

Stephen
J. Mather

RADIOPHARMACEUTIQUES: DE NOUVEAUX HORIZONS

La médecine nucléaire va devoir se concentrer sur ses atouts si elle veut demeurer cliniquement utile et survivre au siècle prochain.

On effectue des recherches en radiopharmacie pour différentes raisons. Dans l'industrie pharmaceutique, on suit des stratégies de développement définies pour déposer de nouveaux produits et faire gagner de l'argent à l'entreprise. Le présent article s'intéresse surtout aux travaux menés dans des établissements de recherche où les objectifs intellectuels, plutôt que financiers, sont la norme. Les projets les plus réussis sont généralement ceux qui visent à résoudre un problème clinique donné. Cela confère au projet l'orientation nécessaire et donne aux chercheurs la satisfaction ultime de voir leurs résultats utilisés à bon escient. Face au progrès de méthodes concurrentes – TDM spirale, écho Doppler et IRM spectroscopique (détermination de la localisation et de la perfusion de maladies), la médecine nucléaire doit se concentrer sur son aptitude unique à effectuer des explorations fonctionnelles de tissus et, en particulier, à tester et à évaluer les changements intra et extracellulaires. Les récents progrès de la radiothérapie ciblée ont également donné un nouvel élan aux travaux menés dans ce domaine.

Le présent article expose l'opinion personnelle de l'auteur sur certains des aspects les plus prometteurs de la recherche radiopharmaceutique actuelle:

- Imagerie infectieuse;
- Imagerie cancéreuse;

- Cancérothérapie;
- Imagerie des neurorécepteurs;
- Chimie des radiopharmaceutiques.

L'imagerie infectieuse est peut-être le domaine le plus prolifique en nouveaux radiopharmaceutiques; la littérature regorge de produits potentiellement «utiles» dont peu, cependant, ont résisté à l'épreuve du temps. Le plus difficile, dans ce domaine, consiste à distinguer une infection avérée de mécanismes inflammatoires stériles, et à concevoir un détecteur universel d'inflammation capable de remplacer le radiomarquage de leucocytes. En cancérologie, les applications diagnostiques de la médecine nucléaire se sont réorientées du dépistage précoce et du diagnostic primaire vers la stadification secondaire et l'individualisation des traitements. À mesure qu'apparaissent de nouveaux traitements biologiques onéreux, il va falloir trouver le moyen d'identifier les patients qui bénéficieront de ces traitements.

Pour la première fois depuis longtemps, de nouveaux radiopharmaceutiques – anticorps anti-CD20 marqués (lymphomes), analogues de l'ocrotéotide radiomarqués (maladies neuro-endocrines) et phosphonates radiomarqués (métastases osseuses) – ont une réelle utilité clinique. Cela a stimulé la recherche d'autres applications thérapeutiques, voire l'emploi de «nouveaux» radionucléides tels que l'émetteur bêta ^{177}Lu et des émetteurs alpha (^{213}Bi).

La difficulté, en imagerie des neurorécepteurs, consiste à appliquer les succès de la TEP aux traceurs de TEM. Plusieurs ligands marqués au $^{99\text{m}}\text{Tc}$, qui se fixent aux récepteurs *in vitro*, ont été mis au point, mais leur application *in vivo* continue d'être limitée par la faible captation cérébrale due aux propriétés

physico-chimiques sous-optimales de ces éléments.

La chimie des radiopharmaceutiques (mise au point de la voie aqueuse pour le précurseur de technétium $^{99\text{m}}\text{Tc}$ tricarbonyl) continue de produire de nouveaux complexes aux propriétés innovantes, qui ouvriront de nouvelles possibilités d'exploitation clinique dans les années à venir.

Depuis ses débuts il y a une cinquantaine d'années, la radiopharmacie a connu plusieurs phases. Les premières années (1950-1965) ont été caractérisées par l'application clinique de sels radioactifs naturels tels que l'iode ^{131}I et le phosphate ^{32}P et, suite à l'introduction du technétium $^{99\text{m}}\text{Tc}$, de dérivés tels que le pyrophosphate de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ pour la scanographie des os. Jusqu'au début des années 80, on a cherché à produire des radiopharmaceutiques captibles par les principaux organes, et ce par divers mécanismes (colloïdes pour la scanographie du foie, macroaggrégats pour la scanographie pulmonaire, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA et DMSA pour l'imagerie rénale, etc.). Dans les années 80, la chimie de coordination du technétium a produit plusieurs traceurs mesurant la perfusion/fonction régionale d'un organe: $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -examétazime (perfusion cérébrale), $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -sestamibi et tétrofosmine (perfusion myocardique) et $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MAG3 (sécrétion tubulo-rénale).

Dans les années 90, on s'est orienté vers l'imagerie de groupes de cellules plutôt que d'organes entiers. Il a été mis au point des anticorps monoclonaux radiomarqués visant des épitopes et des neuro-peptides tumoraux tels que des analogues de la somatostatine afin de visualiser la surexpression de leurs récepteurs à la surface de cellules malignes.

Cette tendance se poursuit et se poursuivra vraisemblablement dans un avenir prévisible. Face à l'offre croissante de solides méthodes concurrentes d'imagerie telles que l'IRM et la TDM spiralée, la médecine nucléaire va devoir se concentrer sur ses atouts si elle veut demeurer cliniquement utile et survivre au siècle prochain.

Les deux atouts les plus importants de la médecine nucléaire sont a) l'utilisation de traceurs de très haute activité spécifique, qui permettent de visualiser des mécanismes de faible ampleur *in vivo* et b) l'application thérapeutique de radionucléides ciblés. À l'avenir, les progrès les plus importants des radiopharmaceutiques tiendront à l'application de ces atouts à la résolution de problèmes cliniques réels. Ainsi, la recherche radiopharmaceutique se réorientera de la localisation de maladies vers l'exploration fonctionnelle de tissus, de cibles situées à l'extérieur de membranes cellulaires vers d'autres profondément enfouies dans le cytoplasme et le noyau, d'une imagerie «passive» de médecine nucléaire vers des applications pratiques en salle d'opération, et d'un diagnostic des maladies vers leur traitement.

Ces progrès interviendront sans doute principalement dans les domaines suivants:

- Imagerie d'inflammations;
- Imagerie cancéreuse;
- Cancérothérapie;
- Imagerie des neurorécepteurs;
- Chimie des radiopharmaceutiques.

Imagerie d'inflammations

Les difficultés de l'imagerie d'inflammations tiennent à la complexité de la méthode étalon d'exploration actuelle (leucocytes marqués) et à son inaptitude à distinguer une inflammation causée par une infection latente d'une autre due à d'autres causes. La pratique largement utilisée du marquage sanguin est lente, exige des compétences et du matériel spécialisés, et présente un risque d'infection par piqûre (hépatite et VIH). Pour résoudre ce problème, on a notamment utilisé des traceurs qui marquent les leucocytes *in vivo* dans le sang entier, supprimant la nécessité d'une manipulation du sang *ex vivo*. Le plus largement utilisé est peut-être le LeukoscanTM (^{99m}Tc-Sulesomab), fragment d'anticorps radiomarqué qui se fixe sur l'épitope NCA-90 des leucocytes. Bien que conçu pour que

l'anticorps se fixe à des leucocytes circulants migrant ensuite vers le site d'infection, il semble que ce ne soit pas là son mécanisme réel d'action. La captation est due en partie à une extravasation «non spécifique» de l'anticorps marqué au site de l'infection, suivie (peut-être) d'une fixation sur des leucocytes locaux avoisinants. D'autres ligands (cytokines et peptides chimiotactiques), qui reconnaissent différents marqueurs sur différentes populations de leucocytes, sont à l'étude et pourraient être largement utilisés à l'avenir. Cependant, le fait que des mécanismes non spécifiques puissent contribuer à l'imagerie d'inflammations a conduit plusieurs groupes de savants à rechercher à ce problème des solutions excluant les leucocytes. Le recours à des immunoglobulines non spécifiques (IgH) et à des liposomes a donné d'excellents résultats. Ceux-ci peuvent être marqués à divers radioisotopes, en particulier au technétium 99m et à l'indium 111, et peuvent donc être utilisés en imagerie tant le jour même que les jours suivant l'administration. Les essais cliniques ont démontré une haute sensibilité de détection des inflammations, mais ni l'un, ni l'autre de ces agents n'a été largement utilisé. Peut-être que pour diverses raisons, aucun fabricant commercial n'a développé le produit, n'a obtenu l'autorisation de mise sur le marché ou ne l'a diffusé. Sans ce prolongement commercial, tout radiopharmaceutique, aussi «bon» soit-il, est condamné à demeurer un pur sujet d'étude.

La deuxième difficulté, en imagerie d'inflammations, consiste à déterminer la cause de l'inflammation. La question importante est de savoir s'il faut ou non maintenir des antibiotiques. Aussi tente-t-on de concevoir des radiopharmaceutiques qui interagissent non avec les propres mécanismes de défense de l'organisme, mais avec les micro-organismes envahisseurs. Parmi les candidats intéressants actuels, on peut citer les défensines, peptides naturels qui se fixent sur un large spectre de bactéries. Bien qu'il ait été démontré qu'elles ont une plus grande spécificité aux infections qu'aux inflammations stériles, les contrastes objectif/fond obtenus ont été relativement modestes; aussi n'ont-elles pas encore atteint le stade clinique. En revanche, l'utilisation de ciprofloxacine (antibiotique à base de fluoroquinolone) marquée au ^{99m}Tc a été étudiée chez près de

1 000 patients, avec des résultats encourageants. En fait, la ciprofloxacine n'est que l'un de nombreux antibiotiques qui ont été marqués à des fins d'imagerie infectieuse. On escompte, dans ce domaine, de nouveaux progrès avec la découverte d'interactions bactériennes plus spécifiques et de modes plus favorables de biodistribution. Ces médicaments sont très utiles en imagerie des infections non bactériennes. Des antibiotiques spécifiques aux infections fongiques ou parasitaires pourraient être précieux face à des infections opportunistes touchant des patients immunodéprimés ou de pays en développement.

Imagerie cancéreuse

Les applications possibles des radiopharmaceutiques à la prise en charge des cancéreux sont les suivantes:

- Dépistage;
- Diagnostic primaire;
- Bilan d'extension;
- Mesure de la réponse au traitement;
- Individualisation et optimisation des traitements.

Pour des raisons socio-économiques et cliniques, il est improbable que la médecine nucléaire joue un rôle important dans le dépistage ou le diagnostic primaire. Elle pourra, en revanche, jouer un rôle croissant dans les trois autres domaines.

Un bilan visuel d'extension exige une capacité de traitement élevée, une imagerie du corps entier, une haute sensibilité et une haute spécificité. Il est maintenant admis que le ¹⁸F¹⁸FDG possède au moins les deux premiers attributs, et la mise au point de centres de TEP clinique est aujourd'hui l'application de médecine nucléaire qui se développe le plus rapidement dans les pays industrialisés. Actuellement, il n'existe aucun autre radiopharmaceutique capable de concurrencer le FDG dans ce domaine. On va donc probablement s'orienter vers la production de traceurs complémentaires capables d'accroître la spécificité potentiellement limitée du FDG. L'une des approches privilégiées est l'utilisation de neuropeptides radiomarqués. Bien que leur application soit normalement limitée aux maladies dans lesquelles l'expression des récepteurs est élevée, ces radiopharmaceutiques peuvent combler cette lacune actuelle dans le domaine du bilan d'extension. À ce

jour, le domaine le plus exploré de l'imagerie des neurorécepteurs périphériques est celui des récepteurs de la somatostatine. En raison de son succès, cependant, cette application encourage la mise au point de nouvelles techniques de radiomarquage (comme le marquage de peptides au technétium 99m) qui, outre qu'elles améliorent la performance de l'imagerie des récepteurs de la somatostatine, auront une utilité élargie dans le ciblage des récepteurs de neuropeptides. Ainsi, la combinaison d'hydrazinonicotinamide (HYNIC) et de divers co-ligands pour la coordination du technétium s'est révélée influencer fortement la performance de ces traceurs en imagerie, et l'élaboration d'une méthode simple de production de l'intermédiaire réactionnel tri-carbonyle tri-aqueux permet d'envisager la production de nouveaux complexes peptidiques aux propriétés d'imagerie novatrices. L'avenir verra l'application de cette nouvelle chimie à divers ligands fixant d'autres récepteurs de neuropeptides (neurotensine, gastrine, peptide gastrino-sécréteur, peptide intestinal vasoactif).

De nombreux traitements classiques du cancer sont hautement toxiques et l'un des principaux problèmes, dans la prise en charge actuelle des patients, est notre inaptitude à déterminer si certains patients profiteront d'une combinaison particulière de médicaments. La mesure classique de la rétraction d'une tumeur ne fournit généralement des indications qu'après que le patient a reçu un traitement souvent débilissant. Un examen qui pourrait renseigner sur l'efficacité d'un traitement donné, même après une dose, serait précieux et épargnerait non seulement beaucoup d'argent, mais aussi une toxicité inutile à des patients qui ne profiteraient pas énormément de leur traitement. L'une des mesures les plus utiles de la réponse au traitement serait son effet sur la prolifération des cellules tumorales. Pour tenter de visualiser ce processus, des chercheurs ont marqué divers substrats du métabolisme cellulaire, dont plusieurs nucléotides et aminoacides différents. L'un des plus étudiés est la ^{18}F -3'-désoxy-3'-fluorothymidine (FLT). La TEP à la FLT délimite les principaux sites de prolifération cellulaire normale, notamment la moelle osseuse, et la FLT peut visualiser de nombreuses tumeurs, avec une captation néanmoins inférieure à celle obtenue avec le FDG. La FLT n'est sans doute que l'un des

précurseurs d'une nouvelle famille de radiopharmaceutiques d'imagerie de prolifération qui, administrés avant et après un médicament cytotoxique, fourniraient une mesure quantitative de la réponse à ce médicament. Pour justifier l'emploi clinique de tels traceurs, cependant, il faut valider leurs mécanismes de captation et de rétention; la FLT offre, à cet égard, un bon modèle. Elle se diffuse, à travers la membrane cellulaire, dans le cytosol, où elle est piégée par phosphorylation activée par la thymidine kinase₁. Ainsi, la captation de la FLT par un tissu dépendra de l'activité de la TK₁ qu'il recèle. Pour déterminer si l'activité de la TK₁ est liée à une prolifération, Rasey et al. (Rasey J.S, Grierson J.R, Wiens L.W, Kolb P.D, Schwarz J.L., in *Journal of Nuclear Medicine*, 2002; 43: 1210-7) ont comparé la captation cellulaire de la FLT au nombre de cellules en division et au niveau de TK₁ et ont observé une relation linéaire avec ces deux paramètres. On pourrait en conclure que la captation de la FLT est effectivement une mesure de prolifération. Or, dans une cellule transformée ayant un appétit accru de substrats métaboliques tels que la thymidine, il se peut aussi que les niveaux de TK₁ soient élevés indépendamment d'une prolifération, car cela favoriserait sa survie. Wagner et al. (Seitz U., Wagner M., Neumaier B., Wawra E., Glatting G., Leder G., et al., in *European Journal of Nuclear Medicine Molecular Imaging*, 2002; 29: 1174-81) ont étudié les niveaux d'activité de la TK₁ (et d'autres enzymes) dans diverses lignées cellulaires pancréatiques et ont observé que ces niveaux variaient indépendamment de toute prolifération cellulaire. Dans les années à venir, de nombreuses études de ce type seront menées pour valider l'utilisation de marqueurs de prolifération avant qu'ils ne puissent trouver une application clinique.

L'un des mécanismes qu'utilisent les traitements anticancéreux pour agir est la mort cellulaire programmée ou apoptose. Celle-ci survient quand les systèmes de surveillance cellulaires détectent un fort endommagement de l'ADN qui, si la cellule se divisait normalement, présenteraient un risque de mutations héréditaires du code génétique. L'apoptose entraîne notamment un repliement de la membrane cellulaire, qui expose à l'extérieur de la cellule des éléments situés normalement sur sa surface interne. Ces éléments peuvent être utilisés comme cibles par des radiopharmaceutiques pour visualiser

l'apoptose, réponse d'une tumeur au traitement. La méthode la plus élaborée est l'utilisation d'annexine-V radiomarquée. Celle-ci se fixe sur la phosphatidylsérine, qui est l'un des composants de la membrane cellulaire exposés au début de l'apoptose. L'annexine-V, marquée au technétium 99m, a été étudiée dans plusieurs essais cliniques où une apoptose est censée survenir. Bien qu'elle ait été conçue comme marqueur de la réponse tumorale et validée sur des modèles animaux, certaines des meilleures images ont été obtenues dans des cas d'apoptose «naturelle» (infarctus du myocarde). On a observé une captation de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -annexine-V par des tumeurs à la suite de traitements cytotoxiques ou radiologiques, mais le degré de captation est très varié et la qualité des images moyenne. Il existe à cela plusieurs raisons, dont la principale est que l'apoptose est un phénomène transitoire, dont la chronologie est variable et imprévisible. Une autre raison est que l'annexine-V, protéine relativement grande qui ne disparaît que lentement du sang et qui, comme d'autres protéines, ne se diffuse que lentement dans les tumeurs, n'est pas un substrat idéal pour les applications radiopharmaceutiques. Les contrastes objectif/fond obtenus sont donc sous-optimaux. L'annexine-V servira probablement de modèle à une génération de radiopharmaceutiques d'imagerie d'apoptose aux paramètres pharmacocinétiques plus intéressants.

Si ces marqueurs de réponse concernent principalement des traitements classiques du cancer, les radiopharmaceutiques peuvent aussi contribuer à définir le rôle de nouveaux traitements. Les traitements anti-angiogéniques, par exemple, ont peu d'effet immédiat sur la taille des tumeurs, et l'on ne peut mesurer leur efficacité à l'aide de l'imagerie structurelle traditionnelle. Des traceurs visant le VEGF et d'autres marqueurs exprimés durant l'angiogénèse pourraient servir de marqueurs de substitution de l'efficacité de médicaments lors d'essais cliniques.

Outre l'indication de réponses à des traitements anticancéreux, les radiopharmaceutiques pourraient aider à identifier les patients susceptibles de bénéficier d'un type de traitement. On sait depuis longtemps que les tumeurs hypoxiques répondent moins bien aux radiothérapies externes que celles qui ont des niveaux normaux d'oxygène. On a donc recherché des radiopharmaceutiques dont la

captation serait déterminée par le niveau d'oxygène des tissus. La catégorie de composés la plus étudiée est celle des nitro-imidazoles. De préférence réduits puis liés dans des tissus hypoxiques, ils peuvent servir, radiomarqués, à visualiser la distribution de la tension en oxygène dans des tumeurs et dans d'importants organes tels que le coeur.

Des nitro-imidazoles ont été marqués à divers radionucléides, dont le fluor 18 (F-MISO), l'iode 123 (IAZA) et le technétium 99m. Plusieurs d'entre eux en sont au stade des essais cliniques, même s'il reste à établir leur rôle et les relations entre la captation et d'autres marqueurs de la tension en oxygène. De nouveaux radiopharmaceutiques à base de cuivre, qui présentent divers degrés de rétention dans les tissus hypoxiques ou normoxiques, ont récemment vu le jour. La rétention de ces traceurs au semithiocarbazone N4 s'opère par réduction de Cu(II) en Cu(I) suivie d'une perte du radiométal du complexe. Il a été montré qu'en variant les substituants à la périphérie du complexe, on pouvait modifier le potentiel de réduction du noyau de cuivre; on peut ainsi concevoir, par ajustement approprié, un complexe qui est retenu par toutes les cellules normoxiques (Cu-ATSM) ou seulement par les cellules hypoxiques (Cu-PTSM).

Cancérothérapie

Comme je l'ai indiqué au début du présent article, l'un des atouts de la médecine nucléaire est de permettre un traitement ciblé aux radionucléides, domaine qui suscite, depuis quelques années, un regain d'intérêt. L'élan a été donné par la découverte de deux nouvelles indications pour ce type de traitement: anticorps anti-CD20 radiomarqués (lymphomes) et analogues de l'octréotide radiomarqués (tumeurs neuro-endocrines). L'une des principales difficultés, dans ce domaine, tient à l'absence de connaissances sur ce qui détermine l'efficacité d'un traitement. Nous employons divers radionucléides ayant différentes propriétés de décroissance physique sans comprendre réellement ce que sont la demi-vie, le type et les niveaux d'émission optimaux. On ne sait pas grand chose non plus du mécanisme d'action de la radiothérapie ciblée à faible dose. Est-il identique à celui de la thérapie externe à forte dose, à savoir principalement la restriction

d'ADN bicaténaire, ou d'autres mécanismes dominant-ils? Pour définir ces paramètres, d'autres recherches seront nécessaires. Dans le même temps, il a été avancé qu'indépendamment des mécanismes sous-jacents, ce qui importe le plus, ce sont les essais d'efficacité *in vivo* sur des modèles humains ou animaux. Dans ce cas, la préoccupation essentielle tient souvent davantage à la disponibilité du radio-isotope qu'à son mode de décroissance. Ces dernières années, le nombre de radionucléides commerciaux s'est accru, avec l'apparition de plusieurs sources d'yttrium 90 et, plus récemment, de lutécium 177, ce qui va sans doute considérablement aider les chercheurs à entreprendre des essais cliniques dans ce domaine.

Imagerie des neurorécepteurs

Longtemps, l'élaboration de radiopharmaceutiques d'imagerie des neurorécepteurs cérébraux a été la chasse gardée de chimistes spécialisés en TEP. Grâce à leurs travaux, de nombreux radioligands ayant une affinité pour divers types et sous-types de récepteur ont été élaborés, mais ces traceurs n'ont été utilisés que dans un nombre relativement limité de centres spécialisés.

Pour développer l'usage de ce type de radiopharmaceutique, il faudra soit faciliter l'accès à cette technique (probabilité réelle avec le développement de la TEP clinique), soit concevoir des analogues de ces traceurs marqués à l'aide de radionucléides d'émission monophotonique. À ce jour, plusieurs composés marqués à l'iode 123 ont été validés et au moins un (¹²³I-FP-CIT ou DatScanTM) est agréé pour l'usage général; le coût et l'offre limitée d'iode 123 continuent cependant de poser un problème. La mise au point de ligands marqués au technétium 99m reste l'objectif de plusieurs groupes de chercheurs, mais cet objectif demeure hors d'atteinte. Pour être utile, un radiopharmaceutique d'imagerie des neurorécepteurs doit posséder plusieurs attributs: haute stabilité (solutions, sérum et *in vitro*), haute affinité de liaison *in vitro*, bonne sélectivité de liaison *in vitro* et captation acceptable par le cerveau et certains récepteurs *in vivo*. Les trois premiers critères peuvent être remplis, mais les combiner avec un degré suffisant de captation cérébrale pose un réel problème. À ce jour, on n'a mis au point des

traceurs efficaces que pour une cible: le transporteur de la dopamine. D'autres devraient suivre.

Résumé

La technique sur laquelle s'appuient toutes les applications cliniques décrites dans le présent article est la chimie des radiopharmaceutiques. Pour que ces radiopharmaceutiques continuent de progresser, il faut impérativement comprendre la chimie de coordination, qui permet de préparer des complexes stables, et connaître les relations qui existent entre cette chimie et le comportement des radiotraceurs dans des environnements biologiques. L'aptitude à manipuler la stabilité, la charge, la taille et la lipophilie de chélates bifonctionnels, en particulier, nous permettra de produire de nouveaux complexes aux propriétés physico-chimiques novatrices, qui déboucheront sur de nouveaux modes de biodistribution pour donner, demain, une nouvelle génération de radiopharmaceutiques.

Depuis 2001, le Dr Stephen Mather (stephen.mather@cancer.org.uk) est professeur de radiopharmacie à la St Bartholomew's and Royal London Hospitals School of Medicine and Dentistry de l'Université de Londres. Il dirige aussi le Laboratoire de recherche en médecine nucléaire du St Bartholomew's Hospital. Il est l'auteur de plus de 100 publications examinées par des confrères et articles sollicités, de plus de 150 résumés de conférences, et a coordonné la publication de deux ouvrages. Références disponibles auprès de l'auteur.