



Hôpitaux de Lyon

Université Claude Bernard  Lyon 1  ISPBS  Faculté de Pharmacie de Lyon

# Les nouveaux traceurs du GS

David KRYZA

*ISPBS, Université Claude Bernard Lyon 1*

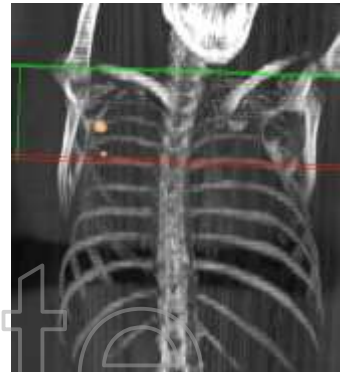
*ILM, UMR 5306*

*Radiopharmacie, GCS LUMEN (HCL-CLB)*

- Le GS se définit comme le **premier relai ganglionnaire** situé dans le bassin de drainage lymphatique d'une tumeur
- Son absence d'envahissement par des cellules métastatiques serait un signe fiable de **l'absence d'envahissement** de tout autre ganglion
- Chez la majorité des patients devant subir un curage ganglionnaire, le geste chirurgical se trouve ainsi réduit au prélèvement d'un unique ganglion

# Recommandations actuelles

- ✓ Lymphoscintigraphie 30min à 24h avant l'acte chirurgical
  - Injection la veille ou le matin même de l'intervention en 2 ou 4 points de radiocolloïdes dans un volume très faible
  - Image planaire
  - Image SPECT-CT : si non visualisation en planaire, patient obèse, GS extra-axillaire, difficulté d'interprétation image planaire
- ✓ En per-opératoire
  - Injection de 2 mL de bleu patenté, 10 à 20 min avant la chirurgie (après anesthésie du patient) attention aux contre-indications !
  - Détection du ou des GS à l'aide d'une sonde de détection



Taux de détection variable dans la littérature : 90 à 99%

# Les traceurs de la chirurgie radioguidée

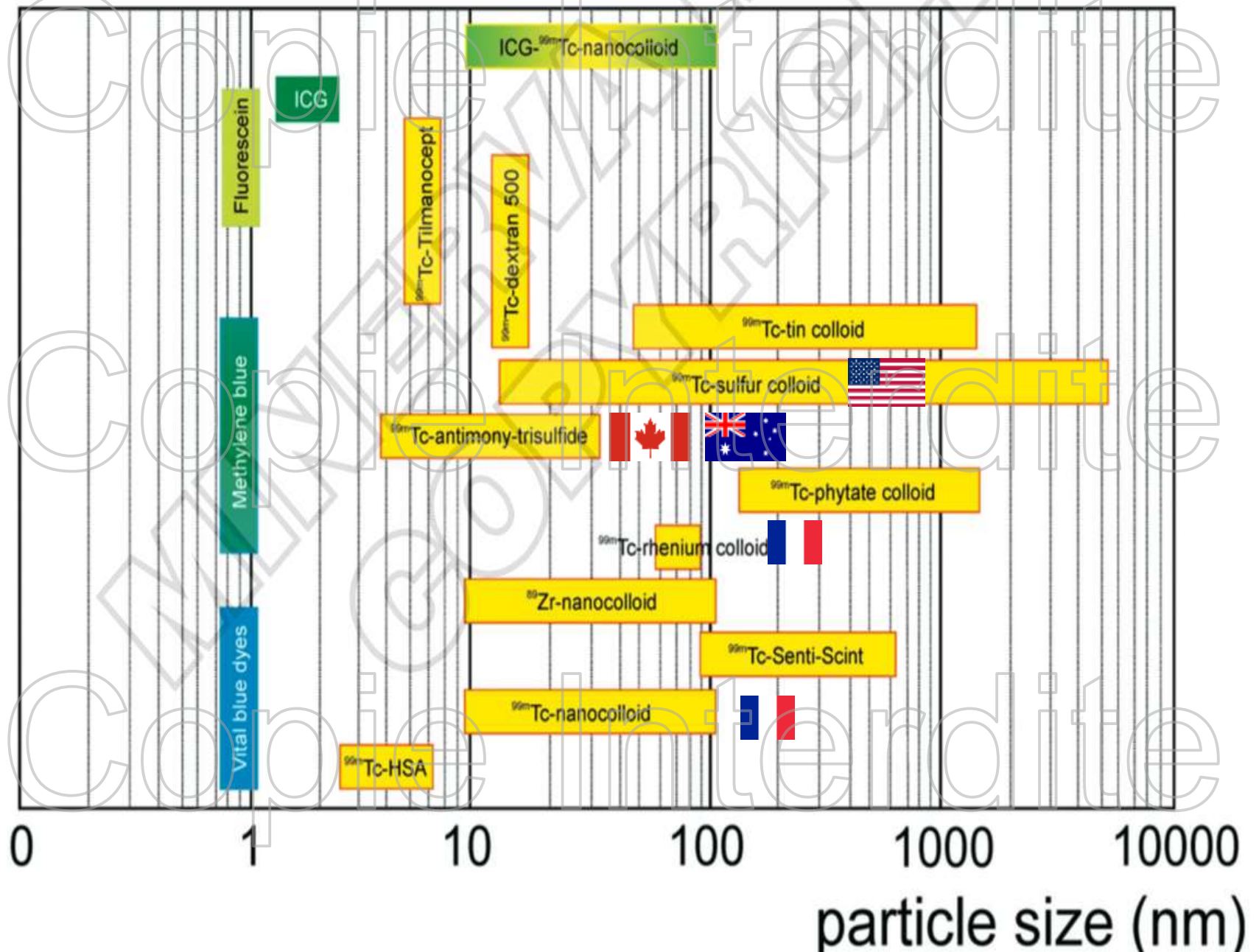
Différents RP décrits dans la littérature

- $^{99m}\text{Tc}$ -nanocolloïdes d'albumine humaine (Nanocoll<sup>®</sup>)
- $^{99m}\text{Tc}$ -sulfure de rhénium colloïdale (Nanocis<sup>®</sup>)
- $^{99m}\text{Tc}$ -Phytate
- $^{99m}\text{Tc}$ -serum albumine
- $^{198}\text{Au}$ -colloïd
- $^{99m}\text{Tc}$ -antimony trisulfide colloid

...

En France, le Nanocoll<sup>®</sup> et le Nanocis<sup>®</sup> disposent d'une AMM pour la lymphoscintigraphie

# Les traceurs du GS



# Facteurs influençant la qualité de l'examen

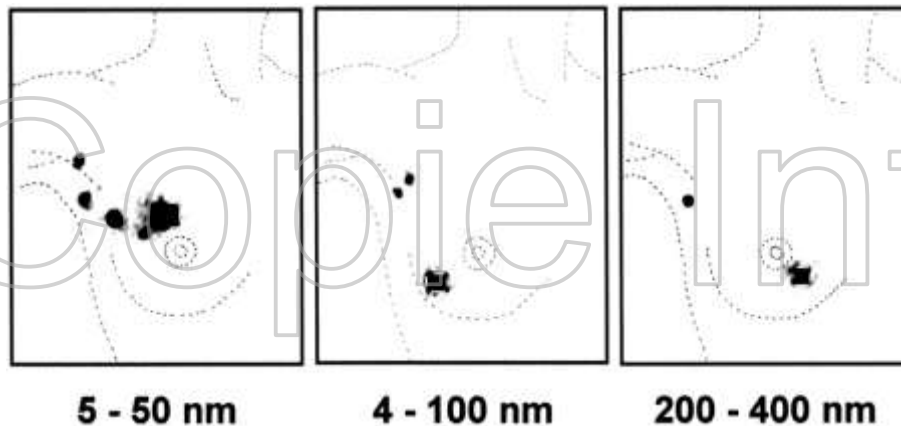
La visualisation du GS est influencée par différents facteurs

- ✓ voie d'injection (injection superficielle +++)
- ✓ Patients (poids, âge)
- ✓ Techniques
  
- La taille des particules +++)
- La quantité des colloïdes,
  
- le volume (attention au volume mort des seringues !)
  
- 1 ou 2 jours : pas de différence si l'activité injectée est  $> 50$  MBq
  
- l'activité (La visualisation du ganglion sentinelle est meilleure **qualitativement** et **quantitativement** si la solution colloïde est concentrée)

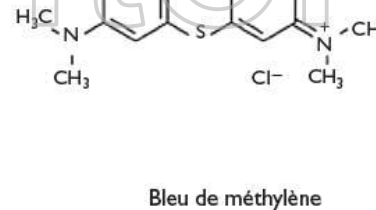
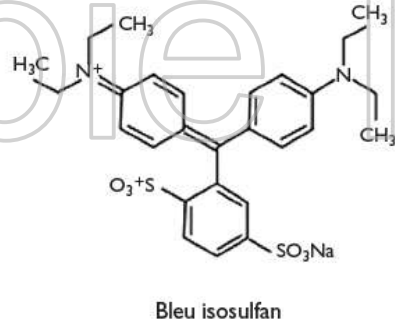
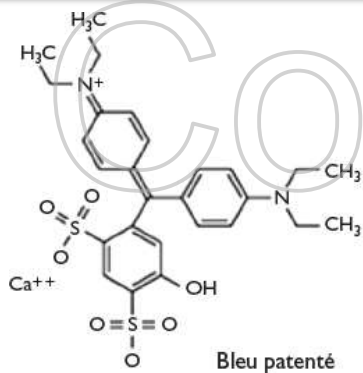
# La taille des particules

Les colloïdes doivent avoir une taille inférieure à 80-100 nm et de distribution uniforme **gaussienne** (la largeur de distribution peut être considérable)

- < 10 nm les colloïdes diffusent directement dans l'espace vasculaire (cinétique plus rapide)
- > 500-1000 nm, ils restent au site d'injection (cinétique lente)



# Les colorants « bleu »



- Diamètre < 1 nm
- Rush cutanée < 1%
- Coloration bleutée des urines pendant 12 à 24h
- Coloration bleutée des téguments pendant 24 à 48h
- Choc anaphylactique de 0,4 à 1%
- Bleu de méthylène potentiel allergisant moins important, mais réactions cutanées locales possibles : nécroses, capté de manière active<sup>1</sup> par les cellules cancéreuses, en ciblant le potentiel membranaire mitochondrial

<sup>1</sup>Eckert et al. 2013

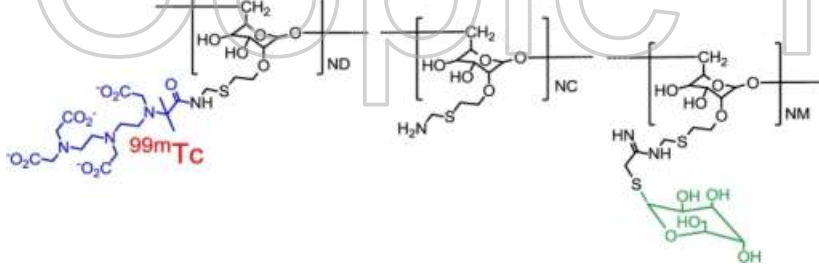


# Pourquoi des nouveaux traceurs pour le GS

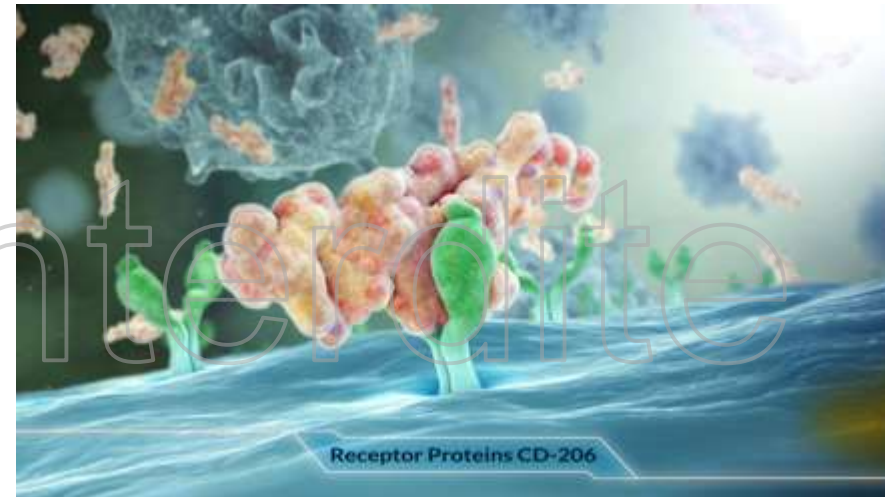
- Taux d'échec variable dans la littérature : entre 0 et 10%
- Diminution du taux de détection si absence d'utilisation du bleu
- Favoriser la clearance du site injection et la rétention dans le GS
- Visualiser avec certitude le GS et surtout plus rapidement pour ne pas faire attendre le chirurgien !!!
- Objectif : 100% de détection et 0% de faux négatifs



# Lymphoseek $^{99m}\text{Tc}$ -DTPA-mannosyl-dextran

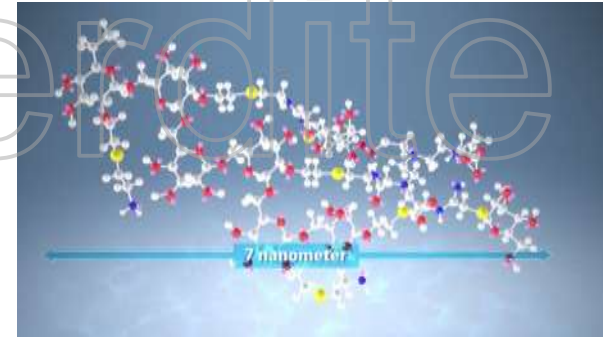


- Approuvé par la FDA
- Haute affinité pour le récepteur CD -206
- Concentration importante en surface des macrophages et des cellules dendritiques
- Internalisé dans le tissu lymphatique



# Lymphoseek <sup>99m</sup>Tc-DTPA-mannosyl-dextran

- Taille de 7 nm et Poids 19,000 Da
- Captation rapide et rétention importante
- Détection rapide : à partir de la 10<sup>ème</sup> minute et jusqu'à 15h post injection
- Clairance rapide au site d'injection (identification +++ si proximité du site d'injection)



Traceur	taille	Captation GS
<sup>99m</sup> Tc-sulfur colloid <sup>a</sup>	100-1000	<1% @ 3h
<sup>99m</sup> Tc-colloïde d'albumine <sup>b</sup>	<80	≈1% @ 3h
<sup>99m</sup> Tc-antimony sulfide <sup>a</sup>	3-30	≈1% @ 3h
<sup>99m</sup> Tc-tilmanocept <sup>c</sup>	7	5-7% @ 1h

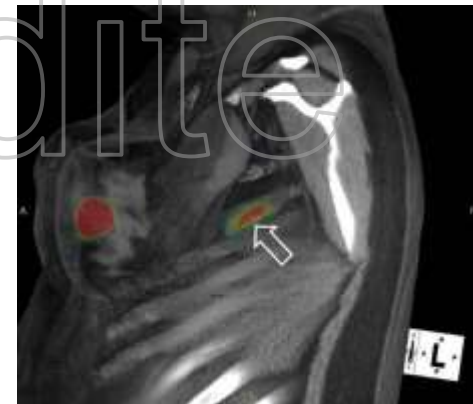
a. Kaplan et al.; b. Fowler et al.; c. Leong et al.

# Etude de phase III $^{99m}\text{Tc}$ -Tilmanocept (sein)

148 patientes avec un cancer du sein (13 centres)

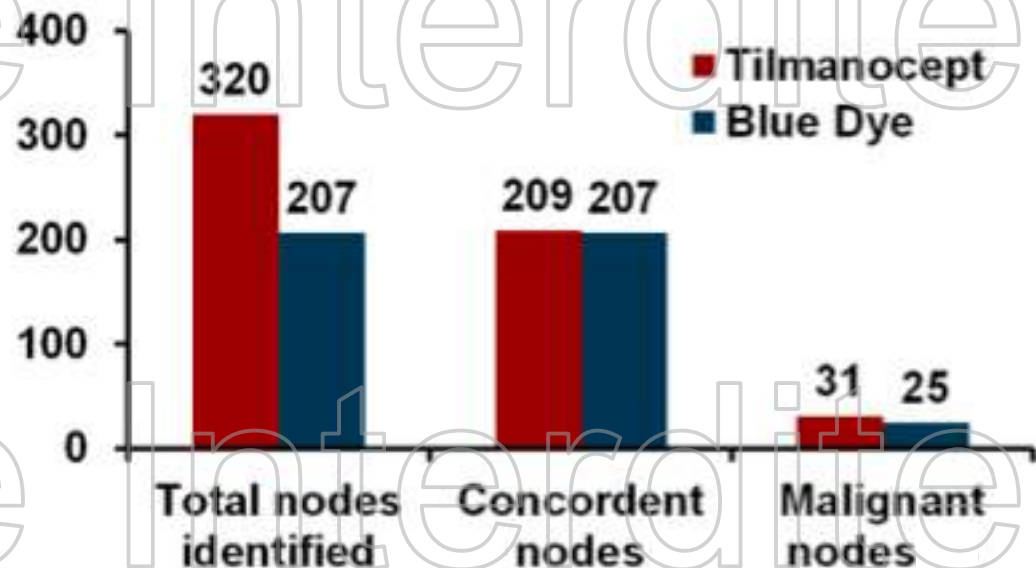
-  $^{99m}\text{Tc}$ -tilmanocept and bleu vital

Ganglions identifiés comme radioactif et/ou bleu ont été excisés et analysés par histologie



## Résultats

Concordance entre le bleu et le  $^{99m}\text{Tc}$ -tilmanocept 99,04%

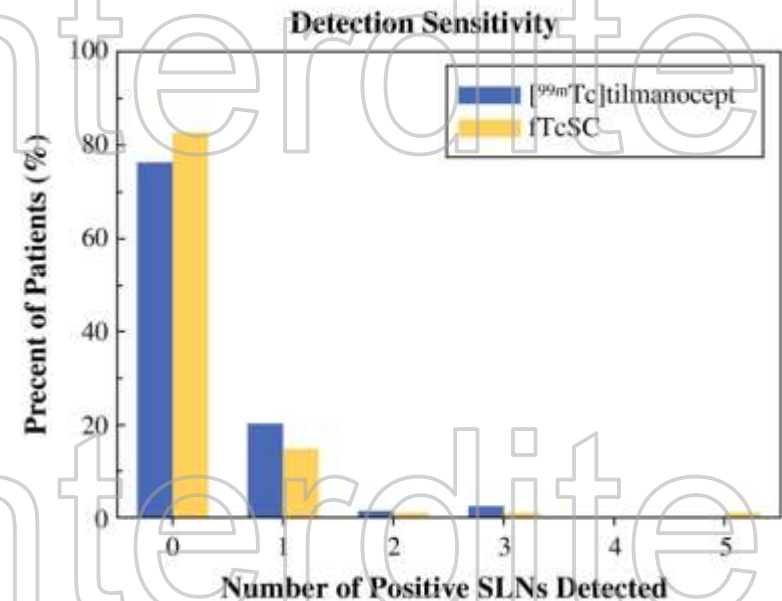
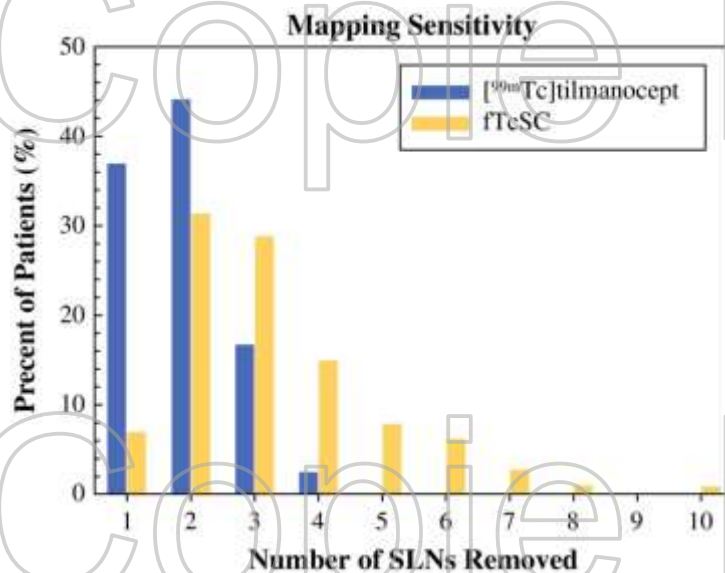


# Comparaison $^{99m}\text{Tc}$ -sulfur colloid (filtré) vs $^{99m}\text{Tc}$ -Tilmanocept

199 patientes avec un cancer du sein (13 centres)

- $^{99m}\text{Tc}$ -tilmanocept + bleu vital 84 patients
- $^{99m}\text{Tc}$ -sulfur colloid + bleu vital 115 patients

## Résultats

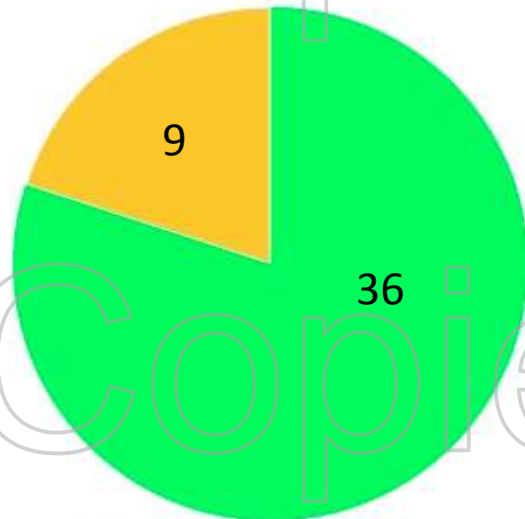


- Nombre de ganglions excisés moins important pour le tilmanocept
- Sensibilité similaire pour la détection des GS +

# Etude de phase III $^{99m}\text{Tc}$ -Tilmanocept (mélanome)

- ✓ 154 patients atteints de mélanome (15 centres)
- $^{99m}\text{Tc}$ -Tilmanocept et bleu vital
- ✓ 232/235 des ganglions bleus ont été détectés avec le  $^{99m}\text{Tc}$ -Tilmanocept, concordance : 98,7%, ( $p < 0,001$ )
- ✓  $^{99m}\text{Tc}$ -Tilmanocept a permis la détection d'au moins un nodule supplémentaire chez les patients ( $n=150$ ) par rapport au bleu vital ( $n=138$ )

Phase III Melanoma  
Tumor-positive node distribution



Blue and hot nodes = 36  
Hot only nodes = 9  
Blue only nodes = 0

Ganglions positifs : 45 (par technique histologique ou IHC)  
Aucun GS pathologique était bleu et non radioactif

GS dans le cancer du sein

Iode 125 : période de 59,4 j, gamma de 35,5 keV

Préparation stable plusieurs jours

1 activité 37 MBq, préparation au lugol

Sonde de détection calibrée pour l'iode 125

62 patientes

SLN status	Hot only	Blue only	Blue and hot
Positive (n = 21)	6	0	15
Negative (n = 89)	6	2	81
Totals (n = 110)*	12	2	96

Activity depth, cm	<sup>99m</sup> Tc (uGy/h at 1 foot)	<sup>125</sup> I (uGy/h at 1 foot)	<sup>125</sup> I/ <sup>99m</sup> Tc ratio, %
2	2.11	2.02	95.70
2	2.39	2.72	114
4.2	1.69	0.66	39
4.2	1.72	0.88	51
6	1.41	0.26	18.40
6	1.31	0.35	26.70

81 des nodules excisés étaient bénins

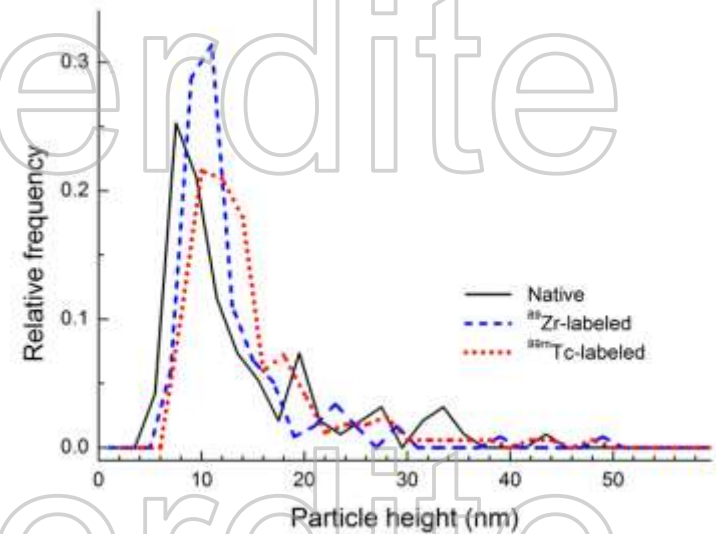
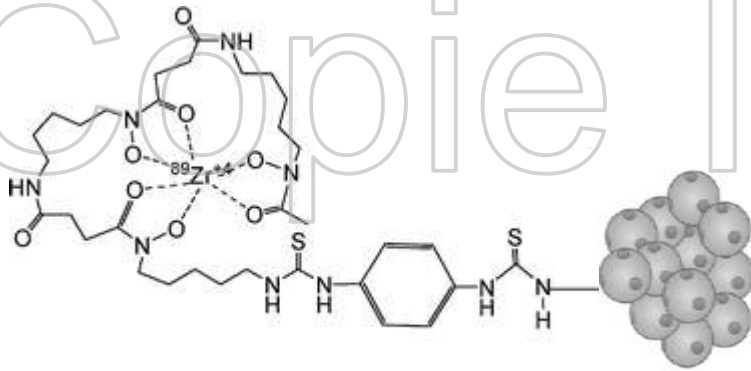
91% des nodules excisés étaient radioactif et bleu

Taux d'identification : 94% (58/62)

Diminution de l'exposition aux radiation pour le chirurgien



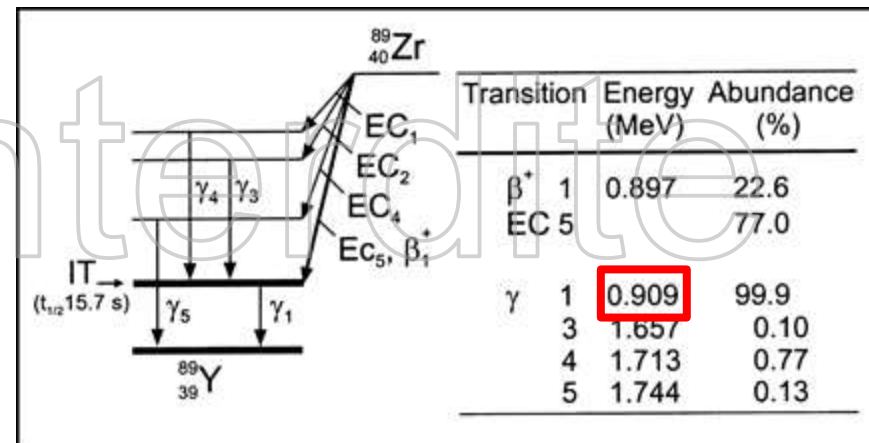
# $^{89}\text{Zr}$ -nanocolloides



- Modification de la structure des colloïdes : greffage du Df-Bz-NCS (desferrioxamine B)
- Radiomarquage avec le  $^{89}\text{Zr}$  (période 78h, émetteur de positon,  $^{89}\text{Y}(p,n)^{89}\text{Z}$ )
- Purification par chromatographie d'exclusion
- PRC >96,9 %; rendement de synthèse : 64%

Taille :

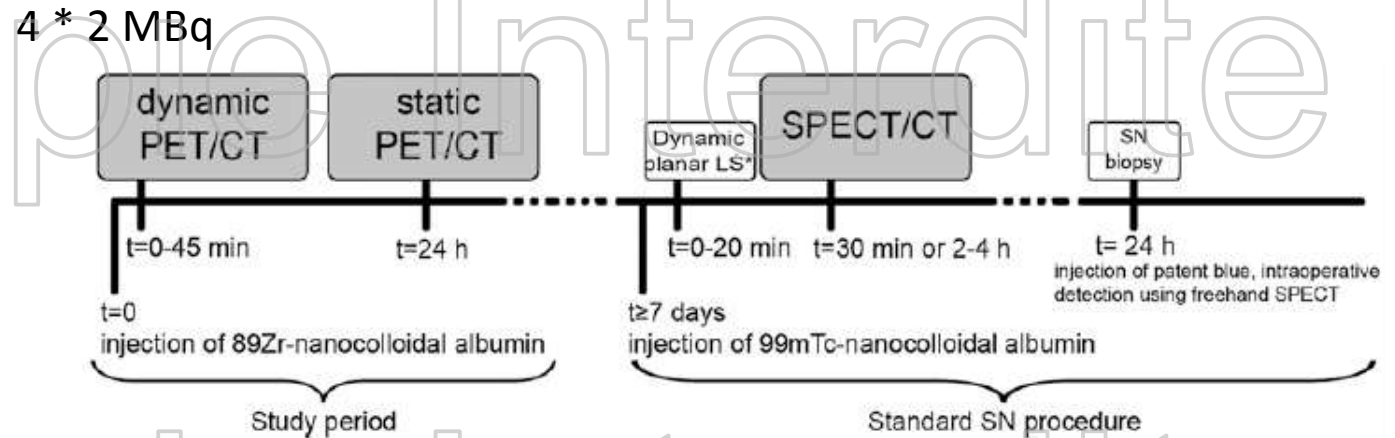
- $^{89}\text{Zr}$ - nanocolloides d'albumine  $12.7 \pm 0.6$  nm;
- $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -nanocolloides d'albumine  $14.9 \pm 0.5$  nm,



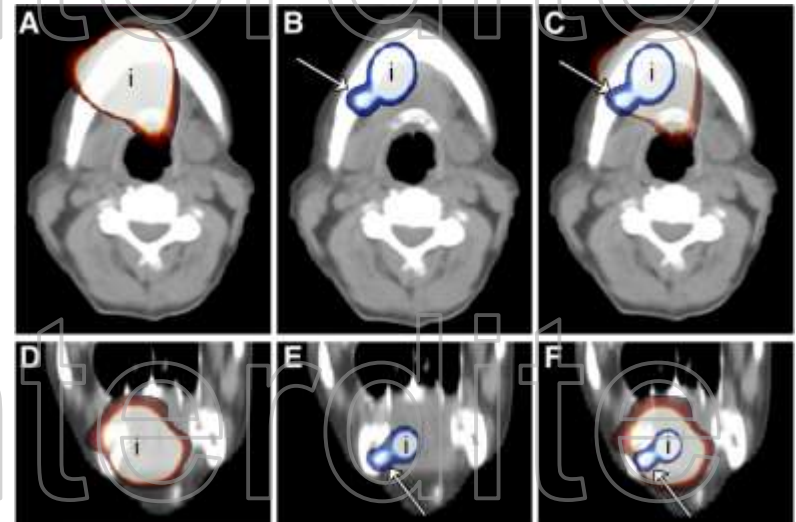


# $^{89}\text{Zr}$ -nanocolloides : identification de GS (carcinome cavité buccale)

5 patients



- 22 foyers détectés dont 15 considérés comme SN en SPECT-CT
- 27 foyers en PET-CT (+5)
- Chez 2 patients , visualisation en PET/CT de foyers qui étaient cachés par le point d'injection en SPECT-CT et non détectable en intra-opératoire
- Problème de couts et de disponibilité du traceur et de la PET-CT?
- Détection en per-opératoire : sonde spécifique détection des  $\gamma$  (collimation importante) beta (collimation réduite)?



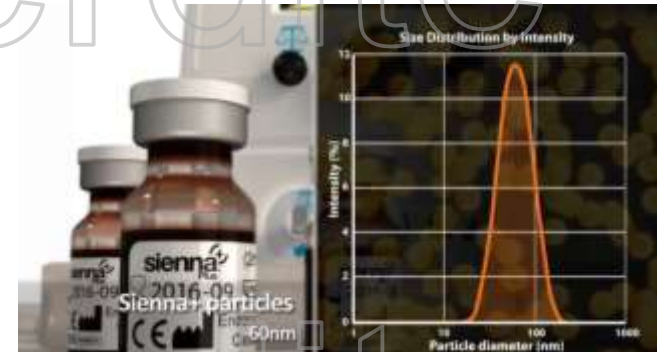
SPECT/CT

PET/CT

Fusion

# Sienna+<sup>®</sup> - SentiMag<sup>®</sup>

- Nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétiques (SPIO)
- Taille de 60 nm
- Solution stérile injectable brune (28 mg de Fe/mL)
- Recouverte de carboxydextran (meilleure dispersion, prévient l'agglomération)
- Marquage CE
- SentiMag<sup>®</sup> : magnétomètre manuel, champ magnétique créé par la sonde, diamètre de 6 mm
- Injection de 2 mL dans le tissu sous-cutané péri-aréolaire au bloc, suivi d'un massage de 5 mn



Sienna+<sup>®</sup>



SentiMag<sup>®</sup>

# Sienna+<sup>®</sup> - SentiMag<sup>®</sup>

- 2 études multicentriques (160 et 150 patientes) vs technique standard (isotopique +/- bleu)
- Injection Nanocoll + lymphoscintigraphie puis injection de Sienna+ puis +/- bleu selon centre
- Détection à l'aide de Sentimag puis la sonde gamma

## Taux d'identification

- Douek : 95% technique ref. (+/- bleu) et 94,4 % SentiMag
- Thill : 97,3 % technique ref. et 98% Sentimag

- Courbe d'apprentissage rapide (4 à 5)
- Performance équivalente
- Nécessité d'utiliser du matériel chirurgical en plastique pendant la détection pour éviter la perturbation du signal magnétique (forceps...)
- Coloration intra-mammaire persistante !



# Imagerie de fluorescence par réflexion

Basée sur la détection de la lumière **émise** par un fluorophore en réponse à une **excitation** à une longueur d'onde donnée

Diffusion, absorption, auto-fluorescence

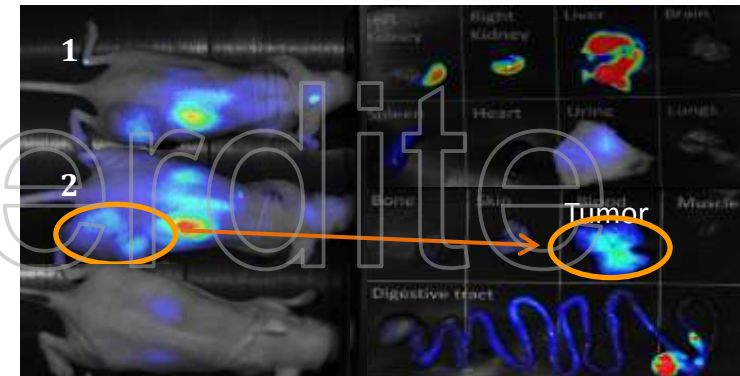
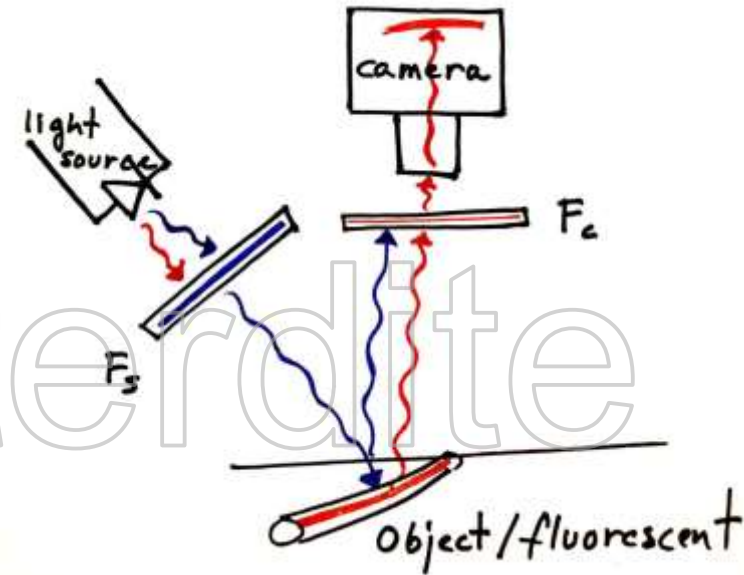
➔ Proche infrarouge (650 à 900 nm)

Avantages :

- Rapide
- peu coûteuse
- Sensible ( $10^{-9}$  à  $10^{-12}$  M)
- Temps acquisition court

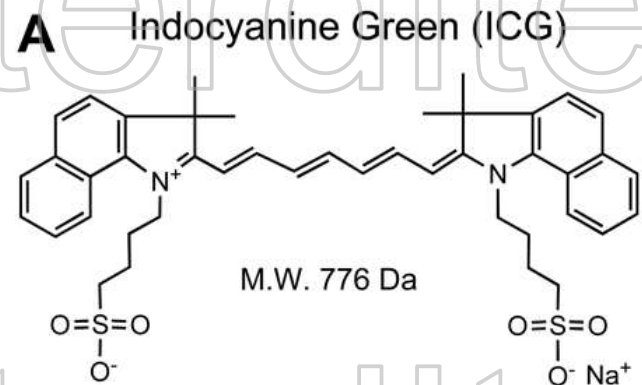
Inconvénients :

- Faible résolution spatiale
- Profondeur de détection limitée
- Non quantitative (absolue)



# vert d'indocyanine : Infracyanine®

- Poids moléculaire 776 Da
- Pic d'absorption 807 nm Pic d'émission 822 nm
- Seul approuvé par la FDA et l'EMA
- AMM : angiographie oculaire, étude du débit cardiaque et détermination des volumes sanguins hépatique
- Migration très rapide 1 -10 min (taille 1 nm)
- ½ vie plasmatique 150 à 180 s
- Auto-fluorescence limitée



Cancer du sein

Study	Year	Number of patients	SLN identification rate (%)
Kitai et al. [18]	2005	18	94.0
Tagaya et al. [19]	2008	25	100
Murawa et al. [20]	2009	30	96.7
Troyan et al. [21]	2009	6	100
Hirche et al. [22]	2010	43	97.7
Hojo et al. [23]	2010	113	99.3
Mieog et al. [24]	2011	24	100
Tagaya et al. [25]	2011	50	100
van der Vorst et al. [26]	2012	24	95.8
Schaafsma et al. [27]	2013	32	100
Guo et al. [28]	2014	86	93.0
Tong et al. [29]	2014	96	96.9

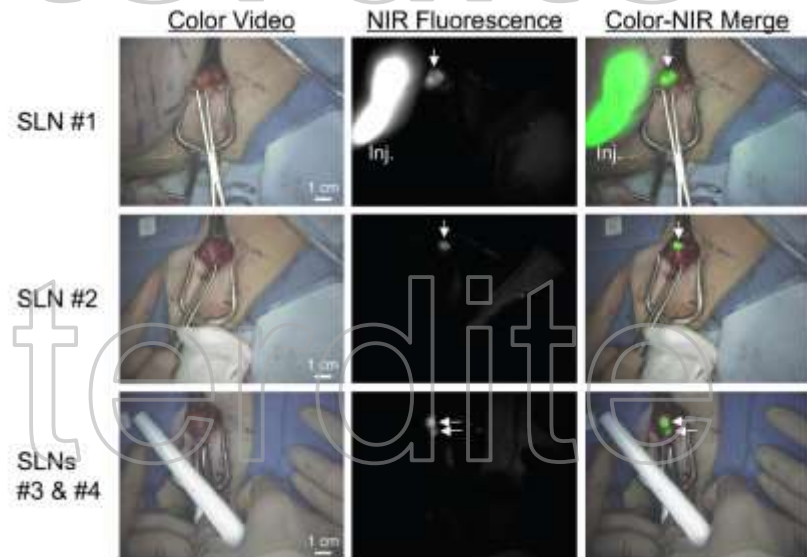
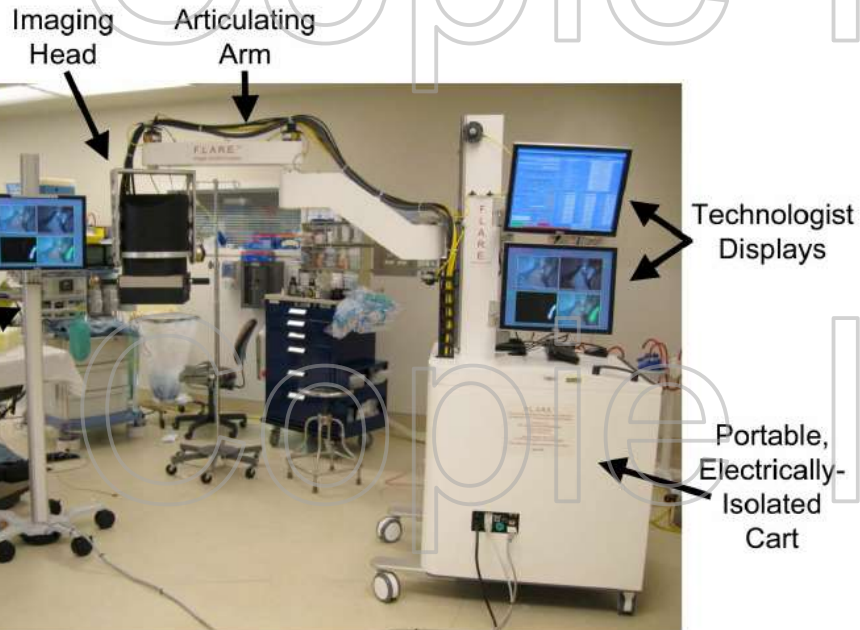
- Différents systèmes d'imagerie
  - Site injection et dose ≠
- Comparaison difficile

# vert d'indocyanine : Infracyanine®

Imaging system	Excitation source	Working distance	Field of view	White light illumination of surgical field	NIR-colour overlay
PDE	LED 805 nm, power NS	15–25 cm	NS	No	No
SPY	Laser 806 nm, 2.0 W	30 cm	56 cm <sup>2</sup>	No	No
Fluobeam	Laser 780 nm, 10mW/cm <sup>2</sup>	22 cm	80 cm <sup>2</sup>	Yes	No
HyperEye	LED 760 nm, power NS	30–50 cm	78.5 cm <sup>2</sup>	Yes	Yes
FLARE	LED 745–779 nm, 14 mW/cm <sup>2</sup>	45 cm	3.7 cm <sup>2</sup> –169.5 cm <sup>2</sup>	Yes	Yes
Mini-FLARE	LED 760 nm, 8.6 mW/cm <sup>2</sup>	30 cm	100 cm <sup>2</sup>	Yes	Yes
FDPM imager	Laser Diode 785 nm ± 10 nm, <1.9 mW/cm <sup>2</sup>	<76.2 cm	Max 900 cm <sup>2</sup>	No	No
Munich / SurgOptix prototype camera system	Laser 750 nm, 300 mW	21 cm	1,5 cm <sup>2</sup> –107 cm <sup>2</sup>	Yes	Yes



Fluobeam



# ICG dans le mélanome

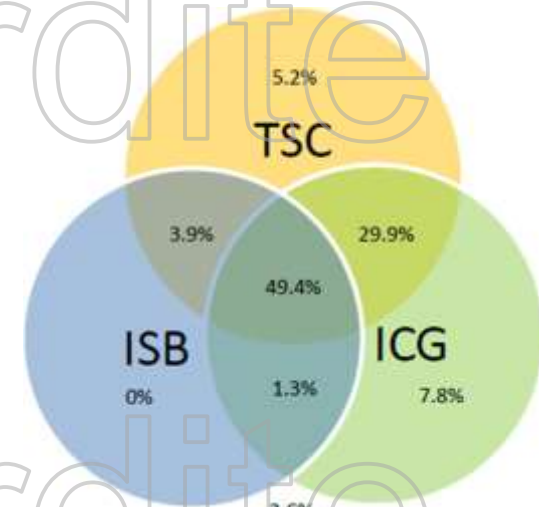
52 patients (mélanome cutané)

- Nanocoll-<sup>99m</sup>Tc + injection intradermale de bleu vital et ICG

Résultats : 77 ganglions identifiés

Taux de détections (% patients) :

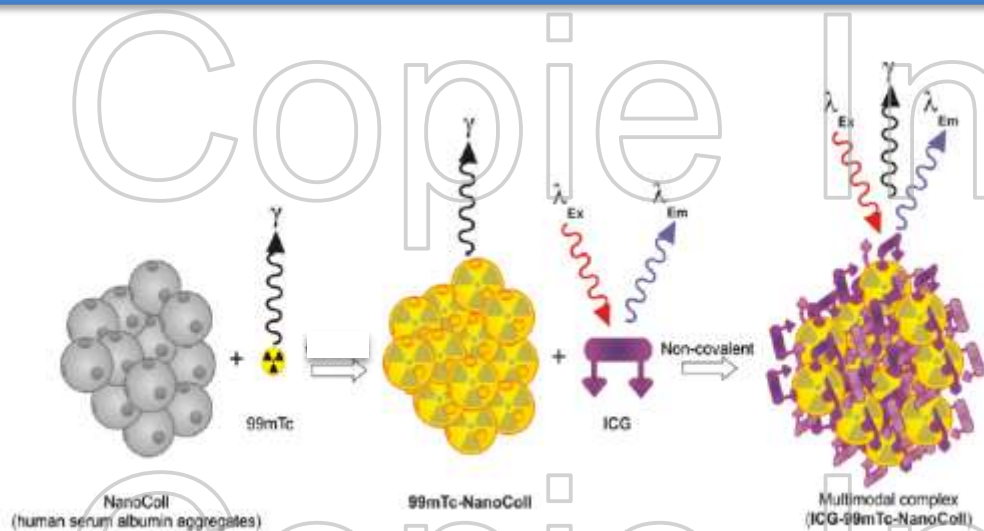
- 96,2% pour le Nanocoll-<sup>99m</sup>Tc
- 59,6% pour le bleu vital
- 88,5% pour l'ICG



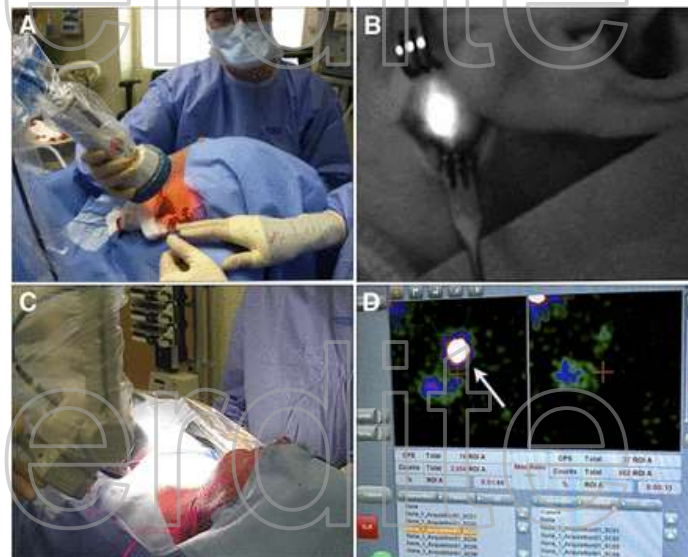
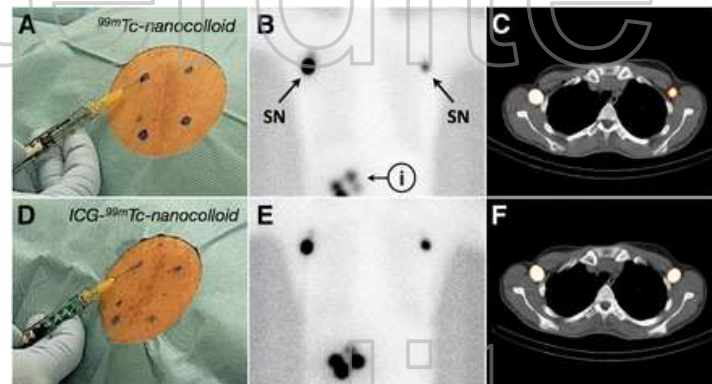
% des GS détectés par les différentes modalités



# $^{99m}\text{Tc}$ -Nanocoll-ICG



- Diamètre moyen 20 nm
- Interaction entre le fluorophore et les acides gras de l'albumine
- Même voie de drainage que le Nanocoll
- 1 seule injection (50 X moins ICG)
- Dans le futur imagerie hybride optique/SPECT ?
- Pas de différence protocole 1j /2j





104 patients (mélanome cutané)

- $^{99m}\text{Tc}$  –Nanocoll-ICG (ratio 1-18)+
- SPECT-CT
- injection de bleu vital et détection à l'aide d'une sonde

Résultats : 2,4 ganglions identifiés en moyenne par patients

Taux de détections (% patients) :

- 93,8% des GS radioactif
- 96,7% des GS fluo
- 61,8% des GS bleu



# Autres fluorophores

	ICG	Cy5.5	Cy7	Irdye800 CW	ProSense 750
Excitation wavelength pbs nm	779	675	794	775	750
Emission wavelength pbs nm	806	695	775	796	780
High quantum yield	+/-	+	+	+/-	+
Aqueous solubility	+/-	+	+	+	+
Low photo-bleaching	+	+	+	+	+
Low non-specific binding	-	+	+	+	++
High signal-to-background ratio	+/-	+	+	++	++
Rapid clearance of free dyes	+	+	+	+	+/-
Low toxicity	++	++	++	+	+
Human studies	+	-	-	-	+

ICG seul fluorophore approuvé par la FDA

- Ne peut être lié directement par liaison covalente sur l'albumine
- Version modifié ICG N-hydroxysuccimide [NHS-ester] mais diminution importante du signal de fluorescence

IRDye800 CW

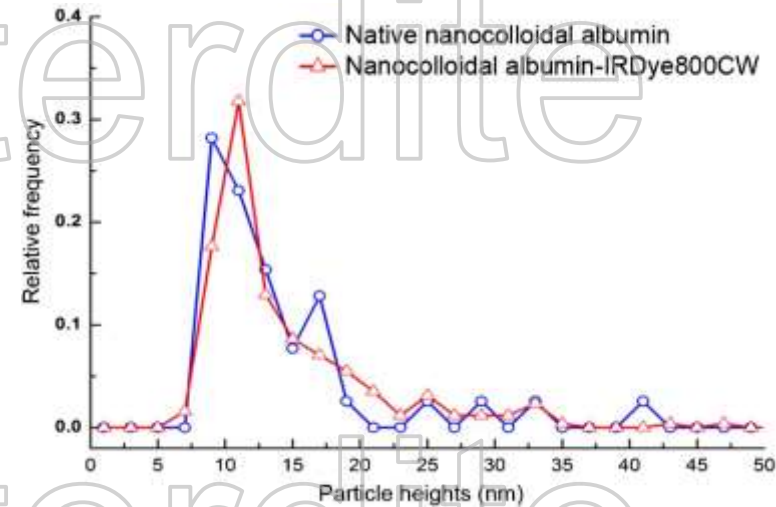
- peu d'autofluorescence des tissus et sang vers 800 nm (comme ICG)
- Version modifié NHS ou maléimide pour liaison à des biomolécules
- pas de perte de fluorescence
- Production « GMP »



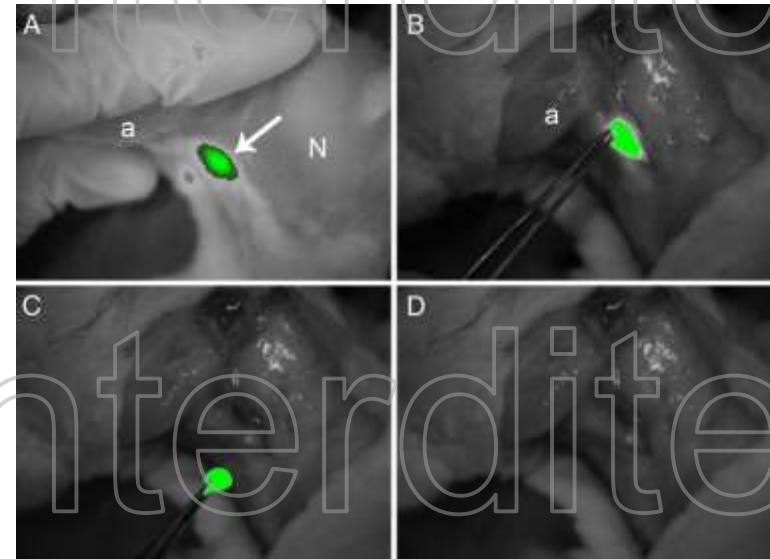
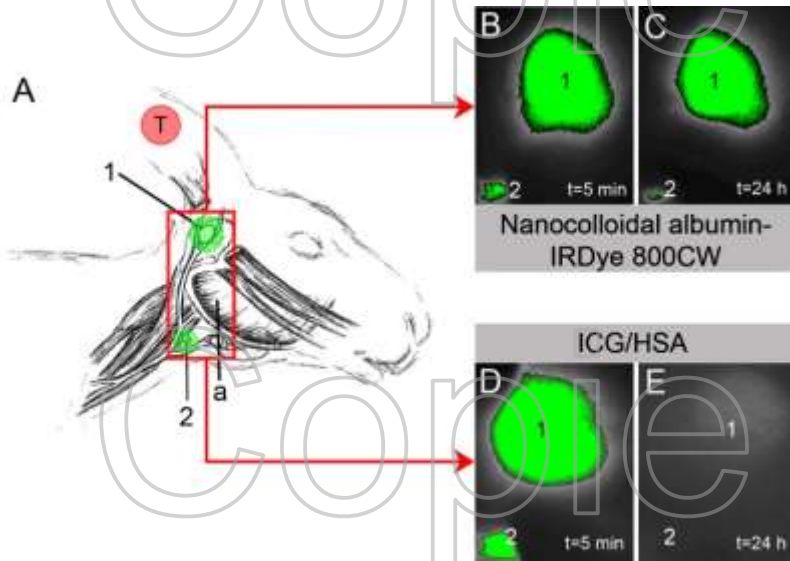
Fluorophore de prochaine génération ?

# Nanocolloïdes-IRDye 800CW

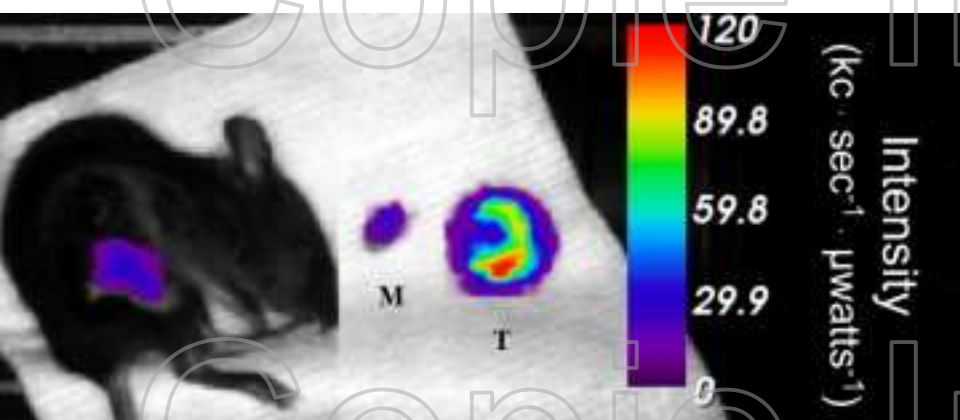
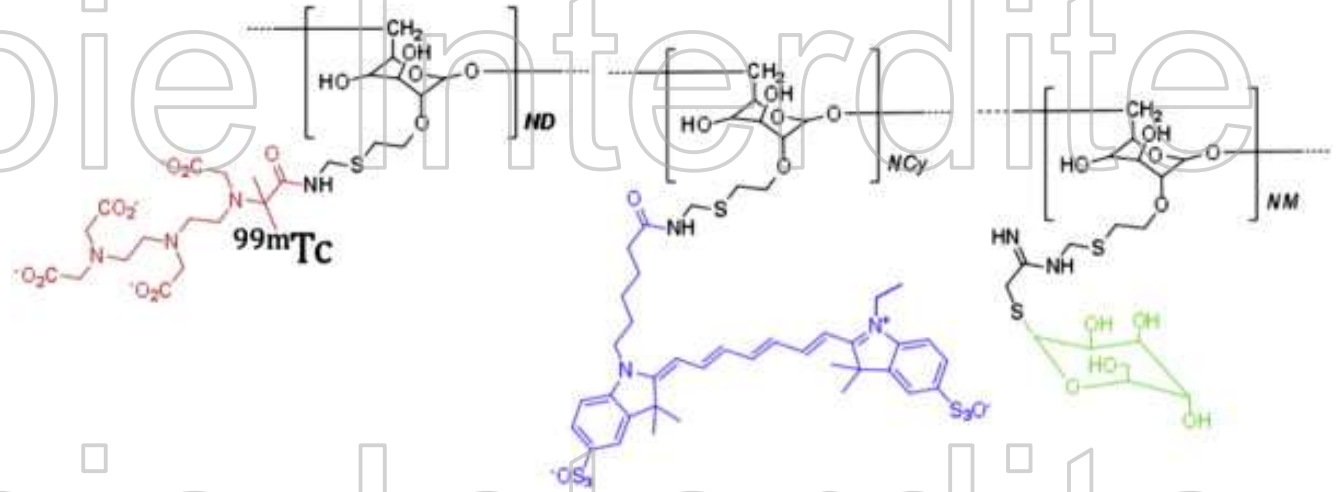
- IRDye 800CW lié aux résidus lysine
- 14 résidus par colloïdes
- 50% de rendement ( <2% libre)
- Pas de modification de taille



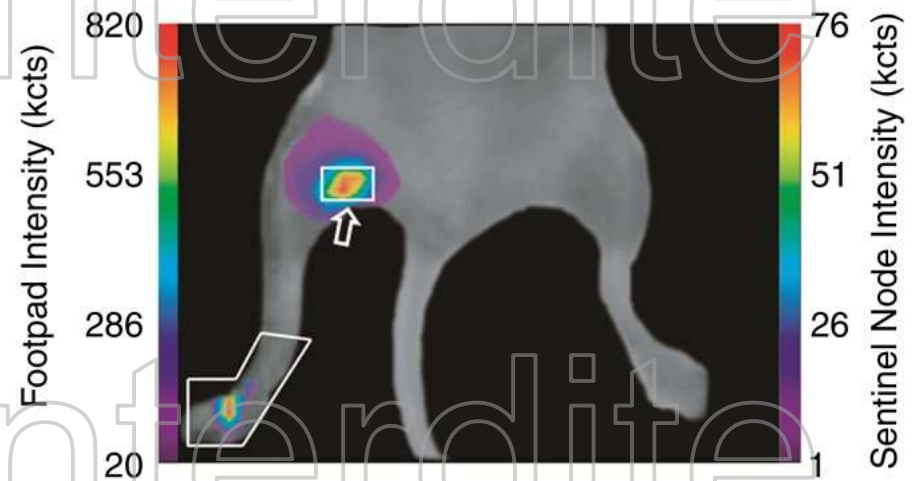
Tumeur auriculaire VX2 chez le lapin



# $^{99m}\text{Tc}$ -Tirmanocept-Cy7



Hosseini et al. 2014



Emerson et al. 2014

# Gamma camera portable

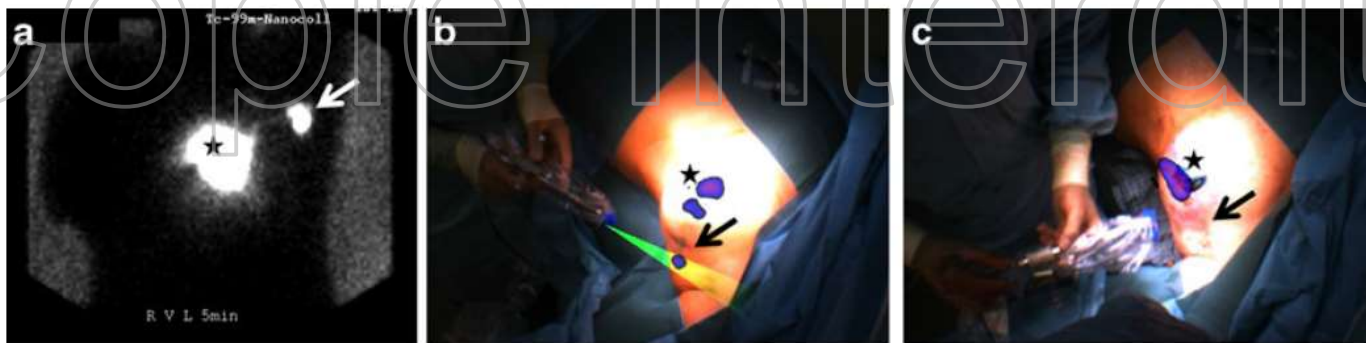
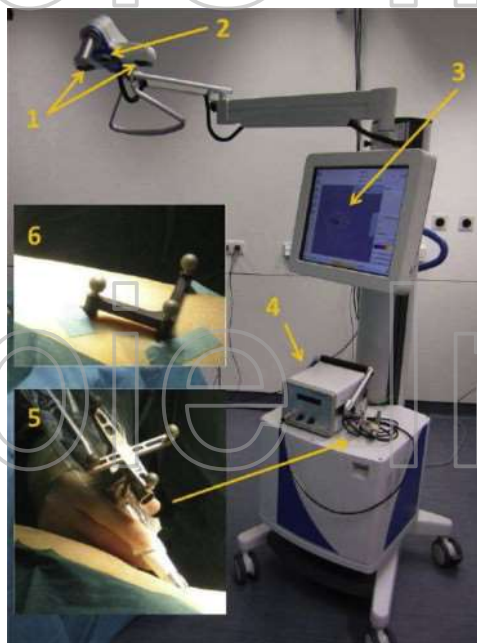


Fig. 2 Patient with SLN (arrows) in the left axilla: a preoperative scintigram; b preincision FhSPECT image; c postoperative FhSPECT image with no remaining activity (stars injection site)

Freehand SPECT (Bluemel et al. 2013)



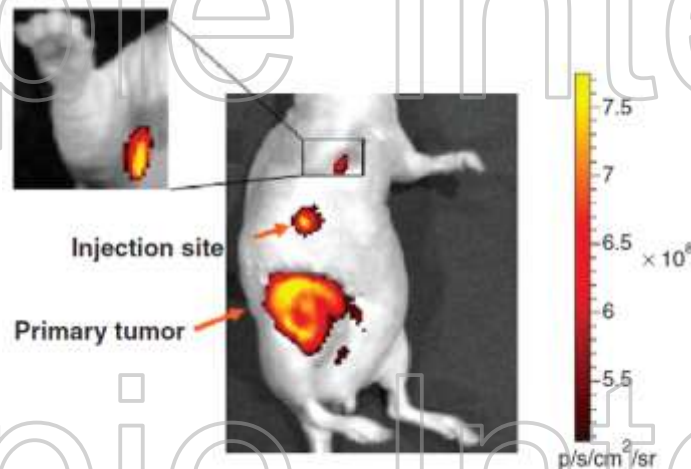
# Perspectives

Généralisation de l'utilisation des Gamma Caméra portable en per-opérateur

Caméra portable hybride SPECT et optique ?

Traceurs multimodaux

Traceurs spécifiques du G métastatique avec rétention importante ?



Trafreshi et al. 2011

Collaboration étroite entre le médecin nucléaire et les chirurgiens