



**HAL**  
open science

# Élaboration d'un protocole de recherche impliquant la personne humaine : intérêt de la TEP au [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-RGD dans la maladie du Rendu-Osler

Florie Daverton

► **To cite this version:**

Florie Daverton. Élaboration d'un protocole de recherche impliquant la personne humaine : intérêt de la TEP au [  $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-RGD dans la maladie du Rendu-Osler. Sciences pharmaceutiques. 2022. dumas-03847086

**HAL Id: dumas-03847086**

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03847086v1>

Submitted on 10 Nov 2022

**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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

MÉMOIRE  
DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPECIALISÉES  
DE PHARMACIE HOSPITALIERE

Soutenu le 9 septembre 2022

Par Mme DAVERTON Florie

Née le 12 juillet 1995

Conformément aux dispositions de l'Arrêté du 04 octobre 1988  
tenant lieu de

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN  
PHARMACIE

----oOo----

**TITRE :**

**ELABORATION D'UN PROTOCOLE DE RECHERCHE IMPLIQUANT  
LA PERSONNE HUMAINE : INTERET DE LA TEP AU [<sup>68</sup>GA]GA-RGD  
DANS LA MALADIE DE RENDU-OSLER**

----oOo----

**JURY :**

Président : M. le Professeur Benjamin GUILLET

Membres : M. le Professeur Jean-Robert HARLE

Mme le Docteur Sophie LANCELOT

Mme le Docteur Solange LAO

M. le Docteur Philippe GARRIGUE, directeur de thèse

27 Boulevard Jean Moulin – 13385 MARSEILLE Cedex 05  
Tel. : 04 91 83 55 00 – Fax : 04 91 80 26 12

**ADMINISTRATION :**

<i>Doyen :</i>	Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
<i>Vice-Doyens :</i>	M. Jean-Paul BORG, M. François DEVRED, M. Pascal RATHELOT
<i>Chargés de Mission :</i>	Mme Pascale BARBIER, Mme Alexandrine BERTAUD, M. David BERGE-LEFRANC, Mme Manon CARRE, Mme Caroline DUCROS, M. Philippe GARRIGUE, M. Guillaume HACHE, M. Thierry TERME
<i>Conseiller du Doyen :</i>	M. Patrice VANELLE
<i>Doyens honoraires :</i>	M. Patrice VANELLE, M. Pierre TIMON-DAVID,
<i>Professeurs émérites :</i>	M. José SAMPOL, M. Athanassios ILIADIS, M. Philippe CHARPIOT, M. Riad ELIAS
<i>Professeurs honoraires :</i>	M. Guy BALANSARD, M. Yves BARRA, Mme Claudette BRIAND, M. Jacques CATALIN, Mme Andrée CREMIEUX, M. Gérard DUMENIL, M. Alain DURAND, Mme Danielle GARÇON, M. Maurice JALFRE, M. Joseph JOACHIM, M. Maurice LANZA, M. Patrick REGLI, M. Jean-Claude SARI
<i>Chef des Services Administratifs :</i>	Mme Chloé SIMON
<i>Chef de Cabinet :</i>	Mme Aurélie BELENGUER
<i>Responsable de la Scolarité :</i>	Mme Nathalie BESNARD

**DEPARTEMENT BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE**

Responsable : Professeur Philippe PICCERELLE

**PROFESSEURS**

BIOPHYSIQUE

M. Vincent PEYROT  
M. Hervé KOVACIC  
M. François DEVRED

GENIE GENETIQUE ET BIOINGENIERIE

M. Christophe DUBOIS

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,  
BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE

M. Philippe PICCERELLE

## MAITRES DE CONFERENCES

BIOPHYSIQUE

Mme Odile RIMET-GASPARINI  
Mme Pascale BARBIER  
Mme Manon CARRE  
M. Gilles BREUZARD  
Mme Alessandra PAGANO

GENIE GENETIQUE ET BIOTECHNOLOGIE

M. Eric SEREE-PACHA  
Mme Véronique REY-BOURGAREL

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,  
BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE

M. Pierre REBOUILLON  
M. Emmanuel CAUTURE  
Mme Véronique ANDRIEU  
Mme Marie-Pierre SAVELLI

BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE ET BIOTHERAPIES  
PHARMACO ECONOMIE, E-SANTE

M. Jérémy MAGALON  
Mme Carole SIANI  
Mme Muriel MASI

## ENSEIGNANT CDI

ANGLAIS

Mme Angélique GOODWIN

## A.H.U.

PHARMACOTECHNIE

Mme Mélanie VELIER

## DEPARTEMENT BIOLOGIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Françoise DIGNAT-GEORGE

## PROFESSEURS

BIOLOGIE CELLULAIRE

M. Jean-Paul BORG

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Françoise DIGNAT-GEORGE  
Mme Laurence CAMOIN-JAU  
Mme Florence SABATIER-MALATERRE  
Mme Nathalie BARDIN  
M. Romaric LACROIX

MICROBIOLOGIE

M. Jean-Marc ROLAIN  
M. Philippe COLSON

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET  
ZOOLOGIE

Mme Nadine AZAS-KREDER

## MAITRES DE CONFERENCES

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE

M. Edouard LAMY  
Mme Alexandrine BERTAUD  
Mme Claire CERINI  
Mme Edwige TELLIER  
M. Stéphane POITEVIN  
Mme Sandra GHAYAD

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Aurélie LEROYER  
Mme Sylvie COINTE

MICROBIOLOGIE

Mme Anne DAVIN-REGLI  
Mme Véronique ROUX  
M. Fadi BITTAR  
Mme Isabelle PAGNIER  
Mme Sophie EDOUARD  
M. Seydina Mouhamadou DIENE

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE

Mme Carole DI GIORGIO  
M. Aurélien DUMETRE  
Mme Magali CASANOVA  
Mme Anita COHEN

BIOLOGIE CELLULAIRE  
BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE

Mme Anne-Catherine LOUHMEAU  
Mme Alexandra WALTON

## A.H.U.

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Amandine BONIFAY

## MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)

PRATIQUE OFFICINALE

Mme Emmanuelle TONNEAU-PFUG

## DEPARTEMENT CHIMIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Patrice VANELLE

## PROFESSEURS

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION

Mme Catherine BADENS

CHIMIE PHYSIQUE - PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES

M. David BERGE-LEFRANC

CHIMIE THERAPEUTIQUE - CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE

M. Pascal RATHELOT  
M. Maxime CROZET

CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE

M. Patrice VANELLE  
M. Thierry TERME

## MAITRES DE CONFERENCES

BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE

Mme Anne FAVEL  
M. Quentin ALBERT

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION

Mme Catherine DEFOORT  
M. Alain NICOLAY  
Mme Estelle WOLFF  
Mme Elise LOMBARD  
Mme Camille DESGROUAS  
M. Charles DESMARCHELIER  
M. Mathieu CERINO

CHIMIE PHYSIQUE - PREVENTION DES RISQUES ET  
NUISANCES TECHNOLOGIQUES

M. Duje BURIC  
M. Pascal PRINDERRE

CHIMIE THERAPEUTIQUE - CHIMIE MINERALE ET  
STRUCTURALE

Mme Sandrine ALIBERT  
Mme Caroline DUCROS  
M. Marc MONTANA  
Mme Manon ROCHE  
Mme Fanny MATHIAS

CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE  
HYDROLOGIE

M. Armand GELLIS  
M. Christophe CURTI  
Mme Julie BROGGI  
M. Nicolas PRIMAS  
M. Cédric SPITZ  
M. Sébastien REDON

PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE

Mme Valérie MAHIOU-LEDDET  
Mme Sok Siya BUN  
Mme Béatrice BAGHDIKIAN  
M. Elnur GARAYEV

## MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION  
CHIMIE PHYSIQUE - PREVENTION DES RISQUES ET  
NUISANCES TECHNOLOGIQUES

M. Cyril PUJOL

DROIT ET ETHIQUE

Mme Laurie PAHUS

GESTION PHARMACEUTIQUE, PHARMACOECONOMIE  
ET ETHIQUE PHARMACEUTIQUE OFFICINALE, DROIT ET  
COMMUNICATION PHARMACEUTIQUES A L'OFFICINE ET  
GESTION DE LA PHARMAFAC

Mme Félicia FERRERA

DISPOSITIFS MEDICAUX

Mme Valerie MINETTI-GUIDONI

**DEPARTEMENT MEDICAMENT ET SECURITE SANITAIRE**

Responsable : Professeur Benjamin GUILLET

**PROFESSEURS**

PHARMACIE CLINIQUE	M. Stéphane HONORÉ
PHARMACODYNAMIE	M. Benjamin GUILLET
TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	M. Bruno LACARELLE M. Joseph CICCOLINI
TOXICOLOGIE GENERALE	Mme Caroline SOLAS-CHESNEAU

**MAITRES DE CONFERENCES**

PHARMACIE CLINIQUE	M. Florian CORREARD Mme Marie-Anne ESTEVE
PHARMACODYNAMIE	M. Guillaume HACHE Mme Ahlem BOUHLEL M. Philippe GARRIGUE
PHYSIOLOGIE	Mme Sylviane LORTET
TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	Mme Raphaëlle FANCIULLINO Mme Florence GATTACECCA Mme Anne RODALLEC M. Nicolas FABRESSE
TOXICOLOGIE GENERALE	M. Pierre-Henri VILLARD

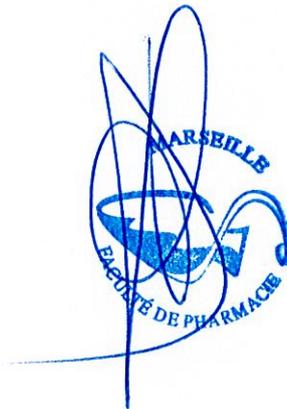
**A.H.U.**

PHYSIOLOGIE / PHARMACOLOGIE	Mme Anaïs MOYON M. Vincent NAIL
-----------------------------	------------------------------------

## CHARGES D'ENSEIGNEMENT A LA FACULTE

Mme Valérie AMIRAT-COMBRALIER, Pharmacien-Praticien hospitalier  
M. Pierre BERTAULT-PERES, Pharmacien-Praticien hospitalier  
Mme Marie-Hélène BERTOCCHIO, Pharmacien-Praticien hospitalier  
Mme Martine BUES-CHARBIT, Pharmacien-Praticien hospitalier  
M. Nicolas COSTE, Pharmacien-Praticien hospitalier  
Mme Sophie GENSOLLEN, Pharmacien-Praticien hospitalier  
M. Sylvain GONNET, Pharmacien titulaire  
Mme Florence LEANDRO, Pharmacien adjoint  
M. Stéphane PICHON, Pharmacien titulaire  
M. Patrick REGGIO, Pharmacien conseil, DRSM de l'Assurance Maladie  
Mme Clémence TABELLE, Pharmacien-Praticien attaché  
M. Badr Eddine TEHHANI, Pharmacien – Praticien hospitalier  
M. Joël VELLOZZI, Expert-Comptable

Mise à jour le 13 décembre 2021



**LE DOYEN  
F. DIGNAT-GEORGE**

## **Remerciements**

**Monsieur le Professeur Benjamin GUILLET,**

Vous me faites l'honneur de présider ce jury, soyez assuré de ma reconnaissance et de mon plus grand respect.

**Monsieur le Docteur Philippe GARRIGUE,**

Je te remercie d'avoir accepté de diriger cette thèse et de m'avoir proposé ce sujet. Merci pour ton accompagnement, tes conseils et ton aide. Reçois toute ma gratitude.

**Monsieur le Professeur Jean-Robert HARLE,**

Vous avez accepté de faire partie de mon jury, j'en suis honorée et vous exprime mes sincères remerciements.

**Madame le Docteur Sophie LANCELOT,**

Je vous suis très reconnaissante d'avoir accepté de faire partie de mon jury. Votre expérience m'apportera un regard éclairé sur mon travail. Je vous remercie sincèrement.

**Madame le Docteur Solange LAO,**

Je te remercie infiniment pour ta présence dans mon jury. Merci de m'avoir fait découvrir ce beau métier et de m'avoir soutenue tout au long de cet internat. Merci pour ta bienveillance et tant d'autres choses.

**A toutes les équipes rencontrées durant mon internat,**

Aux pharmaciens, Marie-Dominique GIOVACCHINI, Virginie ALARY, Vincent NAIL, Anaïs MOYON, Françoise DE CROZALS, Florence TABARY, Julie COUSSIROU : Merci de m'avoir transmis vos connaissances.

### **A mes co-internes pharmaciens et médecins,**

A Pauline, pour ce tout premier semestre à Toulon. Je n'aurais pu rêver meilleure voisine de chambre pour déguster tes Canistrelli et discuter le soir. Ton soutien durant cet internat a été pour moi d'une aide précieuse.

A Leila, pour m'avoir accompagnée sportivement durant ce semestre arlésien et toulonnais. Merci pour tous ces bons moments.

A Alexis et Mathilde, pour cette complicité incroyable et notre soutien permanent durant ce long semestre 2020. Nos réunions gastronomiques font partie de mes meilleurs souvenirs marseillais.

A mes copines du DESC, Anouck, Claudia, Eloise et Oriane, parce que Saclay paraissait presque sympa avec vous. N'oubliez pas qu'on remet ça l'an prochain...

A Adrien et Thibaut, pour ce semestre en bombe à Avignon. Sans vous « 5 épis » ne serait pas un aussi bon souvenir.

### **A mes amis de la fac,**

A Oriane, mon kiki, ma dentiste préférée, pour ton soutien infaillible durant cette dure année qu'est la PACES. Merci d'avoir rendu cette période meilleure.

A mon petit gang, Cédric, Coline, Delphine et Justine, pour ces longues années d'études à vos côtés. Merci d'avoir embelli ces journées sur les bancs de la fac, d'avoir été là autant dans les moments cruciaux des partiels que pour les nombreux restos et soirées.

### **A mes amis de longue date,**

A Arno, Farouk, Maeva et Marine, pour votre amitié et vos ondes positives depuis le lycée. Merci d'être toujours présents à mes côtés.

### **A mes meilleurs amis, mes Safis,**

A Laura, Matthieu, Olivier, Thibaut, Yohann et Younès, mon sang de la veine. Merci pour toutes ces années passées à rigoler et se prendre la tête pour organiser nos voyages. Merci de supporter mon caractère et mes goûts musicaux marseillais. Merci d'être toujours là et d'avoir résisté aux années et à la distance.

**A ma famille,**

A Jocelyne, pour ta grande générosité, je pense à toi malgré la distance.

A mes oncles et tantes, pour vos encouragements et votre soutien inconditionnel.

A Cathy, pour tes nombreux petits plats réconfortants et tes encouragements pendant mes révisions, un grand merci.

A mes sœurs, pour votre patience avec votre petite sœur pipelette. Merci de m'épauler depuis tout ce temps.

A mes parents, Papa, Maman, pour tout l'amour que vous me portez. Merci d'être au quotidien présent pour votre « bébé » et de m'avoir accompagnée durant mes études. Merci pour votre écoute, notamment lorsque je suis « trop deg' ». Merci pour votre confiance éternelle, je vous aime.

A mon amour, Antoine, Toinou, mon bidou, merci pour ton soutien sans faille mais surtout merci de me faire rire tous les jours depuis ces 6 ans. Je ne saurais exprimer à quel point ta présence m'a aidée et réconfortée durant ces années. A nos futurs voyages et nos aventures, je t'aime (mh mh).

*A papi et mamie, j'espère que vous êtes fiers de votre pie.*

*« L'Université n'entend donner aucune approbation, ni improbation aux opinions émises dans les thèses. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs. »*

## Table des matières

<b>Liste des abréviations :</b> .....	<b>1</b>
<b>Liste des figures :</b> .....	<b>3</b>
<b>Liste des tableaux :</b> .....	<b>4</b>
<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>5</b>
<b>Partie I : Généralités sur la maladie de Rendu-Osler</b> .....	<b>7</b>
<b>A. Épidémiologie</b> .....	<b>7</b>
<b>B. Physiopathologie</b> .....	<b>8</b>
1. Génétique.....	8
2. Clinique.....	9
3. Corrélation génotype-phénotype.....	11
<b>C. Diagnostic</b> .....	<b>12</b>
1. Clinique : les critères de Curaçao.....	12
2. Biologique.....	13
3. Génétique.....	13
4. Biomarqueurs vasculaires.....	13
5. Imagerie morphologique.....	14
<b>D. Stratégies thérapeutiques</b> .....	<b>16</b>
1. Traitement général.....	16
2. Traitement ciblant l'angiogenèse.....	17
<b>Partie II : Angiogenèse</b> .....	<b>20</b>
<b>A. Généralités</b> .....	<b>20</b>
1. Phase d'activation.....	21
2. Phase de maturation.....	21
<b>B. Superfamille du TGF-<math>\beta</math></b> .....	<b>22</b>
1. Composition.....	22
2. Anomalies de l'angiogenèse identifiées à l'origine de la maladie de Rendu-Osler.....	24
<b>C. Les intégrines</b> .....	<b>25</b>
1. Généralités.....	25
2. Rôles dans l'angiogenèse.....	26
3. Intégrines $\alpha\beta3$ : structure, fonction et distribution.....	26
<b>Partie III : Imagerie nucléaire de l'angiogenèse</b> .....	<b>28</b>
<b>A. Tomographie par émission de positons (TEP)</b> .....	<b>28</b>

1. Généralités.....	28
2. Désintégration $\beta^+$ .....	29
3. Principe de détection par caméra TEP .....	29
4. Radioéléments utilisables en TEP .....	30
<b>B. Le gallium-68.....</b>	<b>31</b>
1. Propriétés chimiques, physiques et nucléaires .....	31
2. Générateur $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ .....	32
3. Générateur GalliaPharm <sup>®</sup> .....	34
4. La complexation du gallium-68 .....	35
<b>C. Radiotraceurs ciblant les intégrines <math>\alpha v \beta 3</math> dans l'angiogenèse.....</b>	<b>39</b>
1. Historique .....	39
2. Imagerie RGD et RIPH .....	44
<b>Partie IV : Élaboration d'un protocole dans le cadre d'un PHRC national .....</b>	<b>49</b>
<b>A. Réglementation des RIPH dans le cas d'un médicament radiopharmaceutique.....</b>	<b>49</b>
1. Structure d'un essai clinique .....	49
2. Législation des RIPH .....	51
3. Exigences pour un médicament radiopharmaceutique expérimental.....	54
4. Le Dossier du Médicament Expérimental (DME) .....	56
<b>B. Présentation de notre projet .....</b>	<b>61</b>
1. Objectifs de la recherche .....	61
2. Plan expérimental .....	62
3. Chronologie lors des différentes visites .....	64
4. Rôle de la radiopharmacie dans le projet .....	65
<b>C. Analyses des données .....</b>	<b>68</b>
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>69</b>
<b>Références bibliographiques : .....</b>	<b>70</b>

## Liste des abréviations :

[<sup>18</sup>F]F : Fluor-18  
[<sup>18</sup>F]F-FDG : Fluorodésoxyglucose  
[<sup>68</sup>Ga]Ga : Gallium-68  
[<sup>68</sup>Ge]Ge : Germanium-68  
[<sup>68</sup>Zn]Zn : Zinc-68  
[<sup>99</sup>Tc]Tc : Technétium-99  
[<sup>177</sup>Lu]Lu : Lutétium-177  
AAC : Autorisation Accès Compassionnel  
ALARA : *As Low As Reasonably Achievable*  
ALK1 : *Activin A receptor type II-like Kinase 1*  
AMM : Autorisation de Mise sur le Marché  
ANG-2 : Angiopoïétine-2  
ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament  
AP-HM : Assistance Publique – Hôpitaux de Marseille  
ARS : Agence Régionale de Santé  
ASN : Agence de Sûreté Nucléaire  
ATC : Agents Transmissibles Conventionnels  
ATNC : Agents Transmissibles Non Conventionnels  
AV : Anomalies Vasculaires  
BMP9 : *Bone Morphogenetic Protein 9*  
CCPPRB : Comité Consultatif de Protection des Personnes dans la Recherche Biomédicale  
CIOMS : *Council for International Organizations of Medical Sciences*  
CIPR : Commission Internationale de Protection Radiologique  
CLIN : Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales  
CPP : Comité de Protection des Personnes  
CSP : Code de la Santé Publique  
CTIS : *Clinical Trial Information System*  
DL50 : Dose Létale pour 50% des sujets  
DML : Dose Maximale tolérée  
DME : Dossier du Médicament Expérimental  
DOTA : Acide 1, 4, 7, 10-tétraazacyclododecane-1,4,7,10-tétraacétique  
EANM : *The European Association of Nuclear Medicine*  
EDTA : Éthylènediaminetétraacétique  
EMA : *European Medicines Agency*  
FGF : *Fibroblast Growth factors*  
GDF2 : *Growth Differentiation Factor 2*  
HAS : Haute Autorité de Santé  
HBED : Acide N,N'-bis(2-hydroxybenzyl)éthylènediamine-N,N'-diacétique  
HCL : Acide Chlorhydrique  
HHT : *Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia*  
ICH : *International council for Harmonisation of technical requirements for pharmaceuticals for Human use*  
IMPD : *Investigational Medicinal Product Dossier*  
IRM : Imagerie par Résonance Magnétique  
IRSN : Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire  
MADH4 : *Mother Against Decapentaplegic Homolog 4*  
MAV : Malformation Artério-Veineuse  
MEC : Matrice Extracellulaire

MIGEAC : Missions d'Intérêt Général Et d'Aide à la Contractualisation  
MMPs : Métalloprotéinases Matricielles  
MRO : Maladie de Rendu-Osler  
MRP : Médicament Radiopharmaceutique  
MRPE : Médicament Radiopharmaceutique Expérimental  
NO : Oxyde Nitrique  
NOAEL : *Non Observable Adverse Effect Level*  
NOTA : Acide 1, 4, 7, 10-triazacyclododecane-1,4,7- triacétique  
PDGF : *Platelet-Derived Growth Factor*  
PHRC : Programme Hospitalier de Recherche Clinique  
PNDS : Protocole National de Diagnostic et de Soins  
PUI : Pharmacie à Usage Intérieur  
RGD : Arginine-glycine-acide aspartique  
RIPH : Recherches Impliquant la Personne Humaine  
sENG : Endogline soluble  
SUV : *Standardized Uptake Value*  
TACN : 1,4,7 –triazacyclononane  
TDM : Tomodensitométrie  
TEP : Tomographie par Emission de Positons  
VEGF : *Vascular Endothelial Growth Factor*

## Liste des figures :

Figure 1. Dissémination nationale de la maladie de Rendu-Osler (16).....	7
Figure 2. Schéma des différentes mutations identifiées dans la maladie de Rendu-Osler (26) .	9
Figure 3. Téliangiectasies de la muqueuse nasale entraînant d'importants saignements d'après les données du Pr LACCOURREYE, service ORL au CHU d'Angers .....	9
Figure 4. Téliangiectasies cutanéomuqueuses dans la maladie de Rendu-Osler (30).....	10
Figure 5. Représentation schématique de MAV (31).....	10
Figure 6. MAV pulmonaire au scanner thoracique (50) .....	15
Figure 7. Les différentes phases de l'angiogenèse et les facteurs impliqués (67) .....	20
Figure 8. Voie de signalisation du TGF- $\beta$ (76) .....	23
Figure 9. Voie des BMP (75) .....	23
Figure 10. Voies de signalisation TGF- $\beta$ et BMP (73) .....	24
Figure 11. Voies de signalisation de la superfamille TGF- $\beta$ impliquées dans la MRO (77) ...	24
Figure 12. Balance angiogénique dans la maladie de Rendu-Osler (75) .....	25
Figure 13. Exemple de structure d'une intégrine : l'intégrine $\alpha\beta3$ .....	26
Figure 14. Expression de la séquence RGD par les cellules endothéliales (82) .....	27
Figure 15. Schéma représentant le principe d'un examen TEP (86) .....	28
Figure 16. Équation générale désintégration $\beta^+$ .....	29
Figure 17. Réaction d'annihilation entre un positon et un électron (92).....	29
Figure 18. Principe de la caméra TEP (93) .....	30
Figure 19. Schéma de désintégration du $^{68}\text{Ga}$ (95) .....	32
Figure 20. Régénération d'un générateur de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ (98).....	33
Figure 21. Générateur GalliaPharm <sup>®</sup> (100) .....	34
Figure 22. Exemple d'un chélateur bifonctionnel, ici le DOTA (104) .....	36
Figure 23. Structures de l'HBED (1) et l'HBED-CC (2).....	37
Figure 24. Structure du DTPA .....	37
Figure 25. Structure du DOTA.....	38
Figure 26. Structure du NOTA et du NODAGA.....	39
Figure 27. Structure du c(RGDyK) et c(RGDfK) (108) .....	39
Figure 28. Image d'une métastase (T) et l'accumulation du traceur dans la vessie (B) (109).	40
Figure 29. Comparaison de différents schémas d'absorption en TEP au [ $^{18}\text{F}$ ]F-FDG et au [ $^{18}\text{F}$ ]F-Galacto-RGD (112).....	41
Figure 30. Structure du [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-NODAGA-RGD (113).....	41

Figure 31. Carte polaire de l'absorption du [ <sup>68</sup> Ga]Ga-NODAGA-RGD : absorption accrue dans la zone hypo-perfusée (115).....	42
Figure 32. Image de TEP au [ <sup>68</sup> Ga]Ga-NODAGA-RGD chez un patient, après injection du radiotracer à 13 minutes (a), 40 minutes (b) et 76 minutes (c) (118).....	42
Figure 33. Structure de E[c(RGDfK)] <sub>2</sub> (108).....	43
Figure 34. Imagerie TEP avec un peptide RGD monomère (a), dimère (b) et tétramère (c) (120) .....	44
Figure 35. Comparaison de la distribution de 2 traceurs chez des patients atteints de polyarthrite rhumatoïde et arthrose .....	45
Figure 36. Imagerie d'une MAV dans la partie distale du pied après injection de [ <sup>68</sup> Ga]Ga-RGD <sub>2</sub> (130).....	48
Figure 37. Chronologie des différentes phases d'un essai clinique (132) .....	50
Figure 38. Récapitulatif des démarches réglementaires en fonction du projet (133).....	51
Figure 39. Schéma expérimental de l'étude.....	62

### **Liste des tableaux :**

Tableau 1. Pourcentage de MAV dans la MRO de type 1 et MRO de type 2 d'après 6 études étudiant le génotype/phénotype d'après Karlsson T. et al, 2018 (38).....	12
Tableau 2. Principaux radioéléments utilisables en TEP .....	30
Tableau 3. Résumé des études en cours actives, adapté du site ClinicalTrials.gov.....	46
Tableau 4. Éléments à renseigner pour la substance active du DME.....	57
Tableau 5. Éléments à renseigner pour le produit fini du DME.....	58

## INTRODUCTION

La Maladie de Rendu-Osler (MRO), également connue à l'international sous le nom de « *Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia* » (HHT), est une maladie rare décrite pour la première fois par le docteur Henri Jules Rendu en 1886 (1). Plus tard, au début du XX<sup>ème</sup> siècle, les docteurs William Osler et Frederick Parkes Weber complèteront la description de cette maladie (2).

La MRO est due à un trouble du développement des vaisseaux sanguins par une perturbation de l'angiogenèse et de l'homéostasie. Les principales manifestations cliniques sont l'apparition de télangiectasies par dilatation des vaisseaux de petits calibres au niveau des muqueuses ou de la peau et la présence de malformations artério-veineuses (MAV) au niveau des organes.

En oncologie, les facteurs régulant l'angiogenèse (VEGF : *Vascular Endothelial Growth Factor*) constituent une cible thérapeutique bien établie depuis maintenant une quinzaine d'années (3). En effet, le bevacizumab, anticorps monoclonal anti-VEGF, est indiqué pour son action anti-angiogénique dans certains cancers comme le cancer du sein, de l'ovaire ou colorectal métastatique en empêchant la croissance tumorale (4–6). Cependant, pour certaines pathologies vasculaires comme la MRO, le ciblage de l'angiogenèse reste encore peu développé.

Actuellement, l'utilisation d'anti-angiogéniques dans la MRO à titre thérapeutique a été réalisée dans certaines recherches impliquant la personne humaine (RIPH) : le bevacizumab semble être bénéfique dans les MAV hépatobiliaires ou encore digestives (7,8).

Cependant, aucun biomarqueur robuste n'existe pour stratifier et orienter l'emploi de ces anti-angiogéniques dans la MRO. Les recommandations actuelles sont basées sur l'utilisation du scanner ou d'imagerie par résonance magnétique (IRM), dont les limites sont notamment une sensibilité moindre et une vérification indirecte et tardive du processus angiogénique (9).

Nous avons posé l'hypothèse que disposer d'une imagerie moléculaire isotopique de l'activité angiogénique permettrait de mieux orienter la stratégie thérapeutique et s'assurer de la réponse ou non au traitement anti-angiogénique.

Le [<sup>68</sup>Ga]Ga-NODAGA-RGD, est un médicament radiopharmaceutique expérimental pour la tomographie par émission de positons (TEP), qui cible avec une haute affinité les intégrines  $\alpha\beta_3$ , intégrines jouant un rôle déterminant dans l'activation angiogénique et dont la surexpression a été mise en évidence dans les MAV par immunohistochimie (10).

Pour évaluer l'intérêt de la TEP au [<sup>68</sup>Ga]Ga-NODAGA-RGD dans la prise en charge de la MRO, notre équipe a décidé d'élaborer un protocole clinique dans le cadre d'un appel à projet de type programme hospitalier de recherche clinique (PHRC).

Nous souhaitons évaluer l'intérêt du [<sup>68</sup>Ga]Ga-NODAGA-RGD comme agent de surveillance de la réponse au traitement anti-angiogénique et plus particulièrement dans la maladie de Rendu-Osler, notamment au niveau des MAV hépatiques du fait de leur fréquence plus élevée (11).

Cette thèse s'articule en quatre parties. La première s'intéressera à la maladie de Rendu-Osler. La seconde décrira le processus angiogénique. La troisième partie présentera les principes de l'imagerie TEP et des radiotraceurs pour imagerie TEP de l'angiogenèse. Enfin, la dernière partie détaillera la réglementation des RIPH, la présentation de notre projet et le rôle de la radiopharmacie.

# Partie I : Généralités sur la maladie de Rendu-Osler

## A. Épidémiologie

La MRO est une maladie vasculaire rare, avec une prévalence d'environ 1/10 000 naissances sans influence apparente de l'âge, du sexe ou de l'origine ethnique (12,13). Cependant, certaines zones géographiques comme le nord du Japon ou le comté de Fyn au Danemark présentent une prévalence plus importante (1/5 000 à 1/8 000). La prévalence la plus élevée dans le monde (1/1 331) est attribuée aux Antilles Néerlandaises (14).

En France, cette maladie était méconnue avant les années 1980 et mentionnée comme très rare (moins de 1/50 000 sujets) jusqu'à l'observation de concentrations géographiques de la maladie en France à partir des années 1970 (15). L'enquête épidémiologique développée en 1977 pendant une trentaine d'années sur l'ensemble du pays permet de certifier une prévalence de la maladie supérieure à 1/8 460 en région Rhône-Alpes (pour les naissances entre 1910 et 1920) et une disparité sur le territoire national avec une prévalence d'1/3 375 habitants dans l'Ain, 1/5 062 dans le Jura et 1/4 287 dans les Deux Sèvres (**Figure 1**) (16). Actuellement, la prévalence en France est entre 1/6 000 et 1/8 000, soit environ 10 000 malades probables.

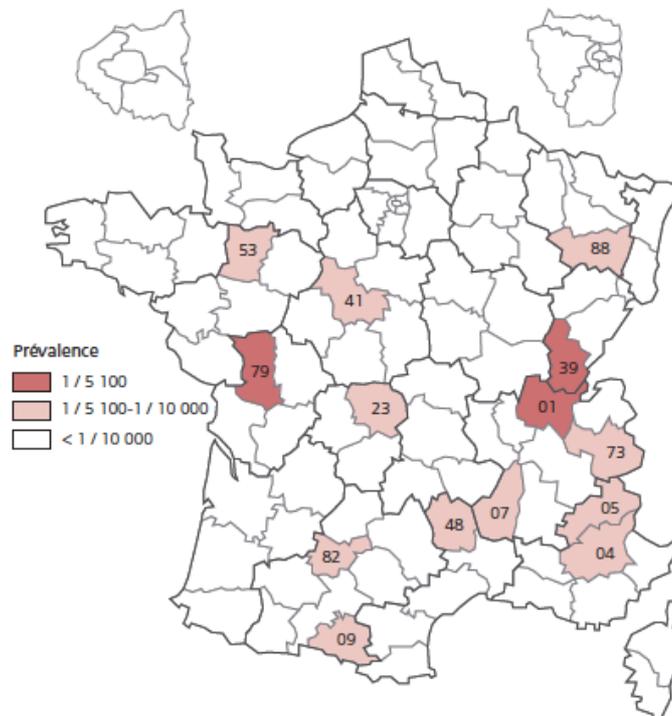


Figure 1. Dissémination nationale de la maladie de Rendu-Osler (16)

## B. Physiopathologie

### 1. Génétique

La MRO est une maladie vasculaire héréditaire, de transmission autosomique dominante, dont les déterminants génétiques sont détectés dans 90% des cas. La responsabilité de cette maladie est actuellement assignée à trois gènes (**Figure 2**) :

**Le gène endogline (ENG)**, porté par le chromosome 9, codant pour l'endogline (récepteur au TGF- $\beta$  de type III) a été le premier gène identifié en 1994 (17). L'endogline est un corécepteur spécifiquement exprimé à la surface des cellules endothéliales. Il s'agit d'un homodimère de 663 acides aminés (aa) possédant une grande partie extracellulaire (561 aa). Son domaine cytoplasmique est composé de 47 aa et peut être phosphorylé par le récepteur de type II du TGF- $\beta$  et par *Activin A receptor type II-like kinase 1* (ALK1) (18).

Ce gène est responsable de la forme MRO de type 1, fréquente en Amérique du Nord, dans les Caraïbes et dans les populations du nord de l'Europe (19).

**Le gène ACVRL1**, localisé sur le chromosome 12, codant pour le récepteur au TGF- $\beta$  de type I ALK1 a été identifié en 1996 (20). Ce récepteur est également exprimé à la surface des cellules endothéliales et est responsable de la forme MRO de type 2 (21). Cette forme est notamment répandue en Italie, en Espagne et en France.

Enfin, **le gène *Mother Against Decapentaplegic Homolog 4* (MADH4)** localisé sur le chromosome 18, a été identifié en 2004 (22). Celui-ci code pour le facteur de transcription SMAD4, commun aux deux voies de signalisation de la famille TGF- $\beta$ . Il est responsable de formes combinées de MRO et de polypose juvénile (23).

La mutation des deux premiers gènes (ENG et ACVRL1) est majoritaire et trouvée chez plus de 90% des malades tandis qu'une mutation du gène MADH4 n'est identifiée que chez environ 2% des malades (22,24).

Actuellement, d'autres gènes sont suspectés dans la MRO avec notamment le gène ***Growth Differentiation Factor 2* (GDF2)**, codant pour la protéine *Bone Morphogenetic Protein 9* (BMP9), qui va se fixer sur des récepteurs de type Endogline et ALK-1 (25).

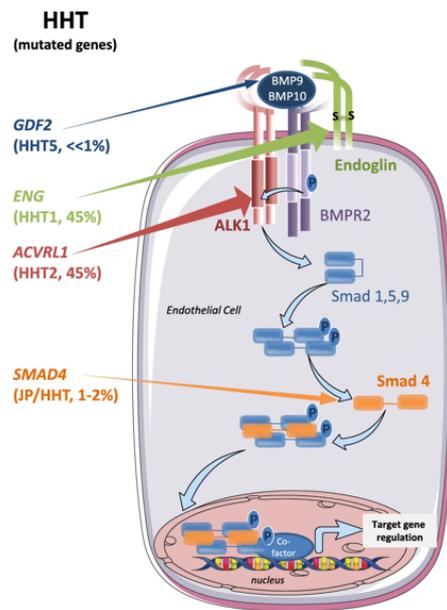


Figure 2. Schéma des différentes mutations identifiées dans la maladie de Rendu-Osler (26)

## 2. Clinique

### a. Saignements extériorisés : Épistaxis et télangiectasies

La MRO est une affection due à une dérégulation de l'angiogenèse et est caractérisée par l'apparition au cours de la vie d'anomalies vasculaires (AV). Les AV les plus caractéristiques affectent la muqueuse nasale (**Figure 3**), responsables d'épistaxis récidivantes.

Une épistaxis est une hémorragie extériorisée par les fosses nasales. Ces épistaxis sont l'expression principale de la MRO et une des complications les plus incommodes en termes de qualité de vie (27). Elles sont répétitives, irrégulières, spontanées et surviennent de jour comme de nuit. Leur sévérité varie selon les individus et peut entraîner une carence martiale voire une anémie chronique. Elles concernent plus de 90% des patients et sont liées à la présence de télangiectasies sur la muqueuse nasale (28).

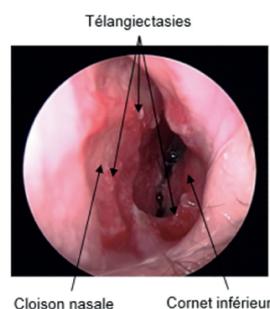


Figure 3. Télangiectasies de la muqueuse nasale entraînant d'importants saignements d'après les données du Pr LACCOURREYE, service ORL au CHU d'Angers

Une télangiectasie est une dilatation permanente des vaisseaux de petits calibres des muqueuses ou de la peau. Elles forment de petits points rouges/violacés, apparaissent généralement entre 30 et 40 ans et ont tendance à augmenter en nombre avec l'âge (29).

Dans la MRO, elles sont présentes dans des endroits caractéristiques comme les extrémités des doigts, le visage (lèvres, nez, oreilles) mais également dans les muqueuses (nasale et digestive) et peuvent être à l'origine de saignements répétitifs (**Figure 4**).



Figure 4. Télangiectasies cutanéomuqueuses dans la maladie de Rendu-Osler (30)

#### *b. Malformations artério-veineuses*

Une MAV est une malformation vasculaire caractérisée par une connexion directe entre artères et veines, sans interposition de capillaires (**Figure 5**). Dans la MRO, des MAV peuvent apparaître principalement dans le tissu pulmonaire, hépatique et cérébral, occasionnant des complications parfois très sévères, même chez les sujets jeunes qui présentent très peu de signes.

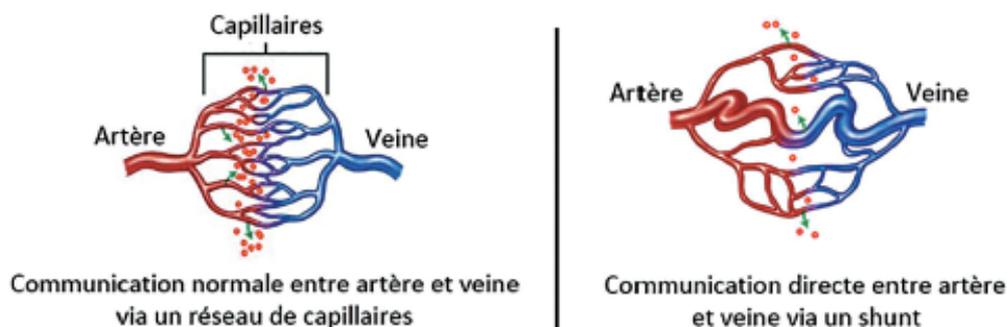


Figure 5. Représentation schématique de MAV (31)

Les **MAV pulmonaires** (40% des patients) résultent d'une communication anormale directe entre une artère et une veine pulmonaire sans l'intermédiaire des capillaires sanguins. La capacité d'échange oxygène/gaz carbonique sera donc fortement diminuée au niveau de la MAV. Elles peuvent entraîner des complications neurologiques (accidents vasculaires cérébraux, abcès cérébraux), des hémoptysies ou des hémothorax (32).

Les **MAV hépatiques** sont présentes chez 41 à 78% des patients atteints de MRO et peuvent toucher les 3 systèmes circulatoires (33) :

- Shunt entre l'artère hépatique et les veines sus-hépatiques (complication la plus fréquente) induisant une insuffisance cardiaque à haut débit compliquée de troubles du rythme cardiaque et d'hypertension artérielle pulmonaire.
- Shunt entre l'artère hépatique et le système porte à l'origine d'une hypertension portale.
- Shunt entre la veine porte et les veines sus-hépatiques, responsable d'une nécrose biliaire.

Les **MAV cérébrales** et télangiectasies intracrâniennes (jusqu'à 20% des patients) peuvent entraîner une hémorragie aigüe cérébrale ou médullaire (32).

Les **MAV gastro-intestinales**, responsables de saignements gastro-intestinaux, représentent 15 à 30% des patients atteints de MRO et touchent l'ensemble du tube digestif (estomac, intestins et colon). Elles peuvent conduire dans un tiers des cas à une hémorragie digestive chronique ou aigüe (13,34).

### 3. Corrélation génotype-phénotype

Les signes de la maladie peuvent survenir indépendamment de la mutation, cependant des différences dans la prévalence des MAV entre MRO type 1 et MRO type 2 semblent exister (**tableau 1**).

Par exemple, dans la MRO de type 1 (ENG), les MAV pulmonaires sont présentes chez 50 % des patients (contre 18% chez le type 2) et sont plus précoces (35). Les épistaxis le sont également et surviennent en moyenne vers 11 ans contre 19 ans pour le type 2 (36). Les MAV cérébrales sont également plus fréquentes (32).

Dans la MRO de type 2 (ACVRL1), ce sont les atteintes hépatiques qui surviennent plus généralement que dans le type 1 (37).

Concernant les mutations de MADH4, les complications sont notamment digestives avec un risque de cancer digestif nettement augmenté.

Tableau 1. Pourcentage de MAV dans la MRO de type 1 et MRO de type 2 d'après 6 études étudiant le génotype/phénotype d'après Karlsson T. et al, 2018 (38)

Type of AVM (%)	Present study	Berg et al. (8)	Kjeldsen et al. (9)	Bayrak-Toydemir et al. (10)	Letteboer et al. (11)	Lesca et al. (12)
<b>A: HHT1</b>						
Pulmonary	60	35	46	59	49	59
Hepatic	0	5	NR	2	8	2
Cerebral	0	8	2	16	NR	16
<b>B: HHT2</b>						
Pulmonary	8	0	13	39	5	29
Hepatic	38	6	NR	28	41	28
Cerebral	0	3	4	2	NR	2

Une des caractéristiques de cette pathologie est la grande variabilité des symptômes et de leur gravité, à l'intérieur d'une même famille, suggérant que d'autres facteurs génétiques inconnus ou que des facteurs environnementaux influencent le phénotype de la MRO (39).

## C. Diagnostic

### 1. Clinique : les critères de Curaçao

Le diagnostic initial se base sur l'identification de mutations génétiques et/ou la combinaison de 3 des 4 critères diagnostiques dits de Curaçao (40) :

- Épistaxis spontanées et récurrentes.
- Télangiectasies multiples sur des territoires caractéristiques : lèvres, cavité buccale, doigts, nez.
- Localisations viscérales de MAV (télangiectasies digestives, MAV pulmonaires, hépatiques ou cérébrales).
- Histoire familiale, avec au moins un proche au premier degré diagnostiqué MRO.

Le diagnostic clinique est :

- Certain si au moins 3 critères sont présents.
- Suspecté ou possible si 2 critères coexistent.
- Peu probable si 1 seul critère est constaté.

Cependant, la pénétrance n'est complète que vers 50 ans. Certains signes cliniques peuvent donc manquer chez le sujet jeune.

## **2. Biologique**

L'anomalie biologique principale est une anémie par carence martiale, conséquence des épistaxis et des saignements dus aux MAV digestives.

Une étude récente constate également des anomalies immunologiques avec notamment une lymphopénie T associée à une augmentation de lymphocytes pro-angiogéniques (Tang) (41).

## **3. Génétique**

La recherche d'une mutation doit être envisagée chez tout patient dont le diagnostic est cliniquement certain ou possible.

Si la mutation familiale est connue, un dépistage rapide peut être entrepris au sein de la famille pour détecter notamment les membres asymptomatiques. Les enfants sont considérés comme potentiellement atteints, même s'ils ne présentent pas de signes cliniques. Le dépistage sera proposé à partir de 5 ans après discussion avec les parents (9).

Cependant, toutes les mutations génétiques de la MRO n'ont pas encore été identifiées et si la mutation ne peut être retrouvée, le diagnostic restera clinique sur la base des critères de Curaçao.

## **4. Biomarqueurs vasculaires**

La connaissance des mécanismes moléculaires impliqués dans la MRO a conduit à la mise en évidence de biomarqueurs vasculaires modulés chez ces patients par rapport à des sujets sains (42). Ces biomarqueurs vasculaires sont le reflet du déséquilibre de la balance angiogénique qui contribue à l'apparition et au développement des AV. Ils sont mesurables directement dans le plasma des patients et par des méthodes d'analyses simples et rapides. Ils représentent donc des outils de *vasculomonitoring* du déséquilibre angiogénique.

Les principales molécules solubles identifiées sont :

- VEGF-A, élément clé de la phase d'activation de l'angiogenèse. Des niveaux plasmatiques de VEGF-A dix fois supérieurs à ceux d'une cohorte comparable de sujets sains ont été mesurés dans une cohorte de 31 patients atteints de la maladie de Rendu-Osler (43). De plus, de manière intéressante, des niveaux sériques plus élevés de VEGF-A ont été associés chez l'enfant à des épistaxis plus importantes et des saignements gastriques (44).

- L'angiopoïétine (Ang-2), via son interaction avec le récepteur Tie-2, est impliquée dans la régression des vaisseaux en l'absence de VEGF (45). Il a récemment été décrit une diminution significative des taux plasmatiques d'Ang-2 chez les patients MRO de type 2 par rapport aux sujets sains et aux patients MRO de type 1 (46).
- L'endogline soluble (sEng) résulte du clivage du récepteur endogline impliqué dans la phase de maturation de l'angiogenèse. Une analyse récente des taux plasmatiques de sEng montre une diminution significative à la fois chez les patients MRO de type 1 et MRO de type 2 par rapport aux sujets sains (46).

Les microRNA sont de courtes séquences d'ARN non codantes qui inhibent post transcriptionnellement l'expression des gènes en se fixant sur la région 3'-UTR des ARNm de manière spécifique. Plusieurs microRNA vasculaires ont été impliqués dans la maladie de Rendu-Osler comme le miR-27a, le miR-205 et le miR-210.

Le miR-27a, pro-angiogénique, est augmenté chez les patients MRO de type 1 et MRO de type 2 par rapport aux sujets sains (47). Le miR-205, qui réduit la prolifération et la migration endothéliale, est significativement diminué chez les deux types de patients (48). Enfin, le miR-210 est significativement augmenté chez les patients présentant des MAV pulmonaires par rapport à des patients exempts de ces malformations (49).

## 5. Imagerie morphologique

L'intérêt de l'imagerie est essentiellement de prévenir les complications parfois graves de la maladie chez l'ensemble des patients, même ceux présentant peu de signes cliniques. Les dernières recommandations de prise en charge au niveau national sont recueillies dans le protocole national de diagnostic et de soins (PNDS, centre de référence pour la maladie de Rendu-Osler de Lyon) publié par la Haute Autorité de Santé (HAS) (9).

### *a. À l'âge adulte*

Ainsi, seront recherchées :

- Les MAV pulmonaires : par échographie cardiaque de contraste en première intention. Un scanner thoracique sans injection (**Figure 6**) « faible dose » sera réalisé si l'échographie cardiaque n'est pas possible ou si elle revient positive.



Figure 6. MAV pulmonaire au scanner thoracique (50)

- Les MAV hépatiques : la première intention consiste en une échographie et un doppler hépatique avec mesures du diamètre des vaisseaux, des vitesses de flux et de diverses données renseignées sous forme d'une grille d'après la classification de Buscarini (51).

En cas d'atteinte clinique hépatique, une échographie cardiaque avec évaluation du débit et de la pression de l'artère pulmonaire sera effectuée en surveillance initiale. Un scanner ou une IRM permettra d'identifier précisément les lésions. La biopsie hépatique est en revanche contre-indiquée.

- Les MAV cérébrales et spinales : dépistage par le biais d'une IRM ou d'angioscanner (52).
- Les MAV digestives : l'exploration digestive par gastroscopie et coloscopie ne se justifie que devant un signe d'appel particulier de type méléna ou anémie inexplicée et aggravée.

#### ***b. Particularités chez la femme enceinte***

Avant toute grossesse, la recherche de MAV neurologique (par angio-IRM spinale) ou pulmonaire est fortement recommandée.

- Les MAV pulmonaires : si le pronostic maternel ou fœtal est mis en jeu, un scanner thoracique faible dose sera réalisé.
- Les MAV spinales : l'angio-IRM spinale (sans injection de gadolinium au 3<sup>ème</sup> trimestre de grossesse) permettra d'éliminer une MAV spinale volumineuse avant l'accouchement et avant une péridurale.

#### ***c. Chez l'enfant***

Le dépistage des MAV hépatiques n'est pas justifié actuellement. Il en est de même pour les MAV digestives qui seront dépistées uniquement en cas de point d'appel évocateur.

Concernant les MAV pulmonaires, le dépistage se fera par radiographie pulmonaire de face et de profil en première intention. Si celle-ci s'avère négative, une échographie cardiaque de contraste sera envisagée (seulement à partir de 5 ans).

Les MAV cérébrales et spinales induisent des complications neurologiques graves. Une IRM cérébrale et spinale avec injection de produit de contraste peut être proposée aux parents et sera réalisable soit avant l'âge de 6 mois, soit après 6 ans.

## **D. Stratégies thérapeutiques**

### **1. Traitement général**

La prise en charge thérapeutique dépend des territoires concernés par les AV : le plus souvent symptomatique, elle est ainsi conditionnée par l'exhaustivité du bilan d'extension (53).

Au niveau international, un groupe de travail de la *HHT Foundation International* a émis des lignes directives sur la base de données scientifiques et médicales publiées de 1966 à 2020 (54). Par la diversité des lésions et le manque d'études cliniques randomisées à large effectif, la stratégie thérapeutique se base sur la topographie des AV diagnostiquées et le recours pharmacologique est le plus souvent hors autorisation de mise sur le marché (AMM).

Les MAV pulmonaires : toute MAV pulmonaire, même asymptomatique, dont la taille est supérieure à 3 mm doit être traitée. Le traitement de choix est la vaso-occlusion de l'artère afférente pendant une artériographie (9).

Les MAV hépatobiliaires : il s'agit de traitements pharmacologiques adaptés aux dysfonctions cardiaques résultantes (diurétiques,  $\beta$ -bloquants, digitaliques, inhibiteurs de l'enzyme de conversion). L'embolisation de l'artère hépatique reste controversée en raison des complications associées (55).

Les AV cérébrales : la prise en charge de ces AV reste débattue et nécessite des centres de neuroradiologie expérimentés. Les différentes techniques utilisées sont la neurochirurgie, la radiochirurgie et l'intervention neuroradiologique endovasculaire (9).

Les AV gastro-intestinales : le traitement endoscopique utilise préférentiellement la coagulation au laser plasma argon (56).

Les épistaxis : en prévention, des systèmes d'humidification de l'air ambiant ou la mise en place de pommade et spray sont recommandées. Le traitement des épistaxis aiguës comporte les techniques de compression directe ou de méchages avec des matériaux spongieux résorbables.

Le traitement par anti-fibrinolytiques, dont l'acide tranexamique, a démontré une diminution modérée de la durée des épistaxis à la posologie de 1 gramme 3 fois par jour (57). Concernant les cas d'épistaxis chroniques graves, le recours à l'injection de colles biologiques, l'embolisation artérielle sélective ou la ligature chirurgicale des vaisseaux est envisagé.

## **2. Traitement ciblant l'angiogenèse**

Comme vu précédemment, la MRO est la conséquence d'une dérégulation de l'angiogenèse. La découverte d'une augmentation des taux plasmatiques de VEGF chez les patients atteints de cette maladie a servi de base au ciblage de cette voie notamment par des inhibiteurs de tyrosine kinase et par des anti-angiogéniques. A noter qu'actuellement, aucun anti-angiogénique ne possède d'AMM dans la MRO. Leurs utilisations sont basées sur les preuves de la littérature scientifique.

### *a. Bevacizumab*

Le bevacizumab est un anticorps anti-VEGF prescrit pour son action anti-angiogénique dans certains cancers. Depuis 2006 et sur la base de cas rapportés, le bevacizumab est utilisé dans la MRO comme stratégie thérapeutique (58). Son intérêt bénéfique est démontré dans de nombreuses études comme le souligne une simple recherche sur PubMed : pour les termes bevacizumab et HHT, plus de 90 résultats sont disponibles pour cette maladie rare.

Une étude française initiale a démontré l'efficacité du bevacizumab dans la réduction du débit cardiaque dans les formes hépatiques graves de MRO (8). Au total, vingt-cinq patients ont été inclus. La dose de bevacizumab était de 5 mg/kg, tous les 14 jours pour un total de 6 injections et la durée totale du traitement était de 2,5 mois. Le suivi des patients était de 6 mois après le début du traitement. L'administration de bevacizumab a été associée à une diminution du débit cardiaque pour vingt patients. Cet essai a documenté que le traitement était efficace dans les MAV hépatiques chez la plupart des patients, mais également dans la diminution de la fréquence et de la gravité des saignements de nez.

Par la suite, de nombreuses études cliniques ont démontré une nette réduction des saignements (épistaxis et saignements digestifs) à la suite du traitement par bevacizumab (7,59–61). Récemment, une étude multicentrique internationale a évalué l'utilisation du bevacizumab par voie systémique pour traiter les saignements et l'anémie associés à la MRO à la posologie de 5mg/kg, tous les 14 jours (62). L'hémoglobine, le score de gravité de l'épistaxis, les unités de globules rouges transfusées et les perfusions de fer intraveineuses avant et après le traitement ont été évalués. Au total, 238 patients ont été inclus. Le bevacizumab a augmenté l'hémoglobine

moyenne de 3,2 g/dL et a diminué le score de gravité de l'épistaxis de 3,4 points au cours de la première année de traitement. Par rapport aux 6 mois avant le traitement, le nombre d'unités de globules rouges transfusées a diminué de 82 % et les perfusions de fer ont diminué de 70 %. Le bevacizumab était bien toléré : l'hypertension, la fatigue et la protéinurie étaient les événements indésirables les plus courants.

La dose et le schéma d'administration du bevacizumab dans la MRO sont basés sur les recommandations dans le traitement du cancer (5 mg/kg par injection) avec un total de 4 à 6 doses administrées une fois toutes les 2 semaines. Cependant, comme le souligne une étude récente américaine, la plupart des patients nécessite un traitement d'entretien au bevacizumab pour prévenir les rechutes (63). Après l'arrêt du traitement, les symptômes apparaissent avec une forte variabilité interindividuelle. Dans cette étude, 65% des patients nécessitaient une dose d'entretien de bevacizumab dont seulement 14 % avec des doses d'entretien régulières. Ainsi, la plupart des patients recevaient une dose intermédiaire supplémentaire peu fréquente (environ 2 doses par an). L'utilisation du bevacizumab en entretien "au besoin" semble être efficace pour la prise en charge des saignements liés à la MRO.

#### ***b. Pazopanib***

Une étude américaine a étudié le pazopanib, inhibiteur de la tyrosine kinase, administré par voie orale et bloquant les récepteurs VEGF (64). Cette étude avait pour objectif principal d'étudier l'efficacité du pazopanib sur les épistaxis liées à la MRO et de vérifier son innocuité. L'hémoglobine et la gravité de l'épistaxis étaient mesurées pendant et après le traitement, et comparées au niveau de référence. Au total, sept patients ont été traités avec 50 mg de pazopanib par jour. Six patients ont montré une diminution d'au moins 50 % de la durée de l'épistaxis par rapport au niveau de référence à un moment donné au cours de l'étude et quatre patients ont montré une amélioration > 2 g/dL d'hémoglobine. Cependant, il y a eu 19 événements indésirables (nausées, maux de tête), dont un grave (facteurs hépatiques élevés avec risque d'hépatotoxicité). Une amélioration du taux d'hémoglobine et/ou de l'épistaxis était présente chez tous les patients traités. Ainsi, d'autres études randomisées sur l'efficacité du pazopanib sont nécessaires pour justifier son intérêt dans la MRO.

#### ***c. Nintedanib***

Un article rapporte le cas d'un patient de 70 ans atteint de MRO souffrant d'épistaxis récurrentes et dont le diagnostic de fibrose pulmonaire idiopathique avait été révélé, pour lequel un traitement par nintedanib (inhibiteur de tyrosine kinase, inhibant notamment le VEGF) a été

proposé (65). Le patient ayant signalé par la suite une amélioration spectaculaire et imprévue de son épistaxis et de sa télangiectasie cutanée, les auteurs proposent que le nintedanib soit évalué dans une cohorte de patients pour la prise en charge de l'épistaxis réfractaire de la MRO.

## Partie II : Angiogenèse

### A. Généralités

L'angiogenèse se définit par la formation de nouveaux vaisseaux à partir du réseau vasculaire préexistant. Elle est active pendant le développement embryonnaire et est normalement quiescente au stade adulte, sauf pour la vascularisation des ovaires et de l'utérus. Cependant, l'angiogenèse est réactivée lors de la réparation des plaies et dans plusieurs conditions pathologiques comme la MRO. Elle se caractérise par 2 phases sous la dépendance de facteurs pro-angiogéniques et anti-angiogéniques : la phase d'activation et la phase de maturation (66). L'angiogenèse est guidée par des cellules de front (*tip cells*) qui initient le bourgeonnement, conduisent vers la source du signal angiogénique et par des cellules de soutien (*stalk cells*) qui prolifèrent en arrière et permettent l'allongement du vaisseau (**Figure 7**).

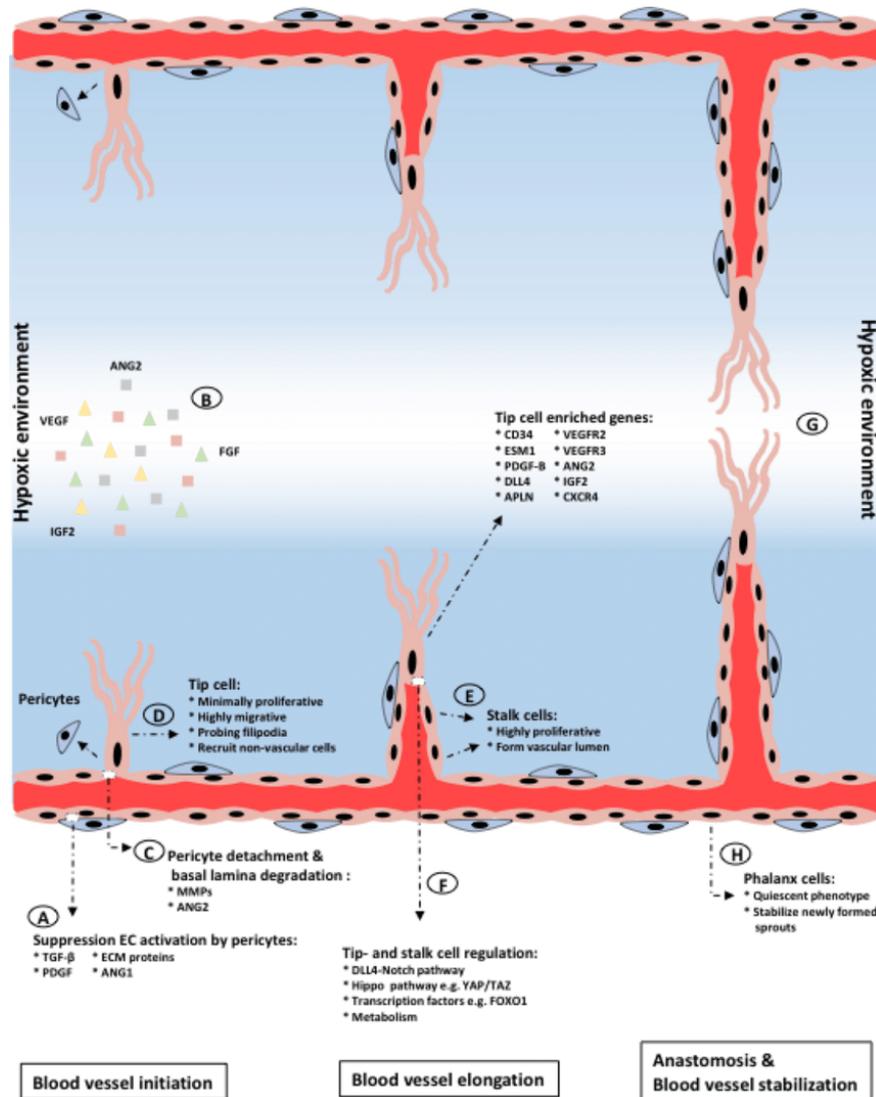


Figure 7. Les différentes phases de l'angiogenèse et les facteurs impliqués (67)

## 1. Phase d'activation

Cette première phase débute par une vasodilatation des vaisseaux sous l'effet d'oxyde nitrique (NO) sécrété par les cellules endothéliales en réponse au VEGF. Cette vasodilatation entraîne une augmentation de la perméabilité vasculaire. Des enzymes de dégradation, les métalloprotéinases matricielles (MMPs), sont libérées et dégradent la matrice extracellulaire (MEC), entraînant la libération de facteurs pro-angiogéniques (VEGF-A, FGF : *fibroblast growth factors*) et de cytokines. Les cellules murales du vaisseau se détachent sous l'action de l'angiopoïétine-2 (Ang-2) et le relâchement de la matrice cellulaire s'accroît. VEGF et FGF induisent l'expression des intégrines, protéines transmembranaires liant le cytosquelette à la MEC : les cellules endothéliales vont alors migrer, proliférer et créer un nouveau bourgeon capillaire (68).

## 2. Phase de maturation

Cette phase est suivie par une phase de maturation, essentielle pour le bon fonctionnement du vaisseau. Au cours de ce processus, les cellules endothéliales arrêtent de proliférer, de migrer et commencent à synthétiser de la MEC par le biais du TGF- $\beta$ . Les cellules musculaires lisses et péricytes sont recrutées par le *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF) et Ang-1 et couvrent les néovaisseaux, reconstituant ainsi l'intégrité de la paroi vasculaire.

Il est important de noter l'émergence de facteurs angiogéniques et la précision de leurs rôles :

- L'angiomotine (AMOT), protéine membranaire exprimée à la surface des vaisseaux, présente des propriétés pro-angiogénique et pro-migratoire. Elle permet la migration des cellules endothéliales, la formation de pseudo-capillaires, la maturation et la stabilisation vasculaire (69). Elle pourra interagir notamment avec l'angiostatine, qui inhibera la migration cellulaire et la formation de pseudo-capillaires, processus indispensables de l'angiogenèse (70).
- L'apeline (APLN), est un ligand endogène du récepteur couplé aux protéines G APJ (71). Le système APLN/APJ est impliqué dans la régulation de la pression artérielle, la contractilité cardiaque et dans l'angiogenèse physiologique mais également pathologique comme l'obésité, le diabète ou le cancer (72).

Afin de comprendre les déséquilibres angiogéniques dans la MRO, nous nous intéresserons tout d'abord à la superfamille du TGF- $\beta$ , ayant un rôle dans la prolifération, l'homéostasie, l'apoptose et la régulation des protéines de la MEC (73).

## B. Superfamille du TGF- $\beta$

### 1. Composition

Cette superfamille est composée d'une trentaine de protéines impliquées dans des fonctions biologiques diverses telles que la différenciation cellulaire ou l'homéostasie cellulaire. Elle peut être répartie en 3 sous familles :

- Les BMP : BMP1 à 15 présentes sous forme active, permettent la prolifération et différenciation cellulaire. Leur dérégulation est à l'origine de maladies pathologiques dont la MRO.
- Les TGF- $\beta$  : TGF- $\beta$ 1, 2 et 3, sécrétés sous forme inactive et nécessitant un clivage enzymatique pour devenir fonctionnel.
- Les GDF : ils sont produits sous forme de pré-protéines inactives qui vont être clivées et assemblées en homodimères. Leur rôle est important au niveau musculaire, nerveux et squelettique.

A noter que parfois, une BMP et un GDF sont la même protéine : BMP9 est également appelée GDF2. Ces facteurs agissent grâce à des récepteurs membranaires à activité sérine-thréonine kinase (74).

#### *a. Leurs récepteurs*

Les récepteurs membranaires de cette superfamille sont de 3 types :

- Des récepteurs de type I : appelés ALK, ils sont au nombre de 7.
- Des récepteurs de type II : il en existe 5 dont BMPRII, ActRII et T $\beta$ RII.
- Des corécepteurs de type III : seuls, ils ne peuvent transduire le signal mais ils augmentent l'affinité du ligand pour son récepteur. On retrouve par exemple l'endogline.

À la suite de la fixation d'un ligand de cette superfamille, un complexe hétéro-tétramérique constitué de 2 récepteurs de type I et 2 récepteurs de type II se forme (**Figure 8**). Après phosphorylation des récepteurs de type I, ceux-ci phosphorylent à leur tour des facteurs de transcription spécifiques de la famille TGF- $\beta$  : les SMAD. Ces protéines SMAD s'associent à une SMAD commune, SMAD 4 et ensemble migrent vers le noyau de la cellule pour se fixer à l'ADN et réguler l'expression de gènes (75).

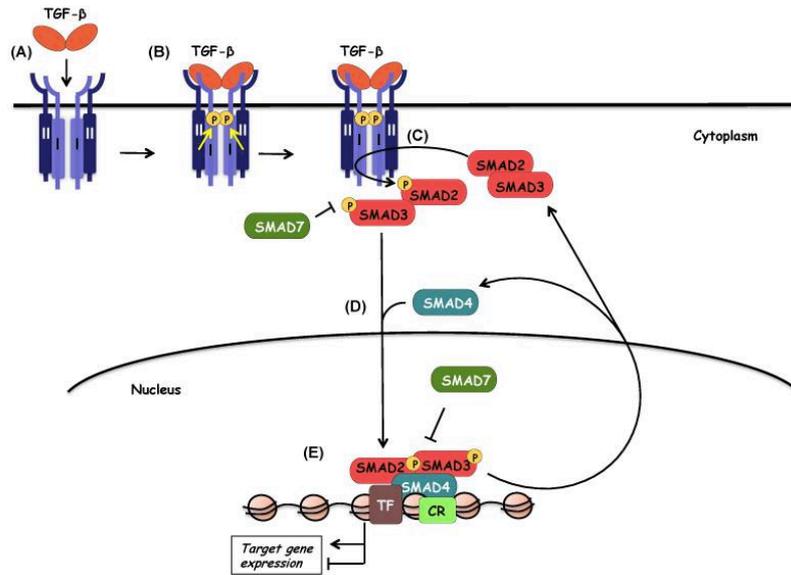


Figure 8. Voie de signalisation du TGF-β (76)

Ainsi, deux grandes voies de signalisations sont impliquées dans cette superfamille : la voie des BMP et la voie du TGF-β.

**b. La voie des BMP**

La voie principale des BMP, appelée voie « canonique », s'associe préférentiellement à ALK1, et plus spécifiquement à la voie BMP9-ALK1-SMAD 1/5/8 (**Figure 9**). La conséquence est une inhibition de la prolifération et de la migration des cellules endothéliales durant la phase de maturation. Il s'agit de la voie impliquée dans la MRO.

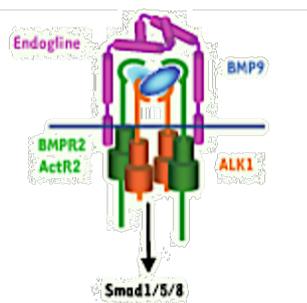


Figure 9. Voie des BMP (75)

**c. La voie du TGF-β**

La voie du TGF-β s'associe préférentiellement à ALK5 et phosphoryle les SMAD 2 et 3. Cette voie sera plutôt inhibitrice sur l'angiogenèse et promeut la formation de la MEC.

Mais TGF- $\beta$  peut également se lier à ALK1 (dans une moindre mesure) et activer les SMAD 1/5/8 pour favoriser la prolifération vasculaire. Il y a donc un équilibre entre ALK1 et ALK5, ce qui permet une régulation de l'angiogenèse (**Figure 10**).

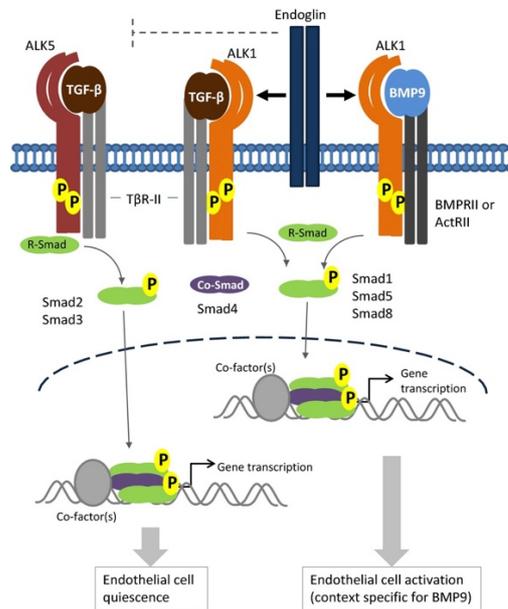


Figure 10. Voies de signalisation TGF- $\beta$  et BMP (73)

## 2. Anomalies de l'angiogenèse identifiées à l'origine de la maladie de Rendu-Osler

Les 3 gènes identifiés dans la MRO codent tous pour des protéines intervenant dans la voie de signalisation de la superfamille TGF- $\beta$  (**Figure 11**). Les mutations ACVRL1 et ENG entraînent notamment une sous-production de leurs protéines respectives (ALK1 et corécepteurs) et par conséquent une diminution de la fixation au SMAD4 (qui est également la mutation MADH4) responsable d'une perte de contrôle de l'angiogenèse.

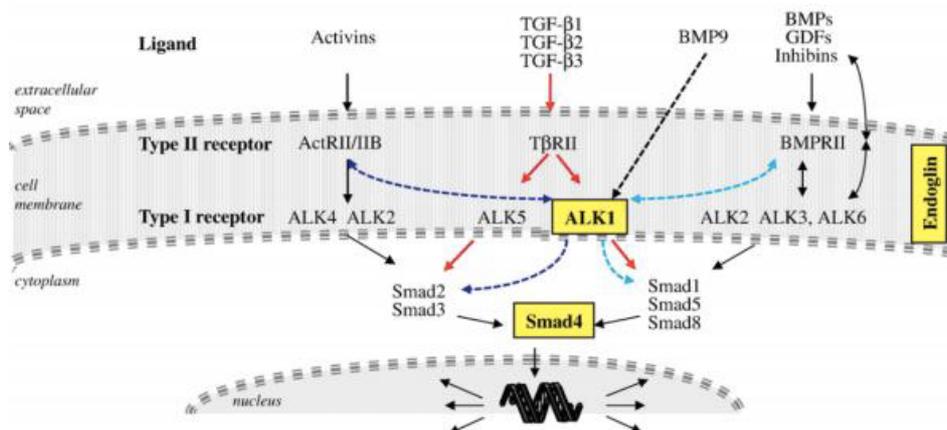


Figure 11. Voies de signalisation de la superfamille TGF- $\beta$  impliquées dans la MRO (77)

Ainsi, chez les patients atteints de la MRO, la déficience de la voie de signalisation BMP9/ALK1/endogline entraîne une diminution de la phase de maturation et de ce fait un déséquilibre angiogénique en faveur de la phase d'activation (VEGF) (**Figure 12**).

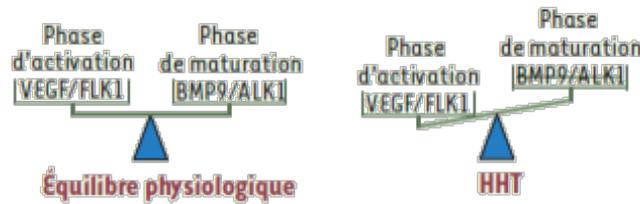


Figure 12. Balance angiogénique dans la maladie de Rendu-Osler (75)

La phase d'activation (VEGF) est donc largement prédominante dans la MRO. Comme nous l'avons vu précédemment, le VEGF induit l'expression des intégrines qui permettent notamment l'adhésion des cellules endothéliales sur la MEC pour former de nouveaux vaisseaux. Récemment, le rôle majeur de l'interaction entre l'endogline et les intégrines a été souligné dans la maturation vasculaire physiologique et ses défauts dans certaines pathologies dont la MRO (78).

## C. Les intégrines

### 1. Généralités

Les intégrines sont des récepteurs membranaires impliqués dans les interactions cellule-cellule et cellule-MEC, qui jouent un rôle majeur en physiopathologie vasculaire (79). Leur rôle est de favoriser la transmission de signaux depuis l'extérieur de la cellule vers l'intérieur de la cellule (signalisation *outside-in*) ou bien l'inverse (*inside-out*). Il s'agit d'une signalisation « bidirectionnelle ».

Elles sont constituées de deux sous-unités  $\alpha$  et  $\beta$  et sont composées de 3 domaines : le domaine extracellulaire (extrémité N-terminale qui est le site de reconnaissance du ligand), le domaine transmembranaire qui permet d'ancrer la protéine dans la bicouche lipidique de la membrane plasmatique et le domaine intracellulaire qui est relié au cytosquelette (**Figure 13**).

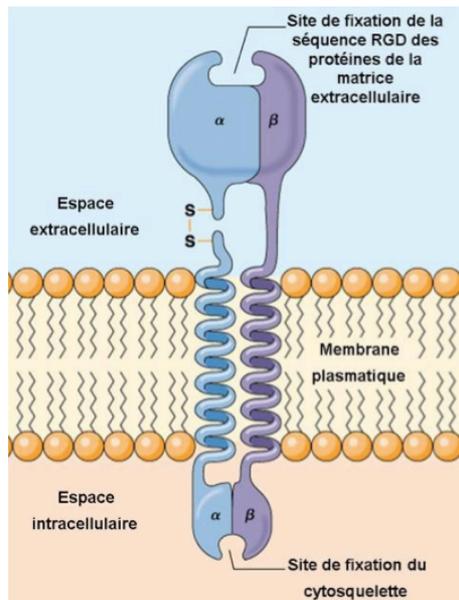


Figure 13. Exemple de structure d'une intégrine : l'intégrine  $\alpha\beta3$

## 2. Rôles dans l'angiogenèse

Les intégrines  $\alpha5\beta1$  et  $\alpha\beta3$  sont d'importants régulateurs de l'angiogenèse :  $\alpha5\beta1$  est impliquée durant toute la durée du processus angiogénique, alors que l'intégrine  $\alpha\beta3$  est principalement impliquée et nettement surexprimée dans les phases précoces de l'angiogenèse (80). De plus, leur surexpression endothéliale est bien décrite dans les MAV (81).

Ces intégrines sont donc des cibles de choix pour la détection de l'angiogenèse.

## 3. Intégrines $\alpha\beta3$ : structure, fonction et distribution

L'intégrine  $\alpha\beta3$  est exprimée en grande quantité par les cellules endothéliales qui forment la paroi des néo-vaisseaux. Elle joue un rôle important notamment dans l'angiogenèse, et l'adhérence des ostéoclastes à la matrice osseuse. Elle est constituée d'une chaîne  $\alpha$  de 1018 acides aminés et d'une chaîne  $\beta$  de 762 acides aminés. Elle peut lier de nombreux ligands tels que la fibronectine, le collagène et la vitronectine.

Comme vu précédemment, l'angiogenèse nécessite la migration, la prolifération et l'adhésion des cellules endothéliales sur la MEC pour la formation de nouveaux bourgeons. Ces phénomènes requièrent l'intervention de molécules d'adhésion parmi lesquelles l'intégrine  $\alpha\beta3$  joue un rôle essentiel. Leurs liaisons aux protéines d'adhésion cellulaire se fait par l'intermédiaire de la séquence peptidique RGD (arginine-glycine-acide aspartique), commune à de nombreuses intégrines (**Figure 14**).

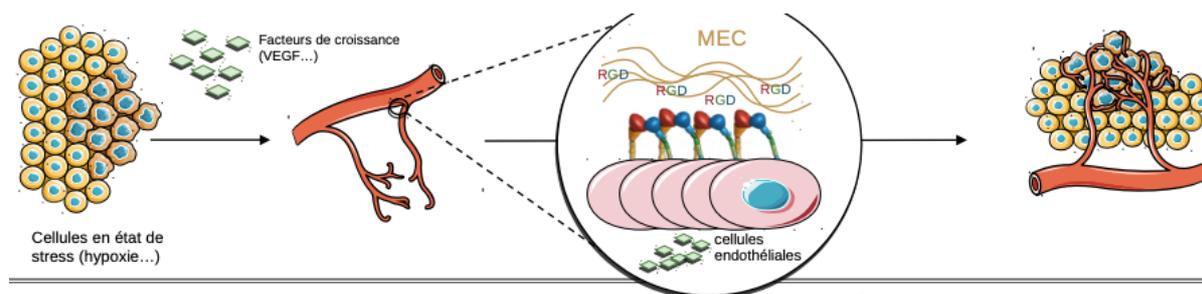


Figure 14. Expression de la séquence RGD par les cellules endothéliales (82)

La découverte de la structure de l'intégrine  $\alpha\beta_3$  et celle de ses ligands naturels ont permis la conception d'inhibiteurs sélectifs de l'intégrine (83,84). La spécificité d'une intégrine pour son substrat est attribuée à la conformation de ce motif RGD dans la protéine et aux séquences des résidus avoisinants. Ces observations permettent la création de ligands peptidiques synthétiques « -RGD- » conçue pour une liaison préférentielle à l'intégrine  $\alpha\beta_3$ .

L'angiogenèse est le processus qui est notablement dérégulé dans la maladie de Rendu-Osler. La phase d'activation, prédominante dans cette maladie, induit alors des anomalies vasculaires responsables notamment des télangiectasies et des MAV comme vu précédemment. Disposer d'une imagerie moléculaire de l'activité angiogénique en ciblant les intégrines pourrait permettre de mieux orienter la stratégie thérapeutique, à l'heure où des anti-angiogéniques tels que le bevacizumab semblent prometteurs dans les AV ORL, hépatiques ou digestifs et alors que les méthodes morphologiques classiques (scanner, IRM) ne permettent de vérifier que plus tardivement et indirectement l'effet du processus angiogénique (8,85).

## Partie III : Imagerie nucléaire de l'angiogénèse

### A. Tomographie par émission de positons (TEP)

#### 1. Généralités

##### a. Introduction

La tomographie par émission de positons est une méthode d'imagerie médicale, réalisée après injection au patient d'un médicament radiopharmaceutique, permettant de mesurer en trois dimensions l'activité métabolique d'un organe. Ce médicament résulte de l'association entre une molécule vectrice et un radionucléide. Il va s'accumuler sur les tissus cibles et émettre temporairement des rayonnements. La caméra TEP détecte ces rayonnements émis par les organes du patient et, grâce à un système informatique, une image en trois dimensions de la répartition du traceur dans le corps du patient est reconstruite (**Figure 15**).

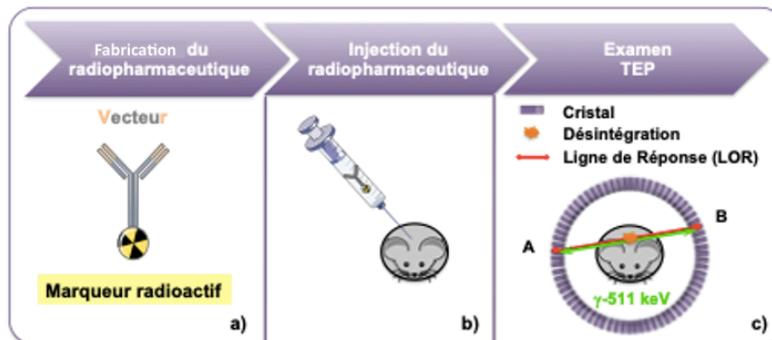


Figure 15. Schéma représentant le principe d'un examen TEP (86)

Les caméras TEP sont toujours associées à de la tomodensitométrie (TDM) permettant de visualiser l'ensemble des organes sur lesquels sont localisés les traceurs radioactifs injectés (imagerie anatomique).

##### b. Historique

C'est dans les années 50 que l'idée d'utiliser la tomographie par émission de positons pour des études physiologiques apparaît. Les premiers instruments tomographiques apparaissent en 1963 (87) : on découvre alors la possibilité de détecter des photons issus de l'annihilation du positon, en utilisant deux caméras à scintillation reliées électroniquement (88,89). Dans les années 70 apparaît le premier TEP développé par Edward J. Hoffman et Michael Phelps (90). L'utilisation de l'imagerie TEP dans le monde clinique suivra rapidement avec les premières images de patients. Cependant la qualité des images reste médiocre (91). Il faudra attendre les années 90 pour voir apparaître les premiers systèmes TEP couplés à la TDM, permettant de visualiser une imagerie anatomique et métabolique couplée.

## 2. Désintégration $\beta^+$

La TEP repose sur l'utilisation d'un radioélément dont le noyau père instable se désintègre en noyau fils plus stable par désintégration radioactive de type  $\beta^+$ . L'instabilité du noyau père est due à un excès de protons et celui-ci va alors effectuer une désintégration  $\beta^+$  : un de ses protons va se transformer spontanément en neutron ce qui entraîne l'émission d'un positon (particule  $\beta^+$ ) et d'un neutrino (**Figure 16**).

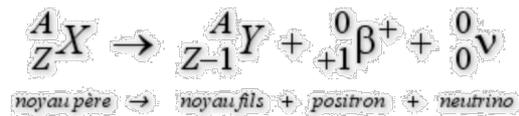


Figure 16. Équation générale désintégration  $\beta^+$

Ce positon (de charge positive) est émis hors du noyau et, après avoir parcouru quelques millimètres de matière, entre en collision avec un électron libre (charge négative, antiparticule du positon) entraînant une réaction d'annihilation caractérisée par la disparition du couple positon/électron qui se transforme en deux photons  $\gamma$  de 511 keV émis à  $180^\circ$  dans des directions opposées (**Figure 17**). Ce sont ces photons dits d'annihilation, qui, détectés en coïncidence, seront utilisés pour la production d'images en TEP.

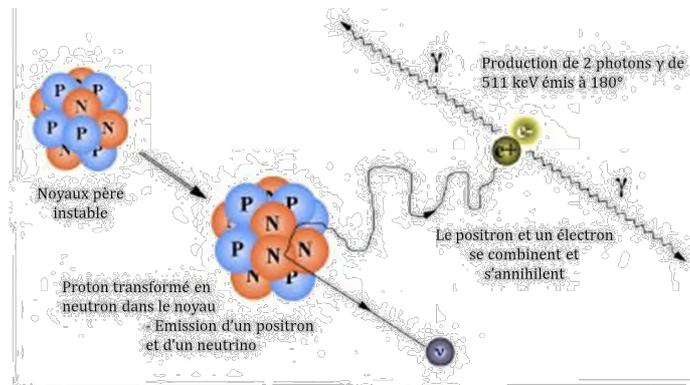


Figure 17. Réaction d'annihilation entre un positon et un électron (92)

## 3. Principe de détection par caméra TEP

Le principe de la TEP est la détection grâce à des scintillateurs de ces 2 photons pour déterminer le lieu de l'annihilation qui correspond à l'emplacement du nucléide. A noter que 2 photons en coïncidence sont validés s'ils ont une énergie proche de 511 keV et qu'ils sont détectés dans un intervalle de temps très proche (milliardième de secondes).

La caméra TEP est constituée d'une série de détecteurs (constitués eux-mêmes de scintillateurs) positionnés en couronne autour du patient. Les deux photons  $\gamma$  en coïncidence sont détectés par les deux modules de détection qu'ils frappent sur la même « ligne de réponse ». L'accumulation de millions de coïncidences est nécessaire pour permettre la localisation du radio-isotope dans les trois dimensions de l'espace. Ces données sont récoltées et grâce à des logiciels de reconstruction d'image, une reconstruction tomographique permet de localiser avec précision la distribution du traceur dans le milieu observé (**Figure 18**).

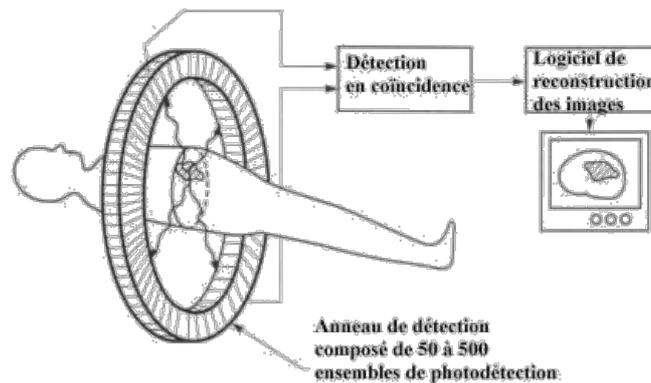


Figure 18. Principe de la caméra TEP (93)

#### 4. Radioéléments utilisables en TEP

Très brièvement, un radiotracer pour imagerie TEP est composé de l'association :

- D'un radionucléide émetteur de positons (exemples : Fluor-18, Gallium-68).
- D'une molécule vectrice assurant l'affinité et la spécificité plus ou moins grandes pour un élément intermédiaire d'une chaîne métabolique ou pour un antigène d'intérêt.

Les principaux émetteurs de positons utilisables en imagerie nucléaire sont présentés dans le tableau ci-dessous (**Tableau 2**).

Tableau 2. Principaux radioéléments utilisables en TEP

Radionucléides	Demi-vie (h)	Production
Carbone-11	0,34	Cyclotron
Cuivre-64	12,7	Cyclotron
Fluor-18	1,8	Cyclotron
Gallium-68	1,1	Générateur
Iode-124	100,2	Cyclotron
Oxygène-15	0,03	Cyclotron
Rubidium-82	0,02	Générateur
Yttrium-86	14,7	Cyclotron
Zirconium-89	78,4	Cyclotron

Les caractéristiques physiques et chimiques de ces radioéléments sont importantes et à prendre en compte. En effet, le choix du radionucléide doit répondre à plusieurs critères :

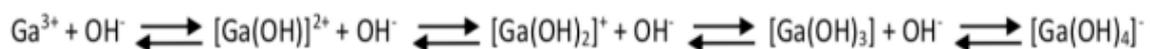
- **Sa demi-vie radioactive** ne doit pas être trop longue afin que la radioactivité émanant du patient décroisse rapidement pour être conforme aux seuils d'exposition du public quelques heures après l'examen. Elle doit également être compatible avec la demi-vie du vecteur utilisé.
- **Le radiomarquage** : il ne doit pas altérer les caractéristiques pharmacodynamiques et pharmacocinétique initiales de la molécule vectrice. Il doit également permettre un bon rendement et être stable.
- **Le mode de production** : idéalement à faible coût, relativement facile et avec une activité spécifique. Un radionucléide peut être produit par des générateurs de radio-isotopes (de petite taille, ne produisant qu'un seul élément) ou par bombardement de particules chargées sur une cible dans un accélérateur de particules appelé cyclotron.

Actuellement, le plus utilisé d'entre eux est le fluor-18 (<sup>18</sup>F) en raison de ses caractéristiques. Cependant, sa production nécessite une production par cyclotron et une radioprotection adaptée aux fortes activités mises en jeu. De plus, il présente une période relativement courte et sa chimie de marquage est complexe. C'est pourquoi les radio-isotopes pouvant être obtenus par un générateur présentent un intérêt non négligeable. C'est le cas du gallium-68 (<sup>68</sup>Ga). Ce radioélément présente notamment l'intérêt d'être un métal et offre des possibilités de fixations différentes du fluor.

## B. Le gallium-68

### 1. Propriétés chimiques, physiques et nucléaires

Le gallium est un métal de masse atomique égale à 69,72 g/mol et qualifié d'élément amphotère : il agira comme un acide ou une base en fonction du pH. Il s'agit d'un acide fort de Lewis (pKa = 2,6). En solution aqueuse, le gallium a un degré d'oxydation de +III (Ga<sup>3+</sup>) qui n'est stable que lorsque le pH est acide (pH<3) (94). Le gallium subit les réactions d'hydrolyse suivantes en solution :



Pour des pH compris entre 3 et 7, le gallium s'hydrolyse sous forme d'hydroxyde de gallium de type Ga(OH)<sub>3</sub>. En milieu basique (pH>9), l'hydroxyde de gallium se solubilise et forme l'anion gallate [Ga(OH)<sub>4</sub>]<sup>-</sup> où la complexation à un ligand sera impossible.

La principale forme d'intérêt est donc sa forme oxydée  $\text{Ga}^{3+}$ , présente en solution aqueuse uniquement à  $\text{pH} < 3$ , qui permettra la complexation de l'élément à un ligand cible.

Le  $^{68}\text{Ga}$  est un produit de filiation radioactive issu de la désintégration de l'élément père, le germanium-68 ( $^{68}\text{Ge}$ ) par capture électronique. Le  $^{68}\text{Ga}$  est un émetteur de positons : il se désintègre en émettant une particule  $\beta^+$  dans 89% des cas ou par capture électronique dans 11% des cas. Il décroît en zinc-68 ( $^{68}\text{Zn}$ ), qui est un élément stable. Son schéma de désintégration est présenté en **figure 19**.

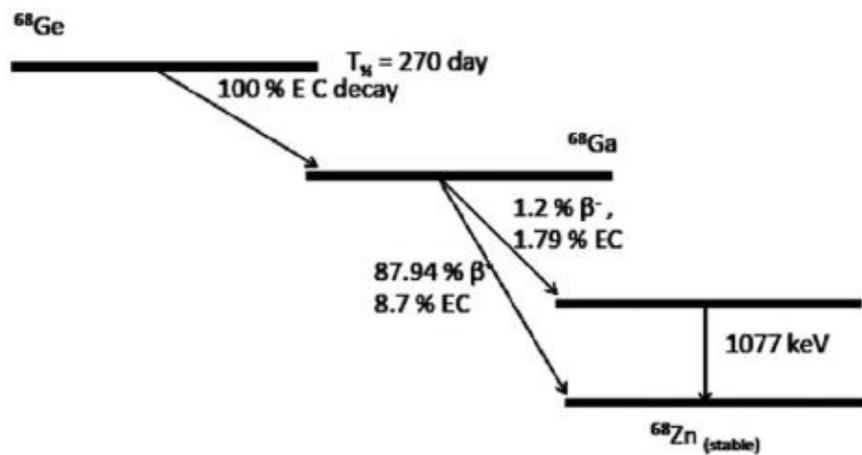


Figure 19. Schéma de désintégration du  $^{68}\text{Ga}$  (95)

Son intérêt est réel étant donné sa courte demi-vie qui permet de limiter l'exposition du patient. De plus, comme nous l'avons dit précédemment, le  $^{68}\text{Ga}$  est un émetteur  $\beta^+$ , ainsi l'émission de 2 photons d'annihilation permet une détection spécifique avec une caméra TEP. Enfin, l'avantage principal est sa disponibilité sous forme de générateur qui permet un accès directement dans le service (à la différence du cyclotron).

## 2. Générateur $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$

### a. Généralités

Un générateur est défini comme « tout système contenant un radionucléide parent déterminé servant à la production d'un radionucléide de filiation obtenu par élution ou par toute autre méthode et utilisé dans un médicament radiopharmaceutique » selon l'article L5121-1 du Code de la Santé Publique.

Le principe repose sur une séparation radiochimique des radionucléides père et fils en décroissance. Le radionucléide père (de demi-vie longue) permet de produire par décroissance un radionucléide fils (de demi-vie courte).

Ainsi, dans le cas des générateurs de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , l'élément père ( $^{68}\text{Ge}$ ) est obtenu par un cyclotron et fixé dans le générateur sur une colonne d'absorption. Ce générateur est par la suite livré au sein du service de médecine nucléaire pour utilisation. L'élément fils ( $^{68}\text{Ga}$ ) produit par désintégration de son précurseur est récupéré par séparation chimique : il s'agit de l'élution. L'ensemble formé du radionucléide fils et du solvant d'élution est appelé éluat.

### b. Principe d'équilibre

L'utilisation du générateur repose sur l'équilibre séculaire entre le radionucléide père et le fils. En effet, la demi-vie du  $^{68}\text{Ge}$  (271 jours) est beaucoup plus importante que celle du  $^{68}\text{Ga}$  (67,71 minutes). Ainsi, à l'équilibre, la quantité de  $^{68}\text{Ga}$  reste constante car son taux de production est égal à son taux de décomposition, tandis que l'activité du  $^{68}\text{Ge}$  ne diminue pas de manière significative pendant plusieurs demi-vies de l'élément fils (96).

Pour le système de générateur  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , l'activité théorique maximale est atteinte après 14,1h. Néanmoins, après environ 3 demi-vies du  $^{68}\text{Ga}$ , soit 3,4h, 91% de l'activité théorique maximale est déjà générée et peut être utilisée comme l'indique la **figure 20** (97). Ainsi, une élution peut être réalisée toutes les trois heures environ en fonction de l'activité initiale du générateur et son âge.

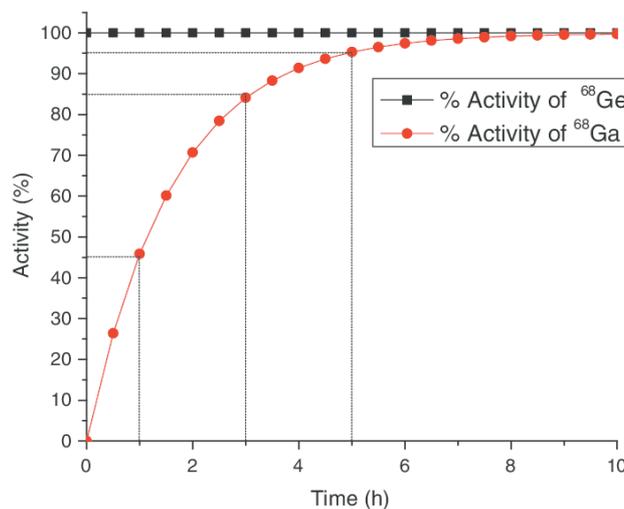


Figure 20. Régénération d'un générateur de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  (98)

### c. Matrices

Le premier générateur de gallium, datant de 1960, reposait sur un principe d'extraction liquide/liquide (99). De nos jours, les générateurs sont maintenant basés sur le principe d'extraction solide/liquide avec une phase stationnaire solide et différent entre eux au niveau de la composition de cette matrice : elle peut être organique (à base de résines de polymères)

ou bien inorganique ( $\text{TiO}_2$ ,  $\text{SnO}_2$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ..). L'essentiel est que la matrice doit être la plus sélective possible afin de limiter la présence de  $^{68}\text{Ge}$  et d'impuretés métalliques dans l'éluat et ainsi obtenir une pureté radiochimique de plus de 95% en  $^{68}\text{Ga}^{3+}$ .

### 3. Générateur GalliaPharm®

De nos jours, plusieurs générateurs sont commercialisés et sont tous composés d'une matrice solide et élués par une solution d'HCl (acide chlorhydrique) pour obtenir le  $^{68}\text{Ga}^{3+}$ . Ils se différencient par la concentration d'HCl employée et la composition de leur matrice.

Le générateur GalliaPharm® du laboratoire Eckert&Ziegler (Allemagne) a été le premier à obtenir une AMM en France (**Figure 21**). Il s'agit du générateur que nous possédons au sein de notre service. Ce générateur dispose d'une matrice en  $\text{TiO}_2$ . Il est élué avec 5 mL d'HCl à 0,1N stérile et sa durée de vie est de 12 mois. Ses spécifications annoncent un rendement en activité supérieur à 60% et moins de 0,001% de  $^{68}\text{Ge}$  est relargué par élution (100).

En outre :

- La solution obtenue est claire et limpide.
- La présence d'impuretés chimiques :  $\text{Fe} < 10\mu\text{g}/\text{GBq}$  et  $\text{Zn} < 10\mu\text{g}/\text{GBq}$ .
- La pureté radiochimique est supérieure à 95% de  $^{68}\text{Ga}^{3+}$ .
- Le pH est entre 0,5 et 2,0.
- La qualité microbiologique est stérile.
- Les endotoxines bactériennes sont inférieures à 30 EU/mL

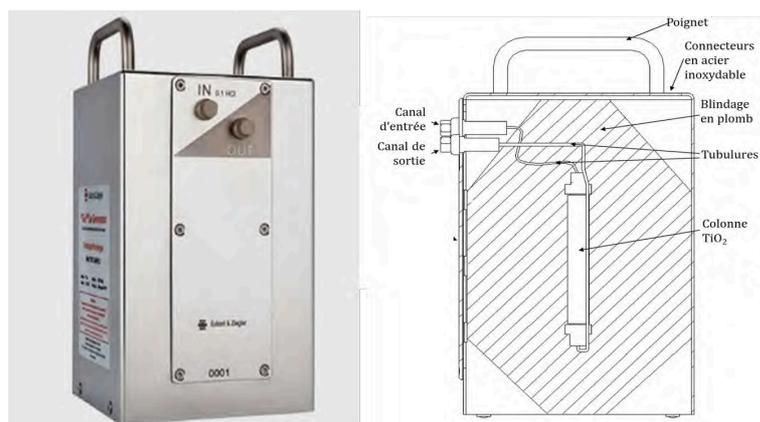


Figure 21. Générateur GalliaPharm® (100)

## 4. La complexation du gallium-68

### a. Chimie de coordination et chélation

La chélation est un processus physico-chimique entre un ligand (chélateur) et un cation métallique où se forme un complexe (le chélate). Le cation métallique est fixé au ligand par au moins deux liaisons de coordination. Dans le cas du cation  $\text{Ga}^{3+}$ , son nombre maximal de liaisons de coordination est de 6 (101). Comme dit précédemment, le cation  $\text{Ga}^{3+}$  est un acide fort de Lewis. Ainsi, il peut se coordonner avec des atomes et des groupements riches en électrons (oxygène, azote, ...) pour former des complexes thermodynamiquement stables.

De nombreux types de chélateurs sont décrits mais les principaux utilisés pour complexer le gallium de façon stable sont tétradentés ou hexadentés. Il est important de noter que plus un chélateur forme des liaisons avec l'atome métallique, plus le complexe est stable (102).

### b. Rappels de complexation

- Stabilité des complexes : elle est mesurée par la grandeur thermodynamique (notée  $\beta$ ) qui représente la capacité du métal à former un complexe stable avec un ligand donné. La capacité du ligand (base forte de Lewis) à se protoner en solution aqueuse (notée  $\text{pKa}$ ) intervient également. Enfin, l'hydrolyse des ions métalliques conduisant à la formation de colloïdes inertes (hydroxydes métalliques) dans un milieu aqueux, est un phénomène à prendre en compte.

Par ces différents paramètres, il est possible de calculer la quantité de métal résiduel après la réaction de complexation notée  $\text{p}(\text{M})$  :  $\text{p}(\text{M}) = -\log[\text{M}]$  avec  $[\text{M}]$  la concentration de métal en solution. Ainsi, plus  $\text{p}(\text{M})$  est élevée, plus le ligand a de l'affinité pour le cation métallique.

- Inertie cinétique : il s'agit de la vitesse à laquelle se forme ou se décompose le complexe ligand/cation métallique. Ainsi, un complexe avec une cinétique de formation rapide et une cinétique de décomplexation faible est recherchée, cependant ces molécules sont rares. Dans le cas du  $^{68}\text{Ga}$ , une inertie cinétique élevée n'est pas favorable car elle allonge le temps de complexation. Un compromis entre complexation rapide et décomplexation lente est donc souvent recherché. Par conséquent, le chauffage du milieu réactionnel peut être réalisé pour augmenter la vitesse de réaction de complexation sans modifier celle de démétallation, à condition que le ligand ne soit pas endommagé par la chaleur (103).

### c. Chélateurs du gallium-68 : généralités

La plupart des radiotraceurs marqués au  $^{68}\text{Ga}$  nécessite l'utilisation d'agents chélateurs, dits bifonctionnels. Ces chélateurs sont des molécules pouvant complexer l'ion  $\text{Ga}^{3+}$  tout en étant couplées par liaison covalente à des vecteurs de ciblage (peptides, anticorps, nucléotides, nanoparticules) par des groupements fonctionnels réactifs (souvent  $-\text{NH}_2$  ou  $-\text{COOH}$ ) comme représenté dans la **Figure 22** (104).

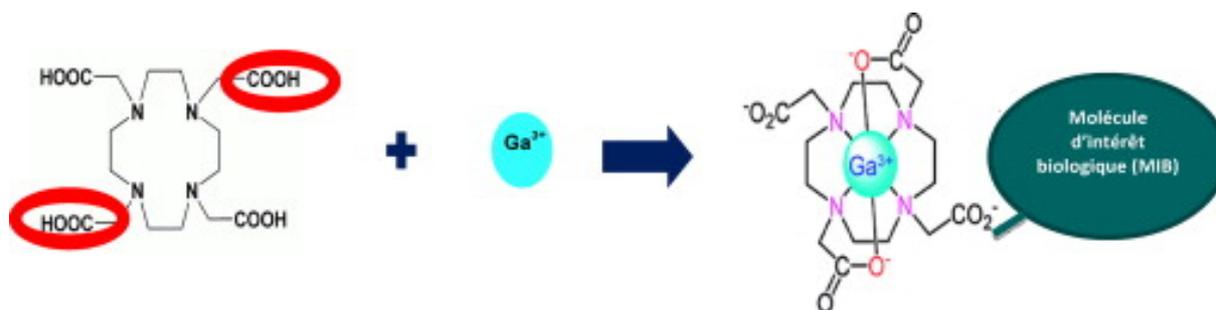


Figure 22. Exemple d'un chélateur bifonctionnel, ici le DOTA (104)

Ces chélateurs, pour être de bons candidats au marquage du gallium, doivent posséder certaines caractéristiques importantes :

- Leur utilisation doit être simple et reproductible.
- Leur liaison à une molécule vectrice ne doit pas altérer leur complexation au métal.
- Le chélateur doit former des complexes de stabilité thermodynamique élevée et/ou grande inertie cinétique pour éviter toute réaction d'échange de ligands prématurée ou d'hydrolyse (évite la formation d'hydroxydes de gallium insolubles ( $\text{GaOH}_3$ ) et solubles ( $\text{GaOH}^{2+}$  et  $\text{GaOH}_2^+$ )).
- L'interaction entre le radionucléide et le chélateur doit être forte afin d'éviter tout phénomène de démétallation qui a lieu à pH 4-8.
- La similitude de chimie de coordination du gallium et du fer trivalent  $\text{Fe}^{3+}$  doit être prise en compte pour éviter un échange *in vivo* avec la transferrine, protéine plasmatique présentant deux sites de liaison pour le fer avec une affinité forte pour le  $\text{Ga}^{3+}$  (105).

Les chélateurs formant des complexes très stables avec les ions  $\text{Ga}^{3+}$  sont surtout hexadentés, de manière à séquestrer le cation  $\text{Ga}^{3+}$  en utilisant le plus grand nombre de liaisons de coordination (soit 6 liaisons) (102). Deux grandes classes de chélateurs bifonctionnels sont décrites : les chélateurs acycliques et les macrocycliques.

#### d. Chélateurs acycliques

Les chélateurs acycliques du gallium-68 possèdent une cinétique de complexation plus élevée et une inertie cinétique plus faible que les chélateurs macrocycliques, les rendant plus vulnérables à une démétallation *in vivo*. De nombreux marquages avec ces molécules peuvent se faire à température ambiante, assez rapidement et avec un rendement satisfaisant.

Parmi les plus décrits, on peut nommer le **HBED** (acide N,N'-bis(2-hydroxybenzyl)éthylènediamine-N,N'-diacétique) qui est considéré actuellement comme le gold standard des chélateurs acycliques. Ce dérivé de l'EDTA (Éthylènediaminetétraacétique) a été décrit dans les années 1960 et possède une forte affinité pour le  $\text{Ga}^{3+}$  ( $\log \beta = 38,51$ ) et forme des complexes très stables avec ce métal. Sa réaction de complexation est rapide, avec de très bons rendements, même à température ambiante, ce qui le rend intéressant pour le radiomarquage de molécules thermolabiles (106).

Son dérivé l'HBED-CC (**Figure 23**) a particulièrement été utilisé et étudié notamment pour l'imagerie du cancer de la prostate.

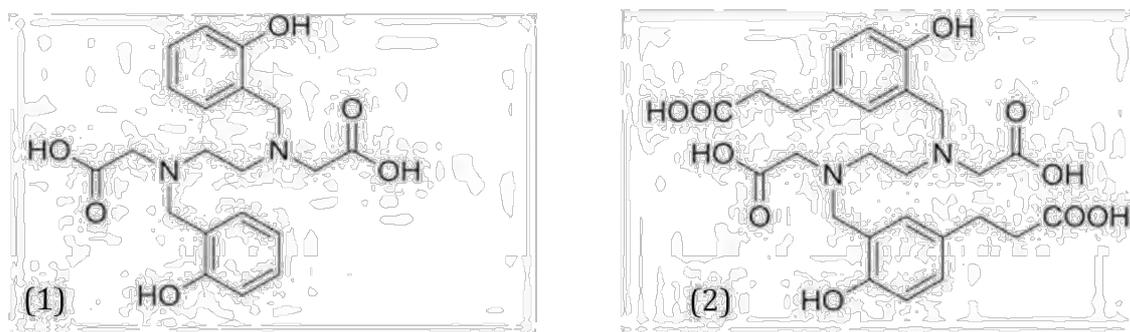


Figure 23. Structures de l'HBED (1) et l'HBED-CC (2)

Enfin, le DTPA (acide diéthylène triamine penta acétique) (**Figure 24**) est également largement utilisé notamment pour l'imagerie rénale et la scintigraphie pulmonaire de ventilation.

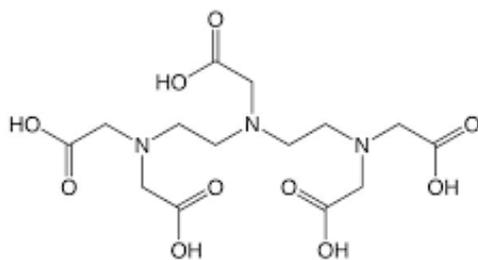


Figure 24. Structure du DTPA

### e. Chélateurs cycliques

Les chélateurs cycliques sont principalement des dérivés du cyclène et du TACN (1,4,7 – triazacyclononane). Le métal complexé est capté dans une sorte de « cage » formée par la molécule. Pour augmenter le nombre d'interactions avec le radionucléide, des atomes donneurs d'électrons peuvent être additionnés sur les chaînes latérales des chélateurs, ce qui améliorera la stabilité du complexe. Les chélateurs cycliques ont généralement une bonne inertie cinétique, diminuant les phénomènes de démétallation *in vivo*, d'où leur utilisation importante.

Le **DOTA** (Acide 1, 4, 7, 10-tétraazacyclododecane-1,4,7,10-tétraacétique) est actuellement la référence dans le marquage du gallium-68 (**Figure 25**). Il est constitué de quatre bras carboxyliques et possède une cinétique de complexation avantageuse permettant son utilisation *in vivo*. Cependant, les conditions de radiomarquage telles qu'une température élevée et un temps d'incubation, limitent son utilisation aux molécules thermorésistantes. Les bioconjugués ( $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC ou SOMAKIT-TOC<sup>®</sup> en Europe et  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE ou NETSPOT<sup>®</sup> aux USA) ont l'AMM pour l'imagerie TEP des récepteurs à la sandostatine de type 2 (107).

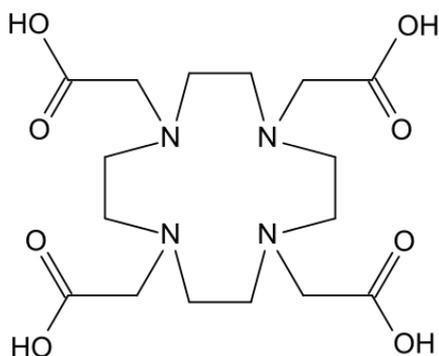


Figure 25. Structure du DOTA

Le **NOTA** (Acide 1, 4, 7, 10-triaazacyclododecane-1,4,7- triacétique) est un chélateur présentant une inertie cinétique et une stabilité plus importante que le DOTA. Sa réaction de radiomarquage au gallium-68 est rapide et ne nécessite pas un chauffage du milieu réactionnel. Le complexe est très stable, de géométrie adaptée au  $^{68}\text{Ga}$  (plus que le DOTA). Des dérivés du NOTA ont été synthétisés tels que le NODAGA pour réaliser le radiomarquage de peptides à température ambiante (**Figure 26**) (82).



Asp-Ser-Tyr) chez les patients atteints de mélanomes (109). Ce traceur s'accumulait dans les lésions néoplasiques et la plupart des ganglions lymphatiques métastatiques (**Figure 28**).

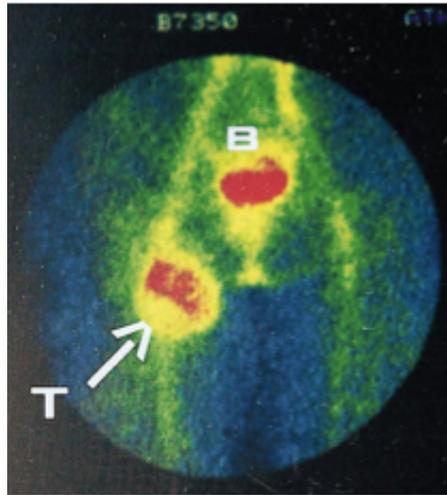


Figure 28. Image d'une métastase (T) et l'accumulation du traceur dans la vessie (B) (109)

L'année suivante, le ciblage de l'angiogenèse via les intégrines en imagerie isotopique a été réalisé à l'aide d'un peptide RGD monomérique cyclique radiomarqué avec un isotope radioactif de l'iode (110). Validant le concept mais limité par une forte concentration hépatobiliaire, le peptide a fait par la suite l'objet de multiples optimisations dans sa structure afin d'améliorer l'affinité de la liaison. Ainsi, une modification chimique par glycosylation permet d'en améliorer sa pharmacocinétique, d'améliorer son affinité et sa spécificité pour l'intégrine  $\alpha\beta3$  et d'optimiser son excrétion via le système urinaire.

Le [ $^{18}\text{F}$ ]F-Galacto-RGD est le premier traceur TEP spécifique des intégrines à être administré sur des petites cohortes de patients cancéreux avant résection (système musculo-squelettique, mélanome, glioblastome, tête-cou, sein), avec un *Standardized Uptake Value* (SUV), mesure quantitative de l'intensité du signal TEP, très fortement corrélée à l'expression des intégrines  $\alpha\beta3$  (111). Ce peptide est actuellement le plus largement étudié dans les RIPH. Une autre étude montre que la TEP au [ $^{18}\text{F}$ ]F-Galacto-RGD est plus adaptée que la TEP au [ $^{18}\text{F}$ ]F-FDG (FluoroDésoxyGlucose) pour définir le plan de traitement et aider à l'évaluation de la réponse aux thérapies moléculaires ciblées (**Figure 29**) (112).

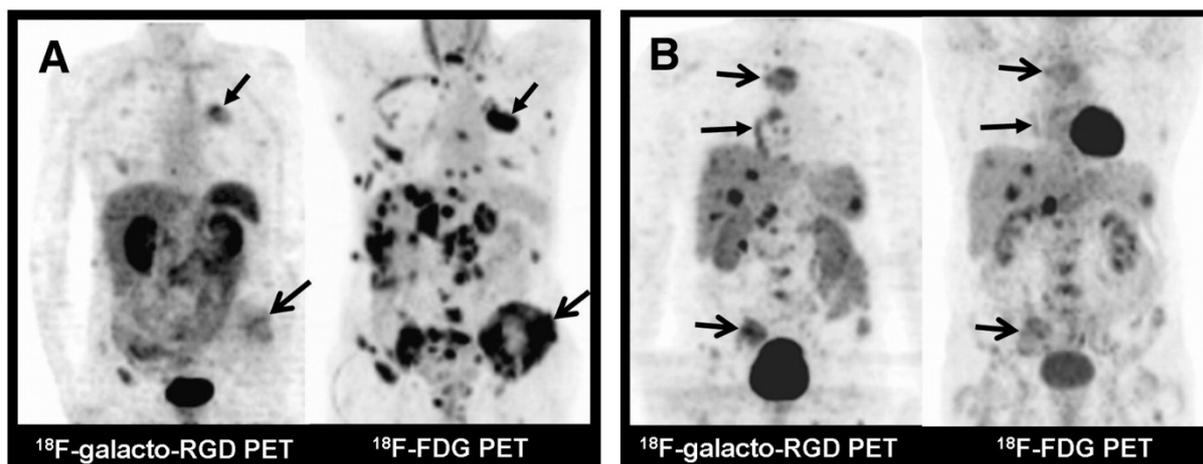


Figure 29. Comparaison de différents schémas d'absorption en TEP au  $[^{18}\text{F}]\text{F-FDG}$  et au  $[^{18}\text{F}]\text{F-Galacto-RGD}$  (112)

En marge des traceurs fluorés, des développements similaires ont été publiés pour des marquages au gallium-68, isotope médical productible sur site « à la demande » via l'éluion d'un générateur  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , ayant une demi-vie physique très courte (68 minutes), et largement décrit pour sa facilité de radiomarquage via des chélateurs bifonctionnels dont le DOTA, le NOTA et le NODAGA.

Parmi les traceurs mis au point avec ce chélateur, le  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-NODAGA-RGD}$  (Figure 30) est décrit avec une haute affinité *in vitro* pour  $\alpha\text{v}\beta\text{3}$  et de meilleurs rapports tumeur/bruit que son analogue  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTA-RGD}$  dans des modèles précliniques de mélanomes surexprimant  $\alpha\text{v}\beta\text{3}$  ou des niveaux de fixation tumorale similaires à son analogue fluoré  $[^{18}\text{F}]\text{F-Galacto-RGD}$  (113,114).

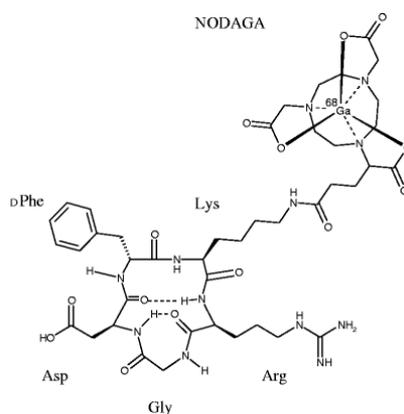


Figure 30. Structure du  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-NODAGA-RGD}$  (113)

Hors oncologie, dans un modèle porcin d'ischémie myocardique, le signal TEP au  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-NODAGA-RGD}$  coïncidait avec les zones hypo-perfusées mais viables, par opposition aux zones nécrotiques (**Figure 31**).

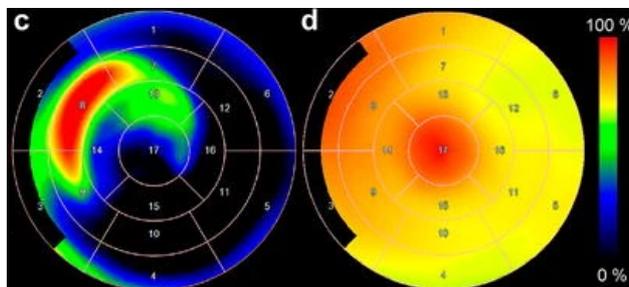


Figure 31. Carte polaire de l'absorption du  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-NODAGA-RGD}$  : absorption accrue dans la zone hypo-perfusée (115)

Une autre étude finlandaise a montré l'intérêt du  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-NODAGA-RGD}$  pour la détection des lésions inflammatoires actives dans la myocardite auto-immune chez des rats (116).

Enfin, la production du  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-NODAGA-RGD}$  est réalisable, avec une facilité de radiomarquage et une accessibilité bien supérieure à celles du  $[^{18}\text{F}]\text{F-Galacto-RGD}$  (117).

Depuis peu accessible au stade clinique, le  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-NODAGA-RGD}$  a fait l'objet d'une étude pilote de sécurité et de tolérance chez 9 patients, montrant qu'il est majoritairement et rapidement excrété par voie rénale après injection intraveineuse (**Figure 32**), très bien toléré et métaboliquement stable *in vivo*, avec de bas niveaux de fixation cérébrale et thoracique, une période effective calculée à  $21.5 \pm 5.4 \mu\text{Sv}/\text{MBq}$  et globalement une très faible irradiation (118).

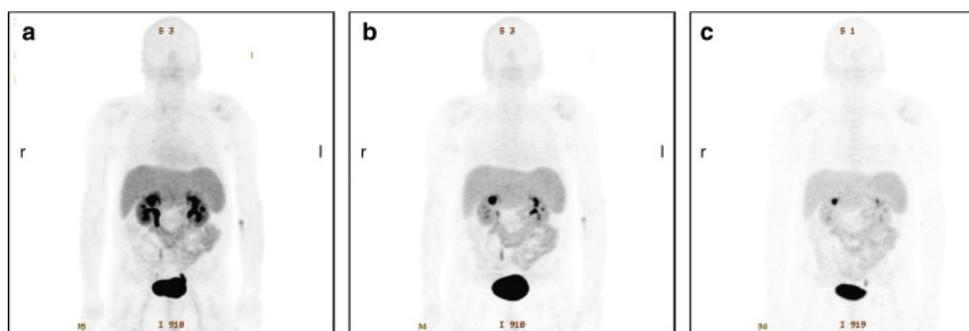


Figure 32. Image de TEP au  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-NODAGA-RGD}$  chez un patient, après injection du radiotracer à 13 minutes (a), 40 minutes (b) et 76 minutes (c) (118)

### b. RGD multimérique

A partir des deux principaux RGD cycliques, des molécules multimériques ont été mises au point, permettant une liaison aux intégrines  $\alpha\beta_3$  plus spécifique. En raison d'une augmentation du nombre de sites de liaison dans la molécule, une concentration de traceur plus faible est nécessaire pour obtenir une absorption égale du traceur.

Le **[RGDfK] dimère** est le tout premier radiotraceur cyclo-RGD dimérique ( $E[c(RGDfK)]_2$ ) (**Figure 33**), développé à des fins diagnostiques (marqué au  $^{99m}\text{Tc}$  ou  $^{111}\text{In}$  par exemple) ou thérapeutiques (marqué au  $^{177}\text{Lu}$  par exemple) (108). Le **[RGDfK] trimère** a ensuite été développé. Ces composés dimères et trimères ont montré des caractéristiques favorables en termes de synthèse et d'absorption dans les tissus non ciblés (par ex. foie et rein) par rapport aux composés monomères et présentent un potentiel d'utilisation en pratique clinique.

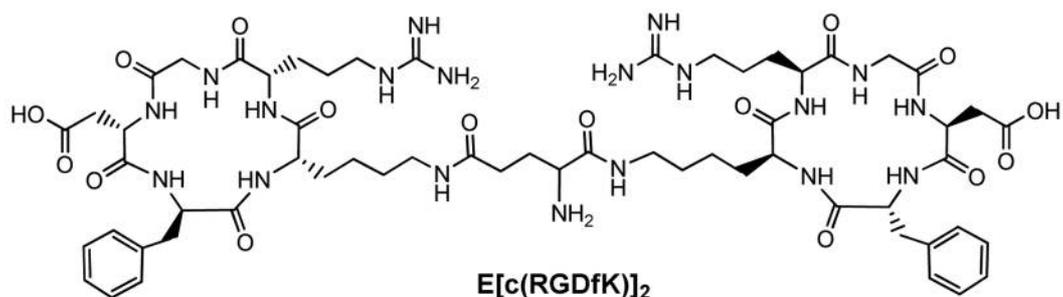


Figure 33. Structure de  $E[c(RGDfK)]_2$  (108)

Le **[RGDfK] tétramère** : divers groupes de recherche ont appliqué le concept de multimères pour concevoir de nouvelles molécules, telles que les RGD-cyclique tétramériques et ont découvert que cette multiplicité du peptide augmente significativement l'affinité pour l'intégrine  $\alpha\beta_3$  (119).

Une étude hollandaise a comparé les caractéristiques de liaison de l'intégrine  $\alpha\beta_3$  avec les peptides RGD monomères, dimères et tétramère marqués au  $[^{68}\text{Ga}]$  et comparé à leurs homologues marqués à l' $[^{111}\text{In}]$  (**Figure 34**) (120).

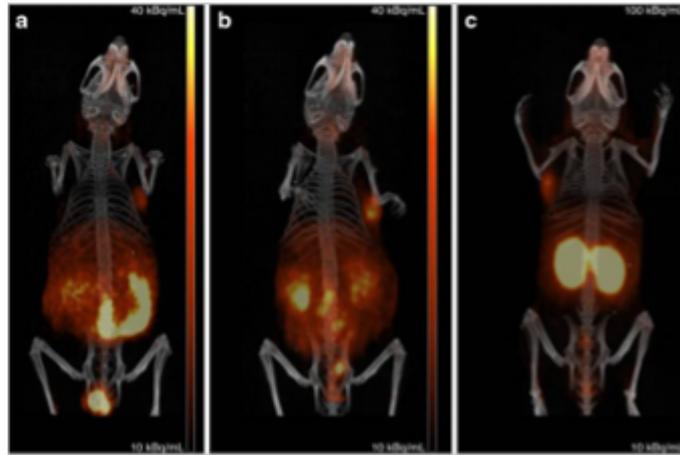


Figure 34. Imagerie TEP avec un peptide RGD monomère (a), dimère (b) et tétramère (c)  
(120)

L'affinité de l'intégrine et l'absorption tumorale suivait l'ordre DOTA-tétramère > DOTA-dimère > DOTA-monomère.

## 2. Imagerie RGD et RIPH

### a. Généralités

Les peptides RGD radiomarqués pour l'imagerie TEP ont notamment été utilisés pour évaluer leur potentiel en tant que biomarqueurs de la réponse thérapeutique chez les patients cancéreux ou pour évaluer leur potentiel pour prédire la réponse aux inhibiteurs angiogéniques (121,122). Dans différents modèles de cancers (glioblastome, cancer du poumon...) la faisabilité de la TEP/TDM au RGD a été étudiée pour prédire la réponse au traitement chez les patients présentant une maladie évolutive ou avec des résidus tumoraux et chez des patients répondeurs (123,124). Les résultats obtenus sont prometteurs avec une différence d'absorption entre les deux groupes mais d'autres études doivent être envisagées avec un nombre de patients plus important.

L'utilisation d'imagerie par TEP/TDM au RGD s'est étendue à d'autres maladies avec un mécanisme physiopathologique impliquant l'angiogenèse. Par exemple, une équipe chinoise a étudié l'intérêt du [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-PRGD<sub>2</sub> dans la polyarthrite rhumatoïde (125). Les résultats ont démontré que le traceur s'est accumulé spécifiquement dans la synovie (expression  $\alpha\text{v}\beta\text{3}$ -

intégrine de haut niveau) et que son absorption était significativement différente avant et après traitement (**Figure 35**).

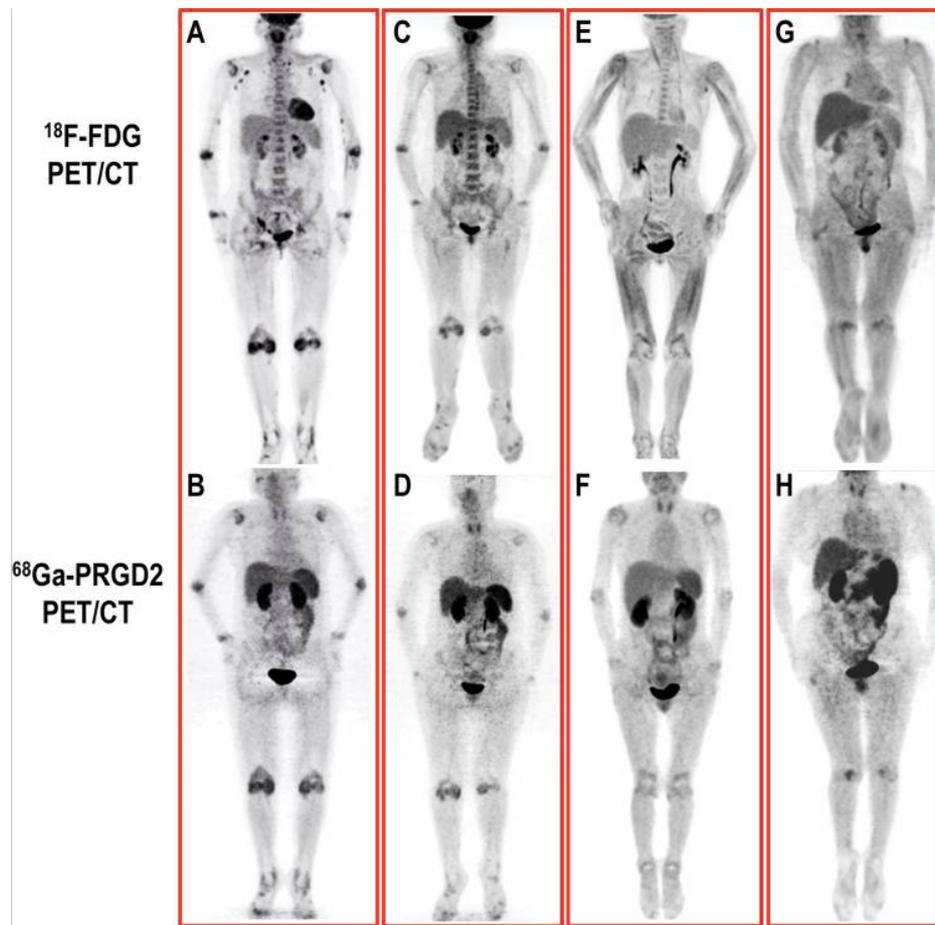


Figure 35. Comparaison de la distribution de 2 traceurs chez des patients atteints de polyarthrite rhumatoïde et arthrose

Enfin, nombreuses sont les études cherchant à étudier l'intérêt de l'imagerie RGD liée aux lésions cardiaques. Récemment, une étude allemande a démontré que l'utilisation du [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-NODAGA-RGD permettait d'évaluer l'expression de l'intégrine  $\alpha v \beta 3$  dans le processus de guérison d'infarctus du myocarde chez le modèle murin (126).

#### *b. RIPH en cours*

D'après le site ClinicalTrials.gov, les RIPH réalisées pour des études d'imagerie au RGD actuellement sont au nombre de 24. Parmi elles, 31% (8) de ces RIPH sont non actives (suspendues, inconnues ou retirées) 38% (9) sont terminées ou complètes et un peu plus de 31% (7) sont en cours. Les études actives sont résumées dans le tableau ci-dessous (**Tableau 3**).

Tableau 3. Résumé des études en cours actives, adapté du site ClinicalTrials.gov

<b>Titre</b>	<b>Statut</b>	<b>Pays</b>
<i>Head-to-head Comparison of Diagnosis Value of Keloid on <sup>68</sup>Ga- FAPI-04 and <sup>68</sup>Ga-RGD PET-CT</i>	En cours	Chine
<i><sup>68</sup>Ga-NODAGA-RGD PET in Patients With an Occluded Coronary Artery</i>	En cours	Finlande, Pays-Bas et Suisse
<i>RGD PET/CT Imaging in COVID-19 Patients</i>	Complet	Pays-Bas
<i>Imaging of Tumour Microenvironment in Patients With Oropharyngeal Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Using RGD PET/CT Imaging</i>	En cours	Pays-Bas
<i>A Study of <sup>99m</sup>Tc-3PRGD2 Injection in Healthy Volunteers</i>	Complet	Chine
<i>Study of Cardiac Lesions Angiogenesis by <sup>68</sup>Ga-NODAGARGD Cardiac PET</i>	En cours	Suisse
<i>The Use of <sup>18</sup>F-ALF-NOTA-PRGD<sub>2</sub> PET/CT Scan to Predict the Efficacy and Adverse Events of Apatinib in Malignancies.</i>	Complet	Chine
<i>TRACER [F-18] RDG-K5 Carotid Plaque Imaging Study</i>	En cours	Etats-Unis
<i><sup>68</sup>Ga-NODAGA-RGD PET/ CT for Tumoral Neoangiogenesis</i>	En cours	Suisse
<i><sup>68</sup>Ga-AlfatideII for the Differential Diagnosis of Lung Cancer and Lung Tuberculosis by PET/CT</i>	Complet	Chine
<i>TRACER RGD-K5 Carotid Plaque Imaging Study</i>	Terminé	Etats-Unis
<i>Multimodal Imaging Assessment of the Inflammatory Atheromatous Plaque</i>	En cours	Suisse
<i>[F-18] RGD-K5 Positron Emission Tomography (PET) in Participants With Carotid Artery Stenosis</i>	Terminé	Etats-Unis
<i>RGD-PET-CT in Cancer Angiogenesis</i>	Terminé	Royaume-Uni
<i>Efficacy Study of [F-18] RGD-K5 Positron Emission Tomography (PET) as a Tool to Monitor Response to an Antiangiogenic Drug</i>	Complet	Etats-Unis
<i>Exploratory, Phase 0 Study of Positron Emission Tomography (PET) Imaging Agent, F-18 RGD-K5</i>	Complet	Etats-Unis

Au total, 6 études visent à explorer l'angiogenèse physiologique cardiaque. Parmi celles en cours, 3 études cherchent à évaluer la faisabilité de l'imagerie de l'intégrine  $\alpha\beta_3$  myocardique liée à la réparation tissulaire chez les patients atteints d'infarctus cardiaque aigu, d'ischémie cardiaque chronique (études suisses) ou d'occlusion coronaire chronique (étude finlandaise) au moyen d'une imagerie TEP/TDM au [<sup>68</sup>Ga]Ga-NODAGA-RGD. 3 autres études américaines utilisent le [<sup>18</sup>F]F-RGD-K5 pour évaluer sa capacité à détecter les plaques athéromateuses. L'imagerie cardiaque TEP au RGD semble donc prometteuse au vu des études actuelles engagées pour la détection des lésions cardiaques.

Dans un domaine d'actualité, une étude hollandaise cherche à évaluer l'expression de l'intégrine  $\alpha v\beta 3$  chez les patients infectés par le virus SARS COV-2 au moyen d'une imagerie TEP/TDM au [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-DOTA-RGD<sub>2</sub>. En effet, le motif RGD semble être retrouvé à la surface de la protéine SPIKE du virus SARS COV-2 (127). Plusieurs études ont été réalisées par la suite pour traiter les patients par des médicaments ciblant les intégrines comme le Natalizumab (128). Cependant, une étude récente remet en doute l'hypothèse que ce motif RGD soit à l'origine de l'interaction avec les intégrines et des études plus approfondies seront nécessaires (129).

Enfin, la majorité des études (14) cherchent à évaluer l'intérêt des traceurs RGD dans le domaine de l'oncologie en tant que marqueurs d'une réponse thérapeutique aux traitements ou pour évaluer leur potentiel pour prédire la réponse aux anti-angiogéniques. Une étude américaine terminée recherche l'utilité de la TEP/TDM [ $^{18}\text{F}$ ]F-RGD-K5 pour prédire l'efficacité ou la réponse précoce au bevacizumab (Avastin<sup>®</sup>) et au traitement chimiothérapeutique avant la fin du traitement complet.

L'hypothèse de cette dernière étude est semblable à ce que nous recherchons dans la MRO. En effet, le but est d'évaluer les changements dans l'absorption du traceur au niveau des tumeurs (ou MAV dans notre cas) pouvant refléter des changements dans le niveau d'expression de l'intégrine et/ou d'angiogénèse. L'étude aidera donc à déterminer si les changements dans l'absorption du traceur sont un indicateur précoce de l'efficacité du traitement par bevacizumab.

Une étude récente hollandaise a conforté notre projet de recherche par son résultat dans l'étude des MAV. En effet, elle étudiait la faisabilité clinique de l'imagerie de l'angiogénèse chez les patients atteints de malformations artério-veineuses à l'aide de la TEP/TDM au [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-RGD<sub>2</sub> (130). 10 patients présentant au moins une MAV périphérique ont participé à l'étude. Chez tous les patients, l'accumulation du radiotracer correspondait à l'emplacement du nidus tel que défini par les images angiographiques.

L'absorption dans la lésion était significativement plus élevée que dans les tissus environnants sans activité angiogénique (sang et muscle) (**Figure 36**). Cela suggère donc que l'imagerie au [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-RGD peut être utilisée comme outil pour déterminer quantitativement l'angiogénèse dans les MAV.

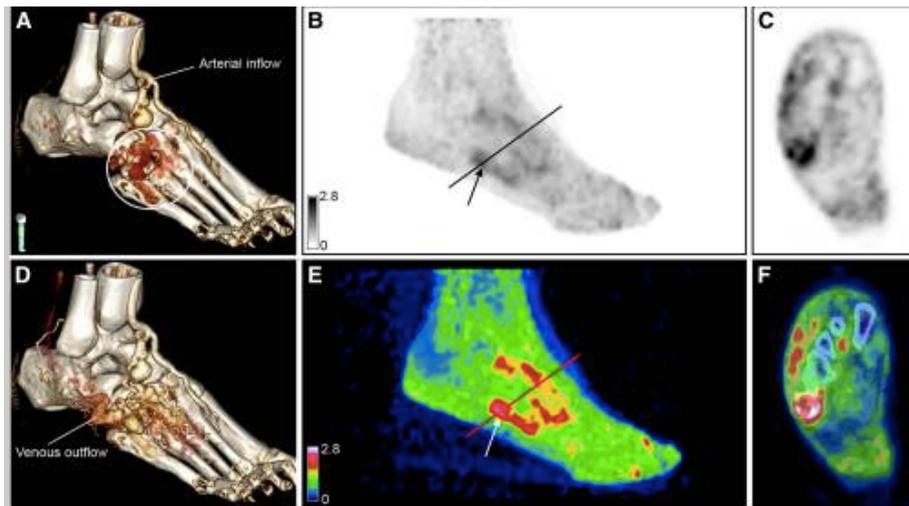


Figure 36. Imagerie d'une MAV dans la partie distale du pied après injection de [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-RGD<sub>2</sub> (130)

L'angiogenèse joue un rôle essentiel dans la maladie de Rendu-Osler. Comme il a été démontré, l'intégrine  $\alpha\beta_3$  paraît être une cible pertinente dans l'imagerie de l'angiogenèse. De manière intéressante, nous avons récemment montré dans un modèle déjà décrit de MAV chez le porc la capacité de la TEP au [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-NODAGA-RGD à mettre en évidence précocement des foyers angiogéniques au niveau de ces AV (CERIMED, travaux préliminaires) (131). Ainsi, ce résultat préclinique positif chez le gros animal et l'étude récente sur les MAV périphériques nous encourage maintenant à évaluer l'intérêt de ce radiotracer comme agent de surveillance de la réponse au traitement anti-angiogénique dans la maladie de Rendu-Osler chez l'être humain.

## Partie IV : Élaboration d'un protocole dans le cadre d'un PHRC national

### A. Réglementation des RIPH dans le cas d'un médicament radiopharmaceutique

#### 1. Structure d'un essai clinique

Un essai clinique est une recherche organisée et pratiquée sur l'être humaine en vue du développement des connaissances biologiques ou médicales. Son organisation dans le cas d'un médicament visant à être administré à l'homme se décompose en deux phases : une étape préclinique et des étapes cliniques.

##### *a. Phase préclinique*

Cette phase permet d'évaluer l'intérêt de nouvelles molécules dans une pathologie. Différents tests *in vitro* sur des modèles cellulaires ainsi que des tests *in vivo* chez l'animal (rongeurs, porcs) sont réalisés. Lors de ces expérimentations, plusieurs études sont réalisées :

- **Études pharmacologiques** : elles permettent de connaître le mécanisme d'action et l'activité de la molécule candidate.
- **Études pharmacocinétiques** : elles décrivent le comportement et le devenir de la molécule dans un organisme (Absorption, Distribution, Métabolisme, Élimination).
- **Études toxicologiques** : elles renseignent sur les doses toxiques pour les organes cibles et pour l'organisme mais aussi sur le caractère carcinogène, mutagène et tératogène de la molécule.

Grâce à ces études, la dose à administrer chez l'homme lors des RIPH est déterminée et un premier aperçu des effets indésirables potentiels de la molécule d'intérêt est décrit.

##### *b. Phases cliniques*

Afin de débiter, une autorisation préalable délivrée par l'ARS est nécessaire.

- **Phase 0** : il s'agit d'une première administration de la molécule à l'homme à des doses très faibles (microdoses), sur un nombre réduit de patients et sur une période courte. Le but est de valider les hypothèses précliniques et d'obtenir des données pharmacocinétiques et pharmacodynamiques justifiant le rationnel de l'étude.
- **Phase 1** : elle correspond aux premières administrations de la molécule à un petit nombre de volontaires sains (à l'exception des médicaments anti-cancéreux). L'objectif est d'étudier la tolérance en fonction de la dose pour déterminer la dose maximale

tolérée. Elle permet d'établir un premier profil pharmacocinétique et pharmacodynamique de la molécule.

- **Phase 2** : elle correspond aux premières administrations de la molécule à un petit nombre de sujets malades. L'objectif est d'étudier l'efficacité thérapeutique de la molécule, et de déterminer la dose optimale à administrer pour la suite. Cette étape permet de connaître les effets indésirables les plus fréquents et d'identifier certaines interactions médicamenteuses et pharmacocinétiques. La forme galénique sera choisie à ce moment-là.
- **Phase 3** : elle correspond aux administrations de la molécule à un grand nombre de sujets malades. L'objectif est de démontrer l'intérêt de la molécule chez le malade et d'obtenir une AMM. Le rapport bénéfice/risque du nouveau traitement est réalisé en comparant l'efficacité du traitement par rapport au placebo et/ou aux traitements de référence s'ils existent. De plus, cette phase permet l'évaluation à moyen terme de la pharmacodynamie de la molécule et d'ajuster la posologie et le mode d'administration du médicament. Un grand nombre de patients participe à cet essai pour permettre d'obtenir les indications thérapeutiques et la durée du traitement pour l'AMM.
- **Phase 4** : cette phase est réalisée après commercialisation de la molécule. Elle permet de recueillir les données sur les effets indésirables plus rares ou tardifs. Cet aspect entre dans le cadre de la pharmacovigilance.

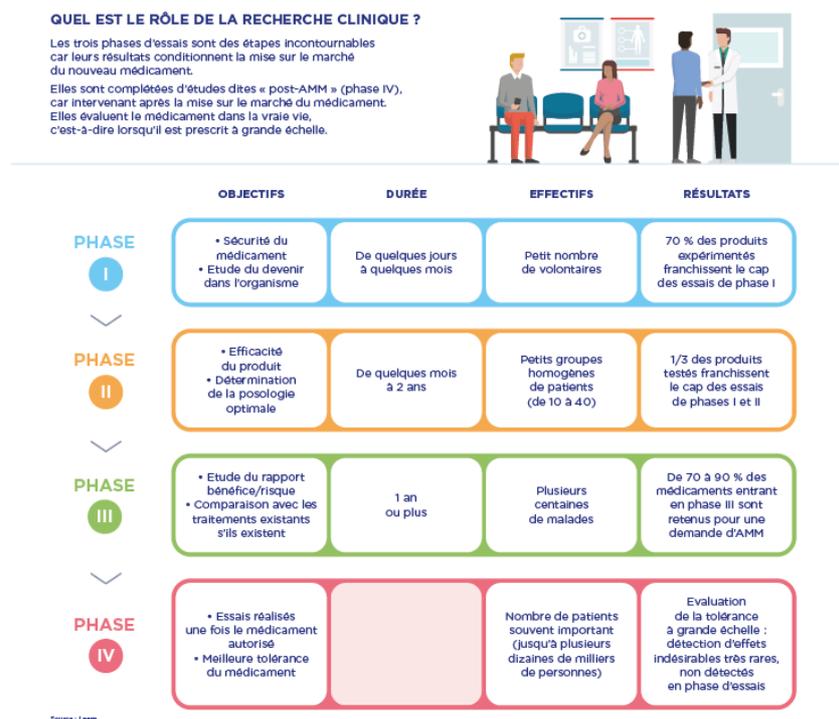


Figure 37. Chronologie des différentes phases d'un essai clinique (132)

## 2. Législation des RIPH

La recherche clinique est fondée sur les principes de respect de la personne humaine, d'égalité, de bienfaisance et de rigueur scientifique. De fait, plusieurs textes de lois encadrant ces essais et permettant de sécuriser au maximum la prise en charge du patient ont été publiés.

### a. Principaux textes réglementaires en France

- La **loi Huriet-Sérusclat** (n°88-138 du 20 décembre 1988) relative à la protection des personnes se prêtant à la recherche biomédicale. Il s'agit de la première loi en France réglementant la recherche biomédicale en France. Elle encadre la protection des personnes en rendant obligatoire le recueil du consentement libre et éclairé des personnes participant à l'essai clinique. Elle définit également les rôles des promoteurs et des investigateurs de la recherche biomédicale. De plus, c'est dans cette loi que l'on évoque la création d'un comité consultatif, le comité consultatif de protection des personnes dans la recherche biomédicale (CCPPRB), évaluant les protocoles de recherche avant leur mise en place.
- La **Loi Jardé de 2012** qui permet de simplifier le cadre juridique en adaptant les réglementations en fonction des risques encourus pour les personnes participant à ces recherches. Les recherches interventionnelles et non interventionnelles sont classées dans des catégories selon leurs niveaux de risques et du degré d'intervention pour les participants (**Figure 38**).

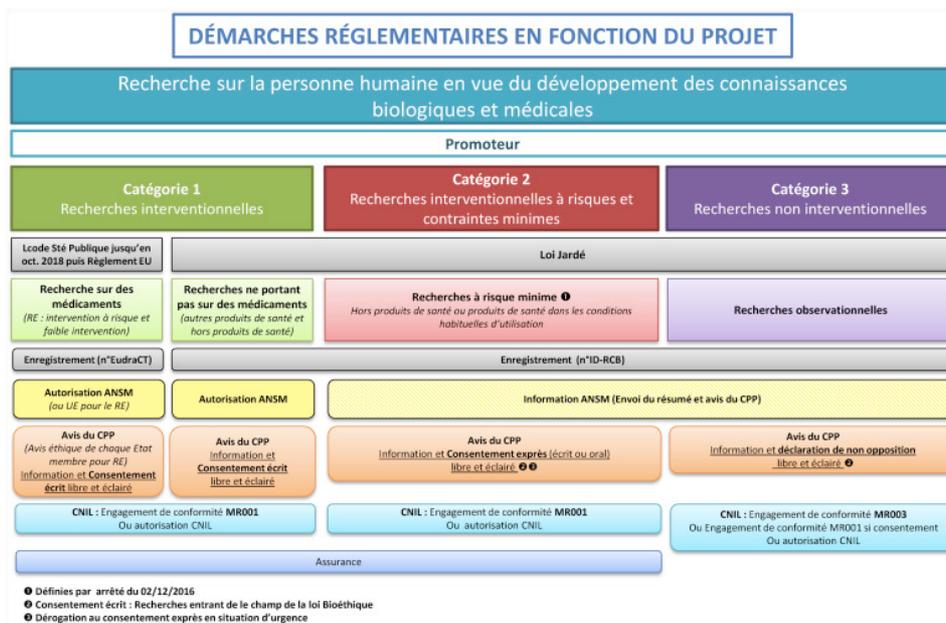


Figure 38. Récapitulatif des démarches réglementaires en fonction du projet (133)

- La directive Européenne n°2001/20/CE qui modifie la loi relative aux RIPH de médicaments. Elle vise à harmoniser les dispositions législatives, réglementaires et administratives des états membres de l'Union Européenne. De plus, le comité de protection des personnes (CPP) remplace les CCPPRB et devient obligatoire.

Cette directive est appliquée en France par la **Loi Santé Publique n°2004-806** relative à la politique de santé publique fixant les conditions pour effectuer des recherches biomédicales en vue du développement des connaissances biologiques ou médicales. Cette loi précise qu'une RIPH n'est possible que si l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament (ANSM) et le CPP donnent un avis favorable.

Cette directive vient d'être récemment remplacée par un **règlement européen 536/2014** adopté par le Parlement européen et le Conseil le 16 avril 2014 et entré en vigueur le 31 janvier 2022. L'évolution majeure est la création du portail *Clinical Trial Information System* (CTIS) pour les demandes et autorisations de RIPH des états membres de l'Union Européenne. Ce portail remplace Eudra-CT. A noter qu'une période de trois ans est prévue pour le passage définitif au CTIS.

#### ***b. Acteurs***

De nombreux intervenants participent au bon déroulement d'un essai clinique. Parmi eux :

- Le **promoteur** (Article L1121-1 du code de la santé publique (CSP)) (134) : c'est une personne ou une institution qui prend l'initiative d'une recherche biomédicale sur l'être humain, qui en assure la gestion et le financement. Il est le responsable légal pour la RIPH. Il peut-être un laboratoire pharmaceutique ou un établissement de soins.
- Les **investigateurs** (Article L1121-1 du CSP) : la ou les personnes physiques ou morales qui dirigent et surveillent la réalisation de la recherche biomédicale. Lors d'une RIPH de médicaments, il s'agit obligatoirement d'un médecin. Il va réaliser les inclusions des patients et veiller à la sécurité des personnes.
- **L'ANSM** : il s'agit de l'autorité ayant la responsabilité de délivrer aux promoteurs les autorisations pour les RIPH. Elle peut suspendre ou arrêter l'essai à tout moment. Elle est responsable de la qualité et de la sécurité des produits et techniques employées pendant l'essai. Elle aura également la charge d'autoriser dans le cadre de médicament expérimental, le dossier du médicament expérimental (DME).
- Le **comité de protection des personnes** (135) : il est composé de 14 membres. Ce comité va rendre un avis concernant le respect de la personne humaine durant la RIPH

et s'assurer de la pertinence du projet. Comme vu précédemment cet avis favorable est obligatoire pour la mise en place d'une RIPH.

### *c. Financements*

Le financement de la recherche au sein des établissements de santé relève généralement de crédits publics (136).

- **Crédits issus de la dotation hospitalière** destinée à financer les missions d'intérêt général et d'aide à la contractualisation (MIGAC) : il existe une enveloppe spécifique pour le financement de missions d'enseignement, de recherche, de référence et d'innovation appelée enveloppe MERRI.
- **Appels à projets nationaux de recherche du ministère de la Santé** : il s'agit de financements publics issus de l'Assurance Sociale.
  - **Programme hospitalier de recherche clinique (PHRC)** : il s'agit d'un dispositif de dynamisation de la recherche clinique dans les établissements de santé. Ceux-ci peuvent être nationaux ou interrégionaux.
  - **Programme de recherche médico-économique** : ce programme se situe en aval du PHRC et permet de préciser les conditions d'utilisation de l'innovation dans la prise en charge des malades et de l'évaluer sur les plans médical et économique.
  - **Programme de recherche sur la performance du système de soins** : ce programme vise à développer des connaissances sur l'organisation du service de soins et l'évolution des pratiques professionnelles dans un but d'amélioration de la performance du système de soins.
  - **Programme hospitalier de recherche translationnelle** : il vise à établir la preuve de nouvelles stratégies préventives, diagnostiques ou thérapeutiques.
- **Appels d'offre internes aux établissements de santé** : ils financent des projets de recherche avec un budget propre à chaque établissement, des bourses destinées aux professionnels de l'établissement.
- **Financements publics ou privés** : par le biais d'associations de patients ou d'industriels.

### 3. Exigences pour un médicament radiopharmaceutique expérimental

#### a. Généralités

Un **médicament radiopharmaceutique** (MRP) répond à la législation et la réglementation des médicaments mais aussi à celle des radionucléides. Il a donc pour obligation d'être soumis à une AMM. En France, les radiotraceurs utilisés à visée diagnostique chez l'être humain ont obligatoirement le statut de médicament radiopharmaceutique et sont donc soumis à cette AMM.

Un **médicament radiopharmaceutique expérimental** (MRPE) est défini par l'article L.5121-1-1 du CSP comme « tout principe actif sous une forme pharmaceutique ou placebo expérimenté ou utilisé comme référence dans une recherche biomédicale, y compris les médicaments bénéficiant déjà d'une autorisation de mise sur le marché, mais utilisés ou présentés ou conditionnés différemment de la spécialité autorisée, ou utilisés pour une indication non autorisée ou en vue d'obtenir de plus amples informations sur la forme de la spécialité autorisée ». Il possède un statut mixte : il doit répondre aux exigences d'un MRP et à celles du médicament expérimental. Dans ce cadre, les radiotraceurs peuvent être utilisés soit dans le cadre d'une autorisation d'accès compassionnel (AAC) si le niveau de preuve scientifique est suffisamment élevé pour en faire la demande auprès de l'ANSM, soit dans le cadre d'un protocole de RIPH avec un dossier du médicament expérimental (DME ou IMPD pour *investigational medicinal product dossier*) qui doit être également validé par l'ANSM.

En France, les MRPE peuvent être préparés par des établissements pharmaceutiques spécialisés ou par des radiopharmacies dépendantes d'une pharmacie à usage intérieur (PUI). Avant la mise en place, il est nécessaire de s'assurer que :

- La PUI dispose d'une autorisation de détention et d'utilisation du radioélément utilisé dans l'essai délivrée par l'Agence de sûreté nucléaire (ASN) (L.1333-4 du CSP).
- La PUI doit obtenir un bon d'enregistrement de l'acquisition du radionucléide utilisé dans le cadre de l'essai, délivré par l'Institut de radioprotection et de sûreté nucléaire (IRSN) (L.1333-9 du CSP).
- La PUI doit acquérir des autorisations de « préparation de MRP » et de « réalisation des préparations rendues nécessaires par les recherches impliquant une personne humaine, y compris la préparation de médicaments radiopharmaceutiques expérimentaux » délivrées par l'agence régionale de santé (ARS) par l'article R.5126-9 du CSP.

### ***b. Bonnes Pratiques de Fabrication***

Il s'agit de recommandations permettant de garantir la qualité, l'efficacité et la sécurité du médicament. Il s'agit de bonnes pratiques applicables à l'échelle industrielle.

### ***c. Bonnes Pratiques de Préparation***

Les préparations pharmaceutiques englobent les préparations réalisées dans les pharmacies hospitalières et de ville. La décision d'application de ces bonnes pratiques de préparation a été publiée au Journal Officiel le 21/11/2007 et sont en cours de mise à jour depuis 2016 (137). Ce texte de référence opposable est destiné aux pharmaciens de ville et aux PUI pour garantir la qualité de leurs préparations pharmaceutiques. Il contient plusieurs chapitres sur certains types de préparations : les préparations de médicaments stériles (chapitre 6), les préparations rendues nécessaires par les recherches biomédicales y compris les préparations de médicaments expérimentaux (chapitre 8) et les préparations de médicaments radiopharmaceutiques (chapitre 9). Dans ce dernier chapitre, des notions essentielles sont rappelées :

- Le personnel doit recevoir une formation initiale adaptée en matière de préparation de radiopharmaceutiques, en radioprotection et en hygiène.
- Les locaux nécessitent une autorisation préalable de l'ASN.
- L'élimination des déchets radioactifs : les déchets doivent être isolés et conservés afin de ne pas être utilisés en attendant leur élimination. L'élimination de ces déchets doit également être tracée.

### ***d. Pharmacopée***

Selon l'article L5112-1 du CSP, la Pharmacopée est un ouvrage réglementaire opposable qui regroupe l'ensemble des caractéristiques permettant une qualité optimale pour chaque médicament référencé sous forme de monographies (138). Elle définit les critères de pureté des matières premières et des préparations ainsi que les méthodes d'analyse à utiliser pour en assurer leur contrôle. La Pharmacopée Européenne dispose d'une monographie pour les médicaments radiopharmaceutiques qui définissent différents critères tels que le mode de production, la pureté radionucléidique et la pureté radiochimique, le mode de conservation, la stérilité, la recherche d'endotoxines bactériennes et pyrogènes.

## 4. Le Dossier du Médicament Expérimental (DME)

### a. Législation

Dans le cadre d'une RIPH et de l'utilisation d'un médicament expérimental, le promoteur doit transmettre un dossier technique relatif aux produits utilisés dans le cadre de la recherche dénommé « Dossier du Médicament Expérimental ». Une recommandation de *The European Association of Nuclear Medicine* (EANM) est disponible pour guider les radiopharmaciens dans la préparation de ce DME en donnant des conseils pratiques (139).

L'arrêté du 22 septembre 2011 précise que le dossier de demande d'autorisation d'une RIPH doit comporter (140) :

- Un dossier administratif contenant l'autorisation de RIPH délivrée par l'ANSM (L. 1121-4 du CSP) et obtenir un numéro Eudra-CT (base de données regroupant les RIPH se déroulant en Europe).
- L'avis favorable rendu par le CPP (L. 1121-4 du CSP).
- Un dossier sur la recherche biomédicale contenant un résumé du protocole de la recherche, la copie de l'assurance de responsabilité civile du promoteur (L. 1120-10 du CSP) et le résumé des caractéristiques du produit ou la brochure destinée à l'investigateur.
- Un dossier technique relatif aux produits utilisés dans le cadre de la recherche : pour chaque médicament expérimental, le promoteur transmet un dossier technique appelé DME. Celui-ci est découpé en trois parties et sera validé par l'ANSM.

### b. 1<sup>ère</sup> partie : données relatives à la qualité pharmaceutique, chimique et biologique

Selon l'ANSM, les données à fournir dans cette partie sont celles notifiées par l'*European Medicines Agency* (EMA) dans le guide « *Guideline on the requirements to the chemical and pharmaceutical quality documentation concerning investigational medicinal products in clinical trials* ». Ce DME doit être complété pour la **substance active** (Tableau 4) et pour le **produit fini** (Tableau 5).

Tableau 4. Éléments à renseigner pour la substance active du DME

<b>Élément du DME</b>	<b>Informations à renseigner</b>
<b>Informations générales</b>	Nomenclature des isotopes radioactifs et de la molécule vectrice
	Structure du MRP (formule, poids moléculaire)
	Propriétés générales : caractéristiques de l'élément (demi-vie, solubilité, log P...)
<b>Fabrication</b>	Fabricant : coordonnées de la radiopharmacie fabriquant le médicament
	Description du processus de fabrication du MRP
	Contrôles des matières premières
	Contrôles des étapes critiques et intermédiaires
	Validation et/ou évaluation du procédé
<b>Caractérisation</b>	Identification de la structure
	Description des impuretés
<b>Contrôles de la substance active</b>	Spécifications
	Procédures analytiques (chromatographie sur couche mince ou chromatographie liquide haute performance)
	Analyses de lots
<b>Étalons et substances/préparations de référence</b>	Informations sur les étalons utilisés dans les mesures de radioactivité
<b>Système de fermeture du conditionnement</b>	Système de fermeture adapté au produit (stérilité, type de verre, emballage...)
<b>Stabilité</b>	

Concernant les MRPE, le « produit fini » correspond à la mise en forme de la substance active, souvent après dilution avec du NaCl 0,9% et filtration stérilisante. Ainsi, les éléments à renseigner pour le produit fini pourront être les mêmes que pour la substance active dans certains cas.

Tableau 5. Éléments à renseigner pour le produit fini du DME

Élément du DME	Informations à renseigner
<b>Description et composition du produit fini</b>	Composition qualitative et quantitative du médicament
	Activité volumique (Bq/L) et spécifique (Bq/g ou Bq/mol)
<b>Développement pharmaceutique</b>	Constituants du produit fini : substance active, excipients
	Formulation : propriétés physico-chimiques et biologiques
<b>Fabrication</b>	Fabricant : coordonnées de la radiopharmacie fabriquant le médicament
	Description du processus de fabrication du MRP
	Contrôles des étapes critiques et intermédiaires
	Validation et/ou évaluation du procédé
<b>Contrôle des excipients</b>	
<b>Contrôle du produit fini</b>	Identification radionucléidique, radiochimique, chimique
	Validation des procédures analytiques
<b>Étalons et substances/préparations de référence</b>	Informations sur les étalons utilisés dans les mesures de radioactivité
<b>Système de fermeture du conditionnement</b>	Système de fermeture adapté au produit (stérilité, type de verre, emballage...)
<b>Stabilité</b>	Déterminée en fonction de la période radioactive du produit final et de l'apparition d'impuretés

Un chapitre portant sur l'évaluation de la sécurité virale du médicament expérimental (s'il contient un produit d'origine biologique tel qu'un produit extrait ou préparé ou obtenu par hémisynthèse à partir d'un produit d'origine humaine ou animale ou si un adjuvant de fabrication est d'origine biologique) est également demandé par l'ANSM. Ce chapitre encadre la production de médicaments à risque d'infection par des agents transmissibles conventionnels (ATC) et les agents transmissibles non conventionnels (ATNC). Pour cela, l'EMA a émis deux recommandations : « *Note for guidance on minimising the risk of transmitting animal spongiform encephalopathy agents via human and veterinary medicinal products* » et « *Guideline on virus safety evaluation of biotechnological investigational medicinal products* ».

c. *2<sup>nd</sup>e partie : données non cliniques obtenues à partir des études pharmacologiques et de toxicité*

D'après l'ANSM, le promoteur doit fournir les données non cliniques de pharmacologie, pharmacocinétique et de toxicologie pour tout médicament expérimental dans une RIPH, accompagnées des références bibliographiques et des études réalisées.

Ces recommandations sont décrites dans les normes rédigées par l'*International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use* (ICH). Il s'agit d'un conseil international rassemblant les autorités réglementaires et les représentants de l'industrie pharmaceutique d'Europe, du Japon et des États-Unis. Sa principale mission est d'harmoniser les réglementations relatives au médicament pour en assurer sa qualité et sa sécurité. Pour cela, quatre grandes lignes directrices sont rédigées : Qualité, Efficacité, Sécurité et Multidisciplinaire.

De plus, le promoteur doit émettre une conclusion concernant les études réalisées et fournir une attestation de respect des Bonnes Pratiques de Laboratoire.

Cette partie du dossier est composée de 3 parties :

- Les **études de pharmacologie** : elles sont réalisées suivant les recommandations ICH S7A « *Safety pharmacology studies for human pharmaceuticals* » (141). Elles regroupent la pharmacodynamie primaire (mode d'action de la molécule pour son activité thérapeutique), la pharmacodynamie secondaire (effets de la molécule ne dépendant pas de son activité thérapeutique) et la pharmacologie de sécurité (rechercher les effets indésirables potentiels d'une substance sur les fonctions physiologiques) de la molécule testée.
- Les **études de pharmacocinétique** : ces études permettent de caractériser le devenir du médicament dans l'organisme. Elles étudient les quatre grandes étapes du médicament dans l'organisme à savoir l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion. Les recommandations ICH S3A « *Note for Guidance on Toxicokinetics : the assessment of systemic exposure in toxicity studies* » décrivent le choix des doses, des voies d'administration à tester sur les modèles cellulaire et animal (142).
- Les **études de toxicologie** : ces études permettent de dresser un premier tableau des effets indésirables chez l'animal.
  - o Toxicité par administration unique ou administration aigüe : La dose létale pour 50% des sujets (DL50) et la Dose Maximale Tolérée (DML) sont déterminées.

- Toxicité par administration répétée : la *Non Observable Adverse Effect Level* (NOAEL) est déterminée. Il s'agit de la dose la plus élevée de la substance pour laquelle aucun effet toxique n'est observé.
- Génotoxicité : cette partie évalue le pouvoir mutagène de la molécule et ses effets sur le matériel génétique. Il s'agit de test *in vitro* (test d'AMES sur des bactéries ou le test d'aberrations chromosomiques sur des cellules de mammifères) et *in vivo* (test des micronoyaux sur des érythrocytes de rongeur). Ces études sont décrites par la norme ICH M3R2 (143).
- Carcinogénicité : ces études permettent d'identifier le potentiel de la substance à créer des tumeurs. Ce sont les recommandations ICH S1A qui expliquent dans quel cas réaliser ces études et comment les mener (144).
- Toxicité de la reproduction et du développement : elles permettent de mettre en évidence les effets sur la reproduction des mammifères.
- Tolérance locale : la norme ICH M3R2 recommande de tester la molécule par la voie d'administration souhaitée du médicament et pour les voies d'administration accidentelles possibles.

Cas particulier des MRPE : D'après les recommandations ICH M3, il n'est pas nécessaire de réaliser des études de génotoxicité et de carcinogénicité. Les informations précliniques sont donc simplifiées mais une évaluation structure/activité, des renseignements pharmacocinétique et dosimétrique pour les MRPE est demandée.

- **Études de dosimétrie** : l'exposition des patients et des volontaires sains à des rayonnements ionisants doit être conforme aux principes établis par le *Council for International Organizations of Medical Sciences* (CIOMS) et respecter les instructions de l'ASN. Ainsi, l'essai clinique portant sur le MRPE doit respecter les trois grands principes énoncés par la CIPR 103 qui permet d'optimiser l'exposition des individus aux rayonnements ionisants pour éviter la survenue d'effets indésirables. Le MRPE doit respecter les principes de radioprotection suivants :
  - Justification : l'utilisation de rayonnements ionisants doit être justifiée. Le bénéfice procuré par cette dose doit être supérieur à ses inconvénients.
  - Optimisation : l'exposition des individus doit être maintenue au niveau le plus bas qu'il est raisonnablement possible d'atteindre. Il s'agit du principe ALARA (*As Low As Reasonably Achievable*).

- Limitation des doses individuelles : ce dernier principe ne s'applique que pour le personnel médical ou l'entourage du patient. La commission internationale de protection radiologique (CIPR) a déterminé des limites pour les doses reçues par les individus à ne pas dépasser.

#### *d. 3<sup>ème</sup> partie : données cliniques*

Cette partie résume les données récoltées pendant les précédentes études réalisées sur l'homme, notamment :

- Les **études biopharmaceutiques** : études de biodisponibilité et bioéquivalence.
- Les **études pharmacocinétiques** : calcul des différents paramètres, identification du métabolisme du produit et de son élimination.
- Les **études de pharmacodynamie**.
- Les **études d'efficacité et de sécurité** : comparaison avec les thérapeutiques existantes.
- Les **études de phase IV** : relatives au suivi du médicament après sa mise sur le marché.

## **B. Présentation de notre projet**

### **1. Objectifs de la recherche**

L'objectif principal de notre étude est d'évaluer la capacité de l'imagerie TEP au [<sup>68</sup>Ga]Ga-NODAGA-RGD à mettre en évidence chez des patients atteints de la MRO et présentant des MAV hépatiques, une réponse thérapeutique moléculaire aux injections d'anti-angiogéniques.

De plus, des objectifs secondaires consisteront à documenter les liens entre l'intensité du signal en TEP et les marqueurs circulants du déséquilibre angiogénique : VEGF-A, Ang-2, sEng, miR-27a, miR-205 et miR-210.

A ce jour, une vingtaine de centres sont équipés en France pour préparer des médicaments radiopharmaceutiques au gallium-68, alors que l'imagerie TEP qui leur est associée a connu un considérable essor en Europe ces 20 dernières années, d'une part en raison de la qualité des images obtenues comparativement aux radiotraceurs historiques, d'autre part grâce à l'excellente sensibilité de cette modalité d'imagerie, et à la facilité de production « sur site » du radionucléide via un générateur <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga, dont est équipée la radiopharmacie de l'Hôpital Nord à Marseille (AP-HM).

Outre son caractère innovant, l'originalité de notre approche réside dans la mise en place d'une collaboration multidisciplinaire nationale pour mener à bien les objectifs de l'étude.

Cette première étude qui intègre les outils les plus modernes de l'imagerie, apportera des données nouvelles dans la littérature. Elle permettrait de documenter les MAV hépatiques, leur activité angiogénique dans cette maladie vasculaire rare, et d'évaluer son intérêt en situation de prise en charge thérapeutique anti-angiogénique.

## 2. Plan expérimental

### a. Schéma

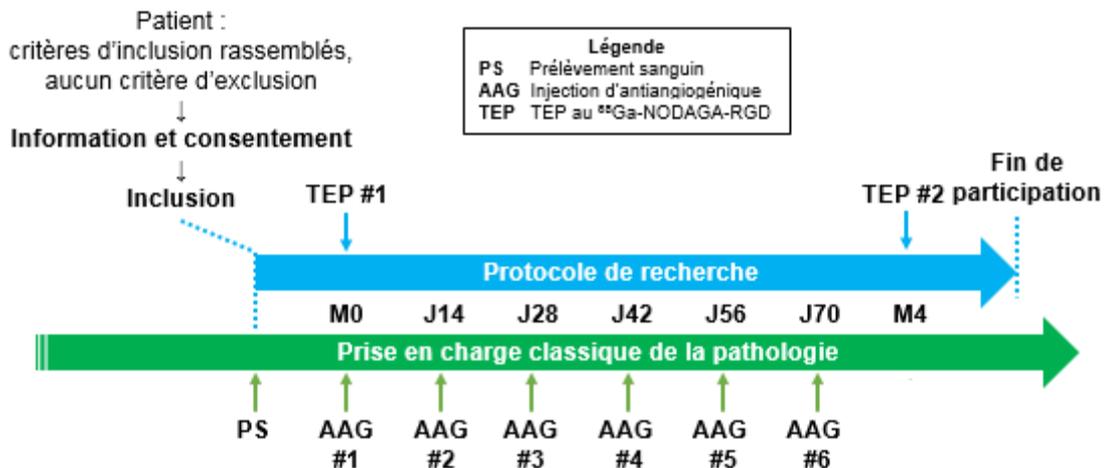


Figure 39. Schéma expérimental de l'étude

Une imagerie TEP au [<sup>68</sup>Ga]Ga-NODAGA-RGD sera réalisée chez tous les patients présentant une maladie de Rendu-Osler avec MAV hépatique diagnostiquée sur la base d'un bilan incluant une imagerie morphologique. Du fait de la lente évolutivité des AV, le délai de 4 mois maximum entre l'examen de référence et le nouvel examen n'entraînera pas de risque de biais chronologique, ni de retard péjoratif à la prise en charge thérapeutique.

Les examens supplémentaires (2 TEP au [<sup>68</sup>Ga]Ga-NODAGA-RGD, avec fenêtre d'acquisition limitée à tête et cou) n'engendreront qu'une sur-irradiation minimale du patient, comparable à celle d'un scanner (dizaine de mSv). Le médicament radiopharmaceutique à l'étude est injecté à une dose infra-pharmacologique et sa tolérance est excellente comme démontré précédemment.

Un prélèvement sanguin sera effectué au cours de la même visite que l'examen TEP en vue de la réalisation du dosage des marqueurs circulants du déséquilibre angiogénique. Les plasmas préparés à partir des prélèvements seront conservés à -80°C jusqu'à la fin des inclusions. Les analyses seront réalisées en fin d'étude simultanément sur l'ensemble des prélèvements.

La seconde TEP au [<sup>68</sup>Ga]Ga-NODAGA-RGD sera réalisée après la dernière injection d'anti-angiogénique.

Les images de l'examen TEP au [<sup>68</sup>Ga]Ga-NODAGA-RGD seront interprétées à l'insu des résultats des autres examens et de l'histoire clinique. Deux médecins nucléaires expérimentés n'ayant pas connaissance des résultats des examens du bilan de référence rempliront une grille recensant les quantifications moyennes et maximales du signal TEP au [<sup>68</sup>Ga]Ga-NODAGA-RGD (SUVmean et SUVmax) au niveau du foie de chaque patient.

#### ***b. Durée de l'étude***

Aucune visite de suivi n'est prévue spécifiquement dans le cadre de ce protocole de recherche à l'issue de la deuxième TEP au [<sup>68</sup>Ga]Ga-NODAGA-RGD. Le rythme de suivi de routine est au minimum annuel dans le cadre de la prise en charge classique de la pathologie.

La durée totale de participation d'un patient peut donc être estimée à maximum 4 mois.

#### ***c. Recrutement***

Ce projet associe initialement pour les inclusions les services de Médecine Interne du CHU Timone AP-HM (Pr J.-R. HARLE, Dr J. SEGUIER), du CHRU St Eloi-Montpellier (Dr S. RIVIERE), et du CHU de Nice-l'Archet (Dr QUEYREL, Pr FUZIBET) de notre région. Ce projet était initialement régional, cependant, après réflexion, nous avons décidé d'élargir notre périmètre au niveau national pour permettre un recrutement plus large et de données plus robustes.

Dans le sud de la France, les CHU Timone et CHRU St Eloi-Montpellier sont désignés par la Haute Autorité de Santé « Centres Régionaux de Compétence pour la Maladie de Rendu-Osler » : ils portent l'expertise interrégionale pour le diagnostic et le suivi des patients atteints de cette maladie vasculaire rare. Les centres recruteurs ont une file active d'au moins 200 patients. Au regard des critères de sélection et de la file active, une durée d'inclusion de moins de 20 mois nous permettra d'assurer le recrutement de 30 patients.

#### ***d. Critères d'inclusions et de non-inclusions***

Les patients inclus dans cette étude devront répondre aux critères suivants :

- Age  $\geq$  18 ans, affiliation à un régime de sécurité sociale.
- Signature du consentement éclairé.
- Sujets ayant fait l'objet d'un diagnostic de maladie de Rendu-Osler sur la base des recommandations du PNDS, naïfs de tout traitement anti-angiogénique et présentant

une MAV hépatique au diagnostic initial ou lors du suivi, avec un bilan comprenant une imagerie morphologique (scannographie injectée et IRM) datant de maximum 3 mois au moment de la TEP au [<sup>68</sup>Ga]Ga-NODAGA-RGD.

Les patients exclus de cette étude seront :

- Femmes enceintes ou en cours d'allaitement, par mesure de radioprotection.
- Patients de moins de 18 ans et/ou non affiliés à un régime de sécurité sociale.
- Patients ayant déjà été traités par thérapie anti-angiogénique.
- Patients présentant une MAV autre qu'hépatique (cérébrale, pulmonaire...).

### 3. Chronologie lors des différentes visites

#### *a. Visite 1 : Éligibilité/Inclusion*

Au cours de cette visite, l'ensemble des éléments détaillés ci-dessous sera recueilli :

- Vérification des critères d'inclusion et de non-inclusion.
- Recueil du consentement éclairé signé. Le patient aura été informé au préalable par l'investigateur et aura disposé du délai de réflexion nécessaire à sa prise de décision.
- Données démographiques : date de naissance, sexe.
- Données cliniques : taille, poids, ...
- Histoire de la maladie.
- Données de l'imagerie morphologique.
- Données génétiques (avec profil de mutation Eng/Alk1/Smad4, si applicable).
- Programmation de la TEP au [<sup>68</sup>Ga]Ga-NODAGA-RGD.

#### *b. Visite 2 : prélèvement sanguin et examen TEP au [<sup>68</sup>Ga]Ga-NODAGA-RGD (M0)*

Cette visite aura lieu au plus tard dans le mois qui suit l'imagerie morphologique.

- Paramètres inhérents à l'examen : activité, lot, délai avant acquisition, durée d'acquisition.
- Prélèvement sanguin (1 tube EDTA de 5 ml).
- TEP : identification et localisation des foyers d'hyperfixation, SUV moyen et maximal des lésions.
- Données de l'injection d'anti-angiogénique n°1 (spécialité, posologie, observations).

*c. Visite 3, 4, 5, 6, 7 : Prise en charge et suivi classiques de la pathologie (J14, J28, J42, J56, 70)*

Données des injections d'anti-angiogéniques n°2, 3, 4, 5 et 6 (spécialité, posologie, observations).

*d. Visite 8 : 2<sup>ème</sup> examen TEP au [<sup>68</sup>Ga]Ga-NODAGA-RGD (M4)*

- Paramètres inhérents à l'examen : activité, lot, délai avant acquisition, durée d'acquisition.
- TEP : identification et localisation des foyers d'hyperfixation, SUV moyen et maximal des lésions.

#### **4. Rôle de la radiopharmacie dans le projet**

*a. Rédaction du DME*

Comme nous l'avons vu précédemment, le montage et la rédaction d'un DME sont nécessaires pour débiter une RIPH et pour utiliser le médicament expérimental. Le DME du [<sup>68</sup>Ga]Ga-NODAGA-RGD était rédigé par l'équipe pharmaceutique et est déjà validé pour une RIPH au sein de notre structure. Celui-ci sera donc de nouveau soumis à l'ANSM pour ce nouvel essai.

*b. Rédaction du protocole clinique*

De plus, pour commencer un essai, l'élaboration d'un protocole clinique est nécessaire. Il sera soumis au CPP et aux autorités de santé (ANSM) afin de débiter l'essai.

Il s'agit d'un document écrit officiel décrivant la manière dont une RIPH est réalisée. Il est élaboré en commun par l'initiateur du projet, le promoteur, les investigateurs et les autres personnes impliquées dans le projet (radiopharmaciens, biologistes). Le format et le contenu du protocole sont normalisés et sont conformes aux directives relatives aux bonnes pratiques cliniques (BPC) :

- **La page de titre** : il s'agit d'informations générales comprenant le titre du protocole, son numéro d'identification, la date et le numéro de version, le nom des investigateurs, du porteur de notre projet, le promoteur (Assistance Publique-Hôpitaux de Marseille) et leur adresse.
- **La justification et le contexte** : elle permet d'argumenter la pertinence de l'étude et de justifier l'étude compte tenu des connaissances actuelles. Pour notre projet, il s'agit des données générales sur la MRO, sur l'imagerie TEP et le ciblage des intégrines  $\alpha\beta 3$ .
- **Les objectifs et la population étudiée** : notre étude vise à évaluer la capacité de l'imagerie TEP au [<sup>68</sup>Ga]Ga-NODAGA-RGD à mettre en évidence chez des patients

atteints de la maladie de Rendu Osler et présentant des MAV hépatiques, une réponse thérapeutique moléculaire aux injections d'anti-angiogéniques.

- **Le type d'étude** : il s'agit d'une étude pilote à visée exploratoire, transversale, évaluant des individus présentant une maladie de Rendu-Osler. De plus, les critères d'inclusion et d'exclusion sont précisés dans cette partie.
- **Le déroulement pratique** : la chronologie et les données recueillies lors des différentes visites sont expliquées dans cette partie.
- **L'aspect statistique** : cette partie comporte la justification du nombre nécessaire de sujets pour l'étude et l'analyse statistiques des données.
- **Les aspects réglementaires et éthiques** : les principaux points à développer sont les responsables de l'étude, la vigilance des RIPH (événements indésirables), les aspects réglementaires (autorisation de la commission nationale de l'informatique et des libertés, ANSM, avis du CPP), la durée de l'étude et l'archivage des documents (l'investigateur doit conserver les documents de l'étude pendant 15 ans à partir de la date de signature du rapport final de l'étude).
- **Les annexes** : *curriculum vitae* du porteur de projet, de l'investigateur coordonnateur et de la méthodologiste. Fiche budgétaire et justification du budget pharmaceutique. Fiche de déclaration d'événements indésirables graves. Notice d'information et recueil du consentement. DME1 et 2.

L'ensemble de ce protocole a été rédigé en coordination avec les différents acteurs de notre projet avec une actualisation récente des données bibliographiques.

### *c. Validation pharmaceutique et synthèse du [<sup>68</sup>Ga]Ga-NODAGA-RGD*

Après validation de la prescription de [<sup>68</sup>Ga]Ga-NODAGA-RGD par le radiopharmacien sur le logiciel de prescription, la synthèse pourra alors commencer. La procédure de radiomarquage est placée sous la responsabilité du radiopharmacien qui a reçu délégation du pharmacien gérant de la PUI (Pharmacie à usage intérieur) et du chef de service de Médecine Nucléaire AP-HM.

La fabrication des préparations pour RIPH de [<sup>68</sup>Ga]Ga-NODAGA-RGD sera réalisée dans le laboratoire chaud de l'Hôpital Nord.

De façon générale, toute préparation de médicament radiopharmaceutique doit être réalisée dans une enceinte, adaptée aux radioéléments et aux activités manipulées conformément aux normes de radioprotection et d'hygiène. Les étapes de stérilisation sont réalisées sous une hotte

à flux laminaire blindée (ISO4.8/classe A) par filtration stérilisante conformément aux recommandations des bonnes pratiques de fabrication (BPF 2007/2bis (137)).

Les locaux et enceintes de travail du laboratoire font l'objet de nettoyage et désinfection réguliers. Les contrôles bactériologiques des surfaces et de l'air sont réalisés par le Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales (CLIN) du centre investigateur.

L'élué du générateur  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , le radiomarquage du peptide NODAGA-RGD en flacon stérile apyrogène, ainsi que la purification du radiopeptide sont réalisés au moyen d'un automate de synthèse hébergé au sein d'une enceinte blindée haute énergie ISO4.8/classe A.

Les contrôles qualités des matières premières, de la procédure de radiomarquage, ainsi que ceux de la préparation finale pour les RIPH devront satisfaire les normes décrites dans le DME 1.

Brièvement la procédure de radiomarquage se déroule selon les étapes suivantes de façon automatisée dans le module de synthèse :

- Élué du générateur : le générateur  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  est élué avec une solution de HCl 0,1M de qualité pharmaceutique.
- Radiomarquage : l'élué de  $^{68}\text{Ga}$  est ajouté par l'automate dans le flacon stérile et apyrogène contenant le peptide NODAGA-RGD (20 µg). Une étape de chauffage est alors initiée (95°C, 7 min).
- Purification : le peptide [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-NODAGA-RGD est purifié par passage sur colonne RP18 mini-cartridge (tC18 cartridge) et élué dans une solution d'éthanol injectable 95%. Le produit final est dilué dans une solution stérile de NaCl 0,9%/éthanol : 10/0.8 v/v.
- Stérilisation : la solution purifiée de [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-NODAGA-RGD est alors stérilisée par filtration stérilisante dans un flacon stérile et apyrogène en atmosphère classe A.
- Contrôle qualité : les caractères organoleptiques, les puretés radiochimique et radionucléidique, le pH, ainsi que la présence d'endotoxines sont évalués. La vérification de chacun de ces contrôles est indispensable à la validation et la libération de la préparation par le radiopharmacien. Un contrôle bactériologique par ensemencements est effectué le jour même.

Chaque préparation possède un numéro d'enregistrement ainsi qu'une fiche de fabrication qui sont colligés dans le registre pharmaceutique de l'essai. Le numéro d'enregistrement de la préparation est également rapporté dans le cahier d'observation des patients inclus dans l'essai.

Une dose unitaire (individuelle) est prélevée à hauteur de 2,5 MBq/kg, représentant moins de 1 ng de NODAGA-RGD par injection. Cette dose traceuse, suffisante à des fins d'imagerie, n'est pas susceptible d'induire d'effet pharmacologique en l'état actuel des connaissances.

Une dizaine de synthèses ont été réalisées par notre équipe afin d'être formée à l'utilisation de ce traceur et être opérationnelle pour le début de cette étude.

#### *d. Déroulement pratique TEP*

Les patients sont explorés à jeun au minimum depuis 3 heures. La consommation d'eau est non seulement autorisée mais encouragée, une bonne hydratation réduisant l'irradiation vésicale.

Le jour de l'examen, le patient se rend au centre TEP. Il est allongé et une perfusion de sérum physiologique est mise en place. Le  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-NODAGA-RGD}$  est alors injecté : le site d'injection est choisi à distance des zones de fixation potentielles, donc à priori dans l'avant-bras. Le patient reste en position de repos.

L'examen TEP débute  $75 \pm 15$  min après l'injection du radiotracer, vessie vidée, et couvre du vertex du crâne au haut des cuisses, pour une durée de 20-30 min environ. Les images TEP sont ensuite reconstruites et interprétées. Au total, le patient passera environ 3h dans le centre et ne sera plus irradiant pour le public à sa sortie.

### **C. Analyses des données**

Dans un premier temps, la description de l'échantillon sera réalisée sur l'ensemble des paramètres sociodémographiques et cliniques disponibles. Les variables qualitatives seront présentées sous la forme de proportions et effectifs, les variables quantitatives à l'aide des moyennes et écarts-types, ou médianes et quartiles. Pour chaque variable sera précisée la proportion de données manquantes. La normalité de ces paramètres sera évaluée à l'aide des histogrammes de fréquence et de tests de Shapiro. Des transformations mathématiques simples pourront être utilisées afin de normaliser les données non-normales le cas échéant.

Pour répondre à l'objectif principal, les intensités du signal TEP (SUV<sub>max</sub>) à M0 et M4 seront comparées par un test de comparaison des moyennes (test t de Student pour échantillons appariés).

Pour les objectifs secondaires : les liens entre concentrations plasmatiques des marqueurs circulants du déséquilibre angiogénique (VEGF-A, Ang-2, sEng, miR-27a, miR-205 et miR-210) et SUV<sub>max</sub>, SUV<sub>moyen</sub>, seront documentés par l'étude des corrélations (coefficients de corrélation de Spearman).

## CONCLUSION

L'imagerie *in vivo* de l'angiogenèse est un domaine en plein essor avec de nombreuses perspectives en physiopathologies cardiovasculaire et oncologique. En effet, les progrès technologiques et radiopharmaceutiques ouvrent la voie au développement de nouveaux radiotraceurs.

Dans cette perspective, nous souhaitons évaluer l'intérêt de la TEP au NODAGA-RGD dans la MRO. Nous avons souhaité cibler notre protocole sur les MAV hépatiques, au regard de leur fréquence, de leur localisation subdiaphragmatique et de leur large documentation du point de vue du traitement anti-angiogénique.

Notre étude qui intègre les outils les plus modernes de l'imagerie, apportera des données nouvelles dans la littérature. Ce nouvel outil nous permettrait de documenter les MAV hépatiques, leur activité angiogénique dans cette maladie rare vasculaire, et d'évaluer l'intérêt [<sup>68</sup>Ga]Ga-NODAGA-RGD dans la prise en charge thérapeutique des anti-angiogéniques qui sont une avancée majeure dans la prise en charge des MAV dans la MRO.

## Références bibliographiques :

1. Harper PS, Harper P of M and H of DI of MGPS. Landmarks in Medical Genetics: Classic Papers with Commentaries. Oxford University Press, USA; 2004. 324 p.
2. Parkes Weber F. MULTIPLE HEREDITARY DEVELOPMENTAL ANGIOMATA (TELANGIECTASES) OF THE SKIN AND MUCOUS MEMBRANES ASSOCIATED WITH RECURRING HÆMORRHAGES. The Lancet. 20 juill 1907;170(4377):160-2.
3. Folkman J. New perspectives in clinical oncology from angiogenesis research. Eur J Cancer. 1 déc 1996;32(14):2534-9.
4. Garcia A, Singh H. Bevacizumab and ovarian cancer. Ther Adv Med Oncol. mars 2013;5(2):133-41.
5. Rosen LS, Jacobs IA, Burkes RL. Bevacizumab in Colorectal Cancer: Current Role in Treatment and the Potential of Biosimilars. Target Oncol. 2017;12(5):599-610.
6. von Minckwitz G, Eidtmann H, Rezai M, Fasching PA, Tesch H, Eggemann H, et al. Neoadjuvant Chemotherapy and Bevacizumab for HER2-Negative Breast Cancer [Internet]. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1111065>. Massachusetts Medical Society; 2012 [cité 10 déc 2021]. Disponible sur: <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1111065>
7. Iyer VN, Apala DR, Pannu BS, Kotecha A, Brinjikji W, Leise MD, et al. Intravenous Bevacizumab for Refractory Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia-Related Epistaxis and Gastrointestinal Bleeding. Mayo Clin Proc. févr 2018;93(2):155-66.
8. Dupuis-Girod S, Ginon I, Saurin JC, Marion D, Guillot E, Decullier E, et al. Bevacizumab in patients with hereditary hemorrhagic telangiectasia and severe hepatic vascular malformations and high cardiac output. JAMA. 7 mars 2012;307(9):948-55.
9. Maladie de Rendu-Osler, PNDS [Internet]. [cité 7 juill 2021]. Disponible sur: [https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2018-01/maladie\\_de\\_rendu-osler\\_-\\_pnds.pdf](https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2018-01/maladie_de_rendu-osler_-_pnds.pdf)
10. Grönman M, Tarkia M, Kiviniemi T, Halonen P, Kuivanen A, Savunen T, et al. Imaging of  $\alpha v \beta 3$  integrin expression in experimental myocardial ischemia with [68Ga]NODAGA-RGD positron emission tomography. J Transl Med. 19 juin

2017;15(1):144.

11. Corroyer-Dulmont A, Pérès EA, Gérault AN, Savina A, Bouquet F, Divoux D, et al. Multimodal imaging based on MRI and PET reveals [(18)F]FLT PET as a specific and early indicator of treatment efficacy in a preclinical model of recurrent glioblastoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. avr 2016;43(4):682-94.
12. Guttmacher AE, Marchuk DA, White RI. Hereditary hemorrhagic telangiectasia. *N Engl J Med*. 5 oct 1995;333(14):918-24.
13. Grand'Maison A. Hereditary hemorrhagic telangiectasia. *CMAJ Can Med Assoc J J Assoc Medicale Can*. 14 avr 2009;180(8):833-5.
14. Abdalla SA, Letarte M. Hereditary haemorrhagic telangiectasia: current views on genetics and mechanisms of disease. *J Med Genet*. févr 2006;43(2):97-110.
15. Bideau A, Plauchu H, Brunet G, Robert JM. Étude épidémiologique de la maladie de Rendu-Osler en France : répartition géographique et prévalence. *Population*. 1989;44(1):9-28.
16. Brunet G, Lesca G, Génin E, Dupuis-Girod S, Bideau A, Plauchu H. Trente ans d'étude de la maladie de Rendu-Osler en France : démographie historique, génétique des populations et biologie moléculaire. *Population*. 2009;Vol. 64(2):305-25.
17. McAllister KA, Grogg KM, Johnson DW, Gallione CJ, Baldwin MA, Jackson CE, et al. Endoglin, a TGF-beta binding protein of endothelial cells, is the gene for hereditary haemorrhagic telangiectasia type 1. *Nat Genet*. déc 1994;8(4):345-51.
18. Koleva RI, Conley BA, Romero D, Riley KS, Marto JA, Lux A, et al. Endoglin structure and function: Determinants of endoglin phosphorylation by transforming growth factor-beta receptors. *J Biol Chem*. 1 sept 2006;281(35):25110-23.
19. Rossi E, Lopez-Novoa JM, Bernabeu C. Endoglin involvement in integrin-mediated cell adhesion as a putative pathogenic mechanism in hereditary hemorrhagic telangiectasia type 1 (HHT1). *Front Genet*. 2014;5:457.
20. Johnson DW, Berg JN, Gallione CJ, McAllister KA, Warner JP, Helmbold EA, et al. A second locus for hereditary hemorrhagic telangiectasia maps to chromosome 12. *Genome Res*. août 1995;5(1):21-8.
21. Abdalla SA, Pece-Barbara N, Vera S, Tapia E, Paez E, Bernabeu C, et al. Analysis of

- ALK-1 and endoglin in newborns from families with hereditary hemorrhagic telangiectasia type 2. *Hum Mol Genet.* 1 mai 2000;9(8):1227-37.
22. Gallione CJ, Richards JA, Letteboer TGW, Rushlow D, Prigoda NL, Leedom TP, et al. SMAD4 mutations found in unselected HHT patients. *J Med Genet.* oct 2006;43(10):793-7.
23. Williams JCB, Hamilton JK, Shiller M, Fischer L, dePrisco G, Boland CR. Combined juvenile polyposis and hereditary hemorrhagic telangiectasia. *Proc Bayl Univ Med Cent.* oct 2012;25(4):360-4.
24. Lesca G, Burnichon N, Raux G, Tosi M, Pinson S, Marion MJ, et al. Distribution of ENG and ACVRL1 (ALK1) mutations in French HHT patients. *Hum Mutat.* juin 2006;27(6):598.
25. Wooderchak-Donahue WL, McDonald J, O'Fallon B, Upton PD, Li W, Roman BL, et al. BMP9 mutations cause a vascular-anomaly syndrome with phenotypic overlap with hereditary hemorrhagic telangiectasia. *Am J Hum Genet.* 5 sept 2013;93(3):530-7.
26. Robert F, Desroches-Castan A, Bailly S, Dupuis-Girod S, Feige JJ. Future treatments for hereditary hemorrhagic telangiectasia. *Orphanet J Rare Dis.* 07 2020;15(1):4.
27. Loaëc M, Morinière S, Hitier M, Ferrant O, Plauchu H, Babin E. Psychosocial quality of life in hereditary haemorrhagic telangiectasia patients. *Rhinology.* juin 2011;49(2):164-7.
28. Haitjema T, Balder W, Disch FJ, Westermann CJ. Epistaxis in hereditary haemorrhagic telangiectasia. *Rhinology.* sept 1996;34(3):176-8.
29. Porteous ME, Burn J, Proctor SJ. Hereditary haemorrhagic telangiectasia: a clinical analysis. *J Med Genet.* août 1992;29(8):527-30.
30. CENTRE NATIONAL de REFERENCE - maladie de RENDU-OSLER - Télangiectasies Hémorragiques Héritaires [Internet]. [cité 28 juill 2021]. Disponible sur: <http://www.rendu-osler.fr/>
31. Ben Kheder A, Israël-Biet D, Cottin V. Malformations artérioveineuses pulmonaires et maladie de Rendu-Osler. *Rev Mal Respir Actual.* juin 2009;1(3):164-7.
32. Letteboer TGW, Mager JJ, Snijder RJ, Koeleman BPC, Lindhout D, Ploos van Amstel JK, et al. Genotype-phenotype relationship in hereditary haemorrhagic telangiectasia. *J Med*

Genet. avr 2006;43(4):371-7.

33. Garcia-Tsao G. Liver involvement in hereditary hemorrhagic telangiectasia (HHT). *J Hepatol.* mars 2007;46(3):499-507.
34. Kjeldsen AD, Kjeldsen J. Gastrointestinal bleeding in patients with hereditary hemorrhagic telangiectasia. *Am J Gastroenterol.* févr 2000;95(2):415-8.
35. Shovlin CL, Letarte M. Hereditary haemorrhagic telangiectasia and pulmonary arteriovenous malformations: issues in clinical management and review of pathogenic mechanisms. *Thorax.* 1 août 1999;54(8):714-29.
36. Lesca G, Olivieri C, Burnichon N, Pagella F, Carette MF, Gilbert-Dussardier B, et al. Genotype-phenotype correlations in hereditary hemorrhagic telangiectasia: data from the French-Italian HHT network. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet.* janv 2007;9(1):14-22.
37. Bayrak-Toydemir P, McDonald J, Markewitz B, Lewin S, Miller F, Chou LS, et al. Genotype-phenotype correlation in hereditary hemorrhagic telangiectasia: mutations and manifestations. *Am J Med Genet A.* 1 mars 2006;140(5):463-70.
38. Karlsson T, Cherif H. Mutations in the ENG, ACVRL1, and SMAD4 genes and clinical manifestations of hereditary haemorrhagic telangiectasia: experience from the Center for Osler's Disease, Uppsala University Hospital. *Ups J Med Sci.* sept 2018;123(3):153-7.
39. Plauchu H, de Chadarevian JP, Bideau A, Robert JM. Age-related clinical profile of hereditary hemorrhagic telangiectasia in an epidemiologically recruited population. *Am J Med Genet.* mars 1989;32(3):291-7.
40. Shovlin CL, Guttmacher AE, Buscarini E, Faughnan ME, Hyland RH, Westermann CJ, et al. Diagnostic criteria for hereditary hemorrhagic telangiectasia (Rendu-Osler-Weber syndrome). *Am J Med Genet.* 6 mars 2000;91(1):66-7.
41. Guilhem A, Ciudad M, Leguy-Seguin V, Nicolas B, Berthier S, Maillet T, et al. Implication des lymphocytes T angiogéniques au cours de la maladie de Rendu–Osler. *Rev Médecine Interne.* 1 juin 2019;40:A98-9.
42. Botella LM, Albiñana V, Ojeda-Fernandez L, Recio-Poveda L, Bernabéu C. Research on potential biomarkers in hereditary hemorrhagic telangiectasia. *Front Genet.* 31 mars 2015;6:115.

43. Sadick H, Riedel F, Naim R, Goessler U, Hörmann K, Hafner M, et al. Patients with hereditary hemorrhagic telangiectasia have increased plasma levels of vascular endothelial growth factor and transforming growth factor-beta1 as well as high ALK1 tissue expression. *Haematologica*. juin 2005;90(6):818-28.
44. Giordano P, Lenato GM, Pierucci P, Suppressa P, Altomare M, Del Vecchio G, et al. Effects of VEGF on phenotypic severity in children with hereditary hemorrhagic telangiectasia. *J Pediatr Hematol Oncol*. août 2009;31(8):577-82.
45. Eklund L, Saharinen P. Angiopoietin signaling in the vasculature. *Exp Cell Res*. 15 mai 2013;319(9):1271-80.
46. Ojeda-Fernandez L, Barrios L, Rodriguez-Barbero A, Recio-Poveda L, Bernabeu C, Botella LM. Reduced plasma levels of Ang-2 and sEng as novel biomarkers in hereditary hemorrhagic telangiectasia (HHT). *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2 avr 2010;411(7-8):494-9.
47. Zhou Q, Gallagher R, Ufret-Vincenty R, Li X, Olson EN, Wang S. Regulation of angiogenesis and choroidal neovascularization by members of microRNA-23~27~24 clusters. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 17 mai 2011;108(20):8287-92.
48. Tabruyn SP, Hansen S, Ojeda-Fernández ML, Bovy N, Zarrabeitia R, Recio-Poveda L, et al. MiR-205 is downregulated in hereditary hemorrhagic telangiectasia and impairs TGF-beta signaling pathways in endothelial cells. *Angiogenesis*. oct 2013;16(4):877-87.
49. Zhang Q, Kandic I, Faughnan ME, Kutryk MJ. Elevated circulating microRNA-210 levels in patients with hereditary hemorrhagic telangiectasia and pulmonary arteriovenous malformations: a potential new biomarker. *Biomark Biochem Indic Expo Response Susceptibility Chem*. févr 2013;18(1):23-9.
50. CENTRE NATIONAL de REFERENCE - maladie de Rendu-Osler - Télangiectasies Hémorragiques Héréditaires [Internet]. [cité 26 juill 2021]. Disponible sur: [http://www.rendu-osler.fr/clinique\\_poumon.php](http://www.rendu-osler.fr/clinique_poumon.php)
51. Buscarini E, Danesino C, Olivieri C, Lupinacci G, De Grazia F, Reduzzi L, et al. Doppler ultrasonographic grading of hepatic vascular malformations in hereditary hemorrhagic telangiectasia -- results of extensive screening. *Ultraschall Med Stuttg Ger* 1980. sept 2004;25(5):348-55.

52. Olitsky SE. Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia: Diagnosis and Management. *Am Fam Physician*. 1 oct 2010;82(7):785-90.
53. Geisthoff UW, Nguyen HL, Röth A, Seyfert U. How to manage patients with hereditary haemorrhagic telangiectasia. *Br J Haematol*. nov 2015;171(4):443-52.
54. Faughnan ME, Mager JJ, Hetts SW, Palda VA, Lang-Robertson K, Buscarini E, et al. Second International Guidelines for the Diagnosis and Management of Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia. *Ann Intern Med*. 15 déc 2020;173(12):989-1001.
55. Chavan A, Luthe L, Gebel M, Barg-Hock H, Seifert H, Raab R, et al. Complications and clinical outcome of hepatic artery embolisation in patients with hereditary haemorrhagic telangiectasia. *Eur Radiol*. 2013;23(4):951-7.
56. Kitamura T, Tanabe S, Koizumi W, Ohida M, Saigengi K, Mitomi H. Rendu-Osler-Weber disease successfully treated by argon plasma coagulation. *Gastrointest Endosc*. oct 2001;54(4):525-7.
57. Geisthoff UW, Seyfert UT, Kübler M, Bieg B, Plinkert PK, König J. Treatment of epistaxis in hereditary hemorrhagic telangiectasia with tranexamic acid - a double-blind placebo-controlled cross-over phase IIIB study. *Thromb Res*. sept 2014;134(3):565-71.
58. Flieger D, Hainke S, Fischbach W. Dramatic improvement in hereditary hemorrhagic telangiectasia after treatment with the vascular endothelial growth factor (VEGF) antagonist bevacizumab. *Ann Hematol*. sept 2006;85(9):631-2.
59. Fleagle JM, Bobba RK, Kardinal CG, Freter CE. Iron deficiency anemia related to hereditary hemorrhagic telangiectasia: response to treatment with bevacizumab. *Am J Med Sci*. mars 2012;343(3):249-51.
60. Lupu A, Stefanescu C, Treton X, Attar A, Corcos O, Bouhnik Y. Bevacizumab as rescue treatment for severe recurrent gastrointestinal bleeding in hereditary hemorrhagic telangiectasia. *J Clin Gastroenterol*. mars 2013;47(3):256-7.
61. Föllner S, Ibe M, Schreiber J. Bevacizumab treatment in hereditary hemorrhagic teleangiectasia. *Eur J Clin Pharmacol*. déc 2012;68(12):1685-6.
62. Al-Samkari H, Kasthuri RS, Parambil JG, Albitar HA, Almodallal YA, Vázquez C, et al. An international, multicenter study of intravenous bevacizumab for bleeding in hereditary hemorrhagic telangiectasia: the InHIBIT-Bleed study. *Haematologica*. 16 juill

2020;106(8):2161-9.

63. Albitar HAH, Almodallal Y, Gallo De Moraes A, O'Brien E, Choby GW, Pruthi RK, et al. Intravenous Bevacizumab in Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia-Related Bleeding and High-Output Cardiac Failure: Significant Inter-Individual Variability in the Need for Maintenance Therapy. *Mayo Clin Proc.* août 2020;95(8):1604-12.
64. Faughnan ME, Gossage JR, Chakinala MM, Oh SP, Kasthuri R, Hughes CCW, et al. Pazopanib may reduce bleeding in hereditary hemorrhagic telangiectasia. *Angiogenesis.* 2019;22(1):145-55.
65. Kovacs-Sipos E, Holzmann D, Scherer T, Soyka MB. Nintedanib as a novel treatment option in hereditary haemorrhagic telangiectasia. *BMJ Case Rep.* 26 juin 2017;2017:bcr2017219393.
66. Papetti M, Herman IM. Mechanisms of normal and tumor-derived angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol.* mai 2002;282(5):C947-970.
67. Arik B, Kastelein A, Klaassen I, Jansen C, Latul Y, Vittori M, et al. Angiogenesis in gynecological cancers and the options for anti-angiogenesis therapy. *Biochim Biophys Acta BBA - Rev Cancer.* 1 janv 2021;1875:188446.
68. Stetler-Stevenson WG. Matrix metalloproteinases in angiogenesis: a moving target for therapeutic intervention. *J Clin Invest.* 1 mai 1999;103(9):1237-41.
69. Ernkvist M, Birot O, Sinha I, Veitonmaki N, Nyström S, Aase K, et al. Differential roles of p80- and p130-angiomotin in the switch between migration and stabilization of endothelial cells. *Biochim Biophys Acta BBA - Mol Cell Res.* 1 mars 2008;1783(3):429-37.
70. Troyanovsky B, Levchenko T, Månsson G, Matvijenko O, Holmgren L. Angiomotin: An Angiostatin Binding Protein That Regulates Endothelial Cell Migration and Tube Formation. *J Cell Biol.* 19 mars 2001;152(6):1247-54.
71. Wu L, Chen L, Li L. Apelin/APJ system: A novel promising therapy target for pathological angiogenesis. *Clin Chim Acta.* 1 mars 2017;466:78-84.
72. Wysocka MB, Pietraszek-Gremplewicz K, Nowak D. The Role of Apelin in Cardiovascular Diseases, Obesity and Cancer. *Front Physiol [Internet].* 2018 [cité 11 juin 2022];9. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphys.2018.00557>

73. Jonker L. TGF- $\beta$  & BMP Receptors Endoglin and ALK1: Overview of their Functional Role and Status as Antiangiogenic Targets. *Microcirculation*. 2014;21(2):93-103.
74. David L, Feige JJ, Bailly S. Emerging role of bone morphogenetic proteins in angiogenesis. *Cytokine Growth Factor Rev*. juin 2009;20(3):203-12.
75. Bailly S, Dupuis-Girod S, Plauchu H. Maladie de Rendu-Osler - Dysfonctionnement de la signalisation TGF $\beta$  dans les cellules endothéliales. *médecine/sciences*. 1 oct 2010;26(10):855-60.
76. Tzavlaki K, Moustakas A. TGF- $\beta$  Signaling. *Biomolecules*. 23 mars 2020;10(3):487.
77. Shovlin CL. Hereditary haemorrhagic telangiectasia: Pathophysiology, diagnosis and treatment. *Blood Rev*. 1 nov 2010;24(6):203-19.
78. Rossi E, Smadja D, Boscolo E, Langa C, Arévalo M, Pericacho M, et al. Endoglin regulates mural cell adhesion in the circulatory system. *Cell Mol Life Sci CMLS*. 1 avr 2016;73.
79. Plow EF, Meller J, Byzova TV. Integrin function in vascular biology: a view from 2013. *Curr Opin Hematol*. mai 2014;21(3):241-7.
80. Eliceiri BP. Integrin and growth factor receptor crosstalk. *Circ Res*. 7 déc 2001;89(12):1104-10.
81. Seker A, Yildirim Ö, Kurtkaya Ö, Sav A, Günel M, Pamir MN, et al. Expression of Integrins in Cerebral Arteriovenous and Cavernous Malformations. *Neurosurgery*. 1 jan 2006;58(1):159-68.
82. Collet C, Remy S, Karcher G, Véran N. Radiomarquage du NODAGA-RGD par le Gallium-68 : Premiers résultats avec l'automate Trasis mAIO®. :25.
83. Xiong JP, Stehle T, Zhang R, Joachimiak A, Frech M, Goodman SL, et al. Crystal Structure of the Extracellular Segment of Integrin  $\alpha$ V $\beta$ 3 in Complex with an Arg-Gly-Asp Ligand. *Science*. 2002;296(5565):151-5.
84. Marinelli L, Lavecchia A, Gottschalk KE, Novellino E, Kessler H. Docking studies on alphavbeta3 integrin ligands: pharmacophore refinement and implications for drug design. *J Med Chem*. 9 oct 2003;46(21):4393-404.
85. Mitchell A, Adams LA, MacQuillan G, Tibballs J, vanden Driesen R, Delriviere L.

Bevacizumab reverses need for liver transplantation in hereditary hemorrhagic telangiectasia. *Liver Transplant Off Publ Am Assoc Study Liver Dis Int Liver Transplant Soc.* févr 2008;14(2):210-3.

86. Moreau M. Introduction à l'imagerie par Tomographie d'Émission de Positons : définitions, approches de reconstruction et initiation aux isotopes complexes. [Internet]. 2019 [cité 11 juin 2022]. Disponible sur: <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01660503>

87. Kuhl D, Edwards RQ. *Image Separation Radioisotope Scanning.* 1963;

88. Anger HO, Gottschalk A. LOCALIZATION OF BRAIN TUMORS WITH THE POSITRON SCINTILLATION CAMERA. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* juill 1963;4:326-30.

89. International Atomic Energy Agency V (Austria). *Medical Radioisotope Scintigraphy V I Proceedings of a Symposium on Medical Radioisotope Scintigraphy.* International Atomic Energy Agency (IAEA): IAEA; 1969.

90. Phelps ME, Hoffman EJ, Mullani NA, Ter-Pogossian MM. Application of annihilation coincidence detection to transaxial reconstruction tomography. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* mars 1975;16(3):210-24.

91. Hoffmann EJ, Phelps ME, Mullani NA, Higgins CS, Ter-Pogossian MM. Design and performance characteristics of a whole-body positron transaxial tomograph. *J Nucl Med.* 1 juin 1976;17(6):493-502.

92. Introduction to PET Physics: The physical principles of PET [Internet]. [cité 31 août 2021]. Disponible sur: [https://depts.washington.edu/imreslab/from%20old%20SITE/pet\\_intro/intro\\_src/section2.html](https://depts.washington.edu/imreslab/from%20old%20SITE/pet_intro/intro_src/section2.html)

93. Pitre S. Développement d'un imageur gamma haute résolution pour la cancérologie: du traitement chirurgical du cancer à l'étude sur petits animaux. :142.

94. Kulprathipanja S, Hnatowich DJ. A method for determining the pH stability range of gallium radiopharmaceuticals. *Int J Appl Radiat Isot.* 1 janv 1977;28(1):229-33.

95. Dash A, Jr FF (Russ) K, Pillai MRA. Industrial radionuclide generators: a potential step towards accelerating radiotracer investigations in industry. *RSC Adv.* 12 août 2013;3(35):14890-909.

96. Production of Long Lived Parent Radionuclides for Generators:  $^{68}\text{Ge}$ ,  $^{82}\text{Sr}$ ,  $^{90}\text{Sr}$  and  $^{188}\text{W}$  [Internet]. [cité 15 sept 2021]. Disponible sur: [https://www-pub.iaea.org/MTCD/Publications/PDF/Pub1436\\_web.pdf](https://www-pub.iaea.org/MTCD/Publications/PDF/Pub1436_web.pdf)
97. Velikyan I.  $^{68}\text{Ga}$ -Based Radiopharmaceuticals: Production and Application Relationship. *Molecules*. 16 juill 2015;20(7):12913-43.
98. Nanabala R, Anees MK, Sasikumar A, Joy A, Pillai MRA. Preparation of [ $^{68}\text{Ga}$ ]PSMA-11 for PET-CT imaging using a manual synthesis module and organic matrix based  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  generator. *Nucl Med Biol*. 1 août 2016;43(8):463-9.
99. Gleason GI. A positron cow. *Int J Appl Radiat Isot*. juill 1960;8:90-4.
100. Résumé des Caractéristiques du Produit GalliaPharm [Internet]. [cité 20 sept 2021]. Disponible sur: <http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/rcp/R0323346.htm>
101. Wadas TJ, Wong EH, Weisman GR, Anderson CJ. Coordinating Radiometals of Copper, Gallium, Indium, Yttrium and Zirconium for PET and SPECT Imaging of Disease. *Chem Rev*. 12 mai 2010;110(5):2858-902.
102. Bandoli G, Dolmella A, Tisato F, Porchia M, Refosco F. Mononuclear six-coordinated Ga(III) complexes: A comprehensive survey. *Coord Chem Rev*. 1 janv 2009;253(1):56-77.
103. Velikyan I, Lendvai G, Vällilä M, Roivainen A, Yngve U, Bergström M, et al. Microwave accelerated  $^{68}\text{Ga}$ -labelling of oligonucleotides. *J Label Compd Radiopharm*. 2004;47(1):79-89.
104. Chomet M, Cross T, Géraudie B, Chipan AS, Talbot JN, Nataf V. Gallium-68 : considérations pratiques pour le succès des applications cliniques au sein d'un service de médecine nucléaire. *Médecine Nucl*. 1 sept 2014;38(4):229-34.
105. Harris WR, Pecoraro VL. Thermodynamic binding constants for gallium transferrin. *Biochemistry*. 18 janv 1983;22(2):292-9.
106. Spang P, Herrmann C, Roesch F. Bifunctional Gallium-68 Chelators: Past, Present, and Future. *Semin Nucl Med*. 1 sept 2016;46(5):373-94.
107. Gai Y, Sun L, Lan X, Zeng D, Xiang G, Ma X. Synthesis and Evaluation of New Bifunctional Chelators with Phosphonic Acid Arms for Gallium-68 Based PET Imaging in Melanoma. *Bioconjug Chem*. 17 oct 2018;29(10):3483-94.

108. Liu S. Radiolabeled Cyclic RGD Peptides as Integrin  $\alpha v\beta 3$ -Targeted Radiotracers: Maximizing Binding Affinity via Bivalency. *Bioconjug Chem.* déc 2009;20(12):2199-213.
109. Sivolapenko GB, Skarlos D, Pectasides D, Stathopoulou E, Milonakis A, Sirmalis G, et al. Imaging of metastatic melanoma utilising a technetium-99m labelled RGD-containing synthetic peptide. *Eur J Nucl Med.* 1 sept 1998;25(10):1383-9.
110. Haubner R, Wester HJ, Reuning U, Senekowitsch-Schmidtke R, Diefenbach B, Kessler H, et al. Radiolabeled  $\alpha v\beta 3$  Integrin Antagonists: A New Class of Tracers for Tumor Targeting. *J Nucl Med.* 1 juin 1999;40(6):1061-71.
111. Haubner R, Kuhnast B, Mang C, Weber WA, Kessler H, Wester HJ, et al. [18F]Galacto-RGD: synthesis, radiolabeling, metabolic stability, and radiation dose estimates. *Bioconjug Chem.* févr 2004;15(1):61-9.
112. Beer AJ, Lorenzen S, Metz S, Herrmann K, Watzlowik P, Wester HJ, et al. Comparison of integrin  $\alpha v\beta 3$  expression and glucose metabolism in primary and metastatic lesions in cancer patients: a PET study using 18F-galacto-RGD and 18F-FDG. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* janv 2008;49(1):22-9.
113. Knetsch PA, Petrik M, Griessinger CM, Rangger C, Fani M, Kesenheimer C, et al. [68Ga]NODAGA-RGD for imaging  $\alpha v\beta 3$  integrin expression. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* juill 2011;38(7):1303-12.
114. Dumont RA, Deininger F, Haubner R, Maecke HR, Weber WA, Fani M. Novel (64)Cu- and (68)Ga-labeled RGD conjugates show improved PET imaging of  $\alpha(v)\beta(3)$  integrin expression and facile radiosynthesis. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* août 2011;52(8):1276-84.
115. Grönman M, Tarkia M, Kiviniemi T, Halonen P, Kuivanen A, Savunen T, et al. Imaging of  $\alpha v\beta 3$  integrin expression in experimental myocardial ischemia with [68Ga]NODAGA-RGD positron emission tomography. *J Transl Med.* 19 juin 2017;15:144.
116. Jahandideh A, Stähle M, Virta J, Li XG, Liljenbäck H, Moisio O, et al. Evaluation of [68Ga]Ga-NODAGA-RGD for PET Imaging of Rat Autoimmune Myocarditis. *Front Med.* 15 déc 2021;8:783596.
117. Pohle K, Notni J, Bussemer J, Kessler H, Schwaiger M, Beer AJ. 68Ga-NODAGA-RGD is a suitable substitute for (18)F-Galacto-RGD and can be produced with high specific

activity in a cGMP/GRP compliant automated process. Nucl Med Biol. août 2012;39(6):777-84.

118. Haubner R, Finkenstedt A, Stegmayr A, Rangger C, Decristoforo C, Zoller H, et al. [68Ga]NODAGA-RGD – Metabolic stability, biodistribution, and dosimetry data from patients with hepatocellular carcinoma and liver cirrhosis. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2016;43(11):2005-13.

119. Boturyn D, Coll JL, Garanger E, Favrot MC, Dumy P. Template assembled cyclopeptides as multimeric system for integrin targeting and endocytosis. J Am Chem Soc. 12 mai 2004;126(18):5730-9.

120. Dijkgraaf I, Yim CB, Franssen GM, Schuit RC, Luurtsema G, Liu S, et al. PET imaging of  $\alpha v \beta 3$  integrin expression in tumours with 68Ga-labelled mono-, di- and tetrameric RGD peptides. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2011;38(1):128-37.

121. Minamimoto R, Karam A, Jamali M, Barkhodari A, Gambhir SS, Dorigo O, et al. Pilot prospective evaluation of (18)F-FPPRGD2 PET/CT in patients with cervical and ovarian cancer. Eur J Nucl Med Mol Imaging. juin 2016;43(6):1047-55.

122. Li L, Ma L, Shang D, Liu Z, Yu Q, Wang S, et al. Pretreatment PET/CT imaging of angiogenesis based on 18F-RGD tracer uptake may predict antiangiogenic response. Eur J Nucl Med Mol Imaging. avr 2019;46(4):940-7.

123. Luan X, Huang Y, Gao S, Sun X, Wang S, Ma L, et al. 18F-alfatide PET/CT may predict short-term outcome of concurrent chemoradiotherapy in patients with advanced non-small cell lung cancer. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2016;43(13):2336-42.

124. Zhang H, Liu N, Gao S, Hu X, Zhao W, Tao R, et al. Can an <sup>18</sup>F-ALF-NOTA-PRGD2 PET/CT Scan Predict Treatment Sensitivity to Concurrent Chemoradiotherapy in Patients with Newly Diagnosed Glioblastoma? J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med. avr 2016;57(4):524-9.

125. Zhu Z, Yin Y, Zheng K, Li F, Chen X, Zhang F, et al. Evaluation of synovial angiogenesis in patients with rheumatoid arthritis using 68Ga-PRGD2 PET/CT: a prospective proof-of-concept cohort study. Ann Rheum Dis. juin 2014;73(6):1269-72.

126. Lang CI, Döring P, Gäbel R, Vasudevan P, Lemcke H, Müller P, et al. [68Ga]-NODAGA-RGD Positron Emission Tomography (PET) for Assessment of Post Myocardial

Infarction Angiogenesis as a Predictor for Left Ventricular Remodeling in Mice after Cardiac Stem Cell Therapy. *Cells*. 30 mai 2020;9(6):E1358.

127. Sigrist CJ, Bridge A, Le Mercier P. A potential role for integrins in host cell entry by SARS-CoV-2. *Antiviral Res*. 1 mai 2020;177:104759.

128. Aguirre C, Meca-Lallana V, Barrios-Blandino A, Río B del, Vivancos J. Covid-19 in a patient with multiple sclerosis treated with natalizumab: May the blockade of integrins have a protective role? *Mult Scler Relat Disord* [Internet]. 1 sept 2020 [cité 5 avr 2022];44.

Disponible sur: [https://www.msard-journal.com/article/S2211-0348\(20\)30326-6/fulltext](https://www.msard-journal.com/article/S2211-0348(20)30326-6/fulltext)

129. Othman H, Messaoud HB, Khamessi O, Ben-Mabrouk H, Ghedira K, Bharuthram A, et al. SARS-CoV-2 Spike Protein Unlikely to Bind to Integrins via the Arg-Gly-Asp (RGD) Motif of the Receptor Binding Domain: Evidence From Structural Analysis and Microscale Accelerated Molecular Dynamics. *Front Mol Biosci*. 14 févr 2022;9:834857.

130. Lobeek D, Bouwman FCM, Aarntzen EHJG, Molkenboer-Kuenen JDM, Flucke UE, Nguyen HL, et al. A Clinical Feasibility Study to Image Angiogenesis in Patients with Arteriovenous Malformations Using 68Ga-RGD PET/CT. *J Nucl Med*. févr 2020;61(2):270-5.

131. Papagiannaki C, Clarençon F, Ponsonnard S, Couquet C, Maizeroi-Eugène F, Bresson D, et al. Development of an angiogenesis animal model featuring brain arteriovenous malformation histological characteristics. *J Neurointerventional Surg*. févr 2017;9(2):204-10.

132. Quel est le rôle de la recherche clinique ? [Internet]. [cité 21 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.leem.org/100-questions/quel-est-le-role-de-la-recherche-clinique>

133. HERON AM. La loi Jardé en 4 minutes [Internet]. *SoEpidemio*. 2020 [cité 28 sept 2021]. Disponible sur: <https://soepidemie.com/2020/01/22/la-loi-jarde-en-4-minutes/>

134. Article L1121-1 - Code de la santé publique - Légifrance [Internet]. [cité 23 sept 2021]. Disponible sur:

[https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article\\_lc/LEGIARTI000032722870/](https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000032722870/)

135. Article L1123-7 - Code de la santé publique - Légifrance [Internet]. [cité 23 sept 2021]. Disponible sur:

[https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article\\_lc/LEGIARTI000042654861](https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000042654861)

136. Diebolt V, Misse C. Les sources de financement de la recherche à l'hôpital. *Sante Soc*.

2014;129-56.

137. Bonnes Pratique de Préparation [Internet]. [cité 27 sept 2021]. Disponible sur:  
<https://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/bo0707.pdf>

138. Article R5112-1 - Code de la santé publique - Légifrance [Internet]. [cité 27 sept 2021]. Disponible sur:  
[https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article\\_lc/LEGIARTI000033857206/](https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000033857206/)

139. Todde S, Windhorst AD, Behe M, Bormans G, Decristoforo C, Faivre-Chauvet A, et al. EANM guideline for the preparation of an Investigational Medicinal Product Dossier (IMPD). *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. nov 2014;41(11):2175-85.

140. Arrêté du 22 septembre 2011 fixant le contenu, le format et les modalités de présentation à l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé du dossier de demande d'autorisation de recherche biomédicale portant sur un médicament à usage humain - Légifrance [Internet]. [cité 28 sept 2021]. Disponible sur:  
<https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000024629111/>

141. S 7 A Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals. 2006;10.

142. S 3 A Toxicokinetics: A Guidance for Assessing Systemic Exposure in Toxicology Studies. 2006;12.

143. M3R2 Non clinical safety studies conduct human clinical trials marketing authorisation [Internet]. [cité 30 sept 2021]. Disponible sur:  
[https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-guideline-m3r2-non-clinical-safety-studies-conduct-human-clinical-trials-marketing-authorisation\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-guideline-m3r2-non-clinical-safety-studies-conduct-human-clinical-trials-marketing-authorisation_en.pdf)

144. S 1 A The Need for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals. 2006;5.

## *SERMENT DE GALIEN*

*Je jure, en présence de mes maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes condisciples :*

- ❖ D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- ❖ D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- ❖ De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.*
- ❖ En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.*

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

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