

MESURE AUTOMATISEE DE LA CONCENTRATION DE RADIOACTIVITE DANS LE SANG APRES INJECTION D'UN RADIOLIGAND LORS D'UN EXAMEN DE TOMOGRAPHIE PAR EMISSION DE POSITONS

Diane HOUTTE, Martine GUILLERMIER, Sandra CHARIGLIONE,
Mylène GAUDIN, Léopold EYMIN, Céline DELMAS, Philippe HANTRAYE,
Guillaume LEFEVRE, Nadja VAN CAMP

1- CONTEXTE

L'imagerie par tomographie d'émission de positons (TEP) est une méthode d'imagerie médicale nucléaire couramment utilisée en oncologie, mais aussi en neurologie. L'application de l'imagerie TEP cérébrale gagne en importance suite à un nombre croissant de maladies neurodégénératives diagnostiquées, comme la maladie de Parkinson et Alzheimer. La neuro-imagerie TEP permet de visualiser et quantifier d'une manière non-invasive et très précise le dysfonctionnement neuronal qui précède la mort neuronale; ceci par la mesure de la consommation de glucose, par la mesure des neurotransmetteurs au niveau des récepteurs, ou encore par la visualisation de l'agrégation des protéines malformées.

L'imagerie TEP se réalise après l'injection (intraveineuse) des radioligands ou radiotraceurs, des molécules à haute affinité et spécificité pour une cible cellulaire marquées à un isotope radioactif à courte vie. Les isotopes les plus couramment utilisés en neuro-imagerie TEP sont le Fluor-18 et le Carbon-11. Ces radioéléments se désintègrent sous forme β^+ , et l'annihilation du couple positon-électron donne naissance à 2 rayonnements γ de 511keV émis en sens opposé. La détection simultanée des 2 rayons γ forme la base de l'imagerie TEP. Ces rayonnements γ à haute énergie nécessitent la mise en place des moyens de radioprotection adaptés afin de réduire l'exposition externe autant que possible pour le personnel manipulant et /ou accompagnant les sujets injectés avec ces radioligands.

L'intérêt majeur de la neuro-imagerie TEP est sa capacité de quantifier les mesures biologiques, grâce aux modèles pharmacodynamiques qui décrivent le transport d'un radioligand dans le cerveau à partir du vaisseau sanguin, la fixation à la cible cérébrale et enfin la clairance du ligand du cerveau. La quantification de ces modèles requiert 1- la cinétique (i.e. l'activité temporelle) du radioligand, dérivée des images TEP dynamiques, et 2- la fonction d'entrée du ligand inchangé. Ce dernier consiste en la mesure dynamique de la concentration du radioligand dans le plasma artériel. En résumé, en plus de l'acquisition dynamique des images, la neuro-imagerie TEP quantitatif requiert des comptages des prélèvements sanguins artériels dès l'injection du ligand jusqu'à la fin de l'acquisition de l'examen.

La pose d'un cathéter artérielle suivi par des prélèvements sanguins est une intervention invasive. Par conséquent, ce n'est pas dans la routine clinique mais en recherche et développement préclinique et clinique que l'on retrouve cette pratique. En effet, la R&D préclinique et clinique a comme mission de valider des nouveaux radiotraceurs et d'emmener ces nouveaux ligands en clinique. Le tout en définissant une utilisation et quantification simplifiée non-invasive, donc applicable en clinique qui en plus correspond à la vraie mesure pharmacodynamique. En imagerie TEP préclinique, les sujets sont des modèles animaux de petite et moyenne taille et les caméras sont adaptées avec une meilleure résolution. En conséquence les caméras perdent en sensibilité, et la dose injectée relative au poids du sujet devient plus importante en préclinique par rapport à la clinique : 100MBq/kg pour le rongeur ou 50MBq/kg pour un primate non-humain (PNH) par rapport 5MBq/kg chez l'homme. Les mesures de radioprotection sont donc aussi importantes en imagerie clinique qu'en préclinique. D'autant plus qu'en laboratoire imagerie TEP préclinique, une seule équipe –*consistant en moyenne de trois personnes*– est en charge de la préparation des doses à injecter, l'injection du radiotraceur, les prélèvements et le traitement des échantillons sanguins, la surveillance et enfin le réveil de l'animal.

Sur l'établissement de Fontenay au Roses, faisant parti du CEA Paris Saclay, une entité de recherche préclinique a été développée par le CEA et l'INSERM. Cette entité appelée Molecular Imaging Research Center (MIRCent) a pour mission de mieux comprendre les mécanismes neurodégénératifs afin de développer des stratégies thérapeutiques mieux adaptées. Au sein de MIRCent la plateforme imagerie TEP préclinique est équipée des deux caméras pour l'imagerie du rongeur et PNH. Dans ce résumé nous présentons les mesures ALARA sur le poste des prélèvements sanguins afin de réduire les doses d'extrémités d'une manière très importante. nous présentons l'exemple concret chez le rongeur et nous discutons l'extrapolation chez le primate non-humain (PNH) et l'homme, car l'outil de prélèvements sanguins automatisés est exploitable en R&D préclinique et clinique.

2- LES POSTES DE TRAVAIL DANS UN LABORATOIRE TEP PRECLINIQUE

Toute expérimentation animale est sous contrôle du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche, et approuvée par un comité d'éthique local adhérent à la charte du Comité d'Ethique National. L'expérimentation animale est effectuée sous anesthésie générale avec suivi des paramètres physiologiques (température, respiration, saturation en oxygène). Les voies artérielles sont posées au niveau des artères fémorales ou caudales chez le rongeur ou le PNH, contrairement à l'homme (artère radiale).

Vu sa petite taille (et donc le petit volume sanguin), le prélèvement artériel (manuel) chez le rongeur est considéré comme une manipulation invasive et terminale, et se pratique donc hors caméra sur un petit sous-groupe d'animaux (figure 1). Chez le PNH et l'homme ces prélèvements sont faits simultanément avec l'imagerie TEP. En revanche, la mesure automatisée de la concentration radioactive sanguine chez le rongeur se fait par un shunt artère-veine (et sans perte sanguine) ce qui permet de faire l'imagerie simultanément (figure 2). Chez le PNH et l'homme la mesure automatisée est faite également sous caméra, mais le sang n'est pas réinjecté.

2.1 Les prélèvements sanguins effectués manuellement

Pour une acquisition de 1 heure nous prélevons en moyenne 20 échantillons sanguins à des temps définis ; si l'acquisition dure plus longtemps, nous rajoutons un prélèvement toutes les 30 minutes. Pour les rats 100µl sont prélevés à chaque temps dans des tubes héparinés ou fluorinés (FDG) (Sarstedt 300µl à capillaire), pour le singe 1ml est prélevé à chaque temps dans des tubes sous vide de type Vacutainer fluorinés 4 ml. Le prélèvement s'effectue derrière un écran en plomb avec verre plombé pour réduire l'exposition du corps entier aux rayonnements gamma, par contre aucune protection n'est prévue au niveau des extrémités, excepté la distance et le temps d'exposition. Les tubes de prélèvement sont ensuite centrifugés à 4°C pour séparer sang total et plasma ; et respectivement 50 µl de plasma sont prélevés pour le rongeur et le PNH, et comptés dans un compteur gamma.

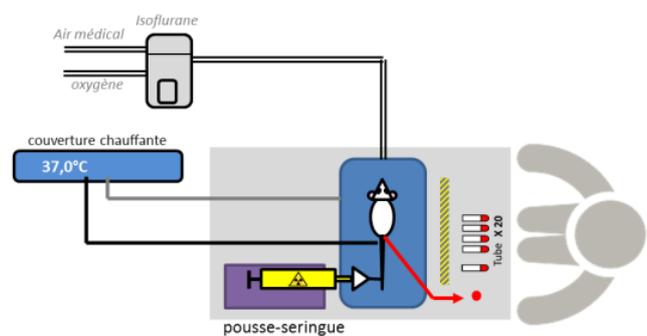


Figure 1 : Setup prélèvement manuel chez le rongeur

2.2 Les mesures sanguines automatisées

Les mesures automatisées sont réalisées avec le système « Twilite » de la compagnie Suisse Swisstrace. L'appareil consiste en un détecteur compact composé par deux cristaux LYSO blindé par du tungstène. La ligne artérielle est guidée dans une cassette qui est placée au sein du détecteur pour assurer la détection optimale des photons. Les scintillations sont ensuite guidées vers les amplificateurs par deux gaines optiques flexibles très efficaces.

Une pompe péristaltique assure un flux sanguin constant dans la ligne artérielle; chez le rongeur le sang est réinjecté dans l'animal par un shunt artério-veineux, contrairement au PNH et à l'homme où le sang est éliminé dans une poubelle biologique plombée. Des branchements dans le circuit permettent de faire des prélèvements additionnels de sang si nécessaire. A part ces prélèvements additionnels, l'opérateur n'intervient pas sur le circuit sanguin après l'injection du radiotracer.

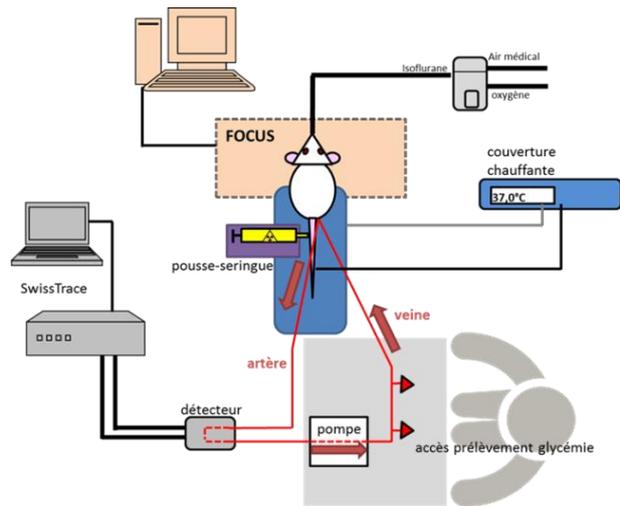


Figure 2 : Setup prélèvement automatisé chez le rongeur

Des branchements dans le circuit permettent de faire des prélèvements additionnels de sang si nécessaire. A part ces prélèvements additionnels, l'opérateur n'intervient pas sur le circuit sanguin après l'injection du radiotracer.

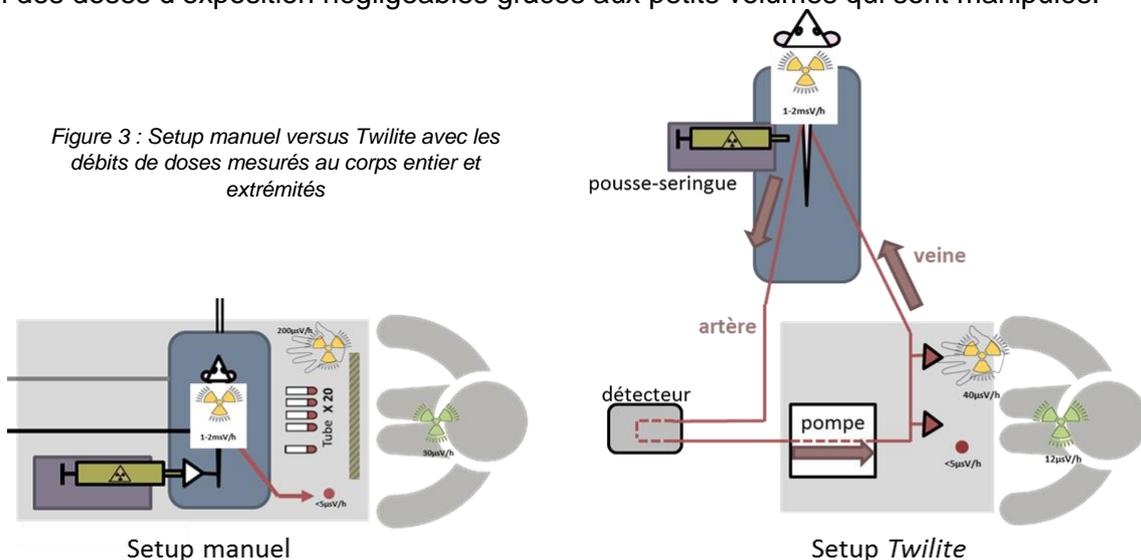
3- LES MESURES DE RISQUE D'EXPOSITION AUX RAYONNEMENTS IONISANTS

Les mesures d'extrémités ont été effectuées par le dosimètre bague Thermo Luminescence (TLD). Les opérateurs portaient la bague à l'index de la main manipulant (droit pour une personne droitère, gauche pour une personne gauchère). Les mesures du rayonnement ambiant et donc l'exposition par corps entier ont été effectuées avec un débitmètre (Radeye, APVL) au niveau de la poitrine du manipulateur.

4- RESULTATS & DISCUSSION

Les prélèvements manuels résultent dans une dosimétrie importante au niveau extrémités ($200\mu\text{Sv/h}$), mais aussi au niveau du corps entier malgré l'écran plombé positionné entre manipulateur et le sujet radioactif ($30\mu\text{Sv/h}$). En effet, à part l'utilisation des pincettes pour tenir les tubes, le manipulateur ne peut pas davantage améliorer la distance, ni son temps d'exposition. La manipulation des tubes sanguins (centrifugation et pipetage du plasma) résulte en des doses d'exposition négligeables grâce aux petits volumes qui sont manipulés.

Figure 3 : Setup manuel versus Twilite avec les débits de doses mesurés au corps entier et extrémités



Contrairement au setup manuel, l'outil *Twilite* ne requiert aucune intervention du manipulateur après l'injection du radio traceur, ce qui élimine entièrement ce poste d'exposition au niveau extrémités et corps entier. Néanmoins, il se peut que l'opérateur doit intervenir et faire un ou plusieurs (au maximum 4) prélèvements sanguins, e.g. pour des mesures de glycémie. Vu que la distance entre opérateur et animal est plus importante avec le système *Twilite* comparé avec le setup sur paillasse, l'exposition extrémités ($40\mu\text{Sv/h}$) et corps entier ($12\mu\text{Sv/h}$) de l'opérateur est moins importante et pourra d'avantage être réduite grâce aux positionnements des écrans plombés.

Le setup automatisé est donc une bonne solution ALARA, l'exposition en corps entier et extrémités est réduite d'une manière importante pour le setup automatisé par rapport un setup manuel. De plus l'aménagement des écrans atténuant pourra être envisagé pour réduire d'avantage l'exposition.

Si on se projette en situation PNH, voir humain, l'exposition au niveau des extrémités sera moins importante grâce à un ratio « dose injectée par poids » plus faible, en revanche l'exposition corps entier sera plus importante au vue de la taille des sujets. La mise en place des écrans plombés sera donc indispensable, malgré un setup automatisé. La sensibilisation du personnel pourra également amener à une amélioration du protocole expérimental et donc une réduction des prélèvements additionnels dans la mesure de possible.