dans le cas du radiomarquage direct, les plus hautes PRC (≥ 98 %) et stables ont été obtenues avec 100 mg de SBMP uniquement, correspondant à 8,8 millions de particules. Le radiomarquage direct des kits 100 mg dédiés au ^{99m}Tc contenant 55 µg de SnCl₂ a également été un succès avec une cinétique légèrement plus lente qui peut être due à l'agent réducteur. Les conditions de radiomarquage optimisées ont été atteintes avec l'ajout d'acétate de sodium trihydraté 1 M, un tampon pH 4,1. Non seulement cela a permis d'optimiser le radiomarquage par le ⁶⁸Ga de toutes les quantités de SBMP testées, mais avec l'augmentation du pH de la solution radiomarquée, celle-ci est par conséquent injectable. Le ligand greffé sur les SBMP, la cadavérine est très basique, d'où les variations observées dans le pH avec l'ajout du même volume d'acétate. Avec une plus grande quantité de SBMP, la quantité d'acétate nécessaire pour obtenir un pH acceptable pour l'injection est plus basse, comme il a été observé avec les kits de 100 mg de SBMP. En condition acétate même les kits de 20 mg (sans, ou avec SnCl₂ dans le cas de l'étude in vivo) atteignent une PRC supérieure à 95% et même plus, alors qu'ils atteignent seulement 60 % de PRC après 30 min dans les conditions de marquage direct. A nouveau, la cinétique est plus rapide et atteint des PRC plus élevées dans les conditions sans SnCl₂. Au cours de notre investigation nous avons observé que le meilleur moyen d'obtenir une PRC élevée, était d'ajouter de l'acétate juste après le ⁶⁸GaCl₃ et non avant. Les études de stabilité in vitro, ont de façon constante montré un marquage très stable et nous n'avons jamais observé aucune diminution dans la PRC une fois la valeur maximale atteinte. Pendant les expériences, nous n'avons pas observé d'influence de la quantité d'activité sur la PRC, comme c'était le cas pour le perrhénate. La gamme d'activité testée va de 367 MBq jusqu'à 930 MBq, ce qui correspond à la gamme obtenue au cours de la vie d'un générateur de ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga.

L'étude préliminaire in vivo a été réalisée chez des rats induits avec du DENA, un carcinogène chimique permettant le développement du CHC; ce modèle offre l'avantage d'être histopathologiquement similaire au CHC humain [369–371]. Ainsi les nodules du CHC vont être irrigués par les artères tandis que le parenchyme sain est irrigué par le système veineux. Cependant, le désavantage de ce modèle est sa petite taille (rat), particulièrement pour des procédures interventionnelles endovasculaires. Ce premier test in vivo a été réalisé comme une évaluation très préliminaire de la biodistribution et de la stabilité des SBMP après l'injection intra-artérielle. Les ⁶⁸Ga-SBMP ont été utilisées pour cette première étude préliminaire chez des rats, comme elles seraient premièrement utilisées dans l'étape pré-thérapeutique de la SIRT à des fins de diagnostic, de dosimétrie et de planification du traitement. Dans ce contexte, nous n'avons pas utilisé le ¹⁸⁸Re puisque en tant que radionucléide thérapeutique, les contraintes de radioprotections seraient trop lourdes pour une évaluation préclinique initiale. De plus, il est à noter que l'injection intra-artérielle dans le modèle de rat est un défi technique majeur en soi. A la place d'une cathétérisation de l'artère fémorale par suivi angiographique [284], une intervention chirurgicale a été réalisée avec la ligature de toutes les collatérales hépatiques à l'exception de l'artère hépatique. L'injection directe des particules radiomarquées dans le tronc cœliaque a été difficile. Un des problèmes rencontré lors de l'injection des particules, a été leur tendance à sédimenter très vite par gravité dans la seringue. Comme les microsphères d'⁹⁰Y utilisées en clinique [208,209], les SBMP sont des microparticules en suspension et comme toute microparticule, elles sédimentent facilement dans le temps sans agitation. Pour effectuer l'injection des microsphères d'⁹⁰Y, des kits d'injection dédiés pour les TheraSphere® ou les SIR-Spheres® ont été conçus. Ces kits permettent une perfusion lente correspondant au débit hépatique artériel [208] avec une suspension correcte des particules empêchant la sédimentation. Cependant, dans notre cas, la difficulté est qu'aucune agitation ne peut être réalisée pendant l'injection si les particules sédimentent à nouveau. Les kits d'injection cliniques ne sont pas appropriés pour être utilisés dans un modèle de rat. Ainsi l'activité et la quantité de particules injectés a varié d'un rat à l'autre. Une activité maximale de 51 MBq a été injectée avec succès chez le dernier rat (n°3) après une agitation continue des particules dans la seringue juste avant l'injection. Pour toutes les injections, il n'y a pas eu de diffusion de la solution radioactive en dehors de l'artère, à l'exception du rat n°2 pour lequel une partie de la solution a extravasée dans la cavité abdominale à cause d'un léger dommage du tronc cœliaque au moment de l'injection. La solution étant colorée par le bleu de méthylène, la majorité de la solution extravasée a pu être nettoyée. Toutes les injections ont conduit à la

concentration localisée dans le foie des ⁶⁸Ga-SBMP avec plus de 95 % de l'activité totale. De plus, dans les rats qui ont développés le CHC, l'activité a été particulièrement retrouvée dans les régions tumorales du foie. Ceci peut être expliqué par l'utilisation d'une injection intra-artérielle et par le fait que les tumeurs sont principalement irriguées par les artères tandis que le parenchyme sain est irrigué par le système veineux [177–179,284]. Dans le rat n°1, aucun changement dans l'apport sanguin s'est produit étant donné qu'aucune carcinogénèse ne s'est développée [190]. Ceci explique la distribution homogène des particules observées dans le foie. De plus, lorsqu'elles sont injectées par voie intraveineuse, les SBMP sont retenues dans les capillaires pulmonaires [358]. Aucune activité n'a été retrouvée dans les poumons, soutenant le fait que les SBMP ne recirculent pas. L'activité observée dans le reste du corps est négligeable dans le rat n°1 (0,5 %) et n'est pas observée chez les autres rats. L'activité intrapéritonéale minime observée peut être due à de fines collatérales non-ligaturées qui n'ont pas été identifiées pendant la chirurgie. Le résultat de l'injection est dépendant du succès des ligatures des petites artères collatérales. En tout cas, les résultats de l'étude préliminaire soutiennent le fait que les particules se déposent dans le foie, étant donné qu'aucune activité n'a été retrouvée qui pourrait être expliquée par une distribution sanguine au-delà de la circulation artérielle.

Comme observé précédemment, à cause de la difficulté de l'injection intra-artérielle dans un modèle de petite taille tel que le rat, des études supplémentaires doivent être menées dans un modèle plus grand, plus approprié pour les procédures interventionnelles. Par conséquent, en perspective, afin de conduire ce travail vers la clinique, des études plus approfondies de biodistribution, de stabilité et d'efficacité vont être réalisées dans un modèle animal plus grand que le rat, tel que le modèle VX2 chez le lapin [372]. L'injection sera plus facile dans l'artère fémorale avec l'utilisation de l'angiographie.

De plus, les ⁶⁸Ga-SBMP peuvent par extension être utilisées dans d'autres pathologies telles que le diagnostic de l'embolie pulmonaire, étant donné que ces particules ont été dans un premier temps développées dans cette intention. Leur utilisation avec le ⁶⁸Ga et la TEP pourrait augmenter la qualité des acquisitions.

6. Conclusion

Ce travail montre que les SBMP sont un nouvel agent théranostique prometteur pour la SIRT du CHC. Elles peuvent être radiomarqués par 3 radionucléides différents : le ^{99m}Tc [358,359], le ⁶⁸Ga et le ¹⁸⁸Re, à température ambiante avec un marquage rapide et le potentiel d'une utilisation pour la TEMP et la TEP et également à des fins thérapeutiques.

7. Article Publié

Ce travail a fait l'objet d'un article publié dans le journal Plos One.



OPEN ACCESS

Citation: Verger E, Drion P, Meffre G, Bernard C, Duwez L, Lepareur N, et al. (2016) ⁶⁸Ga and ¹⁸⁸Re Starch-Based Microparticles as Theranostic Tool for the Hepatocellular Carcinoma: Radiolabeling and Preliminary *In Vivo* Rat Studies. PLoS ONE 11 (10): e0164626. doi:10.1371/journal. pone.0164626

Editor: Hélder A. Santos, Helsingin Yliopisto, FINLAND

Received: May 31, 2016

Accepted: September 28, 2016

Published: October 14, 2016

Copyright: © 2016 Verger et al. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are within the paper.

Funding: This work has been supported by a grant from the Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche in the frame of the Erasmus Mundus Joint Doctorate NanoFar program (EV); and has been supported in part by a grant from the French National Agency for Research called "Investissements d'Avenir" Labex IRON n'ANR-11-LABX-0018-01 (FH, FL, OC). This work was authorized by Laboratoires Cyclopharma, through RESEARCH ARTICLE

⁶⁸Ga and ¹⁸⁸Re Starch-Based Microparticles as Theranostic Tool for the Hepatocellular Carcinoma: Radiolabeling and Preliminary *In Vivo* Rat Studies

Elise Verger^{1,2}*, Pierre Drion³, Geneviève Meffre², Claire Bernard², Luc Duwez³, Nicolas Lepareur⁴, Olivier Couturier⁵, François Hindré^{1,6}, Roland Hustinx²*, Franck Lacoeuille^{1,5,6}*

1 INSERM UMR-S 1066 MINT (Micro- et Nano-médecines Biomimétiques), University of Angers, Angers, France, 2 Nuclear Medicine department, CHU de Liège, University of Liège, Liège, Belgium, 3 Animal Facility, Experimental Surgery, GIGA-R & Credec, University of Liège, Liège, Belgium, 4 Nuclear Medicine Department, Centre de Lutte Contre le Cancer (CLCC) Eugène Marquis, INSERM U991, Rennes, France, 5 Nuclear Medicine department, CHU d'Angers, University of Angers, Angers, France, 6 PRIMEX (Plateforme de Radiobiologie et d'IMagerie EXperimentale), University of Angers, Angers, France

• These authors contributed equally to this work. * elise.verger@univ-angers.fr

Abstract

Purpose

This work aims to develop, validate and optimize the radiolabeling of Starch-Based Microparticles (SBMP) by ¹⁸⁸Re and ⁶⁸Ga in the form of ready-to-use radiolabeling kits, the ultimate goal being to obtain a unique theranostic vector for the treatment of Hepatocellular Carcinoma.

Methods

Optimal labeling conditions and composition of freeze-dried kits were defined by monitoring the radiochemical purity while varying several parameters. *In vitro* stability studies were carried out, as well as an *in vivo* biodistribution as a preliminary approach with the intraarterial injection of ⁶⁸Ga radiolabeled SBMP into the hepatic artery of DENA-induced rats followed by PET/CT imaging.

Results

Kits were optimized for ¹⁸⁸Re and ⁶⁸Ga with high and stable radiochemical purity (>95% and >98% respectively). The *in vivo* preliminary study was successful with more than 95% of activity found in the liver and mostly in the tumorous part.

Conclusion

SBMP are a promising theranostic agent for the Selective Internal Radiation Therapy of Hepatocellular carcinoma.

1/17



188 Re/68 Ga SBMP Labeling for HCC Theranostic

patent WO2009013358. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing Interests: The authors have read the journal's policy and the authors of this manuscript have the following competing interests: F. Lacoeuille and F. Hindré are co-inventors of the patent W02009013358 under the license of Laboratories Cyclopharma. R. Hustinx is an advisor for Cyclopharma. This does not alter our adherence to PLOS ONE policies on sharing data and materials.

Abbreviations: CT, Computed Tomography; DENA, DietryInitrosamine; FBS, Fetal Bovine Serum; HCC, Hepatocellular Carcinoma; MAA, Albumin Macroagregates; MIP, Maximum Intensity Projection; PET, Positron Emission Tomography; RCP, Radiochemical Purity; ROI, Region-ofinterest; SBMP, Starch-Based Microparticles; SIRT, Selective Internal Radiation Therapy; SPECT, Single Photon Emission Computed Tomography; TOF, Time of Flight; VOI, Volumes-of-interests.

Introduction

Hepatocellular Carcinoma (HCC), a liver cancer is the fifth most common cancer and the second leading cause of cancer death in men worldwide (seventh and sixth for women respectively) [1]. HCC is associated with a poor prognosis, with a 5-year survival of 12% [2]. Depending on the stage of the disease and other prognostic parameters [3–6] several therapeutic options are available but the only curative treatment is surgery, either resection or transplant [2,7–9].

Selective Internal Radiation Therapy (SIRT) is a relatively new therapeutic modality [10] that is increasingly applied in both primary and secondary liver tumors [11]. This technique consists of the injection of yttrium-90 (90 Y) microspheres to the tumor through the hepatic arteries that vascularize the tumor in order to deliver high radiation dose while sparring the healthy hepatic parenchyma that is supplied by the venous system [12–15]. 90 Y is a pure β^{-1} emitter ($E_{max} = 2.3$ MeV) with a half-life of 64h (2.67 days) [16] and a short tissue penetration (mean 2.5 mm and maximum 11mm) [17]. SIRT is a two-step procedure, with a pre-therapeutic step carried out before the therapy. A pre-treatment assessment is first performed for evaluating the tumor vasculature, the potential extra-hepatic uptake and the hepatopulmonary shunt. Following a diagnostic hepatic arteriography, a catheter is positioned selectively according to tumor localization and therapeutic objectives. Then, human serum albumin macroaggregates (MAA) labeled with 99m Tc are injected via this catheter in order to mimic the biodistribution of the ⁹⁰Y-microspheres that will be injected for therapy in the second step of the procedure [18]. Scans post infusion of 99mTc-MAA allow firstly, the exclusion of patients with a high percentage of radioactivity being shunted into the lungs or spread into any other organ, such as the gastroduodenum and secondly, the determination of the predictive tumor dosimetry. Both steps (pre-therapeutic and therapy itself) are based on the assumption that the biodistribution of ⁹⁰Y-microspheres and ^{99m}Tc-MAA will be identical. However, the MAA have a different size and morphology (aggregates with heterogeneous shapes with size comprised between 10-100µm [19]) in comparison with the ⁹⁰Y-microspheres (spherical shape with size comprised between 20-40µm [20]) that can lead to a different biodistribution and an approximate tumor dosimetry [11,15,18,21,22].

In order to overcome this problem we propose an original theranostic tool, the starch-based microparticles (SBMP), as a unique system for both the pre-therapeutic step after technetium-99m (^{99m}Tc) or gallium-68 (⁶⁸Ga) radiolabeling and the treatment after rhenium-188 (¹⁸⁸Re) radiolabeling. These radionuclides offer the advantage of being all easily obtained from generators (⁹⁹Mo/^{99m}Tc; ⁶⁶Ge/⁶⁸Ga and ¹⁸⁸W/¹⁸⁸Re) and do not require an on-site cyclotron like fluor-18 (¹⁸F) [23–26]. ^{99m}Tc is a pure gamma emitter (E_{max} = 140 keV; t₃₅ = 6.02h) while ⁶⁸Ga is a β^+ emitter (E_{max} = 1.9 MeV; t₃₄ = 68min); they are used for diagnostic purpose to perform Single Photon Emission Computed Tomography (SPECT) and Positron Emission Tomography (PET) imaging respectively. ¹⁸⁸Re is a β^- emitter (E_{max} = 2.1MeV; t₃₅ = 16.98h) allowing the radiotherapy but emits also a γ emission (155 keV) that can be imaged. SBMP was first developed and patented in our laboratory for lung perfusion scintigraphy and formulated as ready-to-use ^{99m}Tc radiolabeling kit [27–29].

These microparticles display several attractive features as theranostic vector for the SIRT of HCC, i.e. a non-human/non-animal origin that ensures a safety toward the risk of disease transmission and an ability for complexation of radioisotopes. Using the same particle in both steps of the SIRT constitutes a major advantage, as the biodistribution of the diagnostic and therapeutic agents should be identical. Furthermore the SBMP labeled with ⁶⁸Ga for the imaging and dosimetry with PET offer improved sensitivity, spatial resolution and signal quantitation compared with SPECT [30–32]. Finally, the SBMP labeled with ¹⁸⁸Re for the treatment

188 Re/68 Ga SBMP Labeling for HCC Theranostic

allow a very easy post-treatment imaging in order to verify the distribution of the therapeutic agent. Hence, this leads us to consider the SBMP as a promising theranostic vector for the SIRT of HCC.

In this work we were able to develop and optimize ready-to-use kits allowing fast and stable labeling of SBMP with ¹⁸⁸Re or ⁶⁸Ga. For the diagnostic kit, we labeled the already optimized ^{99m}Tc-SBMP kit with ⁶⁸Ga, and subsequently developed a dedicated kit for ⁶⁸Ga. An *in vivo* biodistribution by PET/CT (PET/Computed Tomography) of the SBMP radiolabeled with ⁶⁸Ga injected intra-arterially in a carcinogen-induced HCC rat model was also carried out as a very preliminary test of the pre-therapeutic step, prior to the mandatory comprehensive biodistribution and dosimetry studies whose completion is required before considering human use.

Materials and Methods

Materials

Potato starch was a kind gift from Roquette Freres (Lestrem, France). Sodium metaperiodate, sodium borohydride, stannous chloride dihydrate (SnCl₂, 2H₂O), sodium gluconate and cadaverine were purchased from Sigma Aldrich (USA). Medical argon gas was obtained from Air Liquide Santé (Gentilly, France), and deionized water was delivered by a Milli-Q plus system (Merck Millipore, Darmstadt, Germany). Solution of sodium perhenate (¹⁸⁸ReO₄⁻) was obtained by saline elution of a ¹⁸⁸W/¹⁸⁸Re generator (IRE, Belgium) and then concentrated. Solution of gallium trichloride (⁶⁸GaCl₃) is obtained from a ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga generator (50mCi IGG-100, Eckert&Ziegler, Germany), based on the TiO₂ resin technology. It is eluted with 5mL of 0.1N HCl solution obtained from HCl 30% suprapure (Merck Millipore, Germany) diluted in ultrapure water (J.T.Baker, USA). Hydrophilic 5 mm syringe filters were purchased from Sartorius (Palaiseau, France). Sodium acetate trihydrate 1M (pH = 4.1) was provided by Eckert&Ziegler (Germany).

Starch-Based MicroParticles (SBMP) synthesis

Microparticles were prepared according to a previously described and patented method [29]. Briefly, native starch microparticles of the desired size were selected by sieving, then oxidized by sodium periodate to obtain dialdehyde starch. This step allows the grafting of a polyamine ligand the cadaverine onto the modified starch particles. This grafting is stabilized by a reduction step with sodium borohydride to obtain the SBMP. Amino functions from the cadaverine act as the complexant agent for radiometals like ^{99m}Tc, ¹⁸⁸Re and ⁶⁸Ga.

Size measurement. Size distribution measurements of the particles were carried out through a counting analyzer Multisizer 3 Coulter Counter (Beckman Coulter, France). Five to 10 mg of SBMP were suspended in a weak Isoton II electrolyte solution (Beckman Coulter, France) and drawn through a small aperture (200 μ m) until at least 20,000 particles were counted.

Formulation of starch-based microparticles as ready-to-use kits

Ready-to-use kits were prepared by adding the desired amount of SBMP, 1mL of NaCl 0.9% and if needed amount of $SnCl_2$ and gluconate to a sterile vial according to the different experiments carried out. The microparticles were then lyophilized and kept under vacuum.

Radiochemical purity measurements

Radiochemical purity was assessed according to a previously described method [27]. It consists of a filtration of 0.5mL to 1mL of the labeled microparticles suspension on a 5-µm syringe filter.



¹⁸⁸Re/⁶⁸Ga SBMP Labeling for HCC Theranostic

The RCP is determined with the following equation:

 $RCP(\%) = \frac{Filter \ activity(MBq)}{Filter \ activity(MBq) + Filtrate \ activity(MBq)} \times 100$

¹⁸⁸Re radiolabeling

Determination of the optimal composition of ¹⁸⁸**Re labeling kits.** In order to determine the influence of each parameter on the RCP different variations of the composition of kits and labeling conditions have been tested. The SnCl₂ is a reducing agent required during the radiolabeling process of the SBMP with ^{99m}Tc [27,28] as well as ¹⁸⁸Re [16,33–35]. To define the optimal amount needed for the complexation of the ¹⁸⁸Re with the SBMP, a range of SnCl₂ from 50µg to 2mg (n = 3) has been tested on kits containing an amount of 300mg SBMP. Then, the appropriate quantity of particles was assessed with kits containing I mg of SnCl₂ and a variation from 50 to 400mg of SBMP (n = 3). Influence of the amount of radiolabeling activity was tested with 100MBq and 3GBq and kits of 300mg SBMP with 1mg of SnCl₂ (n = 3). A final optimization step was carried out with the addition of a range of sodium gluconate from 0 to 60mg (n = 3) in the selected 300mg SBMP kits. The gluconate is a weak chelate that allows the formation of a transitional complex and facilitate the complexation of ¹⁸⁸Re with the ligand [36]. Apart from the variations, in most of the experiments SBMP kits have been labeled with about 100MBq of perrhenate, 2mL or 4mL of reaction volume and 30min of vortex agitation (Vortex-Genie 2T, Scientific Industries, USA) before the measure of RCP.

In vitro **Stability study.** Kits containing 300mg of SBMP, 1mg of SnCl₂ and 9mg of NaCl (n = 3) were labeled with 2.5mL of perrhenate (3107 ± 422 MBq) followed by a vortex agitation of 30min. After 1h of radiolabeling the first RCP is measured followed by the measures at 6h and 24h, in order to determine the stability of the radiolabeling over time. After the first RCP, 2 aliquots of 0.5mL were removed to be incubated either with 4mL of rat plasma during 1h at 37°C or with 4mL of histidine 10⁻³M a metallic ion chelator during 3h at room temperature.

⁶⁸Ga radiolabeling

Direct labeling with ⁶⁸GaCl₃ eluate

Native starch particles labeling: 20mg of native starch particles (n = 3) were labeled with gallium trichloride (GaCl₃) (552 ± 223 MBq) with addition of NaCl or HCl 0.1N if needed to obtain a 4mL reaction volume and put under vortex agitation. RCP was taken at different time (5, 10 and 30 min) by filtration.

SBMP labeling: 20mg (n = 6), 50mg (n = 3) or 100mg (n = 3) of SBMP and kits (originally optimized for ^{99m}Tc radiolabeling [27,28]) containing 100mg of SBMP; 9mg of NaCl and 55µg of SnCl₂ were labeled with 4mL of ⁶⁸GaCl₃ (552±120MBq and 785±171MBq for the 100mg kits) and put under vortex agitation. RCP was taken at different time (5, 10 and 30min).

Optimization of labeling with ⁶⁸Ga with addition of pH4.1 buffer. Kits of 20mg of SBMP and 9mg of NaCl; 50mg of SBMP and kits of 100mg of SBMP and 9mg of NaCl; were labeled with 4mL of ⁶⁸GaCl₃ (522 ± 36 MBq) and 0.5mL of sodium acetate trihydrate 1M (pH4.1) and put under vortex agitation (n = 3). RCP was taken at 5, 10 and 30min. The pH was measured on RCP filtrate with pH-indicator strips MColorpHast 2.0–9.0 (Merck Millipore, Germany).

In vitro stability studies. Kits were labeled with 4.5mL of 68 GaCl₃ (698±33MBq) under vortex agitation. After the first measure of the RCP at 5min, 0.5mL of Sodium Acetate

188 Re/68 Ga SBMP Labeling for HCC Theranostic

trihydrate 1M was added to the kit to increase the pH from 1 up to 4 and obtain an injectable solution. The RCP was monitored at different times (5, 10, 30 (n = 3) and 60min (n = 2)).

Histidine Challenge: Just after the addition of sodium acetate to the kits, 1mL of SBMP (i.e. 20mg of microparticles) was incubated with 4mL of histidine $(10^{-3}M)$ (Sigma-Aldrich, USA) at room temperature under vortex agitation during 30min (n = 3). Labeling stability was assessed by measuring the RCP both before the incubation and during the incubation with histidine at 5, 10 and 30min.

Fetal Bovine Serum (FBS) stability: Likewise, just after the addition of Sodium acetate in the kits, 1mL of SBMP (i.e. 20mg of microparticles) was incubated with 4mL of FBS at room temperature under vortex agitation during 30min (n = 3). FBS is a complex media that contained among other proteins the transferrin, a natural iron chelator that can also chelate the ion Ga³⁺. The RCP was monitored before and after the incubation with FBS (5, 10 and 30min).

In vivo studies

Ethic Statement. All experimental procedures and protocols used in this investigation were reviewed and approved by the Institutional Animal Care and Use Ethics Committee of the University of Liège (Belgium). The "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals", prepared by the Institute of Laboratory Animal Resources, National Research Council, and published by the National Academy Press, was followed carefully as well as European and local legislation. Animal welfare was assessed at least once per day, and all efforts were made to minimize animal suffering during the experiments (mainly housing conditions as no suffering appeared).

HCC induction model. Hepatic carcinogenesis was chemically induced in seven-weeksold male Wistar rats weighting 180-296g obtained from the central animal facility of Liège University Hospital (Breeder agreement LA2610359). Diethylnitrosamine (DENA) (Sigma-Aldrich, USA) was administered in drinking water (100mg/L) during 8 weeks [37]. The animals were kept in polycarbonate cages containing a disposable polyethylene plastic liner (Tecniplast, Italy) with 2 animals per cage in a room with controlled temperature (20–22°C), humidity (50–70%), and light (12-hour light/dark cycles). Room air was renewed at the rate of 10 vol/hour. Tap water and food were provided *ad libitum*.

 68 Ga radiolabeling of SBMP kits. Ready-to-use kits containing 20mg of SBMP, 55µg of SnCl₂ and 9mg of NaCl were radiolabeled with 4mL of 68 GaCl₃ (626±55MBq) under vortex agitation. After adding 0.5mL of sodium acetate trihydrate 1M and checking the RCP by filtration the syringe was filled with the radiolabeled SBMP solution when the RCP has reached at least 98%. For 2 rats, 100 or 50µL of methylene blue was added in the syringe to facilitate the following of the radiolabeled solution during injection.

Intra-arterial injection of SBMP labeled with ⁶⁸Ga. The totality of the procedure was realized under general anesthesia until sacrifice. Three rats were successfully injected 10±1 weeks after the end of the induction. Rats were weighted and sequentially anesthetized by i.p. injection of sodium pentobarbital (60 mg/kg of body weight) (Nembutal sodium solution, Abbott Laboratories, North Chicago, IL) followed by isoflurane anesthesia (1.5% isoflurane, 3% oxygen, Abbott Laboratories, USA) until euthanasia. The surgical procedure was performed under aseptic conditions and under a dissecting microscope. A laparotomy was performed to expose the liver and the hepatic arteries. The celiac trunk, hepatic and gastroduodenal arteries were identified and all the visible collateral arteries of the hepatic artery ligatured in order to prevent the particles to spread in other organs than the liver. The injection of the ⁶⁸Ga.SBMP (21±26MBq) was realized directly in the celiac trunk by using a 27G ½ 0.4x13 needle (BD, USA) connected to a 1mL syringe with the aim that the solution reached the hepatic artery and

188 Re/68 Ga SBMP Labeling for HCC Theranostic

the liver. At the moment of perforation the artery was clamped to temporarily stop arterial flow. The flow was restored during the injection, then after the injection a final ligature of the celiac trunk was performed. The rat muscular wall and skin were stitched up before the PET/ CT imaging. After final imaging the rat were kept under anesthesia and euthanatized by a lethal injection of sodium pentobarbital (200 mg/kg of body weight) (Nembutal sodium solution, Abbott Laboratories, North Chicago, IL). The liver was harvested and preserved in formalin 4% (Q-Path Chemicals, VWR Chemicals, USA).

PET/CT imaging. The *in vivo* biodistribution of the ⁶⁸Ga-SBMP was monitored with a clinical Gemini TF16 PET/CT scanner (Philips Medical Systems, The Netherlands). Static image acquisitions were performed 17min±1 after injection of the ⁶⁸Ga-SBMP. Rats were maintained under isoflurane anesthesia (1.5% isoflurane, 3% oxygen, Abbott Laboratories, USA) during the acquisition time of 20min. The method of reconstruction used had the TOF (time-of-flight) capability disabled because of the small size of the animals [38]. Images were analyzed using PMOD (version 3.607). Volumes-of-interests (VOI) for liver, for non-specific activity in the intraperitoneal area and for the whole body were set manually with help of isovolumetric tool.

Statistical Analysis

Statistical analyses were conducted using Prism 6.0 software (v6.0f, GraphPad software, La Jolla, USA). When testing the null hypothesis, a threshold value for p of 0.05 (error α) was chosen to set statistical difference. Anova test followed by a Tukey's HSD test was used to perform multiple comparisons of the RCP means for rhenium-188 and gallium-68 radiolabeling studies.

Results

¹⁸⁸Re radiolabeling of SBMP

To develop the optimal ¹⁸⁸Re radiolabeling kit, variation in several parameters were studied and the RCP was monitored. Thus varied amount of $SnCl_2$ needed for the kit was tested along with the particle quantity, activity and gluconate addition. The SBMP have a mean size of 29.65±11.73µm and 1g of SBMP contains 87.64.10⁶ particles.

A range of SnCl₂ quantity from 50µg to 2000µg, was tested on 300mg SBMP kits to define the best reducing conditions for the complexation of ¹⁸⁸Re (Fig 1A). The maximal RCP (91.6 \pm 0.9%) was obtained with kits containing 1000µg of SnCl₂ and was significantly higher to RCP obtained with 50µg of SnCl₂ (p<0.0001) and with 500µg of SnCl₂ (p<0.0018). Adding a greater amount of SnCl₂ (2000µg) did not cause a significant change in radiochemical purity (p = 0.2839). For further studies the amount of SnCl₂ per kit was therefore set to 1000µg. The influence of particles quantity on RCP was assessed with increasing amount of SBMP from 50mg to 400mg (Fig 1B). The RCP increases with the quantity of SBMP up to 300mg. The maximal RCP (91.6±0.9%) was obtained with kits containing 300mg of SBMP (p<0.0001) and 200mg of SBMP (p<0.0321). Adding a higher amount of SBMP (400mg) did not cause significant change in radiochemical purity (p = 0.742).

This composition of 300mg of SBMP and 1mg of SnCl₂ was chosen to conduct the further investigations. The ability of the SBMP kit to complex high activity of ¹⁸⁸Re was tested (Fig 1C). The RCP were not significantly different (p = 0.4602) whether the radiolabeling studies were conducted with high (3097±345MBq) or low (116±16MBq) activities.

Kits containing 300mg of SBMP; 1mg of SnCl₂ were labeled with 3GBq of perrhenate and underwent stability study over time and competition tests in rat plasma and histidine 10^{-3} M a metallic ion chelator (Table 1). The radiolabeling is stable over time and in competition.

¹⁸⁸Re/⁶⁸Ga SBMP Labeling for HCC Theranostic



Fig 1. Influence on the RCP of several parameters during the ¹⁸⁸Re radiolabeling of SBMP. (a) RCP of 300mg SBMP radiolabeled kits with varied amount of SnCl₂. (b) RCP of 1mg SnCl₂ radiolabeled kits with varied amount of SBMP. (c) RCP of 300mg SBMP, 1mg SnCl₂ kits with varied amount of activity. (d) RCP of 300mg SBMP, 1mg SnCl₂ kits with varied amount of gluconate.

doi:10.1371/journal.pone.0164626.g001

In order to optimize radiolabeling of the SBMP kit, the influence of addition of gluconate to the kit was tested (Fig 1D). The RCP reached 96.4 \pm 0.1% with the addition of 30mg of gluconate and was significantly superior to the addition to the SBMP kit of 10mg of gluconate (p = 0.0013), 60mg of gluconate (p = 0.0071) or no gluconate (p = 0.0011).

⁶⁸Ga radiolabeling of SBMP

The study of complexation of ⁶⁸Ga by microparticles was first carried out by using directly a ⁶⁸GaCl₃ eluate without any buffer at room temperature (Fig 2A). The kinetic over time of the radiolabeling of ⁶⁸Ga was monitored with the measure of the RCP 5min, 10min and 30min after the beginning of the radiolabeling reaction. As shown on Fig 2A native starch particles does not react with ⁶⁸Ga since the RCP does not reach 3%, whereas SBMP were successfully radiolabeled. Using direct labeling from ⁶⁸GaCl₃ eluate the quantity of SBMP had an influence on the RCP. Indeed the RCP kinetic of 20mg of SBMP radiolabeled with ⁶⁸GaCl₃ was slow and the maximal RCP did not reach 70% giving a RCP between 35.6±26.1% and 61.6±25.6% (Fig 2A). The radiolabeling improved when using a kit containing 50mg of microparticles, with a RCP = 91.7±1.0% after 10min of reaction, and reached a RCP = 94.5±0.3% after increasing the

³⁸ Re
3

	Stability over ti	me		Competition test		
	Time after radiolabeling (h)			Incubation time	Incubation time	
	1	6	24	Rat plasma +1h	Histidine +3h	
RCP (%)	88.8±0.5	88.0±0.7	83.8±5.4	84.4±1.5	83.7±1.3	

doi:10.1371/journal.pone.0164626.t001

PLOS ONE | DOI:10.1371/journal.pone.0164626 October 14, 2016

7/17



Fig 2. ⁶⁸Ga radiolabeling of SBMP. (a) Direct radiolabeling of varied amount of SBMP or native starch with ⁶⁸GaCl₃ eluate. (b) Optimization of ⁶⁸Ga radiolabeling of varied amount of SBMP with addition of 0.5mL of sodium acetate trihydrate 1M (pH4.1). doi:10.1371/journal.pone.0164626.002

time of reaction to 30 min (p = 0.0218). However an even better kinetics of labeling reaction was obtained with kits containing 100mg of SBMP as the RCP reached 98.7±0.2% after 10min of reaction (p = 0.0001) and was maximal (99.1±0.1%) after 30min (p = 0.0002). We observed a similar kinetic with 100mg SBMP kits already optimized for the ^{99m}Tc containing 55µg of SnCl₂, the reducing agent needed for ^{99m}Tc or ¹⁸⁸Re [16,33–35].

The optimized radiolabeling of SBMP by ⁶⁸Ga was achieved by adding sodium acetate trihydrate 1M (pH = 4.1) in the kit just after the addition of ⁶⁸Ga eluate (Fig 2B). These labeling conditions allowed a high and stable kinetic of radiolabeling with RCP>95% from 5min and \geq 99% from 10min for whatever was the amount of microparticles in the kit with no statistical difference between 20mg, 50mg and 100mg. For the same amount of sodium acetate trihydrate (0.5mL), we observed slight variations in the pH according to the quantity of SBMP with a pH ranging from 3.0–3.6 for 20mg; 3.9 for 50mg and a suitable pH for injection of 4.0 with 100mg of SBMP.

In vitro stability studies (Table 2) showed a stable radiolabeling with a high RCP of almost 100% both in a complex media such as Fetal Bovine Serum and also in histidine solution a metallic ion chelator. This study mimics the stability in blood after injection. As control the RCP was monitored in parallel with the unchallenged SBMP up to 60min and the RCP was also >99%.

In vivo studies of the 68Ga-SBMP

A bioevaluation of the ⁶⁸Ga-SBMP was carried out in 3 rats induced with a carcinogen to develop HCC tumor, as a preliminary study of the SIRT's pre-therapeutic diagnostic step, in



¹⁸⁸Re/⁶⁸Ga SBMP Labeling for HCC Theranostic

Table 2. In vitro stability studies: ⁶⁸Ga radiolabeling of 100mg SBMP kit with 55µg of SnCl₂.

Radiolabeling time	Radiochemical purity				
	5 min	10 min	30 min	60min	
Stability over time	95.6±2.2%	99.7±0.1%	99.9±0.1%	99.9% (100%; 99.8%)	
Incubation time	5min	10min	30min		
Histidine competition	99.6±0.2%	99.8±0.1%	99.8±0.1%		
FBS competition	99.3±0.2%	99.5±0.1%	99.2±0.1%		

doi:10.1371/journal.pone.0164626.t002

order to evaluate the behavior, stability and biodistribution of the particles *in vivo* (Fig 3). For this experiment, kits of 20mg of SBMP (optimized for 99m Tc labeling i.e. with 55µg of SnCl₂) were labeled with 626MBq±55MBq with addition of 0.5mL of sodium acetate trihydrate 1M



Fig 3. PET/CT imaging of DENA-induced rats injected intra-arterially with ⁶⁸Ga-SBMP and macroscopic view of the liver. On the macroscopic view, (open abdominal view) the major tumors nodules are identified by white *arrowheads* for the rat n'3 and for the rat n'8 the *dashed line* delimits the upper tumorsous part of the liver. In the column displaying the ROI on the corresponding PET/CT slice: the *orange ROI* corresponds to the liver, the green one to the intraperitoneal area and the *pink* one to the activity counted as the rest of the body. *Abbreviations: CT (Computed Tomography); PET (Positron Emission Tomography); MIP (Maximum Intensity Projection) and ROI (Region of Interest).*

doi:10.1371/journal.pone.0164626.g003

PLOS ONE | DOI:10.1371/journal.pone.0164626 October 14, 2016

9/17

188 Re/68 Ga SBMP Labeling for HCC Theranostic

(pH = 4.1) with a RCP>98%. The PET/CT imaging shows that all injections resulted in the particles being locally gathered in the liver with no spreading throughout the body (Fig 3). This is confirmed by the PET biodistribution analysis: the ⁶⁸Ga-SBMP are concentrated in the liver with a mean of 96.4±0.9% (rat n°1: 97.4%; n°2: 96.3% and n°3: 95.6%) of the total activity in the rat, with the rest of the activity in the intraperitoneal area surrounding the liver with a mean of 3.4±1.2% (rat n°1: 2.1%; n°2: 3.7% and n°3: 4.4%). No activity was found in the rest of the body (mean of 0.2 \pm 0.3% with rat n°1: 0.5% and the 2 others rats: 0.0%). Previous studies have shown that the intravenous injection of the SBMP results in a biodistribution in the lungs with all of the microparticles trapped in the lungs capillaries [27]. Since no activity in the lungs was observed, this supports a stability of the SBMP and the fact that they stay confined to the liver microvasculature with no recirculation. The macroscopic aspect of the liver showed that among the 3 rats, one of them did not present any lesions (rat n°1) despite the DENA induction. The second rat (n°2) had well defined tumor nodules rather large with several smaller lesions across the whole liver with a surrounding parenchyma with a smooth aspect. The rat n°3 displayed a widely spread HCC in the left lobes of the liver with a granular aspect while the right lobe was not affected by tumor. The radiolabeled particles in the rat without any lesion (n°1) were distributed homogeneously throughout the whole liver whereas the activity in the two other rats was found mostly in the tumorous parts of the liver (Fig 3).

Discussion

In the context of HCC, the development of a unique radiolabeled vector for both the pre-therapeutic evaluation (⁶⁸Ga-SBMP) and the treatment itself (¹⁸⁸Re-SBMP), could solve the issues of miscorrelation in the biodistribution encountered in the clinical practice when using ^{99m}Tc-MAA and the ⁹⁰Y-microspheres [11,18,21,22].

The size of SBMP vary from 7 to 60µm with a mean of 30µm [27,28]. The average size is comparable to the ⁹⁰Y-micropsheres currently used in SIRT. However the size distribution of the SBMP is different, with some smaller particles, which theoretically could lead to a distribution further downstream in the liver microvasculature. This may favorably modify the microscopic dosimetry but this aspect will require appropriate comparative studies with 90Ymicroparticles. By their non-human and non-animal origins they avoid risk of disease transmission. The range of tissue penetration and $E_{\rm max}$ is similar between $^{90}{\rm Y}$ and $^{188}{\rm Re.}$ The $^{90}{\rm Y}$ $(E_{max} = 2.3 \text{ MeV})$ have a maximum range of 12mm and a mean of 2.8mm while the ¹⁸⁸Re $(E_{max} = 2.1 \text{ MeV})$ have a maximum range of 11mm and a mean of 2.4mm [39,16]. ¹⁸⁸Re halflife is shorter than ⁹⁰Y (17.0 h versus 64.1 h respectively). However, contrary to ⁹⁰Y, a pure beta emitter, the ¹⁸⁸Re has the advantage to possess a gamma emission with a similar energy than 9m Tc ($E_{max}[^{99m}$ Tc] = 140keV and $E_{max}[^{188}$ Re] = 155keV, 15% [16,39]) allowing a SPECT imaging of the particles after the injection in an easiest way than with ⁹⁰Y. Post-treatment imaging is important in order to evaluate the accurate delivery of the therapeutic dose: verify the distribution of the particles, the absence of extrahepatic deposition and predict the treatment efficacy [20,40–42]. $^{90}\mathrm{Y}$ can be indirectly imaged by SPECT through bremsstrahlung radiations that are created when the β particles interact with the matter, but with poor spatial resolution and result only in approximate evaluation. A gain in resolution can be gained with PET by imaging the very small amount of positron (0.003%) emitted through the decay of ⁹⁰Y [43-47]. The direct imaging of ¹⁸⁸Re could offer an easier and better quantitative assessment.

Our previous study has demonstrated that SBMP was not sensible to the enzymatic degradation by the alpha-amylase [28]. In the lungs the half-life of SBMP approached 3h due to mechanical degradation with the forces of friction encountered in the lungs. It is an advantage for patients in lung perfusion scintigraphy, since the time for the acquisition is already

188 Re/68 Ga SBMP Labeling for HCC Theranostic

sufficient. These forces of friction are not present in the liver and we did not observe any SBMP degradation *in vitro* or *in vivo* during our investigations. However the *in vivo* stability of the compounds is of primary importance, especially considering the therapeutic one, i.e. the SBMP radiolabeled with ¹⁸⁸Re, and further investigation in animal models is needed.

The optimized ¹⁸⁸Re dedicated kits (300mg of SBMP, 1mg of SnCl₂, 9mg of NaCl and 30mg of gluconate) contain a higher quantity of SnCl₂ than ^{99m}Tc dedicated kits (1mg versus 55 μ g); this is due to the fact that perrhenate is more difficult to reduce than perrtechnetate [16,33]. The addition of 30mg of gluconate in the kits seems to help the reaction of complexation. The gluconate is a weak chelate that can form transitional complex with the perrhenate and reduce its oxidation state to facilitate the complexation [36].

The SBMP kit offers advantages and flexibility. The ¹⁸⁸Re is easily available from in-house generator and cost-effective [48-50]. The production of the ⁹⁰Y-microspheres depends directly of a cyclotron and currently their very high cost is a challenge for a broader use [39,48]. Moreover the ¹⁸⁸Re labeling process of SBMP is fast, performed at room temperature and the activity per particles can be varied and adjusted according to the amount of activity put into the kit. The ¹⁸⁸Re kit of 300mg contains approximately 26 million of particles. With a RCP of 96.4% and perrhenate elution activities between 3GBq and 22GBq [48], theoretical specific activity of SBMP may range from 114Bq/particle to 811Bq/particle. This places the SBMP between the SIR-Sphere® (50Bq/particle) and the TheraSphere® (2500Bq/particle) [17,18,20,51]. They offer an intermediate alternative to overcome the limitations encountered in some cases with the two clinical devices. The lower specific activity of SIR-Sphere® imply a higher number of particles injected (approximately 40-80 million microspheres per treatment) and this could lead to the saturation of the entire vascular bed with an incomplete administration of the therapeutic dose [51-53] and a potential limitation of effect of the radiations due to hypoxia. Indeed, oxygenated cells are more sensible to the radiations than hypoxic cells [54,55]. On the contrary, TheraSphere ® have a high specific activity per microsphere, hence a lower number of particles needed for treatment (approximately 2–4 million microspheres) [51]. This prevent the problems of saturation and the oxygenation is maintained [56] but an inadequate coverage of the tumor volume could occur [51-53]. The aim of an ideal device would be to obtain an optimal balance between the number of particles (the embolic effect) and the therapeutic dose injected (the radioactive effect) [53] to achieve a good biodistribution (coverage of all the tumor volume by the particles) without reaching a saturated state of the entire vascular bed that would prevent the full administration of the intended dose [51,57]. The characteristics of the ¹⁸⁸Re-SBMP kit constitute a promising alternative for the SIRT of HCC.

SBMP kits for the ^{99m}Tc radiolabeling have already been optimized for lung perfusion scintigraphy but our results prove that they are also very appropriate for the radiolabeling with ⁶⁸Ga. Furthermore the ⁶⁸Ga radiolabeling of the SBMP is an improvement in the development of an optimized radiotheranostic vector for SIRT. In comparison to the clinically used ^{99m}Tc-MAA, the ⁶⁸Ga-SBMP provides two advantages: (i) the vector is the same for the pre-therapeutic step and the therapy (SBMP), and (ii) ⁶⁸Ga allows the use of PET which is more accurate for dosimetry than SPECT, with better sensitivity and spatial resolution [30–32]. Hence, the use of ⁶⁸Ga-SBMP would provide a more precise and quantitative assessment of the biodistribution, thus allowing for improved individual dosimetry and therapy planning. The use of ^{99m}Tc-SBMP instead of ⁶⁸Ga-SBMP is also possible for the pre-therapeutic step if no PET is available, but the ⁶⁸Ga-SBMP should be preferred when both SPECT and PET are available.

The fact that native starch are not labeled by ⁶⁸Ga highlights the importance of the ligand grafted onto the SBMP for the radiometals' chelation. The ligand, a polyamine, allows the complexation of both the ¹⁸⁸Re (most likely in its +5 oxidation form) and the ⁶⁸Ga (in +3 oxidation state) by the numerous nitrogen atoms that create good conditions as hard donors for chelation

188 Re/68 Ga SBMP Labeling for HCC Theranostic

[58,16,59]. The labeling of SBMP by ⁶⁸Ga with a RCP≥95% or higher was achieved with several labeling conditions, at room temperature and within 5 min of reaction. In the case of direct radiolabeling the higher and stable RCP 298% were obtained with 100mg of SBMP only, corresponding to 8.8 million of particles. The direct radiolabeling of 100mg kits dedicated to $^{99\mathrm{m}}\mathrm{Tc}$ containing 55µg of SnCl₂ was also successful with a slightly slower kinetic that can be due to the reducing agent. The optimized labeling conditions were attained with the addition of sodium acetate trihydrate 1M, a pH = 4.1 buffer. Not only has it allowed to optimize the 68 Ga radiolabeling of all SBMP quantities tested but with the increased pH of the radiolabeled solution, it is thereby injectable. The ligand grafted onto the SBMP, the cadaverine is very basic, hence variations in pH were observed with the same volume of acetate added. With a greater amount of SBMP the amount of acetate required to reach pH that is acceptable for injection is lower, as shown with the 100mg SBMP kits. With acetate condition even the 20mg kits could (without or with SnCl₂ in the case of the *in vivo* study) attain a RCP>95% and even higher, whereas it only reached 60% of RCP after 30min with direct labeling. Again the kinetic is faster and reaches higher RCP without SnCl₂. During our investigations we have observed that the best way to obtain the higher RCP was to add the acetate just after the ⁶⁸GaCl₃ and not before. The in vitro stability studies consistently showed a very stable labeling, as we never observed any decrease in the RCP after the maximum value is reached. During our investigation we did not see any influence of the amount of activity on the RCP as seen with perrhenate. The activity tested ranged from 367 up to 930MBq that correspond to the range obtained through the life of the 68Ge/68Ga generator.

The in vivo preliminary study was carried out in rats induced with DENA, a chemical carcinogen to develop HCC, this model offer the advantage of being histopathologically similar to human [60-62]. Thus the HCC nodules would be irrigated by arteries whereas the healthy parenchyma is irrigated by the venous system. However, the disadvantage of this model is its small size, particularly for interventional endovascular procedures. This first in vivo test was performed as a very preliminary evaluation of the biodistribution and stability of the SBMP after the intra-arterial injection. The ⁶⁸Ga-SBMP were used for this first preliminary study in rats, as it would first be used in the pre-therapeutic step of SIRT for diagnostic, dosimetry and therapy planning purpose. In this context, we did not use the ¹⁸⁸Re since as a therapeutic radionuclide it would leads to radioprotection constraints too demanding for an initial preclinical evaluation. Moreover it should be noted that the intra-arterial injection in the rat model is a major technical challenge in itself. In place of the catheterization of the femoral artery via angiographic monitoring [15], a surgical intervention was carried out with ligature of the collateral arteries except the hepatic artery. The direct injection of the radiolabeled particles into the celiac trunk was difficult. One problem encountered when injecting the particles was the tendency of SBMP to easily sediment on the syringe by gravity. Like the ⁹⁰Y-microspheres used clinically [42,51] they are microparticles in suspension and like every microparticles easily sediment in time without agitation. To perform the injection of the ⁹⁰Y-microspheres, dedicated infusion-sets for TheraSphere® and SIR-Sphere® have been conceived. These sets allow a slow perfusion matching the hepatic arterial flow rate [51] with a right suspension of the particles preventing sedimentation. However in our case, the difficulty is that no agitation can be done during the injection if the particles sediment again. The clinical infusion-sets are not appropriate to be used with a rat model. Thus injected activity and quantity of particles varied from one rat to another. A maximal activity of 51MBq was successfully injected in the last rat (n°3) after a continuous agitation of the particles in the syringe just before injection. For all the injections there was no spreading of the radiolabeled solution outside the artery except for the rat n°2 for which a part of the solution has extravasated to the abdominal cavity due to a slight damage of the celiac trunk during the injection. The extravasated solution being colored could



188 Re/68 Ga SBMP Labeling for HCC Theranostic

be mostly removed. All injections resulted in the ⁶⁸Ga-SBMP being locally gathered in the liver with more than 95% of the total activity. Moreover in the rats which developed the HCC, the activity was particularly found in the tumorous parts of the liver. This can be explained by the use of intra-arterial injection and the fact that liver tumors are irrigated mostly by the arteries whereas healthy parenchyma is irrigated by the venous system [12-15]. In the rat (n°1) no change in the blood supply occurred since no carcinogenesis developed [63]. This explains the homogeneous distribution of the particles observed in the liver. Moreover when injected intravenously, SBMP are trapped in the lungs capillaries [27]. No activity was found in the lungs, supporting the fact that SBMP do not recirculate. The activity observed in the rest of the body is negligible in the rat n°1 (0.5%) and is not observed in the other rats. The limited intraperitoneal activity may be due to thin non-ligatured collateral arteries that were not recognized during the surgery. The outcome of the injection is dependent of the success of the ligature of all the small collateral arteries. In some cases the ligature of all the collateral is difficult or even impossible. In any event, the results support the preliminary study that the particles are deposited in the liver since no activity was found that could be explained by blood distribution beyond the liver arterial circulation.

As observed previously, due to the difficulty of the intra-arterial injection in a small size model such as the rat, further studies need to be conducted in a bigger model, more appropriate to the interventional procedures. Hence, in perspective, in order to lead this work toward the clinic, further preclinical biodistribution and efficacy studies will be carried out in the rabbit with the VX2 model [64]. The injection would be easier in the femoral artery with the use of angiography.

Conclusion

This work shows that the SBMP is a promising new theranostic agent for the SIRT of HCC. They can be labeled by 3 different radionuclides, ^{99m}Tc [27,28], ⁶⁸Ga and ¹⁸⁸Re, at room temperature with fast labeling, with the potential of being used with SPECT and PET as well as for therapeutic purpose.

Acknowledgments

We are very grateful to J. Roux and P. Legras for skillful technical support (SCAHU, University of Angers, F-49100 Angers, France) and F. Olivier (University of Liège, Belgium).

Author Contributions

Conceptualization: EV PD GM FH RH FL. Formal analysis: EV FL. Funding acquisition: EV OC FH RH FL. Investigation: EV PD GM CB LD FL. Methodology: EV PD GM CB LD FH RH FL. Project administration: OC FH RH FL. Resources: EV PD GM CB LD NL OC FH RH FL. Supervision: OC FH RH FL. Validation: EV FH RH FL.

13/17



¹⁸⁸Re/⁶⁸Ga SBMP Labeling for HCC Theranostic

Visualization: EV.

Writing – original draft: EV.

Writing - review & editing: EV FH RH FL.

References

- 1. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin. 2011; 61: 69–90. doi: 10.3322/caac.20107 PMID: 21296855
- Vilarinho S, Taddei T. Therapeutic Strategies for Hepatocellular Carcinoma: New Advances and Challenges. Curr Treat Options Gastroenterol. 2015; 13: 219–34. doi: 10.1007/s11938-015-0049-8 PMID: 25791207
- Mazzoccoli G, Tarquini R, Valoriani A, Oben J, Vinciguerra M, Marra F. Management strategies for hepatocellular carcinoma: old certainties and new realities. Clin Exp Med. Springer Milan; 2015; doi: 10.1007/s10238-015-0368-z PMID: 26077653
- Llovet JM, Brú C, Bruix J. Prognosis of hepatocellular carcinoma: the BCLC staging classification. Semin Liver Dis. 1999; 19: 329–338. doi: 10.1055/s-2007-1007122 PMID: 10518312
- Saraswat VA, Pandey G, Shetty S. Treatment Algorithms for Managing Hepatocellular Carcinoma. J Clin Exp Hepatol. Elsevier Ltd; 2014; 4: S80–S89. doi: 10.1016/j.jceh.2014.05.004 PMID: 25755616
- Maida M, Orlando E, Cammà C, Cabibbo G. Staging systems of hepatocellular carcinoma: A review of literature. World J Gastroenterol. 2014; 20: 4141–4150. doi: 10.3748/wjg.v20.i15.4141 PMID: 24764652
- Forner A, Llovet JM, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. Lancet. Elsevier Ltd; 2012; 379: 1245–55. doi: 10.1016/S0140-6736(11)61347-0 PMID: 22353262
- El-Serag HB. Hepatocellular carcinoma. N Engl J Med. 2011; 365: 1118–27. doi: 10.1056/ NEJMra1001683 PMID: 21992124
- Tabrizian P, Roayaie S, Schwartz ME. Current management of hepatocellular carcinoma. World J Gastroenterol. 2014; 20: 10223–10237. doi: 10.3748/wjg.v20.i30.10223 PMID: 25132740
- Quirk M, Kim YH, Saab S, Lee EW. Management of hepatocellular carcinoma with portal vein thrombosis. World J Gastroenterol. 2015; 21: 3462–3471. doi: 10.3748/wjg.v21.i12.3462 PMID: 25834310
- Ilhan H, Goritschan A, Paprottka P, Jakobs TF, Fendler WP, Todica A, et al. Predictive value of 99mTc-labelled MAA scintigraphy for 90Y-microspheres distribution in radioembolization treatment with resin microspheres in primary and secondary hepatic tumors. J Nucl Med. 2015; 56: 1654–60. doi: 10.2967/jnumed.115.162685 PMID: 26315830
- 12. Breedis C, Young G. The blood supply of neoplasms in the liver. Am J Pathol. 1954; 30: 969–77. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1942491/ PMID: 13197542
- Ackerman NB. Experimental studies on the circulation dynamics of intrahepatic tumor blood supply. Cancer. 1972; 29: 435–9. doi: 10.1002/1097-0142(197202)29:2<435::AID-CNCR2820290227>3.0. CO;2-K PMID: 5013543
- Vesselle G, Petit I, Boucebci S, Rocher T, Velasco S, Tasu JP. Radioembolization with yttrium-90 microspheres work up: Practical approach and literature review. Diagn Interv Imaging. Elsevier Masson SAS; 2015; 96: 547–562. doi: 10.1016/j.diii.2014.03.014 PMID: 24776810
- Gupta T, Virmani S, Neidt TM, Szolc-Kowalska B, Sato KT, Ryu RK, et al. MR Tracking of Iron-labeled Glass Radioembolization Microspheres during Transcatheter Delivery to Rabbit VX2 Liver Tumors: Feasibility Study 1. Radiology. 2008; 249: 845–854. doi: 10.1148/radiol.2491072027 PMID: 18840788
- Lee Y-S, Jeong JM. Inorganic Radionuclides for Nuclear Medicine Therapy. In: Baum RP, editor. Therapeutic Nuclear Medicine. Springer Berlin Heidelberg; 2014. pp. 151–163. doi: 10.1007/174_2012_704
- Sangro B, Iñarrairaegui M, Bilbao JI. Radioembolization for hepatocellular carcinoma. J Hepatol. European Association for the Study of the Liver; 2012; 56: 464–73. doi: 10.1016/j.jhep.2011.07.012 PMID: 21816126
- Bult W, Vente M, Zonnenberg B, Van Het Schip A, Nijsen J. Microsphere radioembolization of liver malignancies: current developments. Q J Nucl Med Mol imaging. 2009; 53: 325–335. Available: http:// www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19521312 PMID: 19521312
- 19. European Pharmacopeia (7th ed.) European Directorate for the Quality of Medicines. Strasbourg; 2010;
- Murthy R, Habbu A, Salem R. Trans-arterial hepatic radioembolisation of yttrium-90 microspheres. Biomed Imaging Interv J. 2006; 2: e43. doi: 10.2349/bij.2.3.e43 PMID: 21614250

¹⁸⁸ Re/ ⁶⁸ Ga SBMP Labeling for HCC Theranostic

- Wondergem M, Smits MLJ, Elschot M, de Jong HW a M, Verkooijen HM, van den Bosch M a a J, et al. 99mTc-macroaggregated albumin poorly predicts the intrahepatic distribution of 90Y resin microspheres in hepatic radioembolization. J Nucl Med. 2013; 54: 1294–301. doi: 10.2967/jnumed.112. 117614 PMID: 23749996
- Elschot M, Nijsen JFW, Lam MGEH, Smits MLJ, Prince JF, Viergever MA, et al. (99m)Tc-MAA overestimates the absorbed dose to the lungs in radioembolization: a quantitative evaluation in patients treated with (166)Ho-microspheres. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2014; 41: 1965–75. doi: 10.1007/ s00259-014-2784-9 PMID: 24819055
- Vučina J, Lukić D. Radionuclidic generators for the production of technetium-99m and rhenium-188. Facta Univ—Ser Physics, Chem Technol. 2002; 2: 235–243. doi: 10.2298/FUPCT0204235V
- 24. Boschi A, Uccelli L, Pasquali M, Duatti A, Taibi A, Pupillo G, et al. 188W/188Re Generator System and Its Therapeutic Applications. J Chem. 2014; 2014: 14 pages. doi: 10.1155/2014/529406
- 25. Rösch F. 68Ge/68Ga Generators and 68Ga Radiopharmaceutical Chemistry on Their Way into a New Century. J Postgrad Med Educ Res. 2013; 47: 18–25. doi: 10.5005/jp-journals-10028-1052
- 26. Velikyan I. 68Ga-Based Radiopharmaceuticals: Production and Application Relationship. Molecules. 2015; 20: 12913–12943. doi: 10.3390/molecules200712913 PMID: 26193247
- Lacoeuille F, Hindré F, Denizot B, Bouchet F, Legras P, Couturier O, et al. New starch-based radiotracer for lung perfusion scintigraphy. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2010; 37: 146–55. doi: 10.1007/ s00259-009-1226-6 PMID: 19662407
- Lacoeuille F, Hindré F, Venier-Julienne MC, Sergent M, Bouchet F, Jouaneton S, et al. A starch-based microparticulate system dedicated to diagnostic and therapeutic nuclear medicine applications. Biomaterials. Elsevier Ltd; 2011; 32: 7999–8009. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.07.007 PMID: 21788070
- Denizot B, Lacoeuille F, Le Jeune J-J, Hindré F. New compositions based on polysaccharides grafted by polyamine or polysulphurised compounds. WO2009013358, 2007.
- James ML, Gambhir SS. A molecular imaging primer: modalities, imaging agents, and applications. Physiol Rev. 2012; 92: 897–965. doi: 10.1152/physrev.00049.2010 PMID: 22535898
- Blake P, Johnson B, VanMeter JW. Positron Emission Tomography (PET) and Single Photon Emission Computed Tomography (SPECT): Clinical Applications. J Neuroophthalmol. 2003; 23: 34–41. doi: http://dx.doi.org/10.1097/00041327-200303000-00009 PMID: 12616088
- 32. Velikyan I. Prospective of 68Ga-Radiopharmaceutical development. Theranostics. 2014; 4: 47–80. doi: 10.7150/thno.7447 PMID: 24396515
- Deutsch E, Libson K, Vanderheyden JL, Ketring a R, Maxon HR. The chemistry of rhenium and technetium as related to the use of isotopes of these elements in therapeutic and diagnostic nuclear medicine. Int J Rad Appl Instrum B. 1986; 13: 465–477. doi: 10.1016/0883-2897(86)90027-9 PMID: 3793504
- Abram U, Alberto R. Technetium and rhenium—Coordination chemistry and nuclear medical applications. J Braz Chem Soc. 2006; 17: 1486–1500. doi: 10.1590/S0103-50532006000800004
- Dadachova E, Mirzadeh S. The Role of Tin in the Direct Labelling of Proteins with Rhenium-188. Nucl Med Biol. 1997; 24: 605–8. doi: 10.1016/S0969-8051(97)00079-6 PMID: 9316092
- Lepareur N, Garin E, Noiret N, Herry JY. A kit formulation for the labelling of lipiodol with generator-produced 188Re. J Label Compd Radiopharm. 2004; 47: 857–867. doi: 10.1002/jlcr.863
- Vanpouille-Box C, Lacoeuille F, Roux J, Aubé C, Garcion E, Lepareur N, et al. Lipid nanocapsules loaded with rhenium-188 reduce tumor progression in a rat hepatocellular carcinoma model. PLoS One. 2011; 6: e16926. doi: 10.1371/journal.pone.0016926 PMID: 21408224
- DiFilippo FP, Patel S, Asosingh K, Erzurum SC. Small-animal imaging using clinical positron emission tomography/computed tomography and super-resolution. Mol Imaging. 2012; 11: 210–9. doi: 10.2310/ 7290.2011.00041 PMID: 22554485
- Hamoudeh M, Kamleh MA, Diab R, Fessi H. Radionuclides delivery systems for nuclear imaging and radiotherapy of cancer. Adv Drug Deliv Rev. 2008; 60: 1329–46. doi: 10.1016/j.addr.2008.04.013 PMID: 18562040
- Prompers L, Bucerius J, Brans B, Temur Y, Berger L, Mottaghy FM. Selective internal radiation therapy (SIRT) in primary or secondary liver cancer. Methods. Elsevier Inc.; 2011; 55: 253–7. doi: 10.1016/j. ymeth.2011.09.014 PMID: 21964397
- Ahmadzadehfar H, Biersack H-J, Ezziddin S. Radioembolization of liver tumors with yttrium-90 microspheres. Semin Nucl Med. Elsevier Inc.; 2010; 40: 105–21. doi: 10.1053/j.semnuclmed.2009.11.001 PMID: 20113679
- Murthy R, Nunez R, Szklaruk J, Wallace MJ, Cohen A, Douglas M, et al. Yttrium-90 Microspheres Therapy for Hepatic Malignancy: Devices, Indications, Technical Considerations, and Potential Complications. Radiographics. 2005; 25: 41–55. doi: 10.1148/rg.25si055515 PMID: 16227496

O PL	.OS	ONE
------	-----	-----

¹⁸⁸Re/⁶⁸Ga SBMP Labeling for HCC Theranostic

- Vouche M, Vanderlinden B, Delatte P, Lemort M, Hendlisz A, Deleporte A, et al. New Imaging Techniques for 90Y Microsphere Radioembolization. J Nucl Med Radiat Ther. 2011; 2: 1–12. doi: 10.4172/ 2155-9619.1000113
- Padia SA, Alessio A, Kwan SW, Lewis DH, Vaidya S, Minoshima S. Comparison of positron emission tomography and bremsstrahlung imaging to detect particle distribution in patients undergoing yttrium-90 radioembolization for large hepatocellular carcinomas or associated portal vein thrombosis. J Vasc Interv Radiol. Elsevier; 2013; 24: 1147–1153. doi: 10.1016/j.jvir.2013.04.018 PMID: 23792126
- Lhommel R, Goffette P, Van Den Eynde M, Jamar F, Pauwels S, Bilbao JI, et al. Yttrium-90 TOF PET scan demonstrates high-resolution biodistribution after liver SIRT. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2009; 36: 1696. doi: 10.1007/s00259-009-1210-1 PMID: 19618182
- Song YS, Paeng JC, Kim H-C, Chung JW, Cheon GJ, Chung J-K, et al. PET/CT-Based Dosimetry in 90Y-Microsphere Selective Internal Radiation Therapy. Medicine (Baltimore). 2015; 94: e945. doi: 10. 1097/MD.00000000000945 PMID: 26061323
- Ahmadzadehfar H, Muckle M, Sabet A, Wilhelm K, Kuhl C, Biermann K, et al. The significance of bremsstrahlung SPECT/CT after yttrium-90 radioembolization treatment in the prediction of extrahepatic side effects. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2012; 39: 309–315. doi: 10.1007/s00259-011-1940-8 PMID: 21975832
- Knapp FR, Kropp J, Liepe K. Rhenium-188 Generator-Based Radiopharmaceuticals for Therapy. In: Baum RP, editor. Therapeutic Nuclear Medicine. Springer Berlin Heidelberg; 2014. pp. 51–81. doi: 10.1007/174_2012_669
- Raoul J-L, Boucher E, Rolland Y, Garin E. Treatment of hepatocellular carcinoma with intra-arterial injection of radionuclides. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. Nature Publishing Group; 2010; 7: 41–9. doi: 10.1038/nrgastro.2009.202 PMID: 20051971
- Bal C, Kumar A. Radionuclide therapy for hepatocellular carcinoma: indication, cost and efficacy. Trop Gastroenterol. 2008; 29: 62–70. Available: http://www.tropicalgastro.com/articles/29/2/Radionuclidetherapy-for-hepatocellular-carcinoma-indication,-cost-and-efficacy.html PMID: 18972764
- Salem R, Thurston KG. Radioembolization with 90Yttrium microspheres: a state-of-the-art brachytherapy treatment for primary and secondary liver malignancies. Part 1: Technical and methodologic considerations. J Vasc Interv Radiol. 2006; 17: 1251–78. doi: 10.1097/01.RVI.0000233785.75257.9A PMID: 16923973
- 52. Giammarile F, Bodei L, Chiesa C, Flux G, Forrer F, Kraeber-Bodere F, et al. EANM procedure guideline for the treatment of liver cancer and liver metastases with intra-arterial radioactive compounds. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2011; 38: 1393–406. doi: 10.1007/s00259-011-1812-2 PMID: 21494856
- Lewandowski RJ, Riaz A, Ryu RK, Mulcahy MF, Sato KT, Kulik LM, et al. Optimization of radioembolic effect with extended-shelf-life yttrium-90 microspheres: results from a pilot study. J Vasc Interv Radiol. Elsevier Inc.; 2009; 20: 1557–63. doi: 10.1016/j.jvir.2009.08.021 PMID: 19854068
- Harrison LB, Chadha M, Hill RJ, Hu K, Shasha D. Impact of Tumor Hypoxia and Anemia on Radiation Therapy Outcomes. Oncologist. 2002; 7: 492–508. doi: 10.1634/theoncologist.7-6-492 PMID: 12490737
- Harrison L, Blackwell K. Hypoxia and anemia: factors in decreased sensitivity to radiation therapy and chemotherapy? Oncologist. 2004; 9: 31–40. doi: 10.1634/theoncologist.9-90005-31 PMID: 15591420
- Sato K, Lewandowski RJ, Bui JT, Omary R, Hunter RD, Kulik L, et al. Treatment of unresectable primary and metastatic liver cancer with yttrium-90 microspheres (TheraSphere): assessment of hepatic arterial embolization. Cardiovasc Intervent Radiol. 2006; 29: 522–9. doi: 10.1007/s00270-005-0171-4 PMID: 16729228
- Lewandowski RJ, Salem R. Yttrium-90 radioembolization of hepatocellular carcinoma and metastatic disease to the liver. Semin Intervent Radiol. 2006; 23: 64–72. doi: 10.1055/s-2006-939842 PMID: 21326721
- Fani M, André JP, Maecke HR. 68Ga-PET: a powerful generator-based alternative to cyclotron-based PET radiopharmaceuticals. Contrast Media Mol Imaging. 2008; 3: 53–63. doi: 10.1002/cmmi.232 PMID: 18383558
- Roesch F, Riss PJ. The renaissance of the 68Ge/68Ga radionuclide generator initiates new developments in 68Ga radiopharmaceutical chemistry. Curr Top Med Chem. 2010; 10: 1633–1668. doi: http:// dx.doi.org/10.2174/156802610793176738 PMID: 20583984
- Liu Y-F, Zha B-S, Zhang H-L, Zhu X-J, Li Y-H, Zhu J, et al. Characteristic gene expression profiles in the progression from liver cirrhosis to carcinoma induced by diethylnitrosamine in a rat model. J Exp Clin Cancer Res. 2009; 28: 1–16. doi: 10.1186/1756-9966-28-107 PMID: 19638242
- Chen G, Dai ZK, Liang RG, Xiao SJ, He SQ, Zhao HL, et al. Characterization of diethylnitrosamineinduced liver carcinogenesis in Syrian golden hamsters. Exp Ther Med. 2012; 3: 285–292. doi: 10. 3892/etm.2011.406 PMID: 22969883



¹⁸⁸Re/⁶⁸Ga SBMP Labeling for HCC Theranostic

- Fournier LS, Cuenod CA, de Bazelaire C, Siauve N, Rosty C, Tran PL, et al. Early modifications of hepatic perfusion measured by functional CT in a rat model of hepatocellular carcinoma using a blood pool contrast agent. Eur Radiol. 2004; 14: 2125–2133. doi: 10.1007/s00330-004-2339-8 PMID: 15503038
- 63. Chegai F, Orlacchio A, Merolla S, Monti S, Mannelli L. Intermediate hepatocellular carcinoma: the role of transarterial therapy. Hepatic Oncol. 2015; 2: 399–408. doi: 10.2217/hep.15.32 PMID: 26998220
- Parvinian A, Casadaban LC, Gaba RC. Development, growth, propagation, and angiographic utilization of the rabbit VX2 model of liver cancer: A pictorial primer and "how to" guide. Diagnostic Interv Radiol. 2014; 20: 335–340. doi: 10.5152/dir.2014.13415 PMID: 24834491

Chapitre 3 - Discussion : Perspective pour le développement des SBMP vers la clinique

1. Introduction

Le cancer du foie est un cancer courant. C'est la seconde cause de mortalité par cancer chez les hommes. Malgré les différentes thérapies existantes très peu sont curatives. La résection chirurgicale et la transplantation hépatique sont en effet non applicables chez la plupart des patients au moment de leur diagnostic qui est bien souvent tardif. La recherche concernant l'amélioration des traitements curatifs ou palliatifs du cancer du foie est donc importante.

La SIRT est une technique assez récente, qui apporte une amélioration dans les traitements palliatifs du CHC, et dans ce contexte le développement des SBMP en tant que nouvel outil théranostique apporte des améliorations aux problèmes rencontrés actuellement.

La SIRT permet notamment aux patients en attente de chirurgie ou de transplantation de maintenir le contrôle de la croissance tumorale ou de permettre à des patients de rentrer dans les critères de transplantation (critères de Milan) dans le cadre d'une procédure de *downstaging*.

Elle propose une alternative à la chimioembolisation transartérielle, considérée comme le traitement de référence historique pour les patients atteints de tumeurs hépatiques qui ne peuvent pas être pris en charge chirurgicalement. Particulièrement dans le cas de patients présentant une thrombose de la veine porte qui est une contre-indication au traitement par chimioembolisation transartérielle.

De plus, la SIRT est plutôt bien tolérée et ne nécessite pas l'hospitalisation du patient contrairement à la chimioembolisation transartérielle qui nécéssite notamment la gestion des complications post-traitement qui semblent plus prononcées par rapport à la SIRT.

Cependant il reste des problèmes à améliorer :

- Problème de différences de biodistribution entre l'étape pré-thérapeutique avec l'injection des macro-agrégats d'albumine marqués au ^{99m}Tc, et le traitement en lui-même avec l'injection des microsphères d'⁹⁰Y, liées à la différence de taille et de morphologie des deux vecteurs utilisés.
- Le phénomène de saturation du lit vasculaire rencontré parfois avec les SIR-Spheres[®], du fait du grand nombre de particules injectées au cours du traitement, du fait de la faible activité spécifique (50 Bq/sphère).

- Le fait que parfois toute la zone tumorale ciblée ne soit pas couverte par la biodistribution des TheraSphere[®], étant donné le faible nombre de particules injectées dû à une activité spécifique élevée.
- Traitement coûteux.
- L'imagerie post-traitement indirecte de l'yttrium-90 par l'imagerie bremsstrahlung nonoptimale ou par TEP (long temps d'acquisition nécessaire dû au très faible taux de positons émis par l'⁹⁰Y).
- Les MAA sont d'origine humaine et portent le risque potentiel de transmission de maladie telle que Creutzfeld-Jakob.

C'est pourquoi plusieurs systèmes sont en développement afin d'améliorer la technique.

2. Systèmes en développement pour la SIRT

De nombreux systèmes microparticulaires ont été développées pour essayer d'améliorer l'évaluation pré-traitement de la SIRT et le suivi post-injection avec notamment des microparticules marquées par des émetteurs de positons pour le diagnostic et par des radionucléides émetteurs à la fois rayonnements β^- et de rayonnements γ (e.g. : ¹⁸⁸Re ou ¹⁶⁶Ho) pour le traitement et le suivi après traitement.

2.1. *Microparticules pour le diagnostic*

L'étude de la biodistribution des microparticules injectées par voie intra-artérielle permet la détection des shunts artério-veineux lors de l'étape pré-thérapeutique de la radioembolisation transartérielle. L'idéal étant que la même microparticule soit utilisée pour l'étape pré-thérapeutique avec un radiomarquage par un radionucléide émetteur de rayonnement γ pour l'imagerie TEMP, ou mieux β^+ pour l'imagerie TEP. Des alternatives aux ^{99m}Tc-MAA ont donc été développées telles que les microparticules d'albumine sérique humaine (HSA) marquées au ⁶⁸Ga qui peuvent également être marquées au ¹⁸⁸Re pour la thérapie. Afin d'obtenir un gain de résolution spatiale, une meilleure sensibilité et une meilleure quantification du signal grâce à l'imagerie TEP [80,88,361], le radiomarquage des MAA par le ⁶⁸Ga a également été développé.

2.1.1. Marquage des MAA par des radionucléides émetteurs de positons (⁶⁸Ga et ¹⁸F) pour la TEP

2.1.1.1. ⁶⁸Ga-MAA

Les macroagrégats d'albumine sérique humaine marqués au ^{99m}Tc (^{99m}Tc-MAA) sont actuellement utilisés dans l'étape pré-thérapeutique de la SIRT comme simulation du traitement par les microsphères d'⁹⁰Y pour mimer leur biodistribution. Mais leur première utilisation, qui est toujours d'actualité, s'applique aux études de perfusion pulmonaire. Les ^{99m}Tc-MAA sont disponibles depuis longtemps pour la scintigraphie pulmonaire et constituent la technique standard actuelle [358,373,374]. Elles ont été introduites en clinique dans le milieu des années 1960, la première imagerie de perfusion pulmonaire a été réalisée par Wagner *et al.* [375] en 1964 avec l'utilisation de MAA marqués à l'¹³¹I [374].

Les MAA sont obtenus par chauffage à 80-90°C d'un mélange d'albumine sérique humaine et de chlorure d'étain ou de tartrate dans un tampon acétate pH 5. Plusieurs kits commerciaux sont disponibles pour le marquage par ajout de perrtechnétate [83]. Le marquage se fait par co-précipitation [361]. Les MAA ont une taille irrégulière comprise entre 10 et 100 μ m (les particules ne dépassent pas 150 μ m) avec une moyenne de 35 μ m [83,175]. Le premier kit lyophilisé pour la préparation des ^{99m}Tc-MAA a été créé en 1974 [376].

Avec l'arrivée de l'imagerie TEP, qui a une meilleure sensibilité et résolution par rapport à la TEMP [80,88,361], le développement du marquage des MAA par un émetteur de positons comme le ⁶⁸Ga a donc été entrepris dans plusieurs études [131,376–379]. Le premier marquage des MAA par le ⁶⁸Ga (par précipitation à la surface des particules également [361]) a été réalisé en 1989 [377], mais n'a pas été utilisé à cause du manque de disponibilité des TEP et de la fiabilité des générateurs de ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga à ce moment [376]. Mais l'intérêt est aujourd'hui revenu pour le marquage des MAA par le ⁶⁸Ga. D'ailleurs des études récentes ont été réalisées chez l'homme avec des ⁶⁸Ga-MAA pour l'étude de la perfusion pulmonaire [374,380–382].

Le radiomarquage par le ⁶⁸Ga (ou le ¹⁸F) des kits commerciaux des MAA et des HSA (présentées dans le paragraphe 2.1.2 suivant) nécessite d'enlever les additifs nécessaires au marquage par le ^{99m}Tc tels que le chlorure d'étain avant le marquage par le ⁶⁸Ga qui se fait par chauffage à 75°C à pH 4 pendant 20 min [374].

2.1.1.2. ¹⁸F-MAA

Dans le but d'utiliser les avantages de la TEP par rapport à la TEMP, l'émetteur de positon le plus utilisé en médecine nucléaire le fluor-18 (¹⁸F ; $t_{1/2} = 110$ min ; $E_{max} = 0,64$ MeV) a été utilisé dans une étude par Wu *et al.* [383] pour marquer les MAA. Le marquage des MAA par le ¹⁸F n'est pas direct, il se fait à l'aide d'un groupement prosthétique, le N-succinimidyl 4-¹⁸F-fluorobenzoate (¹⁸F-SFB). Les groupements prosthétiques (ou agents de radiomarquage bifonctionnels) sont souvent utilisés pour marquer des protéines ou des peptides sensibles aux conditions de marquage. Cependant, la plupart des ligands prosthétiques ne sont pas idéaux pour une utilisation en clinique car leur obtention requière beaucoup de temps et de travail avec des processus de purification fastidieux [384].
Une première procédure en 3 étapes permet de marquer le ¹⁸F au SFB, qui peut ensuite être facilement couplé à la biomolécule d'intérêt dans des conditions de réaction plus douce. Le ¹⁸F-SFB forme un lien avec la biomolécule par les fonctions amines. Ces ligands prosthétiques permettent d'éviter les conditions difficiles (hautes températures, conditions très basiques) d'un marquage direct au ¹⁸F qui risque de dénaturer les biomolécules que l'on souhaite marquer [385]. Une fois le ¹⁸F-SFB obtenu, une réaction de chauffage (45°C ; 5 min ; pH 8,5) permet la conjugaison de celui-ci aux MAA (avec un rendement de conjugaison de 58 %). Le marquage des ¹⁸F-MAA est réalisé en 60 min avec un rendement radiochimique de 30-35 % et une pureté radiochimique supérieure à 95%. Les ¹⁸F-MAA ont été injectées chez des rats porteurs de tumeurs hépatiques N1S1, et leur biodistribution est corrélée à celle des ^{99m}Tc-MAA. Leur utilisation pourrait améliorer la précision de la dosimétrie pour la SIRT [252].

2.1.2. Microparticules d'albumine sérique humaine (HSA) marquées au ⁶⁸Ga ou au ^{99m}Tc : ⁶⁸Ga-HSA ou ^{99m}Tc-HSA

Les microparticules d'albumine sérique humaine (HSA) sont une alternative aux MAA pour les études de perfusion pulmonaire notamment [358] et ont été très utilisées en médecine nucléaire clinique, plus particulièrement pour la scintigraphie des poumons depuis 1969 [108,386]. Leur utilisation a été remplacée par les ^{99m}Tc-MAA plus performants pour l'étude de la perfusion pulmonaire [377]. Elles sont biocompatibles, biodégradables et non-toxique comme les MAA. De plus, elles présentent l'avantage d'avoir une taille uniforme (diamètre moyen de 25µm ; gamme de 15 à 37 μm) par rapport aux macroagrégats [387,388]. Elles peuvent également être marquées au ^{99m}Tc. Une étude récente [389] a d'ailleurs comparé la stabilité hépatique et pulmonaire des ^{99m}Tc-MAA et des ^{99m}Tc-HSA comme vecteur de l'étape de pré-radioembolisation hépatique, avec les microsphères d'⁹⁰Y chez 24 patients. L'étude a montré une meilleure stabilité des ^{99m}Tc-HSA dans les deux compartiments et a conclu que les HSA étaient donc plus fiable pour la détermination des shunts hépatopulmonaires. De la même manière qu'avec les MAA, le marquage au ⁶⁸Ga des HSA a été développé dans le but de pouvoir les utiliser en TEP [373,390–393]. Ces études ont commencé dans les années 1970. Le marquage des HSA par le ⁶⁸Ga se fait soit par co-précipitation à la surface des particules comme pour les MAA [374], soit par complexation d'un chélateur tel que le DOTA [390] greffé sur les HSA [361] et nécessite une étape de chauffage.

Cependant les MAA et les microparticules d'HSA sont tous les deux des dérivés du sang et sont donc porteur du risque théorique de transmission de la maladie de Creutzfeldt-Jakob [358]. Il est donc intéressant de développer des vecteurs ne comportant pas ce risque.

2.2. Microparticules pour la thérapie

Dans le but de pallier à certains problèmes, rencontrés avec les systèmes de radioembolisation des tumeurs hépatiques actuellement utilisés en clinique, plusieurs systèmes microparticulaires ont été développés pour la radiothérapie interne des tumeurs hépatiques : colloïdes, polymères et microsphères de différents matériaux. Les systèmes particulaires (diamètre de 20-50 µm [235,394]) sont intéressants pour la radioembolisation des tumeurs hépatiques. Ceci est dû à la particularité des tumeurs hépatiques (apport sanguin artériel et hypervascularisation) et au mode d'action de ces microparticules lorsqu'elles sont injectées par voie intra-artérielle. Elles se logent préférentiellement dans les petites artères et les sinusoïdes capillaires constituant le réseau hypervasculaire des tumeurs hépatiques et permettent ainsi leur irradiation avec des doses de radiations 20 à 30 fois supérieures à celles obtenues par irradiation externe [112,395].

2.2.1. Microsphères de verre marquées au phosphore-32 (³²P)

Le phosphore-32 (³²P) (t_{1/2} = 14,3 jours) est un radionucléide qui émet des rayonnements β^{-} de haute énergie (E_{max} = 1,71 MeV) et qui n'émet pas de rayonnements γ . Le ³²P est donc un émetteur β^{-} pur comme l'⁹⁰Y, il peut donc être imagé de manière indirecte en TEMP grâce aux rayonnements de bremsstrahlung créés lors de l'interaction des β^{-} avec la matière [396]. Il a un parcours au sein des tissus de 2,2 mm en moyenne pour un maximum de 7,9 mm. C'est le premier radionucléide qui a été utilisé comme traitement de la leucémie [145,159,395]. Il a également été utilisé dès le début des années 1970 pour le traitement du CHC et des métastases du foie sous forme de colloïdes d'albumine marqués au ³²P [395].

D'une manière similaire au TheraSphere[®], du phosphore non radioactif (³¹P) est incorporé dans la matrice de verre et les microparticules de verre de taille comprise entre 46 et 76 µm sont formées. Le ³¹P est ensuite activé en ³²P par bombardement neutronique. Les particules ont une activité spécifique de 550-3700 MBq.g⁻¹. Elles sont ensuite mises en suspension dans de l'huile iodée ultrafluide ou une solution de glucose à 50 % à une concentration de 100 mg.mL⁻¹ avant administration [397–399].

Dans plusieurs études préclinique ou clinique pour le traitement des tumeurs hépatiques, l'administration des microparticules de ³²P se fait par implantation locale et non pas par injection transartérielle. Par exemple, l'étude de Wang *et al.* a investigué l'effet préventif de microsphères de verre marquées au ³²P, contre la récurrence du CHC chez des patients ayant subi une résection de CHC massif [397]. Un morceau d'éponge de gélatine est imprégné de la solution de microsphères de ³²P et est placé au niveau de la zone de résection hépatique. L'étude a montré une diminution des récurrences tumorales post-résection et une augmentation de la survie globale.

Plusieurs études de radioembolisation des tumeurs hépatiques par les microsphères de ³²P chez des patients ont été réalisées en Chine [400-402]. Liu L. et al. [399] ont réalisé une étude de l'efficacité et de la toxicité des microsphères de ³²P chez des souris porteuses de tumeurs xénogreffrées, des cochons sains, mais aussi chez 111 patients atteints de cancers hépatiques (primaires ou secondaires). Les microsphères de ³²P ont été administrées par voie intra-artérielle chez les cochons et les patients, alors qu'une implantation locale au cœur de la tumeur a été effectuée chez les souris. Les patients ont été divisés en 3 groupes : un groupe A recevant les microsphères de 32 P (*n* = 30) ; un groupe B recevant les microsphères de 32 P et une demi-dose de chimioembolisation transartérielle (n = 49) et un groupe C recevant uniquement le traitement par chimioembolisation trans-artérielle (n=19). Les résultats des groupes traités par microsphères de ³²P (groupe A) et par chimioembolisation trans-artérielle (groupe C) étaient similaires, tandis que le groupe B traité par microsphères de ³²P combinées à la chimioembolisation a eu de meilleurs résultats que le groupe C traité par chimioembolisation uniquement. Dans le groupe B, l'apparition de nouveaux nodules tumoraux était moins fréquente et 4 patients ont pu également, suite à une diminution de la taille de leur tumeur, être traités par chirurgie. Une autre étude plus récente par Wang X. et al. [396] combinant l'injection trans-artérielle de microsphères de ³²P et la chimioembolisation a été réalisée chez 25 patients atteints de CHC. Un taux de réponse global de 92 % a été obtenu avec une médiane de survie globale de 15 mois. L'analyse de la biodistribution des microsphères de ³²P par bremsstralhung a montré leur accumulation dans les tumeurs. De manière similaire aux microsphères d'⁹⁰Y, la planification du traitement pour les microsphères de ³²P doit se faire à l'aide des ^{99m}Tc-MAA.

2.2.2. Microsphères de verre radiomarquées au ¹⁸⁶Re/¹⁸⁸Re

Ces microsphères de verre ont été développées à la suite d'un premier essai de mise au point de microparticules biodégradables fait de polymère d'acide polylactique (PLLA) radiomarquées au rhénium-186 (¹⁸⁶Re) et rhénium-188 (¹⁸⁸Re) [403]. Le but était de remédier à trois désavantages rencontrés avec les microsphères d'⁹⁰Y :

- le fait qu'elles soient non biodégradables une fois la décroissance de l'yttrium-90 ;
- une production longue par bombardement de neutron de l'yttrium-89 et la nécessité d'utiliser des réacteurs à haut flux ;
- la difficulté d'imager l'yttrium-90 du fait qu'il n'émette pas de rayonnements γ.

Cependant malgré une quantité de rhénium importante incorporée, ces microparticules de PLLA ne sont pas adaptées pour la radioembolisation des tumeurs hépatiques à cause d'une

dégradation trop rapide qui est due au processus d'activation du rhénium dans les microparticules, par bombardement de neutrons. La suite du développement de microparticules marquées au rhénium pour la radioembolisation des tumeurs hépatiques a donc été le développement de microparticules en verre [404,405].

Le rhénium-186 ($t_{1/2}$ = 3,8 jours) et le rhénium-188 ($t_{1/2}$ = 17,0 h) sont tous les deux des émetteurs β⁻ (E_{max} = 1,1 MeV et 2,1 MeV respectivement) avec une émission γ de 137,2 keV (9,4 %) et de 155 keV (15 %) respectivement [182,403–405]. Ils peuvent donc être tous deux imagés directement en TEMP. Les microsphères sont produites d'une manière similaire aux TheraSphere[®], un mélange de rhénium-185 (37,4 %) et de rhénium-187 (62,6 %) non radioactif (sous forme de poudre de particules métalliques de ReO₂) est incorporé dans la matrice de verre par frittage à 1050°C. Une fois les microsphères de verre (de 25-32 µm de diamètre, pour une densité de 2,9 g.mL⁻¹) fabriquées (par sphéroïdisation à la flamme), le rhénium est activé par bombardement de neutrons et l'on obtient les microparticules contenant un mélange de ¹⁸⁶Re et de ¹⁸⁸Re dont l'activité varie en fonction du temps d'activation [108,404,405]. Pour un temps de bombardement de 1 h, suivi d'un temps de décroissance de 24h, l'activité spécifique du ¹⁸⁶Re est de 8,9 GBq.g⁻¹ et du ¹⁸⁸Re est de 23,3 GBq.g⁻¹. Pour un temps d'activation de 8 h on obtient : 69,1 GBq.g⁻¹ pour le ¹⁸⁶Re et de 279 GBq.g⁻¹ pour le ¹⁸⁸Re. Le temps de bombardement pour obtenir des doses thérapeutiques de rhénium est beaucoup plus court que les deux semaines minimum nécessaires pour l'activation de l'⁸⁹Y en ⁹⁰Y pour les TheraSphere[®] [404,405]. Des tests in vitro de stabilité dans du PBS ont montré un très faible relargage de rhénium (1,2 % après 32 jours à 37°C) [404].

Häfeli *et al.* [405] a injecté par voie intra-artérielle ces microsphères de verre dans l'artère hépatique de rats porteurs de tumeurs hépatiques (injection hépatique de cellules tumorales de l'hépatome de Novikoff). Les microsphères ont été retrouvées 7 fois plus dans les tissus tumoraux par rapport aux tissus sains et une diminution de la croissance tumorale dans le groupe traité par rapport au groupe contrôle a été observé.

Le problème rencontré avec ce type de particules comportant deux isotopes du rhénium est la différence de demi-vie, d'énergie et de pourcentage au sein des particules, ce qui rend les calculs dosimétriques difficiles et leur utilisation peu pratique [182].

2.2.3. Microparticules d'albumine sérique humaine marquée au ¹⁸⁸Re : ¹⁸⁸Re-HSA

Le marquage des HSA au ¹⁸⁸Re a été développé dans le but d'une utilisation pour la radiothérapie sélective interne des tumeurs hépatiques d'une manière similaire aux microsphères d'⁹⁰Y [175,386]. Dans une première étude, les ¹⁸⁸Re-HSA étaient produites avec un rendement de

radiomarquage de 85-90 % stable dans le temps *in vitro* et *in vivo* [386]. Le radiomarquage a été optimisé avec un rendement à 100 %, sous la forme d'un kit de 3 flacons lyophilisés [406] avec un temps de radiomarquage d'environ 1 h et nécessitant un chauffage à 95°C. Le processus de radiomarquage (ajout de perrhénate aux microparticules d'HSA en présence de chlorure d'étain) est un phénomène de co-précipitation de l'étain et du rhénium réduit à la surface des particules [182,388,406]. Les ¹⁸⁸Re-HSA présentent l'avantage d'être beaucoup moins chères que les microsphères d'⁹⁰Y et d'être plus stables *in vivo* par rapport au lipiodol marqué au ¹⁸⁸Re avec un meilleur rendement de radiomarquage [175,407].

Une première étude de faisabilité a été réalisée par Liepe *et al.* [387] chez 10 patients atteints de CHC ou de métastases de cancer colorectal avec l'administration intra-artérielle de ¹⁸⁸Re-HSA (10-20 GBq). Une réponse partielle a été obtenue chez 2 patients ; une stabilité chez 5 patients et une progression chez 3 patients. Une deuxième étude de Nowicki *et al.* [408], a été réalisée chez une petite cohorte de 13 patients atteints de CHC ou de métastases de diverses origines avec une survie globale de 7,1 mois et une survie sans progression de 5,1 mois. Les deux études ont montré que le traitement était bien toléré et que les ¹⁸⁸Re-HSA constituaient une option thérapeutique prometteuse pour la radioembolisation des tumeurs hépatiques.

Une nouvelle méthode de radiomarquage des HSA par le ¹⁸⁸Re a été développée dans une étude récente de Ni *et al.* [388] avec l'utilisation de l'ion ¹⁸⁸Re(I)-tricarbonyle comme précurseur au marquage (1 h à 95°C) direct des microparticules. Ceci, dans le but d'améliorer la stabilité *in vitro* des ¹⁸⁸Re-HSA qui n'était pas bonne avec le processus de marquage optimisé de Wunderlich *et al.* [406] (relargage de l'étain et du rhénium pouvant conduire à des effets secondaires). Le but étant également de conserver un radiomarquage avec un rendement élevé, sans utiliser l'agent réducteur SnCl₂. Une stabilité *in vitro* a été obtenue mais le taux de radiomarquage obtenu (> 85 % [388] contre presque 100 % [406]) est plus faible néanmoins. Ces particules ¹⁸⁸Re-HSAM ont été injectés en intra-artériel chez des rats ayant reçus une injection de cellules tumorales N1-S1 dans le foie pour développer la tumeur, avec plus de 95 % des particules spécifiquement accumulé dans le foie [388].

Des essais de radiomarquages de HSA couplées au chélateur DOTA ont été menées avec d'autres radionucléides tels que l'⁹⁰Y et le ¹⁷⁷Lu [390] cependant les résultats obtenus (détachement radio-induit du chélateur) ne permettent pas une utilisation pour le traitement des tumeurs hépatiques.

2.2.4. ¹⁶⁶Ho-PLLA-MS

Ces microparticules ont été premièrement développées au début des années 1990 par Mumper *et al.* [409,410] puis par Nijsen *et al.* [394,411] (avec une plus forte concentration d'Ho [108])

pour la radioembolisation des tumeurs hépatiques [182]. Ces microparticules (¹⁶⁶Ho-PLLA-MS) sont faites de polymère d'acide polylactique (PLLA). De l'holmium-165 stable est incorporé au polymère sous forme de complexe lipophile au moment de la fabrication des microparticules par extraction de solvant. Après tamisage les particules obtenues ont une taille moyenne de 40 μm (20-50 μm). L'holmium-165 est ensuite activé en holmium-166 par irradiation neutronique dans un réacteur nucléaire de haut flux [194].

L'holmium-166 (¹⁶⁶Ho) (t_{1/2} = 26,83 h) est un radionucléide émetteur de rayonnements β^- de haute énergie (E_{max} = 1,77 et 1,85 MeV), il est aussi émetteur de rayonnements γ (E_{γ} = 80,6 keV) ce qui permet sa visualisation en imagerie TEMP. Il présente également la particularité d'être paramagnétique (*i.e.* qu'il peut devenir magnétique sous l'influence d'un champ magnétique) et peut donc être utilisé comme agent de contraste et visualisé en IRM [175]. Il peut également être imagé en tomodensitométrie grâce à un coefficient d'atténuation plus élevé que l'iode (l'agent de contraste le plus utilisé) [182].

Plusieurs tests précliniques ont été réalisés : test de biodistribution chez des rats avec une biodistribution des particules confinée au foie et une concentration tumorale 6 fois supérieure à la partie saine [194] ; test de biodistribution et de la faisabilité d'imagerie IRM chez le lapin VX2 [412,413] ; test d'efficacité chez le modèle de tumeur VX2 chez le lapin qui a montré un arrêt de la croissance tumorale [182] et test de toxicité chez le porc sain sans effets secondaires observés si l'administration est bien réalisée [244].

L'injection d'une petite dose (« *scout dose* ») de particules d'¹⁶⁶Ho-PLLA-MS, pour une utilisation en pré-thérapeutique, afin de prédire la biodistribution des particules lors du traitement des tumeurs hépatiques, a également été investiguée [182,413,414]. Mais ce type de procédure n'est pas optimal dans le sens où une dose de radionucléides thérapeutiques, bien que d'activité faible, est injectée dans un but purement diagnostic et ceci présente des risques [415]. Une alternative proposée étant d'administrer des microparticules non radioactives et de visualiser leur biodistribution par IRM [108].

Un essai clinique de phase I (HEPAR) a été réalisé entre 2009 et 2011, chez des patients présentant des métastases au foie, dont la tumeur ne peut être retirée chirurgicalement et qui sont réfractaires aux traitements chimiothérapeutiques. La dose maximum tolérée a été définie à 60 Gy. Concernant la toxicité évaluée au niveau des tests sanguins, une baisse des lymphocytes de l'albumine sérique et une augmentation des enzymes (phosphatase alcaline, aspartate aminotransférase et γ glutamyltransférase) ont été observées. La lymphopénie et la variation des γ -glutamyltransferase n'étaient pas observées avec les microsphères d'⁹⁰Y [415]. Un arrêt de la progression tumorale ainsi qu'une réponse partielle a été obtenue chez 14 des 15 patients de l'étude. Une comparaison entre l'utilisation des ^{99m}Tc-MAA et une petite dose de particules d'¹⁶⁶Ho-PLLA-MS lors de l'étape préthérapeutique, a été réalisée et n'a pas montré de différence pour la prédiction des biodistribution des particules [416,417]. Mais une étude plus récente d'Elschot M. *et al.* [283] a montré que l'utilisation des microsphères d'¹⁶⁶Ho était plus précise pour le diagnostic de pré-traitement et que les doses aux poumons étaient surestimées par les ^{99m}Tc-MAA par rapport aux microsphères d'¹⁶⁶Ho. Dans une étude récente [418], faisant suite à l'essai clinique de phase I, la sécurité de l'administration d'une petite dose de microsphères d'¹⁶⁶Ho (250 MBq), pour l'étape de diagnostic pré-traitement des ^{99m}Tc-MAA pour les études suivantes de radioembolisation par les microsphères d'¹⁶⁶Ho, en raison du bénéfice de précision obtenu par rapport au risque qu'ils estiment négligeable. Cependant, d'autres études plus poussées doivent être menées. Un inconvénient des ¹⁶⁶Ho-PLLA-MS, étant donné la faible demi-vie et le mode de production, est la nécessité d'une activation en réacteur nucléaire par patient pour la préparation de la dose [415].

2.2.5. 166 Ho-Chitosane

Un autre type de microparticules marquées à l'¹⁶⁶Ho sont les microparticules faites à partir de chitosane. Le chitosane est un polymère de glucose (2-déoxy-2-amino-D-glucose) obtenu par désacétylation alcaline de la chitine (composé issu de l'exosquelette de crustacés, comme la carapace des crabes, des crevettes ou des os de seiche). Il est biocompatible, biodégradable et non-toxique [419]. Le chitosane forme un chélate avec les métaux lourds tels que l'166Ho [175,420]. Les microparticules sont préparées en mélangeant une solution d'¹⁶⁶Ho à une solution de chitosane en pH acide (pH 3). Elles forment un gel lorsqu'elles se trouvent en condition neutre ou basique (dans les tissus) [420]. Une étude pilote [420] a été menée chez des patients (n = 12) ayant des CHC de petite taille (< 3cm) avec l'injection intra-artérielle des complexes de chitosane-¹⁶⁶Ho. Cette étude pilote a montré une efficacité du traitement (10 patients avec une réponse complète et 2 avec une réponse partielle) avec une toxicité acceptable. Une étude de phase II [421] utilisant ces microparticules a été menée pour le traitement palliatif de patients ayant des tumeurs CHC larges (3-13 cm) et solitaires non résécables et a montré de bons résultats et une toxicité tolérable. La survie observée à 5 ans est de 51 % [175,338,422]. Cependant le chitosane n'est pas le vecteur idéal pour l'holmium-166 car un relargage d'¹⁶⁶Ho peut survenir causant des effets secondaires hématologiques, c'est pourquoi les microsphères ¹⁶⁶Ho-PLLA-MS ont été développées [423].

3. Développement d'un nouvel agent microparticulaire pour la théranostique du CHC : les SBMP : Comparaison aux systèmes en développement

Le Tableau XV compare les caractéristiques des SBMP et des différents vecteurs microparticulaires développés pour l'amélioration de la SIRT. Les SBMP offrent certains avantages par rapport à ces différents systèmes.

Microparticules		SBMP		M.	4A	SIR-	Therasphere®	¹⁶⁶ Ho-PLLA-	¹⁶⁶ Ho-	¹⁸⁸ Re-HSA	³² P- ^{186/188} Re-Microsphères d		osphères de
					Spheres®		MS Chitosane			Microsphères de verre	verre		
Utilisation	Diagnostic et Thérapie		Diagnostic		Thérapie		Diagnostic e	et Thérapie	Diagnostic et Thérapie	Diagnostic et Thérapie	Diagnostic et t	hérapie	
Radionucléides	^{99m} Tc	⁶⁸ Ga	¹⁸⁸ Re	^{99m} Tc	¹⁸ F	90Y		166	Но	¹⁸⁸ Re	³² P	¹⁸⁶ Re,	¹⁸⁸ Re
Demi-vie	6,0 h	68min	17,0 h	6 h	100 min	2	,7 j	26,8	3 h	17,0 h	14,3 j	3,8 j	17,0 h
Rayonnements	γ	β+	β-, γ	γ	β+		β-	<u>β-</u> ,	γ	β-, γ	β-	β ⁻ , γ	β ⁻ , γ
E _{max}	140 keV	1,9 MeV	(β) 2,1 MeV, 85% [145] (γ) 155 keV, 15% [145]	140 keV	640 keV	2,3 MeV		(β) 1,84 MeV, (β) 1,77 MeV, [145,182] (γ) 80,6 keV, 6	50% 49% ,7% [182]	(β) 2,1 MeV, 85% [145] (γ) 155 keV, 15% [145]	1,71 MeV	(β) 1,1MeV (γ) 137,2 keV (9,4%) [403,404]	(β) 2,1 MeV, 85% [145] (γ) 155 keV, 15% [145]
Parcours dans les tissus des β ⁻	-	-	Max : 11 mm Moy : 2,43 mm	-		Max : 12 mm Moy : 2,8 mm [145]		Max : 8 Moy : 3	,4 mm ,3 mm	Max : 11 mm Moy : 2,43 mm	Max: 8,7 mm Moy: 2,2 mm [112,145,424]	Max : 5,0 mm Moy : 1,0 mm [112]	Max : 11,0 mm Moy : 2,43 mm
Principal moyen de production	Générateur ⁹⁹ Mo/ ^{99m} Tc	Générateur ⁶⁸ Ge/ ⁶⁸ Ga	Générateur ¹⁸⁸ W/ ¹⁸⁸ Re	Générateur ⁹⁹ Mo/ ^{99m} Tc	Cyclotron	Irradiation neu d' ⁸⁹ Y [235] (Disponible aus Générateur ⁹⁰ S	tronique ssi par r/ ⁹⁰ Y)	Produit de réa irradiation neu ¹⁶⁵ Ho(n,γ)- ¹⁶⁶ H	cteur : itronique lo [112,145]	Générateur ¹⁸⁸ W/ ¹⁸⁸ Re	Irradiation neutronique 31P (n, γ)- 32P (ou ${}^{32}S$ (n,p)- ${}^{32}P$) [112]	Irradiation neutronique ¹⁸⁵ Re (n,γ)- ¹⁸⁶ Re [112]	Générateur ¹⁸⁸ W/ ¹⁸⁸ Re
Taille moyenne	30 µm [359]			35 μm [175]		32,5 μm [66]	25 µm [66]	40 µm [194]		25 µm [386]	6]		
Gamme de taille	7- 63 μm	7- 63 μm 10-100 μn		10-100 μm		20-60 μm [279]	20-30 μm [279]	20-50 μm [194]		15-37 μm [387]	46-76 μm [397]	25-32 μm [405]
Moyen de radiomarquage	Cadavérine : ligand polyamine greffée à la surface des microparticules		Co-précipitation à la Greff surface des particules surfa [361]		Greffé à la surface [66]	Incorporé dans la matrice de verre [66]	Incorporé dans la matrice de polymère [194]	Le chitosan chélate l'holmium- 166	Co- précipitation à la surface des particules [182,388,406]	Incorporé dans la matrice de verre [397]	Incorporé dans verre	a matrice de	
Matériau	Amidon de pomme de terre oxydé		Macroagréga d'albumine s humaine	its érique	Résine	Verre	Polymère d'acide polylactique [194]	Polymère de glucose	Albumine Sérique Humaine	Verre	Verre		
Activité (Bq) /Microparticules	Activité spécifique variable en fonction de l'activité de radiomarquage ¹⁸⁸ Re : 114 à 811 (cf. article [146])		fonction de .46])			50 [66,182,241]	2500 [66,182,241]	≤ 450 [182]		≤ 100 000 [182]		Activité spécifi en fonction du d'activation [4	que variable temps 04,405]
Densité (g/mL)	-			1,1 [182]		1,6	3,3	1,4 [416]			2,0-2,5 [396]		
Expérience clinique	ique Non		Oui Ou		Oui	Oui	Etude clinique de phase I (HEPAR) [417]	Etude clinique de phase II [421]	Oui [182][408]	Oui [400– 402]. [399] [396]	Non		

Tableau XV : Comparaison des SBMP et des différentes microparticules en développement pour la SIRT

Le développement du marquage des MAA par des émetteurs de positons (⁶⁸Ga ou ¹⁸F permet d'améliorer la précision de l'étape pré-thérapeutique de la SIRT par rapport à l'utilisation des ^{99m}Tc-MAA, grâce à la meilleure sensibilité, résolution spatiale et à la meilleure quantification du signal que permet la TEP. Cependant, les MAA présentent des différences de morphologie, de taille et de densité par rapport aux microsphères d'⁹⁰Y. Le problème d'un vecteur diagnostic différent du vecteur thérapeutique reste inchangé. Ce qui n'est pas le cas des SBMP qui peuvent être marquées par 3 radionucléides différents (le ^{99m}Tc; le ⁶⁸Ga et le ¹⁸⁸Re) couvrant ainsi l'aspect diagnostique et thérapeutique, permettant d'avoir un vecteur unique pour les deux étapes de la SIRT.

L'utilisation d'un vecteur unique est possible avec les microparticules d'HSA. Elles peuvent être marquées par le ^{99m}Tc, mais le marquage au ⁶⁸Ga a été développé afin de pouvoir les imager en TEP pour les mêmes raisons décrites précédemment. Elles ont l'avantage de pouvoir également être marquées au ¹⁸⁸Re pour la thérapie. De plus, par rapport aux MAA qui ont une forme hétérogène, elles ont une forme sphérique uniforme qui s'apparente donc plus aux microsphères d'⁹⁰Y utilisées en clinique. Cependant comme les MAA elles sont d'origine humaine et portent donc le risque théorique de transmettre des maladies, ce qui n'est pas le cas des SBMP qui sont d'origine végétale (amidon de pomme de terre).

L'utilisation des microsphères de verre marquées au ¹⁸⁶Re/¹⁸⁸Re en clinique pose des problèmes de dosimétrie dus au radiomarquage par deux isotopes différents du rhénium. Elles ne sont pas biodégradables et n'ont pas d'équivalent diagnostique pour l'étape pré-thérapeutique.

Concernant les microsphères de ³²P, le désavantage du ³²P est qu'il n'émet pas de rayonnements γ comme l'⁹⁰Y, donc le problème de l'imagerie post-traitement de la SIRT reste inchangé. Il peut néanmoins être imagé par bremsstrahlung.

Les microsphères de PLLA d'holmium-166 ont été développées pour éviter les problèmes de relargage de l'¹⁶⁶Ho des particules de chitosane. Les microparticules d'¹⁶⁶Ho présentent plusieurs avantages. L'holmium est un élément qui permet l'imagerie multimodale (Tomographie, IRM et TEMP), en plus de permettre le traitement par émission β^{-} dans le cas de l'¹⁶⁶Ho. Des microsphères d'holmium-165 non radioactif peuvent être utilisées pour l'étape pré-thérapeutique (en IRM) avant le traitement avec les particules d'¹⁶⁶Ho. Cependant, l'activation de l'¹⁶⁵Ho en ¹⁶⁶Ho nécessite une irradiation neutronique dans un réacteur à haut flux, et la demi-vie de l'¹⁶⁶Ho n'étant pas très élevée les doses des patients doivent donc être préparées une à une (une irradiation neutronique par patient). L'essai clinique de phase I a aussi montré quelques toxicités sanguines qui n'étaient pas observées avec les microsphères d'⁹⁰Y. De plus, le vecteur utilisé comme mimétique des microsphères d'¹⁶⁶Ho pour l'étape pré-thérapeutique sont également les ^{99m}Tc-MAA qui tout comme pour les microsphères d'⁹⁰Y

n'ont pas la même morphologie, ce qui peut conduire à une biodistribution différente. Le problème de l'utilisation de deux vecteurs distincs reste constant. L'utilisation d'une *scout-dose* de particules d'¹⁶⁶Ho en remplacement des ^{99m}Tc-MAA comporte néanmoins un risque par l'utilisation d'un radionucléide thérapeutique à des fins uniquement diagnostiques.

Les SBMP offrent l'avantage également d'un radiomarquage rapide, simple et à température ambiante ce qui n'est pas toujours le cas des systèmes présentés précédemment. Par exemple, le marquage des HSA au ¹⁸⁸Re nécessite une réaction d'1 heure à 95°C, alors que le radiomarquage des SBMP par le ¹⁸⁸Re est réalisé à température ambiante (15-30 min suffisent). De même le marquage des MAA par des émetteurs de positons comme le ⁶⁸Ga ou le ¹⁸F nécessite plusieurs étapes dont une de lavage des kits cliniques de MAA pour enlever le SnCl₂. Le marquage du ⁶⁸Ga nécessite un chauffage et le processus d'obtention des ¹⁸F-MAA est long et fastidieux notamment pour la fabrication du ¹⁸F-FBS. Les SBMP peuvent être marquées au ⁶⁸Ga à température ambiante dès 5 min en une seule étape.

Les SBMP présentent ainsi de nombreux avantages :

- Vecteur unique garantissant la même biodistribution entre l'étape pré-thérapeutique et le traitement.
- Elles peuvent être marquées par 3 radionucléides différents ayant des propriétés thérapeutiques et diagnostiques permettant l'imagerie scintigraphique en TEMP mais également l'imagerie TEP.
- Ces 3 radionucléides sont disponibles par l'élution de générateurs, plus faciles d'utilisation que les radionucléides issus de cyclotron ou de réacteurs :
 - Le ^{99m}Tc est disponible grâce à un générateur : Molybdène-99/Technétium-99m : ⁹⁹Mo/^{99m}Tc.
 - Le ⁶⁸Ga est disponible via un générateur : Germanium-68/Gallium-68 : ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga.
 - Le ¹⁸⁸Re est disponible via un générateur : Tungstène-188/Rhénium-188 : ¹⁸⁸W/¹⁸⁸Re.
- Le développement du marquage au ⁶⁸Ga améliore la qualité des images préthérapeutiques.
- L'origine des SBMP est végétale, garantissant la non transmission de maladie.
- Cette origine végétale (amidon de pomme de terre) en fait certainement un vecteur peu coûteux par rapport aux microsphères d'yttrium-90.
- La flexibilité du marquage permettant de faire varier l'activité spécifique des SBMP radiomarquées notamment pour le marquage au ¹⁸⁸Re permet de proposer une alternative intermédiaire entre les SIR-Spheres[®] et les TheraSphere[®], pouvant potentiellement

résoudre les problèmes rencontrés cliniquement, de saturation du lit vasculaire avec les SIR-Spheres[®] et de couverture de la zone tumorale non optimale avec les TheraSphere[®].

Ces caractéristiques en font un vecteur théranostic unique potentiel pour la SIRT des cancers hépatiques. Elles permettent d'améliorer la technique de la SIRT (cf. tableau Tableau XVI).

Tableau XVI : Améliorations apportées par l'utilisation des SBMP pour la SIRT

Problèmes rencontrés par la SIRT (⁹⁰ Y-microsphères)	Amélioration proposée par l'utilisation des SBMP
Différence de biodistribution entre les ^{99m} Tc- MAA et les microsphères d' ⁹⁰ Y.	Vecteur théranostique unique. Radiomarquage possible par le ^{99m} Tc, le ⁶⁸ Ga, le ¹⁸⁸ Re.
90 Y émetteur β pur : Imagerie post-traitement difficile et non optimale.	^{188}Re émetteur $\beta^{\text{-}}$ et γ : imagerie directe en TEMP/TDM.
^{99m} Tc-MAA : imagerie pré-traitement scintigraphique ou TEMP.	Amélioration de la qualité des images pré- thérapeutiques par l'utilisation des ⁶⁸ Ga-SBMP visualisables en TEP. Possibilité d'imager les SBMP soit en TEMP soit en TEP en fonction de l'appareil disponible.
 Problèmes liés à l'activité spécifique des microsphères d'⁹⁰Y : <i>TheraSphere</i>[®] : Activité spécifique élevée et donc faible nombre de particules injectées : couverture non optimale de la zone tumorale. <i>SIR-Spheres</i>[®] : Activité spécifique faible et donc nombre important de particules injectées : saturation des vaisseaux hépatiques : traitement sous-optimal. 	¹⁸⁸ Re-SBMP : Activité spécifique intermédiaire entre celle des TheraSphere [®] et des SIR- Spheres [®] et modifiable en fonction de l'activité injectée.
Traitement coûteux lié notamment au mode de production par activation neutronique. Temps d'activation long. (Réception des microsphères déjà radiomarquées).	SBMP : amidon de pomme de terre modifié : amélioration du coût. Marquage des microsphères par des radionucléides issus de générateurs : (Radiomarquage sous forme de kits-prêt à l'emploi rapide, à température ambiante et sur le site du centre de thérapie.)
Origine humaine des MAA.	Origine végétale des SBMP.

Cependant, des études supplémentaires sont nécessaires afin de pouvoir appliquer les SBMP en clinique. Un aspect important du chemin vers la clinique sont les études pré-cliniques. Le choix du modèle animal est important. Il existe plusieurs modèles animaux de tumeur hépatique, chacun ayant ses avantages et ses inconvénients.

4. Modèles animaux de tumeur hépatique

La recherche préclinique sur les thérapies du carcinome hépatocellulaire requière des modèles animaux appropriés [22]. Les modèles animaux se définissent comme un substitut pour l'être humain ou le système biologique humain, qui peut être utilisé pour comprendre les fonctions normales ou anormales des gènes au phénotype et fournir une base pour l'intervention préventive ou thérapeutique dans les maladies humaines [425,426].

Les modèles animaux permettent de développer de nouvelles approches diagnostiques et de nouveau traitements pour le CHC, mais également de mieux étudier les multiples mécanismes biologiques impliqués dans l'hépatocarcinogénèse et sa progression qui sont mal compris [427,428].

Plusieurs modèles animaux de tumeur hépatique existent [425]. Chaque modèle ayant ses propres avantages et inconvénients [428] mais il n'existe pas de modèle idéal de tumeur hépatique.

Le CHC intervient souvent dans un contexte d'inflammation chronique : d'origine infectieuse (virus de l'hépatite C ou B), toxique (alcool), métabolique (stéatohépatite non alcoolique) ou congénitale (hémochromatose). Ces maladies développent une inflammation hépatique et une fibrose qui sont des précurseurs au CHC. L'utilisation de modèles de tumeurs hépatiques mimant ce qui se passe chez l'homme est importante pour le développement de nouvelles stratégies thérapeutique. Cependant, ce milieu inflammatoire n'est pas facile à reproduire dans les modèles animaux [22,429].

Le modèle idéal doit reproduire l'histoire naturelle, la patho-biologie et la biochimie de la maladie humaine et le cadre clinique. Cependant, il est difficile de trouver un bon modèle animal de CHC humain du fait de l'hétérogénéité (génétique) de cette tumeur [22,426]. Le choix du modèle se fait en fonction de ce que l'on souhaite tester, et en fonction du modèle animal le plus approprié pour la question posée.

4.1. Types de modèles

Historiquement plusieurs types d'animaux ont été utilisés comme modèle pour le CHC [425,428] parmi lesquels la souris [429–431] et le rat [364] (qui sont tous les deux les plus nombreux) mais également le lapin [372], le cochon [432], la marmotte[433], le tupai [434,435], le cochon d'inde [436], le singe (macaque [437] et marmouset [438]), le chien, le chat et le poisson zèbre [439]. Hormis le type d'animal, les modèles de tumeurs hépatiques ont des origines différentes : modèles spontanés, induits, d'origine virale, de transplantation cellulaire et modifiés génétiquement (cf. Figure 22) [428].



Figure 22 : Types de modèles animal de CHC : modifié d'après [428] :

Les modèles de xénogreffe concernent l'implantation de cellules tumorales d'un donneur d'une espèce différente du receveur, comme ici des cellules tumorales hépatiques implantées chez un modèle murin. Les xénogreffes sont classées selon le lieu d'implantation de la tumeur : orthotopique pour une implantation dans l'organe d'origine de la tumeur, ou ectopique pour une implantation dans un organe différent en sous-cutané ou en intra-péritonéal. Dans les modèles syngéniques, des lignées cellulaires de tumeurs murines sont utilisées pour l'implantation. Elles peuvent être notamment obtenues à l'origine par différentes méthodes : induction chimique, virale ou par modification génétique.

4.1.1. Modèles spontanés

Le CHC peut se développer chez les animaux sans aucune intervention artificielle, mais l'incidence et le type de tumeur développée varie en fonction des espèces. Les modèles spontanés ont l'avantage d'être proche des cancers humains en termes d'antigénicité, du mode de croissance, de la cinétique cellulaire et de la différenciation. Les modèles spontanés reflètent l'influence et l'accumulation des carcinogènes de l'environnement. Cependant l'apparition de tumeurs hépatiques spontanées chez le rat est très rare. Les modèles spontanés sont plutôt utilisés pour la recherche pathologique et l'établissement de lignée cellulaires [428].

4.1.2. Implantation cellulaire

Ces modèles consistent à implanter des cellules tumorales ou un morceau de tumeur issu par exemple d'une biopsie, chez un animal, dans le but qu'il développe la tumeur dans des conditions qui ressemblent à ce qui se passe chez l'homme et mime ainsi les interactions tumeur-hôte. Plusieurs formes d'implantations existent selon l'origine de la tumeur (humaine ou animale), le type de l'échantillon (suspension cellulaire ou biopsie de chirurgie), ainsi que le lieu d'implantation de la tumeur [22].

Les cellules tumorales peuvent être implantées dans l'organe d'origine (tumeur orthotopique) ou en sous-cutané ou par injection intra-péritonéale (tumeur ectopique) (cf. Figure 22). Mais elles peuvent également être injectées dans la veine porte (injection intra-portale) pour créer des modèles tumoraux disséminés (modèles de métastases) [22,440].

L'implantation d'une tumeur d'origine humaine (xénogreffe) ne peut se développer que chez des animaux immunodéprimés comme les souris nudes qui n'ont pas de lymphocytes T fonctionnels ou SCID par exemple. Cependant, ces modèles ne reflètent donc pas complètement la maladie humaine du fait du système immunitaire altéré et du manque d'interaction xénogreffe-hôte. Le modèle de xénogreffe de CHC humain le plus utilisé consiste à maintenir ces cellules en culture puis à les implanter en sous-cutané à des souris immunodéprimées. Ce modèle est très reproductible. Cependant, au cours de la culture cellulaire, elles vont acquérir des altérations génétiques et les réponses au traitement testé peuvent différer d'une tumeur se développant naturellement. Un autre type de xénogreffe de tumeur hépatique donne de meilleurs résultats, en termes de corrélation entre la clinique et les études pré-cliniques ; elle consiste à implanter de manière orthotopique un morceau de tumeur hépatique dans le foie d'un animal. Un modèle orthotopique est supérieur à un modèle ectopique (sous-cutané ou intrapéritonéal) en ce qui concerne la reproduction du microenvironnement tumoral du CHC, car les hépatocytes tumoraux sont dans leur environnement naturel : le foie [427,431]. Seul le modèle orthotopique de tumeur hépatique peut fournir le niveau de complexité de la vascularisation hépatique tumorale [441].

Les modèles xénogreffes offrent une solution rapide pour tester un panel de drogue et sont un modèle facile pour des expériences de preuves de concept [431]. Cependant, plusieurs lignées cellulaires doivent être utilisées car elles ne présentent pas les mêmes caractéristiques. De plus, les résultats spectaculaires observés chez ces modèles murins ne sont pas toujours reproduits chez les patients atteints de cancer.

Un modèle permet de tester plusieurs lignées cellulaires chez la même souris : la méthode de la fibre creuse (Hollow Fibers Assays). Les cellules de différentes lignées cellulaires sont placées dans des petits tubes semi-perméables (1 mm de diamètre) en fluorure de polyvinylidène. Ces tubes sont scellés par la chaleur et coupés en morceaux de 2 cm. Ces fibres sont mises en culture pendant 24-48 heures puis implantées en sous-cutané ou en intra-péritonéal chez une souris. En multipliant les lignées cellulaires pour une seule souris cette méthode permet de réduire le nombre d'animaux utilisés. Comme les tumeurs ectopiques, ce modèle n'est pas approprié pour étudier les interactions tumeur-hôte, mais la néoangiogénèse peut être étudiée. L'activité angiogénique s'observe après 6 jours d'implantation, et 1 mois est nécessaire pour le développement d'un réseau étendu autour de la tumeur [431,442].

Le modèle orthotopique syngénique permet de conserver les interactions immunitaires. Dans ce modèle : un animal est implanté avec des cellules tumorales hépatiques de la même espèce dans le foie. D'autres modèles permettent également de conserver les interactions tumeur-hôte intactes : le modèle spontané : développement la tumeur de manière spontanée ou le modèle d'induction : la tumeur est induite de manière chimique [22].

La plupart des modèles d'implantation cellulaire sont des modèles murins (souris ou rat), mais d'autres espèces existent comme le lapin, le hamster ou le cochon d'inde.

4.1.3. Modifications génétiques

Ces modèles génétiquement modifiés sont principalement utilisés pour étudier les effets des altérations génétiques de certains gènes et leur interaction sur l'hépatocarcinogénèse, et comprendre ses mécanismes plutôt que pour induire un CHC. Les évènements génétiques impliqués dans le développement du CHC ne sont pas complètement connus, mais certaines voies de signalisation cellulaire sont fréquemment altérées comme l'inactivation de p53 ou Rb (facteurs suppresseurs de tumeur) et l'activation de la voie pro-oncogénique Wnt/β-caténine ou de l'enzyme télomérase (enzyme qui maintient les télomères : la région terminale des chromosomes, au cours des différentes réplications chromosomiques, prévenant ainsi la sénescence cellulaire). Des altérations dans plusieurs voies cellulaires (impliquées dans la croissance, l'apoptose, la prolifération et l'angiogénèse) sont nécessaires pour le développement du CHC, l'hépatocarcinogénèse étant un processus constitué de plusieurs étapes et changements moléculaires conduisant à la transformation maligne des hépatocytes [428–431,443].

Les modèles modifiés génétiquement (pour la grande majorité murins) permettent le développement spontané de tumeurs hépatiques chez l'animal dont le génome a été altéré de manière à ce que des oncogènes ou des protéines virales soit constitutivement exprimés [22]. Par exemple l'oncogène *c-myc* qui est surexprimé dans la plupart des CHC humain ou l'ADN du virus simien 40 (SV40) qui produit deux protéines oncogéniques (l'antigène-T et l'antigène-t) [430]. Les modifications peuvent également concerner des gènes de facteurs de croissance ou des gènes impliqués dans la génération du micro-environnement tumoral mimant ainsi la carcinogénèse du CHC (dommage-fibrose-CHC) [431]. Un modèle de souris présente par exemple une déficience au niveau du foie d'un

gène suppresseur de tumeurs : le gène codant pour PTEN (*Phosphatase and Tensine Homologue*) qui conduit au développement d'une stéatose hépatique, d'une inflammation, d'une fibrose et à une tumeur qui est très similaire à celle se développant des suite de la stéatose hépatique non-alcoolique (NASH) humaine [431].

Différentes modifications génétiques peuvent conduire au développement d'un cancer hépatique chez les rongeurs : la mutation, le *knockout* d'un gène (inactivation d'un gène), ou encore la transgénèse (incorporation d'un gène au sein du génome de la souris dans des conditions qui permettent souvent sa surexpression). Les souris transgéniques ont été introduites au début des années 1980 et ont permis d'étudier les caractéristiques moléculaires de plusieurs maladies humaines *in vivo* [430].

Un des modèles transgéniques de tumeur hépatique chez la souris, développé dès la fin des années 80 et très étudié est le modèle transgénique du virus simien SV40 T-Ag (Simian vacuolating virus 40). Le génome du virus produit deux protéines oncogéniques (l'antigène-T et l'antigène-t) qui peuvent causer la transformation tumorale de la cellule hôte par inactivation de la transcription du gène suppresseur de tumeur p53 (responsable de l'initiation de l'apoptose et de l'arrêt du cycle cellulaire) et Rb. Afin de développer un modèle de tumeur hépatique chez la souris, le gène de l'antigène-T SV40 a été introduit dans le génome de souris sous contrôle de promoteurs spécifiques du foie comme l'albumine, l'α1-antitrypsine ou l'antithrombine III. L'oncogène viral sera transcrit dans le foie et induira le développement du CHC. Un autre modèle implique la surexpression d'un oncogène (*c-myc*) et d'un facteur de croissance le TGF- α dans le foie. Cependant, l'inconvénient de ces modèles est que ces gènes sont exprimés dans tous les hépatocytes du foie, ce qui n'est pas représentatif du microenvironnement des tumeurs chez l'homme. Un autre inconvénient est la présence de ces mutations dès l'embryogénèse, ce qui peut engendrer l'activation de voies moléculaires alternatives de compensation. Ces limites peuvent être surmontées grâce à l'utilisation de promoteurs inductibles. Les modifications génétiques peuvent ainsi être contrôlées dans le temps et être induites dans un tissu spécifique par les promoteurs spécifiques, de façon à se rapprocher du développement tumoral spontané. Par exemple, l'antigène-T viral SV40 est inséré dans le génome de souris, sous le contrôle d'un promoteur spécifique du foie et précédé par un signal stop entouré de sites loxP. L'oncogène viral ne peut donc pas être exprimé tant que le signal stop n'est pas retiré. Le signal stop peut être enlevé au moment voulu par infection des souris par un adénovirus exprimant la recombinase Cre qui va reconnaitre les sites loxP et les exciser, enlevant ainsi le codon stop. Une autre méthode est d'introduire également dans le génome le gène Cre sous contrôle d'un promoteur spécifique du foie inductible par le tamoxifène. L'administration de tamoxifène aux souris permettra la production de la recombinase Cre dans le foie, qui excisera les sites *loxP* conduisant à l'expression de l'oncogène viral dans les hépatocytes et donc au développement du CHC [430,431]. Il existe également des modèles transgéniques de souris exprimant de manière spécifique au foie, des gènes issus du génome des virus de l'hépatite C ou B [427].

Ces modèles génétiques permettent d'identifier les acteurs moléculaires de différents stades du processus de l'hépatocarcinogénèse. Cependant, les tumeurs se développant naturellement sont constituées d'un groupe hétérogène de cellules dans lesquelles de multiples mutations se sont produites. La mutation d'un gène ne conduit pas toujours au phénotype attendu. Par conséquent, chaque modèle modifié génétiquement ne représente qu'une partie de la complexité de l'hépatocarcinogénèse [431].

4.1.4. Induction chimique

Le modèle d'induction chimique a l'avantage de mimer la carcinogénèse car le cancer se développe chez l'hôte. Les modèles induits chimiquement permettent le développement d'un CHC dans un contexte naturel de dommages hépatiques conduisant à la tumeur [431]. Les modèles de cancer hépatique induits chimiquement impliquent donc des mécanismes similaires à la carcinogénèse chez l'homme et les tumeurs développées sont irriguées principalement par le système artériel hépatique. Cependant, en fonction des différents agents hépatocarcinogéniques utilisés, les voies métaboliques impliquées peuvent être diverses et éventuellement différentes de celles impliquées chez l'homme [431].

Plusieurs agents hépatotoxiques ont été utilisés pour l'induction de maladie du foie ou du CHC. Certains modèles d'hépatocarcinogénèse impliquent une phase d'initiation par un carcinogène chimique, suivi par une phase de stimulation pour induire l'expansion des cellules initiées, comme une hépatectomie partielle (la méthode de Solt-Faber) ou l'utilisation du phénobarbital. Une autre méthode est l'exposition au carcinogène par administration répétée par injection ou dans l'eau de boisson de carcinogènes tels que la diéthylnitrosamine (DENA), la diméthylnitrosamine (DMN) ou le tétra-chlorure de carbone (CCl₄), le thioacétamide (TAA), l'arsenic, l'alflatoxine B1, l'*o*-aminoaztoluène et le 1,2-dichloroéthane sur une période prolongée [22,429].

Seulement quelques agents chimiques agissent de manière directe comme hépatocarcinogène, la plupart agissent de manière indirecte par métabolisation en substances intermédiaires qui induisent la transformation tumorale. Les deux types de carcinogènes engendrent le développement du CHC par leur liaison à des protéines cellulaires et à l'ADN. Il existe au moins 9 modèles pour l'étude du développement du cancer du foie par les carcinogènes chimiques impliquant une initiation, le développement, la progression et pour finir l'apparition du CHC [22]. Les cellules altérées par le carcinogène accumulent les dommages et entrent en apoptose, mais un petit nombre va évoluer en foyer dysplasique et en nodule et conduire au développement du CHC en accumulant les mutations génétiques.

Le DENA est souvent utilisé comme agent carcinogénique chez les rongeurs car c'est l'agent chimique inducteur de tumeur hépatique le plus puissant chez les primates non-humains. L'incidence du CHC est proche de 100 % chez les animaux après 3 mois de traitement [22]. L'organe cible qui développe une tumeur maligne, suite à l'induction au DENA, est spécifique des espèces. La souris développe des tumeurs hépatiques mais également des tumeurs gastrointestinales, elle peut également développer des cancers de la peau, des voies respiratoires et hématopoiétiques. Le DENA engendre une alkylation de la structure de l'ADN. Il est hydroxylé en α -hydroxylnitrosamine par le cytochrome P450, une enzyme dont l'activité la plus importante est dans les hépatocytes. Un ion éthyldiazonium électrophile est formé après le clivage d'un acétaldéhyde. Cet ion cause des dommages à l'ADN par réaction avec les bases de l'ADN qui sont nucléophiles. L'action du DENA est dépendante de la dose [431] et engendre une cirrhose et un CHC multifocal dans les 18 semaines [429]. Il peut être administré dans l'eau de boisson ou par injection.

Le CCl₄ est également beaucoup utilisé pour l'induction de maladie du foie. Il est administré dans l'eau de boisson, par inhalation gazeuse ou par injection intra-péritonéale. Un métabolite radicalaire le trichlorométhyle est produit au cours du métabolisme oxydatif du CCl₄ par le cytochrome P450 et induit des dommages au foie en provoquant la production de dérivés réactifs de l'oxygène (ROS pour *Reactive Oxygen Species*) et en dégradant les phospholipides de la membrane par oxydation [429].

Une autre méthode est l'administration d'un régime déficient en choline et en méthionine chez le rat sur une période de 3-12 semaines qui permet le développement d'une cirrhose puis du CHC [426,429].

Bien que certains modèles de CHC induits par carcinogène chimique reproduisent les altérations cellulaires et histopathologiques observés chez le CHC humain comme le DENA, pour certains il n'est pas clair si ces modèles sont représentatif ou non des voies moléculaires altérées chez l'homme [22].

4.1.5. Modèles d'infection virale

Les principaux modèles d'infection chronique par le virus de l'hépatite sont la marmotte (virus de l'hépatite B de la marmotte) et le tupai (virus de l'hépatite du tupai). L'infection peut être couplée à un carcinogène chimique pour induire le développement du CHC [22,430].

Un autre modèle consiste à utiliser des souris ou des rats immunodéprimés chez lesquels on implante des hépatocytes infectés par le virus de l'hépatite B ou C humain. Ce modèle est intéressant pour l'étude de traitement et de moyens prophylactiques contre l'hépatite mais ils ne sont pas appropriés pour l'étude du CHC associé au virus de l'hépatite B ou C [430].

Les autres modèles sont des modèles murins génétiquement modifiés pour exprimer des protéines issues du génome du virus B ou C.

4.2. Modèle souris

La souris (*mus musculus*) est le modèle le plus utilisé pour les études sur le cancer, du fait de la disponibilité de diverses techniques de modifications génétiques (cf. paragraphe dédié 4.1.3) et la possibilité d'obtenir des modèles de xénogreffes chez des souris immunodéprimées. La souris rassemble le plus grand nombre de modèles possible : induction chimique, modèles de xénogreffes ou modèles modifiés génétiquement [426,431]. Elles ont plusieurs avantages : leur petite taille, leur facilité d'élevage, leur durée de vie moyenne de 2 ans, la rapidité de développement des tumeurs après implantation [444]. Les modèles de souris génétiquement modifiées ont permis une meilleure compréhension des voies de signalisation cellulaires impliquées dans l'apparition du CHC. Plusieurs lignées cellulaires syngéniques peuvent être utilisées pour le développement de tumeurs hépatiques chez la souris (cf. Tableau XVII).

Tableau XVII : Lignées cellulaires syngéniques de modèle de CHC chez la souris : modifié d'après [22].

Lignée cellulaire	Souche	Origine
Hepa I-6	C57L/J, Femelle	Hépatome BW7756 Jackson Laboratory
BNL I MEA.7R.I (BNL)	Balb/c	Dérivé de cellules embryonnaires hépatiques BNL CL.2 induites par carcinogène
MHI34	C3H/HeN	Induite par carcinogène (CCl ₄)

Une autre technique d'implantation cellulaire [445] permet la génération rapide de tumeur au niveau du foie en 2 semaines chez la souris. Cette technique est basée sur la procédure hydrodynamique utilisée pour délivrer des plasmides d'ADN nu au foie [446]. Elle consiste à l'injection rapide d'un volume élevé d'une solution de cellules syngéniques de mélanome dans la veine de la queue. Cependant, les animaux développent également des tumeurs pulmonaires [447].

Cependant, ces modèles de souris présentent des limites concernant certains aspects caractéristiques des tumeurs humaines : le développement de la tumeur sur une longue période, l'instabilité génomique, la fonction du système immunitaire et l'hétérogénéité des cellules tumorales, du microenvironnement tumoral et du stroma. Les réponses spectaculaires observées chez les souris

ne sont pas toujours prédictives de ce qui se passe chez l'homme, même avec des tumeurs d'histologie similaire [448].

4.3. Modèle rat

Les petits modèles animaux comme les modèles murins (souris et rats) sont très utilisés car ils présentent l'avantage d'être peu coûteux et donc de permettre des études avec un nombre d'animaux élevé nécessaire pour la reproductibilité. Le rat (*Rattus norvegicus*) est un bon modèle pour la fibrose hépatique, mais aussi pour le CHC [429].

Plusieurs lignées cellulaires syngéniques sont disponibles pour l'induction d'une tumeur hépatique chez le rat par implantation, dont la plupart ont été établie à partir de de tumeurs induites par carcinogène chimique [22] (cf. Tableau XVIII).

Lignée	Souche rat	Origine		
McA-RH7777 [449]	Rat Buffalo, femelle	Hépatome de Morris induit par carcinogène chimique		
MH-5123D	Rat Buffalo			
MH-3924A	ACI			
НТС (МН-7288С)	Rat Buffalo, mâle	Dérivé des ascites de l'hépatome de Morris induit par carcinogène		
N1-S1 [450]	Sprague-Dawley, mâle	Dérivé des ascites de l'hépatome de Novikoff induit par carcinogène chimique		
H4-II-E et dérivés	ACI, mâle	Dérivé d'un hépatome de rat : Reuber H35		
AH-130	Rat Wistar, mâle	Dérivé des ascites de l'hépatome de Yoshida induit par carcinogène chimique		
GP7TB	Fischer 344, Mâle	Dérivé de cellules hépatiques WB-F344 induit par traitement carcinogène chimique.		

Tableau XVIII : Lignées cellulaires de modèles syngéniques de CHC chez le rat : modifié d'après [22].

Un autre modèle d'implantation cellulaire a été établi, par injection de cellules de carcinosarcome Walker-256 dans le lobe gauche du foie de rat Wistar, afin d'étudier une méthode de chimioembolisation trans-artérielle [447,451].

L'avantage des modèles d'implantation cellulaire est que le temps d'obtention des tumeurs est plus court que l'induction chimique et la tumeur est souvent localisée et forme une masse solide bien définie [425].

Les modèles de CHC chez le rat incluent des modèles d'induction chimique : régime déficient en choline et/ou méthionine ou administration de DENA ou d'un autre carcinogène dans l'eau de boisson, plus efficace que l'injection [426]. Les modèles chimiquement induits miment le cycle de la carcinogénèse chez l'homme (dommages des hépatocytes-fibrose-tumeur) [452]. L'induction

chimique du carcinome hépatocellulaire chez le rat mâle par le DENA permet d'obtenir un carcinome hépatocellulaire avec une histopathologie similaire à celle de l'homme [369,370]. Les femelles ne sont pas utilisées dans ce modèle pour cause d'interactions hormonales (œstrogènes) qui empêche la formation de la tumeur [453] (30 % de femelles développe le CHC contre 100 % chez les mâles dans le modèle d'induction au DENA [429]). Cependant, le temps d'obtention de ces modèles est long, la charge tumorale est moins prédictible en ce qui concerne le temps d'apparition et la taille. De plus, par nature les tumeurs sont plus diffuses et il y a un risque toxique pour le manipulateur [425,452].

Plusieurs méthodes ont été développées pour l'injection intra-artérielle [454–456] de traitement chez le rat comme des traitements de chimio-embolisation transartérielle [450,457–459] ; de viroembolisation (injection de virus pour détruire les cellules hépatiques tumorales [460–462]) ; ou de radiothérapie sélective interne : avec l'injection de microsphères d'¹⁶⁶Ho [194] ; de microsphères de verre de ¹⁸⁶Re/¹⁸⁸Re [405] ; de nanocaspules lipidiques marquées au ¹⁸⁸Re [364] ; du lipiodol radiomarqué au ¹⁸⁸Re, au ¹³¹I ou à l'⁹⁰Y [331,341,463].

La cathétérisation de l'artère hépatique est faisable, par exemple avec l'étude de traitement de chimioembolisation transartérielle [451] de Ju S. *et al.* qui ont même réussi une cathétérisation transfémorale de l'artère hépatique chez un modèle de tumeur N1-S1 chez le rat [464]. Cependant, ces méthodes sont très difficiles et ne sont pas communément utilisées du fait de la petite taille du rat [426].

4.4. Modèle lapin

Il n'y a pas de modèle de CHC chez le lapin [426]. Cependant, il existe un modèle de tumeur hépatique, le modèle VX2 qui est populaire bien que n'ayant pas d'origine hépatique. Il est utilisé comme alternative car le lapin est un bon modèle pour les études de radiothérapie interventionnelle, étant plus gros que les modèles murins [372]. L'accès fémoral à la vascularisation artérielle est donc réalisable pour les études de cathétérisation de l'artère hépatique. De plus, la vascularisation des tumeurs hépatiques du lapin est similaire à celle des tumeurs hépatiques humaines [427].

La tumeur VX2 a une origine épithéliale, c'est un carcinome épidermoïde anaplastique induit par un virus, caractérisé par une hypervascularité et une croissance très rapide après l'inoculation [372,465]. Elle a été utilisée pour divers modèles de cancer : de la cornée, de la langue, du sein, de l'oreille, de la vessie, du foie, des reins, du pancréas, colorectal, pulmonaire, et du cerveau [372,425]. Cette tumeur a été développée par Richard Schope et Peyton Rous dans les années 1930-1940 qui l'a beaucoup étudié [466,467]. Cette tumeur prend son origine chez des lapins sauvages de Floride (*Cottontail rabbit*) de l'Iowa et du Kansas porteurs du virus du papillome. Ils ont été traités avec des carcinogènes comme le méthylcholentrène ou le benzanthracène afin d'induire des mutations et une transformation malignante rapide jusqu'à l'obtention de la tumeur « carcinosarcome » VX2 très agressive [425,426].

Cependant, la tumeur a été peu caractérisée du fait qu'elle ne pousse pas en culture [426]. L'inoculation doit donc se faire à partir du prélèvement d'une tumeur fraîche issue d'un lapin porteur de la tumeur précédemment inoculé (cf. Figure 23). Des prélèvements de tumeur VX2 congelés peuvent également être utilisés mais avec moins de succès [425,426]. La tumeur croît très rapidement, développe un cœur nécrotique et tue l'hôte en quelques semaines [426].

L'espèce de lapin utilisée en laboratoire est le *New Zealand White Rabbit* [372]. Afin d'obtenir assez de cellules tumorales, un fragment de tumeur VX2 de préférence frais est inoculé dans la cuisse d'un lapin porteur. La tumeur VX2 peut être récoltée sous 2 à 3 semaines. Le lapin porteur est anesthésié pour le prélèvement de la tumeur puis est euthanasié. Le nodule tumoral est extrait et est coupé en deux pour extraire la partie nécrotique et ne conserver uniquement la partie viable. La tumeur est ensuite coupée en morceaux de 1-2 mm³. Une partie peut être conservée dans un milieu riche sur glace, mais doit être utilisée à court-terme. Un fragment solide de la tumeur VX2 est ensuite implanté dans le lobe gauche latéral du foie du lapin receveur. Les fragments minimisent le risque de métastases par rapport à une suspension cellulaire. La tumeur se développe en nodules discrets de 2 à 3 cm sous 2 à 4 semaines [372].



Figure 23 : Schéma du modèle de tumeur VX2 chez le lapin New Zealand White Rabbit : La tumeur VX2 est dérivée d'un papillome de lapin sauvage et donne un carcinome chez le lapin domestique, mais elle ne peut être conservée en culture, c'est pourquoi la croissance tumorale se fait in vivo après inoculation d'une suspension de cellules VX2 dans la cuisse d'un lapin porteur. Dans une deuxième étape la tumeur est excisée puis implantée dans le foie d'un deuxième lapin qui va développer le carcinome hépatique.

Plusieurs études ont investigué les différentes étapes de l'obtention d'une tumeur hépatique VX2 chez le lapin :

- Virmani S. *et al.* [468] ont étudié la meilleure manière d'obtenir une tumeur hépatique VX2 chez le lapin. Deux méthodes d'inoculation de la tumeur dans la cuisse du lapin porteur pour la croissance tumorale ont été testées : l'inoculation par une suspension tumorale VX2 fraichement préparée ou une inoculation par une suspension tumorale VX2 congelée. Il y a 88 % de succès de croissance tumorale lors d'une utilisation de suspension tumorale fraiche et seulement 37 % de succès de croissance tumorale si utilisation d'une suspension tumorale congelée. De plus, deux méthodes d'obtention de tumeur hépatiques chez les lapins receveurs ont été comparées : l'utilisation d'une suspension cellulaire versus l'utilisation d'un fragment solide de tumeur pour l'implantation dans le foie. Le développement d'une tumeur hépatique VX2 a plus de succès avec l'utilisation d'un fragment de tissus tumoral (84 %) par rapport à l'utilisation d'une suspension cellulaire (47 %).
- Une autre étude [469] a montré des pourcentages de succès similaire avec 95 % de succès pour une implantation avec un fragment solide de tumeur VX2 de 1mm³, par comparaison à un taux de 35 % pour une implantation d'une suspension cellulaire (1.10⁶ cellules dans 100 μL). De plus, l'injection de cellules est associée avec un taux élevé (50 %) de croissance tumorale extrahépatique. Tout comme l'étude de Sun *et al.* [470] qui a montré des résultats similaires : 94 % de succès pour une injection de fragments de tumeurs par rapport à une injection de suspension cellulaire (64 %).
- Lee K. *et al.* ont étudié l'influence du site d'implantation de la tumeur VX2 dans le foie de lapin et a comparé une implantation dans le lobe médian gauche ou le lobe latéral gauche. La vascularisation irriguant la tumeur est différente en fonction du lobe implanté et le lobe latéral gauche a été observé comme plus favorable comme site d'implantation pour des études d'intervention trans-artérielle hépatique sélective [471].

Afin de réduire le taux de nécrose spontanée de la tumeur des lignées cellulaires VX2 modifiées ont été développées [372,472].

Plusieurs études ont utilisé le modèle de tumeurs hépatiques VX2 du lapin, notamment pour des études de thérapie trans-artérielles [372] : de radiothérapie sélective interne avec l'injection de

microparticules d'⁹⁰Y en verre [473] ou en résine [474] ; ou de lipiodol marqué à l'¹³¹I [475] ; mais également des études de dosimétries pour la radiothérapie sélective interne avec l'injection de microparticules de polystyrène contenant un colorant pour mimer les microparticules d'⁹⁰Y [476,477]. Des études de TEP ont également été réalisées par injection intra-artérielle de nanosphères creuses radiomarquées au ⁶⁴Cu [478]. Le modèle a également été utilisé dans une étude d'injection intratumorale de microsphères marquées au ¹⁸⁸Re [479] et de brachythérapie par implantation de graines d'¹²⁵I [480].

Le lapin sain est également utilisé pour des études de radiothérapie sélective interne à l'⁹⁰Y transartérielles [332,473] ou par injection intra-tumorale (microsphères d'¹⁶⁶Ho) [423], ou pour des études diagnostiques (microsphères de résines marquées au colbalt-57 [481] ou SIR-Spheres[®] dont la radioactivité a décru, marquées ensuite au ¹⁸F [482]).

Malgré certains inconvénients (origine non hépatique de la tumeur VX2 ; tumeur nécrotique ; vitesse de croissance tumorale ; coût plus élevé que des études murines) ce modèle du lapin VX2 est un modèle approprié pour les études de radiothérapie interventionnelle.

4.5. Autres modèles

4.5.1. Porc

Le porc est l'espèce animale de laboratoire la plus anthropomorphique, il est proche de l'homme en termes d'anatomie hépatique, de physiologie et de biologie moléculaire. De par sa taille il est plus approprié pour les procédures de cathétérisation en radiothérapie interventionnelle que les animaux de petite taille. Il est beaucoup utilisé pour les recherches en chirurgie et en radiologie interventionnelle [182,426,432]. Il a d'ailleurs été utilisé (porc sain) pour des études de radiothérapie interventionnelle avec l'injection intra-artérielle par l'artère fémorale de microparticules d'¹⁶⁶Ho ou de ³²P [244,399] ou de traitement de chimio-embolisation [483]. Un désavantage de l'utilisation du porc sain est notamment qu'il ne présente pas la différence de vascularisation entre le tissu tumoral et le tissu hépatique normal qui est observée chez les modèles de tumeur hépatiques.

Cependant, il n'existe aucun modèle de tumeur hépatique chez le porc domestique (*sus scrofa domestica*) hormis le porc chinois (porcelets chinois Taihu) [432]. Le développement d'une induction tumorale hépatique chimique par administration de diéthylnitrosamine (DENA) chez le porc domestique a fait l'objet d'une thèse à l'université de Graz, Autriche avec pour but de développer un modèle chez le porc domestique et de réduire le temps d'obtention du modèle qui est très long dans le modèle de porc chinois Taihu induit chimiquement par DENA [484]. L'induction de DENA dans ce modèle a été effectuée par injection intrapéritonéale de 15 mg.kg⁻¹ toutes les semaines aussi

longtemps que les images TDM réalisées montraient des changements liés à la carcinogénèse dans le foie. Cependant, les porcs domestiques n'ont pas supporté le traitement d'induction et ce travail n'a pas permis d'obtenir un nouveau modèle de tumeur hépatique chez le porc. L'inconvénient du porc domestique est sa taille, les porcs de l'étude pesaient 33 kg en moyenne ce qui ne facilite pas leur manipulation.

Il existe 2 modèles relativement récents :

Un modèle d'induction chimique chez le porc chinois Taihu, avec une injection intrapéritonéale de 10 mg.kg⁻¹ de DENA toute les semaines pendant 3 mois suivi par un arrêt de l'induction de 10-12 mois. La tumeur hépatique a suivi le même processus de carcinogénèse que chez l'homme et est irriguée principalement par l'artère hépatique. Le CHC s'est développé dans un contexte de cirrhose et ressemble donc au CHC humain de ce point de vue [432,485]. Le temps long d'obtention de ce modèle est un désavantage du modèle. De plus, les tumeurs obtenues se présentent sous forme de multiples nodules de petite taille parcourant le foie ce qui est rarement rencontré chez l'homme [425,426].

Le second modèle est très fastidieux à obtenir dû aux processus de biologie moléculaire impliqués. Il consiste à induire la mutation de fibroblastes issus du cartilage de l'oreille d'un porc sain, qui une fois mutés sont réintroduits chez le même animal ayant reçu un traitement légèrement immunosuppresseur pour faciliter la croissance tumorale [426,486]. L'avantage de ce modèle est l'obtention d'une tumeur génétiquement identique à l'hôte.

Le porc présente plusieurs avantages : sa grande taille permet une utilisation du matériel clinique à taille humaine (cathéters, appareils d'imagerie) et minimise le besoin d'adaptation de la méthode de traitement développé pour l'homme, à la différence des petits modèles tels que la souris. Il est proche de l'homme en termes de physiologie et d'anatomie hépatique. Cependant, les modèles porcins de tumeur hépatique sont des modèles très longs et fastidieux à obtenir et ne facilite par leur utilisation. De plus, les animaux sont plus coûteux. Le poids et la taille importante engendre une manipulation moins aisée. Un autre désavantage est que le porc domestique est également très sensible au stress, ce qui ne facilite pas les processus d'anesthésie.

4.5.2. Marmotte

Le modèle de la marmotte (*Marmotta monax*) est basé sur l'infection par le virus de l'hépatite B de la marmotte. Il est donc utilisé pour des études concernant l'induction du CHC dans le contexte d'une infection par le virus de l'hépatite B. En effet, l'hépatite B de la marmotte est très proche de la maladie humaine. Elle engendre une inflammation du foie et un processus de dommage et de réparation qui est similaire au processus observé chez les patients infectés par le virus de l'hépatite B. Des CHC spontanés induits par le virus de l'hépatite de la marmotte (WHV pour Woodchuck Hepatitis virus) ont été observés pour la première fois au milieu des années 1950. Le virus de l'hépatite B de la marmotte possède une structure et un cycle de réplication similaire au virus humain. Les marmottes infectées de manière chronique par le WHV développent le CHC dans les premières années de vie à partir de 2 à 4 ans. Les premières observations du WHV ont été réalisées sur des marmottes sauvages infectées par le virus, capturées dans leur habitat naturel (Etats-Unis et Canada) et gardées au laboratoire. Elles constituaient une source de virus et de tissus hépatiques pour des analyses moléculaires et histopathologiques. D'autres études d'infection ont été réalisées sur des marmottes sauvages capturées. Cependant, ces études aboutirent seulement à une infection aigüe et non chronique. Plus tard, en 1980 une colonie d'élevage de marmottes a été créée à l'université de Cornell. Presque toutes les marmottes qui sont infectées de manière chronique par inoculation néo-natale expérimentale du virus de l'hépatite B développe un CHC. La médiane de vie sans apparition du CHC est de 24 mois, et la médiane d'espérance de vie est de 30-32 mois. Ce modèle peut être intéressant pour des études de prévention de l'hépatite B ou l'étude des mécanismes impliqués, cependant il n'est pas pratique pour l'étude de traitement du CHC étant donné le temps d'obtention du modèle trop long. De plus, la cirrhose ne se développe pas chez ce modèle, et il est rarement métastatique [426,431,433].

Des études de traitement du CHC par résection, éthanolisation, photocoagulation au laser [487], ablation par radiofréquence [488] et de traceurs d'imagerie TEP [489] ont été réalisées avec ce modèle. Et des lignées cellulaires issues de carcinome hépatocellulaire de marmotte ont été établies [490–492].

4.5.3. Tupai et Spermophile (écureuil terrestre)

Le tupai (*Tupaia belangeri chinenesis*) est un petit animal que l'on trouve dans les forêts tropicales d'Asie, de l'ordre des scandentiens, qui est plus proche de l'homme en termes d'évolution que les rongeurs utilisés en laboratoire. Il était d'ailleurs classé auparavant dans l'ordre des primates dont il est proche [434,435]. En effet, la séquence du gène *p53* dont la voie est altérée dans le CHC a 91,7 % de similitude avec la séquence nucléotidique humaine et 93,4 % avec la séquence d'acide aminés, ce qui est supérieur à la souris [435].

Les modèles de tumeur hépatique (CHC) chez le tupai sont des modèles d'infection par le virus de l'hépatite B humaine (VHB) (inoculation avec du sérum humain positif pour le VHB avec un taux d'infection de 55 %) avec ou sans administration d'aflatoxine B1, mais également par administration d'aflatoxine B1 seule [435,493,494]. L'incidence du CHC est plus élevée chez les animaux ayant reçu le

VHB associé à l'aflatoxine B1. Ce modèle a été utilisé pour l'étude de l'expression et des mutations des gènes impliqués dans le CHC d'origine viral et associé à l'aflatoxine B1 ; ainsi que pour des études de chimio-prévention [434].

Les Spermophiles (*Spermophilus beecheyi*) sont des petits écureuils terrestres qui font partie de l'ordre des rongeurs. Le CHC peut se développer après un minimum de 2,4 ans chez ces animaux (âgés de 4 ans dans l'étude) suite à l'infection par le virus de l'hépatite du spermophile (GSHV pour *Ground Squirrel Hepatitis Virus*), mais avec une incidence plus faible que chez la marmotte par exemple [495]. Comme chez la marmotte, le temps d'obtention de ce modèle n'est pas approprié pour des études de traitement.

4.5.4. Singe

Le singe a l'avantage d'être le plus proche de l'homme. Le macaque (*Macaca fascicularis*) et le marmouset (*Callithrix jacchus*) peuvent développer un cancer du foie de manière spontané [438]. La plupart des études de modèles de tumeurs hépatiques chez le singe concernent des modèles d'induction chimique par le DENA [437,438,496,497], une étude a également exposé des macaques au virus de l'hépatite B [497]. Cependant, leur petite taille et les régulations administratives pour leur utilisation restreignent l'utilisation de ces modèles [426].

4.5.5. Chien

Le chien (Canis familiaris) présente une anatomie et une physiologie similaire à l'homme, et il est utilisé depuis longtemps dans des études toxicologiques de développement de nouveaux médicaments. Les similarités génétiques entre le chien et l'homme sont plus importantes qu'entre l'homme et d'autres espèces comme la souris. Certaines races de chiens sont associées à une incidence élevée (plus élevée que chez l'homme) de certains types de cancers comme l'ostéosarcome, le mélanome, le lymphome non-Hodgkinien, la leucémie, le cancer de la prostate, du sein, des poumons, de la tête et du cou, des tissus mous et de la vessie. Le cancer est la première cause de mort chez les vieux chiens (jusqu'à 45 % chez les chiens de 10 ans ou plus et 23 % indépendamment de l'âge). Les cancers spontanés observés chez le chien partagent plusieurs caractéristiques avec les cancers humains, comme l'apparence histologique, la génétique tumorale, les cibles moléculaires, la biologie et la réponse aux thérapies conventionnelles. Les similarités biologiques et cliniques des tumeurs spontanées observées entre le chien et l'homme sont souvent difficiles à reproduire dans d'autres modèles. Le chien partage de plus les facteurs de risques environnementaux avec son maitre, ils peuvent être vus comme des sentinelles de la maladie. Leur taille permet l'utilisation d'outils cliniques utilisés chez l'homme et les protocoles multimodaux sont possibles. L'oncologie comparative est une approche qui intègre des animaux de compagnie principalement les chiens présentant des cancers spontanés dans des essais pré-cliniques (similaires aux essais cliniques chez les patients) permettant d'étudier la biologie des cancers et de développer de nouveaux traitements. Ces études peuvent regrouper plusieurs cliniques vétérinaires sous un Consortium : COTC (*Comparative Oncology Trials Consortium*) afin de rassembler des cohortes de chiens conséquentes pour l'étude. Elles permettent de faire avancer le développement de nouvelles stratégies de traitement de cancer chez l'homme, car elles facilitent la translation de la pré-clinique à la clinique. Le but étant de répondre à des questions difficiles à mettre en œuvre dans les études de phase I chez l'homme ou dans les études pré-cliniques. Les chiens peuvent être utilisés pour étudier la sécurité de nouveaux agents anti-cancéreux [444,498–502]. Cette approche présente des limites : un temps plus long nécessaire pour compléter l'étude (recrutement des animaux avec des tumeurs spontanées) ; coût plus élevé par rapport à des études murines. Les chiens peuvent de plus ne pas tolérer la même dose de traitement que les hommes ou peuvent être plus sensibles à un traitement.

Cependant, concernant les cancers du foie spontanés chez le chien, leur incidence est rare [498]. Les tumeurs hépatiques primaires ne sont pas communes chez le chien, elles représentent 0,6 % à 1,5 % de la totalité des tumeurs canines. Il existe 4 types de cancers hépatiques chez le chien : hépatocellulaires, des voies biliaires, neuroendocrines (carcinoïdes) et mésenchymateux (sarcomes). Ces cancers hépatiques sont classés en trois morphologies : massif (tumeur large solide unilobaire), nodulaire (multifocal et multilobaire) et diffus. Parmi les tumeurs hépatiques du chien, le CHC fait partie des tumeurs massives, et est le plus fréquent [503,504].

Un modèle de développement de tumeur hépatique (parmi d'autres organes) a été développé chez le chien par inoculation d'une tumeur qui comme chez le lapin n'est pas d'origine hépatique : le sarcome vénérien transplantable canin. Les chiens doivent être légèrement immunodéprimés (de manière continue pour éviter une régression spontanée) et la tumeur atteint une taille qui peut être traitée au bout de 8-12 semaines. La tumeur nécessite un animal porteur (chien ou souris) pour croître et être excisée par la suite pour l'implanter dans le foie de l'animal de l'étude. Une fois la tumeur fraîchement récoltée, elle est dissociée en petits fragments et implantée, ou congelée pour être conservée. Cependant, la biologie moléculaire de ce modèle est peu caractérisée [425,505]. Une lignée cellulaire de CHC canin a été établie récemment [506].

Le chien sain a été utilisé dans des études de SIRT avec les microsphères d'⁹⁰Y TheraSphere[®] avec injection des microparticules dans l'artère fémorale via un cathéter remontant jusque dans l'artère hépatique. Les microsphères d'⁹⁰Y en résine ont également été testées chez le chien [507,508].

4.5.6. Cochon d'inde

Un modèle de CHC a été développé chez le cochon d'inde (*Cavia porcellus*) par implantation intrapéritonéale dans le flanc d'une lignée cellulaire syngénique L10. Une autre lignée de cochon d'inde L1 qui est plus immunogène existe également, mais elle n'est pas utilisée *in vivo* [436]. Ces lignées cellulaires de CHC proviennent d'une induction chimique du CHC chez le cochon d'inde par administration orale de DENA (0,042 g.L⁻¹ dans l'eau de boisson pendant 6 jours par semaines). Les cochons d'inde induits par DENA présentent également des métastases pancréatiques, pulmonaires et mésentériques, d'où le développement d'une lignée cellulaire [509]. Ce modèle a été utilisé pour étudier un traitement d'injections répétées intra-tumorales et per-lymphatiques d'une interleukine-2 pégylée qui a permis l'inhibition de la croissance tumorale [436].

4.5.7. Hamster

Il existe également une lignée cellulaire de CHC syngénique (Hépatome de Kirkman-Robbins) implantable (en sous-cutané, qui se développe après 7-10 jours) chez le hamster doré syrien (*Mesocricetus auratus*) [22,510].

Un autre modèle d'induction chimique par le DENA chez le hamster doré syrien permet le développement d'une tumeur hépatique. Le développement du modèle se fait en plusieurs étapes : premièrement le DENA est administré par injections sous-cutanées deux fois par semaines pendant 15 semaines, suivi par une période sans induction pendant 16-24 semaines et deuxièmement à partir de la 25 à 40 semaines le DENA est administré dans l'eau de boisson avec une concentration initiale de 0,05 g.L⁻¹ pendant la première semaine (26) puis à 0,1 g.L⁻¹ jusqu'à la semaine 40 [370].

4.5.8. Poisson zèbre (Zebrafish)

Le poisson-zèbre (*Danio renio*) a principalement été utilisé pour l'étude de la biologie du développement [511]. Il a souvent été utilisé comme un modèle d'étude de toxicologie des carcinogènes. Il existe ainsi des outils génétiques et des ressources génomiques qui font de ce poisson un modèle de cancer attractif [439]. Il a l'avantage d'être peu cher et abondant [425]. Il développe une tumeur s'il est soumis à un carcinogène car il y est très sensible. L'incidence d'apparition d'une tumeur spontanée est faible [439]. Cependant, elles existent et se développement le plus communément dans le foie notamment, mais d'autres organes peuvent être touchés. Le poisson-zèbre peut développer n'importe quelle tumeur humaine avec une morphologie similaire et des voies de signalisation moléculaire similaires. Les stratégies utilisées pour développer une tumeur chez ce poisson sont multiples : traitement carcinogéniques, transplantation de cellules hépatiques de mammifères, techniques génétiques (d'induction de l'instabilité génétique ou d'inactivation de gènes,

et de transgénèse permettant l'expression d'oncogènes humains). Les tumeurs hépatiques peuvent être développées par dissolution de différentes nitrosamines dont N-nitrosodiméthylamine ou de Nnitrosodiéthylamine (DENA) dans l'eau de l'aquarium, ou par mutation génétiques [511].

Une étude a démontré, par analyse microarray, que le poisson-zèbre possédait de nombreuses similarités moléculaires avec les tumeurs hépatiques humaines [439]. Ce modèle est plus adapté pour les études génétiques du CHC pour étudier les voies de signalisation et les mécanismes impliqués dans l'hépatocarcinogénèse qui est conservée chez les vertébrés [512]. Bien sûr cependant, ce n'est pas un modèle approprié pour les études de radiothérapie interventionnelle.

4.6. Conclusion

Les modèles animaux sont important pour permettre de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans le développement du CHC et de développer de nouvelles approches diagnostiques précoces et thérapeutiques afin de réduire la morbidité et la mortalité liée au CHC [426].

Chaque modèle a ses avantages et inconvénients (cf. Tableau XIX), et il n'existe pas de modèle qui est totalement proche du CHC humain. Il faut choisir le modèle en fonction de ce que l'on veut étudier.

Dans le cadre de la radiothérapie interventionnelle, il est difficile de travailler avec des animaux de petite taille et il existe un manque de modèles animaux de grande taille dérivés d'une origine cellulaire pertinente. Des modèles animaux plus proches de la maladie humaine en termes d'échelle et de biologie sont nécessaires [425]. La transition de la recherche pré-clinique à la clinique pour le cancer hépatique est restreinte par le manque de modèles animaux de taille importante modifiables génétiquement [486].

Le modèle idéal doit reprendre tous ces critères [426]:

- Il doit permettre d'évaluer précisément les effets du traitement.
- La génération et la croissance tumorale doivent être prévisibles et reproductibles.
- Il doit être facilement imagé par les méthodes conventionnelles de radiologie.
- Il ne doit pas être couteux et ne pas exiger d'immunosuppression ou d'identité génétique consanguine clonale.
- Des différences de survie doivent être visible (la mortalité ne doit pas survenir trop vite).
- La tumeur doit être dérivée d'une origine pertinente et sa culture cellulaire, sa caractérisation et sa propagation doivent être facile.
- Le contexte dans lequel se développe la tumeur doit être le même que celui dans lequel se développe la tumeur humaine.

Animal	Caractéristiques de l'induction tumorale	Avantages	Inconvénients			
Souris	 - Xénogreffe - Implantation cellulaire syngénique - Induction chimique - Organisme génétiquement modifié 	- Abondant - Petite taille - Modèles nombreux - Peu cher	 Petite taille Ne reproduit pas complètement les interactions tumeurs-hôte pour certains modèles et la complexité génétique des tumeurs hépatiques. 			
Rat	 Implantation cellulaire syngénique Induction chimique 					
Lapin (VX2)	- Implantation cellulaire	- Taille permettant les interventions de radiothérapie trans-artérielle	- Tumeur d'origine non hépatique, peu caractérisée - Croissance rapide - Formation de nécrose - Coût			
Porc (Porc Chinois Taihu)	Induction chimique : DENA	 CHC similaire à celui de l'homme dans un contexte de cirrhose Apport sanguin tumoral artériel Taille de l'animal plus facile pour les procédures de cathétérisation et de radiothérapie interventionnelle 	- Temps d'obtention du modèle très long - Taille : manipulation - Animal sensible au stress			
Marmotte	Infection par le virus de l'hépatite B de la marmotte	- Tumeur très similaire au CHC humain se développant dans un contexte d'infection chronique à l'hépatique B	- Temps d'obtention de la tumeur trop long			
Chien	Implantation cellulaire	Très proche de l'homme	 Tumeurs spontanées hépatiques rares Modèle cellulaire tumoral qui n'est pas d'origine hépatique avec nécessité d'immunosuppression 			
Tupai	Infection virale par le virus de l'hépatite B	Proche de l'homme	 Temps d'obtention du modèle Modèle qui est plus approprié pour l'étude de l'hépatite B que pour les traitements du carcinome hépatocellulaire 			
Cochon d'inde	 Implantation cellulaire Induction chimique 	Lignée cellulaire syngénique	 Implantation cellulaire ectopique Modèle induction chimique : développement de métastases et temps d'obtention du modèle 			
Hamster	 Implantation cellulaire syngénique Induction chimique 	Temps d'obtention rapide du modèle d'implantation cellulaire	 Modèle d'implantation cellulaire ectopique Modèle induction chimique : temps d'obtention du modèle 			
Singe (Macaque, Marmouset)	Modèles spontanés ou induction chimique au DENA	Les plus proches de l'homme	 Petite taille Régulation exigeante : peu utilisé 			
Poisson zèbre	- Induction par carcinogène chimique (nitrosamine) - Tumeur spontannée - Animal génétiquement modifié	 Peu cher et abondant Similarités avec les tumeurs hépatiques humaines au niveau moléculaire Très sensible aux carcinogènes chimiques Possibilité de développement de n'importe quel cancer humain. 	Inapproprié pour les études de radiothérapie interventionnelle			

Tableau XIX : Comparaison des différents modèles de tumeur hépatique existant : avantages e
inconvénient

5. Perspectives proposées pour le développement des SBMP vers la clinique

5.1. Choix d'un nouveau modèle animal

5.1.1. Inconvénients du modèle du porc

Nous avions dans un premier temps envisagé de travailler chez le porc charcutier du fait qu'il soit proche de l'homme en termes d'anatomie hépatique, de physiologie et de biologie moléculaire et pour sa taille qui permet de réaliser des procédures de radiothérapie interventionnelle avec cathétérisation trans-fémorale de l'artère hépatique. Cependant, ce modèle a des désavantages :

- Pas de modèle de tumeur hépatique chez le porc charcutier.
- Présence de trop nombreuses artères collatérales, qu'il est difficile d'emboliser ou de ligaturer.
- La taille de l'animal ne facilite pas la manipulation.
- Le porc stress facilement et il peut y avoir des pertes d'effectifs au moment de l'anesthésie par exemple.

C'est pourquoi nous nous sommes tournés vers le modèle du lapin VX2 qui est très utilisé pour étudier des approches de radiothérapie interventionnelle.

5.1.2. Avantages du modèle VX2 pour les études de radiothérapie interventionnelle

En conclusion du travail expérimental [146] précédemment présenté au chapitre 2, notre choix de modèle animal de plus grande taille s'est porté sur le modèle du lapin VX2. Malgré la complexité du modèle pour obtenir les animaux porteurs de tumeur hépatique, nous avons vu qu'il n'existait pas beaucoup de modèles de tumeurs hépatiques compatibles pour les études de radiothérapie interventionnelle. Le modèle du lapin VX2 est donc le modèle le plus adapté pour la suite du projet afin de développer les SBMP vers la clinique.

La taille de l'animal avec des artères de diamètre plus élevé, faciliterait le geste chirurgical d'injection des particules SBMP. Il est possible d'utiliser la méthode d'injection directe dans une artère en aval du tronc cœliaque, il y aurait donc moins de ligatures collatérales à réaliser par rapport à une étude effectuée chez le rat (cf. Chapitre 2, [146]). De même, au lieu de ligaturer l'artère au niveau du site d'injection, il est possible de réaliser une suture de l'artère rétablissant le flux artériel. Si une suite angiographique est utilisée avec une injection via l'artère fémorale par un cathéter, il n'y a pas besoin de ligaturer ou de suturer l'artère. L'acte chirurgical est peu invasif et moins traumatisant pour

l'animal, engendrant moins de risque de perte d'effectifs si l'animal a besoin d'être réveillé pour des imageries de biodistribution tardives et successives.

5.2. Expériences supplémentaires nécessaires pour le développement des SBMP vers la clinique

5.2.1. Etude in vitro : Amélioration du radiomarquage des SBMP par le rhénium-188

La PRC maximale obtenue pour le radiomarquage des SBMP par le ¹⁸⁸Re est actuellement de 96,4 %. En perspective, dans une tentative d'améliorer le radiomarquage au ¹⁸⁸Re et d'obtenir une PRC encore plus élevée avec un niveau plus faible d'agent réducteur et éventuellement moins de particules, afin d'augmenter l'activité par particule, l'addition d'oxalate pourrait être étudiée. En effet l'ion oxalate aide la réduction du perrhénate d'une autre manière que le gluconate, il agit comme un promoteur de la réduction [344,513]. L'oxalate intervient tôt dans le processus de radiomarquage, il ne réduit pas directement l'état d'oxydation de l'ion perrhénate comme le gluconate. Il forme un complexe Re(VII) intermédiaire avec une meilleure conformation géométrique et l'arrangement de coordination étendu requis (appelé expansion de la sphère de coordination [513]) qui facilite l'interaction avec le SnCl₂ et au final avec le ligand d'intérêt [344,513–515], qui dans notre cas est la cadavérine greffée sur les particules d'amidon.

5.2.2. Etude in vivo

5.2.2.1. Biodistribution par imagerie

Avec le modèle du lapin VX2, il serait intéressant d'imager dans le temps des SBMP radiomarquées par le ¹⁸⁸Re, le ⁶⁸Ga et le ^{99m}Tc afin comparer leur biodistribution et de vérifier qu'il n'y a pas de différence. La comparaison sera plus facile entre le ¹⁸⁸Re et le ^{99m}Tc car ils sont tous les deux imagés par la même technique en TEMP. L'imagerie dans le temps jusqu'à 24 h par exemple, pourra permettre de vérifier la stabilité *in vivo* des particules SBMP.

5.2.2.2. Efficacité

Une étude d'efficacité pré-clinique chez le lapin VX2 est indispensable pour le développement des SBMP vers la clinique. Il serait donc intéressant d'injecter des particules SBMP marquées au ¹⁸⁸Re chez des lapins VX2 et de comparer l'efficacité du traitement à un groupe contrôle recevant des microparticules non marquées et éventuellement à un groupe recevant des microsphères d'⁹⁰Y utilisées actuellement en clinique pour comparer l'efficacité entre les deux vecteurs thérapeutiques. L'efficacité du traitement pourra être suivi par des techniques d'imagerie tels que l'IRM ou la tomodensitométrie en comparant les images pré-traitement et post-traitement. Des marqueurs

sanguins peuvent éventuellement donner des indications sur l'évolution de la tumeur également. De même, l'effectif ne doit pas être trop restreint pour la validation d'une étude préclinique.

6. Perspectives : développement de nouveaux radiomarquages des SBMP par d'autres radionucléides d'intérêts

Le développement de radiomarquages des SBMP par d'autres radionucléides sous forme de kits prêts-à-l 'emploi peut être intéressant pour le développement de nouvelles techniques de diagnostic et de traitement afin de pallier aux limitations des traitements actuels et d'envisager éventuellement d'autres applications en fonctions des caractéristiques de chaque radionucléide.

Le présent travail a démontré que les SBMP pouvaient être radiomarquées grâce au ligand polyamine par différents radionucléides : le ^{99m}Tc ; le ¹⁸⁸Re et enfin le ⁶⁸Ga. Il pourrait donc être intéressant de développer d'autres radiomarquages avec d'autres radionucléides d'intérêts, en testant le pouvoir de chélation de la polyamine dans un premier temps.

Dans un deuxième temps, le développement d'un marquage avec un autre type de ligand greffé sur les SBMP peut être envisagé. Il existe d'autres vecteurs et leur chélateur dont le marquage à la fois par le gallium-68 et l'yttrium-90 a été développé comme par exemple les analogues de la somatostatine conjugués au chélateur DOTA [103] ou des peptides ligands du PSMA (*Prostate-Specific Membrane Antigen*) conjugués au chélateur DTPA [516] qui peuvent être marqué à la fois par le ⁶⁸Ga, l'⁹⁰Y et le lutétium-177 (¹⁷⁷Lu) [517].

Le lutétium-177 (¹⁷⁷Lu) est un radionucléide de demi-vie longue ($t_{1/2} = 6,7$ jours). Il a une chimie proche de celle de l'⁹⁰Y et peut être également un radionucléide d'intérêt pour le radiomarquage des SBMP. C'est un émetteur β^- de faible énergie (les particules β sont émises en 3 pics d'énergies maximales différentes). Mais à la différence de l'⁹⁰Y il peut être imagé de manière directe car il émet également des rayonnements γ qui peuvent être utilisés pour l'imagerie scintigraphique ou TEMP postthérapeutique [136]. Cependant, c'est un radionucléide qui est produit en réacteur et non par un générateur.

Le chélateur est un composant fondamental critique des radiopharmaceutiques à base de radiométaux [517]. Certains radionucléides ont des caractéristiques semblables au ⁶⁸Ga. Les ions ⁶⁸Ga³⁺, ⁹⁰Y³⁺ et ¹⁷⁷Lu³⁺, sont tous des ions d'état d'oxydation +3 qui ont une affinité pour les ligands de type bases dures (donneurs d'électrons) tels que les oxygènes des groupes carboxylates et les amines des groupes nitrogènes. De plus, leur principal nombre de coordination est 6 [77,368,517] et le ligand des SBMP la cadavérine est une polyamine qui présente de bonnes conditions pour la chélation de ces

ions comme base dure. Ces caractéristiques peuvent éventuellement suggérer qu'il est également possible de marquer les SBMP par ces radionucléides via la cadavérine.

Concernant les émetteurs de rayonnements α , le bismuth-213 (²¹³Bi) et l'actinium-225 (²²⁵Ac) sont également des ions dont l'état d'oxydation est +3 [239]. Les émetteurs de rayonnements α sont plutôt utilisés en thérapie couplés à des anticorps qui se fixent sur les antigènes tumoraux comme le CD20 pour le lymphome. Cependant, certains auteurs ont développé des systèmes de microsphères marqués par des émetteurs de rayonnement α [112].

7. Application des SBMP à d'autres maladies : l'embolie pulmonaire

Les SBMP ont dans un premier temps été développées pour le diagnostic de l'embolie pulmonaire avec le développement de kits prêts-à-l'emploi pour le radiomarquage au ^{99m}Tc dans le but de proposer une alternative au ^{99m}Tc-MAA qui sont d'origine humaine [358]. Le diagnostic de l'embolie pulmonaire est difficile étant donné que les symptômes et les signes cliniques sont non spécifiques [518]. La mort soudaine apparait dans 25 % des cas et la mortalité est supérieure à 15 % suivant le diagnostic. Son incidence est de 0,03 à 0,2 % en Europe et aux Etats-Unis [358]. Les SBMP marquées au ⁶⁸Ga pourraient améliorer la qualité des examens par un gain de résolution spatiale, de sensibilité et une meilleure quantification du signal en TEP par rapport à la TEMP [380].
CONCLUSION GENERALE

Ce projet se place dans le cadre du développement et l'amélioration des propositions de diagnostics et de traitement et plus particulièrement la SIRT, pour le CHC qui est un cancer qui touche de nombreuses personnes dans le monde et qui malheureusement est souvent diagnostiqué tardivement entrainant une mortalité élevée. L'application des traitements curatifs est restreinte aux stades précoces et les patients atteints de tumeurs hépatiques de stade intermédiaire et avancé sont dirigés vers des traitements palliatifs comme la SIRT.

Cette étude a permis le développement d'un vecteur de théragnostique unique prometteur (les SBMP) qui répond au besoin d'amélioration de la technique de SIRT des tumeurs hépatiques primaires ou secondaires, en fonction des problèmes rencontrés actuellement en clinique. Les caractéristiques des SBMP offrent plusieurs avantages par rapport aux vecteurs de radiothérapie sélective interne utilisés en cliniques, mais aussi par rapport aux vecteurs développés en pré-clinique jusqu'à présent. Les kits de SBMP prêts-à-l'emploi permettent un marquage simple rapide et à température ambiante par 3 radionucléides différents : le ^{99m}Tc, le ⁶⁸Ga et le ¹⁸⁸Re, couvrant ainsi les deux techniques d'imagerie utilisées en médecine nucléaire et permettant le traitement et l'imagerie post-traitement. L'étude préliminaire *in vivo* a montré de bons résultats qui devront être approfondis dans un modèle animal plus approprié pour la radiothérapie interventionnelle. Des études de stabilité et de comparaison de la biodistribution *in vivo* des SBMP, en fonction des différents radionucléides devront être réalisées, ainsi que l'étude de l'efficacité avec une comparaison éventuelle avec les microsphères d'⁹⁰Y utilisées actuellement en clinique. Ceci afin de permettre au SBMP d'atteindre l'utilisation clinique.

Bibliographie

- 1. Gomez D, Lobo DN. Malignant liver tumours. Surg. Elsevier Ltd; 2011;29: 632–639. doi:10.1016/j.mpsur.2011.09.009
- Grandhi MS, Kim AK, Ronnekleic-Kelly SM, Kamel IR, Ghasebeh MA, Pawlik TM. Hepatocellular carcinoma: From diagnosis to treatment. Surg Oncol. 2016;25: 74–85. doi:10.1016/j.suronc.2016.03.002
- 3. Goodman ZD. Neoplasms of the liver. Mod Pathol. 2007;20 Suppl 1: S49-60. doi:10.1038/modpathol.3800682
- 4. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin. 2011;61: 69–90. doi:10.3322/caac.20107
- 5. Maillard E. [Epidemiology, natural history and pathogenesis of hepatocellular carcinoma]. Cancer/Radiothérapierapie. 2011;15: 3–6. doi:10.1016/j.canrad.2010.11.010
- 6. Forner A, Llovet JM, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. Lancet. Elsevier Ltd; 2012;379: 1245– 55. doi:10.1016/S0140-6736(11)61347-0
- Kew MC. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and risk factors. J Hepatocell Carcinoma. 2014;2014: 115–125. doi:10.2147/JHC.S44381
- 8. El-Serag HB. Hepatocellular carcinoma. N Engl J Med. 2011;365: 1118–27. doi:10.1056/NEJMra1001683
- 9. Bosetti C, Turati F, La Vecchia C. Hepatocellular carcinoma epidemiology. Best Pract Res Clin Gastroenterol. Elsevier Ltd; 2014;28: 753–770. doi:10.1016/j.bpg.2014.08.007
- 10. Torre L a, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-tieulent J, Jemal A. Global Cancer Statistics, 2012. CA Cancer J Clin. 2015;65: 87–108. doi:10.3322/caac.21262.
- 11. Ingle PV, Binti Samsudin SZ, Pei Qi C, Mei Kei N, Li Xuan H, Siu Ching Y, et al. Development and novel therapeutics in hepatocellular carcinoma: a review. Ther Clin Risk Manag. 2016; 445. doi:10.2147/TCRM.S92377
- 12. Anestopoulos I, Voulgaridou GP, Georgakilas AG, Franco R, Pappa A, Panayiotidis MI. Epigenetic therapy as a novel approach in hepatocellular carcinoma. Pharmacol Ther. Elsevier Inc.; 2015;145C: 103–119. doi:10.1016/j.pharmthera.2014.09.005
- 13. Vullierme M-P, Paradis V, Chirica M, Castaing D, Belghiti J, Soubrane O, et al. Hepatocellular carcinoma--what's new? J Visc Surg. 2010;147: e1-12. doi:10.1016/j.jviscsurg.2010.02.003
- 14. Barbare J-C. Traitement du carcinome hépatocellulaire. EMC. 2014;10: 1–8. doi:10.1016/S1155-1976(14)66420-2
- 15. Moradpour D, Blum HE. Pathogenesis of hepatocellular carcinoma. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2005;17: 477–483. doi:00042737-200505000-00002 [pii]
- 16. Llovet JM, Bruix J. Molecular targeted therapies in hepatocellular carcinoma. Hepatology. 2008;48: 1312–27. doi:10.1002/hep.22506
- Vilarinho S, Taddei T. Therapeutic Strategies for Hepatocellular Carcinoma: New Advances and Challenges. Curr Treat Options Gastroenterol. 2015;13: 219–34. doi:10.1007/s11938-015-0049-8
- 18. Bedossa P. Fibrose hépatique : physiopathologie , diagnostic , pronostic. EMC-Hépatologie.

2015;10: 1-9. doi:10.1016/S1155-1976(14)66379-8

- 19. Blanc J, Lepreux S, Balabaud C, Bioulac-Sage P. Histophysiologie hépatique. EMC-Hépatologie. 2002; 1–13. Available: http://www.em-premium.com.buadistant.univ-angers.fr/article/11619
- 20. Tu T, Budzinska M a, Maczurek AE, Cheng R, Di Bartolomeo A, Warner FJ, et al. Novel aspects of the liver microenvironment in hepatocellular carcinoma pathogenesis and development. Int J Mol Sci. 2014;15: 9422–58. doi:10.3390/ijms15069422
- 21. Thorgeirsson SS, Grisham JW. Molecular pathogenesis of human hepatocellular carcinoma. Nat Genet. 2002;31: 339–46. doi:10.1038/ng0802-339
- 22. Kramer MG, Hernandez-Alcoceba R, Qian C, Prieto J. Evaluation of hepatocellular carcinoma models for preclinical studies. Drug Discov Today Dis Model. 2005;2: 41–49. doi:10.1016/j.ddmod.2005.05.009
- 23. Singal AG, El-Serag HB. Hepatocellular Carcinoma From Epidemiology to Prevention: Translating Knowledge into Practice. Clin Gastroenterol Hepatol. Elsevier, Inc; 2015;13: 2140– 2151. doi:10.1016/j.cgh.2015.08.014
- 24. Mittal S, El-Serag HB. Epidemiology of HCC: Consider the Population. J Clin Gastroenterol. 2013;47: 1–10. doi:10.1097/MCG.0b013e3182872f29.Epidemiology
- Colombo M, Raoul J-L, Lencioni R, Galle PR, Zucman-Rossi J, Bañares R, et al. Multidisciplinary strategies to improve treatment outcomes in hepatocellular carcinoma: a European perspective. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2013;25: 639–651. doi:10.1097/MEG.0b013e32835e33bb
- 26. Trinchet JC. [Hepatocellular carcinoma: Increasing incidence and optimized management]. Gastroenterol Clin Biol. 2009;33: 830–839. doi:10.1016/j.gcb.2009.04.003
- 27. Clark T, Maximin S, Meier J, Pokharel S, Bhargava P. Hepatocellular Carcinoma: Review of Epidemiology, Screening, Imaging Diagnosis, Response Assessment, and Treatment. Curr Probl Diagn Radiol. Elsevier; 2015;44: 479–486. doi:10.1067/j.cpradiol.2015.04.004
- 28. Cartier V, Aubé C. Diagnosis of hepatocellular carcinoma. Diagn Interv Imaging. Elsevier Masson SAS; 2014;95: 709–719. doi:10.1016/j.diii.2014.06.004
- 29. Mazzoccoli G, Tarquini R, Valoriani A, Oben J, Vinciguerra M, Marra F. Management strategies for hepatocellular carcinoma: old certainties and new realities. Clin Exp Med. Springer Milan; 2015; doi:10.1007/s10238-015-0368-z
- 30. Bruix J, Gores GJ, Mazzaferro V. Hepatocellular carcinoma: clinical frontiers and perspectives. Gut. 2014;63: 844–55. doi:10.1136/gutjnl-2013-306627
- 31. Singal A, Volk ML, Waljee A, Salgia R, Higgins P, Rogers MAM, et al. Meta-analysis: Surveillance with ultrasound for early-stage hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. Aliment Pharmacol Ther. 2009;30: 37–47. doi:10.1111/j.1365-2036.2009.04014.x
- 32. Yu SJ. A concise review of updated guidelines regarding the management of hepatocellular carcinoma around the world: 2010-2016. Clin Mol Hepatol. 2016;22: 7–17. doi:10.3350/cmh.2016.22.1.7
- 33. Kim CK, Lim JH, Lee WJ. Detection of hepatocellular carcinomas and dysplastic nodules in cirrhotic liver: accuracy of ultrasonography in transplant patients. J Ultrasound Med. 2001;20: 99–104. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11211142
- 34. Pascual S, Herrera I, Irurzun J. New advances in hepatocellular carcinoma. World J Hepatol.

2016;8: 421. doi:10.4254/wjh.v8.i9.421

- 35. Llovet JM, Brú C, Bruix J. Prognosis of hepatocellular carcinoma: the BCLC staging classification. Semin Liver Dis. 1999;19: 329–338. doi:10.1055/s-2007-1007122
- 36. Saraswat VA, Pandey G, Shetty S. Treatment Algorithms for Managing Hepatocellular Carcinoma. J Clin Exp Hepatol. Elsevier Ltd; 2014;4: S80–S89. doi:10.1016/j.jceh.2014.05.004
- Maida M, Orlando E, Cammà C, Cabibbo G. Staging systems of hepatocellular carcinoma : A review of literature. World J Gastroenterol. 2014;20: 4141–4150. doi:10.3748/wjg.v20.i15.4141
- 38. Liu PH, Hsu CY, Hsia CY, Lee YH, Su CW, Huang YH, et al. Prognosis of hepatocellular carcinoma: Assessment of eleven staging systems. J Hepatol. European Association for the Study of the Liver; 2016;64: 601–608. doi:10.1016/j.jhep.2015.10.029
- Sherman M. Staging for hepatocellular carcinoma: An embarrassment of riches. J Hepatol. European Association for the Study of the Liver; 2016;64: 535–536. doi:10.1016/j.jhep.2015.11.040
- 40. Dilou N, Patouillard B, Audigier J-C. Les classifications de prédiction de survie du carcinome hépatocellulaire. Gastroentérologie Clin Biol. 2004;28: 359–366. doi:GCB-04-2004-28-4-0399-8320-101019-ART3
- 41. Okuda K, Ohtsuki T, Obata H, Tomimatsu M, Okazaki N, Hasegawa H, et al. Natural history of hepatocellular carcinoma and prognosis in relation to treatment. Study of 850 patients. Cancer. 1985;56: 918–28. doi:10.1017/CBO9781107415324.004
- 42. The Cancer of the Liver Italian Program (CLIP) Investigators. A new prognostic system for hepatocellular carcinoma: a retrospective study of 435 patients: the Cancer of the Liver Italian Program (CLIP) investigators. Hepatology. 1998;28: 751–755. doi:10.1002/hep.510280322
- 43. Chevret S, Trinchet J-C, Mathieu D, Rached AA, Beaugrand M, Chastang C. A new prognostic classification for predicting survival in patients with hepatocellular carcinoma. Groupe d'Etude et de Traitement du Carcinome Hépatocellulaire. J Hepatol. 1999;31: 133–141. doi:10.1016/S0168-8278(99)80173-1
- 44. Leung TWT, Tang AMY, Zee B, Lau WY, Lai PBS, Leung KL, et al. Construction of the Chinese University Prognostic Index for hepatocellular carcinoma and comparison with the TNM staging system, the Okuda staging system, and the Cancer of the Liver Italian Program staging system: A study based on 926 patients. Cancer. 2002;94: 1760–1769. doi:10.1002/cncr.10384
- 45. Minagawa M, Ikai I, Matsuyama Y, Yamaoka Y, Makuuchi M. Staging of Hepatocellular Carcinoma: assessment of the Japanese TNM and AJCC/UICC TNM systems in a cohort of 13,772 patients in Japan. Ann Surg. 2007;245: 909–922. doi:10.1097/01.sla.0000254368.65878.da
- 46. Kudo M, Chung H, Osaki Y. Prognostic staging system for hepatocellular carcinoma (CLIP score): its value and limitations, and a proposal for a new staging system, the Japan Integrated Staging Score (JIS score). J Gastroenterol. 2003;38: 207–15. doi:10.1007/s005350300038
- Tateishi R, Yoshida H, Shiina S, Imamura H, Hasegawa K, Teratani T, et al. Proposal of a new prognostic model for hepatocellular carcinoma: an analysis of 403 patients. Gut. 2005;54: 419–425. doi:10.1136/gut.2003.035055
- 48. Edge S, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, Trotti A. AJCC Cancer Staging Manual [Internet]. 7th ed. Edge S, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, Trotti A, editors.

Springer-Verlag New York; 2010. Available: http://www.springer.com/us/book/9780387884400

- 49. Hsu CY, Huang YH, Hsia CY, Su CW, Lin HC, Loong CC, et al. A new prognostic model for hepatocellular carcinoma based on total tumor volume: The Taipei Integrated Scoring system. J Hepatol. European Association for the Study of the Liver; 2010;53: 108–117. doi:10.1016/j.jhep.2010.01.038
- 50. Yau T, Tang VYF, Yao T-J, Fan S-T, Lo C-M, Poon RTP. Development of Hong Kong liver cancer staging system with treatment stratification for patients with hepatocellular carcinoma. Gastroenterology. Elsevier, Inc; 2014;146: 1691–1700.e3. doi:10.1053/j.gastro.2014.02.032
- 51. Duseja A. Staging of hepatocellular carcinoma. J Clin Exp Hepatol. Elsevier Ltd; 2014;4: S74-9. doi:10.1016/j.jceh.2014.03.045
- 52. Forner A, Gilabert M, Bruix J, Raoul J-L. Treatment of intermediate-stage hepatocellular carcinoma. Nat Rev Clin Oncol. Nature Publishing Group; 2014;11: 525–535. doi:10.1038/nrclinonc.2014.122
- 53. Llovet JM, Di Bisceglie AM, Bruix J, Kramer BS, Lencioni R, Zhu AX, et al. Design and endpoints of clinical trials in hepatocellular carcinoma. J Natl Cancer Inst. 2008;100: 698–711. doi:10.1093/jnci/djn134
- 54. Kolligs FT. BCLC treatment algorithm and the place of selective internal radiation therapy. Eur J Cancer Suppl. Elsevier B.V.; 2012;10: 27–29. doi:10.1016/S1359-6349(12)70037-X
- 55. Wörns M a, Galle PR. Future perspectives in hepatocellular carcinoma. Dig Liver Dis. 2010;42 Suppl 3: S302-9. doi:10.1016/S1590-8658(10)60521-X
- 56. Quirk M, Kim YH, Saab S, Lee EW. Management of hepatocellular carcinoma with portal vein thrombosis. World J Gastroenterol. 2015;21: 3462–3471. doi:10.3748/wjg.v21.i12.3462
- 57. Mosconi C, Cappelli A, Pettinato C, Golfieri R. Radioembolization with Yttrium-90 microspheres in hepatocellular carcinoma: Role and perspectives. World J Hepatol. 2015;7: 738. doi:10.4254/wjh.v7.i5.738
- 58. Sitruk V, Seror O, Trinchet J-C. Traitement percutané du carcinome hépatocellulaire. EMC-Hépatologie. 2004; 1–6. Available: http://www.em-premium.com.buadistant.univangers.fr/article/28352
- 59. Giovannini M. Le traitement percutané du carcinome hépato-cellulaire: Quelle technique choisir ? Gastroentérologie Clin Biol. 2007;31: 347–353. doi:GCB-03-2007-31-3-0399-8320-101019-200520019
- 60. Mahnken AH, Bruners P, Günther RW. Local ablative therapies in HCC: percutaneous ethanol injection and radiofrequency ablation. Dig Dis. 2009;27: 148–56. doi:10.1159/000218347
- 61. Orlando A, Leandro G, Olivo M, Andriulli A, Cottone M. Radiofrequency thermal ablation vs. percutaneous ethanol injection for small hepatocellular carcinoma in cirrhosis: meta-analysis of randomized controlled trials. Am J Gastroenterol. 2009;104: 514–524. doi:10.1038/ajg.2008.80
- 62. Cho YK, Kim JK, Kim MY, Rhim H, Han JK. Systematic review of randomized trials for hepatocellular carcinoma treated with percutaneous ablation therapies. Hepatology. 2009;49: 453–459. doi:10.1002/hep.22648
- 63. Lencioni R. Loco-regional treatment of hepatocellular carcinoma. Hepatology. 2010;52: 762– 773. doi:10.1002/hep.23725

- 64. Mazzanti R, Arena U, Tassi R. Hepatocellular carcinoma: Where are we? World J Exp Med. 2016;6: 21. doi:10.5493/wjem.v6.i1.21
- Villanueva A, Hernandez-Gea V, Llovet JM. Medical therapies for hepatocellular carcinoma: a critical view of the evidence. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. Nature Publishing Group; 2013;10: 34–42. doi:10.1038/nrgastro.2012.199
- 66. Sangro B, Iñarrairaegui M, Bilbao JI. Radioembolization for hepatocellular carcinoma. J Hepatol. European Association for the Study of the Liver; 2012;56: 464–73. doi:10.1016/j.jhep.2011.07.012
- 67. Cancer (Malignant Neoplasm). PubMed Heal Gloss. Available: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmedhealth/PMHT0015630/
- 68. Baskar R, Ann-Lee K, Yeo R, Yeoh K-W. Cancer and Radiation Therapy: Current Advances and Future Directions. Int J Med Sci. 2012;9: 193–199. doi:10.7150/ijms.3635
- 69. Jabir NR, Tabrez S, Ashraf GM, Shakil S, Damanhouri G a, Kamal M a. Nanotechnology-based approaches in anticancer research. Int J Nanomedicine. 2012;7: 4391–408. doi:10.2147/IJN.S33838
- 70. Hanahan D, Weinberg RA. The Hallmarks of Cancer. Cell. 2000;100: 57–70. doi:10.1016/S0092-8674(00)81683-9
- Vallabhajosula S. 18F-Labeled Positron Emission Tomographic Radiopharmaceuticals in Oncology: An Overview of Radiochemistry and Mechanisms of Tumor Localization. Semin Nucl Med. 2007;37: 400–419. doi:10.1053/j.semnuclmed.2007.08.004
- 72. Theek B, Rizzo LY, Ehling J, Kiessling F, Lammers T. The theranostic path to personalized nanomedicine. Clin Transl imaging. 2014;2: 66–76. doi:10.1007/s40336-014-0051-5
- 73. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. Cell. Elsevier Inc.; 2011;144: 646–674. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21376230
- 74. Schöder H, Ong SC. Fundamentals of Molecular Imaging: Rationale and Applications With Relevance for Radiation Oncology. Semin Nucl Med. 2008;38: 119–128. doi:10.1053/j.semnuclmed.2007.11.006
- 75. Chen H, Niu G, Wu H, Chen X. Clinical Application of Radiolabeled RGD Peptides for PET Imaging of Integrin α v β 3. Theranostics. 2016;6: 78–92. doi:10.7150/thno.13242
- 76. Withofs N, Martinive P, Vanderick J, Bletard N, Scagnol I, Mievis F, et al. [18F]FPRGD2 PET/CT imaging of integrin αvβ3 levels in patients with locally advanced rectal carcinoma. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2015;43: 654–662. doi:10.1007/s00259-015-3219-y
- Vallabhajosula S. Molecular imaging Radiopharmaceuticals for PET and SPECT [Internet]. 1st ed. Vallabhajosula S, editor. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2009. doi:10.1007/978-3-540-76735-0
- 78. Bailey DL, Humm JL, Todd-Pokropek A, Aswegen A van. Nuclear Medicine Physics: A Handbook for Teachers and Students [Internet]. Bailey DL, Humm JL, Todd-Pokropek A, Aswegen A van, editors. International Atomic Energy Agency Publication. Vienna: International Atomic Energy Agency; 2014. Available: http://www-pub.iaea.org/books/IAEABooks/10368/Nuclear-Medicine-Physics
- 79. Huguet F, Haverer-Guillerm S, Monnier L. Radiothérapie. EMC AKOS (Traité Médecine). 2014;9: 1–6. doi:10.1016/S1634-6939(14)54108-7

- 80. James ML, Gambhir SS. A molecular imaging primer: modalities, imaging agents, and applications. Physiol Rev. 2012;92: 897–965. doi:10.1152/physrev.00049.2010
- 81. Saha GB. Basics of PET Imaging [Internet]. Third Edit. Saha GB, editor. Springer International Publishing; 2016. doi:10.1007/978-3-319-16423-6
- 82. Ramogida CF, Orvig C. Tumour targeting with radiometals for diagnosis and therapy. Chem Commun (Camb). 2013;49: 4720–39. doi:10.1039/c3cc41554f
- 83. Saha GB. Fundamentals of Nuclear Pharmacy [Internet]. Springer-Verlag New York; 2010. doi:10.1007/978-1-4419-5860-0
- 84. Phelps ME. Positron emission tomography provides molecular imaging of biological processes. Proc Natl Acad Sci U S A. 2000;97: 9226–9233. doi:10.1073/pnas.97.16.9226
- Velikyan I. Radionuclides for Imaging and Therapy in Oncology. In: Chen X, Wong S, editors. Cancer Theranostics. Elsevier Inc.; 2014. pp. 285–326. doi:10.1016/B978-0-12-407722-5.00017-7
- Leung K. [18F]Fluoro-2-deoxy-2-D-glucose. In: Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US) 2004-2013, editor. Molecular Imaging and Contrast Agent Database (MICAD) [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2004. pp. 4–9. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK23335/
- Ido T, Wan C-N, Casella V, Fowler JS, Wolf AP, Reivich M, et al. Labeled 2-deoxy-D-glucose analogs. 18F-labeled 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose, 2-deoxy-2-fluoro-D-mannose and 14C-2deoxy-2-fluoro-D-glucose. J Label Compd Radiopharm. 1978;14: 175–183. doi:10.1002/jlcr.2580140204
- Blake P, Johnson B, VanMeter JW. Positron Emission Tomography (PET) and Single Photon Emission Computed Tomography (SPECT): Clinical Applications. J Neuroophthalmol. 2003;23: 34–41. doi:http://dx.doi.org/10.1097/00041327-200303000-00009
- 89. Vallabhajosula S, Solnes L, Vallabhajosula B. A broad overview of positron emission tomography radiopharmaceuticals and clinical applications: What is new? Semin Nucl Med. Elsevier Inc.; 2011;41: 246–264. doi:10.1053/j.semnuclmed.2011.02.003
- 90. Gatenby RA, Gillies RJ. Why do cancers have high aerobic glycolysis? Nat Rev Cancer. 2004;4: 891–899. doi:10.1038/nrc1478
- 91. Boellaard R, Delgado-Bolton R, Oyen WJG, Giammarile F, Tatsch K, Eschner W, et al. FDG PET/CT: EANM procedure guidelines for tumour imaging: version 2.0. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2014;42: 328–354. doi:10.1007/s00259-014-2961-x
- 92. Bilbao R, Gérolami R, Bralet M-P, Qian C, Tran PL, Tennant B, et al. Transduction efficacy, antitumoral effect, and toxicity of adenovirus-mediated herpes simplex virus thymidine kinase/ ganciclovir therapy of hepatocellular carcinoma: the woodchuck animal model. Cancer Gene Ther. 2000;7: 657–662. doi:10.1038/sj.cgt.7700175
- 93. Puyraimond-Zemmour D, Vignot S. [The metabolism of cancer cells: the Warburg effect] Le métabolisme de la cellule tumorale: l'effet Warburg. Oncologie. 2013;15: 435–440. doi:10.1007/s10269-013-2318-2
- 94. Kuang Y, Schomisch SJ, Chandramouli V, Lee Z. Hexokinase and glucose-6-phosphatase activity in woodchuck model of hepatitis virus-induced hepatocellular carcinoma. Comp Biochem Physiol - C Toxicol Pharmacol. 2006;143: 225–231. doi:10.1016/j.cbpc.2006.02.005
- 95. Gambhir SS. Molecular imaging of cancer with positron emission tomography. Nat Rev Cancer.

2002;2: 683-693. doi:10.1038/nrc882

- 96. Vouche M, Vanderlinden B, Delatte P, Lemort M, Hendlisz A, Deleporte A, et al. New Imaging Techniques for 90Y Microsphere Radioembolization. J Nucl Med Radiat Ther. 2011;2: 1–12. doi:10.4172/2155-9619.1000113
- 97. Kawamura E, Shiomi S, Kotani K, Kawabe J, Hagihara A, Fujii H, et al. Positioning of 18F-FDG PET imaging in the management algorithm of hepatocellular carcinoma. J Gastroenterol Hepatol. 2014;29: 1722–1727. doi:10.1111/jgh.12611
- 98. Trojan J, Schroeder O, Raedle J, Baum RP, Herrmann G, Jacobi V, et al. Fluorine-18 FDG positron emission tomography for imaging of hepatocellular carcinoma. Am J Gastroenterol. 1999;94: 3314–3319. doi:10.1111/j.1572-0241.1999.01544.x
- 99. Pant V, Sen IB, Soin AS. Role of 18F-FDG PET CT as an independent prognostic indicator in patients with hepatocellular carcinoma. Nucl Med Commun. 2013;34: 749–757. doi:10.1097/MNM.0b013e3283622eef
- Detry O, Govaerts L, Vandermeulen M, Meurisse N, Malenge S, Bletard N, et al. Prognostic value of 18F-FDG PET/CT in liver transplantation for hepatocarcinoma. World J Gastroenterol. 2015;21: 3049–54. doi:10.3748/wjg.v21.i10.3049
- 101. Banerjee SR, Pomper MG. Clinical applications of Gallium-68. Appl Radiat Isot. Elsevier; 2013;76: 2–13. doi:10.1016/j.apradiso.2013.01.039
- 102. Ersahin D, Doddamane I, Cheng D. Targeted Radionuclide Therapy. Cancers (Basel). 2011;3: 3838–3855. doi:10.3390/cancers3043838
- Lamesa C, Rauscher A, Lacoeuille F, Desruet M-D, Guillet B, Faivre-Chauvet A. 68Ga somatostatin analog radiolabelling: The radiopharmacist's point of view. Médecine Nucléaire. Elsevier Masson SAS; 2015;39: 3–10. doi:10.1016/j.mednuc.2015.01.003
- 104. Fani M, André JP, Maecke HR. 68Ga-PET: a powerful generator-based alternative to cyclotronbased PET radiopharmaceuticals. Contrast Media Mol Imaging. 2008;3: 53–63. doi:10.1002/cmmi.232
- 105. Fani M, Maecke HR, Okarvi SM. Radiolabeled peptides: valuable tools for the detection and treatment of cancer. Theranostics. 2012;2: 481–501. doi:10.7150/thno.4024
- 106. Baum RP, Rösch F. Theranostics, Gallium-68, and Other Radionuclides A Pathway to Personalized Diagnosis and Treatment. Recent Results in Cancer Research. 2013.
- 107. Khan MU, Khan S, El-Refaie S, Win Z, Rubello D, Al-Nahhas a. Clinical indications for Gallium-68 positron emission tomography imaging. Eur J Surg Oncol. Elsevier Ltd; 2009;35: 561–567. doi:10.1016/j.ejso.2009.01.007
- 108. Hamoudeh M, Kamleh MA, Diab R, Fessi H. Radionuclides delivery systems for nuclear imaging and radiotherapy of cancer. Adv Drug Deliv Rev. 2008;60: 1329–46. doi:10.1016/j.addr.2008.04.013
- 109. Seibert JA. X-ray imaging physics for nuclear medicine technologists. Part 1: Basic principles of x-ray production. J Nucl Med Technol. 2004;32: 139–147. doi:10.1080/10408390802066805
- 110. Wojnárovits L. Radiation Chemistry. In: Vértes A, Nagy S, Klencsár Z, Lovas R, Rösch F, editors. Handbook of Nuclear Chemistry. Springer US; 2011. pp. 1263–1331. doi:10.1007/978-1-4419-0720-2_23
- 111. Kanyár B, Köteles GJ. Dosimetry and Biological Effects of Ionizing Radiation. In: Vértes A, Nagy

S, Klencsár Z, Lovas R, Rösch F, editors. Handbook of Nuclear Chemistry. Springer US; 2011. pp. 2211–2257. doi:10.1007/978-1-4419-0720-2_47

- 112. Häfeli U. Radioactive Microspheres for Medical Applications. In: De Cuyper M, Bulte JW, editors. Physics and Chemistry Basis of Biotechnology. Springer Netherlands; 2002. p. pp 213-248. doi:10.1007/0-306-46891-3_9
- 113. Pilones KA, Vanpouille-Box C, Demaria S. Combination of Radiotherapy and Immune Checkpoint Inhibitors. Semin Radiat Oncol. Elsevier; 2015;25: 28–33. doi:10.1016/j.semradonc.2014.07.004
- 114. Eriksson D, Stigbrand T. Radiation-induced cell death mechanisms. Tumor Biol. 2010;31: 363– 372. doi:10.1007/s13277-010-0042-8
- 115. Lavelle C, Foray N. Chromatin structure and radiation-induced DNA damage: From structural biology to radiobiology. Int J Biochem Cell Biol. Elsevier Ltd; 2014;49: 84–97. doi:10.1016/j.biocel.2014.01.012
- 116. Eccles LJ, O'Neill P, Lomax ME. Delayed repair of radiation induced clustered DNA damage: Friend or foe? Mutat Res - Fundam Mol Mech Mutagen. Elsevier B.V.; 2011;711: 134–141. doi:10.1016/j.mrfmmm.2010.11.003
- 117. Kassis AI. Therapeutic radionuclides: biophysical and radiobiologic principles. Semin Nucl Med. 2008;38: 358–66. doi:10.1053/j.semnuclmed.2008.05.002
- 118. Volkert W a, Goeckeler WF, Ehrhardt GJ, Ketring a R. Therapeutic radionuclides: production and decay property considerations. J Nucl Med. 1991;32: 174–185.
- 119. Das T, Pillai MR a. Options to meet the future global demand of radionuclides for radionuclide therapy. Nucl Med Biol. Elsevier Inc.; 2013;40: 23–32. doi:10.1016/j.nucmedbio.2012.09.007
- 120. Cordoliani Y. Chapitre IV : Interaction des rayonnements ionisants avec la matière. Feuill Radiol. 2002;42: 437–441. doi:FR-10-2002-42-5-0181-9801-101019-ART10
- 121. McDevitt MR, Sgouros G, Finn RD, Humm JL, Jurcic JG, Larson SM, et al. Radioimmunotherapy with alpha-emitting nuclides. Eur J Nucl Med. 1998;25: 1341–1351. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9724387
- 122. Chérel M, Gouard S, Gaschet J, Saï-Maurel C, Bruchertseifer F, Morgenstern A, et al. 213Bi radioimmunotherapy with an anti-mCD138 monoclonal antibody in a murine model of multiple myeloma. J Nucl Med. 2013;54: 1597–604. doi:10.2967/jnumed.112.111997
- 123. Srivastava SC, Mausner LF. Therapeutic Radionuclides: Production, Physical Characteristics, and Applications. In: Baum RP, Brady LW, Heilmann H-P, Molls M, Nieder C, editors. Therapeutic Nuclear Medicine. Springer Berlin Heidelberg; 2014. p. pp 11-50. doi:10.1007/174_2012_782
- 124. Alberti C. From molecular imaging in preclinical/clinical oncology to theranostic applications in targeted tumor therapy. Eur Rev Med Parmacological Sci. 2012;16: 1925–1933. Available: http://www.europeanreview.org/wp/wp-content/uploads/1925-1933.pdf?origin=publication_detail
- 125. Kelkar SS, Reineke TM. Theranostics: Combining imaging and therapy. Bioconjug Chem. 2011;22: 1879–1903. doi:10.1021/bc200151q
- 126. Warenius HM. Technological challenges of theranostics in oncology. Expert Opin Med Diagn. 2009;3: 381–393. doi:10.1517/17530050902893295

- 127. Jeelani S, Jagat Reddy R, Maheswaran T, Asokan G, Dany A, Anand B. Theranostics: A tresured tailor for tomorrow. J Pharm Bioallied Sci. 2014;6: S6–S8. doi:10.4103/0975-7406.137249
- 128. Janib SM, Moses AS, MacKay JA. Imaging and drug delivery using theranostic nanoparticles. Adv Drug Deliv Rev. Elsevier B.V.; 2010;62: 1052–1063. doi:10.1016/j.addr.2010.08.004
- 129. Sumer B, Gao J. Theranostic nanomedicine for cancer. Nanomedicine (Lond). 2008;3: 137–40. doi:10.2217/17435889.3.2.137
- 130. Chen X, Wong STC. Cancer Theranostics: An Introduction. In: Chen X, Wong S, editors. Cancer Theranostics. Elsevier Inc.; 2014. pp. 3–8. doi:10.1016/B978-0-12-407722-5.00001-3
- Baum RP, Kulkarni HR. Theranostics: From molecular imaging using Ga-68 labeled tracers and PET/CT to personalized radionuclide therapy - the bad berka experience. Theranostics. 2012;2: 437–447. doi:10.7150/thno.3645
- 132. Velikyan I. 68Ga-Based Radiopharmaceuticals: Production and Application Relationship. Molecules. 2015;20: 12913–12943. doi:10.3390/molecules200712913
- 133. Müller C, Vermeulen C, Köster U, Johnston K, Türler A, Schibli R, et al. Alpha-PET with terbium-149: evidence and perspectives for radiotheragnostics. EJNMMI Radiopharm Chem. EJNMMI Radiopharmacy and Chemistry; 2017;1: 5. doi:10.1186/s41181-016-0008-2
- Brechbiel MW. Targeted α-therapy: past, present, future? Dalt Trans. 2007; 4918. doi:10.1039/b704726f
- Srivastava SC. Paving the way to personalized medicine: Production of some promising theragnostic radionuclides at Brookhaven national laboratory. Semin Nucl Med. Elsevier Inc.; 2012;42: 151–163. doi:10.1053/j.semnuclmed.2011.12.004
- Lee Y-S, Jeong JM. Inorganic Radionuclides for Nuclear Medicine Therapy. In: Baum RP, editor. Therapeutic Nuclear Medicine. Springer Berlin Heidelberg; 2014. pp. 151–163. doi:10.1007/174_2012_704
- 137. Deutsch E, Libson K, Vanderheyden JL, Ketring a R, Maxon HR. The chemistry of rhenium and technetium as related to the use of isotopes of these elements in therapeutic and diagnostic nuclear medicine. Int J Rad Appl Instrum B. 1986;13: 465–477. doi:10.1016/0883-2897(86)90027-9
- 138. Liu S. The role of coordination chemistry in the development of target-specific radiopharmaceuticals. Chem Soc Rev. 2004;33: 445–461. doi:10.1039/b309961j
- 139. Müller C, Bunka M, Reber J, Fischer C, Zhernosekov K, Türler A, et al. Promises of cyclotronproduced 44Sc as a diagnostic match for trivalent β--emitters: in vitro and in vivo study of a 44Sc-DOTA-folate conjugate. J Nucl Med. 2013;54: 2168–74. doi:10.2967/jnumed.113.123810
- Müller C, Bunka M, Haller S, Köster U, Groehn V, Bernhardt P, et al. Promising prospects for 44Sc-/47Sc-based theragnostics: application of 47Sc for radionuclide tumor therapy in mice. J Nucl Med. 2014;55: 1658–64. doi:10.2967/jnumed.114.141614
- 141. Connett JM, Anderson CJ, Guo LW, Schwarz SW, Zinn KR, Rogers BE, et al.
 Radioimmunotherapy with a 64Cu-labeled monoclonal antibody: a comparison with 67Cu.
 Proc Natl Acad Sci U S A. 1996;93: 6814–6818. doi:10.1073/pnas.93.13.6814
- 142. Zimmermann K, Grünberg J, Honer M, Ametamey S, Schubiger PA, Novak-Hofer I. Targeting of renal carcinoma with 67/64Cu-labeled anti-L1-CAM antibody chCE7: Selection of copper ligands and PET imaging. Nucl Med Biol. 2003;30: 417–427. doi:10.1016/S0969-8051(03)00019-2

- 143. Smith-Jones PM, Stolz B, Bruns C, Albert R, Reist HW, Fridrich R, et al. Gallium-67/gallium-68-[DFO]-octreotide--a potential radiopharmaceutical for PET imaging of somatostatin receptorpositive tumors: synthesis and radiolabeling in vitro and preliminary in vivo studies. J Nucl Med. 1994;35: 317–325. Available: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8295005
- 144. Rösch F, Herzog H, Plag C, Neumaier B, Braun U, Müller-Gärtner H-W, et al. Radiation doses of yttrium-90 citrate and yttrium-90 EDTMP as determined via analogous yttrium-86 complexes and positron emission tomography. Eur J Nucl Med. 1996;23: 958–966. doi:10.1007/BF01084371
- 145. Baum RP. Therapeutic Nuclear Medicine [Internet]. Baum RP, Brady LW, Heilmann H-P, Molls M, Nieder C, editors. Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2014. doi:10.1007/978-3-540-36719-2
- 146. Verger E, Drion P, Meffre G, Bernard C, Duwez L, Lepareur N, et al. 68Ga and 188Re Starch-Based Microparticles as Theranostic Tool for the Hepatocellular Carcinoma: Radiolabeling and Preliminary In Vivo Rat Studies. PLoS One. 2016;11: e0164626. doi:10.1371/journal.pone.0164626
- 147. Idée J-M, Louguet S, Ballet S, Corot C. Theranostics and contrast-agents for medical imaging: a pharmaceutical company viewpoint. Quant Imaging Med Surg. 2013;3: 292–7. doi:10.3978/j.issn.2223-4292.2013.12.06
- 148. Mishra L, Banker T, Murray J, Byers S, Thenappan A, He AR, et al. Liver stem cells and hepatocellular carcinoma. Hepatology. 2009;49: 318–329. doi:10.1002/hep.22704
- 149. Hennequin C, Quero L, Rivera S. [Radiosensitivity of hepatocellular carcinoma]. Cancer Radiother. 2011;15: 39–42. doi:10.1016/j.canrad.2010.11.004
- 150. Kennedy A, Nag S, Salem R, Murthy R, McEwan AJ, Nutting C, et al. Recommendations for Radioembolization of Hepatic Malignancies Using Yttrium-90 Microsphere Brachytherapy: A Consensus Panel Report from the Radioembolization Brachytherapy Oncology Consortium. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2007;68: 13–23. doi:10.1016/j.ijrobp.2006.11.060
- 151. Murthy R, Nunez R, Szklaruk J, Wallace MJ, Cohen A, Douglas M, et al. Yttrium-90 Microspheres Therapy for Hepatic Malignancy: Devices, Indications, Technical Considerations, and Potential Complications. Radiographics. 2005;25: 41–55. doi:10.1148/rg.25si055515
- 152. Lewandowski RJ, Sato KT, Atassi B, Ryu RK, Nemcek A a, Kulik L, et al. Radioembolization with 90Y microspheres: angiographic and technical considerations. Cardiovasc Intervent Radiol. 2007;30: 571–92. doi:10.1007/s00270-007-9064-z
- 153. Rio E, Mornex F, Peiffert D, Huertas A. Radiothérapie des tumeurs hépatiques. Cancer / Radiother. Elsevier Masson SAS; 2016;20: S174–S178. doi:10.1016/j.canrad.2016.07.019
- 154. Lawrence TS, Robertson JM, Anscher MS, Jirtle RL, Ensminger WD, Fajardo LF. Hepatic toxicity resulting from cancer treatment. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 1995;30;31: 1237–48. Available: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/036030169400418K
- 155. Meza-Junco J, Montano-Loza AJ, Liu DM, Sawyer MB, Bain VG, Ma M, et al. Locoregional radiological treatment for hepatocellular carcinoma; Which, when and how? Cancer Treat Rev. Elsevier Ltd; 2012;38: 54–62. doi:10.1016/j.ctrv.2011.05.002
- 156. Tsochatzis E a, Fatourou EM, Triantos CK, Burroughs AK. Transarterial therapies for hepatocellular carcinoma. Recent Results Cancer Res. 2013;190: 195–206. doi:10.1007/978-3-642-16037-0_13
- 157. Geschwind JFH, Salem R, Carr BI, Soulen MC, Thurston KG, Goin K a., et al. Yttrium-90

microspheres for the treatment of hepatocellular carcinoma. Gastroenterology. 2004;127: S194–S205. doi:10.1053/j.gastro.2004.09.034

- 158. Gallicchio R, Nardelli A, Mainenti P, Nappi A, Capacchione D, Simeon V, et al. Therapeutic Strategies in HCC : Radiation Modalities. Biomed Res Int. 2016;2016: 11 pages. doi:10.1155/2016/1295329
- 159. Ma S, Jiao B, Liu X, Yi H, Kong D, Gao L, et al. Approach to radiation therapy in hepatocellular carcinoma. Cancer Treat Rev. Elsevier Ltd; 2010;36: 157–63. doi:10.1016/j.ctrv.2009.11.008
- 160. Ibrahim S-M, Lewandowski R-J, Sato K-T, Gates V-L, Kulik L, Mulcahy M-F, et al. Radioembolization for the treatment of unresectable hepatocellular carcinoma: a clinical review. World J Gastroenterol. 2008;14: 1664–9. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18350597\nhttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articl erender.fcgi?artid=PMC2695906
- 161. Kennedy AS, Nutting C, Coldwell D, Gaiser J, Drachenberg C. Pathologic response and microdosimetry of (90)Y microspheres in man: review of four explanted whole livers. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2004;60: 1552–63. doi:10.1016/j.ijrobp.2004.09.004
- 162. Muller JH, Rossier PH. A New Method for the Treatment of Cancer of the Lungs by Means of Artificial Radioactivity: (Zn63 and Au198) First experimental and clinical studies. Acta radiol. 1951;35: 449–468. doi:10.3109/00016925109136677
- 163. Kennedy AS, Dezarn WA, McNeillie P. 90Y Microspheres: Concepts and Principles. In: Bilbao JI, Reiser MF, editors. Liver Radioembolization with 90Y Microspheres. 2nd Editio. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2014. p. pp 1-10. doi:10.1007/174_2013_820
- 164. Dogliotti A, Caldarola L, Badellino F, Cavalli A, Calderini P. Endo-arterial regional injection of radioisotopes in the treatment of malignant tumours. Int J Appl Radiat Isot. 1966;17: 51–59. doi:10.1016/0020-708X(66)90104-9
- Caldarola L, Rosa U, Badellino F, Sosi S, Cavalli A. Preparation of 32-P labelled resin microspheres for radiation treatment of tumours by intra-arterial injection. Minerva Nucl. 1964;8: 169–74. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14175029
- 166. Kao Y, Steinberg JD, Tay Y-S, Lim GKY, Yan J, Townsend DW, et al. Post-radioembolization yttrium-90 PET/CT - part 1: Diagnostic reporting. EJNMMI Res. 2013;3: 56. doi:10.1186/2191-219X-3-56
- 167. Salem R, Thurston KG. Radioembolization with yttrium-90 microspheres: a state-of-the-art brachytherapy treatment for primary and secondary liver malignancies: part 3: comprehensive literature review and future direction. J Vasc Interv Radiol. 2006;17: 1571–93. doi:10.1097/01.RVI.0000236744.34720.73
- 168. Kao YH. General theory of predictive dosimetry for yttrium-90 radioembolization to sites other than the liver. Cardiovasc Intervent Radiol. 2014;37: 1114–1117. doi:10.1007/s00270-013-0783-z
- 169. Muylle K, Nguyen J, De Wind A, Meuleman N, Delatte P, Vanderlinden B, et al. Radioembolization of the spleen: A revisited approach for the treatment of malignant lymphomatous splenomegaly. Cardiovasc Intervent Radiol. 2013;36: 1155–1160. doi:10.1007/s00270-012-0484-z
- 170. Hamoui N, Gates VL, Gonzalez J, Lewandowski RJ, Salem R. Radioembolization of renal cell carcinoma using yttrium-90 microspheres. J Vasc Interv Radiol. Elsevier; 2013;24: 298–300. doi:10.1016/j.jvir.2012.10.027

- 171. Ricke J, Großer O, Amthauer H. Y90-radioembolization of lung metastases via the bronchial artery: A report of 2 cases. Cardiovasc Intervent Radiol. 2013;36: 1664–1669. doi:10.1007/s00270-013-0690-3
- 172. Kallini JR, Gabr A, Salem R, Lewandowski RJ. Transarterial Radioembolization with Yttrium-90 for the Treatment of Hepatocellular Carcinoma. Adv Ther. Springer Healthcare; 2016;33: 699– 714. doi:10.1007/s12325-016-0324-7
- 173. Hickey RM, Lewandowski RJ, Salem R. Yttrium-90 radioembolization for hepatocellular carcinoma. Semin Nucl Med. Elsevier; 2016;46: 105–108. doi:10.1053/j.semnuclmed.2015.10.011
- 174. Lewandowski RJ, Geschwind J-F, Liapi E, Salem R. Transcatheter intraarterial therapies: rationale and overview. Radiology. 2011;259: 641–657. doi:10.1148/radiol.11081489.
- 175. Bozkurt MF, Salanci BV, Uğur Ö. Intra-Arterial Radionuclide Therapies for Liver Tumors. Semin Nucl Med. 2016;46: 324–339. doi:10.1053/j.semnuclmed.2016.01.008
- 176. Raoul J-L, Boucher E, Rolland Y, Garin E. Treatment of hepatocellular carcinoma with intraarterial injection of radionuclides. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. Nature Publishing Group; 2010;7: 41–9. doi:10.1038/nrgastro.2009.202
- 177. Breedis C, Young G. The blood supply of neoplasms in the liver. Am J Pathol. 1954;30: 969–77. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1942491/
- 178. Ackerman NB. Experimental studies on the circulation dynamics of intrahepatic tumor blood supply. Cancer. 1972;29: 435–9. doi:10.1002/1097-0142(197202)29:2<435::AID-CNCR2820290227>3.0.CO;2-K
- 179. Vesselle G, Petit I, Boucebci S, Rocher T, Velasco S, Tasu JP. Radioembolization with yttrium-90 microspheres work up: Practical approach and literature review. Diagn Interv Imaging. Elsevier Masson SAS; 2015;96: 547–562. doi:10.1016/j.diii.2014.03.014
- 180. Uliel L, Royal HD, Darcy MD, Zuckerman D a., Sharma A, Saad NE. From the Angio Suite to the γ-Camera: Vascular Mapping and 99mTc-MAA Hepatic Perfusion Imaging Before Liver Radioembolization - A Comprehensive Pictorial Review. J Nucl Med. 2012;53: 1736–1747. doi:10.2967/jnumed.112.105361
- Bierman HR, Byron RL, Kelley KH, Grady A. Studies on the Blood Supply of Tumors in Man. III.
 Vascular Patterns of the Liver by Hepatic Arteriography in Vivo. J Natl Cancer Inst. 1951;12:
 107–31. Available: http://arch.neicon.ru/xmlui/handle/123456789/4207620
- 182. Bult W, Vente M, Zonnenberg B, Van Het Schip A, Nijsen J. Microsphere radioembolization of liver malignancies: current developments. Q J Nucl Med Mol imaging. 2009;53: 325–335. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19521312
- Blanchard RJ, Grotenhuis I, LaFave JW, Frye CW, Perry JFJ. Treatment of experimental tumors: Utilization of radioactive microspheres. Arch Surg. 1964;89: 406–10. doi:10.1001/archsurg.1964.01320020170025.
- 184. Blanchard RJ, Lafave JW, Kim YS, Frye CS, Ritchie WP, Perry JF. Treatment of patients with advanced cancer utilizing Y90 microspheres. Cancer. 1965;18: 375–380. doi:10.1002/1097-0142(196503)18:3<375::AID-CNCR2820180314>3.0.CO;2-U
- Ariel IM. Treatment of Inoperable Primary Pancreatic and Liver Cancer By the Intra-Arterial Administration of Radioactive Isotopes (Y90 Radiating Microspheres). Ann Surg. 1965;162: 267–78. Available:

http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1476829&tool=pmcentrez&rend ertype=abstract

- 186. Ariel IM, Pack GT. Treatment of inoperable cancer of the liver by intra-arterial radioactive isotopes and chemotherapy. Cancer. 1967;20: 793–804. doi:10.1002/1097-0142(1967)20:5<793::AID-CNCR2820200534>3.0.CO;2-I
- 187. Grady ED. Internal radiation therapy of hepatic cancer. Dis Colon Rectum. 1979;22: 371–375. doi:10.1007/BF02586901
- 188. Sangro B. Chemoembolization and radioembolization. Best Pract Res Clin Gastroenterol. Elsevier Ltd; 2014;28: 909–919. doi:10.1016/j.bpg.2014.08.009
- 189. Raza A, Sood GK. Hepatocellular carcinoma review: Current treatment, and evidence-based medicine. World J Gastroenterol. 2014;20: 4115–4127. doi:10.3748/wjg.v20.i15.4115
- 190. Chegai F, Orlacchio A, Merolla S, Monti S, Mannelli L. Intermediate hepatocellular carcinoma : the role of transarterial therapy. Hepatic Oncol. 2015;2: 399–408. doi:10.2217/hep.15.32
- 191. Mitra V, Metcalf J. Functional anatomy and blood supply of the liver. Anaesth Intensive Care Med. Elsevier Ltd; 2012;13: 52–53. doi:10.1016/j.mpaic.2011.11.005
- 192. Ribatti D, Vacca A, Nico B, Sansonno D, Dammacco F. Angiogenesis and anti-angiogenesis in hepatocellular carcinoma. Cancer Treat Rev. 2006;32: 437–44. doi:10.1016/j.ctrv.2006.06.002
- Lewandowski RJ, Salem R. Yttrium-90 radioembolization of hepatocellular carcinoma and metastatic disease to the liver. Semin Intervent Radiol. 2006;23: 64–72. doi:10.1055/s-2006-939842
- 194. Nijsen F, Rook D, Brandt C, Meijer R, Dullens H, Zonnenberg B, et al. Targeting of liver tumour in rats by selective delivery of holmium-166 loaded microspheres: a biodistribution study. Eur J Nucl Med. 2001;28: 743–749. doi:10.1007/s002590100518
- 195. Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? J Natl Cancer Inst. 1990;82: 4–6. doi:10.1093/jnci/82.1.4
- 196. Kennedy A. Radioembolization of hepatic tumors. J Gastrointest Oncol. 2014;5: 178–89. doi:10.3978/j.issn.2078-6891.2014.037
- 197. Bae KH, Chung HJ, Park TG. Nanomaterials for cancer therapy and imaging. Mol Cells. 2011;31: 295–302. doi:10.1007/s10059-011-0051-5
- 198. Kohandel M, Kardar M, Milosevic M, Sivaloganathan S. Dynamics of tumor growth and combination of anti-angiogenic and cytotoxic therapies. Phys Med Biol. 2007;52: 3665–77. doi:10.1088/0031-9155/52/13/001
- 199. Pang R, Poon RTP. Angiogenesis and antiangiogenic therapy in hepatocellular carcinoma. Cancer Lett. 2006;242: 151–67. doi:10.1016/j.canlet.2006.01.008
- 200. Ackerman NB, Hechmer PA. The blood supply of experimental liver metastases. V. Increased tumor perfusion with epinephrine. Am J Surg. 1980;140: 625–631. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7435820
- 201. Trojan J, Zangos S, Schnitzbauer AA. Diagnostics and Treatment of Hepatocellular Carcinoma in 2016 : Standards and Developments. Visc Med. 2016;32: 116–120. doi:10.1159/000445730
- 202. Yang ZF, Poon RTP. Vascular changes in hepatocellular carcinoma. Anat Rec (Hoboken). 2008;291: 721–34. doi:10.1002/ar.20668

- 203. Lau W-Y, Kennedy AS, Kim YH, Lai HK, Lee R-C, Leung TWT, et al. Patient selection and activity planning guide for selective internal radiotherapy with yttrium-90 resin microspheres. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2012;82: 401–7. doi:10.1016/j.ijrobp.2010.08.015
- 204. Braat AJAT, Smits MLJ, Braat MNGJA, van den Hoven AF, Prince JF, de Jong HWAM, et al. 90Y Hepatic Radioembolization: An Update on Current Practice and Recent Developments. J Nucl Med. 2015;56: 1079–87. doi:10.2967/jnumed.115.157446
- 205. Giammarile F, Bodei L, Chiesa C, Flux G, Forrer F, Kraeber-Bodere F, et al. EANM procedure guideline for the treatment of liver cancer and liver metastases with intra-arterial radioactive compounds. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2011;38: 1393–406. doi:10.1007/s00259-011-1812-2
- 206. Ngan H, Peh WCG. Arteriovenous shunting in hepatocellular carcinoma: Its prevalence and clinical significance. Clin Radiol. 1997;52: 36–40. doi:10.1016/S0009-9260(97)80303-0
- 207. Chen J-H, Chai J-W, Huang H-C, Shen W-C, San-Kan L. Proximal arterioportal shunting associated with hepatocellular carcinoma: features revealed by dynamic helical CT. Am J Roentgenol. 1999;172: 403–407. doi:10.2214/ajr.172.2.9930792
- 208. Salem R, Thurston KG. Radioembolization with 90Yttrium microspheres: a state-of-the-art brachytherapy treatment for primary and secondary liver malignancies. Part 1: Technical and methodologic considerations. J Vasc Interv Radiol. 2006;17: 1251–78. doi:10.1097/01.RVI.0000233785.75257.9A
- 209. Ahmadzadehfar H, Biersack H-J, Ezziddin S. Radioembolization of liver tumors with yttrium-90 microspheres. Semin Nucl Med. Elsevier Inc.; 2010;40: 105–21. doi:10.1053/j.semnuclmed.2009.11.001
- 210. Carr BI. Hepatic arterial 90Yttrium glass microspheres (Therasphere) for unresectable hepatocellular carcinoma: interim safety and survival data on 65 patients. Liver Transpl. 2004;10: S107-10. doi:10.1002/lt.20036
- 211. Gulec SA, Sztejnberg ML, Siegel JA, Jevremovic T, Stabin M. Hepatic Structural Dosimetry in 90Y Microsphere Treatment: A Monte Carlo Modeling Approach Based on Lobular Microanatomy. J Nucl Med. 2010;51: 301–310. doi:10.2967/jnumed.109.069278
- Campbell AM, Bailey IH, Burton MA. Analysis of the distribution of intra-arterial microspheres in human liver following hepatic yttrium-90 microsphere therapy. Phys Med Biol. 2000;45: 1023–33. doi:10.1088/0031-9155/45/4/316
- 213. Högberg J, Rizell M, Hultborn R, Svensson J, Henrikson O, Mölne J, et al. Increased absorbed liver dose in Selective Internal Radiation Therapy (SIRT) correlates with increased spherecluster frequency and absorbed dose inhomogeneity. EJNMMI Phys. 2015;2: 10. doi:10.1186/s40658-015-0113-4
- 214. Bester L, Meteling B, Boshell D, Chua TC, Morris DL. Transarterial chemoembolisation and radioembolisation for the treatment of primary liver cancer and secondary liver cancer: A review of the literature. J Med Imaging Radiat Oncol. 2014;58: 341–352. doi:10.1111/1754-9485.12163
- 215. Prompers L, Bucerius J, Brans B, Temur Y, Berger L, Mottaghy FM. Selective internal radiation therapy (SIRT) in primary or secondary liver cancer. Methods. Elsevier Inc.; 2011;55: 253–7. doi:10.1016/j.ymeth.2011.09.014
- 216. Covey AM, Brody L a, Maluccio M a, Getrajdman GI, Brown KT. Variant hepatic arterial anatomy revisited: digital subtraction angiography performed in 600 patients. Radiology.

2002;224: 542-547. doi:10.1148/radiol.2242011283

- 217. Michels NA. Newer anatomy of the liver and its variant blood supply and collateral circulation. Am J Surg. 1966;112: 337–347. doi:10.1016/0002-9610(66)90201-7
- 218. Favelier S, Germain T, Genson PY, Cercueil JP, Denys A, Krausé D, et al. Anatomy of liver arteries for interventional radiology. Diagn Interv Imaging. Elsevier Masson SAS; 2015;96: 537–46. doi:10.1016/j.diii.2013.12.001
- 219. Denys A, Sauvanet A, Wicky S, Schnyder P, Belghiti J. [Surgical anatomy of the liver: what you need to know]. J Radiol. 2002;83: 205–218. doi:JR-02-2002-83-2-C2-0221-0363-101019-ART2
- Saiz-Mendiguren R, Arias J, Vivas I, Bilbao JI. Vascular Anatomy and Its Implication in Radioembolization. In: Bilbao JI, Reiser MF, editors. Liver Radioembolization with 90Y Microspheres. 2nd Editio. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2014. p. pp 27-40. doi:10.1007/174_2013_811
- 221. Michels N. Collateral arterial pathways to the liver after ligation of the hepatic artery and removal of the celiac axis. Cancer. 1953;6: 708–24. doi:10.1002/1097-0142(195307)6:4<708::AID-CNCR2820060411>3.0.CO;2-A
- 222. Hiatt JR, Gabbay J, Busuttil RW. Surgical anatomy of the hepatic arteries in 1000 cases. Ann Surg. 1994;220: 50–2. doi:10.1097/00000658-199407000-00008
- 223. Cazejust J, Bessoud B, Colignon N, Garcia-Alba C, Planché O, Menu Y. Vascularisation artérielle du carcinome hépatocellulaire : des artères classiques aux plus rares. J Radiol Diagnostique Interv. Elsevier Masson SAS; 2014;95: 30–39. doi:10.1016/j.jradio.2013.02.021
- 224. Seldinger SI. Catheter replacement of the needle in percutaneous arteriography. Acta radiol. 1953;39: 368–76. doi:10.3109/00016925309136722
- 225. Dancey JE, Shepherd F a, Paul K, Sniderman KW, Houle S, Gabrys J, et al. Treatment of nonresectable hepatocellular carcinoma with intrahepatic 90Y-microspheres. J Nucl Med. 2000;41: 1673–81. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11037997
- 226. Salem R, Lewandowski RJ, Sato KT, Atassi B, Ryu RK, Ibrahim S, et al. Technical aspects of radioembolization with 90Y microspheres. Tech Vasc Interv Radiol. 2007;10: 12–29. doi:10.1053/j.tvir.2007.08.001
- 227. Sacco R, Mismas V, Marceglia S, Romano A, Giacomelli L, Bertini M, et al. Transarterial radioembolization for hepatocellular carcinoma: An update and perspectives. World J Gastroenterol. 2015;21: 6518–6525. doi:10.3748/wjg.v21.i21.6518
- 228. Ellis H. Anatomy of the liver. Surgery. Elsevier Ltd; 2011;29: 589–592. doi:10.1016/j.mpsur.2011.09.012
- 229. Boudghene F, Tassart M. Imagerie de l'aorte abdominale normale. EMC Radiol Imag MÉDICALE Cardiovasc - Thorac - Cervicale. 2009; 1–27. doi:10.1016/S1169-7768(09)44757-X
- 230. Rhodes NP. Anatomy and Physiology. In: Taktak A, Ganney P, Long D, White P, editors. Clinical Engineering A Handbook for Clinical and Biomedical Engineers. Oxford: Academic Press, Elsevier Ltd; 2014. pp. 3–20. doi:10.1016/B978-0-12-396961-3.00001-9
- 231. Nelson FRT, Blauvelt CT. 8 Anatomy and Orthopaedic Surgery. In: Nelson FR, Blauvelt CT, Saunders W, editors. A Manual of Orthopaedic Terminology (Eighth Edition). Eighth Edi. Philadelphia: Elsevier Inc.; 2015. pp. 209–282. doi:http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-323-22158-0.00008-1

- 232. Riaz A, Awais R, Salem R. Side effects of yttrium-90 radioembolization. Front Oncol. 2014;4: 198. doi:10.3389/fonc.2014.00198
- 233. Chou FI, Fang KC, Chung C, Lui WY, Chi CW, Liu RS, et al. Lipiodol uptake and retention by human hepatoma cells. Nucl Med Biol. 1995;22: 379–386. doi:10.1016/0969-8051(94)00112-W
- 234. Lepareur N, Ardisson V, Noiret N, Garin E. (188)Re-SSS/Lipiodol: Development of a Potential Treatment for HCC from Bench to Bedside. Int J Mol Imaging. 2012;2012: 278306. doi:10.1155/2012/278306
- 235. Lambert B, Van de Wiele C. Treatment of hepatocellular carcinoma by means of radiopharmaceuticals. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2005;32: 980–9. doi:10.1007/s00259-005-1859-z
- 236. Carlier T, Eugène T, Bodet-Milin C, Garin E, Ansquer C, Rousseau C, et al. Assessment of acquisition protocols for routine imaging of Y-90 using PET/CT. EJNMMI Res. 2013;3: 11. doi:10.1186/2191-219X-3-11
- 237. Wright CL, Zhang J, Tweedle MF, Knopp M V, Hall NC. Theranostic Imaging of Yttrium-90. Biomed Res Int. 2015;2015: 1–11. doi:10.1155/2015/481279
- 238. Rösch F, Knapp Jr FR. Radionuclide Generators. In: Vértes A, Nagy S, Klencsár Z, Lovas R, Rösch F, editors. Handbook of Nuclear Chemistry. Springer US; 2011. pp. 1935–1976. doi:10.1007/978-1-4419-0720-2
- 239. Rösch F, Baum RP. Generator-based PET radiopharmaceuticals for molecular imaging of tumours: on the way to THERANOSTICS. Dalton Trans. 2011;40: 6104–11. doi:10.1039/c0dt01504k
- 240. Stevenson P, Nervik W. The Radiochemistry of the Rare Earths, Scandium, Yttrium, and Actinium [Internet]. NAS-NS 302. Subcommittee on Radiochemistry, National Academy of Sciences, National Research Council (1961); 1961. Available: http://library.lanl.gov/cgi-bin/getfile?rc000021.pdf
- 241. Murthy R, Habbu A, Salem R. Trans-arterial hepatic radioembolisation of yttrium-90 microspheres. Biomed Imaging Interv J. 2006;2: e43. doi:10.2349/biij.2.3.e43
- 242. Knapp Jr FF, Pillai MRA, Osso Jr JA, Dash A. Re-emergence of the important role of radionuclide generators to provide diagnostic and therapeutic radionuclides to meet future research and clinical demands. J Radioanal Nucl Chem. 2014;302: 1053–1068. doi:10.1007/s10967-014-3642-8
- 243. Cremonesi M, Chiesa C, Strigari L, Ferrari M, Botta F, Guerriero F, et al. Radioembolization of hepatic lesions from a radiobiology and dosimetric perspective. Front Oncol. 2014;4: 210. doi:10.3389/fonc.2014.00210
- 244. Vente M a D, Nijsen JFW, de Wit TC, Seppenwoolde JH, Krijger GC, Seevinck PR, et al. Clinical effects of transcatheter hepatic arterial embolization with holmium-166 poly(L-lactic acid) microspheres in healthy pigs. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2008;35: 1259–71. doi:10.1007/s00259-008-0747-8
- 245. Chiesa C, Mira M, Maccauro M, Romito R, Spreafico C, Sposito C, et al. A dosimetric treatment planning strategy in radioembolization of hepatocarcinoma with 90Y glass microspheres. Q J Nucl Med Mol Imaging. 2012;56: 503–509. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23358402

- 246. Lewandowski RJ, Riaz A, Ryu RK, Mulcahy MF, Sato KT, Kulik LM, et al. Optimization of radioembolic effect with extended-shelf-life yttrium-90 microspheres: results from a pilot study. J Vasc Interv Radiol. Elsevier Inc.; 2009;20: 1557–63. doi:10.1016/j.jvir.2009.08.021
- 247. Kraeber-Bodere F, Garin E, Vuillez J-P. Radiopharmaceutiques à visée thérapeutique : indications, précautions d'emploi et principaux résultats. EMC - Radiol Imag médicale Principes Tech - Radioprot. 2013;8: 1–14. doi:10.1016/S1879-8497(13)60169-7
- 248. Vente M a D, Wondergem M, van der Tweel I, van den Bosch M a a J, Zonnenberg B a, Lam MGEH, et al. Yttrium-90 microsphere radioembolization for the treatment of liver malignancies: a structured meta-analysis. Eur Radiol. 2009;19: 951–9. doi:10.1007/s00330-008-1211-7
- 249. Kennedy AS, Dezarn WA, McNeillie P, Sangro B. Dosimetry and Dose Calculation. In: Bilbao JI, Reiser MF, editors. Liver Radioembolization with 90Y Microspheres. 2nd Editio. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2014. p. pp 53-61. doi:10.1007/174_2013_862
- 250. Sato K, Lewandowski RJ, Bui JT, Omary R, Hunter RD, Kulik L, et al. Treatment of unresectable primary and metastatic liver cancer with yttrium-90 microspheres (TheraSphere): assessment of hepatic arterial embolization. Cardiovasc Intervent Radiol. 2006;29: 522–9. doi:10.1007/s00270-005-0171-4
- 251. Paul SB, Sharma H. Role of Transcatheter Intra-arterial Therapies for Hepatocellular Carcinoma. J Clin Exp Hepatol. Elsevier Ltd; 2014;4: S112–S121. doi:10.1016/j.jceh.2014.03.048
- 252. Arbizu J, Rodriguez-Fraile M, Martí-Climent JM, Domínguez-Prado I, Vigil C. Nuclear Medicine Procedures for Treatment Evaluation and Administration. In: Bilbao JI, Reiser MF, editors. Liver Radioembolization with 90Y Microspheres. Second Edi. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2014. p. pp 63-75. doi:10.1007/174_2013_863
- 253. Salem R, Thurston KG. Radioembolization with 90yttrium microspheres: a state-of-the-art brachytherapy treatment for primary and secondary liver malignancies. Part 2: special topics. J Vasc Interv Radiol. 2006;17: 1425–39. doi:10.1097/01.RVI.0000235779.88652.53
- 254. Bilbao JI, Reiser MF. Liver Radioembolization with 90Y Microspheres [Internet]. 2nd Editio. Bilbao JI, Reiser MF, editors. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2014. doi:10.1007/978-3-642-36473-0
- 255. El Fouly A, Ertle J, El Dorry A, Shaker MK, Dechêne A, Abdella H, et al. In intermediate stage hepatocellular carcinoma: Radioembolization with yttrium 90 or chemoembolization? Liver Int. 2014; 627–635. doi:10.1111/liv.12637
- 256. Steel J, Baum A, Carr B. Quality of life in patients diagnosed with primary hepatocellular carcinoma: hepatic arterial infusion of Cisplatin versus 90-Yttrium microspheres (Therasphere). Psychooncology. 2004;13: 73–9. doi:10.1002/pon.725
- 257. Aubé C, Bouvier A, Lebigot J, Vervueren L, Cartier V, Oberti F. Traitement radiologique du CHC : la radiologie interventionnelle au centre de la prise en charge. J Radiol Diagnostique Interv. 2015;96: 180–191. doi:10.1016/j.jradio.2015.04.002
- 258. Salem R, Hunter RD. Yttrium-90 microspheres for the treatment of hepatocellular carcinoma: a review. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2006;66: S83-8. doi:10.1016/j.ijrobp.2006.02.061
- 259. Memon K, Lewandowski RJ, Riaz A, Salem R. Yttrium 90 Microspheres for the Treatment of Hepatocellular Carcinoma. In: Vauthey J-N, Brouquet A, editors. Multidisciplinary Treatment of Hepatocellular Carcinoma. Springer Berlin Heidelberg; 2013. pp. 207–224.

doi:10.1007/978-3-642-16037-0_14

- 260. Tam HH, Al-Nahhas A. Treatment of liver tumours with yttrium radioembolisation. Clin Transl Imaging. 2014;2: 165–182. doi:10.1007/s40336-013-0046-7
- Kulik LM, Carr BI, Mulcahy MF, Lewandowski RJ, Atassi B, Ryu RK, et al. Safety and efficacy of 90Y radiotherapy for hepatocellular carcinoma with and without portal vein thrombosis. Hepatology. 2008;47: 71–81. doi:10.1002/hep.21980
- 262. Iñarrairaegui M, Thurston KG, Bilbao JI, D'Avola D, Rodriguez MA, Arbizu J, et al. Radioembolization with use of yttrium-90 resin microspheres in patients with hepatocellular carcinoma and portal vein thrombosis. J Vasc Interv Radiol. Elsevier Inc.; 2010;21: 1205–1212. doi:10.1016/j.jvir.2010.04.012
- 263. Kew MC. Serum aminotransferase concentration as evidence of hepatocellular damage. Lancet. 2000;355: 591–592. doi:10.1016/S0140-6736(99)00219-6
- 264. Berthélémy S. Le bilan hépatique. Actual Pharm. Elsevier Masson SAS; 2015;54: 59–61. doi:10.1016/j.actpha.2014.12.020
- 265. Buffet C. Élévation des Transaminases en hépatologie. EMC AKOS (Traité Médecine). 2014;9: 1–7. doi:10.1016/S1634-6939(14)66061-0
- 266. Rochling FA. Evaluation of Abnormal Liver Tests. Clin Cornerstone. 2001;3: 1–12. doi:10.1016/S1098-3597(01)90074-2
- 267. Blann A. What is the purpose of liver function tests? Nurs Times. 2013;110: 17–19. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24669469
- 268. Perry A, Labrune P. Troubles constitutionnels du métabolisme de la bilirubine. EMC -Hépatologie. 2016;11: 1–6. doi:10.1016/S1155-1976(16)71592-0
- 269. Campbell I. Liver: metabolic functions. Anaesth Intensive Care Med. 2006;7: 51–54. doi:10.1383/anes.2006.7.2.51
- 270. Ge P-L, Du S-D, Mao Y-L. Advances in preoperative assessment of liver function. Hepatobiliary Pancreat Dis Int. 2014;13: 361–70. doi:10.1016/S1499-3872(14)60267-8
- 271. Gomaa AI, Khan SA, Leen ELS, Waked I, Taylor-Robinson SD. Diagnosis of Hepatocellular carcinoma. World J Gastroenterol. 2009;15: 1301–1314. doi:10.3748/wjg.15.1301
- 272. Bialecki ES, Di Bisceglie AM. Diagnosis of hepatocellular carcinoma. HPB (Oxford). 2005;7: 26– 34. doi:10.1080/13651820410024049
- 273. Bird TG, Dimitropoulou P, Turner RM, Jenks SJ, Cusack P, Hey S, et al. Alpha-Fetoprotein Detection of Hepatocellular Carcinoma Leads to a Standardized Analysis of Dynamic AFP to Improve Screening Based Detection. PLoS One. 2016;11: e0156801. doi:10.1371/journal.pone.0156801
- 274. Liu DM, Salem R, Bui JT, Courtney A, Barakat O, Sergie Z, et al. Angiographic considerations in patients undergoing liver-directed therapy. J Vasc Interv Radiol. 2005;16: 911–935. doi:10.1097/01.RVI.0000164324.79242.B2
- 275. Paprottka PM, Jakobs TF, Reiser MF, Hoffmann RT. Practical vascular anatomy in the preparation of radioembolization. Cardiovasc Intervent Radiol. 2012;35: 454–462. doi:10.1007/s00270-011-0169-z
- 276. Riaz A, Kulik LM, Mulcahy MF, Lewandowski RJ, Salem R. Yttrium-90 radioembolization in the management of liver malignancies. Semin Oncol. Elsevier Inc.; 2010;37: 94–101.

doi:10.1053/j.seminoncol.2010.03.006

- 277. Salem R, Lewandowski RJ, Gates VL, Nutting CW, Murthy R, Rose SC, et al. Research reporting standards for radioembolization of hepatic malignancies. J Vasc Interv Radiol. Elsevier Inc.; 2011;22: 265–78. doi:10.1016/j.jvir.2010.10.029
- 278. Ahmadzadehfar H, Sabet A, Biermann K, Muckle M, Brockmann H, Kuhl C, et al. The significance of 99mTc-MAA SPECT/CT liver perfusion imaging in treatment planning for 90Y-microsphere selective internal radiation treatment. J Nucl Med. 2010;51: 1206–12. doi:10.2967/jnumed.109.074559
- Knapp FR, Kropp J, Liepe K. Rhenium-188 Generator-Based Radiopharmaceuticals for Therapy. In: Baum RP, editor. Therapeutic Nuclear Medicine. Springer Berlin Heidelberg; 2014. pp. 51– 81. doi:10.1007/174_2012_669
- 280. Garin E, Lenoir L, Rolland Y, Edeline J, Mesbah H, Laffont S, et al. Dosimetry Based on 99mTc-Macroaggregated Albumin SPECT/CT Accurately Predicts Tumor Response and Survival in Hepatocellular Carcinoma Patients Treated with 90Y-Loaded Glass Microspheres: Preliminary Results. J Nucl Med. 2012;53: 255–263. doi:10.2967/jnumed.111.094235
- 281. Ilhan H, Goritschan A, Paprottka P, Jakobs TF, Fendler WP, Todica A, et al. Predictive value of 99mTc-labelled MAA scintigraphy for 90Y-microspheres distribution in radioembolization treatment with resin microspheres in primary and secondary hepatic tumors. J Nucl Med. 2015;56: 1654–60. doi:10.2967/jnumed.115.162685
- 282. Wondergem M, Smits MLJ, Elschot M, de Jong HW a M, Verkooijen HM, van den Bosch M a a J, et al. 99mTc-macroaggregated albumin poorly predicts the intrahepatic distribution of 90Y resin microspheres in hepatic radioembolization. J Nucl Med. 2013;54: 1294–301. doi:10.2967/jnumed.112.117614
- 283. Elschot M, Nijsen JFW, Lam MGEH, Smits MLJ, Prince JF, Viergever MA, et al. (99m)Tc-MAA overestimates the absorbed dose to the lungs in radioembolization: a quantitative evaluation in patients treated with (166)Ho-microspheres. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2014;41: 1965–75. doi:10.1007/s00259-014-2784-9
- 284. Gupta T, Virmani S, Neidt TM, Szolc-Kowalska B, Sato KT, Ryu RK, et al. MR Tracking of Ironlabeled Glass Radioembolization Microspheres during Transcatheter Delivery to Rabbit VX2 Liver Tumors: Feasibility Study 1. Radiology. 2008;249: 845–854. doi:10.1148/radiol.2491072027
- 285. Dunfee BL, Riaz A, Lewandowski RJ, Ibrahim S, Mulcahy MF, Ryu RK, et al. Yttrium-90 radioembolization for liver malignancies: prognostic factors associated with survival. J Vasc Interv Radiol. Elsevier Inc.; 2010;21: 90–5. doi:10.1016/j.jvir.2009.09.011
- 286. Salem R, Lewandowski RJ, Atassi B, Gordon SC, Gates VL, Barakat O, et al. Treatment of unresectable hepatocellular carcinoma with use of 90Y microspheres (TheraSphere): safety, tumor response, and survival. J Vasc Interv Radiol. 2005;16: 1627–39. doi:10.1097/01.RVI.0000184594.01661.81
- 287. Dezarn W a., Cessna JT, DeWerd L a., Feng W, Gates VL, Halama J, et al. Recommendations of the American Association of Physicists in Medicine on dosimetry, imaging, and quality assurance procedures for 90Y microsphere brachytherapy in the treatment of hepatic malignancies. Med Phys. 2011;38: 4824. doi:10.1118/1.3608909
- 288. Gulec S a, Mesoloras G, Stabin M. Dosimetric techniques in 90Y-microsphere therapy of liver cancer: The MIRD equations for dose calculations. J Nucl Med. 2006;47: 1209–1211.

doi:47/7/1209 [pii]

- 289. Mikell JK, Mahvash A, Siman W, Mourtada F, Kappadath SC. Comparing voxel-based absorbed dosimetry methods in tumors, liver, lung, and at the liver-lung interface for (90)Y microsphere selective internal radiation therapy. EJNMMI Phys. EJNMMI Physics; 2015;2: 16. doi:10.1186/s40658-015-0119-y
- 290. SIRTeX Medical Ltd. SIR-Spheres microspheres (Yttrium-90 Microspheres) Users instructions [package insert]. North Sydney, Australia; 2013.
- 291. Harrison LB, Chadha M, Hill RJ, Hu K, Shasha D. Impact of Tumor Hypoxia and Anemia on Radiation Therapy Outcomes. Oncologist. 2002;7: 492–508. doi:10.1634/theoncologist.7-6-492
- Harrison L, Blackwell K. Hypoxia and anemia: factors in decreased sensitivity to radiation therapy and chemotherapy? Oncologist. 2004;9: 31–40. doi:10.1634/theoncologist.9-90005-31
- 293. Bernardini M, Smadja C, Faraggi M, Orio S, Petitguillaume A, Desbrée A, et al. Liver Selective Internal Radiation Therapy with (90)Y resin microspheres: Comparison between pretreatment activity calculation methods. Phys Med. 2014;30: 752–64. doi:10.1016/j.ejmp.2014.05.004
- 294. Garin E, Rolland Y, Edeline J, Icard N, Lenoir L, Laffont S, et al. Personalized dosimetry with intensification using 90Y-loaded glass microsphere radioembolization induces prolonged overall survival in hepatocellular carcinoma patients with portal vein thrombosis. J Nucl Med. 2015;56: 339–346. doi:10.2967/jnumed.114.145177
- 295. Chiesa C, Mira M, Maccauro M, Spreafico C, Romito R, Morosi C, et al. Radioembolization of hepatocarcinoma with 90Y glass microspheres: development of an individualized treatment planning strategy based on dosimetry and radiobiology. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2015;42: 1718–1738. doi:10.1007/s00259-015-3068-8
- 296. Riaz A, Lewandowski R, Kulik L, Salem R. Yttrium-90 radioembolization using TheraSphere in the management of primary and secondary liver tumors. Q J Nucl Med Mol imaging. 2009;53: 311–316. Available: http://europepmc.org/abstract/MED/19521310
- 297. Gates VL, Esmail AAH, Marshall K, Spies S, Salem R. Internal Pair Production of 90Y Permits Hepatic Localization of Microspheres Using Routine PET: Proof of Concept. J Nucl Med. 2011;52: 72–76. doi:10.2967/jnumed.110.080986
- 298. Padia SA, Alessio A, Kwan SW, Lewis DH, Vaidya S, Minoshima S. Comparison of positron emission tomography and bremsstrahlung imaging to detect particle distribution in patients undergoing yttrium-90 radioembolization for large hepatocellular carcinomas or associated portal vein thrombosis. J Vasc Interv Radiol. Elsevier; 2013;24: 1147–1153. doi:10.1016/j.jvir.2013.04.018
- 299. Lhommel R, Goffette P, Van Den Eynde M, Jamar F, Pauwels S, Bilbao JI, et al. Yttrium-90 TOF PET scan demonstrates high-resolution biodistribution after liver SIRT. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2009;36: 1696. doi:10.1007/s00259-009-1210-1
- 300. Song YS, Paeng JC, Kim H-C, Chung JW, Cheon GJ, Chung J-K, et al. PET/CT-Based Dosimetry in 90Y-Microsphere Selective Internal Radiation Therapy. Medicine (Baltimore). 2015;94: e945. doi:10.1097/MD.00000000000945
- 301. Salem R, Lewandowski RJ, Mulcahy MF, Riaz A, Ryu RK, Ibrahim S, et al. Radioembolization for hepatocellular carcinoma using Yttrium-90 microspheres: a comprehensive report of long-

term outcomes. Gastroenterology. Elsevier Inc.; 2010;138: 52–64. doi:10.1053/j.gastro.2009.09.006

- 302. Bruix J, Sherman M, Llovet JM, Beaugrand M, Lencioni R, Burroughs AK, et al. Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the barcelona-2000 EASL conference. J Hepatol. 2001;35: 421–430. doi:10.1016/S0168-8278(01)00130-1
- 303. World Health Organization. WHO Handbook for Reporting Results of Cancer Treatment [Internet]. Organization G: WH, editor. WHO offset publication. Geneva, Switzerland; 1979. Available: http://www.who.int/iris/handle/10665/37200
- 304. Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer E a, Wanders J, Kaplan RS, Rubinstein L, et al. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid Tumors. J Natl Cancer Inst. 2000;92: 205–216. doi:10.1093/jnci/92.3.205
- 305. Eisenhauer E, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz L, Sargent D, Ford R, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). Eur J Cancer. Elsevier Ltd; 2009;45: 228–247. doi:10.1016/j.ejca.2008.10.026
- 306. Delumeau S, Lebigot J, Ridereau-Zins C, Bouvier A, Boursier J, Aubé C. Aspects et évaluation post-thérapeutiques des lésions du foie après traitement non chirurgical. J Radiol. 2011;92: 632–638. doi:10.1016/j.jradio.2011.04.014
- 307. Lencioni R, Llovet JM. Modified RECIST (mRECIST) Assessment for hepatocellular carcinoma. Semin Liver Dis. 2010;30: 52–60. doi:10.1055/s-0030-1247132
- 308. Salem R, Lewandowski RJ. Chemoembolization and radioembolization for hepatocellular carcinoma. Clin Gastroenterol Hepatol. Elsevier Inc.; 2013;11: 604–611. doi:10.1016/j.cgh.2012.12.039
- 309. Sangro B, Carpanese L, Cianni R, Golfieri R, Gasparini D, Ezziddin S, et al. Survival after yttrium-90 resin microsphere radioembolization of hepatocellular carcinoma across Barcelona clinic liver cancer stages: a European evaluation. Hepatology. 2011;54: 868–78. doi:10.1002/hep.24451
- 310. Hilgard P, Hamami M, Fouly A El, Scherag A, MüLler S, Ertle J, et al. Radioembolization with yttrium-90 glass microspheres in hepatocellular carcinoma: European experience on safety and long-term survival. Hepatology. 2010;52: 1741–1749. doi:10.1002/hep.23944
- 311. Golfieri R, Bilbao JI, Carpanese L, Cianni R, Gasparini D, Ezziddin S, et al. Comparison of the survival and tolerability of radioembolization in elderly vs. younger patients with unresectable hepatocellular carcinoma. J Hepatol. European Association for the Study of the Liver; 2013;xxx: 1–9. doi:10.1016/j.jhep.2013.05.025
- 312. Lau W, Ho S, Leung T, Chan M, Ho R, Johnson P, et al. Selective internal radiation therapy for nonresectable hepatocellular carcinoma with intraarterial infusion of 90 yttrium microspheres. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 1998;40: 583–592. Available: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0360301697008183
- 313. Spreafico C, Maccauro M, Mazzaferro V, Chiesa C. The dosimetric importance of the number of (90)Y microspheres in liver transarterial radioembolization (TARE). Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2014;41: 634–8. doi:10.1007/s00259-013-2674-6
- Mazzaferro V, Sposito C, Bhoori S, Romito R, Chiesa C, Morosi C, et al. Yttrium-90 radioembolization for intermediate-advanced hepatocellular carcinoma: A phase 2 study. Hepatology. 2013;57: 1826–1837. doi:10.1002/hep.26014

- 315. Salem R, Lewandowski RJ, Kulik L, Wang E, Riaz A, Ryu RK, et al. Radioembolization results in longer time-to-progression and reduced toxicity compared with chemoembolization in patients with hepatocellular carcinoma. Gastroenterology. Elsevier Inc.; 2011;140: 497–507.e2. doi:10.1053/j.gastro.2010.10.049
- 316. Kolligs FT, Bilbao JI, Jakobs T, Iñarrairaegui M, Nagel JM, Rodriguez M, et al. Pilot randomized trial of selective internal radiation therapy vs. chemoembolization in unresectable hepatocellular carcinoma. Liver Int. 2015;35: 1715–1721. doi:10.1111/liv.12750
- 317. Pitton MB, Kloeckner R, Ruckes C, Wirth GM, Eichhorn W, Wörns M a, et al. Randomized Comparison of Selective Internal Radiotherapy (SIRT) Versus Drug-Eluting Bead Transarterial Chemoembolization (DEB-TACE) for the Treatment of Hepatocellular Carcinoma. Cardiovasc Intervent Radiol. 2015;38: 352–360. doi:10.1007/s00270-014-1012-0
- 318. Kousik V, Promila P, Verma R, Gupta A. Role of yttrium-90 in the management of unresectable hepatocellular carcinoma and hepatic metastases. Indian J Gastroenterol. Indian Journal of Gastroenterology; 2016;35: 179–185. doi:10.1007/s12664-016-0657-9
- 319. Young JY, Rhee TK, Atassi B, Gates VL, Kulik L, Mulcahy MF, et al. Radiation Dose Limits and Liver Toxicities Resulting from Multiple Yttrium-90 Radioembolization Treatments for Hepatocellular Carcinoma. J Vasc Interv Radiol. 2007;18: 1375–1382. doi:10.1016/j.jvir.2007.07.016
- 320. Ni JY, Xu LF, Wang WD, Sun HL, Chen YT. Conventional transarterial chemoembolization vs microsphere embolization in hepatocellular carcinoma: A meta-analysis. World J Gastroenterol. 2014;20: 17206–17217. doi:10.3748/wjg.v20.i45.17206
- 321. Lewandowski RJ, Kulik LM, Riaz a, Senthilnathan S, Mulcahy MF, Ryu RK, et al. A comparative analysis of transarterial downstaging for hepatocellular carcinoma: chemoembolization versus radioembolization. Am J Transplant. 2009;9: 1920–8. doi:10.1111/j.1600-6143.2009.02695.x
- 322. Kooby D a, Egnatashvili V, Srinivasan S, Chamsuddin A, Delman K a, Kauh J, et al. Comparison of yttrium-90 radioembolization and transcatheter arterial chemoembolization for the treatment of unresectable hepatocellular carcinoma. J Vasc Interv Radiol. Elsevier Inc.; 2010;21: 224–30. doi:10.1016/j.jvir.2009.10.013
- 323. Carr BI, Kondragunta V, Buch SC, Branch RA. Therapeutic equivalence in survival for hepatic arterial chemoembolization and yttrium 90 microsphere treatments in unresectable hepatocellular carcinoma: A two-cohort study. Cancer. 2010;116: 1305–1314. doi:10.1002/cncr.24884
- 324. Moreno-Luna LE, Yang JD, Sanchez W, Paz-Fumagalli R, Harnois DM, Mettler TA, et al. Efficacy and safety of transarterial radioembolization versus chemoembolization in patients with hepatocellular carcinoma. Cardiovasc Intervent Radiol. 2013;36: 714–723. doi:10.1007/s00270-012-0481-2
- 325. Idée J-M, Guiu B. Use of Lipiodol as a drug-delivery system for transcatheter arterial chemoembolization of hepatocellular carcinoma: a review. Crit Rev Oncol Hematol. Elsevier Ireland Ltd; 2013;88: 530–49. doi:10.1016/j.critrevonc.2013.07.003
- 326. Bhattacharya S, Novell JR, Winslet MC, Hobbs KEF. Iodized oil in the treatment of hepatocellular carcinoma. Br J Surg. 1994;81: 1563–1571. doi:10.1002/bjs.1800811105
- 327. Raoul JL, Guyader D, Bretagne JF, Duvauferrier R, Bourguet P, Bekhechi D, et al. Randomized controlled trial for hepatocellular carcinoma with portal vein thrombosis: intra-arterial iodine-131-iodized oil versus medical support. J Nucl Med. 1994;35: 1782–7. Available:

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7525901

- 328. Raoul JL, Guyader D, Bretagne JF, Heautot JF, Duvauferrier R, Bourguet P, et al. Prospective randomized trial of chemoembolization versus intra-arterial injection of 131I-labeled-iodized oil in the treatment of hepatocellular carcinoma. Hepatology. 1997;26: 1156–61. doi:10.1002/hep.510260511
- 329. Kumar A, Srivastava DN, Chau TTM, Bal CS, Chandra P, Chien LT, et al. Inoperable Hepatocellular Carcinoma: Transarterial 188Re HDD–Labeled Iodized Oil for Treatment— Prospective Multicenter Clinical Trial. Radiology. 2007;243: 509–519. doi:10.1148/radiol.2432051246
- 330. Lambert B, Bacher K, Defreyne L. Rhenium-188 based radiopharmaceuticals for treatment of liver tumours. Q J Nucl Med Mol imaging. 2009;53: 305–310. Available: http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=21772957
- 331. Wang S-J, Lin W-Y, Lui W-Y, Chen M-N, Tsai Z-T, Ting G. Hepatic Artery Injection of Yttrium-90-Lipiodol: Biodistribution in Rats with Hepatoma. J Nucl Med. 1996;37: 332–5. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8667072
- 332. Yu J, Häfeli UO, Sands M, Dong Y. 90Y-oxine-ethiodol, a potential radiopharmaceutical for the treatment of liver cancer. Appl Radiat Isot. 2003;58: 567–573. doi:10.1016/S0969-8043(03)00064-2
- 333. Das T, Chakraborty S, Sarma HD, Venkatesh M, Banerjee S. Preparation of 166Ho-oxinelipiodol and its preliminary bioevaluation for the potential application in therapy of liver cancer. Nucl Med Commun. 2009;30: 362–367. doi:10.1097/MNM.0b013e328329981a
- 334. Subramanian S, Das T, Chakraborty S, Sarma HD, Banerjee S, Samuel G, et al. Preparation of 177Lu-labeled oxine in lipiodol as a possible agent for therapy of hepatocellular carcinoma: a preliminary animal study. Cancer BiotherRadiopharm. 2010;25: 539–543. doi:10.1089/cbr.2010.0792
- 335. Lintia-Gaultier A, Perret C, Ansquer C, Eugene T, Kraeber-Bodere F, Frampas E. Intra-arterial injection of 131I-labeled Lipiodol for advanced hepatocellular carcinoma: a 7 years' experience. Nucl Med Commun. 2013;34: 674–681. doi:10.1097/MNM.0b013e32836141a0
- 336. Andreana L, Isgrò G, Marelli L, Davies N, Yu D, Navalkissoor S, et al. Treatment of hepatocellular carcinoma (HCC) by intra-arterial infusion of radio-emitter compounds: transarterial radio-embolisation of HCC. Cancer Treat Rev. Elsevier Ltd; 2012;38: 641–9. doi:10.1016/j.ctrv.2011.11.004
- 337. Jouneau S, Vauléon E, Caulet-Maugendre S, Polard E, Volatron AC, Meunier C, et al. 131Ilabeled lipiodol-induced interstitial pneumonia: A series of 15 cases. Chest. 2011;139: 1463– 1469. doi:10.1378/chest.10-1591
- Padhy AK. Rhenium-188 Lipiodol for the treatment of Hepatocellular Carcinoma (HCC). In: Baum RP, editor. Therapeutic Nuclear Medicine. Springer Berlin Heidelberg; 2014. pp. 393– 404. doi:10.1007/174_2013_807
- Wang S-J, Lin W-Y, Chen M-N, Hsieh B-T, Shen L-H, Tsai Z-T, et al. Biodistribution of rhenium-188 Lipiodol infused via the hepatic artery of rats with hepatic tumours. Eur J Nucl Med. 1996;23: 13–7. Available: http://link.springer.com/article/10.1007/BF01736984
- 340. Wang SJ, Lin WY, Chen MN, Hsieh BT, Shen LH, Tsai ZT, et al. Radiolabelling of Lipiodol with generator-produced 188Re for hepatic tumor therapy. Appl Radiat Isot. 1996;47: 267–71. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8935963

- Jeong JM, Kim YJ, Lee YS, Ko JI, Son M, Lee DS, et al. Lipiodol solution of a lipophilic agent, (188)Re-TDD, for the treatment of liver cancer. Nucl Med Biol. 2001;28: 197–204. doi:10.1016/S0969-8051(00)00208-0
- 342. LEE Y-S, JEONG JM, KIM YJ, CHUNG JW, PARK JH, SUH Y-G, et al. Synthesis of 188Re-labelled long chain alkyl diaminedithiol for therapy of liver cancer. Nucl Med Commun. 2002;23: 237– 242. doi:10.1097/0006231-200203000-00006
- 343. Boschi A, Uccelli L, Duatti A, Colamussi P, Cittanti C, Filice A, et al. A kit formulation for the preparation of 188Re-lipiodol: preclinical studies and preliminary therapeutic evaluation in patients with unresectable hepatocellular carcinoma. Nucl Med Commun. 2004;25: 691–9. Available: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15208496
- 344. Lepareur N, Garin E, Noiret N, Herry JY. A kit formulation for the labelling of lipiodol with generator-produced 188Re. J Label Compd Radiopharm. 2004;47: 857–867. doi:10.1002/jlcr.863
- 345. Luo T-Y, Hsieh B-T, Wang S-J, Lin W-Y, Lee T-W, Shen L-H, et al. Preparation and biodistribution of rhenium-188 ECD/Lipiodol in rats following hepatic arterial injection. Nucl Med Biol. 2004;31: 671–7. doi:10.1016/j.nucmedbio.2004.02.005
- 346. Paeng JC, Jeong JM, Yoon CJ, Lee Y-S, Suh Y-G, Chung JW, et al. Lipiodol solution of Re-188-HDD as a new therapeutic agent for transhepatic arterial embolization in liver cancer: Preclinical study in a rabbit liver cancer model. J Nucl Med. 2003;44: 2033–2038. Available: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14660730
- 347. Sundram F, Chau TCM, Onkhuudai P, Bernal P, Padhy AK. Preliminary results of transarterial rhenium-188 HDD lipiodol in the treatment of inoperable primary hepatocellular carcinoma. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2004;31: 250–7. doi:10.1007/s00259-003-1363-2
- Lambert B, Bacher K, Defreyne L, Gemmel F, Van Vlierberghe H, Jeong JM, et al. 188Re-HDD/Lipiodol Therapy for Hepatocellular Carcinoma: A Phase I Clinical Trial. J Nucl Med. 2005;46: 60–66. Available: http://jnm.snmjournals.org/content/46/1/60.long
- 349. Bernal P, Raoul J-L, Vidmar G, Sereegotov E, Sundram FX, Kumar A, et al. Intra-arterial rhenium-188 lipiodol in the treatment of inoperable hepatocellular carcinoma: results of an IAEA-sponsored multination study. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2007;69: 1448–55. doi:10.1016/j.ijrobp.2007.05.009
- 350. Lambert B, de Klerk JMH. Clinical applications of 188Re-labelled radiopharmaceuticals for radionuclide therapy. Nucl Med Commun. 2006;27: 223–229. doi:10.1097/00006231-200603000-00004
- 351. Garin E, Noiret N, Malbert C, Lepareur N, Roucoux A, Caulet-Maugendre S, et al. Development and biodistribution of 188Re-SSS lipiodol following injection into the hepatic artery of healthy pigs. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2004;31: 542–6. doi:10.1007/s00259-003-1402-z
- Lepareur N, Ardisson V, Noiret N, Boucher E, Raoul J, Clément B, et al. Automation of labelling of Lipiodol with high-activity with high-activity generator-produced 188Re. Appl Radiat Isot. 2011;69: 426–430. doi:10.1016/j.apradiso.2010.11.001
- 353. Tabrizian P, Roayaie S, Schwartz ME. Current management of hepatocellular carcinoma. World J Gastroenterol. 2014;20: 10223–10237. doi:10.3748/wjg.v20.i30.10223
- 354. European Pharmacopeia (7th ed.) European Directorate for the Quality of Medicines. Strasbourg; 2010;

- 355. Vucina J, Lukic D. Radionuclidic generators for the production of technetium-99m and rhenium-188. Facta Univ Ser Physics, Chem Technol. 2002;2: 235–243. doi:10.2298/FUPCT0204235V
- 356. Boschi A, Uccelli L, Pasquali M, Duatti A, Taibi A, Pupillo G, et al. 188W/188Re Generator System and Its Therapeutic Applications. J Chem. 2014;2014: 14 pages. doi:10.1155/2014/529406
- 357. Rösch F. 68Ge/68Ga Generators and 68Ga Radiopharmaceutical Chemistry on Their Way into a New Century. J Postgrad Med Educ Res. 2013;47: 18–25. doi:10.5005/jp-journals-10028-1052
- 358. Lacoeuille F, Hindré F, Denizot B, Bouchet F, Legras P, Couturier O, et al. New starch-based radiotracer for lung perfusion scintigraphy. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2010;37: 146–55. doi:10.1007/s00259-009-1226-6
- 359. Lacoeuille F, Hindré F, Venier-Julienne MC, Sergent M, Bouchet F, Jouaneton S, et al. A starchbased microparticulate system dedicated to diagnostic and therapeutic nuclear medicine applications. Biomaterials. Elsevier Ltd; 2011;32: 7999–8009. doi:10.1016/j.biomaterials.2011.07.007
- 360. Denizot B, Lacoeuille F, Le Jeune J-J, Hindré F. New compositions based on polysaccharides grafted by polyamine or polysulphurised compounds. WO2009013358, 2007.
- 361. Velikyan I. Prospective of 68Ga-Radiopharmaceutical development. Theranostics. 2014;4: 47– 80. doi:10.7150/thno.7447
- 362. Abram U, Alberto R. Technetium and rhenium Coordination chemistry and nuclear medical applications. J Braz Chem Soc. 2006;17: 1486–1500. doi:10.1590/S0103-50532006000800004
- 363. Dadachova E, Mirzadeh S. The Role of Tin in the Direct Labelling of Proteins with Rhenium-188. Nucl Med Biol. 1997;24: 605–8. doi:10.1016/S0969-8051(97)00079-6
- 364. Vanpouille-Box C, Lacoeuille F, Roux J, Aubé C, Garcion E, Lepareur N, et al. Lipid nanocapsules loaded with rhenium-188 reduce tumor progression in a rat hepatocellular carcinoma model. PLoS One. 2011;6: e16926. doi:10.1371/journal.pone.0016926
- 365. DiFilippo FP, Patel S, Asosingh K, Erzurum SC. Small-animal imaging using clinical positron emission tomography/computed tomography and super-resolution. Mol Imaging. 2012;11: 210–9. doi:10.2310/7290.2011.00041
- 366. Ahmadzadehfar H, Muckle M, Sabet A, Wilhelm K, Kuhl C, Biermann K, et al. The significance of bremsstrahlung SPECT/CT after yttrium-90 radioembolization treatment in the prediction of extrahepatic side effects. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2012;39: 309–315. doi:10.1007/s00259-011-1940-8
- Bal C, Kumar A. Radionuclide therapy for hepatocellular carcinoma: indication, cost and efficacy. Trop Gastroenterol. 2008;29: 62–70. Available: http://www.tropicalgastro.com/articles/29/2/Radionuclide-therapy-for-hepatocellular-carcinoma-indication,-cost-and-efficacy.html
- Roesch F, Riss PJ. The renaissance of the 68Ge/68Ga radionuclide generator initiates new developments in 68Ga radiopharmaceutical chemistry. Curr Top Med Chem. 2010;10: 1633–1668. doi:http://dx.doi.org/10.2174/156802610793176738
- 369. Liu Y-F, Zha B-S, Zhang H-L, Zhu X-J, Li Y-H, Zhu J, et al. Characteristic gene expression profiles in the progression from liver cirrhosis to carcinoma induced by diethylnitrosamine in a rat

model. J Exp Clin Cancer Res. 2009;28: 1-16. doi:10.1186/1756-9966-28-107

- Chen G, Dai ZK, Liang RG, Xiao SJ, He SQ, Zhao HL, et al. Characterization of diethylnitrosamine-induced liver carcinogenesis in Syrian golden hamsters. Exp Ther Med. 2012;3: 285–292. doi:10.3892/etm.2011.406
- 371. Fournier LS, Cuenod CA, de Bazelaire C, Siauve N, Rosty C, Tran PL, et al. Early modifications of hepatic perfusion measured by functional CT in a rat model of hepatocellular carcinoma using a blood pool contrast agent. Eur Radiol. 2004;14: 2125–2133. doi:10.1007/s00330-004-2339-8
- 372. Parvinian A, Casadaban LC, Gaba RC. Development, growth, propagation, and angiographic utilization of the rabbit VX2 model of liver cancer: A pictorial primer and "how to" guide. Diagnostic Interv Radiol. 2014;20: 335–340. doi:10.5152/dir.2014.13415
- 373. Hnatowich DJ. Labeling of tin-soaked albumin microspheres with 68Ga. J Nucl Med. 1976;17: 57–61. Available: http://jnm.snmjournals.org/content/17/1/57.full.pdf
- 374. Ament S, Maus S, Reber H, Buchholz HG, Bausbacher N, Brochhausen C, et al. PET Lung Ventilation/Perfusion Imaging Using 68Ga Aerosol (Galligas) and 68Ga-Labeled Macroaggregated Albumin. Recent Results Cancer Res. 2013;194: 301–317. doi:10.1007/978-3-642-27994-2_22
- 375. Wagner HN, Sabiston DC, Iio M, McAfee JG, Meyer JK, Langan JK. Regional Pulmonary Blood Flow in Man by Radioisotope Scanning. JAMA. 1964;187: 601–603. doi:10.1001/jama.1964.03060210051012
- 376. Amor-Coarasa A, Milera A, Carvajal D, Gulec S, McGoron AJ. Lyophilized Kit for the Preparation of the PET Perfusion Agent [68Ga]-MAA. Int J Mol Imaging. 2014;2014: 1–7. doi:10.1155/2014/269365
- 377. Even GA, Green MA. Gallium-68-labeled Macroaggregated Human Serum Albumin, 68Ga-MAA. Int J Rad Appl Instrum B. 1989;16: 319–321. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2785514
- 378. Mathias CJ, Green MA. A convenient route to [68Ga]Ga-MAA for use as a particulate PET perfusion tracer. Appl Radiat Isot. 2008;66: 1910–1912. doi:10.1016/j.apradiso.2008.06.004
- 379. Maus S, Buchholz H-G, Ament S, Brochhausen C, Bausbacher N, Schreckenberger M. Labelling of commercially available human serum albumin kits with 68Ga as surrogates for 99mTc-MAA microspheres. Appl Radiat lsot Incl data Instrum methods use Agric Ind Med. Elsevier; 2011;69: 171–175. doi:10.1016/j.apradiso.2010.09.008
- 380. Hofman MS, Beauregard J-M, Barber TW, Neels OC, Eu P, Hicks RJ. 68Ga PET/CT Ventilation-Perfusion Imaging for Pulmonary Embolism: A Pilot Study with Comparison to Conventional Scintigraphy. J Nucl Med. 2011;52: 1513–1519. doi:10.2967/jnumed.111.093344
- 381. Le Roux P-Y, Siva S, Steinfort DP, Callahan J, Eu P, Irving LB, et al. Correlation of 68Ga Ventilation-Perfusion PET/CT with Pulmonary Function Test Indices for Assessing Lung Function. J Nucl Med. 2015;56: 1718–1723. doi:10.2967/jnumed.115.162586
- 382. Le Roux P-Y, Leong TL, Barnett SA, Hicks RJ, Callahan J, Eu P, et al. Gallium-68 perfusion positron emission tomography/computed tomography to assess pulmonary function in lung cancer patients undergoing surgery. Cancer Imaging. Cancer Imaging; 2016;16: 24. doi:10.1186/s40644-016-0081-5
- 383. Wu SY, Kuo JW, Chang TK, Liu RS, Lee RC, Wang SJ, et al. Preclinical characterization of 18F-MAA, a novel PET surrogate of 99mTc-MAA. Nucl Med Biol. Elsevier Inc.; 2012;39: 1026–1033.

doi:10.1016/j.nucmedbio.2012.04.008

- 384. Carberry P, Lieberman BP, Ploessl K, Choi SR, Haase DN, Kung HF. New F-18 prosthetic group via oxime coupling. Bioconjug Chem. 2011;22: 642–653. doi:10.1021/bc1004262
- 385. Li Z, Conti PS. Radiopharmaceutical chemistry for positron emission tomography. Adv Drug Deliv Rev. Elsevier B.V.; 2010;62: 1031–1051. doi:10.1016/j.addr.2010.09.007
- 386. Wunderlich G, Pinkert J, Andreeff M, Stintz M, Knapp FF, Kropp J, et al. Preparation and biodistribution of rhenium-188 labeled albumin microspheres B 20: a promising new agent for radiotherapy. Appl Radiat Isot. 2000;52: 63–8. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10670924
- Liepe K, Brogsitter C, Leonhard J, Wunderlich G, Hliscs R, Pinkert J, et al. Feasibility of high activity rhenium-188-microsphere in hepatic radioembolization. Jpn J Clin Oncol. 2007;37: 942–50. doi:10.1093/jjco/hym137
- 388. Ni H-C, Yu C-Y, Chen S-J, Chen L-C, Lin C-H, Lee W-C, et al. Preparation and imaging of rhenium-188 labeled human serum albumin microsphere in orthotopic hepatoma rats. Appl Radiat Isot. Elsevier; 2015;99: 117–121. doi:10.1016/j.apradiso.2015.02.020
- 389. Grosser OS, Ruf J, Kupitz D, Pethe A, Ulrich G, Genseke P, et al. Pharmacokinetics of 99mTc-MAA and 99mTc-HSA-Microspheres used in pre-Radioembolization Dosimetry - Influence on the Liver-Lung Shunt. J Nucl Med. 2016;57: 925–927. doi:10.2967/jnumed.115.169987
- 390. Wunderlich G, Schiller E, Bergmann R, Pietzsch HJ. Comparison of the stability of Y-90-, Lu-177- and Ga-68- labeled human serum albumin microspheres (DOTA-HSAM). Nucl Med Biol. Elsevier Inc.; 2010;37: 861–867. doi:10.1016/j.nucmedbio.2010.05.004
- 391. Wagner SJ, Welch MJ. Gallium-68 Labeling of Albumin and Albumin Microspheres. J Nucl Med. 1979;20: 428–433. Available: http://jnm.snmjournals.org/content/20/5/428.long
- 392. Hayes RL, Carlton JE, Kuniyasu Y. A new method for labeling microspheres with 68Ga. Eur J Nucl Med. 1981;6: 531–533. doi:10.1007/BF00255887
- 393. Chesler DA, Hales C, Hnatowich DJ, Hoop B. Three-dimensional reconstruction of lung perfusion image with positron detection. J Nucl Med. 1975;16: 80–82. Available: http://jnm.snmjournals.org/content/16/1/80.long
- 394. Nijsen J, Zonnenberg B, Woittiez J, Swildens-vans Woudenberg I, van Rijk P, van het Schip A. Holmium-166 poly lactic acid microspheres applicable for intra-arterial radionuclide therapy of hepatic malignancies: effects of preparation and neutron activation techniques. Eur J Nucl Med. 1999;26: 699–704. Available: http://link.springer.com/article/10.1007/s002590050440
- 395. Brans B, Linden O, Giammarile F, Tennvall J, Punt C. Clinical applications of newer radionuclide therapies. Eur J Cancer. 2006;42: 994–1003. doi:10.1016/j.ejca.2005.12.020
- 396. Wang XD, Yang RJ, Cao XC, Tan J, Li B. Dose delivery estimated by bremsstrahlung imaging and partition model correlated with response following intra-arterial radioembolization with 32pglass microspheres for the treatment of hepatocellular carcinoma. J Gastrointest Surg. 2010;14: 858–866. doi:10.1007/s11605-010-1180-4
- 397. Wang X-M, Yin Z-Y, Yu R-X, Peng Y-Y, Liu P-G, Wu G-Y. Preventive effect of regional radiotherapy with phosphorus-32 glass microspheres in hepatocellular carcinoma recurrence after hepatectomy. World J Gastroenterol. 2008;14: 518–23. Available: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2681141&tool=pmcentrez&rend ertype=abstract

- 398. Zhang D-S, Liu L, Jin L-Q, Wan M-L, Li Q-H. Effect of phosphorus-32 glass microspheres on human hepatocellular carcinoma in nude mice. World J Gastroenterol. 2004;10: 1551–1554. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15162523
- 399. Liu L, Jiang Z, Teng G-J, Song J-Z, Zhang D-S, Guo Q-M, et al. Clinical and experimental study on regional administration of phosphorus 32 glass microspheres in treating hepatic carcinoma. World J Gastroenterol. 1999;5: 492–505. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11819498
- 400. Li L, Yan L, Chen X. [The side effect and complication of intraarterial phosphorus-32 glass microspheres for patients with advanced hepatoma]. Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi Chinese J Biomed Eng. 1997;14: 376. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11367632
- 401. Yan L, Li L, Chen S. [Radioembolization with 32P-labelled glass microspheres for advanced hepatocellular carcinoma]. Zhonghua Wai Ke Za Zhi. 1996;34: 526–9. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9594154
- 402. Yan L, Li Z, Li L, Wang L, Lu W, Xie X, et al. [The relationship between effects and radiation doses of intra-arterial phosphorus-32 glass microspheres embolization therapy for patients with advanced liver cancer]. Zhonghua Wai Ke Za Zhi. 2000;38: 837–40. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11832176
- Häfeli UO, Roberts WK, Pauer GJ, Kraeft SK, Macklis RM. Stability of biodegradable radioactive rhenium (Re-186 and Re-188) microspheres after neutron-activation. Appl Radiat Isot. 2001;54: 869–79. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11300399
- 404. Conzone SD, Häfeli UO, Day DE, Ehrhardt GJ. Preparation and properties of radioactive rhenium glass microspheres intended for in vivo radioembolization therapy. J Biomed Mater Res. 1998;42: 617–625. doi:10.1002/(SICI)1097-4636(19981215)42:4<617::AID-JBM19>3.0.CO;2-4
- 405. Häfeli UO, Casillas S, Dietz DW, Pauer GJ, Rybicki LA, Conzone SD, et al. Hepatic tumor radioembolization in a rat model using radioactive rhenium (186Re/188Re) glass microspheres. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 1999;44: 189–199. doi:10.1016/S0360-3016(98)00554-9
- 406. Wunderlich G, Drews A, Kotzerke J. A kit for labeling of [188Re] human serum albumin microspheres for therapeutic use in nuclear medicine. Appl Radiat Isot. 2005;62: 915–8. doi:10.1016/j.apradiso.2005.01.001
- 407. Liepe K, Kotzerke J. Advantage of 188Re-Radiopharmaceuticals in Hepatocellular Cancer and Liver Metastases. J Nucl Med. 2005;46: author reply 1407-8. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16085601
- 408. Nowicki ML, Cwikla JB, Sankowski AJ, Shcherbinin S, Grimmes J, Celler A, et al. Initial Study of Radiological and Clinical Efficacy Radioembolization Using 188Re-Human Serum Albumin (HSA) Microspheres in Patients with Progressive, Unresectable Primary or Secondary Liver Cancers. Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res. 2014;20: 1353–1362. doi:10.12659/MSM.890480
- 409. Mumper RJ, Ryo UY, Jay M. Neutron-activated holmium-166-Poly(L-lactic acid) microspheres: A potential agent for the internal radiation therapy of hepatic tumors. J Nucl Med. 1991;32: 2139–2143. Available: http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L21350939 \nhttp://sfx.library.uu.nl/utrecht?sid=EMBASE&issn=01615505&id=doi:&atitle=Neutron-

activated+holmium-166-Poly(L-lactic+acid)+microspheres:+A+potential+agent+for+the+int

- 410. Mumper RJ, Jay M. Biodegradable radiotherapeutic polyester microspheres: optimization and in-vitro/in-vivo evaluation. J Control Release. 1992;18: 193–204. doi:10.1016/0168-3659(92)90165-N
- 411. Nijsen JF, van Steenbergen MJ, Kooijman H, Talsma H, Kroon-Batenburg LM, van De Weert M, et al. Characterization of poly(L-lactic acid) microspheres loaded with holmium acetylacetonate. Biomaterials. 2001;22: 3073–81. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11575483
- 412. Nijsen JFW, Seppenwoolde J-H, Havenith T, Bos C, Bakker CJG, van het Schip AD. Liver tumors: MR imaging of radioactive holmium microspheres--phantom and rabbit study. Radiology. 2004;231: 491–499. doi:10.1148/radiol.2312030594
- 413. Chopra A. [166Ho]-Loaded poly(L-lactic acid) microspheres. In: 2004-2013 B (MD): NC for BI (US), editor. Molecular Imaging and Contrast Agent Database (MICAD) [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2010. pp. 1–4. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK47330/
- 414. Vente M a D, de Wit TC, van den Bosch M a a J, Bult W, Seevinck PR, Zonnenberg B a, et al. Holmium-166 poly(L-lactic acid) microsphere radioembolisation of the liver: technical aspects studied in a large animal model. Eur Radiol. 2010;20: 862–9. doi:10.1007/s00330-009-1613-1
- 415. Cosimelli M. The evolution of radioembolisation. Lancet Oncol. Elsevier Ltd; 2012;13: 965–6. doi:10.1016/S1470-2045(12)70370-4
- 416. Smits MLJ, Nijsen JFW, van den Bosch M a a J, Lam MGEH, Vente M a D, Huijbregts JE, et al. Holmium-166 radioembolization for the treatment of patients with liver metastases: design of the phase I HEPAR trial. J Exp Clin Cancer Res. 2010;29: 70. doi:10.1186/1756-9966-29-70
- 417. Smits MLJ, Nijsen JFW, van den Bosch M a a J, Lam MGEH, Vente M a D, Mali WPTM, et al. Holmium-166 radioembolisation in patients with unresectable, chemorefractory liver metastases (HEPAR trial): a phase 1, dose-escalation study. Lancet Oncol. 2012;13: 1025–34. doi:10.1016/S1470-2045(12)70334-0
- 418. Prince JF, van Rooij R, Bol GH, de Jong HW, van den Bosch MA, Lam MG. Safety of a Scout Dose Preceding Hepatic Radioembolization with 166Ho Microspheres. J Nucl Med. 2015;56: 817–823. doi:10.2967/jnumed.115.155564
- 419. Ahmed T, Aljaeid B. Preparation, characterization, and potential application of chitosan, chitosan derivatives, and chitosan metal nanoparticles in pharmaceutical drug delivery. Drug Des Devel Ther. 2016;10: 483–507. doi:10.2147/DDDT.S99651
- 420. Cho BC, Kim EH, Choi HJ, Kim JH, Roh JK, Chung HC, et al. A pilot study of trans-arterial injection of 166Holmium-Chitosan complex for treatment of small hepatocellular carcinoma. Yonsei Med J. 2005;46: 799–805. Available: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2810594&tool=pmcentrez&rend ertype=abstract
- 421. Sohn JH, Choi HJ, Lee JT, Lee JD, Kim JH, Moon YM, et al. Phase II study of transarterial holmium-166-chitosan complex treatment in patients with a single, large hepatocellular carcinoma. Oncology. 2009;76: 1–9. doi:10.1159/000173735
- 422. Bujold A, Dawson L a. Stereotactic radiation therapy and selective internal radiation therapy for hepatocellular carcinoma. Cancer Radiother. Elsevier Masson SAS; 2011;15: 54–63. doi:10.1016/j.canrad.2010.11.003

- 423. Bult W, de Leeuw H, Steinebach OM, van der Bom MJ, Wolterbeek HT, Heeren RM a, et al. Radioactive holmium acetylacetonate microspheres for interstitial microbrachytherapy: an in vitro and in vivo stability study. Pharm Res. 2012;29: 827–36. doi:10.1007/s11095-011-0610-7
- 424. Zielinski FW, Kasprzyk M. Synthesis and quality control testing of 32P labeled ion exchange resin microspheres for radiation therapy of hepatic neoplasms. Int J Appl Radiat Isot. 1983;34: 1343–1350. doi:10.1016/0020-708X(83)90026-1
- 425. Aravalli RN, Golzarian J, Cressman ENK. Animal models of cancer in interventional radiology. Eur Radiol. 2009;19: 1049–53. doi:10.1007/s00330-008-1263-8
- 426. Aravalli RN, Steer CJ, Sahin MB, Cressman ENK. Stem cell origins and animal models of hepatocellular carcinoma. Dig Dis Sci. 2010;55: 1241–50. doi:10.1007/s10620-009-0861-x
- 427. Li Y, Tang Z-Y, Hou J-X. Hepatocellular carcinoma: insight from animal models. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. Nature Publishing Group; 2012;9: 32–43. doi:10.1038/nrgastro.2011.196
- 428. Wu L, Tang Z-Y, Li Y. Experimental models of hepatocellular carcinoma: developments and evolution. J Cancer Res Clin Oncol. 2009;135: 969–81. doi:10.1007/s00432-009-0591-7
- 429. Newell P, Villanueva A, Friedman SL, Koike K, Llovet JM. Experimental models of hepatocellular carcinoma. J Hepatol. 2008;48: 858–79. doi:10.1016/j.jhep.2008.01.008
- 430. Leenders M-W, Nijkamp MW, Borel Rinkes IH. Mouse models in liver cancer research: A review of current literature. World J Gastroenterol. 2008;14: 6915–23. doi:10.3748/wjg.14.6915
- 431. Heindryckx F, Colle I, Van Vlierberghe H. Experimental mouse models for hepatocellular carcinoma research. Int J Exp Pathol. 2009;90: 367–86. doi:10.1111/j.1365-2613.2009.00656.x
- 432. Li X, Zhou X, Guan Y, Wang Y-XJ, Scutt D, Gong Q-Y. N-nitrosodiethylamine-induced pig liver hepatocellular carcinoma model: radiological and histopathological studies. Cardiovasc Intervent Radiol. 2006;29: 420–8. doi:10.1007/s00270-005-0099-8
- 433. Tennant BC, Toshkov I a., Peek SF, Jacob JR, Menne S, Hornbuckle WE, et al. Hepatocellular carcinoma in the woodchuck model of hepatitis B virus infection. Gastroenterology. 2004;127: S283–S293. doi:10.1053/j.gastro.2004.09.043
- 434. Cao J, Yang E-B, Su J-J, Li Y, Chow P. The tree shrews: adjuncts and alternatives to primates as models for biomedical research. J Med Primatol. 2003;32: 123–130. doi:10.1034/j.1600-0684.2003.00022.x
- 435. Li Y, Wan D, Wei W, Su J, Cao J, Qiu X, et al. Candidate genes responsible for human hepatocellular carcinoma identified from differentially expressed genes in hepatocarcinogenesis of the tree shrew (Tupaia belangeri chinesis). Hepatol Res. 2008;38: 85–95. doi:10.1111/j.1872-034X.2007.00207.x
- 436. Balemans L, Mattijssen V, Steerenberg P, Van Driel B, De Mulder P, Den Otter W. Locoregional therapy with polyethylene-glycol-modified interleukin-2 of an intradermally growing hepatocellular carcinoma in the guinea pig induces T-cell-mediated. Cancer Immunol Immunother. 1993;37: 7–14. Available: http://link.springer.com/article/10.1007/BF01516936
- 437. Lindsay CK, Sinha CC, Thorgeirsson U. Morphological study of vascular dissemination in a metastatic hepatocellular carcinoma model in the monkey. Hepatology. 1997;26: 1209–1215. doi:10.1002/hep.510260519
- 438. Foster JR. Spontaneous and drug-induced hepatic pathology of the laboratory beagle dog, the

cynomolgus macaque and the marmoset. Toxicol Pathol. 2005;33: 63–74. doi:10.1080/01926230590890196

- 439. Lam HS, Gong Z. Modeling liver cancer using zebrafish: A comparative oncogenomics approach. Cell Cycle. 2006;5: 573–577. doi:10.4161/cc.5.6.2550
- 440. Thalheimer A, Otto C, Bueter M, Illert B, Gattenlohner S, Gasser M, et al. Tumor cell dissemination in a human colon cancer animal model: Orthotopic implantation or intraportal injection? Eur Surg Res. 2009;42: 195–200. doi:10.1159/000205825
- 441. Bagi CM, Andresen CJ. Models of Hepatocellular Carcinoma and Biomarker Strategy. Cancers (Basel). 2010;2: 1441–1452. doi:10.3390/cancers2031441
- 442. Hollingshead MG, Alley MC, Camalier RF, Abbott BJ, Mayo JG, Malspeis L, et al. In vivo cultivation of tumor cells in hollow fibers. Life Sci. 1995;57: 131–141. doi:10.1016/0024-3205(95)00254-4
- 443. Merle P. [Epidemiology, natural history and pathogenesis of hepatocellular carcinoma]. Cancer/Radiothérapie. 2005;9: 452–457. doi:10.1016/j.canrad.2005.09.010
- 444. Gordon IK, Khanna C. Modeling opportunities in comparative oncology for drug development. ILAR J. 2010;51: 214–220. doi:10.1093/ilar.51.3.214
- 445. Kang JH, Mori T, Niidome T, Katayama Y. A syngeneic hepatocellular carcinoma model rapidly and simply prepared using a hydrodynamics-based procedure. Vet J. Elsevier Ltd; 2009;181: 336–339. doi:10.1016/j.tvjl.2008.04.001
- 446. Liu F, Song Y, Liu D. Hydrodynamics-based transfection in animals by systemic administration of plasmid DNA. Gene Ther. 1999;6: 1258–1266. doi:10.1038/sj.gt.3300947
- Walker SL, George J, Hebbard LW. Animal Models of Hepatocellular Carcinoma. In: Qiao L, Li Y,
 Yan X, George J, editors. Molecular Aspects of Hepatocellular Carcinoma. Bentham Science;
 2012. p. pp.116-128. doi:10.2174/97816080507271120101
- 448. Pinho SS, Carvalho S, Cabral J, Reis C a, Gärtner F. Canine tumors: a spontaneous animal model of human carcinogenesis. Transl Res. 2012;159: 165–72. doi:10.1016/j.trsl.2011.11.005
- 449. Cho HR, Choi JW, Kim H-C, Song YS, Kim GM, Son KR, et al. Sprague-Dawley rats bearing McA-RH7777 cells for study of hepatoma and transarterial chemoembolization. Anticancer Res. 2013;33: 223–230. Available: http://ar.iiarjournals.org/content/33/1/223.short
- 450. McLennan G, Bennett SL, Ju S, Babsky A, Bansal N, Shorten ML, et al. Tumor response and apoptosis of N1-S1 rodent hepatomas in response to intra-arterial and intravenous benzamide riboside. Cardiovasc Intervent Radiol. 2012;35: 645–52. doi:10.1007/s00270-011-0140-z
- 451. Li X, Zheng C, Feng G, Zhuo C, Zhao J, Liu X. An implantable rat liver tumor model for experimental transarterial chemoembolization therapy and its imaging. World J Gastroenterol. 2002;8: 1035–1039. Available: http://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v8/i6/1035.htm
- 452. De Minicis S, Kisseleva T, Francis H, Baroni GS, Benedetti A, Brenner D, et al. Liver carcinogenesis: Rodent models of hepatocarcinoma and cholangiocarcinoma. Dig Liver Dis. Editrice Gastroenterologica Italiana; 2013;45: 450–459. doi:10.1016/j.dld.2012.10.008
- 453. Mantovani A. Cancer: an infernal triangle. Nature. 2007;448: 1–2. Available: http://www.nature.com/nature/journal/v448/n7153/full/448547a.html
- 454. Sheu AY, Zhang Z, Omary RA, Larson AC. Invasive catheterization of the hepatic artery for

preclinical investigation of liver-directed therapies in rodent models of liver cancer. Am J Transl Res. 2013;5: 269–278. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3633970/

- 455. Than TT, Sitzmann J V, Li S-S, Lin P-W, Grochow LB. A method for hepatic arterial perfusion studies in the rat. J Surg Res. 1989;47: 251–254.
- 456. Li X, Wang Y-XJ, Zhou X, Guan Y, Tang C. Catheterization of the hepatic artery via the left common carotid artery in rats. Cardiovasc Intervent Radiol. 2006;29: 1073–6. doi:10.1007/s00270-005-8268-3
- 457. Lindell B, Aronsen K-F, Nosslin B, Rothman U. Studies in pharmacokinetics and tolerance of substances temporarily retained in the liver by microsphere embolization. Ann Surg. 1978;187: 95–9. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1396395/
- 458. Qian J, Truebenbach J, Graepler F, Pereira P, Huppert P, Eul T, et al. Application of polylactide-co-glycolide-microspheres in the transarterial chemoembolization in an animal model of hepatocellular carcinoma. World J Gastroenterol. 2003;9: 94–8. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12508359
- 459. Qian J, Vossoughi D, Woitaschek D, Oppermann E, Bechstein WO, Li W, et al. Combined transarterial chemoembolization and arterial administration of Bletilla striata in treatment of liver tumor in rats. World J Gastroenterol. 2003;9: 2676–2680. Available: http://publikationen.stub.unifrankfurt.de/frontdoor/deliver/index/docId/31178/file/2676_eng.pdf
- 460. Shinozaki K, Ebert O, Kournioti C, Tai Y-S, Woo SLC. Oncolysis of multifocal hepatocellular carcinoma in the rat liver by hepatic artery infusion of vesicular stomatitis virus. Mol Ther. 2004;9: 368–76. doi:10.1016/j.ymthe.2003.12.004
- 461. Shinozaki K, Ebert O, Woo SLC. Eradication of advanced hepatocellular carcinoma in rats via repeated hepatic arterial infusions of recombinant VSV. Hepatology. 2005;41: 196–203. doi:10.1002/hep.20536
- 462. Altomonte J, Braren R, Schulz S, Marozin S, Rummeny EJ, Schmid RM, et al. Synergistic antitumor effects of transarterial viroembolization for multifocal hepatocellular carcinoma in rats. Hepatology. 2008;48: 1864–1873. doi:10.1002/hep.22546
- 463. Garin E, Denizot B, Roux J, Noiret N, Lepareur N, Moreau M, et al. Description and technical pitfalls of a hepatoma model and of intra-arterial injection of radiolabelled lipiodol in the rat. Lab Anim. 2005;39: 314–20. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16004691
- 464. Ju S, McLennan G, Bennett SL, Liang Y, Bonnac L, Pankiewicz KW, et al. Technical aspects of imaging and transfemoral arterial treatment of N1-S1 tumors in rats: an appropriate model to test the biology and therapeutic response to transarterial treatments of liver cancers. J Vasc Interv Radiol. SIR; 2009;20: 410–4. doi:10.1016/j.jvir.2008.12.408
- 465. Maruyama H, Matsutani S, Saisho H, Kamiyama N, Mine Y, Hirata T, et al. Sonographic shift of hypervascular liver tumor on blood pool harmonic images with definity: Time-related changes of contrast-enhanced appearance in rabbit VX2 tumor under extra-low acoustic power. Eur J Radiol. 2005;56: 60–65. doi:10.1016/j.ejrad.2005.04.004
- 466. Rous P, Beard J. The progression to carcinoma of virus-induced rabbit papillomas (Shope). J Exp Med. 1935;62: 523–48. Available: http://jem.rupress.org/content/62/4/523.abstract
- 467. Kidd JG, Rous P. A transplantable rabbit carcinoma originating in a virus-induced papilloma and containing the virus in masked or altered form. J Exp Med. 1940;71: 813–38. Available:

http://jem.rupress.org/content/71/6/813.abstract

- 468. Virmani S, Harris KR, Szolc-Kowalska B, Paunesku T, Woloschak GE, Lee FT, et al. Comparison of Two Different Methods for Inoculating VX2 Tumors in Rabbit Livers and Hind Limbs. J Vasc Interv Radiol. 2008;19: 931–936. doi:10.1016/j.jvir.2008.02.019
- 469. Chen JH, Lin YC, Huang YS, Chen TJ, Lin WY, Han KW. Induction of VX2 carcinoma in rabbit liver: comparison of two inoculation methods. Lab Anim. 2004;38: 79–84. doi:10.1258/00236770460734434
- 470. Sun JH, Zhang YL, Nie CH, Yu XB, Xie HY, Zhou L, et al. Considerations for two inoculation methods of rabbit hepatic tumors: Pathology and image features. Exp Ther Med. 2012;3: 386– 390. doi:10.3892/etm.2011.435
- 471. Lee KH, Liapi E, Buijs M, Vossen J, Hong K, Georgiades C, et al. Considerations for Implantation Site of VX2 Carcinoma into Rabbit Liver. J Vasc Interv Radiol. SIR; 2009;20: 113–117. doi:10.1016/j.jvir.2008.09.033
- 472. Pascale F, Ghegediban SH, Bonneau M, Bedouet L, Namur J, Verret V, et al. Modified model of VX2 tumor overexpressing vascular endothelial growth factor. J Vasc Interv Radiol. Elsevier Inc.; 2012;23: 809–817.e2. doi:10.1016/j.jvir.2012.02.003
- 473. Yan ZP, Lin G, Zhao HY, Dong YH. An experimental study and clinical pilot trials on yttrium-90 glass microspheres through the hepatic artery for treatment of primary liver cancer. Cancer. 1993;72: 3210–5. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8242543
- 474. Chamberlain MN, Gray BN, Heggie JCP, Chmiel RL, Bennett RC. Hepatic metastases—a physiological approach to treatment. Br J Surg. 1983;70: 596–598. doi:10.1002/bjs.1800701009
- 475. Yumoto Y, Jinno K, Inatsuki S, Moriwaki S, Hanafusa T, Yumoto E, et al. Treatment of hepatocellular carcinoma by transcatheter hepatic arterial injection of radioactive iodized oil solution. Cancer Chemother Pharmacol. 1992;31: 128–136. Available: http://link.springer.com/article/10.1007/BF00687122
- 476. Roberson PL, Ten Haken RK, McShan DL, McKeever PE, Ensminger WD. Three-dimensional tumor dosimetry for hepatic yttrium-90-microsphere therapy. J Nucl Med. 1992;33: 735–8. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1569483
- 477. Pillai KM, McKeever PE, Knutsen CA, Terrio PA, Prieskorn DM, Ensminger WD. Microscopic analysis of arterial microsphere distribution in rabbit liver and hepatic VX2 tumor. Sel Cancer Ther. 1991;7: 39–48. doi:10.1089/sct.1991.7.39
- 478. Tian M, Lu W, Zhang R, Xiong C, Ensor J, Nazario J, et al. Tumor uptake of hollow gold nanospheres after intravenous and intra-arterial injection: PET/CT study in a rabbit VX2 liver cancer model. Mol Imaging Biol. 2013;15: 614–624. doi:10.1007/s11307-013-0635-x
- 479. Chang M, Lin W. The Effect of Intratumoral Injection of 188 Re-Microspheres on the Hematologic , Hepatic and Renal Functions in the Treatment of VX2 Hepatic Tumor : An Animal Study. Ann Nucl Med Sci. 2007;20: 187–192. Available: http://www.snm.org.tw/revista2006/2006-08/journal9409/pdf/v20n4/AnnNuclMedSCi07-20-187(Chang-2).pdf
- 480. Yu D-S, Chang H, Sommer C-M, Qu W-L, Xu W-J, Yang R-J, et al. Efficacy and safety of percutaneous microwave coagulation therapy followed by (125)I seed brachytherapy for VX2 hepatic tumors in a rabbit model. Exp Ther Med. 2013;6: 159–163. doi:10.3892/etm.2013.1088

- 481. Stribley KV, Gray BN, Chmiel RL, Heggie JCP, Bennett RC. Internal radiotherapy for hepatic metastases I: The homogeneity of hepatic arterial blood flow. J Surg Res. 1983;34: 17–24. doi:10.1016/0022-4804(83)90017-3
- 482. Selwyn RG, Avila-Rodriguez MA, Converse AK, Hampel JA, Jaskowiak CJ, McDermott JC, et al. 18F-labeled resin microspheres as surrogates for 90Y resin microspheres used in the treatment of hepatic tumors: a radiolabeling and PET validation study. Phys Med Biol. 2007;52: 7397–408. doi:10.1088/0031-9155/52/24/013
- 483. Namur J, Wassef M, Millot JM, Lewis AL, Manfait M, Laurent A. Drug-eluting Beads for Liver Embolization: Concentration of Doxorubicin in Tissue and in Beads in a Pig Model. J Vasc Interv Radiol. Elsevier Inc.; 2010;21: 259–267. doi:10.1016/j.jvir.2009.10.026
- 484. Dürager J. Establishing a hepatocellular carcinoma model in pigs. Medical University of Graz. 2010.
- Wang Y, Li X, Zhou X, Tang C. N-Nitrosodiethylamine-Induced Pig Liver Hepatocellular
 Carcinoma Model: MRI with Gd-BOPTA enhancement. Proc Intl Soc Mag Reson Med. 2008;16:
 3816. Available: http://cds.ismrm.org/ismrm-2008/files/03816.pdf
- 486. Adam SJ, Rund L a, Kuzmuk KN, Zachary JF, Schook LB, Counter CM. Genetic induction of tumorigenesis in swine. Oncogene. 2007;26: 1038–45. doi:10.1038/sj.onc.1209892
- 487. Gouillat C, Manganas D, Zoulim F, Vitrey D, Saguier G, Guillaud M, et al. Woodchuck hepatitis virus-induced carcinoma as a relevant natural model for therapy of human hepatoma. J Hepatol. 1997;26: 1324–1330. doi:10.1016/S0168-8278(97)80468-0
- 488. Burke CT, Cullen JM, State A, Gadi S, Wilber K, Rosenthal M, et al. Development of an animal model for radiofrequency ablation of primary, virally induced hepatocellular carcinoma in the woodchuck. J Vasc Interv Radiol. 2011;22: 1613–1618. doi:10.1016/j.jvir.2011.08.020.Development
- Kolthammer JA, Corn DJ, Tenley N, Wu C, Tian H, Wang Y, et al. PET imaging of hepatocellular carcinoma with 18F-fluoroethylcholine and 11C-choline. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2011;38: 1248–1256. doi:10.1007/s00259-011-1743-y
- 490. Unoura M, Kobayashi K, Fukuoka K, Matsushita F, Morimoto H, Oshima T, et al. Establishment of a cell line from a woodchuck hepatocellular carcinoma. Hepatology. 1985;5: 1106–1111. doi:10.1002/hep.1840050608
- 491. Abe K, Kurata T, Yamada K, Okumura H, Shikata T. Establishment and characterization of a woodchuck hepatocellular carcinoma cell line (WH44KA). Jpn J Cancer Res. 1988;79: 342–349. doi:DOI: 10.1111/j.1349-7006.1988.tb01597.x
- 492. Ohnishi S, Aoyama H, Shiga J, Itai Y, Moriyama T, Ishikawa T, et al. Establishment of a new cell line from a woodchuck hepatocellular carcinoma. Hepatology. 1988;8: 104–107. doi:10.1002/hep.1840080121
- 493. Yan RQ, Su JJ, Huang DR, Gan YC, Yang C, Huang GH. Human hepatitis B virus and hepatocellular carcinoma I. Experimental infection of tree shrews with hepatitis B virus. J Cancer Res Clin Oncol. 1996;122: 283–288. Available: http://link.springer.com/article/10.1007/BF01261404
- 494. Yan RQ, Su JJ, Huang DR, Gan YC, Yang C, Huang GH. Human hepatitis B virus and hepatocellular carcinoma II. Experimental induction of hepatocellular carcinoma in tree shrews exposed to hepatitis B virus and aflatoxin B1. J Cancer Res Clin Oncol. 1996;122: 289– 295. Available: http://link.springer.com/article/10.1007/BF01261405

- 495. Marion PL, Van Davelaar MJ, Knight SS, Salazar FH, Garcia G, Popper H, et al. Hepatocellular carcinoma in ground squirrels persistently infected with ground squirrel hepatitis virus. Proc Natl Acad Sci U S A. 1986;83: 4543–4546.
- 496. Lapis K, Bocsi J, Timar F, Lapis P, Thorgeirsson UP. STUDIES ON THE PROLIFERATIVE ACTIVITY OF DIETHYLNITROSAMINE-INDUCED HEPATOCELLULAR CARCINOMAS IN MONKEYS. J Pathol. 1997;181: 439–443. doi:10.1002/(SICI)1096-9896(199704)181:4<439::AID-PATH798>3.0.CO;2-K
- 497. Gyorkey F, Melnick JL, Mirkovic R, Cabral G a, Gyorkey P, Hollinger FB. Experimental carcinoma of liver in macaque monkeys exposed to diethylnitrosamine and hepatitis B virus. J Natl Cancer Inst. 1977;59: 1451–1467.
- 498. Hansen K, Khanna C. Spontaneous and genetically engineered animal models; use in preclinical cancer drug development. Eur J Cancer. 2004;40: 858–80. doi:10.1016/j.ejca.2003.11.031
- 499. Paoloni MC, Khanna C. Comparative Oncology Today. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 2007;37: 1023–1032. doi:10.1016/j.cvsm.2007.08.003
- 500. Khanna C, London C, Vail D, Mazcko C, Hirschfeld S. Guiding the optimal translation of new cancer treatments from canine to human cancer patients. Clin Cancer Res. 2009;15: 5671–7. doi:10.1158/1078-0432.CCR-09-0719
- 501. Paoloni MC, Tandle A, Mazcko C, Hanna E, Kachala S, LeBlanc A, et al. Launching a novel preclinical infrastructure: Comparative oncology trials consortium directed therapeutic targeting of TNFα to cancer vasculature. PLoS One. 2009;4. doi:10.1371/journal.pone.0004972
- 502. Gordon I, Paoloni M, Mazcko C, Khanna C. The comparative oncology trials consortium: Using spontaneously occurring cancers in dogs to inform the cancer drug development pathway. PLoS Med. 2009;6: 2–6. doi:10.1371/journal.pmed.1000161
- 503. Liptak JM, Dernell WS, Withrow SJ. Liver tumors in cats and dogs. Compend Contin Educ Pract Vet. 2004;26: 50–57. Available: http://www.animalcancersurgeon.com/Review_Articles_files/Compendium 2004 liver tumors in cats and dogs.PDF
- 504. Liptak JM, Dernell WS, Monnet E, Powers BE, Bachand AM, Kenney JG, et al. Massive hepatocellular carcinoma in dogs: 48 cases (1992-2002). J Am Vet Med Assoc. 2004;225: 1225–30. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15521445
- 505. Rivera B, Ahrar K, Kangasniemi MM, Hazle JD, Price RE. Canine transmissible venereal tumor: a large-animal transplantable tumor model. Comp Med. 2005;55: 335–343. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16158909
- 506. Michishita M, Ezaki S, Ogihara K, Naya Y, Azakami D, Nakagawa T, et al. Identification of tumor-initiating cells in a canine hepatocellular carcinoma cell line. Res Vet Sci. Elsevier Ltd; 2014;96: 315–322. doi:10.1016/j.rvsc.2014.01.004
- 507. Wollner I, Knutsen C, Smith P, Prieskorn D, Chrisp C, Andrews J, et al. Effects of hepatic arterial yttrium 90 glass microspheres in dogs. Cancer. 1988;61: 1336–1344. doi:10.1002/1097-0142(19880401)61:7<1336::AID-CNCR2820610711>3.0.CO;2-K
- 508. Wollner IS, Knutsen CA, Ullrich KA, Chrisp CE, Juni JE, Andrews JC, et al. Effects of hepatic arterial yttrium-90 microsphere administration alone and combined with regional bromodeoxyuridine infusion in dogs. Cancer Res. 1987;47: 3285–3290. Available:
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3581069

- 509. Rapp HJ, Churchill WHJ, Kronman BS, Rolley RT, Hammond WG, Borsos T. Antigenicity of a new diethylnitrosamine-induced transplantable guinea pig hepatoma: pathology and formation of ascites variant. J Natl Cancer Inst. 1968;41: 1–11. Available: http://jnci.oxfordjournals.org/content/41/1/1.short
- 510. Mirowski M, Rozalski M, Krajewska U, Hanausek M, Wierzbicki R. Expression of 65-kDa oncofetal protein in experimental hepatoma after anticancer therapy. Neoplasma. 1997;44: 85–89.
- 511. Feitsma H, Cuppen E. Zebrafish as a cancer model. Mol Cancer Res. 2008;6: 685–94. doi:10.1158/1541-7786.MCR-07-2167
- 512. Lu J-W, Hsia Y, Tu H-C, Hsiao Y-C, Yang W-Y, Wang H-D, et al. Liver development and cancer formation in zebrafish. Birth Defects Res C Embryo Today. 2011;93: 157–72. doi:10.1002/bdrc.20205
- 513. Vajo JJ, Aikens D a., Ashley L, Poeltl DE, Bailey R a., Clark HM, et al. Facile electroreduction of perrhenate in weakly acidic citrate and oxalate media. Inorg Chem. 1981;20: 3328–3333. doi:10.1021/ic50224a037
- 514. Boschi A, Duatti A, Uccelli L. Development of Technetium-99m and Rhenium-188 Radiopharmaceuticals Containing a Terminal Metal-Nitrido Multiple Bond for Diagnosis and Therapy. Top Curr Chem. 2005;252: 85–115. doi:10.1007/b101225
- 515. Boschi A, Bolzati C, Uccelli L, Duatti A. High-yield synthesis of the terminal 188Re≡N multiple bond from generator-produced [188ReO4]-. Nucl Med Biol. 2003;30: 381–387. doi:10.1016/S0969-8051(03)00002-7
- 516. Baur B, Solbach C, Andreolli E, Winter G, Machulla HJ, Reske SN. Synthesis, radiolabelling and in vitro characterization of the gallium-68-, yttrium-90- and lutetium-177-labelled PSMA Ligand, CHX-A"-DTPA-DUPA-Pep. Pharmaceuticals. 2014;7: 517–529. doi:10.3390/ph7040517
- 517. Price EW, Orvig C. Matching chelators to radiometals for radiopharmaceuticals. Chem Soc Rev. 2014;43: 260–90. doi:10.1039/c3cs60304k
- 518. Nijkeuter M, Huisman M V. Diagnostic methods in pulmonary embolism. Eur J Intern Med. 2005;16: 247–256. doi:10.1016/j.ejim.2005.01.008

Le Carcinome Hépatocellulaire a une incidence mondiale élevée et est associé à un mauvais pronostic. Les traitements curatifs existants ne sont applicables qu'à une minorité de patients. La radiothérapie sélective interne (SIRT) est un traitement palliatif de plus en plus utilisé. Elle consiste à l'injection sélective intra-tumorale de microsphères d'yttrium-90 par infusion intra-artérielle, et repose sur deux étapes : une étape pré-thérapeutique de simulation du traitement avec l'injection de macro-agrégats d'albumines marqués au ^{99m}Tc et le traitement en lui-même. Cependant les caractéristiques de ces deux vecteurs diffèrent et peuvent conduire à des variations de biodistribution et à une dosimétrie approximative.

Ce travail a pour but de développer un vecteur radiothéranostique unique pour la SIRT : les microparticules à base d'amidon (SBMP), afin de pallier aux différents problèmes rencontrés en clinique. L'optimisation du radiomarquage par le ⁶⁸Ga et le ¹⁸⁸Re sous forme de kits lyophilisés prêts-à-l'emploi, a permis d'obtenir une pureté radiochimique > 98 % et > 95 % respectivement. Une étude préliminaire par imagerie TEP/CT in vivo chez le rat, suite à l'injection intra-artérielle des ⁶⁸Ga-SBMP a montré une biodistribution spécifique des microparticules avec plus de 95 % de l'activité retrouvée dans le foie et plus particulièrement dans les tumeurs. Les SBMP offrent plusieurs avantages répondant à différents problèmes actuels et constituent un agent théranostique prometteur pour la SIRT. Une présentation de la SIRT, des différentes microparticules en développement pour la SIRT et des modèles animaux de tumeur hépatique existants seront également développées dans ce travail.

mots-clés : Microparticules à base d'amidon, SBMP, ¹⁸⁸Re, ⁶⁸Ga, Radiothérapie sélective interne, SIRT, radioembolisation, modèles animaux de tumeur hépatique, Carcinome Hépatocellulaire, HCC.

ABSTRACT

The Hepatocellular Carcinoma has a high incidence worldwide and is associated with a bad prognostic. The existing curative treatments can only be apply in a minority of cases. The selective internal radiation therapy (SIRT) is a palliative treatment that is increasingly used. This technique is define by the selective intratumoral injection of yttrium-90 microspheres via intra-arterial infusion. It involves two steps: a pre-therapeutic one for treatment issulation purpose with the injection of serum albumin macroaggregates radiolabeled with ^{99m}Tc and the treatment itself. However the characteristics of these two vectors are different and can lead to variations in biodistribution and approximate dosimetry.

This works aims to develop a unique radiotheranostic vector for the SIRT: the starch-based microparticles (SBMP), in order to overcome the different currents clinical problems. The optimization of the radiolabeling by the ⁶⁸Ga and the ¹⁸⁸Re in the form of ready-to-use radiolabeling kits allowed to obtain a radiochemical purity > 98 % and > 95 % respectively. A preliminary in vivo study by PET/CT imaging in rat, following the intra-arterial injection of ⁶⁸Ga-SBMP displayed a specific biodistribution of the microparticles with more than 95 % of the activity found in the liver and mostly in the tumors. The SBMP offer several advantages that answer different current issues and are a promising theranostic agent for the SIRT. A presentation of the SIRT, the different microparticles in development and the existing animal models of hepatic tumor will also be developed in this work.

keywords : Starch-Based microparticles; SBMP; ¹⁸⁸Re; ⁶⁸Ga; Selective Internal Radiation therapy; SIRT; radioembolization; hepatic tumoral animal model; Hepatocellular Carcinoma; HCC.



Présidence de l'université 40 rue de rennes – BP 73532 49035 Angers cedex Tél. 02 41 96 23 23 | Fax 02 41 96 23 00

ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussigné(e) Elise VERGER

déclare être pleinement conscient(e) que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiée sur toutes formes de support, y compris l'internet, constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce rapport ou mémoire.

signé par l'étudiant(e) le 14 / 10 / 2016



Cet engagement de non plagiat doit être signé et joint à tous les rapports, dossiers, mémoires.

Présidence de l'université 40 rue de rennes – BP 73532 49035 Angers cedex Tél. 02 41 96 23 23 | Fax 02 41 96 23 00





Thèse de Doctorat

Elise VERGER

Microparticules à base d'amidon (SBMP) comme agent théranostique unique pour la radiothérapie sélective interne des tumeurs hépatiques : radiomarquage au gallium-68 et rhénium-188 et étude préliminaire *in vivo*

Starch-Based Microparticles (SBMP) as unique theragnostic agent for the selective internal radiation therapy of hepatic tumours: radiolabeling and preliminary *in vivo* study

Résumé

Le Carcinome Hépatocellulaire a une incidence mondiale élevée et est associé à un mauvais pronostic. Les traitements curatifs existants ne sont applicables qu'à une minorité de patients. La radiothérapie sélective interne (SIRT) est un traitement palliatif de plus en plus utilisé. Elle consiste à l'injection sélective intra-tumorale de microsphères d'yttrium-90 par infusion intra-artérielle, et repose sur deux étapes : une étape pré-thérapeutique de simulation du traitement avec l'injection de macroagrégats d'albumines marqués au ^{99m}Tc et le traitement en lui-même. Cependant les caractéristiques de ces deux vecteurs diffèrent et peuvent conduire à des variations de biodistribution et à une dosimétrie approximative.

Ce travail a pour but de développer un vecteur radiothéranostique unique pour la SIRT : les microparticules à base d'amidon (SBMP), afin de pallier aux différents problèmes rencontrés en clinique. L'optimisation du radiomarquage par le ⁶⁸Ga et le ¹⁸⁸Re sous forme de kits lyophilisés prêts-à-l'emploi, a permis d'obtenir une pureté radiochimique > 98 % et > 95 % respectivement. Une étude préliminaire par imagerie TEP/TDM in vivo chez le rat, suite à l'injection intraartérielle des 68Ga-SBMP a montré une biodistribution spécifique des microparticules avec plus de 95 % de l'activité retrouvée dans le foie et plus particulièrement dans les tumeurs. Les SBMP offrent plusieurs avantages répondant à différents problèmes actuels et constituent un agent théranostique prometteur pour la SIRT. Une présentation de la SIRT, des différentes microparticules en développement pour la SIRT et des modèles animaux de tumeur hépatique existants seront également développées dans ce travail.

Mots clés

Microparticules à base d'amidon, SBMP, ¹⁸⁸Re, ⁶⁸Ga, Radiothérapie sélective interne, SIRT, radioembolisation, modèles animaux de tumeur hépatique, Carcinome Hépatocellulaire, CHC

Abstract

The Hepatocellular Carcinoma has a high incidence worldwide and is associated with a bad prognostic. The existing curative treatments can only be apply in a minority of cases. The selective internal radiation therapy (SIRT) is a palliative treatment that is increasingly used. This technique is define by the selective intratumoral injection of yttrium-90 microspheres via intra-arterial infusion. It involves two steps: a pre-therapeutic one for treatment simulation purpose with the injection of serum albumin macroaggregates radiolabeled with ^{99m}Tc and the treatment itself. However the characteristics of these two vectors are different and can lead to variations in biodistribution and approximate dosimetry.

This works aims to develop a unique radiotheranostic vector for the SIRT: the starch-based microparticles (SBMP), in order to overcome the different currents clinical problems. The optimization of the radiolabeling by the ⁶⁸Ga and the ¹⁸⁸Re in the form of ready-to-use radiolabeling kits allowed to obtain a radiochemical purity > 98 % and > 95 % respectively. A preliminary in vivo study by PET/CT imaging in rat, following the intra-arterial injection of ⁶⁸Ga-SBMP displayed a specific biodistribution of the microparticles with more than 95 % of the activity found in the liver and mostly in the tumors. The SBMP offer several advantages that answer different current issues and are a promising theranostic agent for the SIRT. A presentation of the SIRT, the different microparticles in development and the existing animal models of hepatic tumor will also be developed in this work.

Key Words

Starch-Based microparticles; SBMP; ¹⁸⁸Re; ⁶⁸Ga; Selective Internal Radiation therapy; SIRT; radioembolization; hepatic tumoral animal model; Hepatocellular Carcinoma; HCC