HAL
open science

Chimioembolisation des carcinomes hépatocellulaires : essai d'optimisation de la procédure

Mathieu Boulin

To cite this version:

Mathieu Boulin. Chimioembolisation des carcinomes hépatocellulaires : essai d'optimisation de la procédure. Médecine humaine et pathologie. Université de Bourgogne, 2011. Français. NNT : 2011DIJOPE02 . tel-00959579

HAL Id: tel-00959579

https://theses.hal.science/tel-00959579

Submitted on 14 Mar 2014

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.

UNIVERSITÉ DE BOURGOGNE

UFR PHARMACIE

Boulevard Jeanne d'Arc – 21000 Dijon

THÈSE DE DOCTORAT

Ecole doctorale Environnement – Santé/STIC

Discipline : Pharmacie Clinique

Soutenue publiquement le 27 octobre 2011

par

Mathieu BOULIN

Né le 10 janvier 1976 à Nevers (58)

Chimioembolisation des carcinomes hépatocellulaires : essai d'optimisation de la procédure

JURY

Mr le Professeur Jean-Paul BELON	Président
Mr le Professeur Laurent BEDENNE	Directeur
Mr le Professeur Jean CALOP	Rapporteur
Mr le Professeur Samuel LIMAT	Rapporteur
Mr le Professeur Bruno CHAUFFERT	Examinateur
Mr le Docteur Boris GUIU	Examinateur

UNIVERSITÉ DE BOURGOGNE

UFR PHARMACIE

Boulevard Jeanne d'Arc – 21000 Dijon

THÈSE DE DOCTORAT

Ecole doctorale Environnement – Santé/STIC

Discipline : Pharmacie Clinique

Soutenue publiquement le 27 octobre 2011

par

Mathieu BOULIN

Né le 10 janvier 1976 à Nevers (58)

Chimioembolisation des carcinomes hépatocellulaires : essai d'optimisation de la procédure

JURY

Mr le Professeur Jean-Paul BELON	Président
Mr le Professeur Laurent BEDENNE	Directeur
Mr le Professeur Jean CALOP	Rapporteur
Mr le Professeur Samuel LIMAT	Rapporteur
Mr le Professeur Bruno CHAUFFERT	Examinateur
Mr le Docteur Boris GUIU	Examinateur

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Jean Paul BELON,

Vous me faites l'honneur de présider cette thèse, je vous en remercie très sincèrement. Un immense merci également pour tout ce que vous avez toujours fait pour moi. J'espère être à la hauteur des espérances que vous avez placées en moi.

Que cette thèse soit l'expression de ma plus grande estime à votre égard.

A Monsieur le Professeur Laurent BEDENNE,

Je vous remercie profondément d'avoir accepté la direction de cette thèse.

Sans la totale confiance que vous m'avez accordé, jamais ce travail n'aurait été entrepris ni aurait été mené à son terme. Merci tout au long de cette thèse pour votre très remarquable clairvoyance, votre grande disponibilité, pour vos encouragements sans faille, votre humilité et la finesse de votre esprit.

Veuillez trouver ici le témoignage d'un très profond respect de ma part.

A Monsieur le Professeur Jean CALOP,

Je vous remercie de l'honneur que vous me faites en acceptant de juger et de rapporter ce travail.

Vos commentaires ont contribué à l'enrichissement de ce travail.

Soyez assuré d'un grand respect et d'une sincère gratitude de ma part.

A Monsieur le Professeur Samuel LIMAT,

Je te remercie de l'honneur que tu me fais en acceptant de juger et de rapporter ce travail mais également pour tes précieux conseils il y a quelques années. Tes commentaires ont été d'une très grande pertinence.

Sois assuré de ma très grande estime et de ma profonde reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Bruno CHAUFFERT,

Vous êtes au départ de l'aventure dijonnaise de la chimioembolisation il y a de nombreuses années déjà. Je suis extrêmement heureux de vous avoir rencontré. Je vous remercie pour toute la confiance témoignée tout au long de ce projet, pour le temps et le travail déployé avec un enthousiasme sans faille surtout lors de nos 1ères expériences au laboratoire. Je vous suis très reconnaissant d'accepter de siéger dans ce jury.

A Monsieur le Docteur Boris GUIU,

Comment te remercier pour notre collaboration depuis des années maintenant. Tu as grandement participé à la réalisation de ce projet. Ta passion, ton travail, ta rigueur, ton énorme investissement, ton écoute, ta capacité décisionnelle continuent de me marquer. C'est pour moi un honneur et un bonheur de travailler quotidiennement avec quelqu'un d'aussi brillant que toi. Ta présence dans ce jury est un très grand honneur pour moi.

A Monsieur le Docteur Jean-Pierre CERCUEIL,

Votre humilité, votre très grande sagesse, votre professionnalisme m'ont profondément influencé. Vous faites partie des premiers de l'aventure chimioembolisation, vos conseils m'ont toujours été très précieux. Soyez assuré de ma sincère gratitude et de ma profonde estime.

A Monsieur le Professeur Patrick HILLON,

Je vous remercie très vivement pour tout l'investissement personnel, toute la confiance et l'enthousiasme que vous avez apportés à notre projet. Vous avez recruté le plus grand nombre de patients dans l'essai IDASPHERE. Soyez assuré de mon profond respect et de ma sincère reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Denis KRAUSÉ,

Quel enthousiasme vous avez toujours su inculquer à notre projet. Vous nous avez toujours poussé, encouragé sans relâche avec Boris. Je vous remercie très profondément pour ce soutien inconditionnel. Je vous en suis très reconnaissant.

A Monsieur le Professeur Jean FAIVRE,

Je vous remercie pour la toute confiance que vous m'avez accordé. Vous nous avez beaucoup encouragé, aidé pour l'essai IDASPHERE. Trouvez ici le témoignage de ma plus profonde estime.

A Monsieur le Docteur Jean Louis JOUVE,

Je te remercie pour ton investissement personnel dans l'essai IDASPHERE, notamment pour la définition des toxicités mais aussi pour les patients que tu as inclus et traités. Je te suis profondément reconnaissant d'avoir accepté de me confier l'exploitation de l'essai LIPIOAMIO dont tu étais l'investigateur principal.

A Mesdames, Messieurs les Docteurs Anne MINELLO, Alice GAGNAIRE, Romaric LOFFROY, Nicolas ISAMBERT, à Messieurs les Professeurs Côme LEPAGE et Marc BARDOU,

Je vous remercie pour toute la confiance que vous avez accordée à notre projet, pour tous les malades que vous avez inclus, traités, surveillés au cours de notre essai. Sans votre active participation, ce projet n'aurait jamais été réalisé.

A Madame le Docteur Séverine GUIU,

Sans toi, jamais nous ne serions arrivés à réussir nos expériences de cytotoxicité. Je te remercie pour les heures et les soirées passées au laboratoire. Ton professionnalisme et ta gentillesse m'impressionneront toujours.

A Monsieur le Docteur Serge AHO,

Tu as été le seul à pouvoir approximer des IC_{90} à partir des courbes concentration-effet. Ton travail a permis, j'en suis sûr, de valoriser notre article sur la cytotoxicité. Je t'en remercie d'autant plus que tu y as passé quelques week ends et une bonne partie de tes vacances de ski…Je te remercie également pour tous les bons moments passés ensemble à l'hôpital.

A Monsieur le Docteur François GHIRINGHELLI,

Tu m'as fourni de précieux conseils pour la partie fondamentale de ce travail. Je te remercie également pour ton aide matérielle au sein du laboratoire.

A Monsieur le Docteur Pascal GUERARD, à Mlles Lucie VADOT et Maëva WENDREMAIRE,

Sans votre travail acharné, nous n'aurions jamais su si les microsphères DC Bead™ étaient de « vrais » bons vecteurs pour l'idarubicine.

A Mesdames les Docteurs Aurélie GRANDVUILLEMIN, Sabrina PIERRE, Anne DAUTRICHE et Catherine SGRO,

Le démarrage de l'essai n'a pas été de tout repos pour vous. Je vous remercie pour votre expertise active au cours de l'essai IDASPHERE.

A Monsieur le Docteur Franck BONNETAIN, à toute ton équipe de Biostatistiques et Épidémiologie,

Tu as eu l'audace de proposer une méthodologie originale pour l'escalade des doses d'idarubicine dans l'essai IDASPHERE. Je te remercie pour ton travail actif à chaque inclusion ainsi que le travail de ton équipe pour l'e-CRF et la future analyse des données de l'essai.

A Laurent LAFORET,

Tu as géré d'une main de maître l'essai IDASPHERE au quotidien. Tu m'as grandement aidé pour la réalisation du cahier d'observation. Je te suis extrêmement reconnaissant pour tout ce travail.

A Maud CARPENTIER,

Tu m'as parfaitement aiguillé, soutenu pour l'écriture, le financement et les autorisations à obtenir avant de débuter notre essai. Trouve ici ma profonde reconnaissance.

A toutes les infirmières du service d'Hépatogastroentérologie, aux infirmières du CIC-P, aux manipulateurs du Plateau Technique d'Imagerie du CHU,

En accompagnant les patients, vous avez grandement contribué à la réussite de l'essai IDASPHERE.

A Anne CIBOULET,

Tu m'as grandement aidé à recueillir et analyser les données de l'essai LIPIOAMIO. Je te remercie pour ton investissement et la qualité de ton travail.

A Emilie MAILLARD,

Je te remercie pour ton aide à l'analyse des données de l'essai LIPIOAMIO.

A André BOUCHOT,

Je te remercie pour la qualité des photographies microscopiques que tu m'as aidé à réaliser au sein de la Plateforme d'Imagerie Cellulaire.

A Madame Ghislaine IONKOFF,

Je vous remercie ainsi que votre laboratoire de m'avoir fourni gracieusement des flacons de tensioactifs pour réaliser mes expériences sur les émulsions.

A Madame le Docteur Florence BOUYER et Monsieur le Docteur Johnny MORETTO,

Je vous remercie pour vos conseils et votre aide au cours de notre travail fondamental.

A Madame le Docteur Charlotte MALBRANCHE,

Tu as brillamment relevé le défi d'évaluer le coût d'une 1ère cure de chimioembolisation. J'ai été enchanté de faire ce travail avec toi pour ton professionalisme et ta bonne humeur. Travailler avec toi au quotidien est un grand plaisir. Je te remercie également pour la relecture de ce manuscrit.

A Madame le Docteur Corinne PERNOT,

Je te remercie pour ton encouragement dans ce travail de thèse. Notre complicité durant ces sympathiques années passées ensemble à l'Unité de Pharmacotechnie représente un grand bonheur pour moi.

A Monsieur le Docteur Philippe FAGNONI,

Tu m'as encouragé, conseillé dans ce travail, je t'en suis très reconnaissant. Merci également pour tous nos bons moments passés et à venir à la pharmacie et à la faculté.

A Madame le Docteur Marie Hélène GUIGNARD,

Tu m'as grandement conseillé, aidé depuis des années maintenant. Je te remercie également pour ta disponibilité, ton humilité et ta bonne humeur permanente. Sois assuré de ma plus grande estime à ton égard.

A toutes les préparatrices de l'Unité de Pharmacotechnie,

Merci pour votre travail et tous les excellents moments passés ensemble au quotidien.

A tous les Pharmaciens et le Personnel de la Pharmacie du CHU de Dijon,

A Élodie,

Tu m'as soutenu de manière indéfectible tout au long de ce travail. Tu y as même grandemement participé grâce à tes compétences graphiques ou linguistiques mais aussi grâce à ta clairvoyance.

Ton Amour représente ce que j'ai de plus précieux.

A mes Parents, A mon frère Thomas,

Pour votre soutien et vos encouragements tout au long de mes études,

Pour m'avoir permis d'être ce que je suis,

Que cette Thèse soit la récompense de toutes ces années et le témoignage de ma plus tendre affection.

A ma Famille et à ma Belle-Famille, à mes amis,

RÉSUMÉ

Avec environ 700 000 décès en 2008, le carcinome hépatocellulaire se situe au 3ème rang de la mortalité par cancers dans le monde. La chimioembolisation est le traitement recommandé chez les patients atteints d'un carcinome hépatocellulaire de stade intermédiaire B de la classification Barcelona Clinic Liver Cancer. Cette technique de radiologie interventionnelle consiste en l'injection intraartérielle d'un agent anticancéreux à l'aide d'un vecteur (lipiodol ou microsphères d'embolisation) complétée par une occlusion artérielle lorsque le lipiodol est utilisé. La médiane de survie des patients traités par chimioembolisation pour un carcinome hépatocellulaire n'excède pas 2 ans et il n'existe aucun consensus sur la procédure optimale.

L'objectif de notre travail est d'essayer d'améliorer la procédure de chimioembolisation en optimisant d'une part l'agent anticancéreux et d'autre part, son vecteur.

Il a été démontré au cours d'un travail de sélection *in vitro*, que l'idarubicine est l'agent anticancéreux le plus cytotoxique sur 3 lignées humaines de carcinome hépatocellulaire. Cette anthracycline présente une cytotoxicité supérieure à 10 autres agents anticancéreux dont ceux utilisés en pratique clinique pour la chimioembolisation des carcinomes hépatocellulaires.

L'essai de chimioembolisation de phase II randomisé LIPIOAMIO a montré que l'addition d'amiodarone utilisé pour stabiliser une émulsion à base de lipiodol et d'anthracycline n'augmente pas signicativement la survie des patients atteints d'un carcinome hépatocellulaire non résécable non métastatique. Nous avons par ailleurs montré que l'idarubicine était chargeable et donnait une solution stable plusieurs mois avec les microsphères d'embolisation DC Bead™.

Un essai de phase I est en cours pour déterminer la dose limitante de l'idarubicine administrée dans une solution de microsphères DC Bead™ au cours d'une séance de chimioembolisation chez des patients atteints d'un carcinome hépatocellulaire non résécable, non métastatique. Quelques résultats préliminaires de cet essai sont présentés dans le manuscrit.

Mots-clés : carcinome hépatocellulaire, chimioembolisation, agent anticancéreux, lipiodol, microsphères d'embolisation

ABSTRACT

With 700,000 deaths in 2008, hepatocellular carcinoma is the 3rd most common cause of cancer-related death worldwide. Transarterial chemoembolization is the standard treatment for intermediate-stage hepatocellular carcinoma. This intraarterial treatment is performed by injecting an anticancer drug carried by ethiodized oil or by drug-eluting beads and followed by the occlusion of the artery when ethiodized oil is used. Median survival of patients remains < 2 years, and there is no consensus about the optimal treatment regimen.

The aim of our work was to improve the efficacy of transarterial chemoembolization in optimizing the anticancer drug and its carrier.

We have demonstrated that idarubicin was the most cytotoxic anticancer drug in an *in vitro* screening study of 11 anticancer drugs on 3 human hepatocellular carcinoma cell lines. Idarubicin was more cytotoxic in our experiment than the anticancer drugs which are currently used for transarterial chemoembolization of hepatocellular carcinoma.

The randomized LIPIOAMIO phase II trial has shown that the addition of amiodarone to stabilize an emulsion composed of an anthracycline and of ethiodized oil injected for transarterial chemoembolization does not improve significantly survival of patients with a non resectable, non metastatic hepatocellular carcinoma. We have also demonstrated that idarubicin could be loaded in drug-eluting DC Bead™ and that the resulting solution was stable during several months.

We designed the dose-escalation IDASPHERE phase I trial to determine the limiting dose of idarubicin administred in a solution of drug-eluting DC Bead™ during a transarterial chemoembolization session in patients with non resectable, non metastatic hepatocellular carcinoma. First results of the trial are presented in the manuscript.

Keywords: hepatocellular carcinoma, transarterial chemoembolization, anticancer drug, ethiodized oil, drug-eluting beads

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS **4**

RÉSUMÉ **11**

ABSTRACT **12**

TABLE DES MATIÈRES **13**

LISTE DES PRODUCTIONS SCIENTIFIQUES DANS LE CADRE DU TRAVAIL DOCTORAL **16**

LISTE DES TABLEAUX **19**

LISTE DES FIGURES **20**

LISTE DES ANNEXES **22**

LISTE DES ABRÉVIATIONS **23**

INTRODUCTION **25**

PARTIE 1 PRÉSENTATION DU SUJET 29

Chapitre 1 Généralités sur le CHC 30

1. Le foie 31

1.1. Anatomie 31

1.2. Vascularisation 32

2. Le CHC 34

2.1. Définition 34

2.2. Epidémiologie 35

2.2.1. Incidence 35
2.2.2. Facteurs de risque 38
2.2.2.1 Virus 39
2.2.2.1.1. VHC 39
2.2.2.1.2. VHB 40
2.2.2.2 Toxiques 41
2.2.2.2.1. Alcool 41
2.2.2.2.2. Aflatoxine B1 42
2.2.2.2.3. Chique de bétel 43
2.2.2.3. Causes métaboliques 43
2.2.2.3.1. Stéatose dysmétabolique 43
2.2.2.3.2. Hémochromatose héréditaire 46

2.3. Carcinogénèse hépatique 48

2.4. Diagnostic 51

2.5. Classifications 52

2.6. Pronostic et stratégies thérapeutiques 54
2.6.1. Pronostic 54
2.6.2. Stratégies thérapeutiques 55
2.6.2.1. CHC stade très précoce/précoce 56
2.6.2.2. CHC stade intermédiaire 58
2.6.2.3. CHC stade avancé 59

Chapitre 2 La CHE, traitement du CHC non résécable, non métastatique 61

1. Historique de la CHE 62

2. Définition de la CHE 63

3. Les techniques de CHE 64

3.1. La CHE lipiodolée 64

3.1.1. Historique du lipiodol 64
3.1.2. Propriétés du lipiodol 66
3.1.3. Déroulement d'une CHE lipiodolée 66
3.1.4. Intérêt clinique de la CHE lipiodolée 68

3.2. La CHE avec microsphères d'embolisation chargées 69
3.2.1. Les microsphères d'embolisation chargées 69
3.2.1.1. Définition des microsphères d'embolisation 69
3.2.1.2. Historique des microsphères d'embolisation 70
3.2.1.3. Caractéristiques des microsphères d'embolisation chargées 73
3.2.2. Déroulement d'une CHE avec microsphères d'embolisation chargées 78
3.2.3. Intérêt clinique de la CHE avec microsphères d'embolisation chargées 78

PARTIE 2 TRAVAUX PERSONNELS 82

Chapitre 1 L'agent anticancéreux pour la CHE des CHC 83

1. Problématique 84

2. Travaux sur l'optimisation de l'agent anticancéreux pour la CHE des CHC : étude de sélection *in vitro* 93

2.1. Rationnel et objectif de l'étude 93

2.2. Matériel et méthodes 93

2.3. Résultats 95

2.4. Conclusion 96

Chapitre 2 Le vecteur pour la CHE des CHC 105

1. Problématique 106

1.1. Problématique du lipiodol 106

1.2. Problématique des microsphères d'embolisation chargées 109

2. Travaux sur l'optimisation du vecteur pour la CHE des CHC 112

2.1. Optimisation d'une CHE lipiodolée : essai randomisé de phase II comparant une CHE à base de lipiodol et d'anthracycline avec ou sans amiodarone chez des patients atteints d'un CHC non résécable, non métastatique 112

2.1.1. Rationnel et objectif de l'étude 112
2.1.2. Matériel et méthodes 113
2.1.3. Résultats 114
2.1.4. Conclusion 114

2.2. Optimisation d'une CHE avec microsphères : essai de phase I évaluant la tolérance et l'efficacité d'une CHE avec de l'idarubicine administrée dans des microsphères d'embolisation DC Bead™ chez des patients atteints d'un CHC non résécable 122

2.2.1. Rationnel et faisablité 122
2.2.2. Description de l'essai IDASPHERE 123
2.2.2.1. Renseignements généraux 123
2.2.2.2. Objectifs 123
2.2.2.3. Déroulement de l'étude 124
2.2.2.4. Critères d'évaluation 126
2.2.2.5. Nombre de patients prévu et calendrier 127
2.2.3. Résultats préliminaires 128
2.2.3.1. Caractéristiques initiales des patients 128
2.2.3.2. Tolérance 128
2.2.3.3. Évaluation des réponses 130
2.2.3.4. Pharmacocinétique 133

DISCUSSION GÉNÉRALE 136

CONCLUSION 146

BIBLIOGRAPHIE 149

ANNEXE 1 174

ANNEXE 2 180

ANNEXE 3 260

ANNEXE 4 267

ANNEXE 5 274

ANNEXE 6 275

LISTE DES PRODUCTIONS SCIENTIFIQUES DANS LE CADRE DU TRAVAIL DOCTORAL

Publications internationales

Guiu B, Deschamps F, **Boulin M**, Boige V, Malka D, Ducreux M, Hillon P, de Baere T. Serum gamma-glutamyl-transferase independently predicts survival after TACE of intermediate-stage hepatocellular carcinoma: external validation. *Cardiovasc. Interv. Radiol*. 2011, accepté septembre 2011. (IF2010 2,00)

Boulin M, Ciboulet A, Guiu B, Maillard E, Bonnetain F, Minello A, Gagnaire A, Lepage C, Krausé D, Hillon P, Bedenne L, Cercueil JP, Chauffert B, Jouve JL. Randomised Controlled Trial of Lipiodol Transarterial Chemoembolisation with or without amiodarone for Unresectable Hepatocellular Carcinoma. *Dig. Liver. Dis.,* 2011, 43, 905-911. (IF2010 2,82)

Boulin M, Guiu S, Chauffert B, Aho LS, Cercueil JP, Ghiringhelli F, Krause D, Fagnoni P, Hillon P, Bedenne L, Guiu B. Screening of anticancer drugs for chemoembolization of hepatocellular carcinoma. *Anticancer. Drugs.,* 2011, 22, 741-748. (IF2010 2,38)

Guiu B, Colin C, Cercueil JP, Loffroy R, Guiu S, Ferrant E, Bonnetain F, **Boulin M**, Ghiringhelli F, Minello A, Hillon P, Bedenne L, Krausé D, Chauffert B. Pilot study of transarterial chemoembolization with pirarubicin and amiodarone for unresectable hepatocellular carcinoma. *Am. J. Clin. Oncol.,* 2009, 32, 238-244. (IF2010 2,21)

Publication nationale

Malbranche C, **Boulin M**, Guiu B, Pernot C, Cercueil JP, Aho LS, Musat A, Bedenne L, Hillon P, Guignard MH, Fagnoni P. Impact économique de la chimioembolisation avec microsphères chargées dans le traitement du carcinome hépatocellulaire. *Bull. Cancer.,* 2011, 98, 671-678. (IF2010 0,88)

Communications orales

Boulin M, Cercueil JP, Krausé D, Bonnetain F, Guérard P, Hillon P, Minello A, Vadot L, Bedenne L, Guiu B. Chimioembolisation des carcinomes hépatocellulaires par microsphères chargées en idarubicine : étude de phase I IDASPHERE. Journées de la Société Française de Radiologie (JFR), 21-25 octobre 2011, Paris.

Guiu B, Chauffert B, Guiu S, Loffroy R, Cercueil JP, Ghiringhelli F, Guignard MH, Krausé D, Bedenne L, **Boulin M**. Quel anticancéreux pour la chimioembolisation du CHC ? Journées de la Société Française de Radiologie (JFR), 16-20 octobre 2009, Paris.

Guiu B, Loffroy R, Guiu S, Cercueil JP, Colin C, Bonnetain F, **Boulin M**, Ghiringhelli F, Hillon P, Bedenne L, Krausé D, Chauffert B. Pilot study of transarterial chemoembolization with pirarubicin and amiodarone for unresectable hepatocellular carcinoma. European Society of Gastrointestinal and Abdominal Radiology (ESGAR), 10-13 juin 2008, Istanbul.

Communications affichées

Ciboulet A, **Boulin M**, Chauffert B, Cercueil JP, Fagnoni F, Bedenne L, Jouve JL. Prospective Randomized Study of Transarterial Chemoembolization with or without amiodarone in the Treatment of Unresectable Hepatocellular Carcinoma: Results of the Lipioamio Study. 39ème congrès de la Société Européenne de Pharmacie Clinique, octobre 2010, Lyon

Boulin M, Guiu S, Guiu B, Ghiringhelli F, Cercueil JP, Chauffert B, Bedenne L. Index thérapeutiques de différentes molécules sur 3 lignées de carcinome hépatocellulaire en vue de la chimioembolisation. Journées Francophones d'Hépatologie et d'Oncologie Digestive (JFHOD), mars 2010, Paris.

Guiu B, Chauffert B, Guiu S, Loffroy R, Cercueil JP, Krausé D, Guignard MH, Bedenne L, **Boulin M**. Which drug (is really the best) for chemoembolization of hepatocellular carcinoma? European Congress of Radiology (ECR), mars 2010, Vienne.

Malbranche C, **Boulin M**, Pernot C, Cercueil JP, Hillon P, Fagnoni P, Guignard MH. Impact économique de l'introduction d'une technique innovante de chimioembolisation dans le carcinome hépatocellulaire. VIIèmes Journées Nationales de la Société Française de Pharmacie Oncologique (SFPO), octobre 2009, Cannes (3ème prix poster).

Guiu B, Chauffert B, Guiu S, Loffroy R, Cercueil JP, Krausé D, Guignard MH, Bedenne L, **Boulin M**. Is doxorubicin the most effective drug for chemoembolization ? Cardiovascular and Interventional Radiological Society of Europe (CIRSE), septembre 2009, Lisbonne.

Boulin M, Guiu B, Guiu S, Cercueil JP, Chauffert B, Bedenne L. Etude de cytotoxicité in vitro des différents anticancéreux candidats à la chimioembolisation des carcinomes hépatocellulaires. Journées Francophones d'Hépatologie et d'Oncologie Digestive (JFHOD), mars 2009, Paris.

Guiu B, Loffroy R, Guiu S, **Boulin M**, Ghiringelli F, Bonnetain F, Hillon P, Bedenne L, Cercueil JP, Chauffert B, Krausé D. Addition of pirarubicin and amiodarone in TACE of unresectable hepatocellular carcinoma : a pilot study. Congrès de la Society of Interventional Radiology (SIR), mars 2009, San Diego.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Incidence mondiale du CHC

Tableau II. Principaux oncogènes et gènes suppresseurs de tumeurs mutés dans les CHC (adapté de [Zucman-Rossi 2010])

Tableau III. Classification de Child-Pugh (adapté de [Pugh 1973])

Tableau IV. Classification d'Okuda (adapté de [Okuda 1982])

Tableau V. Classification Barcelona Clinic Liver Cancer (adapté de [Llovet *Semin. Liver. Dis.* 1999])

Tableau VI. Principales particules d'embolisation sphériques ou non, non chargées commercialisées en France en 2011 (adapté de [Laurent 2006])

Tableau VII. Microsphères d'embolisation chargées avec des agents anticancéreux commercialisées en France en 2011

Tableau VIII. Principaux essais randomisés de CHE publiés entre 1991 et juillet 2011 chez des patients atteints de CHC non résécables

Tableau IX. Caractéristiques initiales des 14 premiers patients de l'essai IDASPHERE

Tableau X. Idarubicinémies et idarubicinolémies des 13 premiers patients de l'essai IDASPHERE

LISTE DES FIGURES

Figure 1. A. Schéma du lobule hépatique, unité anatomique du foie, B. Schéma de l'acinus de Rappaport, unité fonctionnelle du foie (d'après [Deugnier 2005])

Figure 2. Segmentation hépatique (d'après [Bismuth 2003])

Figure 3. Taux d'incidence et de mortalité du CHC ajustés sur l'âge (pour 100 000) (d'après [Globocan 2008])

Figure 4. Progression de la non-alcoholic fatty liver disease à la cirrhose (d'après [Caldwell 2004])

Figure 5. Hypothèses actuelles concernant le mécanisme de l'absorption intestinale du fer et sa perturbation au cours de l'hémochromatose

Figure 6. Séquence chronologique du développement d'un CHC (d'après [Saffrog 2004])

Figure 7. IRM montrant un petit nodule de CHC dans foie cirrhotique (d'après [Tremosini 2010])

Figure 8. Algorithme de traitement BCLC (d'après [Forner 2010])

Figure 9. Petit CHC à l'IRM (d'après [Tremosini 2010])

Figure 10. Petit CHC sans envahissement vasculaire apparent ni nodules satellites

Figure 11. Survie globale des patients traités dans l'essai SHARP (adapté de [Llovet *N. Engl. J. Med*. 2008])

Figure 12. Lipiodol Lafay

Figure 13. Lipiodol® Ultra Fluide

Figure 14. Déroulement d'une CHE lipiodolée au CHU de Dijon

Figure 15. Principaux types d'agents d'embolisation et exemples de leurs utilisations (adapté de [Namur 2007])

Figure 16. Principaux résultats de l'équipe de Kato sur les particules d'éthylcellulose chargées avec du cisplatine (adapté de [Okamoto 1986])

Figure 17. Chargement microscopique DC Bead™ - doxorubicine (d'après [Biocompatibles. Products. DC Bead™. FAQ.])

Figure 18. Chargement macroscopique DC Bead™ - doxorubicine

Figure 19. Microsphères d'embolisation HepaSphere™

Figure 20. Doxorubicinémies après CHE avec microsphères DC Bead™ (graphe du haut) et après CHE lipiodolée (graphe du bas) (adapté de [Varela 2007])

Figure 21. Photographies microscopiques des lignées humaines de CHC HepG2, SNU-398 et SNU-449

Figure 22. Chaîne chromatographique HPLC avec détection par spectrométrie de masse

Figure 23. Planches d'IRM hépatiques du patient n°1 de l'essai IDASPHERE

Figure 24. Planches d'IRM hépatiques du patient n°2 de l'essai IDASPHERE

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1. IDASPHERE Dossier technique relatif au produit fini : microsphères DC Bead™ chargées d'idarubicine

Annexe 2. Protocole IDASPHERE

Annexe 3. AOI 2009. Formulaire de promotion. CHU de Dijon

Annexe 4. Rapport annuel de sécurité IDASPHERE. Période du 22 janvier 2010 au 21 janvier 2011.

Annexe 5. Travaux *in vitro* annexes au travail doctoral

Annexe 6. Émulsion lipiodolée avec idarubicine et tensioactifs

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AASLD :	American Association for the Study of Liver Diseases
ABC :	ATP-binding cassette
AFSSaPS :	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé
Ag HBs :	Antigène du virus de l'hépatite virale B
ALAT :	Alanine aminotransférase
ASAT :	Aspartate aminotransférase
ASCO :	American Society of Clinical Oncology
AUC :	Aire sous la courbe
BCLC :	Barcelona Clinic Liver Cancer
CEUS :	Echographie de contraste
CHC :	Carcinome hépatocellulaire
CHE :	Chimioembolisation
CIC-P :	Centre d'Investigation Clinique Plurithématique
CIRC :	Centre International de Recherche sur le Cancer
CLIP :	Cancer of the Liver Italian Program
CLUD :	Comité de Lutte contre la Douleur
CPP :	Comité de Protection des Personnes
CRF :	Case Report Form
CRM :	Continuous Reassessment Method
CUPI :	Chinese University Prognostic Index
DASRI :	Déchets d'Activité de Soins à Risque Infectieux
DLT :	Dose Limitante Toxique
DMT :	Dose Maximale Tolérée
EASL :	European Association for Study of the Liver
ECG :	Electrocardiogramme
EI :	Evènement indésirable
EIG :	Evènement indésirable grave
EORTC :	European Organisation for Research and Treatment of Cancer
FEV :	Fraction d'éjection ventriculaire
FFCD :	Fédération Francophone de Cancérologie Digestive
GGT :	Gamma-glutamyl-transférase
GHS :	Groupe homogène de séjour
HLB :	Hydrophilic Lipophilic Balance
HR :	Hazard ratio

IC95% :	Intervalle de confiance à 95%
IRM :	Imagerie par résonance magnétique
IA :	Intraartérielle
INCa :	Institut National du Cancer
IV :	Intraveineuse
IVA :	Artère interventriculaire antérieure
JIS :	Japan Integrated Staging
MDR :	Multidrug resistance
NAFLD :	Non alcoholic fatty liver disease
NASH :	Non alcoholic steatohepatitis
NCI CTC AE :	National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Event
NFS :	Numération formule sanguine
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
OR :	Odds ratio
PAL :	Phosphatases alcalines
PCA :	Perfusion continue autoadministrée
PS :	Performance status
PVA :	Alcool polyvinylique
RCP :	Résumé des Caractéristiques du Produit
RR :	Risque relatif
SMANCS :	Styrene-maleic acid neocarzinostatin
SNA :	Stéatose non alcoolique
TCA :	Temps de céphaline activée
TNCD :	Thésaurus National de Cancérologie Digestive
TNM :	Tumour Node Metastasis
TP :	Taux de prothrombine
TP53 :	Tumor protein p53
VEGF :	Vascular Endothelial Growth Factor
VHB :	Virus de l'hépatite B
VHC :	Virus de l'hépatite C
5-FU :	5-fluorouracile

INTRODUCTION

Place de la chimioembolisation dans le traitement du carcinome hépatocellulaire

Le carcinome hépatocellulaire (CHC) est le 5ème cancer le plus fréquent dans le monde [Globocan 2008]. Avec environ 700 000 décès par an, il se situe au 3ème rang mondial de la mortalité par cancers [Globocan 2008]. En France, on comptait 7098 nouveaux cas de CHC en 2008 [Globocan 2008]. L'incidence du CHC a triplé en 20 ans en France [Belot 2008]. Au moment du diagnostic, seuls 30% des patients bénéficieront d'un traitement potentiellement curatif (transplantation hépatique, résection, destruction percutanée) [Bruix 2009]. Pour 30 à 50% des patients, qui présentent au diagnostic un CHC non résécable de stade intermédiaire B selon la classification Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC), à savoir un CHC de grande taille ou multifocal avec une fonction hépatique préservée Child-Pugh A ou B7, sans thrombose porte, ni métastases, le traitement recommandé est la chimioembolisation (CHE) [Bruix 2009]. Ces recommandations reposent sur les résultats de deux essais randomisés [Lo 2002, Llovet 2002] suivis de deux méta-analyses [Camma 2002, Llovet 2003] qui ont démontré que la CHE améliorait significativement la survie des patients atteints d'un CHC non résécable comparativement aux soins de support et à la chimiothérapie systémique.

La CHE s'est développée dans les années 1970-1980, principalement au Japon. La technique a été développée à partir de l'embolisation, elle-même initiée dans les années 1960. L'embolisation consiste à injecter un agent d'occlusion vasculaire à travers un cathéter. La technique visait initialement à occlure des vaisseaux de gros calibre pour stopper des hémorragies et traiter des malformations artérioveineuses [Speakman 1964, Ishimori 1967]. Elle a ensuite été proposée pour le traitement des tumeurs bénignes de l'utérus, les léiomyomes et pour le traitement des CHC.

La CHE est une technique de radiologie interventionnelle loco-régionale qui consiste en l'injection intraartérielle (IA) d'un agent anticancéreux à l'aide d'un vecteur (lipiodol ou microsphères d'embolisation) complétée par une occlusion artérielle par des agents d'embolisation lorsque le lipiodol est utilisé. Le principe de la CHE est d'augmenter la

concentration de l'agent anticancéreux au plus près de la tumeur grâce à l'injection locale et grâce au ralentissement du flux sanguin par l'embolisation.

Bien que la CHE soit pratiquée mondialement depuis de nombreuses années, il existe une très grande hétérogénéité selon les centres et les radiologues interventionnels au regard des agents anticancéreux utilisés, des doses administrées, des agents d'embolisation, des techniques d'injection, de la fréquence des cures [Marelli 2007]. Finalement, la survie des patients traités par CHE pour un CHC reste faible (< 30% à 3 ans) [Llovet 2003] et il n'existe aucun consensus sur la procédure optimale [Marelli 2007]. Il est donc nécessaire d'optimiser la technique de CHE.

Objectif du travail de thèse

L'objectif de ce travail est d'essayer d'optimiser la procédure de CHE afin d'améliorer les réponses et la survie des patients atteints d'un CHC non résécable, non métastatique.

Plan de la thèse

La première partie situe le sujet sur la base d'une revue bibliographique des données antérieures. Le premier chapitre expose des données générales sur le CHC. Le second chapitre présente la CHE comme traitement des patients atteints d'un CHC non résécable, non métastatique.

La seconde partie présente les travaux personnels réalisés pour essayer d'améliorer la procédure de CHE en optimisant l'agent anticancéreux d'une part et le vecteur, d'autre part.

Dans un premier chapitre, nous montrerons que l'idarubicine, anthracycline utilisée dans le traitement des leucémies aiguës, est l'agent anticancéreux le plus cytotoxique sur 3

lignées humaines de CHC. Ce travail *in vitro* a fait l'objet d'une publication présentée dans ce chapitre.

Le second chapitre détaille les travaux effectués sur le vecteur. Nous présenterons notamment les résultats de l'essai clinique de phase II randomisé qui a comparé deux procédures de CHE lipiodolée, l'une avec amiodarone, l'autre sans. Ce travail a également fait l'objet d'une publication scientifique présentée dans le manuscrit. Nous présenterons également dans ce chapitre les résultats préliminaires de l'essai de phase I IDASPHERE. L'essai, initié à la suite du travail *in vitro*, teste chez des patients atteints d'un CHC non résécable, non métastatique une CHE combinant à priori l'agent anticancéreux le plus efficace dans cette indication, l'idarubicine avec le vecteur le plus approprié, les microsphères d'embolisation.

PARTIE 1

PRÉSENTATION DU SUJET

Chapitre 1

Généralités sur le CHC

1. Le foie

1.1. Anatomie

Le foie est l'organe le plus volumineux de l'organisme. Il est situé sous le diaphragme, traversant la cavité abdominale sur toute la largeur. Chez l'adulte, il pèse environ 1400-1600 g plus environ 800 g de sang. Chez l'adulte, les dimensions du foie sont environ : largeur 25 cm, profondeur 15cm, hauteur 8 cm.

Sur le plan anatomique, il est formé de 2 lobes principaux, le droit et le gauche. La vésicule biliaire est située au niveau du lobe droit.

Le lobule hépatique est l'unité fonctionnelle du foie. Il se présente comme une structure hexagonale, avec en son centre une veine centrolobulaire et limitée en périphérie par plusieurs espaces portes voisins (Figure 1A). Le diamètre moyen d'un lobule hépatique est d'environ 1 mm [Bismuth 2003].

L'organisation vasculaire du foie détermine son fonctionnement. L'acinus de Rappaport, constitue l'unité fonctionnelle du foie. Cette structure triangulaire est formée à sa base par une ligne réunissant deux veines centrolobulaires, à son sommet par un espace porte et centrée sur le canal biliaire. Trois zones y sont délimitées, rendant compte des différences morphologiques et fonctionnelles des hépatocytes au sein du parenchyme : périportale ou afférente (zone 1), médiolobulaire ou intermédiaire (zone 2), et centrolobulaire ou efférente (zone 3) (Figure 1B).

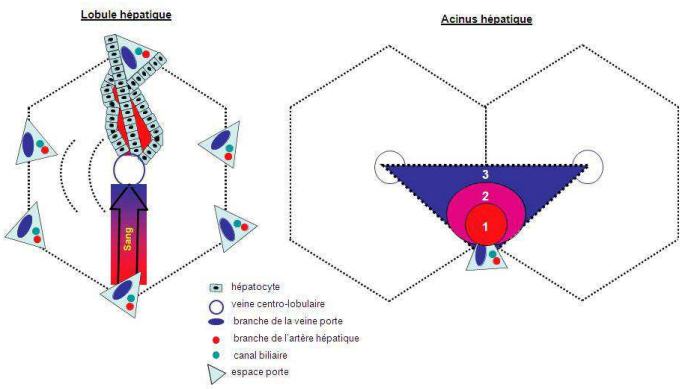


Figure 1. **A**. Schéma du lobule hépatique, unité anatomique du foie, **B**. Schéma de l'acinus de Rappaport, unité fonctionnelle du foie (d'après [Deugnier 2005])

1.2. Vascularisation

Le foie est le seul organe avec les poumons à recevoir un double apport sanguin.

La veine porte amène du sang veineux en provenance de l'intestin grêle et du côlon (veines mésentériques supérieure et inférieure), de la rate et du pancréas (veine splénique) et de l'estomac (veine gastrique). Elle apporte environ 75% du volume sanguin hépatique.

L'artère hépatique, issue du tronc coeliaque, amène le sang oxygéné directement du cœur. L'ensemble veine porte – artère hépatique constitue avec le canal cholédoque, le pédicule hépatique. La ramification hépatique aboutit aux espaces portes constitués d'une branche de l'artère hépatique, d'une branche de la veine porte et d'un des deux canaux biliaires. Le sang passe de la veine porte à la veine centrolobulaire au sein du parenchyme hépatique par les sinusoïdes, capillaires hépatiques dans lesquels se déversent les branches de division de l'artère hépatique et de la veine porte. Les sinusoïdes, longeant les travées hépatiques monocellulaires, se déversent dans une veine centrolobulaire qui conduit ensuite le sang vers les veines sus-hépatiques puis dans la veine cave inférieure.

Le sang quitte le foie par trois veines sus-hépatiques principales (droite, médiane et gauche) et des veines accessoires qui drainent le segment 1 (ou lobe de Spigel), ce qui explique l'hypertrophie de ce segment en cas d'obstruction des veines principales. Les veines sus-hépatiques principales délimitent 4 secteurs composés chacun de 1 à 2 segments : latéral gauche (segments 2 et 3), paramédian gauche (segment 4), paramédian droit (segments 5 et 8) et latéral (ou postérieur) droit (segments 6 et 7) (Figure 2). Elles se jettent dans la veine cave inférieure.

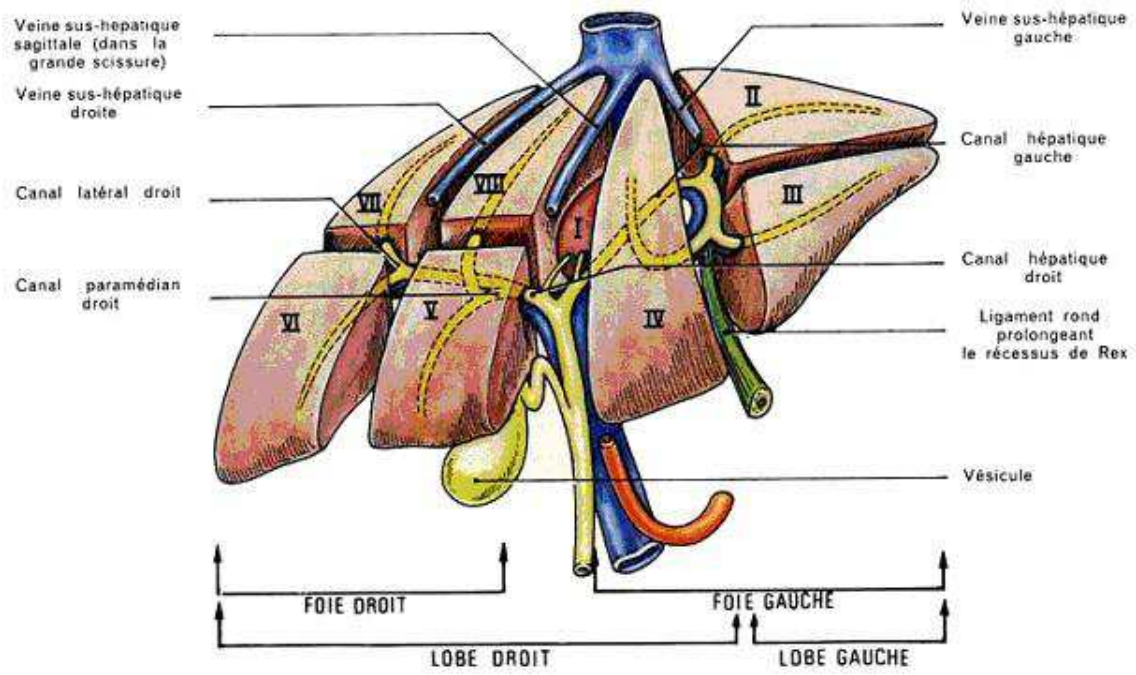


Figure 2. Segmentation hépatique (d'après [Bismuth 2003])

La double vascularisation hépatique a une conséquence importante pour la thérapeutique. Les tumeurs primitives ou secondaires du foie reçoivent l'essentiel de leur apport sanguin par l'artère hépatique et non pas par la veine porte comme le parenchyme hépatique sain. Cette caractéristique permet de pouvoir occlure l'artère hépatique sans induire de nécrose complète de l'organe puisque celui-ci continue d'être irrigué par le système veineux. **Avec l'hypervascularisation tumorale, qui est une des particularités du CHC, cette caractéristique vasculaire du foie a constitué la base du développement des thérapeutiques IA de ces tumeurs**.

2. Le CHC

2.1. Définition

Le CHC est une tumeur épithéliale maligne développée à partir des cellules parenchymateuses hépatiques ; pour cette raison, les cellules tumorales ont des caractéristiques histologiques ressemblant à celles des hépatocytes.

Les caractéristiques anatomopathologiques et les signes cliniques du cancer du foie furent décrits à la fin du 19ème siècle. En 1901, Eggel analysa les données de plus de 200 autopsies rapportées dans la littérature et proposa une 1ère classification du cancer du foie [Eggel 1901]. En 1911, Yamagiwa précisa les caractéristiques histologiques des tumeurs du foie et distingua le CHC du carcinome des voies biliaires intrahépatiques qu'il désigna respectivement sous les termes d' « hépatome » et de « cholangiome » [Yamagiwa 1911]. Cette terminologie fut adoptée dans le monde entier. La signification du mot hépatome étant finalement ambiguë (les termes d'hépatome bénin et d'hépatome malin étant largement utilisés), l'International Association for the Study of the Liver a recommandé les termes de carcinome hépatocellulaire et de carcinome cholangiocellulaire (cholangiocarcinome) [Fogarty 1976].

La monographie de Berman *Primary Carcinoma of the Liver* publiée en 1951 [Berman 1951], mit en lumière les particularités épidémiologiques du CHC. Ce cancer était beaucoup plus fréquent dans la population noire d'Afrique du Sud que dans la population de tous les autres pays dont les taux d'incidence bruts étaient alors connus. Le nom de Berman resta attaché à la description clinique du CHC. Il travaillait dans un dispensaire attaché aux mines d'or autour de Johannesburg où de nombreux jeunes hommes originaires du Mozambique étaient employés. Un grand nombre d'entre eux étaient atteints d'un CHC peu après leur arrivée. Berman décrivit les signes cliniques de la maladie chez 75 patients et rapporta également les découvertes autopsiques de 51 cas. Ce fut à la fin des années 1970 que Kunio

Okuda reconnut les différences cliniques et anatomopathologiques entre les patients Bantous décrits par Berman et ceux vus au Japon. Le CHC de type expansif, encapsulé est le type anatomopathologique le plus fréquent au Japon, alors que le CHC infiltrant prédomine aux Etats Unis et que l'association à une cirrhose est beaucoup moins fréquente dans la population noire bantoue [Okuda 1977].

2.2. Epidémiologie

2.2.1. Incidence

Le CHC représente 85-90% de l'ensemble des tumeurs du foie. Avec environ 749 500 nouveaux cas en 2008 dans le monde, le CHC représente le 5ème cancer le plus fréquent dans le monde [Globocan 2008] (Tableau I). **Il se situe au 3ème rang mondial de la mortalité par cancers après les cancers du côlon/rectum et du poumon** [Globocan 2008]. Environ 700 000 personnes sont décédées en 2008 dans le monde d'un CHC [Globocan 2008]. Soixante dix pourcent des cas de CHC surviennent chez les hommes [El Serag 2007]. Un des facteurs pouvant expliquer l'incidence plus élevée chez les hommes que chez les femmes quelle que soit la population, est la fréquence supérieure des hépatopathies chroniques chez les hommes [El Serag 2007]. En France, on comptait 7098 nouveaux cas de CHC en 2008 [Globocan 2008].

Tableau I. Incidence mondiale du CHC

Année	Total	Femmes	Hommes
1999	437 410	121 110	316 300
2000	564 300	165 970	398 330
2002	714 600	210 000	504 600
2008	749 744	226 312	523 432

Hormis quelques exceptions, l'incidence du CHC est plus élevée dans les pays en voie de développement que dans les pays développés en lien direct avec l'importance des hépatites virales B et C dans ces pays. En 2008, les taux d'incidence standardisés sur l'âge du CHC dans

les pays de l'Est asiatique, du Sud Est asiatique et d'Afrique subsaharienne étaient supérieurs à 20 pour 100 000 [Globocan 2008]. L'Italie, l'Espagne, la France et les pays d'Amérique latine présentaient en 2008 des taux d'incidence standardisés sur l'âge de l'ordre de 5 à 20 pour 100 000, plus élevés que ceux observés en Angleterre, Allemagne, Etats-Unis, Canada et dans les pays scandinaves [Globocan 2008] (Figure 3).

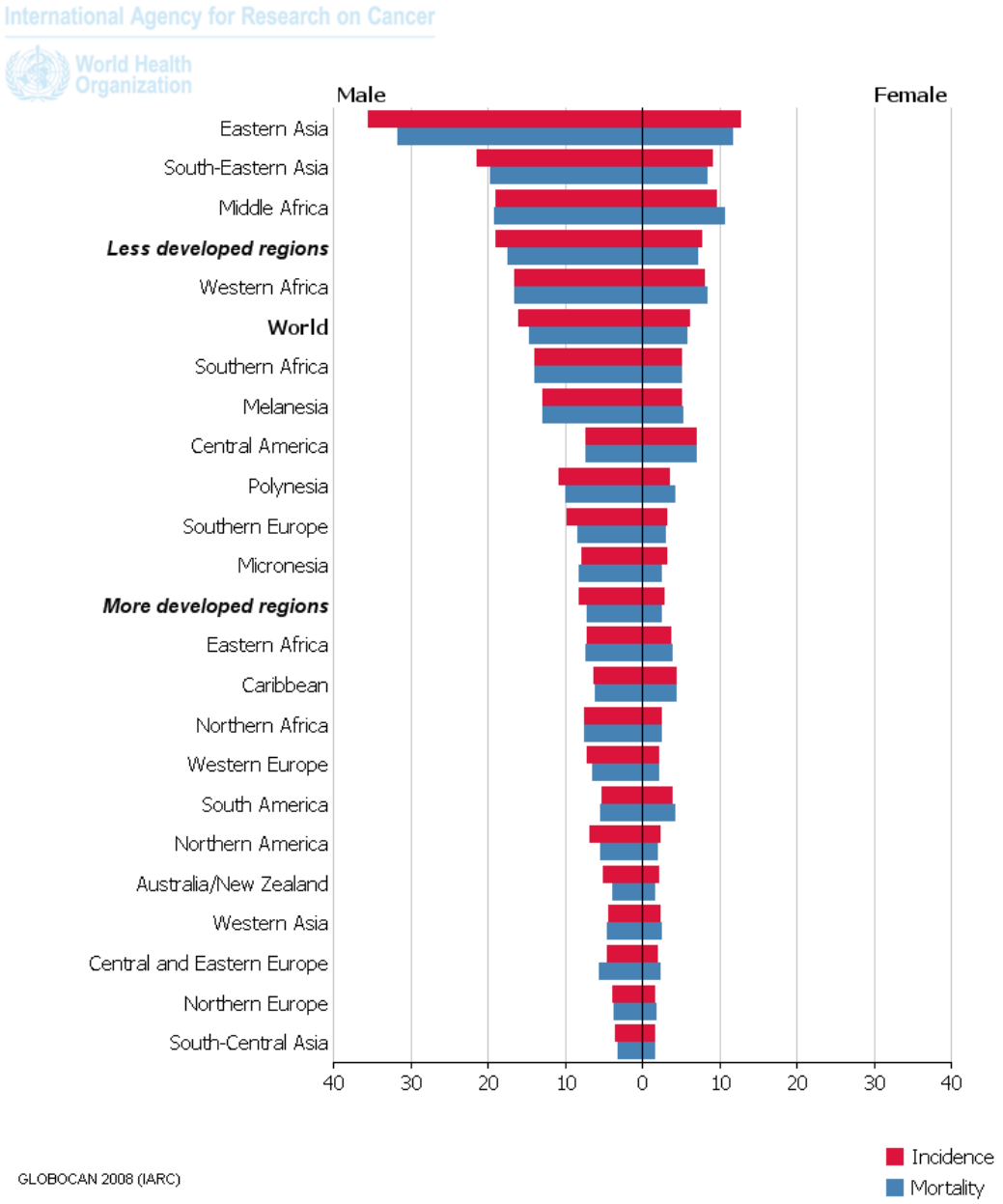


Figure 3. Taux d'incidence et de mortalité du CHC ajustés sur l'âge (pour 100 000) (d'après [Globocan 2008])

D'après les données recueillies dans les différents pays du monde, il semble que l'âge de survenue du CHC soit d'autant plus bas que l'incidence est plus élevée [El Serag 2007]. Les seules exceptions concernent le Japon et la Corée du Sud, seuls pays développés avec une incidence élevée de CHC et dont l'âge moyen au diagnostic se situe aux alentours de 65 ans, comme dans les autres pays développés. Cela est probablement dû au recul des CHC liés au VHB au profit des CHC liés au VHC depuis les années 1980.

Les données épidémiologiques concernant le CHC restent critiquables en raison de l'absence fréquente de diagnostic histologique, mais probablement aussi en raison d'une confusion avec un cancer secondaire du foie voire avec un cholangiocarcinome, second cancer primitif du foie par ordre de fréquence. De plus, l'incidence du CHC reste encore inconnue dans de nombreuses zones géographiques [El Serag 2007].

L'incidence du CHC est en augmentation dans les pays développés. Aux Etats-Unis, le taux d'incidence annuel standardisé sur l'âge est passé de 1,4 pour 100 000 pour la période 1976-1980 à 2,4 pour 100 000 pour la période 1991-1995, soit une augmentation de 80% au cours des vingt dernières années [El Serag 1999]. En France, l'incidence du CHC a augmenté de 4,8% par an chez l'homme et 3,4% par an chez la femme au cours de la période 1980-2005 [Belot 2008]. Les raisons avancées pour expliquer l'augmentation du nombre de cas en France sont d'une part le pic de cancers dus aux infections virales C contractées il y a 20 à 30 ans d'autre part, l'amélioration des traitements des complications autres des cirrhoses (infections, hémorragies...) et enfin la forte augmentation des stéatohépatites non alcooliques (NASH) associées au syndrome métabolique. L'obésité, dont la fréquence est passée de 8,6% en 1997 à 13% en 2006 dans la population française est en effet devenu un « nouveau » facteur de risque de CHC. En France, le CHC affecte très majoritairement les hommes avec un sex-ratio homme/femme de 5,2 et un âge moyen de survenue de 67,5 ans [Belot 2008]. Au Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, environ 130 nouveaux patients atteints d'un CHC ont été pris en charge en 2010 (sources internes CHU Dijon).

2.2.2. Facteurs de risque

Quatre vingt à quatre vingt dix pourcent des CHC surviennent sur une cirrhose préexistante [El Serag 2007]. Les principaux facteurs de risque de développement d'une cirrhose sont viraux (infections chroniques par le virus de l'hépatite B (VHB), de l'hépatite C (VHC)), toxiques (alcool, aflatoxine B1, chique de bétel), métaboliques (NASH, hémochromatose héréditaire), voire plus rarement en lien avec une anomalie de l'immunité (cirrhose biliaire primitive, hépatite auto-immune) [Nordenstedt 2010].

La cirrhose considérée donc généralement comme un état pré-néoplasique est cependant associée à un risque variable de développement d'un CHC en fonction du type morphologique de la cirrhose. La cirrhose macronodulaire à fibrose grêle, essentiellement d'origine virale B ou C est plus souvent associée au CHC que la cirrhose micronodulaire (essentiellement d'origine alcoolique) à fibrose extensive [Shimamatsu 1994]. Au cours de la cirrhose, la synthèse d'ADN est accélérée dans les nodules de régénération et par conséquent les réarrangements de séquences d 'ADN dans les chromosomes sont plus fréquents. La cirrhose micronodulaire observée chez les patients alcooliques a très peu d'activité régénératrice. L'abstinence, en revanche, entraîne une augmentation de l'activité régénératrice augmentant les nodules de petite taille en nodules de grande taille. La cirrhose alcoolique micronodulaire est beaucoup plus fréquente dans les pays occidentaux que dans ceux d'Extrême-Orient. Cette différence a été rapportée il y a vingt ans dans une étude comparative entre l'Italie du Nord (Trieste) où prédomine la cirrhose alcoolique et le Japon (Chiba) où prédomine la cirrhose virale ; le CHC se développe statistiquement plus tardivement sur cirrhose micronodulaire, traduisant un potentiel carcinogène plus faible de l'alcool [Tiribelli 1989].

Le Pr Patrick Hillon mène actuellement une étude cas-témoin multicentrique dénommée CiRCE (Cirrhose et risque de carcinome hépatocellulaire dans le Grand Est) avec pour objectif d'explorer les rôles respectifs des facteurs d'environnement, nutritionnels et métaboliques dans la cancérogenèse hépatique.

2.2.2.1 Virus

2.2.2.1.1. VHC

A la fin des années 1980, Kunio Okuda a suggéré un rôle étiologique possible du virus non A non B dans l'hépatocarcinogénèse devant l'augmentation soudaine du nombre de cas de CHC non liés au VHB au Japon [Okuda 1987]. Par la suite, l'identification du VHC et la mise en place du diagnostic sérologique de l'infection ont rapidement permis de confirmer l'association étroite entre l'infection par le VHC et le CHC à travers le monde.

On estime que 170 millions de personnes ont une infection chronique par le VHC dans le monde et que 3 à 4 millions de personnes sont nouvellement infectés chaque année. La prévalence de l'infection par le VHC varie considérablement selon les zones géographiques : les pays africains et asiatiques rapportent des taux de prévalence élevés contrairement aux pays européens, d'Amérique du Nord ou à l'Australie [Shepard 2005]. L'Egypte est le pays avec la séroprévalence la plus élevée pour le VHC au niveau mondial (principalement génotype 4) [Hibbs 1993, El Gohary 1995, Shepard 2005]. Ce résultat est attribué à la politique égyptienne d'éradication schistosomiale [Franck 2000]. Des taux d'infections par le VHC allant jusqu'à 60% ont été rapportés dans des populations âgées, dans des populations rurales autour du delta du Nil et dans des populations de faible niveau social [Kamel 1992, Hibbs 1993, El Gohary 1995]. En France, selon une étude rendue publique en 2004, 780 000 personnes seraient infectées par le VHC [Invs 2006].

Le VHC est responsable d'environ 20 % des cas d'hépatites aiguës et de 70 % des cas d'hépatites chroniques. On estime que l'hépatite évolue vers la chronicité dans 80% des cas, vers la cirrhose dans 20% de ces cas chroniques (entre 20 et 30 ans en moyenne) et peut donc se compliquer par un CHC. Une fois le stade de cirrhose atteint, 1 à 5% des cirrhoses se transforment en CHC. L'évolution silencieuse de l'infection et la fréquence élevée de passage à la chronicité expliquent l'existence d'un grand réservoir de sujets infectés.

L'histoire naturelle de l'infection par le VHC a donc été étudiée depuis de nombreuses années [Montalto 2002]. Une étude japonaise [Kiyosawa 1990] et une étude américaine [Tong

1995] ont montré que le délai entre contamination par le VHC et développement d'une hépatite chronique était de 10 ans et 13 ans. Dans ces deux études, le délai entre contamination par le VHC et développement d'une cirrhose hépatique puis d'un CHC était de 20 ans et 28 ans, respectivement.

A l'heure actuelle, l'infection par le VHC est le principal facteur de risque de développement d'un CHC en Europe occidentale (à l'exception de la France), en Amérique du Nord, en Corée du Sud et au Japon. Des études épidémiologiques ont montré que presque 70% des patients atteints de CHC en Espagne, en Italie ou au Japon présentaient des anticorps anti-VHC dans leur sérum [Nordenstedt 2010].

2.2.2.1.2. VHB

De nombreuses études ont été menées en Asie du Sud Est pour évaluer le risque de développement d'un CHC chez des patients atteints d'une hépatite B chronique, région dans laquelle la plupart des habitants contractent le virus dès la naissance. Le risque annuel de CHC est de 0,5% chez les porteurs asymptomatiques de l'Ag HBs et de 0,8% chez les patients atteints d'une hépatite B chronique [Liaw 1986, Michielsen 2005]. Au Japon, le délai moyen entre primo-infection par le VHB et le développement d'un CHC est environ 50 ans. Comme la plupart des personnes sont infectées à la naissance, les cas de cirrhoses liées au VHB s'y développent plus précocement qu'en Europe occidentale ou qu'en Amérique du Nord [Michielsen 2005].

En Europe et en Amérique du Nord, peu d'études ont évalué le risque de CHC chez les patients porteurs de l'Ag HBs. La plupart de ces études ont inclus un faible nombre de patients et/ou n'ont pas analysé spécifiquement le groupe des patients Ag HBs positifs. Dans 2 études de cohorte de 350 et 300 patients européens présentant une cirrhose compensée suivis environ 6 ans, l'incidence cumulée à 5 ans du CHC était de 6 et de 9% [Realdi 1994, Fattovich 2002].

Le CHC a été le 1er cancer « accessible » à une prévention par de vastes programmes de vaccination, en l'occurrence contre le VHB. A l'échelle mondiale, il est attendu et déjà

observé que les cas d'infections chroniques par le VHB diminuent avec le recours croissant à la vaccination depuis les années 1980 [Kane 1995, Margolis 1998]. Le programme de masse de vaccination contre le VHB à Taïwan a considérablement réduit le taux de portage de l'Ag HBs et l'incidence du CHC chez les enfants et adolescents [Chang 1997, Ni 2001, Liu 2007]. L'incidence annuelle du CHC chez les enfants de 6-14 ans à Taïwan est ainsi passée de 0,7/100 000 enfants durant la période 1981-1986 à 0,57/100 000 enfants durant la période 1986-1990 et à 0,36/100 000 enfants durant la période 1990-1994. Une diminution de l'incidence du CHC lié aux infections par le VHB chez les adultes asiatiques a été observée au cours des dernières années alors qu'à l'inverse, l'incidence du CHC lié aux infections par le VHC a augmenté [Kao 2005].

2.2.2.2 Toxiques

2.2.2.2.1. Alcool

Le mécanisme par lequel la consommation d'alcool augmente le risque de développer un CHC est la constitution d'une cirrhose. En France, la cirrhose alcoolique est la principale cause de CHC [Trinchet 2009].

La consommation de plus de 80 g d'éthanol par jour pendant 5 ans majore le risque de CHC par 5 [Donato 2002]. Le risque est proportionnel à la quantité d'alcool ingéré. Ainsi une méta-analyse a montré que les risques relatifs (RR) de développement d'un CHC étaient de 1,19 (IC95% 1,12-1,27), 1,40 (IC95% 1,25-1,56) et 1,81 (IC95% 1,50-2,19) pour une consommation quotidienne de 25, 50 et 100 grammes d'éthanol, respectivement [Corrao 2004]. Outre la quantité quotidienne ingérée, la quantité totale d'alcool ingérée au cours de la vie majore le risque de survenue d'un CHC ; une étude prospective cas-contrôle menée au Japon a montré que les personnes ayant bu plus de 600 litres d'alcool ont un risque multiplié par 5 de développement d'un CHC comparativement aux personnes abstinentes ou ayant consommé moins de 600 litres d'alcool (OR 5,19 ; IC95% 2,53-10,64) [Munaka 2003]. Malgré cela, le risque de CHC parmi les faibles consommateurs d'alcool reste inconnu [El Serag 2007].

Le rôle des polymorphismes génétiques des enzymes impliquées dans la métabolisation de l'éthanol a été avancé pour expliquer le mécanisme par lequel se développe le CHC chez des consommateurs comparables d'alcool. Une étude italienne a observé que chez les personnes ingérant quotidiennement > 100 g d'éthanol, celles porteuses du génotype nul de la glutathion S-transferase M1 (GSTM1) avaient 2 fois plus de risque de développer un CHC que celles non porteuses du génotype nul de GSTM1 (OR 8,5 ; IC95% 3,9-18,60 *vs.* OR 4,5 ; IC95% 2,0-10,0) [Covolo 2005]. Le génotype 2 de l'aldéhyde deshydrogénase est également associé à un risque élevé de CHC (OR 2,53 ; IC95% 1,63-58,60) [Munaka 2003].

2.2.2.2.2. Aflatoxine B1

L'aflatoxine B1 (AFB1) est la principale toxine produite par *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus parasiticus*. Cette toxine se développe dans une grande variété d'aliments cultivés ou conservés dans des conditions chaudes et humides [Kirk 2006, El Serag 2007]. L'AFB1 induit une mutation du gène suppresseur de tumeur p53 au niveau du codon 249 (remplacement de l'arginine par la sérine) [Aguilar 1993]. Cette mutation est présente chez > 50% des personnes atteintes d'un CHC dans les zones de forte exposition à l'AFB1 [Bressac 1991, Hsu 1991, Coursaget 1993].

Plusieurs études ont évalué l'association entre CHC et exposition à l'AFB1. Une étude prospective cas-contrôle menée chez 18 244 adultes chinois a montré que les individus présentant dans leurs urines les biomarqueurs de l'AFB1 avaient un risque statistiquement supérieur de développer un CHC, après ajustement sur la positivité de l'Ag HBs [Qian 1994]. Ce résultat a été confirmé par une étude de cohorte taïwanaise qui montre qu'une exposition élevée à l'AFB1 est un facteur de risque indépendant de développement d'un CHC après ajustement sur de nombreuses variables de confusion (OR 5,5 ; IC95% 1,2-24,5) [Chen 1996].

Les zones géographiques de forte exposition de l'AFB1 étant celles d'une forte prévalence d'infection par le VHB, leur association majore très significativement le risque de développement d'un CHC. Le risque pour un patient de développer un CHC en cas d'infection par le VHB et d'exposition à l'AFB1 est multiplié par 60 comparativement au risque pour un patient non infecté par le VHB ni exposé à l'AFB1 (RR 59,4 ; IC95% 16,6-212,0) [Qian 1994].

Les patients infectés par le VHB mais non exposés à l'AFB1 avaient sept fois plus de risque de développer un CHC que les patients contrôles dans cette étude [Qian 1994].

2.2.2.2.3. Chique de bétel

La chique de bétel est préparée à partir de trois ingrédients : des feuilles de bétel issues d'une plante tropicale grimpante Piper betle, de noix d'arec, fruit du palmier à bétel Areca catechu et de chaux provenant de corail, d'huîtres ou de moules. Les deux derniers ingrédients sont enroulés dans la feuille de bétel, selon un pliage précis. Cette préparation se mâche et l'hypersalivation engendrée oblige à des crachats teintant les trottoirs de rouge. Cette pratique festive, originaire de Malaisie il y a plus de 2500 ans (Vishnu l'offrit comme geste d'amour et d'amitié), est en nette recrudescence dans toute l'Asie notamment chez les jeunes. En 1999, le nombre total de consommateurs de chique de bétel était estimé à 600 millions dans le monde [Nelson 1999].

Depuis 2003, la chique de bétel est considérée comme cancérigène par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) de l'OMS à Lyon. La mastication de chique de bétel est en effet directement associée au cancer de la bouche, du larynx, de la gorge, des sinus [Bhide 1979, Prokopczyk 1987, Wang 1999, Jeng 2001].

Concernant le risque de CHC, une étude cas-contrôle menée à Taïwan ayant inclus 263 patients atteints d'un CHC et 263 patients contrôles appariés sur l'âge et le sexe a montré que la consommation de chique de bétel constituait un facteur de risque indépendant de développement d'un CHC (OR 3,49 ; IC95% 1,74-6,96) [Tsai 2001].

2.2.2.3. Causes métaboliques

2.2.2.3.1. Stéatose dysmétabolique

La stéatose hépatique, accumulation de triglycérides dans les hépatocytes est une conséquence bien connue de l'alcoolisme chronique. Depuis une trentaine d'années, la stéatose non alcoolique (SNA) est devenue l'hépatopathie la plus fréquente dans les pays occidentaux en raison du développement de l'obésité [Pelletier 2011]. Sa prévalence exacte

dans la population générale n'est pas connue mais elle est estimée à partir d'études échographiques. Elle toucherait 20 à 30% de la population occidentale adulte [Oh 2008, De Alvis 2008].

Il y a une trentaine d'années, les causes classiques de SNA formaient une longue liste de pathologies le plus souvent rares. Les causes étaient médicamenteuses (méthotrexate, L-asparaginase, tétracyclines, amiodarone, corticoïdes, antirétroviraux…), liées à des maladies héréditaires (abétalipoprotéinémie, galactosémie, maladie de Wilson…), liées à des maladies virales (VIH, hépatite C [surtout génotype 3]) ou associées à la nutrition parentérale, et enfin le diabète. En 2011, les causes principales de SNA sont l'obésité et l'insulinorésistance ; la SNA est considérée comme une manifestation hépatique du syndrome métabolique associant insulinorésistance (ou diabète), HTA, hypertriglycéridémie, concentration basse d'HDL-cholestérol et obésité viscérale, particulièrement importante dans la physiopathologie de la SNA [Desprès 2006, de Alwis 2008]. En effet, la graisse viscérale différente de celle localisée sous la peau, favorise l'insulinorésistance. Ses adipocytes libèrent vers le foie une grande quantité d'acides gras libres qui perturbent le métabolisme hépatique. Le tissu adipeux viscéral a aussi une fonction endocrine produisant de nombreuses cytokines pro-inflammatoires dont du TNF et de l'IL6. La perturbation du métabolisme des acides gras et les sécrétions endocrines expliquent que l'accumulation de graisse viscérale est un élément clé, mais non exclusif du syndrome métabolique.

La stéatohépatite non alcoolique (NASH) est le terme actuellement attribué à une complication nécrotico-inflammatoire de la SNA. Le terme de NASH a été introduit dans les années 1980 pour donc décrire cette hépatopathie, indistincte histologiquement de l'hépatite alcoolique aiguë, mais survenant chez des sujets ne consommant pas d'alcool, le plus souvent chez des femmes obèses, présentant un diabète ou une dyslipidémie [Ratziu 2002]. La NASH est définie par la présence d'une stéatose associée à d'autres lésions identiques à celles rencontrées au cours de la maladie alcoolique : ballonisation des hépatocytes, voire nécrose et corps de Mallory avec un infiltrat inflammatoire lobulaire avec polynucléaires neutrophiles

(Figure 4). La prévalence de la NASH est estimée à 2 à 3% de la population occidentale adulte [Oh 2008, de Alwis 2008].

A l'heure actuelle, la SNA et la NASH ont été regroupées par les anglo-saxons sous le terme de non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD).

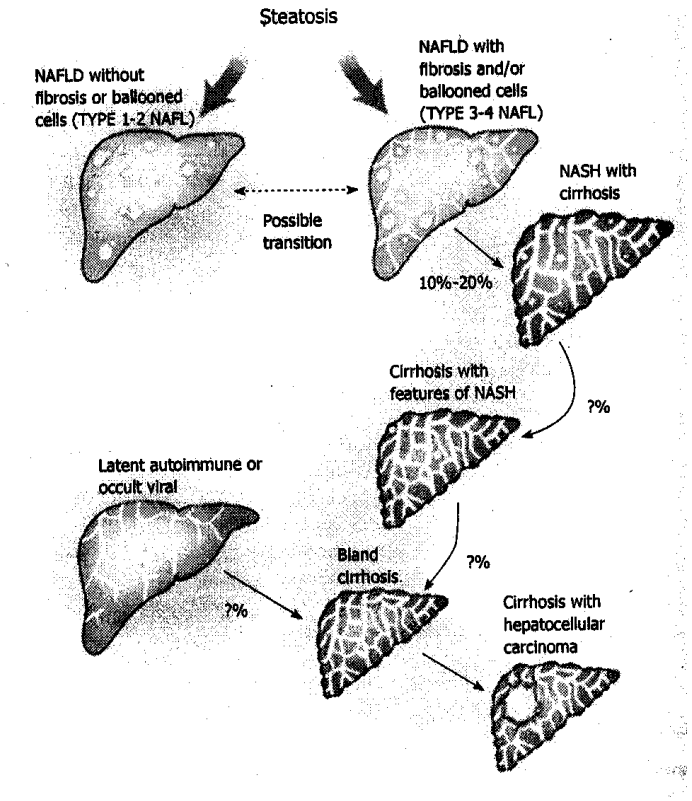


Figure 4. Progression de la non-alcoholic fatty liver disease à la cirrhose (d'après [Caldwell 2004])

Le pronostic de la SNA pure est bon : le risque de développer une cirrhose après une quinzaine d'années d'évolution est de l'ordre de 1 à 2%. En revanche, en cas de NASH, le risque est de l'ordre de 10 à 15% [Adams 2005, Farell 2006]. Les études à long terme (10 à 15 ans) montrent que la NAFLD entraîne une surmortalité par rapport à des malades sans stéatose appariés sur l'âge et le sexe [Adams 2005, Farell 2006]. Cette surmortalité concerne particulièrement le groupe des patients au stade NASH. Dans une étude de grande ampleur, les causes de décès chez ces patients étaient d'origine cardiovasculaire dans 33% des cas (insuffisance coronarienne principalement), dus à un cancer (surtout côlon et pancréas) dans 28% des cas. Les hépatopathies représentaient la 3ème cause de mortalité (13% des cas) notamment par insuffisance hépatique, rupture de varice oesophagienne et CHC [Adams 2005].

Actuellement, on estime que la stéatose dysmétabolique est à l'origine de presque 20% des cas de CHC en France [Trinchet 2009].

2.2.2.3.2. Hémochromatose héréditaire

L'hémochromatose héréditaire est une pathologie caractérisée par une augmentation de l'absorption du fer au niveau duodénal. La découverte en 1996 par Feder [Feder 1996] du gène *HFE* et de ses mutations établit que la forme la plus fréquente de la maladie est marquée par la mutation C282Y à l'état homozygote, mais aussi que d'autres types d'hémochromatoses non liées à *HFE* existent, telle l'hémochromatose juvénile. Le gène *HFE,* situé sur le bras court du chromosome 6 code pour une protéine dite *HFE* composée de 343 acides aminés et qui s'apparente à une molécule HLA de classe I. La mutation la plus fréquente du gène, C282Y, correspond au niveau de la protéine *HFE* au remplacement en position 282 d'une cystéine par une tyrosine ; l'autre mutation principale, H63D consiste en la substitution en position 63, d'une histidine par un acide aspartique [Feder 1996]. Ces 2 mutations sont mutuellement exclusives sur un même chromosome. Ainsi, un sujet homozygote pour la mutation C282Y (=C282Y +/+) est dépourvu de la mutation H63D (=H63D -/-) et vice versa. La mutation C282Y de la protéine *HFE* perturberait le mécanisme d'entrée du fer lié à la transferrine plasmatique dans les cellules duodénales cryptiques, d'où une hyperabsorption digestive au niveau des cellules duodénales apicales, à la base de la surcharge en fer ; cette hyperabsorption serait liée à une augmentation d'expression d'un transporteur transmembranaire du fer appelé DMT1 (Figure 5). Outre, l'hémochromatose liée à HFE, il existe deux entités d'hémochromatoses génétiques non liées à HFE : l'hémochromatose juvénile [Roetteo 1999] et l'hémochromatose méditerranéenne [Pietrangelo 1999].

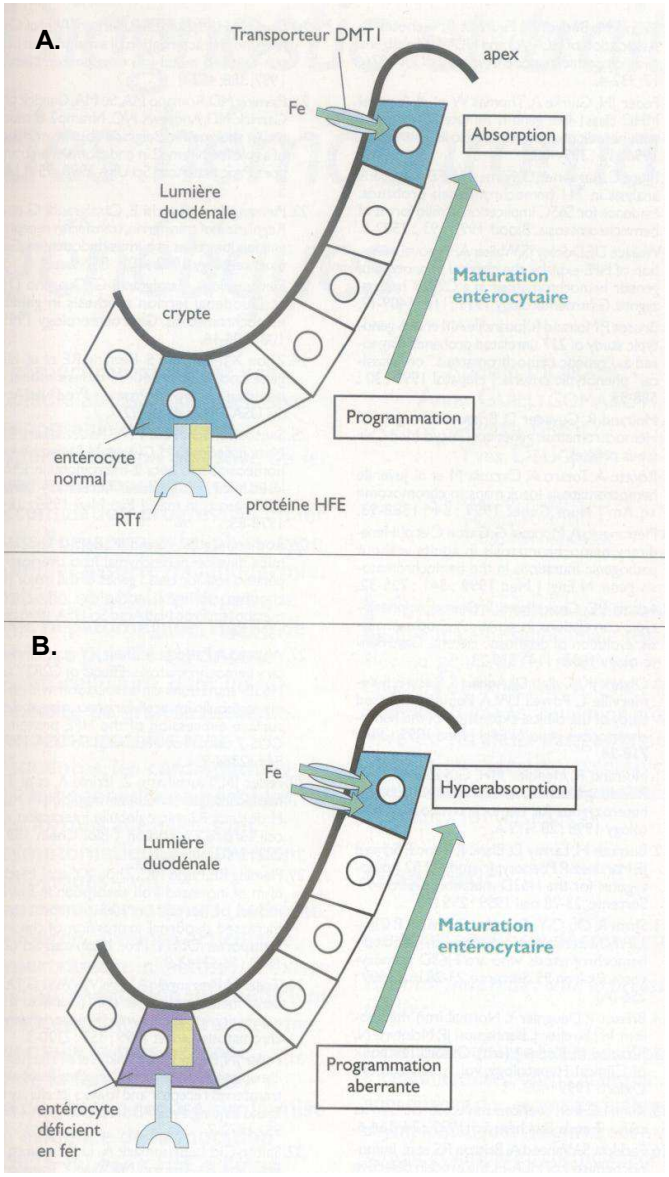


Figure 5. Hypothèses actuelles concernant le mécanisme de l'absorption intestinale du fer et sa perturbation au cours de l'hémochromatose. **A**. Situation normale. La cellule entérocytaire cryptique assure en fonction du niveau de fer transferrinique circulant (qui interagit au pôle cellulaire basolatéral avec le couple HFE-récepteur de la transferrine (RTf), la programmation du degré d'absorption du fer luminal qui s'effectue au niveau de la cellule apicale. Cette programmation s'effectue en régulant l'expression du transporteur DMT1. **B**. Mutation C282Y. *HFE* n'est plus exprimé au pôle basolatéral de l'entérocyte, conduisant, par un mécanisme qui reste à préciser, à une carence relative en fer des cellules cryptiques conduisant à une hyperexpression de DMT1 qui aboutit à une augmentation de l'absorption du fer contenu dans la lumière duodénale (d'après [Brissot 2000])

L'hémochromatose génétique est l'une des maladies autosomales récessives les plus fréquentes avec 1 cas pour 200 habitants dans le Nord de l'Europe [Feder 1996, Edwards 1988, Powell 2000]. Elle est donc responsable, par accumulation progressive du fer dans l'organisme, de la survenue de lésions tissulaires, hépatiques notamment, irréversibles. L'hépatomégalie est inconstante, mais parfois considérable, typiquement aux dépens du lobe gauche. Elle est rarement associée à une hypertension portale ou à une insuffisance hépatocellulaire. La biologie est le plus souvent normale, à l'exception d'une discrète augmentation des transaminases. L'atteinte hépatique, par contre peut se compliquer d'une

cirrhose et d'un CHC. Bien que d'autres organes puissent être atteints, le foie est le site majeur de développement d'un cancer chez les malades présentant une hémochromatose héréditaire, le risque de développer un CHC étant 20 fois supérieur à celui de développer un autre cancer, tous organes confondus [Elmberg 2003]. Plusieurs études à grande échelle en population générale et d'autres études cas-contrôles ont prouvé que l'hémochromatose héréditaire constituait un facteur de risque de développer un CHC [Hsing 1995, Yang 1998, Fracanzani 2001, Elmberg 2003], risque encore majoré si le patient est diabétique [Elmberg 2003] ou de sexe masculin [Yang 1998]. En réalité, ce n'est pas tant l'hémochromatose héréditaire en tant que telle qui constitue un facteur de risque de CHC, mais toutes les pathologies au cours desquelles il existe une surcharge en fer, que celle-ci soit primaire ou secondaire. Ainsi, une étude a montré qu'une surcharge en fer chez des patients africains multipliait le risque de CHC par 10, après ajustement sur la consommation d'alcool, la présence d'hépatites virales, l'exposition à l'aflatoxine B1 [Mandishona 1998]. Une autre étude a également montré que le risque de CHC était majoré en cas de β-thalassémie [Borgna-Pignatti 2004].

2.3. Carcinogénèse hépatique

La carcinogénèse hépatique résulte d'un processus multi-étapes. Après exposition aux différents facteurs de risque, dans la majorité des cas, l'hépatopathie chronique sous-jacente génère une inflammation associée à une régénération hépatocytaire qui favorise l'apparition d'altérations génétiques. Ces processus sous-tendent l'apparition de nodules hépatocytaires dysplasiques [Laurent-Puig 2006]. La séquence chronologique des évènements cellulaires qui conduisent de l'hépatite chronique vers les étapes successives de dysplasie et de néoplasie a aujourd'hui été établie. Elle se déroule le plus souvent sur plusieurs décennies [Miyoshi 1998, Saffrog 2004] (Figure 6).

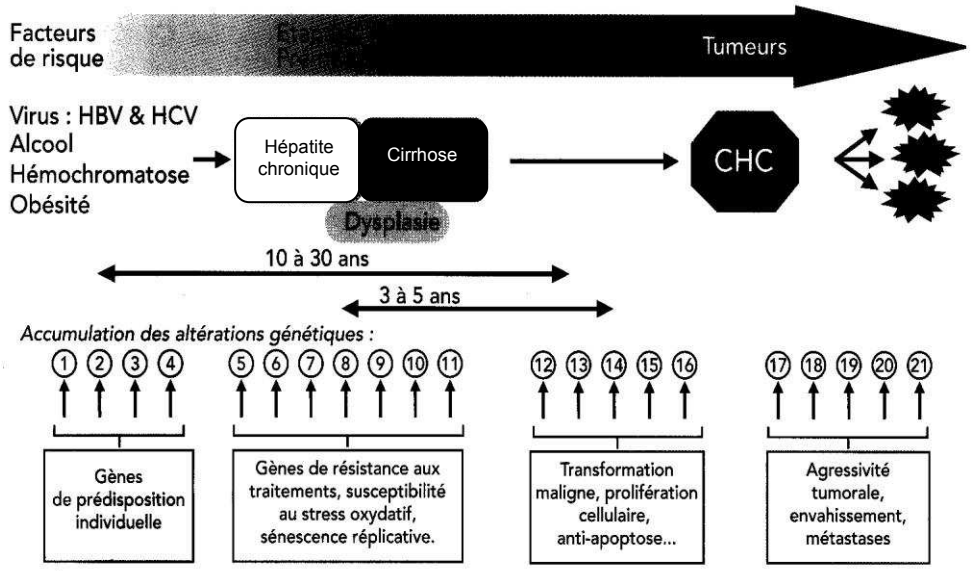


Figure 6. Séquence chronologique du développement d'un CHC (d'après [Saffrog 2004])

Le nombre important des altérations génétiques et épigénétiques accumulées dans les CHC suggère que ces tumeurs seraient issues de la sélection de plusieurs altérations génétiques qui compromettent simultanément plusieurs voies régulatrices de la prolifération cellulaire [Saffrog 2004, Zucman-Rossi 2010]. Pour paraphraser les stoïciens, on pourrait dire qu'il existe des altérations génétiques spécifiques de certains facteurs de risque et d'autres qui en sont indépendantes.

Ainsi, l'infection par le VHB peut promouvoir la carcinogénèse hépatique par plusieurs mécanismes : l'intégration du génome viral dans le génome de la cellule hôte favorise l'instabilité chromosomique, l'insertion du génome du VHB peut entraîner la dérégulation de gènes hépatocytaires impliqués dans le contrôle de la prolifération cellulaire, enfin, l'expression de protéines virales comme HBX joue un rôle important dans la modulation de la prolifération et de la survie cellulaire [Laurent-Puig 2006]. HBX, par exemple se lie sur la protéine p53 (TP53), et inhibe ainsi l'apoptose induite par cette dernière.

L'exposition à l'aflatoxine B1 favorise la survenue de mutation du gène TP53, en l'occurence changement d'une arginine en sérine au niveau du codon 249. Plus de 50% des CHC développés chez des malades exposés à l'aflatoxine B1 dans les régions tropicales

présentent cette mutation caractéristique alors qu'elle n'est presque jamais observée chez des malades non exposés [Smela 2001].

Parmi les altérations génétiques non spécifiques des facteurs de risque, les mutations de la β-caténine sont identifiées dans 20 à 40% des CHC ; il s'agit de l'oncogène le plus fréquemment activé par mutation dans les CHC. Concernant les gènes suppresseurs de tumeurs, TP53 est le gène le plus souvent inactivé par mutation (10 à 61% des CHC). Dans la plupart des études occidentales, les mutations de TP53 sont associées au caractère agressif des tumeurs [Zucman-Rossi 2010]. Au cours des 20 dernières années, de nombreuses études ont cherché à identifier de nouveaux gènes altérés dans les CHC (Tableau II). En dehors des gènes codant pour TP53 et β-caténine, tous les autres oncogènes et gènes suppresseurs de tumeurs se sont rarement révélés mutés (<10% des CHC). Le nombre croissant des gènes identifiés comme mutés dans les CHC montre à l'instar d'autres cancers, la grande diversité des combinaisons génétiques participant à la carcinogénèse hépatique [Zucman-Rossi 2010].

Tableau II. Principaux oncogènes et gènes suppresseurs de tumeurs mutés dans les CHC (adapté de [Zucman-Rossi 2010])

Gènes	Protéine	Fréquence de mutation (%)
Oncogènes		
CNNTB1	Cathenin 1 (β-catenin)	5-50%
HRAS, KRAS, NRAS	Ras proto-oncogene	< 3-5%
IL6 ST	Interleukin 6 signal transducer (gp130)	< 3%
PIK3CA	Phosphoinositide-3-kinase, catalytic, alpha polypeptide	< 3%
MET	Met proto-oncogene (hepatocyte growth factor receptor)	< 1-5%
Gènes suppresseurs de tumeur		
TP53	Tumor protein p53	10-61%
CDKN2A	Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A	10-60%
AXIN1	Axis inhibition protein 1	5-25%
AXIN2	Axis inhibition protein 2	3-10%
HNF1A	Hepatocyte nuclear factor 1a	< 3%
RB1	Retinoblastoma 1	< 11%
SMAD2-4	SMAD family member 2 and 4	< 5-10%
PTEN	Phosphatase and tensin homolog	0-13%
IGF2R	Insulin-like growth factor 2 receptor	0-13%

2.4. Diagnostic

Le diagnostic actuel d'un CHC repose sur les critères suivants : CHC prouvé par cytologie ou histologie ou diagnostiqué selon les critères 2005 de l'American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) [Bruix 2005], qui nécessite la présence d'une cirrhose histologique ou indiscutable et suivant la taille du (des) nodule(s) (Figure 7) :

- nodule < 1 cm : augmentation de taille durant un suivi par échographie tous les 3-4 mois
- nodule entre 1 et 2 cm : 2 techniques d'imagerie concordantes parmi scanner, IRM, échographie de contraste (CEUS); diagnostic de CHC en présence d'une image typique

(hypervascularisée à la phase artérielle + wash-out) avec les 2 méthodes d'imagerie ; dans les autres cas, biopsie.

- nodule > 2 cm : scanner ou IRM ou CEUS (1 seule technique) ; diagnostic de CHC en présence d'une image hypervascularisée associée soit à une image de wash-out soit à une alphafoetoprotéine (AFP) > 200 µg/l ; dans les autres cas, biopsie.

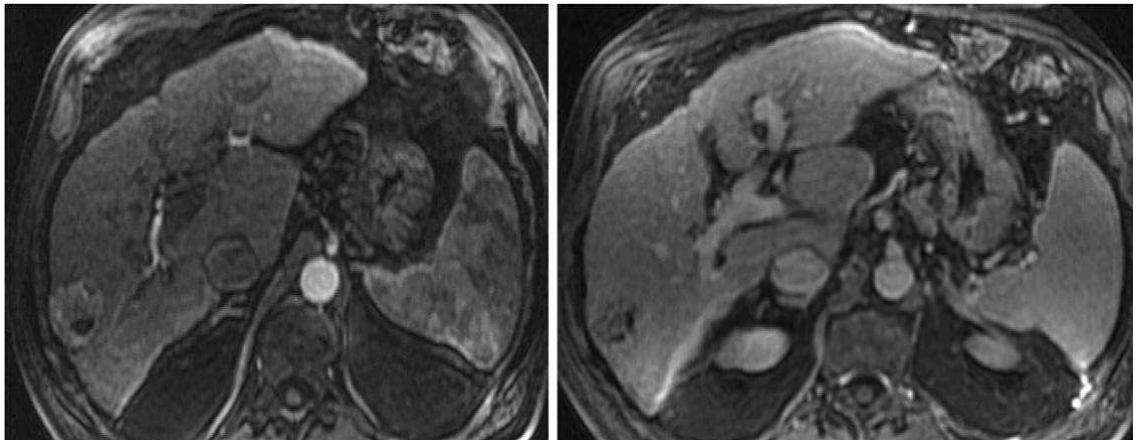


Figure 7. IRM montrant un petit nodule de CHC dans foie cirrhotique (images typiques avec réhaussement à la phase artérielle -planche de gauche-, et wash out à la phase veineuse -planche de droite-) (d'après [Tremosini 2010])

2.5. Classifications

Le score de Child adapté par Pugh en 1973 est considéré comme le score pronostique de référence pour prédire la survie des patients cirrhotiques. Le calcul de ce score, est présenté dans le tableau III [Pugh 1973].

Tableau III. Classification de Child-Pugh (adapté de [Pugh 1973])

Critères	1 point	2 points	3 points
Bilirubinémie (µmol/l)	< 35	35-50	> 50
Ascite	Absente	Modérée	Tendue, réfractaire aux diurétiques
Encéphalopathie	Absente	Légère à modérée (stade 1-2)	Sévère (stade 3-4)
Albuminémie (g/l)	> 35	28-35	< 28
Taux de prothrombine	> 50	40-50	< 40

Le pronostic de la cirrhose est établi en fonction du total des points : classe A (5-6 points), survie à 1 an 100% ; classe B (7-9 points), survie à 1 an 80% ; classe C (10-15 points), survie à 1 an 45%. La cirrhose décompensée correspond à une classe B ou C. Ce score très largement utilisé ne prend cependant pas en compte certaines complications de la cirrhose, telles que l'hémorragie digestive ou dans le cas présent, le CHC.

Ainsi, depuis une trentaine d'années, de nombreuses classifications pronostiques du CHC ont été établies. La 1ère était celle de Kunio Okuda (Tableau IV) [Okuda 1985].

Tableau IV. Classification d'Okuda (adapté de [Okuda 1985])

Critères	0 point	1 point
Bilirubinémie (µmol/l)	< 50	≥ 50
Ascite	Absente	Présente
Taille de la tumeur	< 50% du volume du foie	≥ 50% du volume du foie
Albuminémie (g/l)	≥ 30	< 30

Stade I = 0 point, stade II = 1 ou 2 points, stade III = 3 ou 4 points

D'autres classifications, parfois mises à jour ont ensuite été proposées: TNM [Sobin 2007], Cancer of the Liver Italian Program [CLIP 1998], Japan Integrated Staging [Kudo 2003], Chinese University Prognostic Index [Leung 2002] et la classification BCLC qui définit 5 stades du CHC [Llovet 1999] (Tableau V). **La classification BCLC présente l'avantage de prendre en compte à la fois les caractéristiques de la tumeur, l'état de la fonction hépatique et l'état général du patient**. Son intérêt pronostique a également été validé [Marrero 2005, Cillo 2006].

Tableau V. Classification Barcelona Clinic Liver Cancer (adapté de [Llovet *Semin. liver. Dis.* 1999])

Stade		PS	Morphologie tumorale	Okuda	Fonction hépatique
Stades précoces	A1	0	unique, < 5 cm	I	pas d'hyper tension portale, bilirubine N
	A2	0	unique, < 5 cm	I	hypertension portale, bilirubine N
	A3	0	unique, < 5 cm	I	hypertension portale, hyperbilirubinémie
	A4	0	3 lésions, < 3 cm	I-II	Child-Pugh A-B
Stade intermédiaire	B	0	Multinodulaire	I-II	Child-Pugh A-B
Stade évolué	C	1-2	invasion vasculaire, métastases	I-II	Child-Pugh A-B
Stade terminal	D	3-4	Indifférente	III	Child-Pugh C

Stades A et B, tous les critères doivent être remplis, stades C et D, un seul critère suffit

2.6. Pronostic et stratégies thérapeutiques

2.6.1. Pronostic

D'après les données épidémiologiques de 2008, le ratio mortalité/incidence du CHC au niveau mondial est de 0,93 (695 000/749 000) [Globocan 2008]. La survie des patients atteints d'un CHC est cependant très différente en fonction du stade de la maladie et des possibilités thérapeutiques existantes dans les différentes régions du monde. La mortalité mondiale liée au CHC est directement corrélée à l'incidence de la maladie ; elle est donc plus importante dans l'Est et le Sud Est asiatique ainsi qu'en Afrique sub-saharienne (Figure 3). A titre d'exemple, la mortalité par CHC en Chine, au Vietnam, en Corée du Sud, en Thaïlande, en Indonésie ou au Cameroun représente > 20% de la mortalité par cancers chez les hommes dans ces pays [Globocan 2008]. En Chine, 371 000 personnes sont décédées d'un CHC en 2008 [Globocan 2008].

En Europe, le pronostic des patients atteints de CHC tous stades confondus reste extrêmement péjoratif, avec un taux de survie globale à 5 ans de 9% rapporté dans 2 études EUROCARE [Berrino 2007, Verdecchia 2007]. En France, une étude réalisée par le réseau français des registres des tumeurs (FRANCIM) qui portait sur l'ensemble des cas de CHC diagnostiqués en 1997-1998 enregistrés dans 9 départements français a rapporté les taux de survie à 5 ans suivants : patients ayant eu une transplantation hépatique, 60% ; patients ayant eu une résection 33%, patients en situation palliative, 2% ; tous patients confondus, 8% soit un chiffre quasiment identique à celui des études EUROCARE [Borie 2008]. Dans l'étude française, la survie était identique chez les patients présentant un CHC sur cirrhose ou non. En Bourgogne, sur la base des données du Registre Bourguignon des Cancers Digestifs, la survie relative à 5 ans des patients atteints d'un CHC s'est cependant améliorée au cours du temps, passant de 1,4% pour la période 1976-1985 à 10,0% pour la période 1996-2005 [Guiu 2010].

2.6.2. Stratégies thérapeutiques

La classification BCLC est d'autant plus utilisée que lui a été associé un algorithme du même nom, qui propose les stratégies thérapeutiques optimales en fonction des stades de la maladie. La 1ère version de cet algorithme date de 1999 [Llovet *Semin. Liver. Dis.* 1999]. Elle a depuis été mise à jour régulièrement [Bruix 2001, Bruix 2005, Llovet *J. Natl. Cancer. Inst.* 2008, Bruix 2009, Forner 2010]. **L'utilisation de l'algorithme BCLC est actuellement recommandée par les principales sociétés savantes européenne et américaine EASL et AASLD pour la prise en charge des patients atteints d'un CHC**. La dernière version de l'algorithme BCLC est présentée ci-dessous (Figure 8) [Forner 2010].

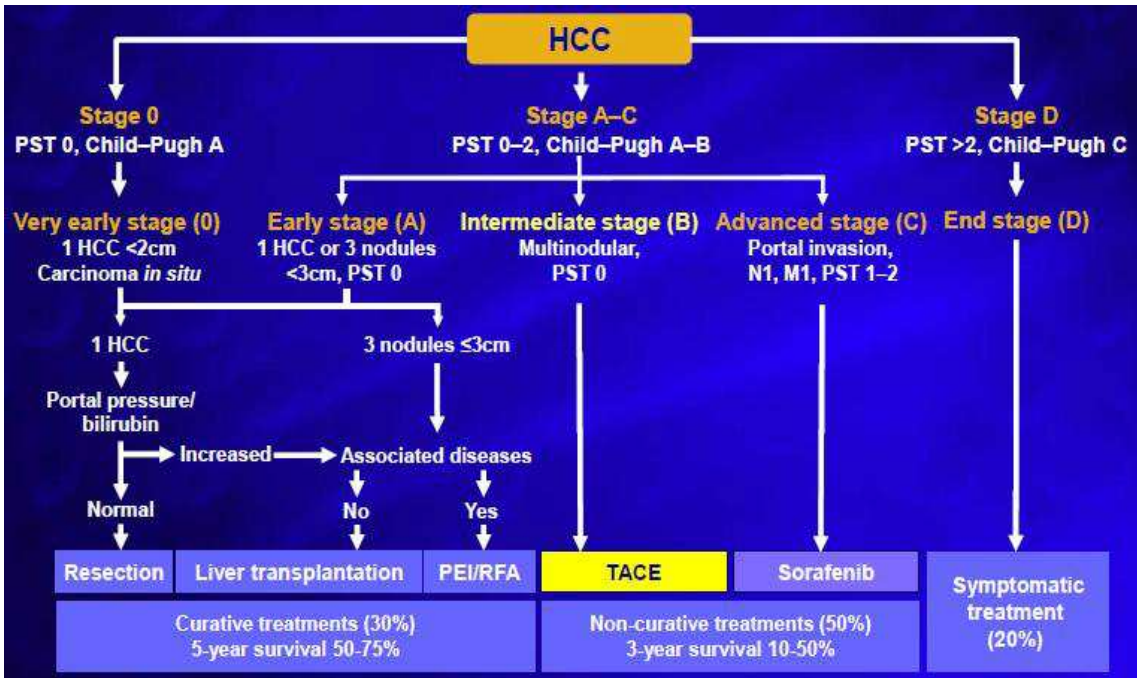


Figure 8. Algorithme de traitement BCLC (d'après [Forner 2010]). RFA, radiofrequency ablation; PST, Performance Status

2.6.2.1. CHC stade très précoce/précoce

Chez les patients présentant un CHC à un stade très précoce, à savoir un nodule unique ≤ 2cm avec une cirrhose compensée (Child A) et sans hypertension portale et en l'absence d'envahissement vasculaire, les chances de succès thérapeutiques après résection sont proches de 100% [Forner 2010]. Des études de cohorte montrent que chez ces patients, la survie après résection ou après destruction percutanée est très proche [Livraghi 2008, Forner 2010].

Le stade précoce correspond au stade A de la classification BCLC. Il correspond aux patients en bon état général (OMS 0), présentant un nodule unique ou 3 nodules mesurant chacun moins de 3 cm. Chez ces patients, aucun essai randomisé de grande ampleur n'a comparé les différentes options thérapeutiques à savoir la résection, la transplantation hépatique et la destruction percutanée. La résection et la destruction percutanée permettent d'obtenir un taux de survie de 70% à 5 ans chez ces patients avec une fonction hépatique préservée (Figure 9).

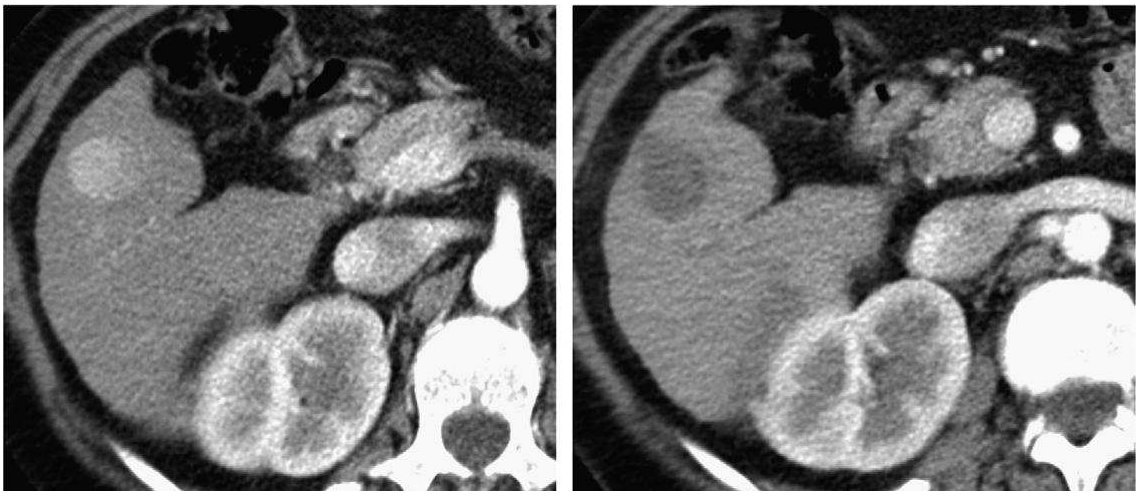


Figure 9. Petit CHC à l'IRM. A droite, après radiofréquence, le nodule apparaît dévascularisé, sans prise de contraste, traduisant la nécrose tumorale (d'après [Tremosini 2010])

Ce taux baisse à 50% en cas d'hypertension portale et/ou de CHC multifocal chez les patients réséqués ou ayant eu une radiofréquence [Llovet 1999, Ishizawa 2008, Forner 2010]. La destruction percutanée a une efficacité moindre quand la tumeur excède 3 cm ou quand 2 nodules sont ciblés [Sala 2004, Shiina 2005].

La transplantation hépatique permet d'obtenir des taux de survie de l'ordre de 70% quel que soit l'état de la fonction hépatique des patients et même s'il existe un envahissement vasculaire microscopique et/ou des nodules satellites, le risque de récidive est moindre comparé aux patients ayant eu une résection ou une radiofréquence [Mazzafero 1996, Llovet *Hepatology*. 1999, Bismuth 1999, Jonas 2001]. La limite majeure aux transplantations hépatiques est le manque de greffons, allongeant les délais et donc le risque de progression de la maladie. Durant cette période, il est couramment pratiqué une radiofréquence ou une CHE chez les patients sans qu'aucun essai n'ait réellement prouvé l'efficacité de cette stratégie à grande échelle [Forner 2010].

Concernant la destruction percutanée, il est actuellement recommandé de pratiquer la radiofréquence plutôt que l'alcoolisation. La radiofréquence a démontré qu'elle permettait d'obtenir une meilleure efficacité initiale que l'alcoolisation [Shiina 2005, Cho 2009, Orlando 2009].

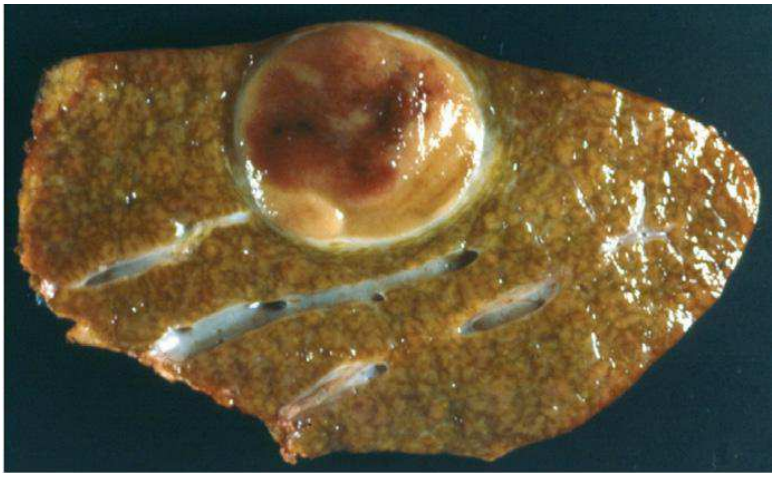


Figure 10. Petit CHC sans envahissement vasculaire apparent ni nodules satellites. Le risque de récidive est faible. (d'après [Tremosini 2010])

2.6.2.2. CHC stade intermédiaire

Le stade intermédiaire B de la classification BCLC comprend l'ensemble des patients chez qui un des 3 traitements curatifs précédents, résection, transplantation ou radiofréquence ne peut être réalisé en raison d'une tumeur trop grosse et/ou multifocale. Ces patients sont asymptomatiques et présentent une fonction hépatique préservée. **Le traitement recommandé chez ces patients est la CHE** [Forner 2010]. Cette recommandation repose sur les résultats d'essais randomisés de phase III et de 2 méta-analyses ayant démontré que cette procédure augmente significativement la survie des patients de stade B comparativement aux soins de support et à la chimiothérapie systémique [Lo 2002, Llovet 2002, Llovet 2003, Camma 2003].

Il est important de noter que chez ces patients, l'embolisation seule (c'est-à-dire sans injection d'agent anticancéreux) permet d'obtenir des réponses tumorales intéressantes mais sans preuve d'impact positif sur la survie des patients [Llovet 2003]. Par ailleurs, toujours chez ces patients non résécables ni métastatiques, une chimiothérapie IA sans embolisation n'a jamais démontré d'efficacité antitumorale notable ni à fortiori d'amélioration sur la survie.

Enfin, une des thérapeutiques intéressante à l'avenir est la radioembolisation avec des microsphères chargées à l'Yttrium 90. Trois études de phase II ont démontré l'efficacité antitumorale de ce traitement [Sangro 2006, Kulik 2008, Salem 2009]. Cette technique n'ayant à ce jour pas été comparée à la CHE, son intérêt thérapeutique réel reste inconnu.

2.6.2.3. CHC stade avancé

Pour les patients présentant un CHC avancé (c'est à dire avec envahissement portal et/ou métastatique et/ou avec un état général PS 1 ou 2), de très nombreux traitements ont été testés depuis quelques décennies. La chimiothérapie IV ou IA avec un seul ou plusieurs agents anticancéreux a démontré qu'elle n'était pas efficace mais en revanche toxique [Burroughs 2004, Lopez 2006]. Il y a quelques années, de nouveaux espoirs ont été placés dans les thérapies ciblées à un moment où l'angiogénèse a été identifiée comme une des cibles privilégiées pour limiter la progression et la dissémination tumorale [Llovet *Hepatology.* 2008]. Le CHC est un cancer très vascularisé et des concentrations élevées de marqueurs angiogéniques comme le Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) ont été associées à une mauvaise survie chez les patients atteints de cette pathologie [Schoenleber 2009]. Différents agents ont été testés mais à ce jour, **seul le sorafénib a prouvé qu'il augmentait significativement la survie des malades atteints d'un CHC de stade avancé**. Ce médicament est un inhibiteur de tyrosine kinase qui bloque la voie Raf/MEK/ERK et les récepteurs VEGFR 2 et Platelet Derived Growth Factor Receptor β [Liu 2006, Wilhelm 2006].

Après avoir démontré une activité antitumorale sur des modèles expérimentaux puis au cours d'une étude de phase II avec un effectif important, le sorafénib a été testé *vs.* placebo au cours d'un essai de phase III multicentrique randomisé en double aveugle ayant inclus 602 patients européens [Llovet *N. Engl. J. Med*. 2008]. Cette étude a été arrêtée prématurément en raison de la différence d'efficacité observée entre les 2 bras de traitement. La médiane de survie globale des patients traités par sorafénib était 10,7 mois *vs*. 7,9 mois chez les patients du bras placebo (HR 0,69 ; IC95% 0,55-0,88 ; $p < 0,001$) (Figure 11). Le temps jusqu'à progression dans l'essai était 5,5 mois dans le bras sorafénib *vs*. 2,8 mois dans le bras placebo (HR 0,58 ; IC95% 0,45-0,74 ; $p < 0,001$). Les effets indésirables les plus fréquemment rapportés avec le sorafénib sont le syndrome main-pied, les diarrhées et la fatigue. Les conclusions de l'essai SHARP ont été confirmées avec les résultats d'un essai de phase III méthodologiquement comparable dans une population asiatique [Cheng 2009]. Le sorafénib est actuellement le seul traitement recommandé chez les patients atteints d'un CHC de stade avancé [Forner 2010]. Un essai de phase III randomisé rapporté en juin 2011 à l'American Society of Clinical Oncology

comparant le sunitinib au sorafénib a montré que le sunitinib était significativement moins efficace et plus toxique que le sorafénib chez les patients atteints d'un CHC avancé [Cheng 2011]. Dans cet essai ayant inclus 1073 patients recevant quotidiennement 37,5 mg de sunitinib ou 400 mg de sorafénib, la médiane de survie globale était de 8,1 mois dans le groupe sunitinib *vs*. 10 mois dans le groupe sorafénib (HR 1,31 ; IC95% 1,13-1,52] ; *p* = 0,0019).

En France, le sorafénib est notamment « indiqué dans le traitement du carcinome hépatocellulaire » à la posologie de 800 mg par jour (400 mg matin et soir) [HAS 2008]. Le coût du traitement mensuel par sorafénib à la posologie de 800 mg par jour est de 3743,21 € en France en 2011.

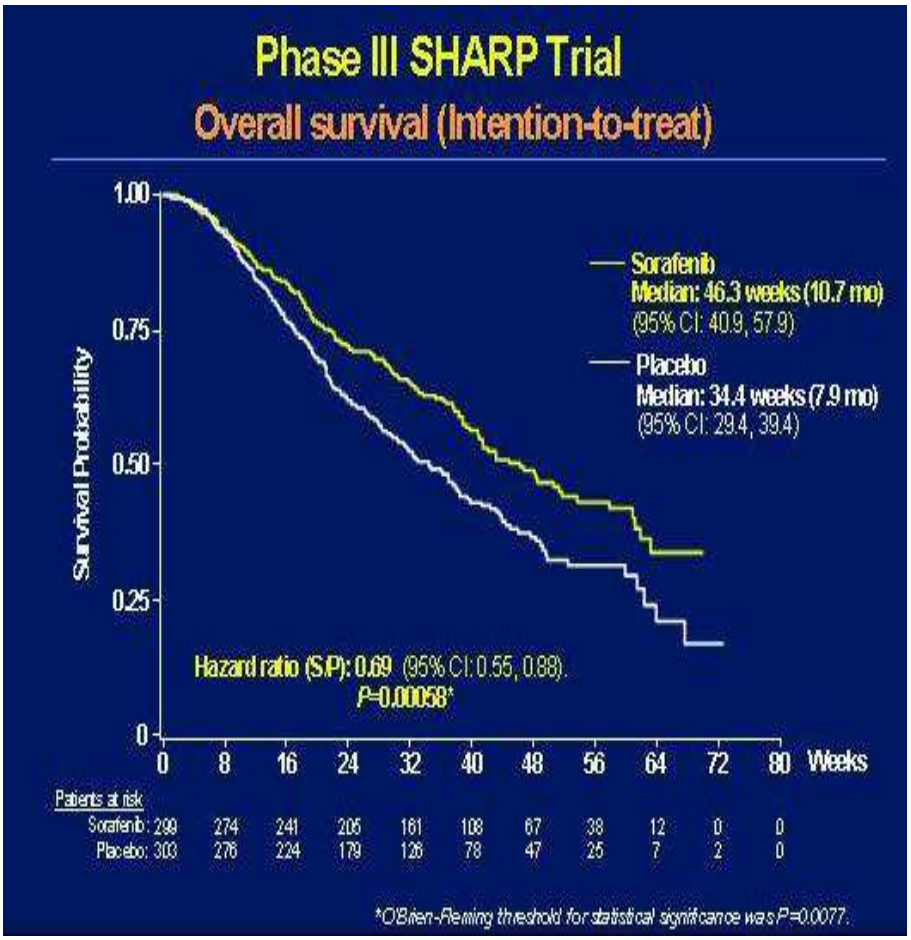


Figure 11. Survie globale des patients traités dans l'essai SHARP (adapté de [Llovet *N. Engl. J. Med.* 2008])

Chapitre 2

La CHE, traitement du CHC non résécable, non métastatique

1. Historique de la CHE

La CHE s'est développée principalement au Japon dans les années 1970-1980, à partir de l'embolisation, elle-même initiée dans les années 1960. L'embolisation visait initialement à occlure des vaisseaux de gros calibre pour stopper des hémorragies et traiter des malformations artérioveineuses [Speakman 1964, Ishimori 1967] en utilisant une simple suspension de particules polymériques avec une taille très variable allant de quelques centaines de micromètres à plusieurs millimètres. Elle a ensuite été proposée pour le traitement des tumeurs bénignes de l'utérus, les léiomyomes.

C'est un Français Dominique Doyon en 1974, qui a été le 1er à utiliser l'embolisation artérielle pour traiter les patients atteints de CHC, avec de la gélatine comme agent d'embolisation [Doyon 1974]. Le rationnel était le suivant : **les CHC recevant l'essentiel de leur apport sanguin par l'artère hépatique, il est possible d'occlure l'artère hépatique sans induire de nécrose complète de l'organe puisque celui-ci continue d'être irrigué par le système veineux**.

La technique de CHE s'est ensuite développée grâce au chirurgien japonais Konno. Celui-ci découvre que si l'on injecte du lipiodol dans l'artère hépatique des patients atteints de CHC, le produit se fixe électivement dans la tumeur et s'y accumule pendant des périodes prolongées allant jusqu'à plusieurs mois. Konno fut le 1er à rapporter les résultats d'une étude « pilote » de l'utilisation d'un anticancéreux, le SMANCS (styrene-maleic acid neocarzinostatin) mélangé à du lipiodol et injecté par voie IA chez des patients atteints d'un CHC [Konno 1983]. Le SMANCS, synthétisé en 1979 par Maeda est un composé constitué de copolymère synthétique d'acide maléique et d'un agent anticancéreux capable d'inhiber la synthèse d'ADN, la néocerzinostine [Maeda 1979]. Ces résultats furent encourageants avec une diminution significative de l'AFP des patients. La CHE était née.

Etant donné les difficultés pour obtenir le SMANCS au Japon et ailleurs en raison de sa production confidentielle, il a été mélangé avec le lipiodol d'autres agents anticancéreux pour réaliser des CHE, principalement la doxorubicine et le cisplatine [Sasaki 1987, Takayasu 1987, Shimamura 1988].

2. Définition de la CHE

La CHE est une **technique de radiologie interventionnelle loco-régionale qui associe l'injection IA d'un agent anticancéreux à l'aide d'un vecteur (lipiodol ou microsphères d'embolisation) complétée par une occlusion artérielle par des agents d'embolisation lorsque le lipiodol est utilisé comme vecteur**. Dans ce dernier cas, on parle de CHE lipiodolée. Lorsque les microsphères d'embolisation sont utilisées, elles assurent à la fois une fonction de vecteur et d'agent d'embolisation ; on parle alors de CHE avec microsphères. La technique était souvent limitée par le passé à une embolisation artérielle seule, ou à une chimiothérapie IA avec ou sans lipiodol. Ces différentes techniques ont souvent été confondues et regroupées sous le terme générique de CHE.

Par rapport à une administration IV classiquement utilisée pour les chimiothérapies, l'avantage théorique de la CHE est :

- **d'augmenter la concentration locale et le temps de rémanence de l'agent anticancéreux dans le tissu tumoral pour augmenter ses effets thérapeutiques,**
- **de limiter la diffusion de l'agent anticancéreux et ainsi sa toxicité systémique**.

3. Les techniques de CHE

3.1. La CHE lipiodolée

3.1.1. Historique du lipiodol

En 1898, Marcel Guerbet, pharmacien des Hôpitaux de Paris et docteur ès-sciences physiques, travaillait comme préparateur aux travaux pratiques de chimie de l'Ecole supérieure de Pharmacie de Paris. Discutant avec le Dr Laurent Lafay, docteur en médecine et pharmacien, sur les problèmes de l'iode et de ses propriétés thérapeutiques, ils décident ensemble d'orienter leur recherche sur la fixation d'iode sur une molécule organique comme l'a déjà fait le laboratoire allemand Merck, avec la synthèse d'une huile chloro-iodée, l'iodipine, proposée pour le traitement par voie intra-musculaire de diverses affections rhumatismales et cardiovasculaires. Marcel Guerbet, après une recherche systématique des huiles siccatives, retient l'huile d'oeillette pour y fixer l'iode et un procédé permettant d'obtenir une huile entièrement iodée (et non pas chloro-iodée). **Le lipiodol est ainsi né en 1901**, il sera alors fabriqué dans la pharmacie d'officine du Dr Lafay, 69 rue de Provence à Paris. Une société en participation, non publique, est constituée entre Laurent Lafay et Marcel Guerbet pour réaliser le développement et la commercialisation du produit (Figure 12).

Figure 12. Lipiodol Lafay

L'usage thérapeutique du lipiodol serait resté confidentiel si Marcel Guerbet n'avait pas rencontré les Rayons X, le neurochirurgien Sicard et son disciple Forestier. Sous l'impulsion de Sicard, qui lui dit « Voyez ce que l'on pourrait faire avec le lipiodol, commencez avec les

lapins », Forestier procède aux premiers travaux sur l'usage du lipiodol en radiologie et la piste de recherche se révèle extrêmement féconde. Il s'aperçoit par hasard chez le lapin, que le produit injecté se retrouve assemblé en petites billes le long de la colonne vertébrale, circulant au gré des mouvements qu'il lui imprimait : il venait sans le vouloir d'inventer la myélographie. Les deux médecins l'utilisèrent dès 1921 pour repérer les tumeurs de la moelle et éviter de larges laminectomies [Guerbet 1995]. Le lipiodol devient ainsi le premier produit de contraste organique iodé, en premier lieu en myélographie pour visualiser les espaces sous-arachnoïdiens, puis dans de très nombreux examens : bronchographie, hystérographie, fistulographie, uréthrographie, etc. Il faudra cependant attendre 1961 et les travaux de Wallace aux Etats Unis et ceux de Jean-Daniel Picard en France pour qu'il soit utilisé en lymphographie, en association avec le bleu patenté, pour visualiser les vaisseaux lymphatiques [Guerbet 1995]. Il a ensuite été utilisé pour le diagnostic des CHC [Nakamura 1983].

Le lipiodol est donc un produit de contraste iodé lipophile constitué d'un mélange d'esters éthyliques d'acides gras d'huile d'oeillette. Il est commercialisé en France par le laboratoire qui porte toujours le nom de son inventeur (Guerbet, Roissy) sous le nom de Lipiodol® Ultra Fluide, ampoule injectable de 10 ml (Figure 13). Les ampoules de Lipiodol® Ultra Fluide contiennent 48% d'iode (soit 4,8g par ampoule).

Figure 13. Lipiodol® Ultra Fluide

3.1.2. Propriétés du lipiodol

Au départ, c'est donc le japonais Konno qui le 1er a utilisé le lipiodol pour la CHE des CHC [Konno 1983]. Le rôle du lipiodol pour la CHE est théoriquement triple. Premièrement, **lorsqu'il est injecté dans l'artère hépatique, le produit a, bien comme l'avait observé Konno, la propriété de se maintenir au contact du tissu tumoral et péritumoral hépatique plusieurs semaines voire plusieurs mois, alors qu'il est éliminé du parenchyme hépatique sain dans les 7 jours suivant son injection** [Yumoto 1985, Miller 1987, Nakamura 1989]. Les raisons de cette rétention intratumorale persistante de lipiodol sont incertaines, mais elle serait en grande partie due à une embolisation des microvaisseaux tumoraux caractérisés par la lenteur de leur flux sanguin et par des anomalies des charges électrostatiques pariétales. En marquant le lipiodol à l'iode 131, Raoul a montré que plus de 80 % du produit restait au niveau du foie, très sélectivement au niveau tumoral (rapport tumeur/foie non tumoral supérieur à 5) et ce pour un temps long [Raoul 1988]. Cette propriété a donc conduit plusieurs équipes après l'étude positive de Konno à proposer son utilisation comme vecteur de l'agent anticancéreux pour le traitement des CHC, permettant un relargage progressif et contrôlé de l'agent anticancéreux au contact de la tumeur après injection de l'émulsion. Deuxièmement, il possède un rôle propre d'embolisation, même si celui-ci reste limité. Ainsi, l'injection IA d'une émulsion agent anticancéreux-lipiodol doit être suivie de l'injection d'agent d'embolisation pour obtenir une réelle embolisation [Marelli 2007]. Enfin, il permet au radiologue de visualiser et de contrôler l'injection de l'émulsion dans l'artère hépatique et/ou ses segments lors du geste.

3.1.3. Déroulement d'une CHE lipiodolée

Au CHU de Dijon, le patient qui va recevoir une CHE est hospitalisé la veille de l'intervention dans le service d'Hépatogastroentérologie. La CHE se déroule le lendemain matin en salle de Radiologie Interventionnelle du Pateau Technique d'Imagerie (Figure 14). L'examen radiologique avec contraste comprend une exploration vasculaire complète : cathétérisme fémoral, aortographie, tronc coeliaque, artère mésentérique supérieure et recherche de vascularisation accessoire éventuelle (artères diaphragmatiques, surrénaliennes, intercostales,

etc…). L'émulsion est préparée extemporanément par le radiologue, juste avant l'injection. L'émulsion comprend généralement un seul agent anticancéreux en solution et 10 ml de lipiodol. L'émulsion est obtenue après dix passages successifs rapides du contenu d'une seringue luer lock de 50mL à l'autre, à l'aide d'un robinet trois voies. L'injection est réalisée en dix minutes de manière sélective dans la branche droite ou gauche de l'artère hépatique irriguant la plus grande partie de la masse tumorale. En cas de lésions bilobaires, le foie controlatéral est traité lors d'une 2ème séance, afin de limiter le risque d'insuffisance hépatique sévère pour le patient [Raoul 2011].

Figure 14. Déroulement d'une CHE lipiodolée au CHU de Dijon **A.** Exploration vasculaire complète et positionnement du cathéter dans la branche droite ou gauche de l'artère hépatique, **B**. Préparation extemporanée de l'émulsion, **C**. Injection lente de l'émulsion

3.1.4. Intérêt clinique de la CHE lipiodolée

Après un enthousiasme initial lié à la constatation de réponses tumorales objectives, la CHE lipiodolée ainsi que toutes les procédures apparentées à la CHE (embolisation, chimiothérapie IA avec ou sans lipiodol) a pratiquement disparu des recommandations du fait de l'absence de bénéfice en termes de survie constatée dans les 6 essais randomisés publiés entre 1988 et 1998 [Lin 1988, Pelletier 1990, Madden 1993, GRETCH 1995, Bruix 1998, Pelletier 1998]. Ces essais avaient comparé l'embolisation ou la chimiothérapie IA lipiodolée ou la CHE à un traitement symptomatique ou suboptimal (hormonothérapie, chimiothérapie IV). Il s'agissait de 3 études françaises ayant inclus une majorité de patients présentant une cirrhose alcoolique, d'un essai asiatique et d'un essai espagnol ayant inclus majoritairement des patients avec une cirrhose virale B ou C, respectivement ; enfin d'une étude sud-africaine dont les critères d'inclusion étaient imprécis. En termes de toxicité, les études françaises ont rapporté plus de défaillance hépatique, probablement en lien avec les caractéristiques des patients inclus (majoritairement cirrhose alcoolique associée à une moins bonne fonction hépatique). En parallèle de ces essais, deux méta-analyses publiées en 1997 et 1998 [Simonetti 1997, Mathurin 1998] soulignaient la nécessité de faire de nouveaux essais randomisés en raison de l'hétérogénéité des critères d'inclusion des patients, de l'hétérogénéité des traitements mais également de la faiblesse des effectifs des études réalisées jusque là.

La publication en 2002 et 2003 de 2 études de phase III randomisées et de 2 méta-analyses positives en termes de survie pour les patients a finalement contribué au retour de la CHE dans le traitement des CHC non opérables non métastatiques.

La CHE est depuis considérée comme le traitement de référence des CHC de stade intermédiaire B [Forner 2010].

3.2. La CHE avec microsphères d'embolisation chargées

3.2.1. Les microsphères d'embolisation chargées

3.2.1.1. Définition des microsphères d'embolisation

En 2006, le Dr Alexandre Laurent définissait un agent d'embolisation comme « tout produit qui sous une forme quelconque (solide, liquide, suspension) peut être largué dans un flux vasculaire pour se bloquer dans le vaisseau où il détermine mécaniquement et/ou biologiquement une occlusion temporaire ou durable » [Laurent 2006]. Les microsphères d'embolisation qu'elles soient chargées ou non font partie des agents d'embolisation au même titre que d'autres particules d'embolisation (à base de gélatine, d'alcool polyvinylique (PVA)) ou que les coils, les solutions gélifiantes (Figure 15).

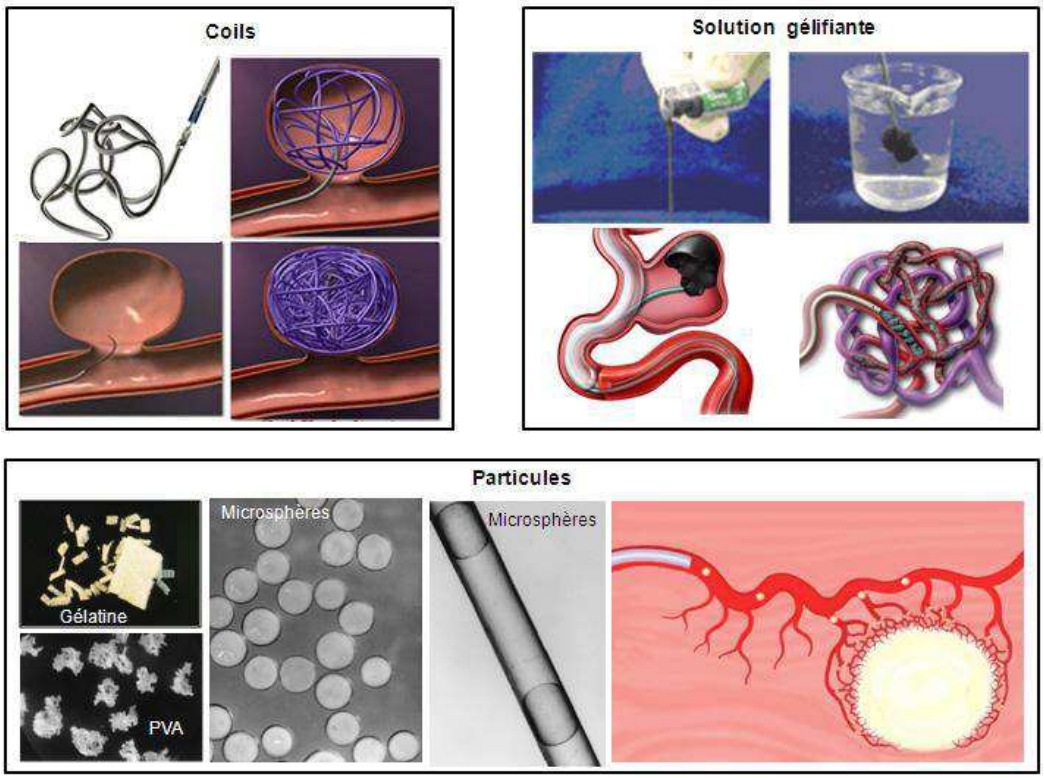


Figure 15. Principaux types d'agents d'embolisation et exemples de leurs utilisations. Les coils sont utilisés pour occlure les anévrysmes intra-crâniens ; les solutions gélifiantes, en cas d'anévrysme aortique ; les particules en cas de tumeur hypervasculaire (principalement CHC) (adapté de [Namur 2007])

3.2.1.2. Historique des microsphères d'embolisation

C'est le japonais Kato qui le 1er a développé les particules d'embolisation chargées avec un principe actif. En 1981, il publiait trois travaux sur l'utilisation de microcapsules d'éthylcellulose chargées avec de la mitomycine C pour le traitement par voie IA de différents cancers (foie, rein, poumon, vessie) [Kato 1981, Kato 1981, Kato 1981]. Les particules avaient une taille d'environ 200µm, elles furent ensuite chargées avec du cisplatine [Okamoto 1986]. Avec cette procédure (particules d'embolisation à base d'ethylcellulose chargées avec du cisplatine injectées par voie IA), Kato et son équipe posèrent les bases théoriques de la CHE en démontrant successivement (Figure 16) :

- *in vitro*, une libération du cisplatine sur plusieurs heures (Figure 16.4);
- *in vivo*, une diminution du pic plasmatique du cisplatine par rapport à une injection IA ou IV (Figure 16.6) ;
- *in vivo*, une augmentation de la concentration intratumorale de cisplatine par rapport à une injection IA (Figure 16.7) ;

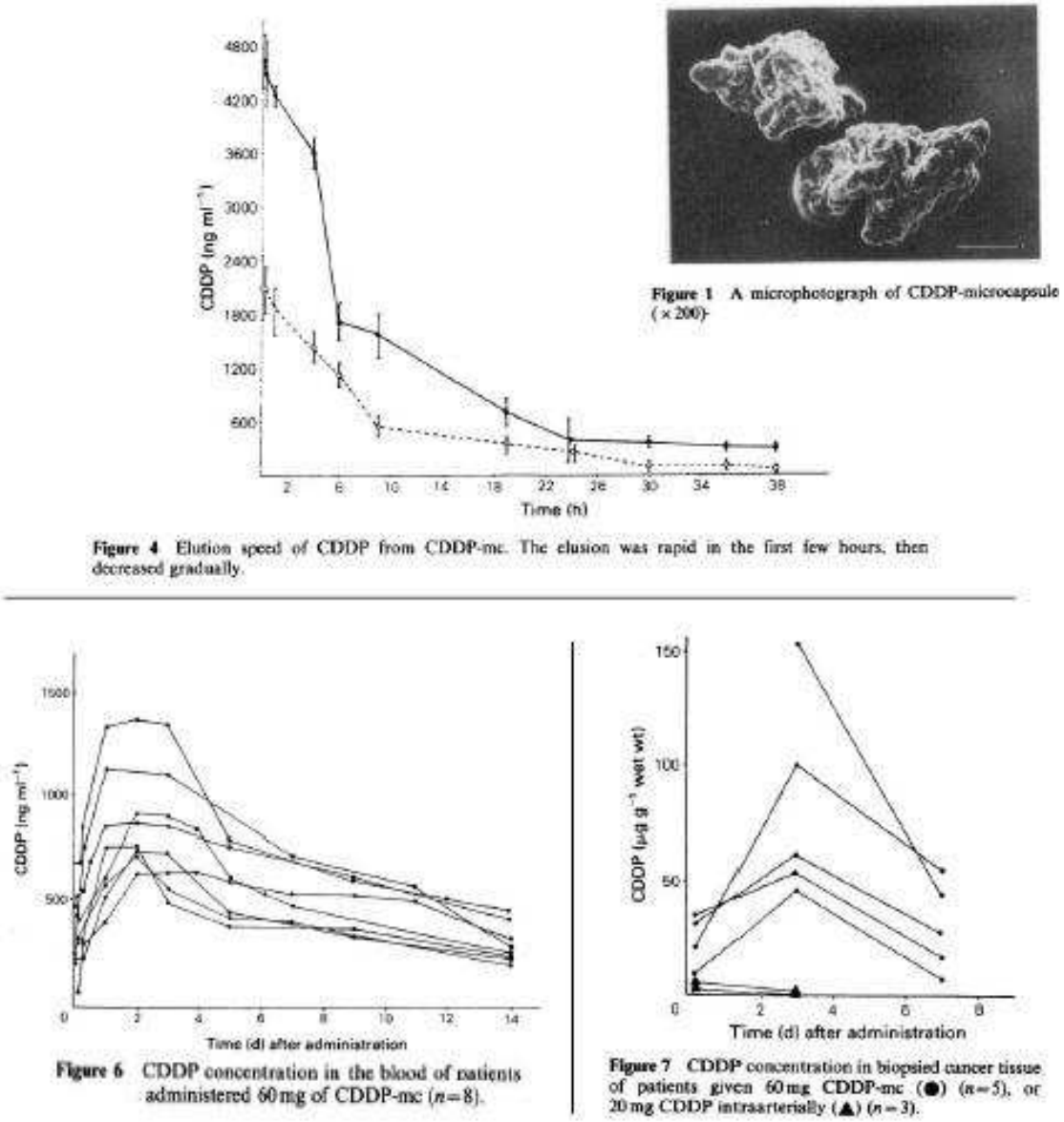


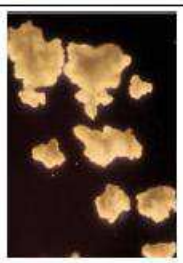
Figure 16. Principaux résultats de l'équipe de Kato sur les particules d'ethylcellulose chargées avec du cisplatine ; Figure 1 : photographie des particules, Figure 4 : profil d'élution *in vitro*, Figure 6 : profil d'élution plasmatique, Figure 7 : concentration intratumorale de cisplatine (adapté de [Okamoto 1986])

Au total, l'équipe de Kato a traité 1013 patients avec cette technique, à un stade palliatif ou préopératoire, pour différents types de cancers [Kato 1996]. Si les résultats cliniques paraissaient prometteurs, aucun essai comparatif randomisé n'a été réalisé et ces travaux n'ont débouché sur aucun produit commercial. Dans les années 1980-1990, d'autres équipes ont développé et testé des particules d'embolisation chargées avec différents agents anticancéreux chez des patients atteints de CHC, de métastases hépatiques de cancers coliques, de cancers

du rein. A titre d'exemples, Fujimoto a évalué la survie de patients atteints de CHC inopérables traités par CHE avec des microsphères d'albumine de 45µm chargées avec de la mitomycine C [Fujimoto 1985] ; Ichihara a lui étudié la survie de patients atteints d'un CHC inopérable après une CHE à base d'aclarubicine chargée dans des particules d'acide polylactique de 200µm [Ichihara 1989]. Les résultats de ces deux études furent relativement décevants par rapport à ceux de Kato.

En parallèle voire avant ces travaux, différentes microsphères d'embolisation non chargées avaient déjà été injectées chez l'Homme depuis les années 1960 pour réaliser des embolisations : billes de plomb, d'acier inoxydable, de silicone… Les taux de complications étaient élevés en raison de la petite taille des billes et du reflux important dans les organes sains non ciblés [Kunstlinger 1981]. La première particule d'embolisation sphérique a finalement été mise sur le marché européen en 1993 et sur le marché américain en 2000, sous le nom commercial Embosphere™. Le principal composant de la microsphère est un polymère, le trisacryl (N-acryloyl-2-amino-2-hydroxymethylpropane-1,3 diol), matériau initialement utilisé comme support dans les colonnes de chromatographie. D'autres microsphères ont ensuite été commercialisées, sans toutefois apporter de réelle innovation. EmboGold™ contient un colorant à base d'or colloïdal qui rend la microsphère visible à l'oeil nu. Contour SE™ est une microsphère à base de PVA. Enfin, Bead Block™ est une microsphère colorée à base de PVA (Tableau VI).

Tableau VI. Principales particules d'embolisation sphériques ou non, non chargées commercialisées en France en 2011 (adapté de [Laurent 2006])

Type d'embole	Non sphérique		Sphérique	
Matériaux	Gélatine	PVA	Acrylique	PVA
Noms commerciaux	Spongel® Gelfoam® Curaspon®	Ivalon® Contour®	Embosphere™ EmboGold™	Bead Block™ Contour SE™
Mise sur le marché	1960s	1975	1990s	2000s
Principales propriétés	• Occlusion proximale • Résorbé jours/sem.	• Occlusion proximale • Résorbé mois	• Occlusion distale • Non résorbable	• Occlusion distale • Non résorbable
Photographies des produits				
Photographies de coupes histologiques avec emboles (*)				

3.2.1.3. Caractéristiques des microsphères d'embolisation chargées

Depuis le début des années 2000, trois microsphères d'embolisation chargées ont obtenu un marquage CE. Ces produits sont des dispositifs médicaux de classe IIb. Ils ont donc bénéficié des travaux des équipes japonaises sur les particules d'embolisation chargées dans les années 1980 d'une part, et de l'expérience clinique de l'embolisation avec des microsphères non chargées, d'autre part. Elles sont appelées par certains auteurs, chimiosphères [Namur 2007]. Les microsphères Bead Block™ (Biocompatibles, Farnham, Royaume Uni) sont spécifiquement destinées à être chargées avec de l'ibuprofène dans le but de réduire les douleurs post-embolisation des fibromes utérins. Les deux autres microsphères doivent être chargées avec des agents anticancéreux, principalement pour le traitement des CHC.

Les microcrosphères d'embolisation chargées présentent plusieurs caractéristiques pour une occlusion ciblée :

- elles sont **hydrophiles**, pour permettre leur transit à travers un cathéter, et éviter leur agglutination dans le réseau vasculaire

- elles sont **calibrées**, pour pouvoir contrôler le niveau d'occlusion et la répartition dans le réseau vasculaire

- elles sont **élastiques**, c'est-à-dire déformables dans le cathéter tout en reprenant leur forme initiale à la sortie du cathéter. Une microsphère trop rigide ne pourra pas être injectée à travers un cathéter de faible diamètre. Une microsphère trop molle risque de se déformer sous la contrainte des parois et/ou du flux vasculaires, et d'occlure un vaisseau distal de section inférieure au diamètre de la bille

- elles sont **biocompatibles**. Les critères de biocompatiblité d'un dispositif médical implantable sont explicités dans les directives européennes relative aux dispositifs médicaux de 1993 et de 2007 [Directive 93/42/CEE, Directive 2007/47/CE] ainsi que dans les guides édités par la FDA [FDA 1999]

- elles sont **non résorbables,** à l'inverse des particules d'embolisation à base de gélatine

- elles sont uniquement destinées à être chargées avec des agents pharmacologiques.

Les 2 microsphères d'embolisation chargées avec des agents anticancéreux commercialisées en 2011 se différencient principalement par le principe de chargement de la molécule active (Tableau VII).

Tableau VII. Microsphères d'embolisation chargées avec des agents anticancéreux commercialisées en France en 2011

Nom commercial	DC Bead™	HepaSphere™
Année d'obtention du marquage CE	2005	2006
Principe actif	Doxorubicine Irinotécan	Doxorubicine
Mode de chargement	Ionique (SO_3^-)	Absorption Ionique (COO^-)
Présentation	Flacons de 10 ml contenant 6 ml de sérum physiologique et 2 ml de microsphères colorées en bleu de taille 70-150µm (*M1*), 100-300µm, 300-500µm, 500-700µm, ou 700-900µm	Flacons de 10 ml contenant 25 mg de microsphères deshydratées de taille 50-100 µm, 100-150 µm, 150-200µm

Microsphères DC Bead™

Les microsphères DC Bead™ fixent l'agent anticancéreux par simple liaison ionique +-. Elles sont constituées d'un polymère de PVA modifié par des groupements sulfonates SO_3^-, pouvant par conséquent fixer des molécules chargées positivement comme les anthracyclines ou l'irinotécan par exemple (Figure 17). Elles sont commercialisées par le laboratoire Biocompatibles Ltd (Farnham, Royaume Uni). Il existe 5 formes commerciales différentes. Les microsphères DC Bead™ de taille 100-300µm, 300-500µm, 500-700µm, 700-900µm doivent être « chargées de doxorubicine dans le but de procéder à l'embolisation des vaisseaux qui alimentent la (les) tumeur(s) maligne(s) hypervascularisée(s) et à la libération d'une dose contrôlée et prolongée de doxorubicine au niveau de la(les) tumeur(s) » [Biocompatibles. Products. DC Bead]. Les microsphères DC Bead™ *M1* de taille 70-150µm doivent être chargées avec de l'irinotécan dans le but de procéder à l'embolisation des vaisseaux qui alimentent les métastases hépatiques des cancers colorectaux et à la libération d'une dose contrôlée et prolongée d'irinotécan au niveau des métastases hépatiques des cancers

colorectaux » [Biocompatibles. Products. DC Bead]. Elles sont colorées en bleu et changent de couleur avec le chargement ce qui permet un contrôle visuel du chargement (Figure 18).

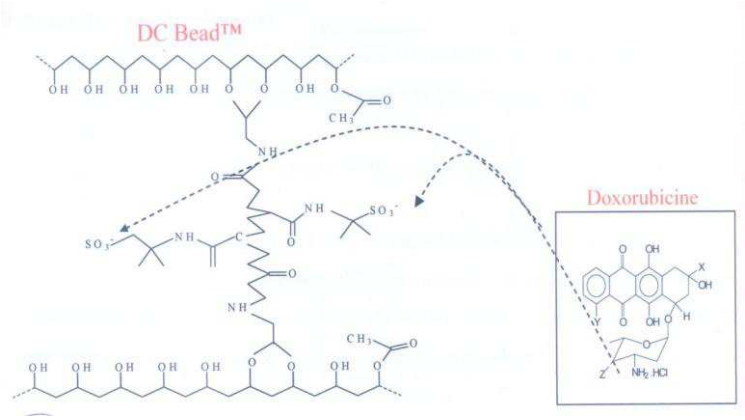


Figure 17. Chargement microscopique DC Bead™ - doxorubicine. Le groupement amine protoné de la doxorubicine se lie au groupement sulfonate greffé sur le polymère de PVA (d'après [Biocompatibles Products. DC Bead. FAQ])

Figure 18. Chargement macroscopique DC Bead™ - doxorubicine. Il est possible de contrôler visuellement le chargement par simple changement de couleur des microsphères : elles passent du bleu vif (couleur « naturelle ») au rouge vif (couleur de la doxorubicine) (d'après [Biocompatibles Products. DC Bead. Instuctions for use])

Microsphères Hepashere™

Les microsphères Hepashere™ combinent deux modes de chargement, absorption et interaction ionique. Elles fonctionnent comme des « éponges » qui absorbent la substance en solution de manière passive. Les microsphères constituées d'un copolymère PVA/acrylique sur lequel a été greffé des groupements carboxylates COO^- fixent les molécules chargées positivement par simple liaison ionique comme DC Bead™ [BioSphere Medical. HepaSphere™. Loading Hepasphere™]. A l'instar des microsphères DC Bead™, elles deviennent rouge vif après chargement avec de la doxorubicine (Figure 19). Les microsphères HepaSphere™ sont indiquées « pour l'embolisation des vaisseaux sanguins à des fins thérapeutiques ou pré-

opératoires chargées ou non avec de la doxorubicine dans les interventions suivantes : embolisation des CHC, embolisation de métastases hépatiques » [BioSphere Medical. HepaSphere™. Instructions for use].

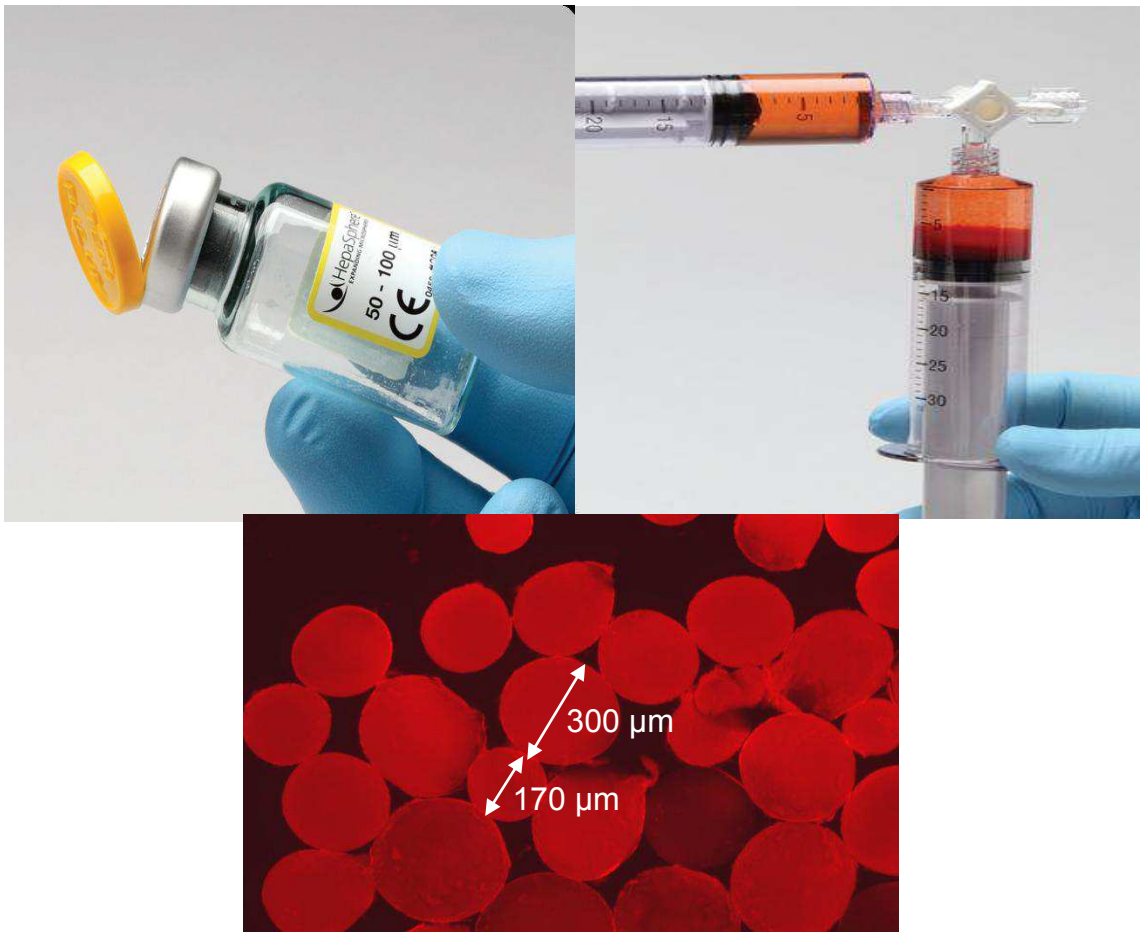


Figure 19. Microsphères d'embolisation HepaSphere™ **A**. Photographie d'un flacon HepaSphere™. Les 25 mg de microsphères deshydratées représentent un très faible volume de poudre. **B**. Photographie d'une seringue d'HepaSphere™ chargées avec 50 mg de doxorubicine. Les microsphères gonflent d'environ 4 fois leur taille après absorption et liaison avec la doxorubicine. Il est possible de retirer le surnageant après chargement. **C**. Photographie des microsphères Hepashere™ chargées avec 50 mg de doxorubicine. Cette photographie a été réalisée en déposant quelques gouttes de solution entre lame et lamelles avec un microscope inversé, motorisé équipé pour fluorescence (Station Cell Observer, Zeiss, Plateforme Imagerie Cellulaire IFR 100, Université de Bourgogne). Toute la doxorubicine est à l'intérieur des microsphères. La taille et la forme des microsphères sont relativement variables, entre 130 et 350 µm pour la taille sur cet échantillon.

3.2.2. Déroulement d'une CHE avec microsphères d'embolisation chargées

Le déroulement d'une CHE avec microsphères est quasiment identique à celle d'une CHE lipiodolée. Les deux seules différences sont les suivantes.

Premièrement, étant donné la stabilité des solutions de microsphères une fois chargées, (par exemple 7 jours pour DC Bead™ chargées avec 50 mg de doxorubicine), la préparation de la seringue contenant les microsphères est réalisée dans les pharmacies à usage intérieur dans des unités centralisées, sous hotte à flux d'air laminaire ou sous isolateur. La seringue est quasiment livrée prête à l'emploi. Juste avant l'injection, le radiologue ajoute quelques millilitres d'un produit de contraste non ionique par un robinet 3 voies dans la seringue contenant les microsphères chargées. Le mélange sphères chargées-produit de contraste est ensuite homogénéisé par simple retournement.

Deuxièmement, l'injection des microsphères se fait de la manière la plus sélective possible (voire hypersélective), au mieux dans les branches segmentaires ou sous-segmentaires, éventuellement dans une branche sectorielle (antérieure ou postérieure droite). En cas de vascularisation accessoire, l'injection est réalisée dans les branches accessoires le plus en distalité possible. Une CHE lobaire (artère hépatique droite ou gauche) avec microsphères n'est réalisée qu'en cas d'impossibilité de cathéterisme ultra-sélectif.

3.2.3. Intérêt clinique de la CHE avec microsphères d'embolisation chargées

Les microsphères d'embolisation chargées permettent d'une part **l'embolisation des vaisseaux alimentant la(les) tumeur(s) hypervascularisée(s)** dont on sait qu'elle seule a une efficacité antitumorale par l'ischémie induite [Marelli 2007] et d'autre part, **la libération contrôlée et prolongée de l'agent anticancéreux au contact de la tumeur**. Cette seconde propriété liée à la non resorbabilité des microsphères pourrait permettre de renforcer l'efficacité locale de la chimiothérapie, de limiter la dissémination systémique de l'agent anticancéreux et donc d'améliorer la tolérance de la procédure.

Cet avantage des microsphères d'embolisation chargées a été clairement établi par Varela [Varela 2007]. L'auteure a en effet montré que la concentration de doxorubicine dans le sang des patients dans les 7 jours suivant la CHE était significativement supérieure dans le groupe des patients ayant reçu une émulsion lipiodolée comparativement au groupe des patients ayant reçu des microsphères DC Bead™ chargées avec la molécule (Figure 20).

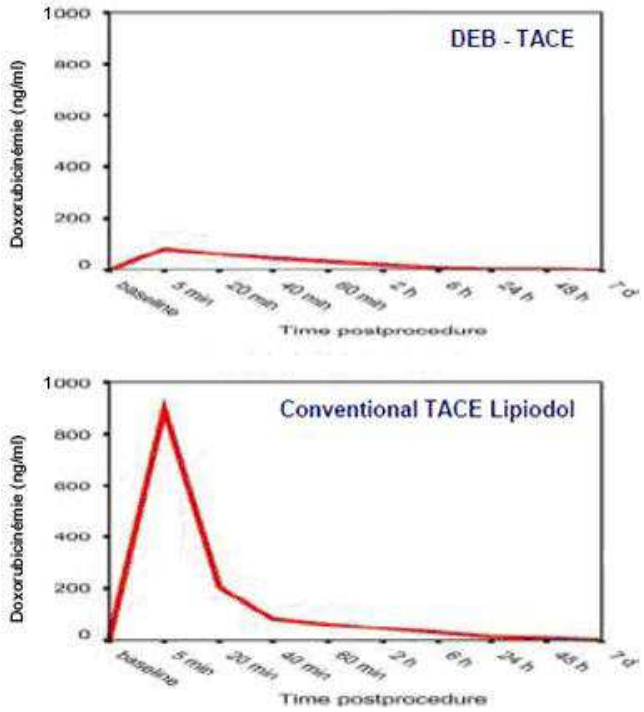


Figure 20. Doxorubicinémies après CHE avec microsphères DC Bead™ (graphe du haut) et après CHE lipiodolée (graphe du bas) (adapté de [Varela 2007])

Une étude vient de montrer en mesurant les concentrations de doxorubicine dans des explants hépatiques de 6 patients qui avaient reçu dans les 8h à 36 jours avant la chirurgie une séance de CHE avec microsphères d'embolisation DC Bead™ 100-300 µm chargées avec de la doxorubicine, que les microsphères permettaient un relargage de l'agent anticancéreux pendant au moins 1 mois [Namur 2011]. Les auteurs de ce travail ont montré que la nécrose tissulaire était associée à une pénétration plus profonde et à des concentrations plus élevées de doxorubicine, même si la différence n'était significative qu'après 32-36 jours [Namur 2011].

Auparavant, des résultats prometteurs de l'utilisation des microsphères chargées sur des modèles animaux avaient été publiés, que ce soit avec DC Bead™ [Hong 2006, Lewis 2006] ou avec HepaSphere™ [De Luis 2008].

La 1ère étude de CHE avec DC Bead™ chargées avec de la doxorubicine chez 27 patients atteints d'un CHC non métastatique non résécable Child A, a rapporté un taux de réponse globale selon les critères EASL de 66% pour un taux de complications de 7% et un taux de survie à 2 ans de 89% [Varela 2007]. Les résultats de cette étude ont été confirmés par une seconde étude réalisée avec DC Bead™ [Malagari 2008] et par une étude multicentrique italienne avec HepaSphere™ chargées avec doxorubicine ou épirubicine [Grosso 2008]. Dans l'étude grecque de Malagari ayant testé l'efficacité et la tolérance des CHE avec DC Bead™ chez 62 patients présentant un CHC non opérable, les auteurs rapportent un taux de réponse objective à 9 mois selon les critères EASL de 80% [Malagari 2008]. Les patients ont reçu dans cette étude 3 CHE à 3 mois d'intervalle, les microsphères étaient chargées avec de la doxorubicine à une dose comprise entre 50mg à 150mg. Deux complications sévères liées à la procédure se sont produites (3,2%) : un abcès hépatique chez 1 patient et une cholécystite chez 1 patient. L'étude italienne multicentrique ayant testé la CHE avec Hepasphere™ a inclus 50 patients présentant un CHC non résécable avec 10% de patients Child B. La taille moyenne totale des nodules était 4,2 cm avec un maximum de 4 nodules. Ces caractéristiques tumorales sont comparables à celles des patients inclus dans les deux études précédentes. Avec un taux de réponses objectives à 6 mois de 77% selon les critères EASL, les résultats obtenus étaient comparables à ceux des études ayant testé DC Bead™. Depuis ces 1ères études publiées en 2007-2008, de très nombreuses autres études ont confirmé l'efficacité des CHE avec microsphères chargées chez les patients atteints d'un CHC non résécable, avec un faible taux de complications. Un plus grand nombre d'études a été publié avec DC Bead™ [Malagari 2008, Reyes 2009, Malagari 2010, Dhanasekaran 2010]. Deux études ont notamment étudié l'intérêt de l'association DC Bead™ - radiofréquence [Lencioni 2008], ou l'efficacité des microsphères DC Bead™ chargées avec de l'épirubicine [Nicolini 2010]. Deux études ont été publiées en 2011 avec HepaSphere™ [Seki 2011, Seki 2011]. L'une a notamment évalué l'efficacité et la tolérance d'une CHE avec HepaSphere™ chargées avec du cisplatine après échec d'une CHE avec HepaSphere™ chargées avec de l'épirubicine [Seki 2011]. Au 1er juillet 2011, 10 études cliniques étaient en cours avec les 2 microsphères d'embolisation chargées dans le traitement des CHC : 9 avec DC Bead™ (en attente de transplantation, en association avec la

radiofréquence, en association avec sorafénib ou placebo, en association avec sunitinib ou placebo notamment) [NIH. ClinicalTrials. DC Bead] ; 1 avec HepaSphere™ (étude de phase III randomisée comparant une CHE lipiodolée avec doxorubicine et particules de PVA comme agent d'embolisation à une CHE avec HepaSphere™ chargées avec de la doxorubicine) [NIH NIH. ClinicalTrials. HepaShere].

A ce jour, un seul essai international de phase II publié a comparé l'efficacité et la tolérance d'un traitement par CHE par microsphères chargées (DC Bead™ chargées avec de la doxorubicine) à un traitement par CHE lipiodolée avec doxorubicine chez des patients atteints d'un CHC non résécable. Les taux de réponses objectives (réponses partielle et complète selon les critères EASL) à 6 mois étaient de 52% dans le bras microsphères *vs.* 44% dans le bras contrôle (p = 0,11). Les patients Child B, avec un état général PS 1 ou une maladie bilobaire traités par microsphères présentaient un taux significativement supérieur de réponses objectives (p = 0,038) par rapport aux patients ayant eu une CHE lipiodolée. Les auteurs rapportaient également que la CHE avec microsphères était significativement mieux tolérée en termes de défaillance hépatique sévère (p < 0,001) et d'effets indésirables liés à la doxorubicine (p = 0,001) comparativement à la CHE lipiodolée [Lammer 2010].

En conclusion, si l'avantage pharmacocinétique des microsphères d'embolisation comme vecteur par rapport au lipiodol pour la CHE est établi, la CHE avec microsphères chargées n'a pas cependant prouvé à ce jour, qu'elle était plus efficace que la CHE lipiodolée chez les patients présentant un CHC non résécable.

PARTIE 2

TRAVAUX PERSONNELS

Chapitre 1

L'agent anticancéreux pour la CHE des CHC

1. Problématique

La question de l'agent anticancéreux pour la CHE des CHC n'aurait peut être pas existé si le SMANCS, utilisé comme agent anticancéreux par Konno dans la 1ère étude publiée de CHE [Konno 1983], avait été synthétisé à plus grande échelle et donc utilisé pour toutes les CHE. La rareté du produit y compris au Japon dans les années 1980 a en effet poussé les médecins à utiliser d'autres agents anticancéreux pour la CHE des CHC. La doxorubicine et le cisplatine, produits disponibles à l'époque, ayant montré quelques taux de réponses objectives au cours d'essais de chimiothérapie IV de phase II chez des patients atteints de CHC [Burroughs 2004], furent alors utilisés.

En 2007, Marelli publiait une revue systématique de la littérature sur la CHE des CHC [Marelli 2007], reprenant les données de l'ensemble des études randomisées et de cohorte publiées sur la technique entre 1983 (1er article de Konno) et 2006, soit 52 études. Un agent anticancéreux seul était utilisé dans 75% des études, 2 agents anticancéreux étaient utilisés dans 15% des études, et 3 agents anticancéreux étaient utilisés dans 6% des études. Dans 4% des études, l'agent anticancéreux n'était pas mentionné [Marelli 2007]. L'agent anticancéreux le plus fréquemment utilisé pour la CHE des CHC était la doxorubicine (36%) suivi du cisplatine (31%), de l'épirubicine (12%), de la mitoxantrone (8%), de la mitomycine C (8%), du SMANCS (6%), du 5-fluorouracile (4%), du carboplatine (4%), de la daunorubicine (2%) ou encore de la pirarubicine (2%) [Marelli 2007].

Depuis cette revue de la littérature, de nombreuses études sur la CHE des CHC ont été publiées, dont 4 essais randomisés de phase II ou III. L'essai français de phase III FFCD 9402 a comparé une hormonothérapie à base de tamoxifène associée ou non à une CHE lipiodolée à base d'épirubicine [Doffoël 2008]. Un essai japonais de phase III a comparé une CHE lipiodolée avec SMANCS à une chimiothérapie IA lipiodolée (sans embolisation) avec SMANCS [Okusaka 2009]. L'étude internationale de phase II Precision V a comparé une CHE lipiodolée avec doxorubicine à une CHE avec microsphères d'embolisation chargées de doxorubicine [Lammer 2010]. Enfin, l'essai bicentrique de phase II LIPIOAMIO a comparé deux modalités de CHE lipiodolée à base de doxorubicine avec et sans amiodarone [Boulin 2011]. Globalement, les

études asiatiques publiées sur la CHE des CHC depuis 2006 ont le plus souvent utilisé le cisplatine comme agent anticancéreux, les études occidentales, la doxorubicine.

Ainsi de très nombreux agents anticancéreux sont utilisés depuis une trentaine d'années pour la CHE des CHC sans que l'on sache lequel est le plus efficace. La question de l'agent anticancéreux apparaît non résolue à ce jour pour plusieurs raisons.

Premièrement, **il est impossible de comparer l'effet propre de chaque agent anticancéreux dans les essais randomisés de CHE car ils sont injectés selon des procédures différentes**. En effet, il existe une hétérogénéité considérable dans les modalités d'injection de la CHE concernant la dose de l'agent anticancéreux, l'agent d'embolisation, la méthode d'injection, la fréquence entre les cures, la nature des bras contrôles d'une étude à l'autre.

Concernant la dose de l'agent anticancéreux, certains essais ont été réalisés avec une dose fixe de doxorubicine définie arbitrairement, en l'occurrence 50 mg dans l'essai de phase II LIPIOAMIO [Boulin 2011]. D'autres essais ont utilisé des doses variables de doxorubicine en fonction de la bilirubinémie des patients. Cela était le cas dans l'essai de phase II Precision V où les patients ont reçu des doses de doxorubicine comprises entre 50 mg et 150 mg [Lammer 2010].

Un autre exemple concerne les agents d'embolisation. Différents agents d'embolisation sont utilisés : gélatine, PVA, plus récemment les microsphères. Lorsque la gélatine est utilisée, elle l'est le plus souvent à partir de sa forme plaquette, mais la taille et la quantité des morceaux que le radiologue va découper manuellement et injecter sont extrêmement variables.

Le tableau VIII illustre l'hétérogénéité des procédures de CHE dans les principaux essais randomisés publiés au cours des 20 dernières années (à la date du 1er juillet 2011) chez les patients atteints de CHC non résécables.

Tableau VIII. Principaux essais randomisés de CHE publiés entre 1991 et juillet 2011 chez des patients atteints de CHC non résécables

Référence	Bras	N	Agent anticancéreux	Lipiodol	Agent d'embolisation	Survie à 2 ans (%)	*p*
CHE vs autre traitement							
GETCH, *N. Engl. J. Med*. 1995	CHE	50	Cisplatine	Oui	Gélatine	38	NS
	BSC	46	-	-	-	26	
Pelletier, *J. Hepatol*. 1998	CHE + Tx	37	Cisplatine	Oui	Gélatine poudre	24	NS
	Tx	36	-	-	-	26	
Lo, *Hepatology*. 2002	CHE	40	Cisplatine	Oui	Gélatine plaquette	31	0,002
	BSC	39	-	-	-	11	
Llovet, *Lancet.* 2002	CHE	40	Doxorubicine	Oui	Gélatine plaquette	63	0,002
	E	37	-	Oui	Gélatine plaquette	50	NS
	BSC	35	-	-	-	27	
Dofföel, *Eur. J. Cancer*. 2008	CHE + Tx		Épirubicine	Oui	Gélatine poudre	25	NS
	Tx		-	-	-	22	
Okusaka, *J. Hepatol*. 2009	CHE	79	SMANCS	Oui	Gélatine plaquette	48	NS
	CIAL	82	SMANCS	Oui	-	50	

Tableau VIII. (suite)

Comparaison de différents agents anticancéreux							
Watanabe, *Cancer. Chemother. Pharmacol*. 1994	CHE	41	Épirubicine	Oui	Gélatine plaquette	45	NS
	CHE	38	Doxorubicine	Oui	Gélatine plaquette	44	
Kawai, *Semin. Oncol*. 1997	CHE	41	Épirubicine	Oui	Gélatine plaquette	45	NS
	CHE	38	Doxorubicine	Oui	Gélatine plaquette	55	
Comparaison de différents dosages d'agents anticancéreux							
Lu, *Hepatogastroenterology*. 2003	CHE	40	Mitomycine C, epirubicine, carboplatine faibles doses	Oui	Gélatine/PVA particules	27	NS
	CHE	42	Mitomycine C, epirubicine, carboplatine doses usuelles	Oui	Gélatine/PVA particules	27	
Comparaison de différents agents d'embolisation							
Zheng, *Chin. Med. J.* 1998	CHE	56	Carboplatine + 5FU + mitomycine C	Oui	*Bletilla striata*	45	< 0,05
	CHE	50	Carboplatine + 5FU + mitomycine C	Oui	Gélatine poudre	31	
Kwok, *J. Hepatol*. 2000	CHE	48	Cisplatine	Oui	Caillots sanguins	37	NS
	CHE	52	Cisplatine	Oui	Gélatine plaquette	28	

Tableau VIII. (suite)

Lammer*, *CVIR*. 2010	CHE	93	Doxorubicine	-	Microsphères DC Bead™	ND	_
	CHE	108	Doxorubicine	Oui	Choix de l'investigateur	ND	
*Comparaison autres***							
Boulin, *Dig. Liver. Dis*. 2011	CHE	13	Doxorubicine + amiodarone	Oui	Gélatine plaquette	52	NS
	CHE	14	Doxorubicine	Oui	Gélatine plaquette	40	

BsC : Best supportive care ; CIAL : Chimiothérapie intraartérielle lipiodolée ; ND : non determiné, NS : non significatif ; PVA : alcool polyvinylique ; Tx : tamoxifène

* Dans l'essai Precision V, la survie à 2 ans n'a pas été étudiée; à 6 mois, le taux de réponse objectif selon les critères EASL était 51,6% dans le bras microsphères *vs*. 43,5% dans le bras CHE lipiodolée (p = 0,11)

** Dans l'essai Lipioamio, l'amiodarone peut à la fois être considérée comme une molécule potentialisatrice de l'effet anticancéreux de la doxorubicine (par ses propriétés modulatrices de la résistance multidrogue) mais également comme potentialisatrice de l'effet « vecteur » du lipiodol car augmente la solubilité de la doxorubicine dans le lipiodol.

Deuxièmement, **il est impossible d'avoir une idée de l'effet propre de chaque agent anticancéreux dans les essais de CHE car les caractéristiques des patients inclus dans les études sont hétérogènes.**

Si tous les patients inclus dans les essais de CHE présentaient un CHC non résécable selon les critères EASL [Bruix 2001], il existe une grande hétérogénéité concernant les caractéristiques des patients au sein d'une même étude et entre les études. Tout d'abord, une description complète des caractéristiques des patients n'est pas toujours disponible dans les publications. Marelli rapportait en 2007, que sur les 52 études de cohorte et randomisées de CHE publiées entre 1983 et 2006, le score de Child-Pugh et la taille du plus gros nodule n'étaient mentionnés que dans 46% et 34% des études, respectivement [Marelli 2007]. Par exemple, dans l'essai de phase III japonais publié en 2009, comparant CHE lipiodolée avec SMANCS *vs*. chimiothérapie IA lipoiodolée avec SMANCS, le score de Child-Pugh et la proportion de patients cirrhotiques n'étaient pas indiqués [Okusaka 2009]. Ensuite, les études principalement celles menées avant 2000, ont inclus des patients présentant une cirrhose Child-Pugh C ou un stade III de la classification d'Okuda. Ces critères sont actuellement considérés comme des contre-indications à un traitement par CHE [Raoul 2011]. Par ailleurs, l'étiologie de la cirrhose est évidemment dépendante des zones géographiques voire des pays d'origine des patients. Ainsi, les 5 essais randomisés français ont majoritairement inclus des patients dont l'origine de la cirrhose est une intoxication alcoolique [Pelletier 1990, GRETCH 1995, Pelletier 1998, Doffoel 2008, Boulin 2011]. Les essais positifs de Hong Kong et de Barcelone ont inclus majoritairement des patients présentant une cirrhose virale B [Lo 2002] ou C [Llovet 2002], respectivement. L'atteinte hépatique est généralement plus sévère quand l'origine de la cirrhose est alcoolique [Beaugrand 2007] et cet argument a été avancé par un auteur français pour expliquer la négativité des essais de CHE menés en France contrairement à ceux menés dans d'autres pays [Doffoël 2008]. Certaines études ont inclus des patients quelle que soit la taille de leur CHC alors que certains auteurs ont limité dans les critères d'inclusion des patients le nombre maximal de nodules. Dans l'essai LIPIOAMIO, pour lequel il n'existait pas de restriction dans les critères d'inclusion, 70% des patients avaient ≥ 3 nodules et la taille tumorale médiane était 8,5 cm [Boulin 2011]. A l'inverse, en raison des critères d'inclusion tels qu'ils étaient définis dans l'essai Precision V, la taille tumorale médiane des patients était 4,7 cm [Lammer 2010]. La taille tumorale étant un facteur de mauvais pronostic de patients atteints de CHC traités par CHE [Takayasu 2006, Bruix 2009], il apparaît difficile de comparer les résultats obtenus entre ces études en termes de réponses.

Outre la disparité des procédures de CHE, une telle hétérogénéité dans les critères d'inclusion des patients contribue probablement à expliquer les résultats discordants des essais de CHE depuis une trentaine d'années.

Troisièmement, **il est impossible de conclure sur l'effet propre de chaque agent anticancéreux dans les essais de CHE car les seuls essais qui auraient permis de répondre à la question sont trop peu nombreux.** Deux essais randomisés ont bien comparé l'efficacité de la CHE avec des agents anticancéreux différents injectés selon la même procédure, mais ces 2 essais n'ont comparé que les 2 mêmes agents anticancéreux, la doxorubicine et l'épirubicine [Watanabe 1994, Kawai 1997]. Avec des taux de survie à 2 ans compris entre 44% et 55% dans les 2 bras des 2 essais, les résultats des 2 essais n'ont pas rapporté de différence entre les 2 molécules.

Quatrièmement, **il est impossible d'avoir une idée de l'efficacité antitumorale de chaque agent anticancéreux sur le CHC car les essais de chimiothérapie IV menés dans la pathologie ne sont pas contributifs**.

En 1975, Olweny avait rapporté un taux de réponses objectives de 79% chez des patients ougandais atteints de CHC traités par doxorubicine par voie IV à la dose de 75 mg/m² toutes les 3 semaines [Olweny 1975]. L'enthousiasme fut cependant de courte durée car les 16 essais de phase II qui ont par la suite testé la molécule toujours par voie IV chez des patients atteints d'un CHC avancé ont rapporté des toxicités et un taux de réponse objective global de 18% sur l'ensemble des 734 patients inclus dans ces 16 essais [Burroughs 2004]. Parallèlement, 42 essais de phase II de chimiothérapie IV publiés au 1er juillet 2011, ont testé chez des patients atteints d'un CHC non résécable ou avancé d'autres agents anticancéreux en monothérapie : arsénic (n=1), amsacrine (n=3), bevacizumab (n=1), cetuximab (n=1), cisplatine (n=2), doxifluridine (n=1), édatrexate (n=1), épirubicine (n=2), étoposide (n=2), 5-FU (n=7), gemcitabine (n=4), ifosfamide (n=1), irinotécan (n=1), mitoxantrone (n=5), nolatrexed (n=1), oxaliplatine (n=1), paclitaxel (n=1), raltitrexed (n=1), SB-715992 (n=1), SMANCS (n=1), topotécan (n=1), trimetrexate (n=1), tégafur (n=1) et vindésine (n=1). D'autres essais de phase II ont testé des polychimiothérapies par voie IV. Enfin, des essais randomisés de phase III testant des mono- et des polychimiothérapies par voie IV ont également été réalisés chez

des patients présentant un CHC non résécable. **Toutes ces études sont globalement négatives quel que soit l'agent anticancéreux utilisé**.

Parmi toute cette littérature, une équipe de l'Institut Gustave Roussy a publié un essai de phase II positif en termes de survie avec la bichimiothérapie IV gemcitabine-oxaliplatine (GemOx) chez des patients atteints d'un CHC évolué [Louafi 2007]. Cette équipe vient de présenter en 2011 au congrès de l'ASCO, les résultats obtenus avec cette stratégie de traitement chez 200 patients atteints d'un CHC évolué [Williet 2011]. Avec 10% des patients ayant pu bénéficier après les cures de chimiothérapie d'un traitement potentiellement curatif, les auteurs de ce travail continuent de croire en cette chimiothérapie IV. En pratique, la chimiothérapie IV chez des patients atteints de CHC avancés est très rarement réalisée en dehors d'essais thérapeutiques. En France, le Thésaurus National de Cancérologie Digestive mis à jour en septembre 2010 mentionne au sujet de la chimiothérapie IV des CHC évolués : « Malgré la constatation de réponses tumorales avec les chimiothérapies systémiques, aucune étude de phase III n'a démontré leur efficacité. Ainsi, il n'existe pas de chimiothérapie de référence pour le traitement du CHC évolué, ce type de traitement ne devant être prescrit que dans le cadre d'essais thérapeutiques » [TNCD 2010]. Au niveau international, la chimiothérapie IV chez les patients atteints d'un CHC non résécable est considérée comme « peu efficace et toxique pour les patients » [Bruix 2009].

Cinquièmement, **il est impossible de connaître l'efficacité antitumorale de chaque agent anticancéreux sur le CHC car aucune étude pharmacologique préclinique n'a répondu à la question.**

Les seules études de pharmacologie préclinique ayant testé la cytotoxicité *in vitro* d'agents anticancéreux sur des lignées de CHC présentent selon nous de nombreuses limites : les molécules testées sont peu nombreuses, les lignées humaines de CHC testées sont également peu nombreuses et les durées d'exposition des cellules aux agents anticancéreux dans ces études de sélection sont très longues au regard de la courte durée de contact *in vivo* [Mok 2006, Chuu 2007, Chunhu 2008].

En résumé, il n'existe à ce jour aucun argument qui permette de recommander l'utilisation d'un agent anticancéreux plutôt qu'un autre pour la CHE des CHC. La doxorubicine est l'agent anticancéreux le plus utilisé sur des bases principalement historiques, le 1er essai de

chimiothérapie IV à avoir montré quelques réponses objectives chez des patients présentant un CHC avancé avait utilisé la doxorubicine en 1975 [Olweny 1975].

2. Travaux sur l'optimisation de l'agent anticancéreux pour la CHE des CHC : étude de sélection *in vitro*

Article n°1 :

Boulin M, Guiu S, Chauffert B, Aho LS, Cercueil JP, Ghiringhelli F, Krause D, Fagnoni P, Hillon P, Bedenne L, Guiu B. Screening of anticancer drugs for chemoembolization of hepatocellular carcinoma. *Anticancer. Drugs*., 2011, 22, 741-748.

2.1. Rationnel et objectif de l'étude

Alors qu'actuellement les travaux sur la CHE des CHC porte quasi exclusivement sur la vectorisation de la chimiothérapie pour augmenter l'efficacité de la procédure, nous faisons l'hypothèse qu'il faudrait déjà connaître l'agent anticancéreux le plus approprié pour la procédure. Aucun argument ne permet donc de recommander l'utilisation d'un agent anticancéreux plutôt qu'un autre pour la CHE des CHC. L'objectif de notre étude est donc de sélectionner parmi les agents anticancéreux le meilleur candidat pour la CHE des CHC. Suite aux points discutés précédemment (1. Problématique), le seul moyen de connaître l'agent anticancéreux le plus efficace pour la CHE des CHC est donc de réaliser une étude pharmacologique préclinique. En effet, une étude comparative de la cytotoxicité *in vitro* de plusieurs agents anticancéreux est la seule à pouvoir répondre à la question **dans la mesure où les effets cytotoxiques observés au cours d'une telle étude sont uniquement dûs à l'agent anticancéreux**, sans influence de facteurs de « confusion » liés aux modalités d'administration de la CHE par exemple. De plus, les expériences menées à l'identique et simultanément, la comparaison directe des agents anticancéreux est possible.

2.2. Matériel et méthodes

<u>Lignées cellulaires</u>

Nous avons travaillé sur trois lignées humaines de CHC HepG2, SNU-398 et SNU-449 achetées auprès de l'American Type Culture Collection (Manassas, Virginia) (Figure 21). La lignée HepG2 issue d'un patient caucasien de 15 ans avant chimiothérapie [Park 1995, ATCC 2008], est la lignée humaine de CHC la plus utilisée au monde ; elle constitue notre lignée de référence. La lignée

SNU-398 a été obtenue chez un homme asiatique de 42 ans précedemment traité par CHE lipiodolée avec mitomycine C et doxorubicine [ATCC 2008]. Elle constitue un modèle de cellules prétraitées avec la doxorubicine. La lignée SNU-449 a été obtenue chez un homme asiatique de 52 ans avant traitement. Sa caractéristique principale est sa résistance connue à de nombreux agents anticancéreux [Park 1994, ATCC 2008].

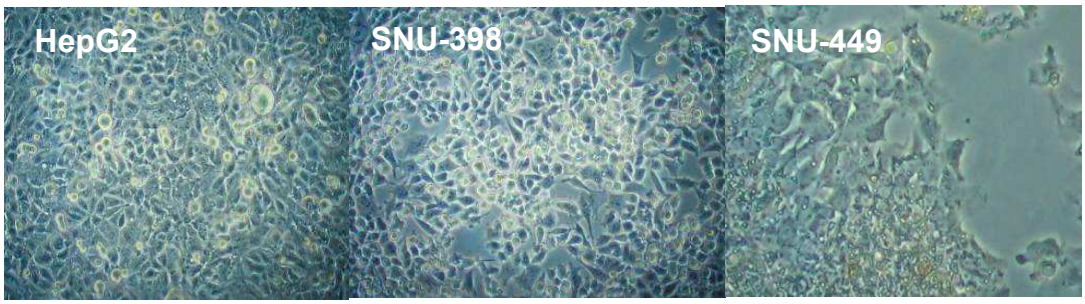


Figure 21. Photographies microscopiques des lignées humaines de CHC HepG2, SNU-398 et SNU-449

Agents anticancéreux

Pour effectuer la sélection la plus large possible, nous avons utilisé 11 agents anticancéreux. Nous avons testé les molécules habituellement utilisées pour la CHE des CHC : doxorubicine, cisplatine, épirubicine, mitoxantrone, mitomycine C, carboplatine et 5-fluorouracile [Marelli 2007]. Nous avons également choisi de tester d'autres molécules avec des mécanismes d'action différents, pour les raisons suivantes : l'idarubicine en raison de sa pénétration hépatique supérieure aux autres anthracyclines [Broggini 1984] et sa capacité à surmonter les phénomènes de résistance multidrogue (MDR) dans des lignées cellulaires de myélome multiple [Roovers 1999]; le paclitaxel pour tester un taxane et parce que la molécule a prouvé qu'elle était plus cytotoxique que la doxorubicine dans des histocultures de CHC [Chuu 2007]; la gemcitabine et l'oxaliplatine car leur combinaison largement testé en oncologie depuis de nombreuses années a montré son intérêt par voie IV chez les patients atteints d'un CHC évolué [Louafi 2007].

Protocole expérimental

Nous avons réalisé une étude de cytotoxicité selon un protocole classique avec évaluation de la survie cellulaire par une technique colorimétrique. Les cellules ont été exposées 30 minutes à 11 concentrations de chacun des agents anticancéreux.

La durée d'exposition a été fixée à 30 mn en s'inspirant des résultats de l'étude pharmacocinétique de Varela, qui a montré que le pic de relargage systémique de la doxorubicine se situait 20 à 40 minutes après la CHE, quelle que soit la procédure, lipiodolée ou avec des microsphères d'embolisation [Varela 2007]. Notre objectif était de se rapprocher le plus possible des conditions *in vivo* au cours d'une CHE. Concernant le temps d'exposition, notre étude diffère des 3 études ayant étudié la cytotoxicité *in vitro* de différents agents anticancéreux sur des lignées de CHC. Ces études ont testé des durées d'exposition longues, de 3h à 24h [Mok 2006, Chuu 2007, Chunhu 2008]. Non seulement elles ont testé peu d'agents anticancéreux (4 au maximum dans la même étude) sur peu de lignées celluaires de CHC (3 au maximum), mais leurs auteurs ont uniquement calculé des IC_{50} (concentration de l'agent anticancéreux permettant de détruire 50% des cellules). Ce paramètre paraît peu approprié dans le cas de la CHE, dont le but du traitement est d'obtenir une réponse complète après une seule voire 2 séances. Le paramètre IC_{90} (concentration de l'agent anticancéreux qui permet de détruire 90% des cellules) paraît plus approprié pour sélectionner un agent anticancéreux dans cette indication.

Afin de pouvoir comparer des molécules avec des concentrations efficaces différentes, nous avons calculé pour chaque agent anticancéreux sur chaque lignée, un index de cytotoxicité. Ce paramètre, défini comme le ratio de la concentration maximale de la molécule sur son IC_{90} permet de comparer l'activité des agents anticancéreux qui vont par ailleurs être rapidement dilués dans le flux artériel hépatique après l'injection. Les paramètres IC_{90} et index de cytotoxicité ainsi que leurs intervalles de confiance ont été estimés à partir de modèles de régression non linéaires.

2.3. Résultats

Les cytotoxicités observées étaient très variables d'un agent anticancéreux à l'autre et pour un agent anticancéreux donné d'une lignée à l'autre. Cette hétérogénéité dans l'activité des agents anticancéreux semble logique au regard des résultats obtenus dans la pratique quotidienne : les taux

de réponse objective (partielle et complète selon les critères EASL) après CHE varient globalement entre 30 et 70% en fonction des études [Forner 2010]. L'idarubicine est l'agent anticancéreux le plus cytotoxique sur les 3 lignées cellulaires. Sur la lignée SNU-398, l'index de cytotoxicité de l'idarubicine est 2-, 3-, 57- et > 148 fois supérieur aux index de cytotoxicité de la mitoxantrone, de l'épirubicine, de la doxorubicine et des autres agents anticancéreux, respectivement. Sur la lignée HepG2, l'index de cytotoxicité de l'idarubicine est 27-, 28-, 51- et > 1343 fois supérieur aux index de cytotoxicité de la doxorubicine, de l'épirubicine, de la mitoxantrone et des autres agents anticancéreux, respectivement. Sur la lignée résistante SNU-449, l'index de cytotoxicité de l'idarubicine est 2,9- et 14 fois supérieur aux index de cytotoxicité du paclitaxel et de la gemcitabine, respectivement, les deux seuls autres agents anticancéreux atteignant l'IC_{90} sur cette lignée.

2.4. Conclusion

Notre travail expérimental de sélection de 11 agents anticancéreux pour la CHE des CHC, incluant les molécules les plus fréquemment utilisées en pratique clinique a démontré que l'idarubicine était la molécule la plus cytotoxique *in vitro* sur 3 lignées humaines de CHC, notamment sur la lignée résistante SNU-449. L'article complet est présenté ci-dessous.

Screening of anticancer drugs for chemoembolization of hepatocellular carcinoma

Mathieu Boulin[a,e], Séverine Guiu[e,f], Bruno Chauffert[e,f], Serge Aho[b], Jean-Pierre Cercueil[c,e], François Ghiringhelli[e,f], Denis Krause[c], Philippe Fagnoni[a,e], Patrick Hillon[d,e], Laurent Bedenne[d,e] and Boris Guiu[c,e]

The aim of this study was to select the best candidate drug for transarterial chemoembolization by in-vitro cytotoxic evaluations of 11 anticancer drugs on three human hepatocellular carcinoma (HCC) cell lines. The SNU-398, HepG2, and SNU-449 human HCC cell lines were exposed for 30 min to 11 concentrations of doxorubicin, epirubicin, idarubicin, mitoxantrone, carboplatin, cisplatin, oxaliplatin, 5-fluorouracil, gemcitabine, mitomycin C, or paclitaxel. Cytotoxicity was measured using a quantitative colorimetric assay. For each drug and cell line, we calculated the drug concentration that caused 90% cell death (IC_{90}). To enable comparisons of drugs with different concentration ranges, we computed the cytotoxic index (C_yI) as the ratio of maximal drug concentration of more than IC_{90}. Parameters were estimated using nonlinear regression models. Idarubicin was the most active drug on all three cell lines. With SNU-398 cells, the idarubicin C_yI was 2.4-fold, 2.5-fold, 57-fold, 148-fold, and more than 58 748-fold higher than the C_yIs of mitoxantrone, epirubicin, doxorubicin, gemcitabine, and other drugs, respectively. With HepG2 cells, the idarubicin C_yI was 27-fold, 28-fold, 51-fold, and more than 1343-fold higher than the C_yIs of doxorubicin, epirubicin, mitoxantrone, and other drugs, respectively. On the resistant SNU-449 cell line, the idarubicin C_yI was 2.9-fold and 14-fold higher than the C_yIs of paclitaxel and gemcitabine, respectively, the only other drugs effective on this cell line. Among 11 chemotherapeutic agents including doxorubicin, cisplatin, and epirubicin, the most effective on three HCC cell lines was idarubicin. Further clinical investigations are needed to evaluate the safety and efficacy of idarubicin for transarterial chemoembolization in HCC. *Anti-Cancer Drugs* 00:000–000 © 2011 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins.

Anti-Cancer Drugs 2011, 00:000–000

Keywords: anticancer drugs, chemoembolization, hepatocellular carcinoma

Departments of [a]Pharmacy, [b]Epidemiology, [c]Radiology, [d]Hepatogastroenterology, CHU (University Hospital), [e]University of Burgundy, INSERM U866 and [f]Department of Oncology, Georges Francois Leclerc Anticancer Center, Dijon, France

Correspondence to Dr Mathieu Boulin, Department of Pharmacy, CHU (University Hospital), 2 Boulevard Maréchal de Lattre de Tassigny, BP 77908, Dijon F-21079, France
Tel: +33 380 293 796; fax: +33 380 293 275;
e-mail: mathieu.boulin@chu-dijon.fr
and
Boris Guiu, Department of Radiology, CHU (University Hospital), 2 Boulevard Maréchal de Lattre de Tassigny, BP 77908, Dijon F-21079, France
Tel: +33 380 293 686; fax: +33 380 295 455;
e-mail: boris.guiu@chu-dijon.fr

Received 20 December 2010 Revised form accepted 10 March 2011

Introduction

Hepatocellular carcinoma (HCC) is the fifth most common malignancy and the third most common cause of cancer-related death worldwide [1,2]. Only 30% of patients can receive potentially curative treatments such as liver transplantation, resection, or percutaneous ablation [3]. Among palliative treatments, transarterial chemoembolization (TACE) has a central role. More specifically, TACE is the mainstay of the treatment of patients with intermediate-stage HCC (multinodular asymptomatic tumors without vascular invasion or extrahepatic spread) [4].

Two randomized controlled trials (RCTs) and two meta-analyses showed statistically significant survival gains with TACE in patients with unresectable HCC, compared with supportive care or systemic chemotherapy [5–8]. TACE has a favorable long-term toxicity profile [9], and has been used worldwide for several years. However, the TACE procedure varies widely across centers and interventional radiologists, especially regarding anticancer drugs, doses, embolic agents, methods of delivery, and schedules [10]. One of the key theoretic advantages of TACE is tumor exposure to high concentrations of the chemotherapeutic agent. Therefore, the choice of the drug is probably of major importance, especially as HCC is considered one of the most resistant tumors to pharmacological treatment [11]. Resistance to anticancer drugs in HCC is, similar to in other malignancies, partly related to multidrug resistance (MDR), an intrinsic or acquired cross-resistance to a variety of structurally and functionally unrelated drugs [12]. MDR might be caused by an increased ATP-dependent efflux of drugs from within to outside the cells, mediated by MDR proteins belonging to the ATP-binding cassette transport family. In HCC cell lines, resistance to doxorubicin and cisplatin, attributed to the overexpression of MDR proteins, has been previously

0959-4973 © 2011 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins DOI: 10.1097/CAD.0b013e328346a0c5

explored [13,14]. Doxorubicin and cisplatin are precisely the most widely used drugs for TACE [10], but no preclinical screening studies or RCTs have been published to support their use rather than that of other agents. Furthermore, in the literature on TACE, there is no consensus about the best chemotherapeutic agent or optimal treatment regimen [10] as survival rates vary widely. Recently, many studies focused on drug-eluting microspheres using doxorubicin [15–18], although loading other drugs might be associated with greater improvements in the treatment efficacy.

Therefore, we designed an in-vitro study to compare the cytotoxicity of multiple anticancer drugs on human HCC cell lines with the goal of selecting the best candidate for TACE in HCC.

Materials and methods

Cell culture

SNU-398, HepG2, and SNU-449 human HCC cell lines were purchased from the American Type Culture Collection (Manassas, Virginia, USA). They were all derived from hepatitis B virus-induced tumors, even though there is no evidence of a hepatitis B virus genome in HepG2 cells [19]. The HepG2 cell line was taken before chemotherapy from a 15-year-old Caucasian boy. It is widely used for in-vitro studies on HCC and constitutes the standard cell line in our experiment. The SNU-398 cell line was obtained from a 42-year Asian man previously treated with TACE with ethiodized oil plus a combination of doxorubicin and mitomycin C [19]. In brief, the original tumor was single nodule with perinodular extensions, and histologically a trabecular type. SNU-398 cells were selected as the model of doxorubicin- pretreated cells. The SNU-449 cell line was taken before chemotherapy from a 52-year-old Asian man [19]. SNU-449 cells were derived from a tumor with predominantly compact histology. The main characteristic of SNU-449 cells is their resistance to various anticancer drugs [13].

The cell lines were cultured in a CO_2 incubator at 37°C in RPMI 1640 (Lonza, Verviers, Belgium) supplemented with 10% fetal bovine serum. For experiments, cells were detached with a mixture of trypsin (1 g/l) and EDTA (0.4 g/l) in Hanks Balanced Saline Solution (Lonza).

Drugs and concentrations

We tested anthracyclines (doxorubicin, epirubicin, idarubicin, and the related drug mitoxantrone), platinum derivatives (carboplatin, cisplatin, and oxaliplatin), antimetabolites (5-fluorouracil and gemcitabine), the alkylating antibiotic mitomycin C, and the taxane paclitaxel. For each drug, we chose the available form (solution or powder) that produced the highest concentration. Five drugs were used as solutions: mitoxantrone [Mitoxantrone (2 mg/ml); Mylan, Canonsburg, Pennsylvania, USA], carboplatin [Carboplatine (10 mg/ml); Mylan], cisplatin [Cisplatine (1 mg/ml); Mylan], 5-fluorouracil [Fluorouracile (50 mg/ml); Teva Classics, Petah Tikva, Israel], and paclitaxel [Taxol (6 mg/ml); Bristol-Myers Squibb, New York, USA]. Six drugs were used as powder reconstituted in sterile water: doxorubicin (Doxorubicine; Sanofi Aventis, Paris, France), epirubicin (Farmorubicine; Pfizer), idarubicin (Zavedos; Pfizer), gemcitabine (Gemzar; Lilly, Indianapolis, Indiana, USA), oxaliplatin (Oxaliplatine; Mylan), and mitomycin C (Ametycine; Sanofi Aventis).

For each drug, we prepared 11 concentrations from the highest achievable concentration to the lowest concentration obtained by $1:3^n$ ($n = 0$–11) serial dilutions (i.e. 1; 1 : 3; 1 : 9–1 : 59 049) in Ham's F10 medium (Lonza). For solutions, the highest concentration was that of the undiluted solution. For powders, the highest concentration was the maximal reconstitution concentration recommended by the manufacturers: 37 500 μg/ml for doxorubicin, 2000 μg/ml for epirubicin, 1000 μg/ml for epirubicin, 40 000 μg/ml for gemcitabine, 5000 μg/ml for oxaliplatin, and 1000 μg/ml for mitomycin C.

Cytotoxicity assay

Cells were seeded onto 96-well tissue culture plates (20 000 cells/well) and cultured for 72 h until confluence. After exposure to drugs at various concentrations for 30 min at 37°C, the cells were washed twice with Ham's F10 medium and incubated for 4 additional days in a drug-free fresh culture medium. Cell survival was assessed using a quantitative colorimetric assay as previously described [20]. In brief, adherent surviving cells were fixed with 200 μl of pure ethanol for 10 min and stained with 1% crystal violet in distilled water for 5 min. Excess dye was flushed out with water and cell-fixed dye was then eluted using 33% acetic acid. The optical density (OD) was read at 555-nm wavelength using an automatic spectrophotometer (Asys Hitech GmbH, Vienna, Austria). Untreated cells were subjected to the same experimental protocol without drug exposure and served as controls (i.e. 100% survival). To maintain strict comparability, all manipulations were carried out simultaneously by three operators who had 3, 4, and 3 years of experience, respectively, with cell cultures and experimental studies.

Data analysis

Each point of the concentration–survival curves was the mean ± standard deviation of the ratio of treated-cell OD over corresponding control-cell OD, obtained from triplicate measurements.

IC_{50} and IC_{90} were defined as the drug concentrations that caused 50 and 90% cell death, respectively, compared with the control. To determine IC_{50} and IC_{90}, 11 models were assessed for each drug on each of the three cell

lines. The initial model was chosen based on the shape of the concentration–survival curves. It was then compared with the following models: logistic models (3–5 parameters), log logistic models (2–5 parameters), and four Weibull models (depending on the number of parameters) [21]. The Gompertz model, which resembles the Weibull model, was not tested. The final model was selected based on the Akaike's information criterion and of residual variance. IC_{50}, IC_{90}, and their standard deviations were calculated using the best model. In this model, 95% confidence intervals (95% CIs) of IC_{90} were estimated using the δ method.

We also computed the cytotoxic index (C_yI) as the ratio of maximal drug concentration over IC_{90} for each drug and each cell line. As an example, a C_yI of 100 indicates that the drug kills 90% of the cells even when diluted (1 : 100).

All models were estimated by nonlinear least squares regression. Computations were performed using the Stata 10 software (StataCorp, College Station, Texas, USA) and the R 2.10 software (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

Results

Cytotoxicity curves, IC_{50}, and IC_{90}

Cell survival was plotted according to the drug concentration (Fig. 1). IC_{50} and IC_{90} values are reported in Table 1. The SNU-449 cell line was the most resistant to anthracyclines (IC_{50} not achieved for doxorubicin, epirubicin, or the related drug mitoxantrone), except idarubicin, which was nevertheless less active on SNU-449 than on the other two cell lines. SNU-449 cells showed incomplete sensitivity to platinum derivatives, even at the highest concentration (IC_{90} not reached). Apart from idarubicin, the most active agents on SNU-449 cells were paclitaxel and gemcitabine, which were completely cytotoxic in high concentrations. In contrast, anthracyclines and mitoxantrone were active in low concentrations on SNU-398 and HepG2 cells. The HepG2 cell line was the most sensitive to platinum derivatives and mitomycin C. SNU-398 was the most sensitive cell line to gemcitabine. 5-Fluorouracil was almost inactive on the three cell lines, except when undiluted.

Finally, idarubicin was the only drug that was active in relatively low concentrations on the three HCC cell lines. The idarubicin IC_{90} was 9.9 ± 1.0 μg/ml for the resistant SNU-449 cell line and was already achieved at the lowest concentration (0.017 μg/ml) for the SNU-398 and HepG2 cell lines.

Cytotoxic index

Cytotoxicities with the various drug–cell line combinations were readily compared based on the CyI (Table 2). Idarubicin was the only drug for which all three C_yIs were greater than 1 and had the highest C_yI for each cell line. With SNU-398, the idarubicin C_yI was 2.4-fold (80 900/33 438) higher than that of mitoxantrone, 2.5-fold (80 900/32 102) higher than that of epirubicin, 57-fold (80 900/1412) higher than that of doxorubicin, 148-fold (80 900/548) higher than that of gemcitabine, and more than 58 748-fold higher than that of the other drugs. With HepG2, the idarubicin C_yI was 27-fold (68 488/2574) higher than that of doxorubicin, 28-fold (68 488/2421) higher than that of epirubicin, 51-fold (68 488/1340) higher than that of mitoxantrone, 1343-fold (68 488/51) higher than that of mitomycin C, and more than 5205-fold higher than that of the other drugs. With the resistant SNU-449 cell line, only two other drugs, paclitaxel and gemcitabine, had C_yIs greater than 1. The idarubicin C_yI with these cells was 2.9-fold (101/35) higher than that of paclitaxel and 14-fold (101/7) higher than that of gemcitabine.

Discussion

A recent systematic review of chemotherapeutic regimens in 52 studies of TACE showed that the most widely used anticancer drugs were doxorubicin (36%), cisplatin (31%), epirubicin (12%), mitoxantrone (8%), and mitomycin C (8%) [10]. Carboplatin and 5-fluorouracil are used as well [10]. This review did not suggest that one drug might be superior over the others. The optimal drug for TACE in HCC remains unclear, for several reasons. First, to our knowledge, no preclinical screening study has compared the efficacy of the drugs currently used for TACE in HCC. Second, although systemic chemotherapy has been extensively investigated over the past 30 years in patients with unresectable HCC, it is widely considered ineffective, regardless of the drug used [3,11]. Third, the considerable heterogeneity in the design of TACE RCTs regarding patients' characteristics, procedure modalities, embolizing agents, methods of delivery, doses of anticancer drug(s), and control arms, is a major obstacle to comparisons of drugs used in these studies. Finally, even if two TACE RCTs have specifically compared the efficacy of two drugs (doxorubicin and epirubicin) injected under the same conditions, they failed to demonstrate significant survival difference between them [22,23]. Therefore, we designed this intrinsically unbiased in-vitro study, in which observed cytotoxic effects were related only to the drugs, with no influence of confounding factors such as administration modalities. Moreover, the identical and simultaneous experimental conditions allowed reliable comparisons of the chemotherapeutic agents.

Few studies [24–26] have evaluated the cytotoxicity of anticancer agents on HCC cell lines, and none screened more than four agents. Their results are not relevant to TACE in HCC, for several reasons. First, the drugs commonly used for TACE were not tested in these studies. Second, the main calculated parameter was IC_{50},

although 50% cytotoxicity is probably not relevant to the goal of achieving a complete response after one or a few TACE sessions. Finally, HCC cell lines were exposed to the drugs for 3–96 h [24–26], whereas Varela *et al.* [15] recently showed that doxorubicin release into the systemic circulation peaked only 20–40 min after the injection, whether TACE was performed using the conventional procedure or the DC Bead (Biocompatibles, Surrey, UK).

In our preclinical study, we tested a large variety of drugs with different action mechanisms. We selected not only the drugs commonly used for TACE of HCC [10] but also other anticancer agents for the following reasons:

Fig. 1

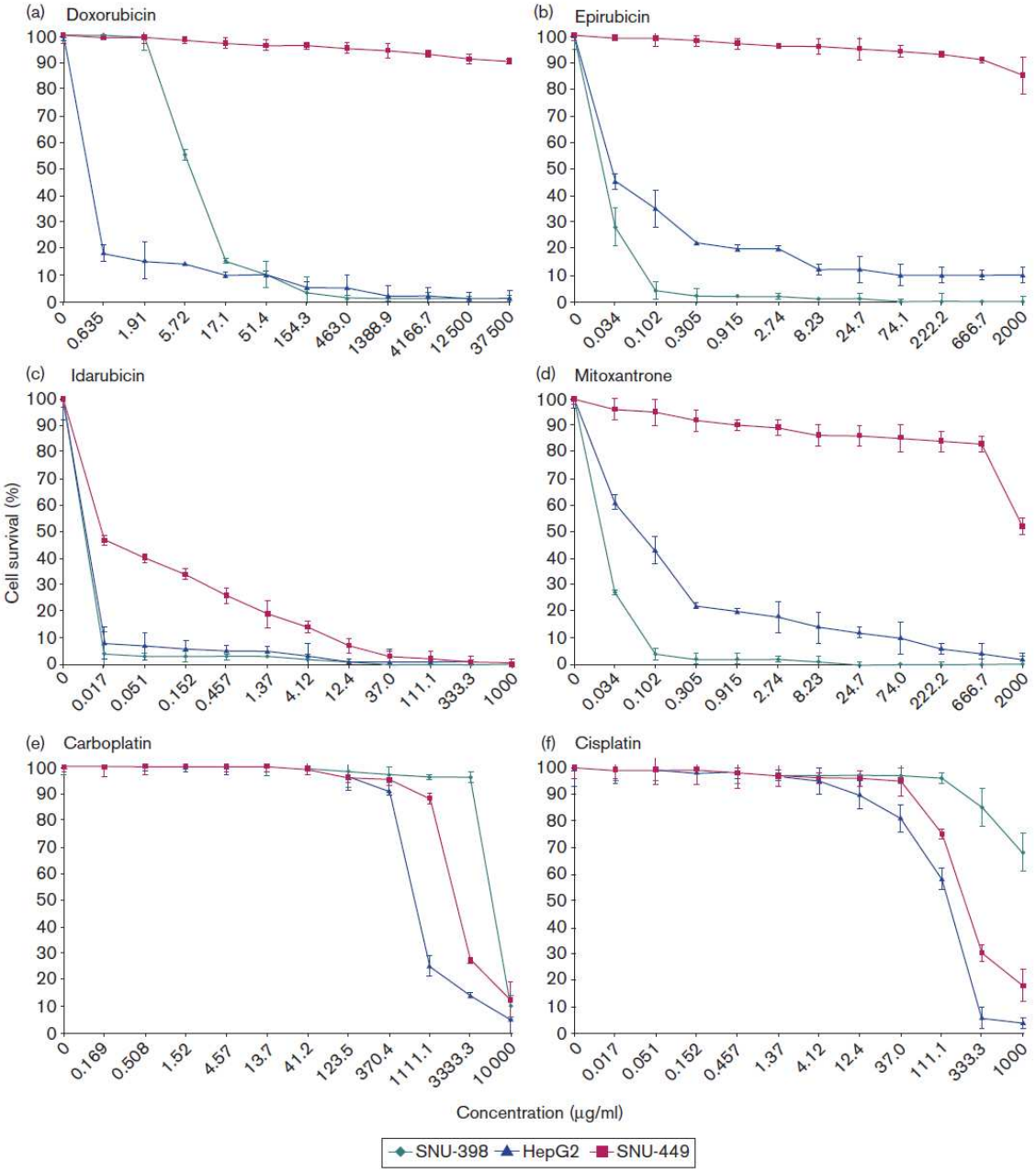
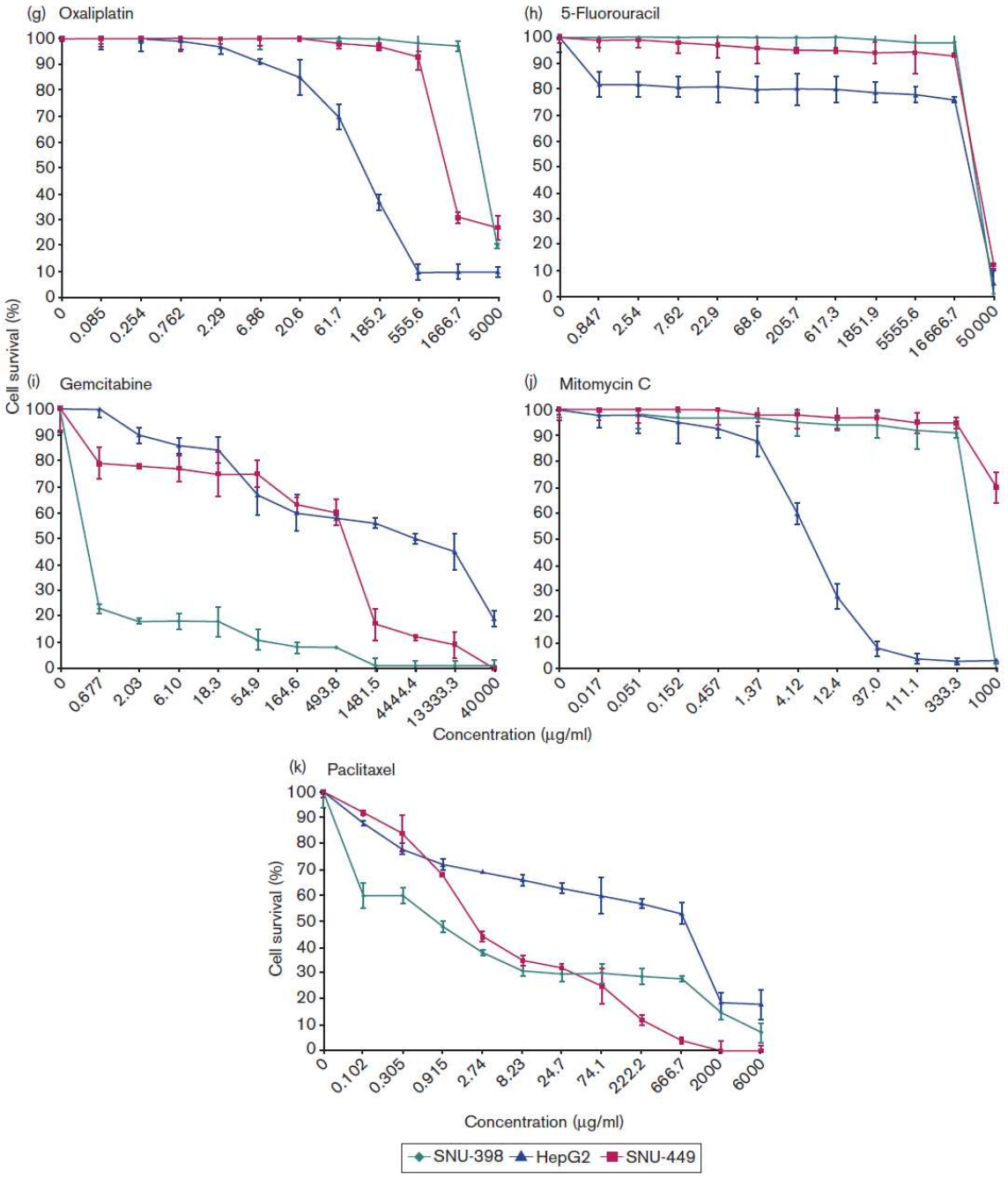


Fig. 1 (*continued*)



Comparative cytotoxicity of (a) doxorubicin, (b) epirubicin, (c) idarubicin, (d) mitoxantrone, (e) carboplatin, (f) cisplatin, (g) oxaliplatin, (h) 5-fluorouracil, (i) gemcitabine, (j) mitomycin C, and (k) paclitaxel on SNU-398, HepG2, and SNU-449 hepatocellular carcinoma cell lines. Cells were exposed to 11 concentrations of each drug for 30 min, and cytotoxicity was measured by a quantitative colorimetric assay as described in Materials and methods section. Cell survival was expressed as a percent of control-untreated cells. Each point was the mean ± standard deviation obtained from triplicate measurements.

Table 1 IC_{50} and IC_{90} of 11 drugs on the SNU-398, HepG2, and SNU-449 HCC cell lines

	SNU-398		HepG2		SNU-449	
Drug	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}
Doxorubicin	6.2 ± 0.1	27 ± 3	0.00005 ± 0.00009	15 ± 23	NA	NA
Epirubicin	0.022 ± 0.002	0.062 ± 0.007	0.019 ± 0.002	0.82 ± 0.21	NA	NA
Idarubicin	0.008 ± 0.0003	0.012 ± 0.001	0.009 ± 0.0002	0.014 ± 0.001	0.019 ± 0.004	9.9 ± 1.0
Mitoxantrone	0.021 ± 0.006	0.060 ± 0.020	0.047 ± 0.011	1.5 ± 0.9	NA	NA
Carboplatin	5890 ± 524	7555 ± 541	649 ± 34	1539 ± 179	2261 ± 92	NA
Cisplatin	NA	NA	126 ± 5	282 ± 10	166 ± 9	NA
Oxaliplatin	3761 ± 457	NA	104 ± 6	380 ± 34	1043 ± 50	NA
5-Fluorouracil	29 351 ± 7813	36 309 ± 7827	35 369 ± 242	NA	38 664 ± 1580	NA
Gemcitabine	0.0006 ± 0.002	73 ± 77	1854 ± 1005	NA	662 ± 207	5668 ± 317
Mitomycin C	606 ± 86	804 ± 159	6.1 ± 0.4	19 ± 1	NA	NA
Paclitaxel	0.66 ± 0.40	NA	206 ± 142	NA	3.8 ± 1.5	171 ± 8

IC_{50} and IC_{90} were defined as the drug concentrations associated with 50 and 90% cell death, respectively. Data are the mean ± standard deviation. Values (in μg/ml) were calculated from the transformation of concentration–survival curves using nonlinear regression models as described in the Materials and methods section. HCC, hepatocellular carcinoma; IC_{50} and IC_{90}, 50 and 90% cell death; NA, not achieved.

Table 2 Cytotoxic indexes of 11 drugs on SNU-398, HepG2, and SNU-449 HCC cell lines

Drug	SNU-398	HepG2	SNU-449
Doxorubicin	1412 (1155–1815)	2574 (584–NC)	ND
Epirubicin	32 102 (25 806–42 485)	2421 (1568–5309)	ND
Idarubicin	80 900 (68 027–99 602)	68 488 (60 240–79 063)	101 (83–129)
Mitoxantrone	33 438 (19 980–102 364)	1340 (561–6536)	ND
Carboplatin	1.3 (1.2–1.6)	6.5 (5.1–8.9)	ND
Cisplatin	ND	3.6 (3.3–3.8)	ND
Oxaliplatin	ND	13 (11–17)	ND
5-Fluorouracil	1.4 (1.0–2.5)	ND	ND
Gemcitabine	548 (172–NC)	ND	7 (3–27)
Mitomycin C	1.2 (1.0–2.2)	51 (44–61)	ND
Paclitaxel	ND	ND	35 (18–69)

Data are cytotoxic indexes (C_yIs), with 95% confidence intervals in parentheses. C_yI is the ratio of the maximal drug concentration over corresponding IC_{90}. HCC, hepatocellular carcinoma; IC_{50} and IC_{90}, 50 and 90% cell death; NC, not calculable (IC_{90} 95% confidence interval lower boundary = 0); ND, not determined (IC_{90} not achieved).

idarubicin because of its high hepatic penetration compared with other anthracyclines [27], and its ability to overcome glycoprotein (PgP)-related MDR [28]; paclitaxel, to test one microtubule-stabilizing taxane, and because this drug has proved to be more potent than doxorubicin in terms of antiproliferative activity and in the induction of cell death in histocultures of HCC [25]; and gemcitabine and oxaliplatin because the combination of the two drugs, widely tested in oncology during the past years, has also demonstrated its interest when administered by the intravenous route in patients with advanced HCC [29].

We determined not only IC_{50} but also IC_{90} to identify the most potent agents, and we treated the cells for only 30 min to take into account the short drug-residence time in the liver and for a more strict selection of the most cytotoxic drug. Finally, we calculated C_yI to approach in-vivo conditions, as objectively comparing efficacy across drugs having different concentrations is challenging. The C_yI, which reflects the highest dilution having 90% cytotoxicity, is useful for comparing drugs expected to undergo gradual dilution in the hepatic arterial blood flow during TACE.

One of our most striking findings concerns doxorubicin. Although doxorubicin is the most widely used drug worldwide for TACE in HCC [10], it fell far short of being the most effective drug in our study. Interestingly, we found considerable heterogeneity in the drug activity across cell lines, although all three cell lines tested were induced by viral infection [19]. This heterogeneity may partly be explained by the short 30-min exposure time in our experiment. With longer exposure time, cytotoxicity would probably be higher for some drugs, especially those with a known time-dependent activity. As an example, it has been demonstrated that gemcitabine significantly inhibits the growth of HCC cells (HepG2, Hep3B, HLF, and PLC/PRF/5) in a dose-dependent and time-dependent manner [30]. Moreover, the investigators of this study have shown that gemcitabine inhibits the growth of these cells by cell cycle arrest without apoptosis and that the ERK/Chk1/2 signaling pathway was in part responsible for the resistance to the drug [30]. In our experiment, the HepG2 cell line was effectively resistant to gemcitabine (IC_{90} not achieved).

This variability in cell sensitivity to anticancer agents may help explaining that partial response is reported in up to

62% of patients treated with TACE [10], and that corresponding median survivals rarely exceed 2 years [8]. To increase the probability of a complete response, the drug used for TACE in HCC must have high cytotoxicity at low concentrations. The only drug that met this criterion with all three cell lines in our screening study was idarubicin, which had high C_yIs (101–80 900). The superiority of idarubicin in terms of cytotoxicity was observed most notably on the SNU-449 cell line, which we selected for its known resistance to various chemotherapeutic agents [13]. The SNU-449 cell line was effectively the most resistant cell line in our experiment.

Idarubicin is an anthracycline that is widely used to treat acute leukemia [31]. It is administered through the intravenous route, for which the dose-limiting toxicity is hematological toxicity, manifesting chiefly as neutropenia [32]. Idarubicin has never been used through the intra-arterial route but has been tested orally in 45 patients with cirrhosis and unresectable HCC who received 5 mg dose daily for 21-day periods separated by 7-day intervals [33]. With a median number of four treatment periods (1–14) and a median time to progression of 4 months (2–17), the investigators concluded that idarubicin was safe and active in patients with cirrhosis. In addition to its powerful cytotoxic effect, other advantages of idarubicin for TACE in HCC may include an ability to overcome MDR. MDR is mainly attributed to the action of two proteins, the 170-kDa Pgp and the 190-kDa MDR-associated protein (MRP1), which pump drugs out of MDR cells [34–36]. Although Pgp-mediated and MRP1-mediated anthracycline efflux may not differ considerably across drugs, drug-uptake kinetics varies widely [37]. Thus, an enhanced uptake of a lipophilic drug such as idarubicin [38] leads to high intracellular concentrations, which are necessary to achieve cytotoxicity against MDR cells. Thus, idarubicin was more effective *in vitro* than other anthracyclines on MDR leukemia cell lines [28,39]. This property of idarubicin is of major importance, as *MDR1* and *MRP1* genes, and their products, Pgp and MRP1, are intrinsically expressed by HCC cells [14,40]. Known Pgp overexpression in SNU-449 cells [13,24] may explain the high resistance to anthracyclines (except idarubicin) that we observed in our experiment. This finding is in line with the results of Park *et al.* [13], which showed a close association between MDR1 gene expression in nine HCC cell lines and their resistance to doxorubicin. Moreover, high MRP1 gene expression in HCC is associated with a growth advantage and a more aggressive phenotype by pumping toxic substances out of the tumor cells [40]. Finally, another interesting property of idarubicin is its ability to be loaded in microspheres. The positively charged protonated amine group of idarubicin hydrochloride can interact with the negatively charged sulfonate of the microspheres, as occurs with doxorubicin hydrochloride as well.

Our study has several limitations. First, for technical reasons and to keep the experimental conditions strictly identical for all drugs, we limited the number of cell lines to three and the number of drugs to 11. Second, we used HCC cell lines of viral origin only, as no HCC cell lines related to alcohol abuse are available. Consequently, our results need to be confirmed in HCC related to alcohol abuse. We studied cytotoxicity after exposure to a single drug. The cytotoxic effect may be greater when several drugs are used, including molecular-targeted therapies. Given the large number of possible combinations, our screening study may be of assistance for designing investigations of combined therapies. Finally, our study was not designed to explore the mechanisms, which could explain the highest cytotoxicity of idarubicin.

In conclusion, our experimental screening study of 11 chemotherapeutic agents including the most commonly used drugs for TACE (doxorubicin, cisplatin, and epirubicin) demonstrated that idarubicin was the most effective drug *in vitro*, especially on the resistant SNU-449 cell line. On the basis of this encouraging result, a dose-escalation phase I trial of TACE in patients with unresectable HCC is ongoing with idarubicin-loaded microspheres.

Acknowledgements

Grant support: this paper was supported by grants from the French National League against Cancer and from the Clinical Research Unit of Dijon University Hospital, Dijon, France.

References

1 El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology* 2007; **32**:2257–2276.
2 Altekruse SF, McGlynn KA, Reichmann ME. Hepatocellular carcinoma incidence, mortality and survival trends in the United States from 1975 to 2005. *J Clin Oncol* 2009; **27**:485–491.
3 Bruix J, Llovet JM. Major achievements in hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2009; **373**:614–616.
4 Llovet JM, Di Bisceglie AM, Bruix J, Kramer BS, Lencioni R, Zhu AX, *et al.* Design and endpoints of clinical trials in hepatocellular carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2008; **100**:698–711.
5 Lo CM, Ngan H, Tso WK, Liu CL, Lam CM, Poon RT, *et al.* Randomized controlled trial of transarterial ethiodized oil chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2002; **35**:1164–1171.
6 Llovet JM, Real MI, Montana X, Planas R, Coll S, Aponte J, *et al.* Arterial embolization or chemoembolization versus symptomatic treatment in patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised controlled trial. *Lancet* 2002; **359**:1734–1739.
7 Camma C, Schepis F, Orlando A, Albanese M, Shahied L, Trevisani F, *et al.* Transarterial chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma: meta-analysis of randomized control trials. *Radiology* 2002; **224**:47–54.
8 Llovet JM, Bruix J. Systematic review of randomized trials for unresectable hepatocellular carcinoma: chemoembolization improves survival. *Hepatology* 2003; **37**:429–442.
9 Buijs M, Vossen JA, Frangakis C, Hong K, Georgiades CS, Chen Y, *et al.* Nonresectable hepatocellular carcinoma: long-term toxicity in patients treated with transarterial chemoembolization–single-center experience. *Radiology* 2008; **249**:346–354.
10 Marelli L, Stigliano R, Triantos C, Senzolo M, Cholongitas E, Davies N, *et al.* Transarterial therapy for hepatocellular carcinoma: which technique is more effective? A systematic review of cohort and randomized studies. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2007; **30**:6–25.

11 Burroughs A, Hochhauser D, Meyer T. Systemic treatment and liver transplantation for hepatocellular carcinoma: two ends of the therapeutic spectrum. *Lancet Oncol* 2004; **5**:409–418.
12 Petraccia L, Onori P, Sferra R, Lucchetta MC, Liberati G, Grassi M, *et al.* MDR (multidrug resistance) in clinical therapeutic implications. *Clin Ter* 2003; **154**:325–335.
13 Park JG, Lee SK, Hong IG, Kim HS, Lim KH, Choe KJ, *et al.* MDR1 gene expression: its effect on drug resistance to doxorubicin in human hepatocellular carcinoma cell lines. *J Natl Cancer Inst* 1994; **86**:700–705.
14 Minemura M, Tanimura H, Tabor E. Overexpression of multidrug resistance genes MDR1 and Cmoat in human hepatocellular carcinoma and hepatoblastoma cell lines. *Int J Oncol* 1999; **15**:559–563.
15 Varela M, Real MI, Burrel M, Forner A, Sala M, Brunet M, *et al.* Chemoembolization of hepatocellular carcinoma with drug eluting beads: efficacy and doxorubicin pharmacokinetics. *J Hepatol* 2007; **46**:474–481.
16 Malagari K, Chatzimichail K, Alexopoulou E, Kelekis A, Hall B, Dourakis S, *et al.* Transarterial chemoembolisation of unresectable hepatocellular carcinoma with drug eluting beads: results of an open-label study of 62 patients. *Cardiovasc Interv Radiol* 2008; **31**:269–280.
17 Malagari K, Alexopoulou E, Chatzimichail K, Hall B, Koskinas J, Ryan S, *et al.* Transcatheter chemoembolization in the treatment of HCC in patients not eligible for curative treatments: midterm results of doxorubicin-loaded DC bead. *Abdom Imaging* 2008; **33**:512–519.
18 Lammer J, Malagari K, Vogl T, Pilleul F, Denys A, Watkinson A, *et al.* Prospective randomized study of doxorubicin-eluting bead embolization in the treatment of hepatocellular carcinoma: results of the PRECISION V study. *Cardiovasc Interv Radiol* 2010; **33**:41–52.
19 Park JG, Lee JH, Kang MS, Park KJ, Jeon YM, Lee HJ, *et al.* Characterization of cell lines established from human hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 1995; **62**:276–282.
20 Royer B, Guardiola E, Polycarpe E, Hoizey G, Delroeux D, Combe M, *et al.* Serum and intraperitoneal pharmacokinetics of cisplatin within intraoperative intraperitoneal chemotherapy: influence of protein binding. *Anticancer Drugs* 2005; **16**:1009–1016.
21 Seber GAF, Wild CJ. *Nonlinear regression*. New York: John Wiley & Sons Inc.; 1989.
22 Watanabe S, Nishioka M, Ohta Y, Ogawa N, Ito S, Yamamoto Y. Prospective and randomized controlled study of chemoembolization therapy in patients with advanced hepatocellular carcinoma: cooperative study group for liver cancer treatment in Shikoku area. *Cancer Chemother Pharmacol* 1994; **33** (**Suppl**):S93–S96.
23 Kawai S, Tani M, Okamura J, Ogawa M, Oshashi Y, Monden M, *et al.* Prospective and randomized trial of lipiodol-transcatheter arterial chemoembolization for treatment of hepatocellular carcinoma: a comparison of epirubicin and doxorubicin (second cooperative study). The cooperative study group for liver cancer treatment of Japan. *Semin Oncol* 1997; **24** (**Suppl**):S6–S45.
24 Mok TS, Choi E, Yau D, Johri A, Yeo W, Chan AT, *et al.* Effects of patupilone (epotheline B; EPO906), a novel chemotherapeutic agent, in hepatocellular carcinoma: an in vitro study. *Oncology* 2006; **71**:292–296.
25 Chuu JJ, Liu JM, Tsou MH, Huang CL, Chen CP, Wang HS, *et al.* Effects of paclitaxel and doxorubicin in histocultures of hepatocellular carcinomas. *J Biomed Sci* 2007; **14**:233–244.
26 Chunhu Z, Suiyu H, Meiqun C, Guilin X, Yunhui L. Antiproliferative and apoptotic effects of paeonol on human hepatocellular carcinoma cells. *Anticancer Drugs* 2008; **19**:401–409.
27 Broggini M, Italia C, Colombo T, Marmonti L, Donellim MG. Activity and distribution of i.v. and oral 4-demethoxydaunorubicin in murine experimental tumors. *Cancer Treat Rep* 1984; **68**:739–747.
28 Roovers DJ, Van Vliet M, Bloem AC, Lokhorst HM. Idarubicin overcomes P-glycoprotein-related multidrug resistance: comparison with doxorubicin and daunorubicin in human multiple myeloma cell lines. *Leuk Res* 1999; **23**:539–548.
29 Louafi S, Boige V, Ducreux M, Bonyhay L, Mansourbakht T, de Baere T, *et al.* Gemcitabine plus oxaliplatin (GEMOX) in patients with advanced hepatocellular carcinoma (HCC): results of a phase II study. *Cancer* 2007; **109**:1384–1390.
30 Matsumoto K, Nagahara T, Okano J, Murawaki Y. The growth inhibition of hepatocellular and cholangiocellular carcinoma cells by gemcitabine and the roles of extracellular signal-regulated and checkpoint kinases. *Oncol Rep* 2008; **20**:863–872.
31 Berman E, Heller G, Santorsa JA, McKenzie S, Gee T, Kempin S, *et al.* Results of a randomized trial comparing idarubicin and cytosine arabinoside with daunorubicin and cytosine arabinoside in adult patients with newly diagnosed acute myelogenous leukemia. *Blood* 1991; **77**: 1666–1674.
32 Weiss MA, Drullinsky P, Maslak P, Scheinberg D, Golde DW. A phase I trial of a single high dose of idarubicin combined with high-dose cytarabine as induction therapy in relapsed or refractory adult patients with acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 1998; **12**:865–868.
33 Tumolo S, Toffoli G, Baerz A. Oral idarubicin for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Proc Am Soci Clin Oncol* 2002; **21** (**Suppl**):S635.
34 Chauffert B, Martin M, Hammann A, Michel MF, Martin F. Amiodarone-induced enhancement of doxorubicin and 4′-deoxydoxorubicin cytotoxicity to rat colon cancer cells *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Res* 1986; **46**:825–830.
35 Pérez-Tomàs R. Multidrug resistance: retrospect and prospects in anti-cancer drug treatment. *Curr Med Chem* 2006; **13**:1859–1876.
36 Guiu B, Collin C, Cercueil JP, Loffroy R, Guiu S, Ferrant E, *et al.* Pilot study of transarterial chemoembolization with pirarubicin and amiodarone for unresectable hepatocellular carcinoma. *Am J Clin Oncol* 2009; **32**:238–244.
37 Mankhetkorn S, Dubru F, Hesschenbrouck J, Fiallo M, Garnier-Suillerot A. Relation among the resistance factor, kinetics of uptake, and kinetics of the P-glycoprotein efflux of doxorubicin, daunorubicin, 8-(S)-fluoroidarubicin, and idarubicin in multidrug-resistant K562 cells. *Mol Pharm* 1996; **49**:532–539.
38 Goebel M. Oral idarubicin: an anthracycline derivative with unique properties. *Ann Hematol* 1993; **66**:33–43.
39 Berman E, McBride M. Comparative cellular pharmacology of daunorubicin and idarubicin in human multidrug-resistant leukemia cells. *Blood* 1992; **79**:3267–3273.
40 Vander Borght S, Komuta M, Libbrecht L, Katoonizadeh A, Aerts R, Dymarkowski S, *et al.* Expression of multidrug resistance-associated protein 1 in hepatocellular carcinoma is associated with a more aggressive tumour phenotype and may reflect a progenitor cell origin. *Liver Int* 2008; **28**:1370–1380.

Chapitre 2

Le vecteur pour la CHE des CHC

1. Problématique

Outre la question de l'agent anticancéreux pour la CHE des CHC, celle du vecteur le plus approprié pour la procédure reste entière [Raoul 2011]. Si le lipiodol a été jusqu'à présent le vecteur le plus utilisé au niveau mondial pour la CHE des CHC, il a tendance à être supplanté par les microsphères d'embolisation.

1.1. Problématique du lipiodol

L'utilisation du lipiodol comme vecteur de l'agent anticancéreux pour la CHE des CHC est critiquée pour les raisons suivantes.

Premièrement, le mélange d'une solution aqueuse contenant de la doxorubicine, agent anticancéreux le plus utilisé pour la CHE des CHC et du lipiodol, n'est pas stable.

Ce mélange forme une émulsion, se séparant en 2 phases distinctes en quelques minutes car la doxorubicine est peu lipophile [Heresbach 1989, Konno 1990, Favoulet 2001]. Une étude américaine a montré que la doxorubicine émulsionnée avec du lipiodol apparaissait dans un dialysat à la même vitesse que la molécule seule, démontrant l'absence d'affinité de la molécule pour le produit de contraste [Struk 1993]. Ainsi lors de l'injection, la phase aqueuse contenant l'agent anticancéreux serait rapidement « emportée » dans le flux artériel hépatique hors de l'organe. La capacité de vectorisation du lipiodol serait donc limitée pour la doxorubicine et il n'y aurait pas de libération prolongée de l'agent anticancéreux dans la microvascularisation tumorale.

Deuxièmement, les études cliniques ont confirmé que le lipiodol n'était vraisemblablement pas un vecteur approprié pour la doxorubicine dans le cadre de la CHE des CHC.

Une étude clinique ayant comparé la survie de patients atteints de CHC traités par chimiothérapies IA à base de doxorubicine et de lipiodol ou par des chimiothérapies IV de doxorubicine n'a rapporté aucune différence entre les 2 groupes [Kalayci 1990]. Les auteurs de cette étude ont également étudié les caractéristiques pharmacocinétiques (C_{max} et AUC) de la doxorubicine en fonction des modalités d'administration de la molécule (IV, IA avec et sans lipiodol). En l'absence de différence, ils concluaient que le lipiodol n'était pas un vecteur approprié pour l'injection IA de

doxorubicine [Johnson 1991]. En mesurant les concentrations systémiques de doxorubicine après une CHE lipiodolée, Varela a plus récemment montré qu'une grande majorité de la doxorubicine injectée au cours de la CHE se retrouvait dans la circulation générale dans les 30 premières minutes suivant le geste [Varela 2007].

Troisièmement, le mode de préparation d'une émulsion lipiodolée par les radiologues est peu reproductible.

La méthode la plus répandue, dite par « pompage » ou « pumping method » consiste en des passages successifs (environ une dizaine) de l'émulsion entre 2 seringues à l'aide d'un robinet 3 voies. Etant donné la faible stabilité de l'émulsion obtenue, le radiologue la prépare extemporanément, juste avant l'injection. Elle est très faiblement reproductible car en fonction des centres voire des radiologues interventionnels, l'agent anticancéreux, la dose, la quantité de lipiodol, la technique de préparation (eau dans huile, huile dans eau, nombre et rapidité des passages de l'émulsion entre les seringues) varient largement. Au final, les caractéristiques de l'émulsion injectée sont très différentes.

Quatrièmement, tous les CHC ne retiennent pas le lipiodol.

Si une des cararactéristiques démontrées du lipiodol est sa propriété à se maintenir au contact du tissu tumoral et péritumoral hépatique plusieurs semaines voire plusieurs mois, il a cependant été montré qu'environ 1/4 des CHC ne retenaient pas le produit [Raoul 1988, Lee 2002, Ebied 2003, Guiu 2009] sans que l'on ne sache exactement pourquoi.

Cinquièmement, le lipiodol n'est pas dénué d'effets indésirables.

La CHE lipiodolée est une procédure non dénuée de risque. Les données de 37 essais cliniques de CHE lipiodolée pour CHC ayant inclus 2858 patients ont rapporté une mortalité liée à la procédure (définie dans les 3 semaines après le geste) de 2,4% [Marelli 2007]. La mortalité variait de 0 à 9,5% selon les études. A côté de cette toxicité générale de la CHE lipiodolée, la toxicité hépatique et biliaire spécifique du lipiodol est connue et décrite depuis de nombreuses années [Chung 1996, Yu 2002]. Par ailleurs, une fraction importante de la dose injectée au cours des CHE (jusqu'à 50%) peut être retrouvée dans le poumon [Raoul 1988, de Baere 1995], avec un risque d'embolie pulmonaire pour le patient [Czauderna 2005, Shiah 2005]. Dans notre propre expérience, la survenue de

quelques cas de toxicités pulmonaires de grade 3 (par exemple un cas d'hypoxie à 88% ayant nécessité une oxygénothérapie de 24 heures pour le patient, toxicité rapportée dans l'essai LIPIOAMIO) nous a amené à diminuer il y a quelques années le volume de lipiodol utilisé dans les émulsions de 20 ml à 10 ml.

Sixièmement, les agents d'embolisation devant être utilisés lors des CHE lipiodolées en raison du faible pouvoir emboligène du produit de contraste, ont eux aussi leurs inconvénients.

Les particules de mousse de gélatine sont les agents d'embolisation les plus fréquemment utilisées. Elles datent des années 1960 et sont toujours commercialisées sous forme de plaquettes, de poudre sèche (Spongel®, Gelfoam®, Curaspon®) (Tableau VI). Les plaques découpées au ciseau par le radiologue interventionnel juste avant l'injection donnent des particules de forme et de taille irrégulières, variant de 500 à 2000 µm, rendant le ciblage de l'occlusion difficile.

Les particules de PVA ont été commercialisées au milieu des années 1970 et n'ont pratiquement pas évolué depuis (Ivalon®, Trufill®, Contour®) (Tableau VI). Elles sont hydrophobes plutôt qu'hydrophiles, ce qui rend parfois difficile leur mise en suspension dans des solutions injectables, et favorise la formation d'agrégats de particules. Ces agrégats peuvent entraîner des blocages dans la lumière du cathéter. L'examen histologique a également révélé que les agglomérats de particules produisent des occlusions de vaisseaux dont la taille peut être 5 à 10 fois supérieure au diamètre vasculaire ciblé avec le calibre annoncé [Pelage 2002].

En résumé, malgré l'absence de données pertinentes qui justifieraient l'utilisation du lipiodol comme vecteur pour la CHE, celui-ci reste largement utilisé, principalement car les 2 essais de phase III randomisés ayant démontré l'efficacité de la CHE chez des patients atteints de CHC avaient utilisé le lipiodol comme vecteur.

1.2. Problématique des microsphères d'embolisation chargées

Si les microsphères d'embolisation chargées ont prouvé leur avantage pharmacocinétique par rapport au lipiodol, tendant donc à supplanter celui-ci, elles présentent cependant elles aussi des limites dans leurs fonctions de vecteur de l'agent anticancéreux pour la CHE des CHC.

Premièrement, la CHE avec microsphères d'embolisation chargées n'a pas prouvé à ce jour qu'elle était plus efficace que la CHE lipiodolée chez les patients atteints d'un CHC de stade intermédiaire B.

Le seul essai randomisé ayant comparé les deux procédures n'a pas démontré de supériorité de la CHE avec microsphères par rapport à une CHE lipiodolée [Lammer 2010]. Par ailleurs, il est attendu pour réellement comparer les deux procédures d'évaluer la survie globale des patients et non seulement le taux de réponse comme cela a été fait dans l'essai Precision V [Lammer 2010] ; le taux de réponse après CHE étant par ailleurs difficilement évaluable avec les critères d'évaluation EASL [Bruix 2001] et mRECIST [Lencioni 2010] en vigueur.

Deuxièmement, l'utilisation des microsphères d'embolisation chargées contribue à standardiser la procédure de CHE mais en pratique, il persiste une grande disparité dans les solutions injectées.

La mise à dispostion des microsphères n'a en partie résolu que le problème du vecteur. Toutes les autres questions sur la procédure restent inchangées notamment celle de l'agent anticancéreux. En conséquence, il subsiste une hétérogénéité majeure dans la procédure de CHE. Les radiologues interventionnels utilisent déjà actuellement les microsphères chargées pour la CHE des CHC avec 3 agents anticancéreux différents, doxorubicine, épirubicine et cisplatine. Il est attendu que d'autres agents anticancéreux soient chargés dans les microsphères, car par exemple dans le traitement des métastases hépatiques des cancers colorectaux, HepaSphere™ et DC Bead™ ont déjà été chargées avec de l'irinotécan et de l'oxaliplatine. De plus, les doses chargées pour une même molécule continuent de varier (doses fixes, doses adaptées à la bilirubinémie des patients). La taille (entre 100 et 900µm) et la quantité de microsphères chargées (1 ou 2 flacons d'HepaSphere™ ou de DC Bead™) varient en fonction des centres et des radiologues. L'injection de microsphères non chargées pour compléter l'embolisation en fin de CHE est réalisée par certains radiologues. Pour

illustrer ce point, le traitement proposé aux patients du bras microsphères de l'essai Precision V est parlant : le radiologue devait injecter une dose de doxorubicine calculée en fonction de la bilirubinémie des patients (comprise entre 50 et 150mg), avec la moitié de la dose chargée avec 2 ml (l'équivalent d'1 flacon) de DC Bead™ de taille 300-500µm injectée avant la seconde moitié de la dose chargée dans 2 ml (1 flacon) de DC Bead™ de taille 700-900µm [Lammer 2010].

Troisièmement, la taille des microsphères est parfaitement calibrée mais on ne sait pas quelle taille est la plus adaptée pour la CHE des CHC.

Il n'existe quasiment pas de données dans la littérature sur la distribution des microsphères dans le flux sanguin artériel hépatique après injection. La seule étude publiée date des années 1980. Elle a montré qu'à chaque bifurcation artérielle, les microsphères se distribuent proportionnellement au flux dans chaque artère si leur diamètre est > 30 fois celui des microsphères [Ofjord 1983]. Si le diamètre de l'artère est < 30 fois celui des microsphères, celles-ci iront préferentiellement dans la plus grosse branche. Cette étude suggère donc qu'il existe une « sélectivité » des microsphères pour les gros vaisseaux et qu'en l'occurrence les microsphères de taille 300-500µm se distribuent préférentiellement dans les vaisseaux de diamètre 9-15 mm, et que les microsphères de taille 100-300 µm se distribuent préférentiellement dans les vaisseaux de diamètre 3-9 mm [Ofjord 1983]. On peut supposer que le meilleur moyen pour obtenir une réponse à la CHE est d'amener l'agent anticancéreux au plus profond de la microvascularisation tumorale, ce qui signifierait utiliser des microsphères de petite taille, mais cette hypothèse reste à confirmer.

Quatrièmement, à l'instar de la CHE lipiodolée, la CHE avec microsphères n'est pas dénuée de risque.

Si les auteurs de l'essai Precision V ont mis en avant la relative tolérance de la CHE avec microsphères par rapport à la CHE lipiodolée à partir des données des 200 patients, la toxicité réelle, notamment locale des microsphères reste inconnue à plus grande échelle. Très récemment, le Dr Guiu vient de comparer la fréquence de survenue d'une toxicité hépatique et/ou biliaire sévère en fonction du type de CHE reçue (lipiodolée ou avec microsphères) à partir d'une série de 208 patients traités consécutivement à l'Institut Gustave Roussy pour un CHC ou une tumeur endocrine. Sur les 476 séances de CHE reçues par les patients, une toxicité hépatique et/ou biliaire sévère telle qu'elle

était définie par les auteurs, est survenue après 82 séances (17%). En analyse multivariée, le fait d'avoir reçu une CHE avec microsphères était significativement associé à la survenue d'une toxicité hépatique et/ou biliaire sévère (OR 6,6 ; $p < 0,001$) [Guiu 2011].

2. Travaux sur l'optimisation du vecteur pour la CHE des CHC

2.1. Optimisation d'une CHE lipiodolée : essai randomisé de phase II comparant une CHE à base de lipiodol et d'anthracycline avec ou sans amiodarone chez des patients atteints d'un CHC non résécable, non métastatique

Article n°2 *:*

Boulin M, Ciboulet A, Guiu B, Maillard E, Bonnetain F, Minello A, Gagnaire A, Lepage C, Krause D, Hillon P, Bedenne L, Cercueil JP, Chauffert B, Jouve JL. Randomised Controlled Trial of Lipiodol Transarterial Chemoembolisation with or without amiodarone for Unresectable Hepatocellular Carcinoma. *Dig. Liver. Dis*., 2011, 43, 905-911.

2.1.1. Rationnel et objectif de l'étude

Si nous avons précédemment fait l'hypothèse qu'il fallait déjà connaître l'agent anticancéreux le plus approprié pour la CHE des CHC, nous faisons également l'hypothèse qu'il est possible d'augmenter l'efficacité d'une CHE lipiodolée en améliorant la stabilité de l'émulsion injectée. Cela permettrait d'obtenir une « véritable » libération prolongée de l'agent anticancéreux au contact de la tumeur. Plusieurs solutions ont déjà été proposées afin d'augmenter la stabilité des émulsions à base de lipiodol et d'agents anticancéreux : agitation en homogénéiseur [de Baere 1995] ou dans une cuve à ultrasons [Katagiri 1989; Horiguchi 1992], ajout de divers surfactants [Nakamura 1989, Konno 1990, Yi 1998, Hino 2000]. Aucune de ces techniques n'a été appliquée en pratique clinique. Au sein de notre équipe, Favoulet a démontré en 2001 que l'addition d'amiodarone sous sa forme injectable était capable d'augmenter la stabilité des émulsions doxorubicine-lipiodol et pirarubicine-lipiodol [Favoulet 2001]. Il a démontré que l'émulsion composée de doxorubicine (ou pirarubicine), d'amiodarone IV et de lipiodol était stable 1 mois à 37°C. Cette propriété est due à la présence de polysorbate 80 dans les ampoules injectables d'amiodarone (Cordarone® 150mg/3ml, Sanofi Aventis, Paris). Le polysorbate 80 est un émulsifiant à Hydrophilic-Lipophilic Balance (HLB)

élevé c'est à dire capable d'augmenter la solubilité d'un produit peu lipophile comme la doxorubicine dans une phase huileuse, en l'occurrence, le lipiodol. Avec l'injection d'une émulsion stable lors d'une CHE, il est attendu que l'agent anticancéreux diffuse lentement à l'extérieur des goutellettes de lipiodol, retenues dans le tissu tumoral et péritumoral hépatique, limitant ainsi le passage systémique de l'agent anticancéreux. Ce concept constitue d'ailleurs le rationnel du développement des microsphères d'embolisation chargées. Par ailleurs, l'équipe du Pr Chauffert a montré que l'amiodarone, de par ses propriétés anti-MDR était capable d'augmenter la cytotoxicité *in vitro* de la doxorubicine et de la pirarubicine sur 2 lignées humaines de CHC [Favoulet 2001].

Dans une étude pilote ayant inclus 43 patients traités consécutivement au CHU de Dijon par une CHE lipiodolée avec pirarubicine et amiodarone IV pour un CHC non résécable, nous avons montré que ce traitement était bien toléré avec une médiane de survie globale pour les patients atteignant 29 mois [Guiu 2009]. La médiane de survie globale dans les études de CHE pour un CHC dépasse rarement 24 mois [Bruix 2009].

L'objectif de notre étude était donc de savoir si l'addition d'amiodarone IV à une émulsion à base de lipiodol et d'anthracycline augmente l'efficacité de la CHE chez des patients présentant un CHC non résécable, non métastatique.

2.1.2. Matériel et méthodes

L'essai de phase II LIPIOAMIO est un essai bicentrique (CHU Dijon et Centre Georges François Leclerc, Dijon), prospectif, randomisé (LIPIOAMIO 051061). Les patients étaient randomisés (1:1) pour recevoir une CHE à base de lipiodol et de pirarubicine avec ou sans amiodarone selon une procédure standard. L'agent d'embolisation était la gélatine sous forme de plaquette (Curaspon®, Curamedical BV, Amsterdam, Pays Bas). Le traitement comportait 4 cures à 6 semaines d'intervalle. Les critères d'arrêt des cures étaient les suivants : survenue d'une toxicité de grade ≥3 selon la classification National Cancer Institute – Common Toxicity Criteria for Adverse Events (NCI-CTC AE version 2.0) (exceptée pour une toxicité infectieuse, hématologique, hépatique réversible), contre-indications vasculaires, progression de la maladie, possibilité de recourir à un traitement curatif ou en cas de refus du patient. Le critère de jugement principal était le taux de réponse selon les critères EASL. Les critères secondaires étaient la survie globale, la survie sans progression et la tolérance.

Après l'inclusion des 4 premiers patients, le protocole a été amendé pour remplacer la pirarubicine par la doxorubicine, le laboratoire Sanofi Aventis ayant décidé de stopper la commercialisation de pirarubicine en France.

2.1.3. Résultats

Vingt sept patients ont été inclus dans l'étude, 13 dans le groupe amiodarone, 14 dans le groupe contrôle. Leurs caractéristiques initiales étaient comparables. Les patients ont reçu en moyenne 2,3 cures de CHE (1-4). Un patient dans le bras sans amiodarone est décédé du traitement (27ème jour après la CHE). Le taux de réponses objectives était de 62% (IC95% 35-88) dans le groupe amiodarone et 50% (IC95% 24-76) dans le groupe contrôle. A 1 an et 2 ans, les taux de survie des patients étaient de 77% (IC95% 44-92) et 52% (IC95% 22-75) dans le groupe amiodarone, et de 57% (IC95% 28-78) et 40% (IC95% 15-65) dans le groupe contrôle, respectivement. Il n'y avait pas de différence entre les deux groupes en termes de toxicité, à fortiori cardiovasculaire.

2.1.4. Conclusion

En conclusion, une CHE lipiodolée avec anthracycline et amiodarone n'induit pas de toxicité supplémentaire et n'augmente pas de manière significative la survie des patients atteints d'un CHC non résécable, comparativement à une CHE lipiodolée avec anthracycline seule. L'article complet est présenté ci-dessous.

Digestive and Liver Disease 43 (2011) 905–911

Contents lists available at ScienceDirect

Digestive and Liver Disease

journal homepage: www.elsevier.com/locate/dld

Oncology

Randomised controlled trial of lipiodol transarterial chemoembolisation with or without amiodarone for unresectable hepatocellular carcinoma

Mathieu Boulin[a,b,*], Anne Ciboulet[a], Boris Guiu[b,c], Emilie Maillard[d], Franck Bonnetain[b,d], Anne Minello[b,e], Alice Gagnaire[b,e], Côme Lepage[b,e], Denis Krause[c], Patrick Hillon[b,e], Laurent Bedenne[b,e], Jean-Pierre Cercueil[b,c], Bruno Chauffert[b,f], Jean Louis Jouve[b,e,**]

[a] Department of Pharmacy, CHU (University Hospital), Dijon, France
[b] University of Burgundy, INSERM U866, Dijon, France
[c] Department of Radiology, CHU (University Hospital), Dijon, France
[d] Methodological and Biostatistics Unit, Fédération Francophone de Cancérologie Digestive, INSERM U866, Faculty of Medicine, Dijon, France
[e] Department of Hepatogastroenterology, CHU (University Hospital), Dijon, France
[f] Department of Oncology, Georges Francois Leclerc Anticancer Center, Dijon, France

ARTICLE INFO

Article history:
Received 15 April 2011
Accepted 21 June 2011
Available online 28 July 2011

Keywords:
Amiodarone
Hepatocellular carcinoma
Transarterial chemoembolisation

ABSTRACT

Background: There is no consensus about the most effective method for transarterial chemoembolisation of hepatocellular carcinoma.
Aim: The aim of this phase II trial was to compare the efficacy and toxicity of lipiodol transarterial chemoembolisation with amiodarone in association with pirarubicin or doxorubicin versus lipiodol transarterial chemoembolisation with anthracycline alone in a control group.
Methods: Patients with unresectable hepatocellular carcinoma and Child-Pugh A/B7 were considered eligible for the trial. transarterial chemoembolisation was repeated every 6 weeks for a maximum of 4 sessions.
Results: Thirteen patients were randomised in the amiodarone group, and 14 were randomised in the control group. The two groups were comparable with respect to their baseline characteristics. The objective response rate according to the EASL criteria was 62% (95% CI 35–88) in the amiodarone group and 50% (95% CI 24–76) in the control group. At 1 and 2 years, survival rates were 77% (95% CI 44–92) and 52% (95% CI 22–75) in the amiodarone group, and 57% (95% CI 28–78) and 40% (95% CI 15–65) in the control group, respectively. There was no difference between the two groups in terms of toxicity.
Conclusions: The results of this study suggest that lipiodol transarterial chemoembolisation with anthracycline and amiodarone was safe but did not increase survival compared with lipiodol transarterial chemoembolisation with anthracycline alone in patients with hepatocellular carcinoma.
© 2011 Editrice Gastroenterologica Italiana S.r.l. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Hepatocellular carcinoma (HCC) is the fifth most common malignancy and the third most common cause of cancer-related death worldwide [1,2]. At diagnosis, only 30% of patients can receive potentially curative treatments such as liver transplantation, resection, or percutaneous ablation [3]. For unresectable intermediate-stage HCC (Child-Pugh A/B, large or multifocal HCC, no vascular invasion or extrahepatic spread), the current standard treatment is transarterial chemoembolisation (TACE) [4]. Two randomised trials and two meta-analyses showed statistically significant survival gains with TACE in patients with unresectable HCC, compared to supportive care or systemic chemotherapy [5–8]. Although TACE has been used worldwide for several years, the procedure varies widely across centres and interventional radiologists, especially regarding anticancer drugs, doses, embolic agents, methods of delivery, and schedules [9]. Overall survival at 3 years remains low (<30%) [8], and there is no consensus about the optimal treatment regimen [9]. There is therefore a need for TACE regimens that improve responses and survival.

Resistance to anticancer drugs in HCC is, like in other malignancies, partly related to multidrug resistance (MDR) [10–12], an intrinsic or acquired cross-resistance to a variety of structurally

* Corresponding author at: Department of Pharmacy, CHU (University Hospital), 2 Boulevard Maréchal de Lattre de Tassigny, BP 77908, F-21079 Dijon, France. Tel.: +33 380 293 796; fax: +33 380 293 275.
** Corresponding author at: Department of Hepatogastroenterology, CHU (University Hospital), 2 Boulevard Maréchal de Lattre de Tassigny, BP 77908, F-21079 Dijon, France. Tel.: +33 380 293 750; fax: +33 380 293 722.
E-mail addresses: mathieu.boulin@chu-dijon.fr, mathieuboulin@yahoo.fr (M. Boulin), jean-louis.jouve@chu-dijon.fr (J.L. Jouve).

1590-8658/$36.00 © 2011 Editrice Gastroenterologica Italiana S.r.l. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.
doi:10.1016/j.dld.2011.06.016

and functionally unrelated drugs [13]. MDR might be caused by an increased ATP-dependent efflux of drugs from within to outside the cells, mediated by MDR proteins such as *P*-glycoprotein (PgP) and multidrug resistance-associated protein 1 (MRP1). Amiodarone, a relatively non-toxic antiarrhythmic drug, is able to inhibit this efflux, and thus restores the sensitivity of MDR cancer cells to anthracyclines [14]. Moreover, the intravenous (i.v.) form of amiodarone contains an excipient (polysorbate 80) which enhances emulsion stability for TACE. When mixed with lipiodol and an aqueous solution of anthracycline (doxorubicin or pirarubicin), i.v. amiodarone increases the stability of the emulsion at 37 °C from <1 h to 4 weeks [15]. It was assumed that a longer emulsion stability would be an advantage as the anticancer drug would be released into the tumour-rich microvascular bed of HCC more slowly [16].

Thus, we conducted a randomised controlled phase II trial to assess the efficacy and toxicity of lipiodol TACE with or without amiodarone in patients with unresectable HCC.

2. Materials and methods

2.1. Patients

Patients aged ≥18 years with HCC unsuitable for curative treatments (resection or percutaneous ablation) were eligible for the study. Eligibility criteria also included a confirmed diagnosis of HCC according to EASL [17], a WHO PS 0, 1 or 2 and preserved liver function (Child-Pugh class A or B7). Exclusion criteria were portosystemic shunts, hepatofugal blood flow, thrombus within the main portal vein, extrahepatic metastases, concomitant malignancy, renal failure (serum creatinine level ≥150 μmol/l), platelet count ≤50 × 10^9/l, cardiac ejection fraction ≤50%, allergy to iodine-containing agents, and hyperthyroidism.

All patients provided written informed consent before enrolment. Documented approval from the Comité Consultatif de Protection des Personnes dans la Recherche Biomédicale and the Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé was obtained before the start of the study.

2.2. Study design

This was a bicentre (University Hospital of Dijon and the Georges François Leclerc Anticancer Center, Dijon), prospective, randomised phase II study (Lipioamio 051061). Patients were randomised (1:1) to receive either lipiodol TACE (control group) or lipiodol TACE with amiodarone. Randomisation was performed at the data centre of the Fédération Francophone de Cancérologie Digestive (Dijon, France) without stratification, by drawing consecutively numbered sealed envelopes.

Patients underwent lipiodol TACE according a standard protocol. The femoral artery was punctured using the Seldinger technique and a 5-French sheath was inserted. Coil embolisation of the gastroduodenal artery was sometimes required to prevent inadvertent chemoembolisation of the pancreas and duodenum [18]. The therapeutic emulsion contained 50 mg of pirarubicin diluted in 25 ml of 5% glucose (Theprubicine®, Sanofi Aventis, Paris, France), 20 ml of lipiodol (Lipiodol Ultrafluide®, Guerbet, Roissy, France) and 1 mm gelatine sponge pellets (Curaspon®, Curamedical B.V., Amsterdam, Netherlands). When the patient was randomised into the amiodarone group, 150 mg of i.v. amiodarone (Cordarone® 150 mg/3 ml, Sanofi Aventis) was added to the mixture. A homogeneous emulsion was prepared just before injection by passing the mixture from one 50 ml-syringe to another 10 times via a 3-way tap. Under fluoroscopic guidance, the emulsion was injected into the right or left lobar branches according to the tumour location in 10 min. If the tumour involved both lobes, TACE was performed in each lobe alternately. Patients received ceftriaxone (Rocephine®, Roche, Neuilly, France) for 5 days (1 g per day), starting just before TACE.

Treatment was repeated every 6 weeks with a total number of sessions limited to 4. Patients who achieved a partial response (PR) after 4 sessions were eligible to receive 2 additional TACE sessions. Criteria for stopping therapy included: grade ≥3 adverse event according to NCI-CTC AE version 2.0 (except for reversible infection, haematologic and hepatic toxicity); vascular contraindications; disease progression; downstaging for resection; or if the patient so requested.

After inclusion of the first 4 patients, production of pirarubicin was stopped in France. The protocol was modified to replace pirarubicin by doxorubicin (Doxorubicin 2 mg/ml, Teva, Paris, France), at the same dose of 50 mg.

2.3. Assessment of outcome

For both arms, patients were evaluated for tumour response 1-month after each session, and every 4 months thereafter. A complete physical examination, liver function tests, prothrombin activity, serum creatinine level, platelet count, Child Pugh score, electrocardiogram and intercurrent events were performed and the results were recorded. TACE-related AEs were also recorded during the 4 weeks following the procedure. Tumour response was assessed every 4 months through magnetic resonance imaging (MRI) according to the EASL criteria [17]. The definitions of response were complete response (CR): complete disappearance of all known viable tumour (assessed via uptake of contrast in arterial phase of the MRI scan); PR: >50% reduction in viable tumour area of all measurable lesions; progressive disease (PD): >25% increase in the size of one or more measurable lesions or the appearance of new lesions; and stable disease (SD) in all other cases.

We also present tumour response rates according to the modified RECIST criteria [19]; CR: disappearance of any intratumoural arterial enhancement in all target lesions; PR: at least a 30% decrease in the sum of diameters of viable target lesions, taking as the reference the baseline sum of the diameters of target lesions; PD: an increase of at least 20% in the sum of the diameters of viable target lesions, taking as the reference the smallest sum of the diameters of viable target lesions recorded since the treatment started; and SD in all other cases. The objective response (OR) rate was defined as CR plus PR.

2.4. Statistical analysis

The primary endpoint was tumour response. Secondary endpoints included overall survival (OS), progression free survival (PFS) and tolerance.

A two-stage Gehan design was adopted for this study [20], enrolling 14 patients in each group in the initial stage. Treatments would be rejected as insufficiently active if no response was observed in this first stage. If 1, 2, 3, 4 or more responses were observed amongst the 14 patients in each group, 1, 6, 9, or 11 additional patients, respectively, would be enrolled in the second stage. Thus, at least 14 patients and at most 25 patients were required for each group. This design has a less than 5% probability of rejecting a treatment with a true response rate of 20%, and provides an estimate of the response rate with a standard error of approximately 10%. The trial was stopped before reaching its recruitment goal. Recruitment for the trial fell when doxorubicin-eluting microspheres became available and the investigators decided to close the trial for analysis.

All analyses were performed on the intention-to-treat principle, which included all randomised patients. Qualitative and continuous variables are described using frequency, percentage, and mean

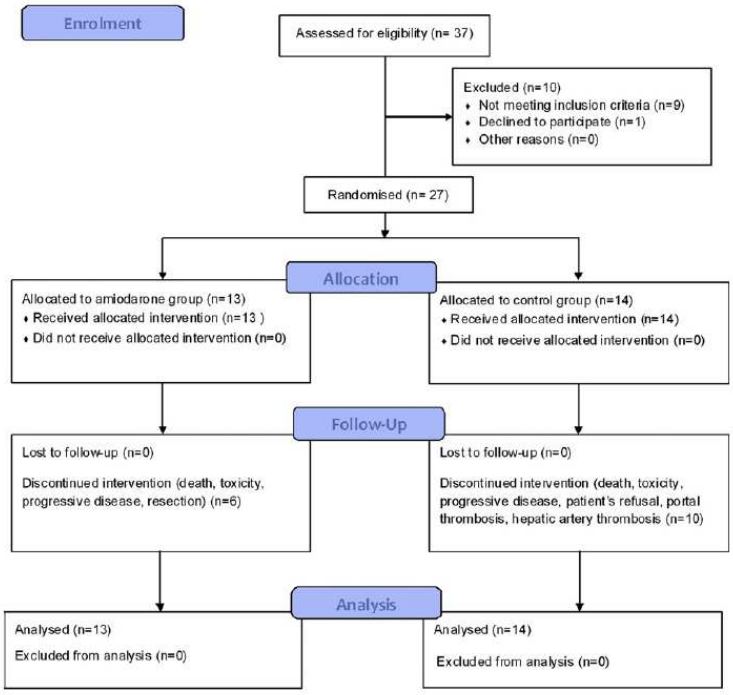


Fig. 1. Flowchart of patients in the Lipioamio study.

(± standard deviation), respectively. The two groups were compared using the Chi2 or Fischer exact test for qualitative variables and the Wilcoxon test for continuous variables.

OS was defined as the time between diagnosis and death (all causes). Surviving patients were censored at the last follow-up. PFS was defined as the time between diagnosis and progression (defined by EASL criteria) or death (all causes). Surviving patients without progression were censored at the last follow-up.

Median follow-up was calculated according to reverse Kaplan Meier estimates. Survival curves were plotted using the Kaplan–Meier method [21] and described using medians with 95% confidence intervals (95% CIs). Data analyses were performed using SAS software 9.1 (SAS Institute, Cary, NC).

3. Results

3.1. Baseline characteristics

Between August 2006 and March 2009, 13 patients (48%) were assigned to receive TACE with amiodarone and 14 (52%) to receive TACE without amiodarone (Fig. 1).

The median age was 65.8 years (range 43–77 years). Most of the patients were male (85%) and had alcohol-induced cirrhosis (78%). Eight patients (38%) amongst those presenting alcohol-induced cirrhosis were teetotal before treatment. Four patients had received previous curative treatment: surgical resection ($n = 2$), radiofrequency ablation ($n = 1$), and percutaneous ethanol injection ($n = 1$). Median serum α-fetoprotein (AFP) was 13 ng/ml (range 2–17,500 ng/ml). The two groups were well balanced with regard to baseline characteristics (Table 1).

3.2. Chemoembolisation treatment

All patients underwent at least one TACE session. The number of patients who received 2, 3 and 4 TACE sessions was 17 (63%), 14 (52%) and 11 (41%), respectively. The mean number of sessions was 2.6 (range 1–4). Treatment was discontinued before end of the 4 sessions because of severe adverse events (5 patients), PD (5 patients), death (2 patients), decision to resect (1 patient), patient's refusal (1 patient), portal thrombosis (1 patient), and hepatic artery thrombosis (1 patient). Four patients received TACE with pirarubicin (2 in each group), and the 23 other patients received TACE with doxorubicin.

3.3. Response and survival

Tumour response was assessed in 25 patients; one patient in each group had died before the first evaluation. According to the EASL criteria, the best response achieved in patients was as follows: in the amiodarone group, there were 3 (23%) CRs, 5 (38%) PRs, 3 (23%) SDs and 1 (8%) PD; in the control group, there were 1 (7%) CR, 6 (43%) PRs, 3 (21%) SDs and 3 (21%) PDs. The OR rate according to the EASL criteria was 62% (95% CI 35–88) in the amiodarone group and 50% (95% CI 24–76) in the control group. According to the modified RECIST criteria, the best response achieved in patients was as follows: in the amiodarone group, there were 3 (23%) CRs, 6 (46%) PRs, 2 (15%) SDs and 1 (8%) PD; in the control group, there were 1 (7%) CR, 7 (50%) PRs, 2 (14%) SDs and 3 (21%) PDs. The OR rate according to the modified RECIST criteria was 69% (95% CI 39–91) in the amiodarone group and 57% (95% CI 29–82) in the control group.

As of September 2010, after a median follow-up of 31.6 months (95% CI 27.0–35.3), no patients were lost to follow-up and 15 patients had died: 6 in the amiodarone group (46%) and 9 in the control group (64%). Thirteen patients had died from HCC, one from stroke, and one from TACE-related complications. The median OS was not reached (95% CI 18.6–NA months) in the amiodarone group and it was 18.5 months (95% CI 5.3–40.6) in the control group (Fig. 2). At 1 and 2 years, the OS rates were 77% (95% CI 44–92) and 52% (95% CI 22–75) in the amiodarone group, and 57% (95% CI

Table 1
Baseline characteristics of the 27 patients according to TACE group.

Variable	Control group ($n = 14$)		Amiodarone group ($n = 13$)		p-Value
	No.	%	No.	%	
Sex					1.00
Male	12	86	11	85	
Female	2	14	2	15	
Age					0.58
<65 years	5	36	6	46	
≥65 years	9	64	7	54	
Aetiology					0.38
Alcohol	9	64	6	46	
NASH	2	14	2	15	
Alcohol + HVC	0	0	3	23	
Alcohol + NASH	1	7	1	8	
Alcohol + haemochromatosis	1	7	0	0	
Haemochromatosis	1	7	0	0	
Not determined	0	0	1	8	
Previous curative treatment					0.33
No	13	93	10	77	
Yes	1	7	3	23	
WHO PS					1.00
0	11	79	10	77	
1	3	21	3	23	
Child-Pugh class					1.00
A	13	93	12	92	
B7	1	7	1	8	
BCLC classification					0.33
A4	1	7	3	23	
B	13	93	10	77	
CLIP score					0.65
0	2	14	0	0	
1	6	43	5	38	
2	5	36	6	46	
3	1	7	2	15	
Tumour distribution					0.57
Unilateral	6	43	7	54	
Bilateral	8	57	6	46	
Sum of diameters of nodules, mm					0.38
Mean ± SD	88 ± 40	–	112 ± 55	–	
Median	68	–	108	–	
Diameter of largest nodule, mm					0.40
Mean ± SD	59 ± 49	–	59 ± 30	–	
Median	50	–	40	–	
Diameter of largest nodule					0.57
<5 cm	6	43	7	54	
≥5 cm	8	57	6	46	
Diameter of largest nodule					0.38
<7.5 cm	9	64	11	85	
≥7.5 cm	5	36	2	15	
Number of nodules					0.21
<3	6	43	2	15	
≥3	8	57	11	85	
Segmental portal vein thrombosis					1.00
Absent	13	93	12	92	
Present	1	7	1	8	
AFP					0.33
<400 ng/ml	10	71	12	92	
≥400 ng/ml	4	29	1	8	

Abbreviations: NASH: non alcoholic steatohepatitis; HCV: hepatitis C virus; WHO PS: World Health Organization performance status; BCLC: Barcelona clinic liver cancer; CLIP: cancer of the liver italian programme; SD: standard deviation.

28–78) and 40% (95% CI 15–65) in the control group. Median PFS was 17.1 months (95% CI 9.0–30.9) in the amiodarone group and 9.0 months (95% CI 4.1–12.3) in the control group (Fig. 3). At 1 year, the PFS rate was 54% (95% CI 25–76) in the amiodarone group and 29% (95% CI 9–52) in the control group.

3.4. Tolerance

For the 69 TACE sessions performed in the study, there was one treatment-related death (Table 2). A 77 year-old man with Child Pugh B7 class and PS 1 rapidly developed acute liver failure and died 27 days after the 1st TACE session without amiodarone. Five patients, 3 in the amiodarone group, and 2 in the control group experienced toxicity that caused discontinuation of the treatment. These AEs included one case of encephalopathy, one of oedemato-ascitic decompensation, one of ischaemic cholecystitis, one case of colic subocclusion with hypoxia requiring assisted ventilation, and one case of hypoxia with 88% O_2 saturation with an indication for continuous oxygen for 24 h. No grade 4 haematologic toxicity was observed. Except for the 3 patients who developed acute liver failure, encephalopathy and ascites, the elevation of serum total bilirubin, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and of alkaline phosphatase was mild in both groups. The most commonly clinical TACE-related AEs were fever, abdominal

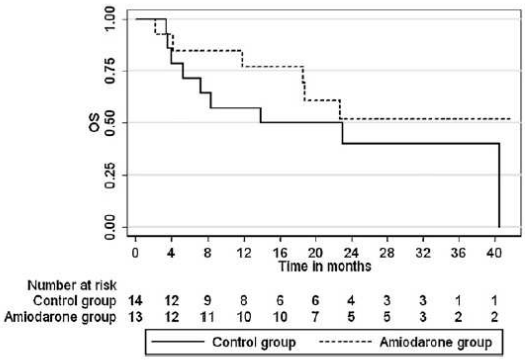


Fig. 2. Kaplan–Meier estimated survival curves by treatment group.

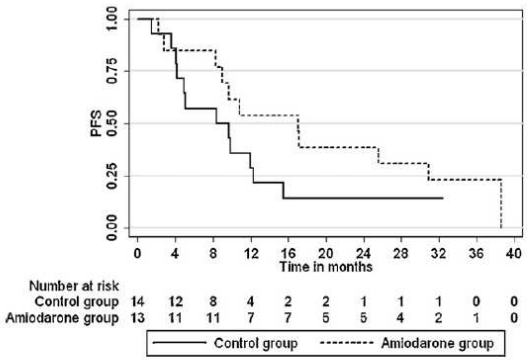


Fig. 3. Kaplan–Meier estimated progression-free survival curves by treatment group.

pain and vomiting; they occurred in 57%, 49%, 19% after TACE with amiodarone, and 59%, 50%, 16% after TACE without amiodarone. One patient treated with amiodarone presented a grade 1 hypotension (intervention not indicated) during TACE. No other cardiac toxicities manifesting as bradycardia were observed in patients treated with amiodarone. Finally, there was no difference between the 2 groups in terms of toxicity.

4. Discussion

Although two recent randomised trials [5,6] and two meta-analyses [7,8] have established that TACE improved survival in patients with unresectable intermediate HCC, there is no consensus about the best chemotherapeutic agent or the most effective method since survival rates amongst studies vary widely [9]. In a previous pilot study of TACE with lipiodol, pirarubicin and amiodarone in 43 patients with unresectable HCC, the authors concluded that this new TACE procedure was safe and with high median OS at 29 months [22]. Interestingly, one patient showed a sustained biological CR (decrease in AFP from 155,000 ng/ml to <8 ng/ml) with a residual tumour mass that persisted for 5 years after treatment [23]. The rationale for the use of amiodarone was based on two points. First, MDR, the classical mechanism of resistance to anticancer drugs, is mainly attributed to the action of two proteins, the 170-kDa Pgp and the 190-kDa MRP1, which pump drugs out of MDR cells [13]. Amiodarone, an antiarrhythmic drug, is also an MDR-modulator [14,24,25] and it was demonstrated that the drug enhanced the *in vitro* cytotoxicity of the two anthracyclines, doxorubicin and pirarubicin in HCC cell lines [15]. This property of amiodarone may be of major importance, as MDR1 and MRP1 genes and their products Pgp and MRP1 are intrinsically expressed by HCC cells [10–12]. Second, a simple emulsion of doxorubicin or pirarubicin in aqueous solution with lipiodol usually separates into two distinct phases within a few minutes [15]. The authors have shown that after the injection of a doxorubicin-lipiodol emulsion for TACE, the majority of the anticancer drug was released into the bloodstream in 5–40 min [26,27], so that only lipiodol remained in the tumour. In contrast, when i.v. amiodarone is mixed with lipiodol and aqueous solutions of doxorubicin or pirarubicin, the emulsions remain stable for up to 4 weeks at 37 °C [15]. This property is due to the presence of polysorbate 80 in the i.v. formulation of amiodarone. Polysorbate 80 is an emulsifier with a high hydrophilic–lipophilic balance (HLB) which enhances the solubility of water-soluble drugs such as anthracyclines in a

Table 2
TACE sessions: adverse events.

	Control group (n = 14)				Amiodarone group (n = 13)			
	Grade 3–4		Grade 1–4		Grade 3–4		Grade 1–4	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Haematological toxicity								
Leukocytes	3	9	12	38	4	11	13	35
Neutrophils	2	6	6	19	3	8	7	19
Haemoglobin	2	6	9	28	3	8	9	24
Platelets	5	16	20	63	7	19	24	65
Non-haematological toxicity								
Total bilirubin	4	13	20	63	5	14	24	65
Aspartate aminotransferase	8	25	30	94	8	22	31	84
Alanine aminotransferase	7	22	29	91	8	22	30	81
Alkaline phophatase	2	6	17	53	3	8	18	49
Encephalopathy	0	0	0	0	1	3	0	0
Ascites	1	3	0	0	0	0	0	0
Cholecystis	1	3	0	0	0	0	0	0
Hypoxia	1	3	0	0	1	3	0	0
Creatinine	0	0	2	6	0	0	2	5
Fever	0	0	19	59	0	0	21	57
Abdominal pain	0	0	16	50	0	0	18	49
Nausea/vomiting	0	0	5	16	0	0	7	19
Fatigue	0	0	4	13	0	0	6	16
Hypotension	0	0	0	0	0	0	1	3

Note: A 77 year-old man rapidly developed acute liver failure and died 27 days after the 1st TACE session without amiodarone.

lipophilic medium. With this stable emulsion, the anticancer drug should diffuse slowly out of the droplets of lipiodol that had selectively remained in the tumour, thus significantly reducing systemic toxicity. This concept lies behind the rationale for the recent development of drug-eluting microspheres for TACE in HCC.

Given the encouraging results of a pilot study [22], we designed this randomised phase II study to evaluate the efficacy of and tolerance to the addition of i.v. amiodarone to an anthracycline-lipiodol emulsion for TACE of HCC. Pirarubicin was first chosen for its higher liposolubility and increased penetration into HCC cells compared with doxorubicin [15]. However, as the production of pirarubicin was stopped in France, the protocol was modified to replace pirarubicin with doxorubicin, the most widely used drug for TACE of HCC [9].

The response rate, 2-year OS and 1-year PFS were 62%, 52%, 54% in the amiodarone group and 50%, 40%, 29% in the control group, respectively. Although the superiority of the addition of amiodarone could not be shown statistically, there was a trend towards better outcomes in all of the criteria for lipiodol TACE with amiodarone compared with lipiodol TACE without amiodarone. It could be argued that the absence of a significant difference in response and survival rates between the two groups may be attributed to the small sample size. However, the 2-year survival rate >50% in the amiodarone group in our study is an encouraging result, as 2-year survival in TACE RCTs rarely exceeds 50% [6,28]. This result is even more interesting given that in half of our patients, the tumour measured >8.5 cm, and that large tumour size is associated with a poor outcome in patients with HCC [5,29,30]. Moreover, a large number of our patients (78%) had alcohol-induced cirrhosis, as was the case in other French TACE RCTs, which reported lower two-year survival rates of 24%, 25%, and 38% in patients in TACE groups [31–33].

One major strength of our study is the absence of cardiovascular toxicity of repeated lipiodol TACE with amiodarone. There were no cases of cardiac failure related to the administration of anthracycline and/or amiodarone, perhaps because we used lower doses than the recommended maximal dose for i.v. use, *i.e.* 550 mg/m^2 for doxorubicin. In our trial, we chose to use a relatively low single dose of 150 mg amiodarone per session for the following reason. It has been demonstrated that a concentration of 700 ng/ml was sufficient to obtain a maximal enhancing effect on anthracycline toxicity on HCC cell lines [15]. After a single 15-min infusion of 2.5 mg/kg of amiodarone in 10 Japanese patients (mean total dose 150 mg), the mean maximum plasma concentration (C(max)) was 7140 ± 1480 ng/ml, which is approximately 10 times higher than that necessary to enhance anthracycline cytotoxicity on HCC cell lines. No significant changes in electrocardiographic parameters, pulse rate or blood pressure in the 77 days following the infusion were observed in the Japanese patients [34]. Moreover, it was recently demonstrated in pigs that amiodarone was sequestered to a great extent by an intravenously administered lipid emulsion in plasma, which completely prevented the decrease in arterial blood pressure caused by amiodarone infusion [35]. Another argument to explain the absence of cardiovascular toxicity in our study is that we injected the amiodarone-containing emulsion slowly, over 10 min, as recommended for amiodarone when infused alone.

TACE is a procedure with a known risk of mortality and morbidity. In a systematic review of 37 TACE trials that included a total of 2858 patients, treatment-related mortality (death within 3 weeks of TACE) was 2.4% (range 0–9.5%) [9]. In the Precision V trial, 14/108 (13%) patients treated in the conventional TACE group (doxorubicin-lipiodol) discontinued the treatment for adverse events [36]. With one patient (3.7%) who died within 30 days after the first TACE session from acute hepatic failure, and with 5/27 patients (19%) who discontinued treatment for adverse events, our data are consistent with the reported toxicity of TACE in the literature.

Our study has two limitations. First, it would have been interesting to measure plasma concentrations of anthracyclines after TACE. These data may have helped us to explain why we did not observe better tolerance in the amiodarone group, even though it was expected, due to stabilisation of the emulsion by amiodarone. Second, we performed lobar TACE in our population of patients, a large majority of whom had multinodular HCCs. As two recent studies have demonstrated that hyperselective TACE was more successful than lobar TACE in achieving complete tumour necrosis [37,38], hyperselective TACE should be performed as often as possible in the future.

In conclusion, our study failed to demonstrate that lipiodol TACE with amiodarone was better than conventional lipiodol TACE. This might be explained by the premature termination of the trial. New formulations of the lipiodol emulsion with amiodarone and anthracycline with faster tumour cell penetration are currently under investigation.

Financial support

This study had not received any financial support.

Conflict of interest statement
None declared.

Acknowledgments

The authors thank Philip Bastable for English revision. Preclinical pharmacological study to improve chemoembolisation was supported by grants from the departmental committees of the Ligue Nationale Contre Le Cancer (Côte d'Or, Nièvre) and from the Clinical Research Direction of the Dijon University Hospital.

References

[1] El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. Gastroenterology 2007;132:2257–76.
[2] Altekruse SF, McGlynn KA, Reichmann ME. Hepatocellular carcinoma incidence, mortality and survival trends in the United States from 1975 to 2005. J Clin Oncol 2009;27:1485–91.
[3] Bruix J, Lovet JM. Major achievements in hepatocellular carcinoma. Lancet 2009;37:614–6.
[4] Llovet JM, Di Bisceglie AM, Bruix J, et al. Design and endpoints of clinical trials in hepatocellular carcinoma. J Natl Cancer Inst 2008;100:698–711.
[5] Lo Cm, Ngan H, Tso WL, et al. Randomised controlled trial of transarterial lipiodol chemoembolisation for unresectable hepatocellular carcinoma. Hepatology 2002;35:1164–71.
[6] Llovet JM, Real MI, Montana X, et al. Arterial embolization or chemoembolisation versus symptomatic treatment in patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised controlled trial. Lancet 2002;359:1734–9.
[7] Camma C, Schepis F, Orlando A, et al. Transarterial chemoembolisation for unresectable hepatocellular carcinoma: meta-analysis of randomised controlled trials. Radiology 2002;224:47–54.
[8] Llovet JM, Bruix J. Systematic review of randomised trials for unresectable hepatocellular carcinoma: chemoembolisation improves survival. Hepatology 2003;37:429–42.
[9] Marelli L, Stigliano R, Triantos C, et al. Transarterial therapy for hepatocellular carcinoma: which technique is more effective? A systematic review of cohort and randomised studies. Cardiovasc Intervent Radiol 2007;30:6–25.
[10] Minemura M, Tanimura H, Tabor E. Overexpression of multidrug resistance genes MDR1 and Cmoat in human hepatocellular carcinoma and hepatoblastoma cell lines. Int J Oncol 1999;15:559–63.
[11] Li G, Chen X, Wang Q, et al. The roles of four multi-drug resistance proteins in hepatocellular carcinoma multidrug resistance. J Huazhong Univ Technolog Med Sci 2007;27:173–5.
[12] Park JG, Lee SK, Hong IG, et al. MDR1 gene expression: its effect on drug resistance to doxorubicin in human hepatocellular carcinoma cell lines. J Natl Cancer Inst 1994;86:700–5.
[13] Petraccia L, Onori P, Sferra R, et al. MDR (Multidrug resistance) in clinical-therapeutic implications. Clin Ter 2003;154:325–35.
[14] Chauffert B, Martin M, Hammam A, et al. Amiodarone-induced enhancement of doxorubicin and 4′-deoxydoxorubicin cytotoxicity to rat colon cancer cells in vitro and in vivo. Cancer Res 1986;46:825–30.

[15] Favoulet P, Cercueil JP, Faure P, et al. Increased cytotoxicity and stability of Lipiodol-pirarubicin emulsion compared to classical doxorubicin-Lipiodol: potential advantage for chemoembolisation of unresectable hepatocellular carcinoma. Anticancer Drugs 2001;12:801–6.
[16] Yi SW, Kim YH, Kwon IC, et al. Stable lipiodolized emulsions for hepatoma targeting and treatment by transcatheter arterial embolization. J Control Release 1998;50:135–43.
[17] Bruix J, Sherman M, Llovet JM, et al. Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL conference. European Association for the Study of the liver. J Hepatol 2001;35:421–30.
[18] Gates J, Hartnell GG, Stuart KE, et al. Chemoembolisation of hepatic neoplasms: safety, complications, and when to worry. Radiographics 1999;19: 399–414.
[19] Lencioni R, Llovet JM. Modified RECIST (mRECIST) assessment for hepatocellular carcinoma. Semin Liv Dis 2010;30:52–60.
[20] Gehan EA. Clinical trials in cancer research. Environ Health Perspect 1979;32:31–48.
[21] Kaplan EL, Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. J Am Stat Assoc 1968;53:457–81.
[22] Guiu B, Collin C, Cercueil JP, et al. Pilot study of transarterial chemoembolisation with pirarubicin and amiodarone for unresectable hepatocellular carcinoma. Am J Clin Oncol 2009;32:238–44.
[23] Cercueil JP, Ferrant E, Isambert N, et al. Sustained clinical response of large hepatocellular carcinoma after chemoembolisation with pirarubicin, amiodarone and lipiodol. Gastroenterol Clin Biol 2004;28:1281–3.
[24] Van der Graaf W, De Vries E, Uges D, et al. In vitro and in vivo modulation of multi-drug resistance with amiodarone. Int J Cancer 1991;48:616–22.
[25] Chauffert B, Rey D, Coudert B, et al. Amiodarone is more efficient than verapamil in reversing resistance to anthracyclines in tumour cells. Br J Cancer 1987;56:119–22.
[26] Raoul JL, Heresbach D, Bretagne JF. Chemoembolisation of hepatocellular carcinomas. A study of the biodistribution and pharmacokinetics of doxorubicin. Cancer 1992;70:585–90.
[27] Varela M, Real MI, Burrel M, et al. Chemoembolisation of hepatocellular carcinoma with drug eluting beads: efficacy and doxorubicin pharmacokinetics. J Hepatol 2007;46:474–81.
[28] Okusaka T, Kasugai H, Shioyama Y, et al. Transarterial chemotherapy alone versus transarterial chemoembolisation for hepatocellular carcinoma: a randomised phase III trial. J Hepatol 2009;51:1030–6.
[29] Takayasu K, Arii S, Ikai I, et al. Prospective cohort study of transarterial chemoembolisation for unresectable hepatocellular carcinoma in 8510 patients. Gastroenterology 2006;131:461–9.
[30] Raoul JL, Sangro B, Forner A, et al. Evolving strategies for the management of intermediate-stage hepatocellular carcinoma: available evidence and expert opinion on the use of transarterial chemoembolization. Cancer Treat Rev 2011;37:212–20.
[31] Groupe d'Etude et de Traitement du Carcinome Hépatocellulaire. A comparison of lipiodol chemoembolisation and conservative treatment for unresectable hepatocellular carcinoma. N Engl J Med 1995;332:1256–61.
[32] Pelletier G, Ducreux M, Gay F, et al. Treatment of unresectable hepatocellular carcinoma with lipiodol chemoembolisation: a multicenter randomised trial. J Hepatol 1998;29:129–34.
[33] Doffoël M, Bonnetain F, Bouché O, et al. Multicentre randomised phase III trial comparing Tamoxifen alone or with Transarterial Lipiodol Chemoembolisation for unresectable hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients (Fédération Francophone de Cancérologie Digestive 9402). Eur J Cancer 2008;44:528–38.
[34] Shiga T, Tanaka T, Irie S, et al. Pharmacokinetics of intravenous amiodarone and its electrocardiographic effects on healthy Japanese subjects. Heart Vessels 2010 [Epub ahead of print].
[35] Niiya T, Litonius E, Petäjä L, et al. Intravenous lipid emulsion sequesters amiodarone in plasma and eliminates its hypotensive action in pigs. Ann Emerg Med 2010;56:402–8.
[36] Lammer J, Malagari K, Vogl T, et al. Prospective randomized study of doxorubicin-eluting-bead embolization in the treatment of hepatocellular carcinoma: results of the PRECISION V study. Cardiovasc Intervent Radiol 2010;33:41–52.
[37] Dharancy S, Boitard J, Decaens T, et al. Comparison of two techniques of transarterial chemoembolization before liver transplantation for hepatocellular carcinoma: a case–control study. Liver Transpl 2007;13:665–71.
[38] Golfieri R, Cappelli A, Cucchetti A, et al. Efficacy of selective transarterial chemoembolization in inducing tumor necrosis in small (<5 cm) hepatocellular carcinomas. Hepatology 2011;53:1580–9.

2.2. Optimisation d'une CHE avec microsphères : essai de phase I évaluant la tolérance et l'efficacité d'une CHE avec de l'idarubicine administrée dans des microsphères d'embolisation DC Bead™ chez des patients atteints d'un CHC non résécable

2.2.1. Rationnel et faisabilité

Suite aux travaux sur la sélection des agents anticancéreux pour la CHE des CHC ayant montré que l'idarubicine était la molécule la plus cytotoxique sur 3 lignées humaines de CHC, nous avons décidé de tester la molécule chez l'Homme. L'idarubicine n'ayant jamais été administrée par voie IA chez l'Homme, nous avons donc réalisé un essai de phase I avec pour objectif principal de déterminer la dose maximale tolérée (DMT) de la molécule lors d'une CHE chez des patients atteints d'un CHC non résécable, non métastatique. Nous avons décidé d'utiliser comme vecteur pour l'idarubicine dans cet essai les microsphères DC Bead™ pour plusieurs raisons.

Si la CHE avec microsphères n'a pas prouvé à ce jour qu'elle était supérieure en termes d'efficacité à la CHE lipiodolée, l'avantage pharmacocinétique des microsphères d'embolisation comme vecteur de la doxorubicine est démontré chez l'animal [Hong 2006, Lewis 2006] et chez l'Homme [Varela 2007]. Par ailleurs nous faisons l'hypothèse suivante pour expliquer la relative négativité de l'essai Precision V : **les microsphères ne sont peut être pas un « mauvais » vecteur, simplement elles n'ont peut être pas été chargées avec l'agent anticancéreux le plus approprié, au regard des résultats de notre étude de sélection *in vitro***.

Naturellement, il fallait que les microsphères DC Bead™ puissent charger l'idarubicine. A ce propos, le dossier relatif au chargement des microsphères DC Bead™ avec l'idarubicine envoyé à l'AFSSaPS avec le protocole IDASPHERE est présenté en annexe 1.

2.2.2. Description de l'essai IDASPHERE

2.2.2.1. Renseignements généraux

L'essai IDASPHERE est un essai de phase I monocentrique, en ouvert, contrôlé, évaluant la tolérance et l'efficacité d'une CHE avec de l'idarubicine administrée dans des microsphères d'embolisation d'un diamètre de 300-500 µm pour le traitement des patients atteints d'un CHC non métastatique, non résécable avec une bonne fonction hépatique et en l'absence de thrombose portale.

L'intégralité du protocole IDASPHERE est presenté en annexe 2. Outre la participation active de l'ensemble des investigateurs et collaborateurs de l'essai, celui-ci a été possible grâce à l'obtention d'un financement de 28 000 €, obtenu dans le cadre de l'Appel d'Offres Interne du CHU de Dijon en 2009 (Boulin AOI 2009). Une partie du dossier de financement est présenté en annexe 3.

Le protocole a été approuvé le 9 juillet 2009 par le Comité de Protection des Personnes Est I et le 9 novembre 2009 par l'AFSSaPS. Deux amendements au protocole ont été réalisés ; le premier pour modifier les critères d'inclusions (inclure les patients présentant une maladie unilobaire quel que soit le nombre de nodules ; exclure les patients atteints de la maladie de Gilbert) et les critères de définition de la dose limitante toxique (DLT) pour 2 critères biologiques (bilirubinémie totale > 5N durant > 5 jours et une créatininémie grade 3 pour définir une DLT), le second pour intégrer les nouveaux critères RECIST (mRECIST) publiés après le début de l'essai [Lencioni 2010]. La dernière version du protocole a été approuvée le 17 juin 2010 par le CPP Est I et le 18 juin 2010 par l'AFSSaPS.

L'investigateur principal de l'essai est le Pr Laurent Bedenne (Service d'Hépatogastroentérologie, CHU Dijon), la réunion de mise en place de l'essai a eu lieu en décembre 2009. Le 1er patient a été traité le 2 mars 2010.

2.2.2.2. Objectifs

L'objectif principal de l'essai est de déterminer le profil de tolérance et la dose limitante de l'idarubicine administrée dans une solution de microsphères au cours d'une séance de CHE et en déduire la dose maximale tolérée (DMT) à utiliser dans les essais de phase II et III.

Les objectifs secondaires sont :

- Etudier la pharmacocinétique de l'idarubicine sous cette forme d'administration nouvelle
- Evaluer le taux de réponses objectives
- Evaluer le temps jusqu'à progression
- Evaluer le temps jusqu'à détérioration définitive de la qualité de vie.

2.2.2.3. Déroulement de l'étude

Il s'agit d'une étude de phase I avec escalade de dose. Le traitement comporte une seule cure de CHE, administrée à dose fixe dans un palier, quels que soient le poids et la taille du patient. Les patients sont hospitalisés la veille de la CHE dans le service d'Hépatogastroentérologie du CHU. Leur sortie est autorisée 72 h après le geste après réalisation du dernier point de pharmacocinétique. Ils sont ensuite suivis régulièrement durant 2 mois à compter de la date de la CHE (surveillance clinique, biologique et radiologique). La poursuite du traitement au delà des 2 mois est laissée à l'appréciation des investigateurs en fonction de la tolérance et des résultats obtenus. En cas de retraitement, il sera privilégié de maintenir le traitement administré lors de l'essai.

L'inclusion des patients et l'affectation des paliers de doses se feront selon la méthode Continual Reassessment Method (CRM). L'escalade de dose ne portera que sur l'idarubicine (la quantité des microsphères d'embolisation restant identique) selon les modalités suivantes en débutant au palier 1 :

- palier 0 idarubicine 5 mg (palier de désescalade)
- palier 1 idarubicine 10 mg
- palier 2 idarubicine 15 mg
- palier 3 idarubicine 20 mg
- palier 4 idarubicine 25 mg

Cette dose initiale de 10 mg d'idarubicine a été principalement choisie à partir des données connues de cardiotoxicité des anthracyclines. La toxicité cardiaque de l'idarubicine et de la doxorubicine survient en effet pour des doses cumulées totales de 93 mg/m² et 550 mg/m² respectivement. Cela correspond environ à un rapport 1/6. Au cours des CHE avec la doxorubicine, il est injecté des doses comprises entre 50 mg et 150 mg que ce soit avec le lipiodol depuis de

nombreuses années ou avec les microsphères plus récemment. En se basant donc sur ce rapport 1/6, nous avons donc fixé nos paliers de dose d'idarubicine entre 10 mg et 25 mg (à l'exception du palier de dose de désescalade).

Une DLT est définie en cas de survenue d'une toxicité :

- allergique/immunologique de grade 4
- auditive/oculaire de grade 3 ou 4
- hématologique de grade 4 (pour la valeur des polynucléaires neutrophiles et des plaquettes une toxicité de grade 4 n'est pas définie comme une DLT si retour grade ≤3 en 7 jours ou moins)
- cardiaque de grade 4
- des marqueurs de la coagulation grade 4
- des signes généraux de grade 4
- cutanée grade 3 ou 4
- endocrinienne grade 3 ou 4
- gastro-intestinale grade 4
- hémorragique grade 4,
- hépatobiliaire/pancréatique grade 3 ou 4
- infectieuse grade 4
- lymphatique grade 3 ou 4
- métabolique/biologique grade 4 (exceptions : une bilirubinémie totale > 5N durant > 5 jours et une créatininémie grade 3 considérées comme DLT)
- musculosquelettique grade 4
- neurologique grade 3 ou 4
- oculaire/visuelle grade 4
- douleurs grade 4
- pulmonaire grade 3 ou 4
- rénale/génitourinaire grade 3 ou 4
- sur les fonctions de reproduction grade 3 ou 4
- vasculaire grade 3 ou 4.

Les DLT sont étudiées dans un intervalle de 1 mois à compter de la date de CHE.

La DMT est définie comme le palier de dose précédant celui définissant la dose limitante c'est-à-dire le palier pour lequel 20% des patients au maximum ont une DLT. C'est aussi la dose recommandée.

Les patients seront inclus par cohorte de 1 patient, 1 mois après l'inclusion du patient précédent (*i.e*. après analyse de la DLT pour le patient précédemment inclus). L'affectation des patients suivants se fera en fonction de l'existence de DLT ou non pour les patients inclus, la méthode CRM affectant (logiciel NP1) le patient dans le palier dont la probabilité de toxicité est la plus proche du palier cible (*i.e*. DMT).

2.2.2.4. Critères d'évaluation

Nous ne présentons dans ce paragraphe que les critères d'évaluation pour lesquels des résultats préliminaires sont présentés dans le manuscrit. Les temps jusqu'à progression et jusqu'à détérioration de la qualité de vie n'ont pas encore été évalués à ce jour.

Pour déterminer les DLT, **les toxicités sont définies selon la classification NCI-CTC AE version 3.0**.

Concernant la pharmacocinétique, des échantillons de sang (5 ml) sont prélevés à des temps réguliers avant, à 5 mn, 15 mn, 30 mn, 2h, 6h, 24h et 72 h après la fin de la perfusion. Les échantillons sanguins sont centrifugés et congelés (- 20°C) puis extraits par du méthanol juste avant dosage. **Les concentrations d'idarubicine et de son métabolite principal, l'idarubicinol, sont déterminées par chromatographie liquide haute performance (HPLC)** couplée à une détection par spectrométrie de masse. La méthode par spectrométrie de masse a été adaptée de celle décrite par Sottani [Sottani 2009]. Brièvement, la chaîne chromatographique HPLC ThermoScientific (Palm Beach, Florida) inclut la pompe Accela® 1250, le passeur d'échantillons avec injecteur Accela® Open AS, la précolonne Hypersill® Gold C18, la colonne Hypersill® Gold C18 (50 mm x 2,1 mm), le four Maylab Mistraswitch®, le TSQ Quantum Ultra et le logiciel d'acquisition Thermo LCQuan. La séparation chromatographique est obtenue par gradient d'élution des phases mobiles A et B. La phase mobile A est constituée d'un mélange eau-acétonitrile-acide formique (vol %: 80/20/0,1), la phase mobile B, d'un mélange eau-acétonitrile-acide formique (vol %: 70/30/0,1). La daunorubicine

est utilisée comme standard interne. La limite de quantification de l'idarubicine et de son métabolite est de 1,2 µg/l. La chaîne chromatographique est présentée ci-dessous (Figure 22).

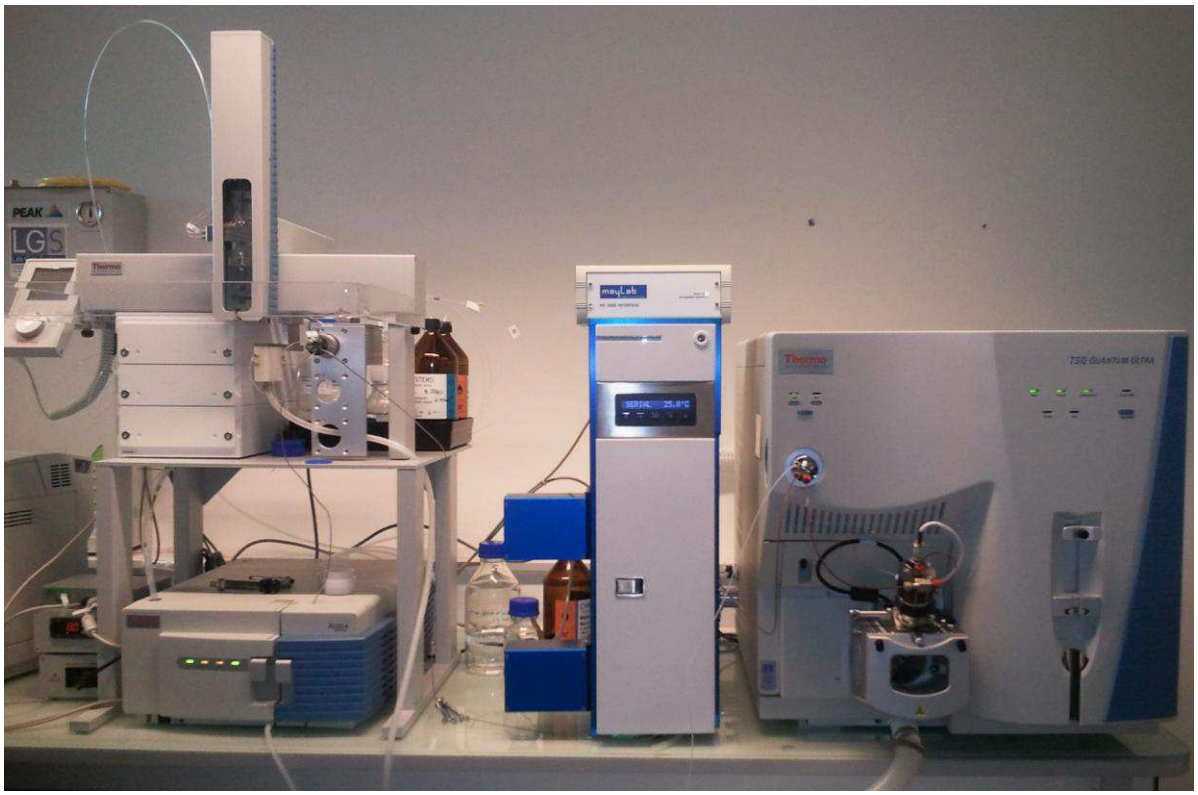


Figure 22. Chaîne chromatographique HPLC avec détection par spectrométrie de masse

L'évaluation des réponses à la CHE a été faite selon les critères EASL [Bruix 2001] à l'aide des IRM hépatiques à 1 mois et 2 mois après le traitement.

2.2.2.5. Nombre de patients prévu et calendrier

L'inclusion d'un maximum de 18 patients est prévue, néanmoins les inclusions pourront être stoppées dès inclusion de 9 patients dans un même palier.

La durée totale de l'étude (comprenant l'analyse et la publication des résultats) est évaluée à 24 mois. Quelques résultats préliminaires sont présentés ci-dessous.

2.2.3. Résultats préliminaires

2.2.3.1. Caractéristiques initiales des patients

Au 17 août 2011, 16 patients avaient signé le consentement de l'essai. Quatorze patients ont été traités à cette date, un patient a dégradé sa fonction hépatique la semaine précédant le traitement et un patient a refusé le traitement 48h avant.

La moyenne d'âge des 14 patients, 13 hommes et 1 femme, était 64 ans (extrêmes: 45-79 ans). Avant traitement, les patients présentaient une cirrhose Child A dans 86% des cas. Ils présentaient tous un CHC de stade intermédiaire B de la classification BCLC avec un état général PS 0 pour 13 d'entre eux. La taille tumorale médiane du plus gros nodule était 4,2 cm (extrêmes: 2,3-8 cm). Les principales caractéristiques initiales des patients sont présentées dans le tableau IX.

2.2.3.2. Tolérance

Aucun patient n'est sorti prématurément de l'étude. **Sur les 14 premiers patients inclus, deux d'entre eux ont présenté une DLT** : le patient n°1 (hyperbilirubinémie de grade 3) et le patient n°3 (syndrome coronarien de grade 4). **Après les 14 premières inclusions, le palier 0 (idarubicine 5 mg) est validé, le palier 1 (idarubicine 10 mg) est en cours**.

Le patient n°1 traité dans le palier 1 a présenté 25 jours après la CHE, un épisode isolé de fièvre avec frissons, pour lequel tous les prélèvements bactériologiques sont restés négatifs. Cet épisode fébrile s'est accompagné d'une cytolyse avec des transaminases à 10N et d'une hyperbilirubinémie, culminant à J28 à 117 µmol/l (environ 5N). Le patient présentait une bilirubinémie totale préthérapeutique à 24 µmol/l, augmentant progressivement dans les 72 heures après la CHE jusqu'à 54 µmol/l pour redescendre à 26 µmol/l 15 jours après la CHE. Cette DLT nous a conduit à descendre au palier 0 (idarubicine 5 mg) pour le patient n°2, comme cela était d'ailleurs prévu dans le protocole. Elle reste mal expliquée à ce jour.

Tableau IX. Caractéristiques initiales des 14 premiers patients de l'essai IDASPHERE

	n	%
Sexe		
Homme	13	93
Femme	1	7
Age		
< 65 ans	7	50
≥ 65 ans	7	50
Récidive		
Oui	3	21
Non	11	79
Etiologie		
Alcool + métabolique	5	36
Alcool	3	21
VHC	3	21
Foie sain	2	14
Métabolique	1	7
Score Child-Pugh		
A	12	86
B7	2	14
Nombre de nodules		
< 3	10	71
≥ 3	4	29
Taille plus gros nodule en cm, médiane (extrêmes)	4,2 (2,3-8)	
Bilirubinémie totale en µmol/l, médiane (extrêmes)	16 (3-30)	
Albuminémie en g/l, médiane (extrêmes)	32 (27-39)	
ALAT en UI/l, médiane (extrêmes)	40 (17-96)	
ASAT en UI/l, médiane (extrêmes)	30 (14-129)	
GGT en UI/l, médiane (extrêmes)	174 (57-571)	
AFP		
< 400 ng/ml	11	79
≥ 400 ng/ml	3	21

VHC : virus de l'hépatite C ; ALAT : alanine aminotransférase ; ASAT : aspartate aminotransférase ; GGT : gamma-glutamyl-transférase ; AFP : alphafoetoprotéine

Le patient n°3 a présenté un syndrome coronarien aigu grade 4 nécessitant son hospitalisation en soins intensifs de cardiologie. Le patient présente de nombreux antécédents : hypertension artérielle, diabète, obésité, dyslipidémie, infarctus du myocarde en 1996 (stent sur

l'artère interventriculaire antérieure (IVA)), resténose en 1997 avec angioplastie. Le 16 juin 2010 (soit 24h après la CHE), le patient a présenté une douleur rétrosternale constrictive, trinitro-résistante. L'ECG montrait un rythme sinusal régulier avec un aspect QS, un petit sus-décalage millimétrique en antérieur, déjà présent sur les ECG précédents et des ondes T négatives en V5 et V6. La troponine Ic était augmentée à 0,46 µg/l. Le patient reçoit 4 comprimés de clopidogrel + 250 mg d'acétylsalicylate de lysine par voie IV. Il est muté en cardiologie pour réalisation d'une coronarographie. Cette dernière retrouve une sténose ostiale de l'IVA à 70% et une sténose serrée du tronc circonflexe dominante. La circonflexe a été dilatée grâce à un stent nu, permettant un bon résultat. Un guide de pression de l'IVA a été fait, ne conduisant à aucune dilatation. L'évolution a été favorable et 10 jours après la CHE, le patient est rentré chez lui.

Selon l'investigateur, l'EIG est relié de façon douteuse à l'idarubicine et aux microsphères et n'est pas relié au iodixanol. De plus, il existe un terrain vasculaire altéré, pouvant représenter une autre cause selon l'investigateur. Cet EIG est considéré comme inattendu. Il a constitué une DLT.

Si aucune autre DLT n'a été relevée après les 14 premières inclusions, **6 EIG ont été rapportés au cours de la période**. Ceux-ci sont détaillés dans le 1er rapport annuel de sécurité de l'essai (janvier 2010-janvier 2011, Annexe 4). Le second rapport annuel de sécurité de l'essai rendra compte des évènements s'étant déroulés entre janvier 2011 et janvier 2012.

2.2.3.3. Évaluation des réponses

Au 17 août 2011, 13 patients ont eu une évaluation radiologique ; 1 patient a été traité le 9 août 2011. Selon les critères EASL, les réponses observées 2 mois après la CHE étaient les suivantes : réponse complète (RC), 3 patients (23%) ; réponse partielle (RP), 8 patients (62%) ; stabilité de la maladie, 2 patients (15%). Après un suivi médian de 12,4 mois, aucun patient n'est décédé mais 3 patients (25%) ont récidivé. Le patient n°1 en RP puis RC, respectivement 2 et 4 mois après son unique séance de CHE (Figure 23) a récidivé à 8 mois (réactivation des nodules détruits dans le foie gauche et nouveau nodule dans le segment IV). Il a été retraité avec succès par 5 mg d'idarubicine chargés dans des microsphères d'embolisation DC Bead™ 300-500µm (soit le même traitement que dans l'essai). Il est actuellement en RC 10 mois après le traitement de sa récidive. Le second patient à avoir évolué était en RC 2 mois après le traitement. En revanche, l'évaluation IRM de

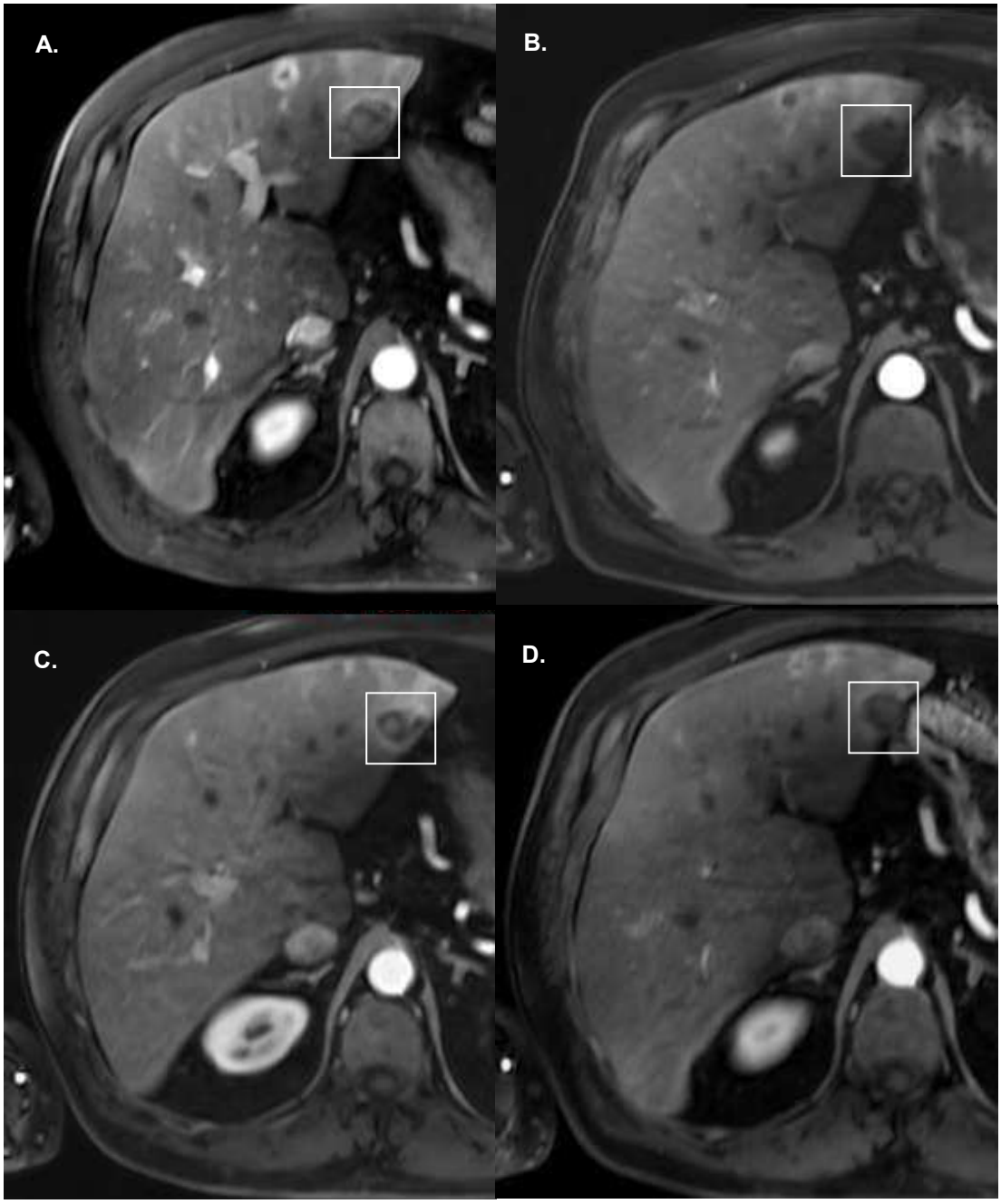


Figure 23. Planches d'IRM hépatique du patient n°1 de l'essai IDASPHERE ; **A**. avant traitement, **B**. 1 mois après CHE, nécrose complète de la lésion, **C**. 2 mois après CHE, une zone hypervasculaire de la lésion réapparaît, **D**. 4 mois après CHE, la nécrose est de nouveau complète. Nous avançons l'hypothèse suivante pour expliquer ce phénomène : le « 1er effet » responsable de la nécrose complète à 1 mois est probablement dû à l'embolisation, le « 2ème effet » celui responsable de la « nouvelle » nécrose complète à 4 mois est probablement dû à l'agent anticancéreux relargué tardivement par les microsphères.

surveillance à 6 mois a objectivé chez le patient la progression de certains nodules hépatiques et surtout l'apparition d'une métastase hypervasculaire de la 6ème côte droite avec une probable 2ème métastase sur le même arc costal. En Réunion de Concertation Pluridisciplinaire (RCP), il a logiquement été décidé d'instaurer un traitement par sorafénib chez ce patient. Le 3ème patient à avoir progressé à ce jour était en RC à 2 mois. Il a présenté à 6 mois une récidive sous la forme de l'apparition de 3 nodules hypervasculaires du dôme (10 mm), du segment VI (15 mm) et du segment II (22 mm). Deux séances de CHE lipiodolée avec 5 mg d'idarubicine ont été décidées en RCP pour le patient (1 à droite et 1 à gauche à 2 mois d'intervalle) pour les raisons suivantes. Le lipiodol a été choisi comme vecteur pour la CHE, stratégie que nous adoptons au CHU à chaque fois qu'un traitement sélectif par microsphères n'est pas réalisable. L'idarubicine a été choisie comme agent anticancéreux parce que le patient avait obtenu avec la molécule une excellente réponse dans l'essai alors qu'il était réfractaire à une CHE avec microsphères chargées avec de la doxorubicine (Figure 24). Le patient présente actuellement une maladie stable.

Parmi les 7 patients en RP 2 mois après le traitement et n'ayant pas évolué (1 patient en RP à 2 mois a évolué, patient n°1), 5 ont eu une 2ème voire pour 2 d'entre eux, une 3ème séance de CHE afin d'améliorer la réponse. Le traitement ultérieur laissé au libre choix de l'investigateur d'après ce que nous avions écrit dans le protocole, a été systématiquement décidé en RCP et a toujours consisté en l'injection d'une solution de microsphères DC Bead™ 300-500 µm chargées avec 5 mg d'idarubicine. Un patient en RP à 2 mois est en attente d'un traitement (non encore décidé en RCP).

Pour les 2 patients non répondeurs après le traitement à l'essai, l'un a reçu une CHE lipiodolée avec 5 mg d'idarubicine, l'autre est en attente d'un traitement (non encore décidé en RCP).

Enfin, le 3ème patient en RC après le traitement est toujours en RC à 12 mois avec une AFP à 38 ng/ml alors que son AFP préthérapeutique était de 1895 ng/ml.

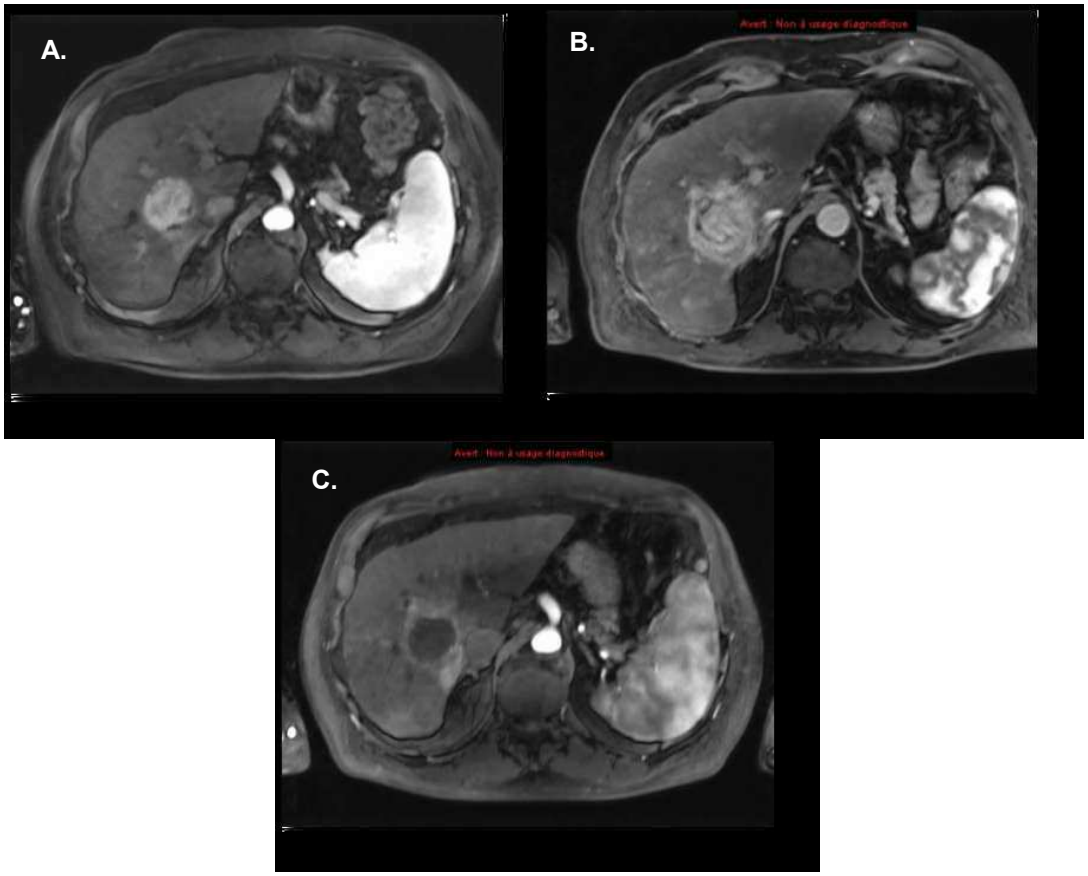


Figure 24. Planches d'IRM hépatiques du patient n°2 de l'essai IDASPHERE ; **A**. au diagnostic (décembre 2009) ; **B**. 2 mois après CHE avec microsphères chargées avec 50 mg de doxorubicine, la lésion à la jonction des segments VI et I a augmenté de taille puisqu'elle est mesurée à 4,9 cm x 3,8 cm (mars 2010) ; **C**. 2 mois après CHE IDASPHERE, aspect de réponse complète de la lésion avec diminution de ses dimensions (4,1 cm contre 4,9 cm précédemment).

2.2.3.4. Pharmacocinétique

Au 17 août 2011, les concentrations d'idarubicine et d'idarubicinol ont été determinées dans le sang des 13 premiers patients de l'essai. Les valeurs sont très faibles que ce soit pour la molécule mère ou son métabolite, le plus souvent inférieures à 1,2 µg/l (Tableau X). D'après ces 1ers résultats, on peut penser que le Tmax se situera 5 mn après l'injection.

Tableau X. Idarubicinémies et idarubicinolémies des 13 premiers patients de l'essai IDASPHERE

	T0	T=5 mn	T=15 mn	T=30 mn	T=2 h	T=6 h	T=24 h	T=72 h
Patient 1*								
Idarubicinémie	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2
Idarubicinolémie	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2
Patient 2								
Idarubicinémie	<1,2	**1,8**	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2
Idarubicinolémie	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	**2**	**1,7**	<1,2
Patient 3								
Idarubicinémie	<1,2	**3**	**5,4**	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2
Idarubicinolémie	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2
Patient 4								
Idarubicinémie	<1,2	**7,3**	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2
Idarubicinolémie	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2
Patient 5								
Idarubicinémie	<1,2	**7,2**	**3,4**	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2
Idarubicinolémie	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2
Patient 6								
Idarubicinémie	<1,2	**1,7**	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2
Idarubicinolémie	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	**1,3**	<1,2
Patient 7								
Idarubicinémie	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2
Idarubicinolémie	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2
Patient 8								
Idarubicinémie	<1,2	**1,6**	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2
Idarubicinolémie	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2
Patient 9								
Idarubicinémie	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2
Idarubicinolémie	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2
Patient 10								
Idarubicinémie	<1,2	**3,2**	**3,2**	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2
Idarubicinolémie	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2
Patient 11*								
Idarubicinémie	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2
Idarubicinolémie	<1,2	**2**	**2,4**	**2**	**2,8**	**2,1**	**2,1**	<1,2

Tableau X (suite).

Patient 12*								
Idarubicinémie	<1,2	**8,2**	**6,8**	**6,2**	**2,5**	**1,5**	<1,2	<1,2
Idarubicinolémie	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	**1,5**	**1,4**	**2,2**	**1,8**
Patient 13*								
Idarubicinémie	<1,2	**3,2**	**3,2**	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	_
Idarubicinolémie	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2	**1,9**	**1,9**	_

Les valeurs d'idarubicinémie et d'idarubicinolémie sont exprimées en µg/l. Elles ont été déterminées par chromatographie liquide haute performance couplée à une détection par spectrométrie de masse.

* Les patients 1, 11,12 et 13 ont reçu 10 mg d'idarubicine, les autres patients ont reçu 5 mg d'idarubicine

DISCUSSION GÉNÉRALE

L'agent anticancéreux

Nous avons démontré que les agents anticancéreux les plus utilisés pour la CHE des CHC, en l'occurrence la doxorubicine, le cisplatine, l'épirubicine, la mitoxantrone et la mitomycine C n'étaient pas les plus cytotoxiques *in vitro* sur 3 lignées humaines de CHC. **L'idarubicine, anthracycline utilisée dans le traitement des leucémies aiguës, s'est révelée la plus cytotoxique dans notre travail de sélection des agents anticancéreux pour la CHE des CHC**. Elle est la seule molécule capable de détruire 90% des cellules des 3 lignées testées. Cette capacité à tuer 90% des cellules des 3 lignées se maintient y compris lorsque la molécule est diluée de nombreuses fois. Cela pourrait représenter un avantage majeur pour la CHE des CHC en raison de l'importance du débit sanguin hépatique, environ 1500 ml/mn. Quelques points doivent être précisés au sujet de ce travail *in vitro*.

Premièrement, nous avons uniquement travaillé sur des lignées de CHC viro-induites car à ce jour, aucune lignée de CHC alcoolo-induite n'est disponible. Nous envisageons d'ailleurs à l'avenir pour élargir les recherches fondamentales sur le CHC de mettre au point une lignée issue d'un patient dont l'étiologie de la cirrhose serait alcoolique.

Deuxièmement, nous avons uniquement testé l'effet d'un seul agent anticancéreux sur les cellules car notre objectif était de connaître l'agent anticancéreux le plus efficace sur les lignées de CHC. Les cytotoxicités auraient probablement été supérieures si nous avions exposé les cellules à 2 ou 3 molécules simultanément.

Enfin, notre travail ne nous permet pas d'expliquer les mécanismes qui pourraient être responsables de la sensibilité ou de la résistance des cellules aux différents agents anticancéreux. Nous avons observé une hétérogénéité en termes de cytotoxicité entre les agents anticancéreux et pour un agent anticancéreux donné entre les différentes lignées. Outre la cytotoxicité supérieure de l'idarubicine, un résultat a attiré notre attention : la différence de cytotoxicité de la gemcitabine entre les lignées HepG2 et SNU-398. Nous avançons 2 hypothèses pour l'expliquer. D'une part, la lignée SNU-398 est la plus sensible aux différents agents anticancéreux. D'autre part, il a été montré sur les cellules HepG2 ainsi que sur d'autres lignées humaines de CHC (Hep3B, HLF, PLC/PRF/5), que la

gemcitabine inhibait la croissance de ces cellules par arrêt du cycle cellulaire de manière dose- et temps-dépendante, sans induire d'apoptose et que la voie de signalisation ERK/Chk1/2 était en partie responsable de cette résistance à la gemcitabine [Matsumoto 2008]. Il a récemment été démontré que la résistance des cellules HepG2 à la gemcitabine était liée à un niveau d'expression élevé d'un variant (SV2) du facteur de transcription Krüppel-like factor 6 [Hanoun 2010]. Dans notre expérience, la gemcitabine n'était pas capable de détruire 90% des cellules HepG2, ce qui est concordant avec les données précédentes. Nous pouvons également imaginer qu'avec un temps d'exposition plus long, la cytotoxicité de la gemcitabine sur la lignée HepG2 par exemple, comme celle des autres agents anticancéreux présentant une activité en partie temps-dépendante aurait été plus importante.

Nous n'expliquons donc pas pourquoi l'idarubicine est plus cytotoxique que les autres anthracyclines sur la lignée SNU-449 et pourquoi elle est plus cytotoxique que les 10 autres agents anticancéreux sur les 3 lignées cellulaires testées. Cependant, **la principale hypothèse avancée pour expliquer la supériorité de l'idarubicine est sa capacité à surmonter les phénomènes de MDR.**

Le CHC est en effet considéré comme une des pathologies cancéreuses les plus chimiorésistantes puisqu'aucune chimiothérapie IV n'a démontré qu'elle était efficace au cours d'un essai de phase III chez les patients atteints de cette pathologie [Bruix 2009]. La chimiorésistance des CHC est comme pour d'autres cancers notamment liée au phénomène de MDR [Petraccia 2003]. La MDR a été mise en évidence dans des cellules de mammifères en culture. Ces cellules, après exposition continue à des agents anticancéreux, présentaient la capacité de se multiplier malgré de fortes concentrations en substances cytotoxiques. Cette résistance a été initialement décrite par Biedler et Riehm en 1970 à partir de cellules de hamster chinois résistantes à l'actinomycine D et qui présentaient une résistance croisée vis-à-vis de molécules de structure et de mécanismes d'action totalement différents [Biedler 1970]. La MDR résulte de l'activation anormale de protéines membranaires d'efflux ATP-dépendantes, expulsant ainsi en grande quantité différents agents anticancéreux à l'extérieur de la cellule. Ces protéines de transport appartiennent à la famille des transporteurs ABC (ATP-binding cassette).

La glycoprotéine P (PgP ou ABCB1) est la protéine la plus représentative de cette famille. C'est une protéine membranaire de 170kDa qui est localisée sur le versant luminal des cellules. Elle est codée par le gène MDR1 localisé sur le chromosome 7 chez l'Homme et exprimée dans un certain

nombre de tissus tels que le côlon, le jéjunum, les glandes surrénales, le foie et les reins. La surexpression du gène MDR1, conduisant à une activation anormale de la PgP est retrouvée dans de nombreuses tumeurs notamment hépatiques [Petraccia 2003]. Outre la PgP, d'autres protéines sont impliquées dans les phénomènes de MDR comme la protéine MRP1 (Multidrug Resistance-associated Protein [ABCC1]), protéine membranaire de 190kDa ou la protéine BCRP (Breast Cancer Resistance Protein [ABCG2]) codée par le gène MXR (Mitoxantrone Resistance-associated gene). Concernant spécifiquement le CHC, il a été montré que la surexpression des gènes MDR1 et MRP1 était responsable de la résistance à la doxorubicine et au cisplatine de certaines lignées de CHC [Park 1994, Minemura 1999, Li 2007, Vander Borght 2008].

Il a été montré il y a quelques années que si l'efflux cellulaire des anthracyclines par la Pgp et MRP1 différait peu d'une molécule à l'autre, leur cinétique de pénétration était en revanche très variable [Mankhetkorn 1996]. **En raison de sa lipophilie** [Goebel 1993]**, l'idarubicine pénétre rapidement dans les cellules, conduisant à des concentrations intracellulaires élevées, dont nous supposons qu'elles sont responsables de la mort des cellules avant qu'elles n'aient le temps d'expulser la molécule**. L'idarubicine a démontré qu'elle était cytotoxique *in vitro* sur des lignées de myélome [Roovers 1999] et sur des lignées leucémiques résistantes à la doxorubicine et à la daunorubicine par des phénomènes de MDR [Berman 1992]. La surexpression connue de MDR1 par les cellules SNU-449 [Park 1994, Mok 2006] pourrait ainsi expliquer à la fois la résistance aux anthracyclines (hormis l'idarubicine) et donc la sensibilité à l'idarubicine observée dans notre expérience.

En parallèle à ce travail doctoral, nous avons réalisé différents travaux contribuant à expliquer la cytotoxicité majeure de l'idarubicine par sa propriété à surmonter les phénomènes de MDR. Ainsi, nous avons mis en évidence au cours d'expériences de cytotoxicité sur la lignée HepG2 et sur 2 lignées de cancer colique HCT-8 (issu d'un patient de 67 ans) et HT-29 (lignée connue pour sa chimiorésistance, issue d'une patiente de 44 ans) que si l'amiodarone majorait la cytotoxicité de la doxorubicine sur les 3 lignées, l'anti-arythmique n'augmentait en revanche pas la cytototoxicité de l'idarubicine sur aucune des 3 lignées. L'amiodarone a démontré par le passé qu'elle était capable de limiter l'efflux de la doxorubicine de cellules cancéreuses hépatiques et coliques, permettant ainsi de restaurer la sensibilité *in vitro* et *in vivo* des cellules à la doxorubicine [Chauffert 1986, Chauffert 1987, Favoulet 2001]. En parallèle à l'essai de cytotoxicité sur la lignée HT-29, nous avons également

déterminé les concentrations intracellulaires de doxorubicine et d'idarubicine après 3 temps d'exposition : 15 mn, 30 mn et 60 mn. Ces dosages ont été réalisés par HPLC en phase inverse avec détection de fluorescence. Nous avons mis en évidence que pour une concentration d'exposition de 500µg/ml (la seule concentration d'exposition à laquelle les mesures ont été faites), les concentrations intracellulaires d'idarubicine étaient environ 20 fois supérieures à celles de doxorubicine aux temps T=15 mn et T=30 mn. A T=60 mn, la concentration d'idarubicine dans les cellules HT-29 était environ 2 fois inférieure à celle observée à T=30 mn, témoignant d'un possible efflux de la molécule comme l'avait mis en évidence Mankhetkorn sur des cellules leucémiques [Mankhetkorn 1996] (Annexe 5).

Au vu des hypothèses émises, il serait intéressant de réaliser un second travail fondamental afin d'apporter des informations permettant expliquer la cytotoxicité supérieure de l'idarubicine par rapport aux autres agents anticancéreux sur les lignées de CHC. Une telle étude devrait s'attacher entre autres à mesurer l'expression de différentes protéines responsables de la MDR comme PgP ou MRP1 à la surface des cellules et à mesurer après différents temps d'exposition les concentrations intracellulaires des agents anticancéreux. Ce travail pourrait apporter des informations intéressantes sur les phénomènes de MDR liés au CHC et sur l'idarubicine en vue d'une utilisation potentielle dans des pathologies cancéreuses autres que les leucémies aiguës (ou le CHC si la molécule confirmait *in vivo* son intérêt *in vitro*).

Le vecteur

L'essai LIPIOAMIO avait pour objectif de savoir si l'addition d'amiodarone (à la fois potentialisateur de la cytotoxicité de la doxorubicine et de la pirarubicine sur des lignées de CHC et stabilisateur des émulsions à base de lipiodol et de doxorubicine (ou pirarubicine)) augmentait l'efficacité d'une CHE lipiodolée avec doxorubicine ou pirarubicine chez des patients atteints d'un CHC non résécable, non métastatique. Bien que nous n'ayons pas observé de différence statistique, il existe une tendance à la supériorité de l'addition d'amiodarone IV à une CHE à base de lipiodol et d'anthracycline sur tous les critères étudiés : taux de réponse, survie globale à 2 ans, survie sans progression. Un des facteurs pouvant expliquer cette non significativité est la faiblesse de notre effectif. Nous avons en effet décidé de clôturer prématurément l'essai, après inclusion de 27 patients

suite à la mise à disposition des microsphères d'embolisation chargées d'une part et pour se consacrer au protocole IDASPHERE d'autre part. Cependant le taux de survie > 50% à 2 ans dans le groupe des patients ayant reçu de l'amiodarone est un résultat encourageant au regard de la littérature sur la CHE [Bruix 2009]. Il l'est d'autant plus que la moitié de nos patients avaient une taille tumorale ≥ 8,5 cm et qu'une majorité d'entre eux présentaient une cirrhose alcoolique. Dans les autres essais randomisés français de CHE, les taux de survie à 2 ans dans des populations comparables étaient de 24%, 25% et 38% parmi ceux traités par CHE [GRETCH 1995, Pelletier 1998, Doffoël 2008]. Un des résultats importants de cet essai est d'avoir démontré la sécurité d'utilisation de l'amiodarone par voie IA en association à une CHE lipiodolée à base d'anthracycline.

Si cet essai dont l'objectif « caché » était de savoir si la stabilité d'une émulsion lipiodolée pour CHE augmentait son efficacité, est globalement négatif, nous n'avons pas abandonné nos recherches sur les émulsions lipiodolées pour plusieurs raisons.

Premièrement, comme nous n'avons pas mesuré les concentrations plasmatiques de doxorubicine chez les patients après les séances de CHE dans l'essai LIPIOAMIO, nous ne pouvons pas savoir si l'amiodarone stabilise « réellement » l'émulsion *in vivo*. Au moment où nous avons rédigé le protocole LIPIOAMIO, contrairement à ce que nous avons fait pour IDASPHERE, nous n'avions pas pensé dans les objectifs secondaires à réaliser une étude pharmacocinétique.

Deuxièmement, le lipiodol est toujours considéré comme le vecteur de choix pour la CHE des CHC multinodulaires et diffus, situations dans lesquelles une injection hypersélective avec les microsphères n'est pas adaptée [Raoul 2011]. Ainsi, nous proposons en RCP au CHU de Dijon un traitement par CHE lipiodolée chez les patients présentant un CHC multinodulaire/diffus.

Troisièmement, suite au travail de sélection *in vitro*, nous considérons désormais l'idarubicine comme l'agent anticancéreux le plus approprié pour la CHE des CHC. Une de ses caractéristiques principales étant la lipophilie, elle produit par nature des émulsions plus stables avec le lipiodol que ne le fait la doxorubicine. Ainsi, nous sommes en train de réaliser des travaux dont l'objectif est de savoir s'il est possible d'obtenir une émulsion à base de lipiodol et d'idarubicine qui soit à la fois stable dans le temps, injectable par voie IA sans danger pour le patient et réalisable de manière simple par le radiologue. Nos 1ers travaux montrent que l'utilisation de tensioactifs à HLB élevée voire

très élevée, comme les esters d'acides gras et de sorbitane polyoxyéthylénés, monostéarate de sorbitane polyoxyéthyléné ou polysorbate 60 (Montanox 60®, HLB = 14,9) et monolaurate de sorbitane polyoxyéthyléné ou polysorbate 20 (Montanox 20®, HLB = 16,7), permettent d'obtenir des émulsions eau dans huile à base d'idarubicine et de lipiodol stables 6 mois comme l'est une solution d'idarubicine dans des microsphères d'embolisation DC Bead™ (Annexe 6). La toxicité de ces agents tensioactifs est parfaitement connue, ces produits étant largement utilisés par les industriels dans les formes injectables médicamenteuses. Cela constitue d'ailleurs une de leurs limites ; ils sont vendus sous forme stériles uniquement en grands volumes à des prix élevés (250€ environ les 500 ml), peu adaptés à une utilisation hospitalière occasionnelle. Une autre limite est le fait qu'ils produisent y compris à très faible quantité, des émulsions très visqueuses qui sont difficilement injectables à travers les cathéters classiquement utilisés pour la CHE. Une dernière limite est le fait qu'ils produisent avec l'idarubicine et le lipiodol des émulsions avec des tailles de gouttelettes inférieures à 50µm (Annexe 6), ce qui amène à une grande prudence quand on connaît par exemple la toxicité d'un passage pulmonaire du lipiodol après CHE [Raoul 1988, de Baere 1995, Czauderna 2005, Shiah 2005]. L'amiodarone IV ne renforçant quasiment pas la stabilité d'une émulsion à base de lipiodol et d'idarubicine au cours des expériences sur les émulsions que nous avons mené, ni ne semblant majorer la cytotoxicité de l'agent anticancéreux, nous penchons pour l'utilisation potentielle d'une émulsion eau dans huile composée uniquement d'idarubicine et de lipiodol pour la CHE des CHC diffus.

Quatrièmement, au cours de nos travaux annexes sur la cytotoxicité de plusieurs agents anticancéreux (doxorubicine, épirubicine, idarubicine, carboplatine, cisplatine, oxaliplatine, mitomycine C, 5-FU) sur les 2 lignées de cancer colique HCT-8 et HT-29, l'idarubicine a démontré après 1h d'exposition qu'elle était la molécule la plus cytotoxique. Nous pensons donc que l'utilisation de l'idarubicine émulsionnée à du lipiodol pourrait être un traitement intéressant par voie IA sans embolisation dans le traitement des métastases hépatiques des cancers colorectaux mais également de tous cancers, traitement plus adapté que la CHE dans cette indication car les métastases hépatiques sont moins hypervascularisées que les CHC. Ainsi, nous avons rédigé un second protocole de phase I dont l'objectif est d'évaluer la tolérance et l'efficacité d'un traitement IA hépatique par une émulsion d'idarubicine et de lipiodol chez des patients atteints de métastases hépatiques quelle que soit la nature du cancer primitif, sans maladie extra-hépatique ou avec une maladie extra-

hépatique stable après arrêt supérieur à 2 mois d'un traitement antitumoral. Le protocole bicentrique LIDA (CHU Dijon, Centre Georges François Leclerc à Dijon) sera soumis en octobre 2011 à l'AFSSaPS. Le Dr Boris Guiu en sera l'investigateur principal.

Cinquièmement, le lipiodol présente à priori un avantage par rapport aux microsphères d'embolisation chargées pour la CHE des CHC : son faible coût. Le prix HT marché au CHU de Dijon en 2011 d'un flacon de Lipiodol® UltraFluide, d'Hepasphère™ et de DC Bead™ est de 22,9 €, 603,5 € et 690 € respectivement. Au-delà de l'apport clinique qui reste à démontrer, l'impact économique de l'introduction des microsphères d'embolisation dans la prise en charge globale des patients atteints d'un CHC non résécable, non métastatique reste à évaluer de manière rigoureuse. Nous avons réalisé une 1ère étude comparant selon deux méthodes de valorisation, les coûts médicaux hospitaliers directs d'une 1ère cure de CHE lipiodolée et d'une 1ère cure de CHE avec microsphères chez 30 patients atteints de CHC au CHU de Dijon [Malbranche 2011]. Le coût moyen valorisé par la comptabilité analytique de notre établissement s'élève à 4 332 € pour une 1ère cure de CHE lipiodolée et à 3 577 € pour une 1ère cure de CHE avec microsphères. Le coût moyen valorisé par les tarifs nationaux des GHS s'élève à 4 507 € (+175 €) pour une 1ère cure de CHE lipiodolée et à 2 852 € (−725 €) pour une 1ère cure de CHE avec microsphères. En conclusion de ce travail, une 1ère cure de CHE avec microsphères, valorisée d'après les tarifs d'hospitalisation des GHS, est significativement (p = 0,006) moins coûteuse qu'une CHE lipiodolée. Les différences de coûts entre les deux techniques quelle que soit la méthode de valorisation, peuvent s'expliquer par les durées moyennes d'hospitalisation des patients dans notre étude. Les patients recevant une CHE avec microsphères sont restés hospitalisés moins longtemps que les patients recevant une CHE lipiodolée (différence non significative). Deux hypothèses peuvent être émises. Premièrement, les patients ayant reçu des microsphères tolèrent mieux la CHE dans les 1ers jours que ceux ayant reçu une émulsion lipiodolée (probablement en lien avec un moindre relargage systémique de l'agent anticancéreux) et donc restent hospitalisés moins longtemps. Cette hypothèse est confortée par les résultats de l'étude de phase II PRECISION V qui rapporte un taux d'effets indésirables liés à la doxorubicine significativement plus faible (p = 0,015) chez les patients traités avec microsphères que chez ceux traités avec lipiodol [Marelli 2007]. Deuxièmement, si les caractéristiques initiales des patients de notre étude étaient statistiquement comparables quel que soit le traitement reçu, les patients traités par CHE lipiodolée avaient logiquement d'après nos pratiques (notre stratégie étant donc de proposer

une CHE lipiodolée chez les patients présentant un CHC multinodulaire/diffus), des tumeurs de plus grande taille en moyenne. La taille tumorale étant connue comme un facteur de risque de complications chez les patients traités par CHE pour un CHC [Takayasu 2006, Raoul 2011], elle pourrait également expliquer une durée d'hospitalisation légèrement supérieure en cas de CHE lipiodolée. Nous allons prochainement mener une étude qui comparera le coût global d'une stratégie de traitement du CHC par CHE lipiodolée et par CHE avec microsphères. La stratégie avec microsphères permet théoriquement de réaliser moins de cures chez les patients en raison de la non-resorbabilité de ces dispositifs médicaux. D'autres études médico-économiques sur la CHE des CHC sont impératives, la « pérennité des systèmes de santé actuels ne pouvant plus faire l'économie d'une priorisation des stratégies de santé » [Fagnoni 2006]. Hormis notre étude [Malbranche 2011], la littérature sur le sujet est inexistante.

Phase I IDASPHERE

Au cours de ce travail doctoral, nous avons montré que l'idarubicine pouvait être chargée dans les microsphères d'embolisation DC Bead™ ce qui nous a permis de débuter un essai de phase I afin de déterminer la DMT d'idarubicine chargée dans ces microsphères pour la CHE des CHC. La DMT n'est pas définie à ce jour.

A travers les 1ers résultats de pharmacocinétique, nous pouvons penser que les microsphères DC Bead™ constituent un bon vecteur pour l'idarubicine. Les concentrations plasmatiques d'idarubicine des patients dans les 72 h suivant la CHE sont très faibles si l'on se réfère aux concentrations plasmatiques d'idarubicine observées après administration IV d'idarubicine dans les essais d'hématologie et si l'on compare les valeurs obtenues par Varela avec la doxorubicine injectée dans les mêmes microsphères [Varela 2007]. Ces données paraissent en adéquation avec la relative bonne tolérance immédiate des CHE observée jusqu'ici dans le cadre de l'essai. Un seul patient sur 14 a présenté dans les 72h un syndrome post-embolisation associant nausées, douleurs abdominales et fièvre alors que ce syndrome survient habituellement chez plus de la moitié des patients après une CHE lipiodolée [Marelli 2007]. Il faudra attendre les résultats définitifs de l'essai pour avoir une idée « précise » des toxicités d'une CHE par microsphères chargées avec de l'idarubicine. Seule une étude comparant une CHE lipiodolée avec idarubicine à une CHE par

microsphères chargées avec de l'idarubicine permettra de savoir si les microsphères apportent un réel avantage, à savoir une augmentation de l'efficacité et une diminution de la toxicité, en lien avec un relargage local et contrôlé de l'agent anticancéreux.

Au 17 août 2011, 14 patients ont été traités dans l'essai soit un rythme d'inclusions légèrement inférieur à 1 par mois. La méthode d'escalade de dose choisie (changement de palier potentiel à chaque nouveau patient), le délai d'1 mois que nous avons fixé pour définir une DLT et la prudence dont nous avons fait preuve suite aux 1ères toxicités expliquent notre fréquence de recrutement. Ce rythme est cependant à peu près conforme à ce que nous avions envisagé dans le calendrier prévisionnel de l'essai, à savoir 18 mois de recrutement pour 18 patients. La méthode CRM est de plus en plus utilisée pour l'escalade des doses dans les essais de phase I notamment en cancérologie. Cette technique présente l'avantage de pouvoir changer de palier après chaque patient traité, en évitant de « sous traiter » des patients à des doses qui seraient considérées comme inefficaces. A l'inverse, elle permet facilement de baisser de palier en cas de toxicité dès le 1er patient, ce qui a été le cas dans notre essai. La technique CRM peut présenter l'inconvénient de ne pas toujours connaître la dose à laquelle sera traité un patient au moment de la signature du consentement éclairé.

A la suite des 1ers résultats que nous considérons comme encourageants, nous envisageons une suite à l'essai de phase I. Le protocole IDASPHERE II sera un essai de phase II randomisé comparant à priori 3 bras de traitement chez des patients atteints d'un CHC non résécable, non métastatique : un bras idarubicine-microsphères DC Bead™, un bras doxorubicine-microsphères DC Bead™ et un bras idarubicine-lipiodol. Il devrait être réalisé sous l'égide de la Fédération Francophone de Cancérologie Digestive (FFCD). Une présentation de ce protocole a été faite le 26 mai 2011 lors d'un Conseil Scientifique de la FFCD et le 20 septembre 2011 devant le sous-groupe foie de la FFCD. Il faudra au vu de l'historique des essais de CHE, recruter un nombre suffisant de patients pour pouvoir observer une différence entre les bras de traitement. A ce sujet, le laboratoire Biosphere Medical qui teste actuellement au cours d'un essai de phase III une CHE par microsphères HepaSphere™ chargées avec de la doxorubicine *vs*. une CHE lipiodolée avec doxorubicine a prévu d'inclure 600 patients [NIH. ClinicalTrials.gov. Hepasphere]. Les essais de CHE publiés depuis 30 ans ont rarement inclus plus de 100 patients, ce qui pourrait expliquer en partie la négativité de certains.

Nous prévoyons d'inclure dans le protocole IDASPHERE II environ 150 patients (soit 50 par bras) d'après les hypothèses suivantes : un taux de progression à 8 mois dans le bras idarubicine-microsphères > 60% serait inintéressant pour un passage en phase III, un taux de progression à 8 mois dans le bras idarubicine-microsphères < 40% serait espérée, avec une puissance de 85%. Le critère Time To Progression ou son pendant le taux de progression est le critère principal de jugement recommandé mondialement pour les essais de phase II sur le CHC [Llovet *J. Natl. Cancer. Inst.* 2008]. Différents centres ont d'ores et déjà donné leur accord pour participer à cet essai qui sera évidemment multicentrique.

La CHE des CHC en 2011

Outre les questions de l'agent anticancéreux et de son vecteur abordées dans ce travail doctoral, de très nombreuses questions restent en suspens concernant la CHE des CHC en 2011 : faut il privilégier un traitement « à la demande » en fonction de l'évolution radiologique, comme l'ont prôné il y a quelques mois le Pr Raoul et un panel d'experts du CHC [Raoul 2011] ; faut il répéter les cures comme cela se fait généralement en oncologie afin d'augmenter la qualité des réponses alors que cette stratégie est plus toxique pour les patients ; faut il faire le traitement le plus sélectif possible ; quel doit être l'intervalle entre 2 cures ; faut il traiter tous les patients de stade intermédiaire B ; faut il proposer une CHE aux patients en attente d'une transplantation hépatique ; faut il associer des médicaments antiangiogéniques comme le sorafénib à la CHE ; comment prévoir la tolérance d'une CHE ; comment prévoir l'efficacité d'une CHE. Sur ce dernier point, 2 auteurs viennent de montrer que la valeur des GGT avant traitement, marqueur on ne peut plus simple, était prédictive de la survie des patients traités par CHE [Zhang 2011, Guiu 2011]. Ce dernier exemple illustre l'étendue des progrès et des travaux à effectuer dans le domaine de la CHE des CHC. Nous pensons que l'avenir à moyen terme des patients atteints d'un CHC non opérable passera par la combinaison de traitements de type CHE, radiofréquence et sorafénib, notamment.

CONCLUSION

La CHE est le traitement de référence des patients atteints d'un CHC de stade intermédiaire B de la classification BCLC. Ce traitement reste très empirique et le taux de survie des patients à 2 ans ne dépasse pas 50%.

Ce travail avait pour objectif d'améliorer la procédure de CHE, en essayant d'optimiser d'une part l'agent anticancéreux, d'autre part son vecteur.

Nous avons démontré au cours d'un travail *in vitro* que l'idarubicine, anthracycline utilisée dans le traitement des leucémies aiguës, est l'agent anticancéreux le plus cytotoxique sur 3 lignées humaines de CHC. Ce travail permet d'avancer 2 avantages potentiels de l'idarubicine pour la CHE des CHC. Premièrement, elle présente les index de cytotoxicité les plus élevés sur les 3 lignées testées ce qui pourrait représenter un avantage majeur *in vivo* en raison de l'importance du débit sanguin hépatique chez l'Homme. Deuxièmement, l'idarubicine est plus cytotoxique que les 10 autres agents anticancéreux testés dont tous ceux utilisés en pratique clinique pour la CHE des CHC.

Ces 2 avantages potentiels de l'idarubicine pour la CHE des CHC sont d'autant plus intéressants que nous avons montré que la molécule était chargeable dans les microsphères d'embolisation DC Bead™ et que la solution obtenue était stable plusieurs mois. Les microsphères d'embolisation DC Bead™ ayant démontré sur des modèles animaux et chez l'Homme leur capacité à libérer de manière progressive et contrôlée la doxorubicine au contact de la tumeur lors d'une CHE, nous avons fait l'hypothèse qu'une CHE consistant en l'injection d'idarubicine dans des microsphères d'embolisation DC Bead™ pourrait être un traitement efficace chez des patients atteints d'un CHC non résécable non métastatique. Les 1ers résultats de l'essai de phase I IDASPHERE qui teste cette stratégie de traitement sont encourageants en termes de tolérance et tendent à prouver que les microsphères DC Bead™ sont un bon vecteur pour l'idarubicine. Il est trop tôt pour juger de l'efficacité de cette nouvelle CHE même si l'essai apportera des informations sur les réponses tumorales. L'essai sera prolongé par un essai de phase II randomisé.

En parallèle, si l'essai LIPIOAMIO présenté dans ce travail est globalement négatif, nous n'avons pas abandonné nos recherches sur les émulsions lipiodolées. En raison de sa capacité à produire une émulsion stable avec le lipiodol et de sa cytotoxicité sur des lignées hépatiques mais

aussi coliques, nous pensons qu'une émulsion à base d'idarubicine et de lipiodol injectée par voie IA avec embolisation (CHE) et sans embolisation (chimiothérapie IA lipiodolée) pourrait être un traitement efficace chez les patients atteints d'un CHC multinodulaire/diffus et de métastases hépatiques, respectivement.

En conclusion, de très nombreux travaux fondamentaux, comme par exemple l'étude de la diffusion *in vivo* des agents anticancéreux à partir de leurs vecteurs, mais aussi cliniques sur la CHE restent à entreprendre pour améliorer la survie des patients atteints d'un CHC non résécable, non métastatique.

BIBLIOGRAPHIE

1. Adams LA, Lymp JF, St Sauver J, et al. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease : a population-based cohort study. *Gastroenterology.*, 2005, 129, 113-121.

2. Aguilar J, Hussein SP, Cerutti P, et al. Aflatoxin B1 induces the transversion of G-->T in codon 249 of the P53 tumor suppressor gene in human hepatocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1993, 90, 8586-8590.

3. Altekruse SF, McGlynn KA, Reichmann ME. Hepatocellular carcinoma incidence, mortality and survival trends in the United States from 1975 to 2005. *J. Clin. Oncol.,* 2009, 27, 485-491.

4. American Type Culture Collection. Cultures and Products. Disponible sur : http://www.atcc.org/ATCCAdvancedCatalogSearch/ProductDetails/tabid/452/Default.aspx?ATCCNum=CCL-244&Template=cellBiology. [Consulté le 20 décembre 2008].

5. Beaugrand M, Trinchet JC. Interventional radiology as a fine art. *J. Hepatol.*, 2007, 46, 362-364.

6. Belot A, Grosclaude P, Bossard N, et al. Cancer incidence and mortality In France over the period 1980-2005. *Rev. Epidemiol. Sante. Publique.*, 2008, 56, 159-175.

7. Berman C. Primary Carcinoma of the Liver. London: Lewis, 1951, p. 19-36.

8. Berman E, Heller G, Santorsa JA, et al. Results of a randomized trial comparing idarubicin and cytosine arabinoside with daunorubicin and cytosine arabinoside in adult patients with newly diagnosed acute myelogenous leukemia. *Blood.,* 1991, 77, 1666-1674.

9. Berman E, McBride M. Comparative cellular pharmacology of daunorubicin and idarubicin in human multidrug-resistant leukemia cells. *Blood.,* 1992, 79, 3267-3273.

10. Berrino F, De AR, Sant M, et al. Survival for eight major cancers and all cancers combined for European adults diagnosed in 1995-99 : results of the EUROCARE-4 study. *Lancet. Oncol.*, 2007, 8, 773-783.

11. Bhide SV, Shivapurkar NM, Gothoskar SV, et al. Carcinogenicity of betel quid ingredients: feeding mice with aqueous extract and the polyphenol fraction of betel nut. *Br. J. Cancer.*, 1979, 40, 922-926.

12. Biedler JL, Riehm H. Cellular resistance to actinomycin D in Chinese hamster cells in vitro: cross-resistance, radioautographic, and cytogenetic studies. *Cancer. Res.,* 1970, 30, 1174-1184.

13. Biocompatibles. Products. DC Bead™. Disponible sur : http://assets.biocompatibles.com/products/uploads/Files/brochures/dcbead/ClinicalTrialProgramme.pdf. [Consulté le 4 juillet 2011].

14. Biocompatibles. Products. DC Bead™. FAQ. Disponible sur : http://assets.biocompatibles.com/products/uploads/FAQs/How_does_the_doxorubicin_load_into_DC_Bead.pdf. [Consulté le 4 juillet 2011].

15. Biocompatibles. Products. DC Bead™. Instructions for use. Disponible sur : http://assets.biocompatibles.com/products/uploads/Files/instructions/dcbead/DC%20Bead%20IFU%20%20French.pdf. [Consulté le 4 juillet 2011].

16. BioSphere Medical. HepaSphere™. Instructions for use. Disponible sur : http://www.biospheremed.com/publication_files/MS_08-03_Rev_C_GB_03-11_HS_DOXO_IFU.pdf. [Consulté le 4 juillet 2011].

17. BioSphere Medical. HepaSphere™. Loading HepaShere™. Disponible sur : http://www.biospheremed.com/publication_files/025110_Hep_Wlchrt_v2FINAL.pdf. [Consulté le 4 juillet 2011].

18. Bismuth H, Majno PE, Adam R. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Semin. Liv. Dis*., 1999, 19, 311-322.

19. Bismuth H, Majno PE, Kunstlinger F. Anatomie macroscopique du foie. In Benhamou JP, Bircher J, Mc Intyre N, Rizzetto M, Rodès J, 2e ed. Hépatologie clinique. Paris : Flammarion, 2003, p 3-13.

20. Borgna-Pignatti C, Vergine G, Lombardo T, et al. Hepatocellular carcinoma in the thalassemia syndromes. *Br. J. Haematol*., 2004, 124, 114-117.

21. Borie F, Bouvier AM, Herrero A, et al. Treatment and prognosis of hepatocellular carcinoma: a population based study in France. *J. Surg. Oncol*., 2008, 98, 505-509.

22. Boulin M, Ciboulet A, Guiu B, et al. Randomised Controlled Trial of Lipiodol Transarterial Chemoembolisation with or without amiodarone for Unresectable Hepatocellular Carcinoma. *Dig. Liver. Dis*., 2011, 43, 905-911.

23. Bressac B, Kew M, Wands J, et al. Selective G to T mutations of p53 gene in hepatocellular carcinoma from Southern Africa. *Nature*., 1991, 350, 429-431.

24. Brissot P, Lainé F, Moirand R, Loréal O. Génétique et physiopathologie de l'hémochromatose. *Rev. Prat*., 2000, 50, 972-976.

25. Broggini M, Italia C, Colombo T, Marmonti L, Donellim MG. Activity and distribution of i.v. and oral 4-demethoxydaunorubicin in murine experimental tumors. *Cancer. Treat. Rep.,* 1984, 68, 739-747.

26. Bruix J, Llovet JM, Castells A, et al. Transarterial embolization versus symptomatic treatment in patients with advanced hepatocellular carcinoma: results of a randomized controlled trial in a single institution. *Hepatology*., 1998, 27, 15, 1578-1583.

27. Bruix J, Sherman M, Llovet JM, et al. Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL conference. European Association for the Study of the liver. *J. Hepatol*., 2001, 35, 421-430.

28. Bruix J, Sherman M. Practice Guidelines Committee, American Association for the Study of Liver Diseases. Management of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*., 2005, 42, 1208-1236.

29. Bruix J, Llovet JM. Major achievements in hepatocellular carcinoma. *Lancet.,* 2009, 373, 614−616.

30. Buijs M, Vossen JA, Frangakis C, et al. Nonresectable hepatocellular carcinoma: long-term toxicity in patients treated with transarterial chemoembolization—single-center experience. *Radiology.,* 2008, 249, 346-354.

31. Burroughs A, Hochhauser D, Meyer T. Systemic treatment and liver transplantation for hepatocellular carcinoma: two ends of the therapeutic spectrum. *Lancet. Oncol.,* 2004, 5, 409−418.

32. Camma C, Schepis F, Orlando A, et al. Transarterial chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma: meta-analysis of randomized control trials. *Radiology.,* 2002, 224, 47−54.

33. Cercueil JP, Ferrant E, Isambert N, et al. Sustained clinical response of large hepatocellular carcinoma after chemoembolisation with pirarubicin, amiodarone and lipiodol. *Gastroenterol. Clin. Biol*., 2004, 28, 1281-1283.

34. Chang MH, Chen CJ, Lai MS, et al. Universal hepatitis B vaccination in Taiwan and the incidence of hepatocellular carcinoma in children. Taiwan Childhood Hepatoma Study Group. *N. Engl. J. Med.*, 1997, 336, 1855-1859.

35. Chauffert B, Martin M, Hamman A, et al. Amiodarone-induced enhancement of doxorubicin and 4'-deoxydoxorubicin cytotoxicity to rat colon cancer cells in vitro and in vivo. *Cancer. Res*., 1986, 46, 825-830.

36. Chauffert B, Rey D, Coudert B, Dumas M, Martin F. Amiodarone is more efficient than verapamil in reversing resistance to anthracyclines in tumour cells. *Br. J. Cancer*., 1987, 56, 119-122.

37. Chen CJ, Wang LY, Lu SN, et al. Elevated aflatoxin exposure and increased risk of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*., 1996, 24, 38-42.

38. Cheng AL, Kang YK, Chen Z, et al. Efficacy and safety of sorafenib in patients in the Asia-Pacific region with advanced hepatocellular carcinoma: a phase III randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet. Oncol*., 2009, 10, 25-34.

39. Cheng AL, Kang Y, Lin D, et al. Phase III trial of sunitinib versus sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *J. Clin. Oncol*., 2011, 29 (suppl 1) A4000.

40. Cho YK, Kim JK, Kim MY, Rhim H, Han JK. Systematic review of randomized trials for hepatocellular carcinoma treated with percutaneous ablation therapies. *Hepatology.*, 2009, 49, 453-459.

41. Chung JW, Park JH, Han JK, et al. Hepatic tumors: predisposing factors for complications of transcatheter oily chemoembolization. *Radiology*., 1996, 198, 33-40.

42. Chunhu Z, Suiyu H, Meiqun C, Guilin X, Yunhui L. Antiproliferative and apoptotic effects of paeonol on human hepatocellular carcinoma cells. *Anticancer. Drugs.,* 2008, 19: 401−409.

43. Chuu JJ, Liu JM, Tsou MH, et al. Effects of paclitaxel and doxorubicin in histocultures of hepatocellular carcinomas. *J. Biomed. Sci.,* 2007, 14, 233−244.

44. Cillo U, Vitale A, Grigoletto F, et al. Prospective validation of the BCLC staging classification. *J. Hepatol*., 2006, 44, 723-731.

45. Cancer of the Liver Italian Program (CLIP). A new prognostic system for hepatocellular carcinoma : a retrospective study of 435 patients. *Hepatology*., 1998, 28, 751-755.

46. Corrao G, Bagnardi V, Zambon A, et al. A meta-analysis of alcohol consuption and the risk of 15 diseases. *Prev. Med*., 2004, 38, 613-619.

47. Coursaget P, Depril N, Chabaud M, et al. High prevalence of mutations at codon 249 of the p53 gene in hepatocellular carcinomas from Senegal. *Br. J. Cancer*., 1993, 67, 1395-1397.

48. Covolo F, Gelatti U, Talamini R, et al. Alcohol dehydrogenase 3, glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms, alcohol consumption and and hepatocellular carcinoma (Italy). *Cancer. Causes. Control*., 2005, 16, 831-838.

49. Czauderna P, Zbrzezniak G, Narozanski W, Sznurkowska K, Skoczylas-Stoba B, Stoba C. Pulmonary embolism: a fatal complication of arterial chemoembolization for advanced hepatocellular carcinoma. *J. Pediatr. Surg*., 2005, 40, 1647-1650.

50. de Alwis NM, Day CP. Non-alcoholic fatty liver disease: the mist gradually clears. *J. Hepato*l., 2008, 48 (Suppl 1), 104-112.

51. de Baere T, Dufaux J, Roche A, et al. Circulatory alterations induced by intra-arterial injection of iodized oil and emulsions of iodized oil and doxorubicin: experimental study. *Radiology*., 1995, 194,165-170.

52. de Baere T, Zhang X, Aubert B, et al. Quantification of tumor uptake of iodized oils and emulsions of iodized oils: experimental study. *Radiology*., 1996, 201, 731-735.

53. de Luis E, Bilbao JI, de Ciércoles JA. In vivo evaluation of a new embolic spherical particle (HepaSphere) in a kidney animal model. *Cardiovasc. Intervent. Radiol*., 2008, 31, 367-376.

54. Desprès JP, Lemieux I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature*., 2006, 444, 881-887.

55. Deugnier Y. Anatomo-Physiologie du foie. Polycopié Médecine M2 - Sémiologie du Foie et des Voies Biliaires, Université de Médecine de Rennes 1. Disponible sur : www.med.univ-rennes1.fr/resped/s/semio/semiodigestif/AnatomoPhysioFoie.pdf. [Consulté le 8 juin 2011].

56. Dhanasekaran R, Kooby D, Staley C, et al. Comparison of Conventional Transarterial Chemoembolization (TACE) and Chemoembolization with Doxorubicin Drug Eluting Beads (DEB) for Unresectable Hepatocellular Carcinoma. *J. Surg. Oncol*., 2010, 101, 476-480.

57. Dharancy S, Boitard J, Decaens T, et al. Comparison of two techniques of transarterial chemoembolization before liver transplantation for hepatocellular carcinoma: a case-control study. *Liver. Transpl*., 2007, 13, 665-671.

58. Directive 2007/47/CE du parlement européen et du conseil du 5 septembre 2007 modifiant la directive 90/385/CEE du Conseil concernant le rapprochement des législations des États membres relatives aux dispositifs médicaux implantables actifs, la directive 93/42/CEE du Conseil relative aux dispositifs médicaux et la directive 98/8/CE concernant la mise sur le marché des produits biocides. Journal Officiel de l'Union Européenne, 21 septembre 2007. Disponible sur : http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2007:247:0021:0055:FR:PDF. [consulté le 7 juillet 2011].

59. Directive 93/42/CEE du conseil du 14 juin 1993 relative aux dispositifs médicaux. Journal Officiel des Communautés Européennes, 12 juillet 1993. Disponible sur : http://www.lne.fr/publications/directives/93-42.pdf. [Consulté le 7 juillet 2011].

60. Doffoël M, Bonnetain F, Bouché O, et al. Multicentre randomised phase III trial comparing Tamoxifen alone or with Transarterial Lipiodol Chemoembolisation for unresectable hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients (Fédération Francophone de Cancérologie Digestive 9402). *Eur. J. Cancer*., 2008, 44, 528-538.

61. Donato F, Tagger A, Gelatti U, et al. Alcool and hepatocellular carcinoma: the effect of lifetime intake and hepatitis virus infections in men and women. *Am. J. Epidemiol.*, 2002, 155, 323-331.

62. Doyon D, Mouzon A, Jourde AN, et al. L'embolisation artérielle hépatique dans les tumeurs malignes du foie. *Ann. Radiol*., 1974, 17, 593-603.

63. Ebied OM, Federle MP, Carr BI, et al. Evaluation of responses to chemoembolization in patients with unresectable hepatocellular carcinoma. *Cancer.*, 2003, 97, 1042-1050.

64. Edwards CQ, Griffen LM, Goldgar D, et al. Prevalence of hemochromatosis among 11,065 presumably healthy blood donors. *N. Engl. J. Med*., 1988, 318, 1355-1362.

65. Eggel H. Uber das primare carcinom der leber. *Beitr. Pathol. Anat*., 1901, 30, 506-604.

66. El Gohary A, Hassan A, Nooman Z, et al. High prevalence of hepatitis C virus among urban and rural population groups in Egypt. *Acta. Trop*., 1995, 59, 155-161.

67. Elmberg M, Hultcranz R, Ekbom A, et al. Cancer risk in patients with hereditary hemochromatosis and in their first-degree relatives. *Gastroenterology.,* 2003, 125, 1733-1741.

68. El-Serag HB, Mason AC. Rising incidence of hepatocellular carcinoma in the United States. *N. Engl. J. Med*., 1999, 340, 745-750.

69. El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology.*, 2007, 132, 2257-2276.

70. Fagnoni P. *L'évaluation pharmaco-économique, outil d'optimisation des thérapeutiques en mileu hospitalier : Applications pragmatiques en Onco-Hématologie*, 182 p. Thèse : Sciences de la Vie et de la Santé. Pharmacie Clinique : Besançon : 2006.

71. Farrell GC, Larter CZ. Nonalcoholic fatty liver disease: from steatosis to cirrhosis. *Hepatology.,* 2006, 43 (Suppl 1), 99-112.

72. Fattovich G, Pantalena M, Zagni I, et al. Effect of hepatitis B and C virus infections on the natural history of compensated cirrhosis: a cohort study of 297 patients. *Am. J. Gastroenterol.,* 2002, 97, 2886-2995.

73. Favoulet P, Cercueil JP, Faure P, et al. Increased cytotoxicity and stability of Lipiodol-pirarubicin emulsion compared to classical doxorubicin-Lipiodol: potential advantage for chemoembolisation of unresectable hepatocellular carcinoma. *Anticancer. Drugs*., 2001, 12, 801-806.

74. FDA, Food and Drug Administration, Center for Device and Radiological Health Immunotoxicity Testing Guidance. Rockville, FDA, 1999.

75. Feder JN, Gnirke A, Thomas W, et al. A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary hemochromatosis. *Nat. Genet*., 1996, 13, 399-408.

76. Fogarty International Liver Proceedings No 22. Diseases of the liver and biliary tract. Standardization of nomenclature, diagnostic criteria, and diagnostic methodology. Washington DC: NIR, 1976, p. 79-81.

77. Forner A, Reig ME, Rodriguez de Lope C, Bruix J. Current strategy for staging and treatment : the BCLC update and future prospects. *Semin. Liver. Dis*., 2010, 30, 61-74.

78. Fracanzani AL, Conte D, Fraquelli M, et al. Increased cancer risk in a cohort of 230 patients with hereditary hemochromatosis in comparison to matched control patients with non-iron-related chronic liver disease. *Hepatology*., 2001, 33, 647-651.

79. Frank C, Mohammed MK, Strickland GT, et al. The role of parenteral antischistosomal therapy in the spread of hepatitis C virus in Egypt. *Lancet.*, 2000, 355, 887-891.

80. Fujimoto S, Miyazaki M, Endoh F, Takahashi O, Okui K, Morimoto Y. Biodegradable mitomycin C microspheres given intra-arterially for inoperable hepatic cancer. *Cancer*., 1985, 56, 2404-2410.

81. Gates J, Hartnell GG, Stuart KE, et al. Chemoembolisation of hepatic neoplasms: safety, complications, and when to worry. *Radiographics*., 1999, 19, 399-414.

82. Gehan EA. Clinical trials in cancer research. *Environ. Health. Perspect*., 1979, 32, 31-48.

83. Globocan 2008. International Agency for Research on Cancer (IARC). Globocan Cancer Fact Sheets : Liver Cancer. Disponible sur : http://globocan.iarc.fr/factsheets/cancers/liver.asp. [Consulté le 15 juin 2011].

84. Goebel M. Oral idarubicin--an anthracycline derivative with unique properties. *Ann. Hematol.* 1993, 66, 33−43.

85. Golfieri R, Cappelli A, Cucchetti A, et al. Efficacy of selective transarterial chemoembolization in inducing tumor necrosis in small (<5 cm) hepatocellular carcinomas. *Hepatology*., 2011, 53, 1580-1589.

86. Grosso M, Vignali C, Quaretti P, et al. Transarterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma with drug eluting microspheres : preliminary results from an Italian multicentre study. *Cardiovasc. Intervent. Radiol.,* 2008, 31, 1141-1149.

87. Groupe d'Etude et de Traitement du Carcinome Hépatocellulaire. A comparison of lipiodol chemoembolisation and conservative treatment for unresectable hepatocellular carcinoma. *N. Engl. J. Med*., 1995, 332, 1256-1261.

88. Guerbet M, Bonnemain B. Histoire du lipiodol (1901-1994) ou comment un médicament peut évoluer avec son temps. *Rev. Hist. Pharm*., 1995, 83, 159-170.

89. Guiu B, Colin C, Cercueil JP, et al. Pilot study of transarterial chemoembolization with pirarubicin and amiodarone for unresectable hepatocellular carcinoma. *Am. J. Clin. Oncol.,* 2009, 32, 238-244.

90. Guiu B, Minello A, Cottet V, et al. A 30-year, population-based study shows improved management and prognosis of hepatocellular carcinoma. *Clin. Gastroenterol. Hepatol*., 2010, 8, 986-991.

91. Guiu B, Deschamps F, Aho S, et al. Liver/Biliary Injuries following Chemoembolisation of Endocrine Tumours and Hepatocellular Carcinoma: Lipiodol Versus Drug-eluting Beads. *J. Hepatol*., 2011, [Epub ahead of print].

92. Guiu B, Deschamps F, Boulin M, et al. Serum gamma-glutamyl-transferase independently predicts survival after TACE of intermediate-stage hepatocellular carcinoma: external validation. *Cardiovasc. Interv. Radiol.* Accepté septembre 2011.

93. Hanoun N, Bureau C, Diab T, et al. The SV2 variant of KLF6 is down-regulated in hepatocellular carcinoma and displays anti-proliferative and pro-apoptotic functions. *J. Hepatol.,* 2010, 53, 880-888.

94. Haute autorité de Santé. Avis de la Commission de la Transparence du 5 mars 2008. Nexavar® 200 mg, comprimé pelliculé. Disponible sur : http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/ct-5225_nexavar_.pdf. [Consulté le 2 juillet 2011].

95. Heresbach D, Raoul JL, Bentue-Ferrer D, Bretagne JF, Van Den Driessche J, Gastard J. Chimiothérapie couplée au Lipiodol®. Etude in vitro de la cinétique de liberation de l'adriamycine. *Gastroenterol. Clin. Biol.,* 1989, 13, 775-778.

96. Hibbs RG, Corwin AL, Hassan NF, et al. The epidemiology of antibody to hepatitis C in Egypt. *J. Infect. Dis*., 1993, 168, 789-790.

97. Hino T, Kawashima Y, Shimabayashi S. Basic study for stabilization of w/o/w emulsion and its application to transcatheter arterial embolization therapy. *Adv. Drug. Deliv. Rev*., 2000, 45, 27-45.

98. Hong K, Khwaja A, Liapi E, Torbenson MS, Georgiades CS, Geschwind JF. New intra-arterial drug delivery system for the treatment of liver cancer : preclinical assessment in a rabbit model of liver cancer. *Clin. Cancer. Res*., 2006, 12, 2563-2567.

99. Horiguchi Y, Itoh M, Takagawa H, et al. Assessment of chemoembolization therapy for primary liver cancer using a stabilized adriamycin-lipiodol suspension. *Cancer. Chemother. Pharmacol*., 1992, 31 (Suppl 1), 60-64.

100. Hsing AW, Mc Laughlin JK, Olsen JH, et al. Cancer risk following primary hemochromatosis: a population-based cohort study in Denmark. *Int. J. Cancer.*, 1995, 60, 160-162.

101. Hsu IC, Metcalf RA, Sun T, et al. Mutational hotspot in the p53 gene in human hepatocellular carcinomas. *Nature*., 1991, 350, 427-428.

102. Ichihara T, Sakamoto K, Mori K, Akagi M. Transcatheter arterial chemoembolization therapy for hepatocellular carcinoma using polylactic acid microspheres containing aclarubicin hydrochloride. *Cancer. Res*., 1989, 49, 4357-4362.

103. Institut National de Veille sanitaire. Prévalence des hépatites B et C en France en 2004. 114 pages. Disponible sur : http://www.invs.sante.fr/publications/2006/prevalence_b_c/index.html. [Consulté le 15 janvier 2011].

104. Ishimori S, Hattori M, Shibata Y, Shizawa H, Fujinaga R. Treatment of carotid-cavernous fistula with gelfoam embolization. *J. Neurosurg*., 1967, 27, 315-319.

105. Ishizawa T, Hasegawa K, Aoki T, et al. Neither multiple tumors nor portal hypertension are surgical contraindications for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*., 2008, 134, 1908-1916.

106. Jeng JH, Chang MC, Hahn LJ, et al. Role of areca nut in betel quid-associated chemical carcinogenesis: current awareness and future perspectives. *Oral. Oncol*., 2001, 37, 477-492.

107. Johnson PJ, Kalayci C, Dobbs N, et al. Pharmacokinetics and toxicity of intraarterial adriamycin for hepatocellular carcinoma: effect of coadministration of lipiodol. *J. Hepatol*., 1991, 13, 120-127.

108. Jonas S, Bechstein WO, Steinmuller T, et al. Vascular invasion and histopathologic grading determine outcome after liver transplantation for hepatocellular carcinoma in cirrhosis. *Hepatology*., 2001, 33, 1080-1086.

109. Kalayci C, Johnson PJ, Roby N, Metivier EM, Williams R. Intra-arterial doxorubicin and Lipiodol for inoperable hepatocellular carcinoma: a comparison with intravenous doxorubicin. *J. Hepatol*., 1990, 11, 349-353.

110. Kamel MA, Ghaffar YA, Wasef MA, et al. High HCV prevalence in Egyptian blood donors. *Lancet.*, 1992, 340, 427.

111. Kane M. Global programme for control of hepatitis B infection. *Vaccine.*, 1995, 13 (Suppl 1), 47-49.

112. Kao JH, Chen DS. Changing disease burden of hepatocellular carcinoma in the Far East and Southeast Asia. *Liv. Int.*, 2005, 25, 696-703.

113. Kaplan EL, Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *J. Am. Stat. Assoc.*, 1968, 53, 457-481.

114. Katagiri Y, Mabuchi K, Itakura T, et al. Adriamycin-lipiodol suspension for i.a. chemotherapy of hepatocellular carcinoma. *Cancer. Chemother. Pharmacol.*, 1989, 23, 238-242.

115. Kato T, Nemoto R, Mori H, Takahashi M, Harada M. Arterial chemoembolization with mitomycin C microcapsules in the treatment of primary or secondary carcinoma of the kidney, liver, bone and intrapelvic organs. *Cancer*. 1981, 48, 674-680.

116. Kato T, Nemoto R, Mori H, Takahashi M, Tamakawa Y, Harada M. Arterial chemoembolization with microencapsulated anticancer drug. An approach to selective cancer chemotherapy with sustained effects. *JAMA*., 1981, 245, 1123-1127.

117. Kato T, Nemoto R, Mori H, Takahashi M, Tamakawa Y. Transcatheter arterial chemoembolization of renal cell carcinoma with microencapsulated mitomycin C. *J. Urol.*, 1981, 125, 19-24.

118. Kato T, Sato K, Sasaki R, Kakinuma H, Moriyama M. Targeted chemotherapy with arterial microcapsule chemoembolization: review of 1013 patients. *Cancer. Chemother. Pharmacol.*, 1996, 37, 289-296.

119. Kawai S, Tani M, Okamura J, et al. Prospective and randomized trial of lipiodol-transcatheter arterial chemoembolization for treatment of hepatocellular carcinoma: A comparison of epirubicin and doxorubicin (second cooperative study). The Cooperative Study Group for Liver Cancer Treatment of Japan. *Semin. Oncol.,* 1997, 24 (suppl 1), 6-15.

120. Kirk GD, Bah E, Montesano R. Molecular epidemiology of human liver cancer: insights into etiology, pathogenesis and prevention from the Gambia, West Africa. *Carcinogenesis.*, 2006, 27, 2070-2082.

121. Kiyosawa K, Sodeyama T, Tanaka E, et al. Interrelationship of blood transfusion, non-A, non-B hepatitis and hepatocellular carcinoma: analysis by detection of antibody to hepatits C virus. *Hepatology*., 1990, 12, 671-675.

122. Konno T, Maeda H, Iwai K, et al. Effect of arterial administration of high-molecular-weight anticancer agent SMANCS with lipid lymphographic agent on hepatoma: a preliminary report. *Eur. J. Cancer. Clin. Oncol*., 1983, 19, 1053-1065.

123. Konno T. Targeting cancer chemotherapeutic agents by use of lipiodol contrast medium. Cancer., 1990, 66, 1897-1903.

124. Kudo M, Chung H, Osaki Y. Prognostic staging system for hepatocellular carcinoma (CLIP score): its value and limitations, and a proposal for a new staging system, the Japan Integrated Staging Score (JIS score). *J. Gastroenterol*., 2003, 38, 207-215.

125. Kulik LM, Carr BI, Mulcahy MF, et al. Safety and efficacy of 90Y radiotherapy for hepatocellular carcinoma with and without portal vein thrombosis. *Hepatology*., 2008, 47, 71-81.

126. Kunstlinger F, Brunelle F, Chaumont P, Doyon D. Vascular occlusive agents. *Am. J. Roentgenol*., 1981, 136, 151-156.

127. Kwok PC, Lam TW, Chan SC, et al. A randomized clinical trial comparing autologous blood clot and gelfoam in transarterial chemoembolization for inoperable hepatocellular carcinoma. *J. Hepatol*., 2000, 32, 955-964.

128. Lammer J, Malagari K, Vogl T, et al. Prospective randomized study of doxorubicin-eluting bead embolization in the treatment of hepatocellular carcinoma: results of the PRECISION V study. *Cardiovasc. Interv. Radiol.,* 2010, 33, 41-52.

129. Laurent A. Agents d'embolisation. In EMC, Radiologie et Imagerie Médicale - Principes et techniques d'imagerie. Paris : Elsevier Masson SAS, 2006, p1-10.

130. Laurent-Puig P, Zucman-Rossi J. Genetics of hepatocellular tumors. *Oncogene*., 2006, 25, 3778-3786.

131. Lee HS, Kim KM, Yoon JH, et al. Therapeutic efficacy of transcatheter arterial chemoembolization as compared with hepatic resection in hepatocellular carcinoma patients with compensated liver function in a hepatitis B virus-endemic area: a prospective cohort study. *J. Clin. Oncol*., 2002, 20, 4459-4465.

132. Lencioni R, Crocetti L, Petruzzi P, et al. Doxorubicin-eluting bead-enhanced radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma: a pilot clinical study. *J. Hepatol.*, 2008, 49, 217-222.

133. Leung TW, Tang AM, Zee B, et al. Construction of the Chinese University Prognostic Index for hepatocellular carcinoma and comparison with the TNM staging system, the Okuda staging system, the Cancer of the Italian Liver Program staging system: a study based on 926 patients. *Cancer.*, 2002, 94, 1760-1769.

134. Lewis AL, Gonzalez V, Lloyd A, et al. DC Bead : in vitro characterization of a drug-delivery device for transarterial chemoembolization. *JVIR*., 2006, 17, 335-342.

135. Li G, Chen X, Wang Q, et al. The roles of four multi-drug resistance proteins in hepatocellular carcinoma multidrug resistance. *J. Huazhong. Univ. Technolog. Med. Sci*., 2007, 27, 173-175.

136. Liaw YF, Tai DI, Chu CM, et al. Early detection of hepatocellular carcinoma in patients with chronic type B hepatitis. A prospective study. *Gastroenterology.*, 1986, 90, 263-267.

137. Lin DY, Liaw YF, Lee TY, Lai CM. Hepatic arterial embolization in patients with unresectable hepatocellular carcinoma. A controlled trial. *Gastroenterology*., 1988, 94, 453-456.

138. Liu CJ, Kao JH. Hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma: epidemiology and pathogenic role of viral factors. *J. Chin. Med. Assoc.,* 2007, 70, 141-145.

139. Liu L, Cao Y, Chen C, et al. Sorafenib blocks the RAF/MEK/ERK pathway, inhibits tumor angiogenesis, and induces tumor cell apoptosis in hepatocellular carcinoma model PLC/PRF/5. *Cancer. Res*., 2006, 66, 11851-11858.

140. Livraghi T, Meloni F, Stasi M, et al. Sustained complete response and complications rates after radiofrequency ablation of very early hepatocellular carcinoma in cirrhosis: is resection still the treatment of choice? *Hepatology*., 2008, 47, 81-89.

141. Llovet JM, Bru C, Bruix J. Prognosis of hepatocellular carcinoma : the BCLC staging classification. *Semin. Liver. Dis*., 1999, 19, 329-338.

142. Llovet JM, Fuster J, Bruix J. Intention-to-treat analysis of surgical treatment for early hepatocellular carcinoma: resection versus transplantation. *Hepatology*., 1999, 30, 1434-1440.

143. Llovet JM, Real MI, Montana X, et al. Arterial embolization or chemoembolization versus symptomatic treatment in patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised controlled trial. *Lancet.,* 2002, 359, 1734-1739.

144. Llovet JM, Bruix J. Systematic review of randomized trials for unresectable hepatocellular carcinoma: chemoembolization improves survival. *Hepatology.,* 2003, 37, 429-442.

145. Llovet JM, Bruix J. Molecular therapies in hepatocellular carcinoma. *Hepatology*., 2008, 48, 1312-1327.

146. Llovet JM, Di Bisceglie AM, Bruix J, et al. Design and endpoints of clinical trials in hepatocellular carcinoma. *J. Natl. Cancer. Inst.,* 2008, 100, 698-711.

147. Llovet JM, Ricci C, Mazzafero V, et al. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N. Engl. J. Med*., 2008, 359, 378-390.

148. Lo CM, Ngan H, Tso WK, et al. Randomized controlled trial of transarterial ethiodized oil chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma. *Hepatology.,* 2002, 35, 1164-1171.

149. Lopez PM, Villanueva A, Llovet JM. Systematic review : evidence-based management of hepatocellular carcinoma-an updated analysis of randomized controlled trials. *Aliment. Pharmacol. Ther*., 2006, 23, 1535-1547.

150. Louafi S, Boige V, Ducreux M, et al. Gemcitabine plus oxaliplatin (GEMOX) in patients with advanced hepatocellular carcinoma (HCC): results of a phase II study. *Cancer.,* 2007, 109, 1384-1390.

151. Lu W, Li Y, He X, Chen Y. Transcatheter arterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis: evaluation of two kinds of dosages of anticancer drugs and analysis of prognostic factors. *Hepatogastroenterology*., 2003, 50, 2079-2083.

152. Madden MV, Krige JEJ, Bailey S, et al. Randomised trial of targeted chemotherapy with lipiodol and 5-epidoxorubicin compared with symptomatic treatment for hepatoma. *Gut*., 1993, 34, 1598-1600.

153. Maeda H, Takeshita J, Kanamaru R. A lipophilic derivative of neocarzinostatin. A polymer conjugation of an antitumor protein antibiotic. *Int. J. Pept. Protein. Res*., 1979, 14, 81-87.

154. Malagari K, Alexopoulou E, Chatzimichail K, et al. Transcatheter chemoembolization in the treatment of HCC in patients not eligible for curative treatments: midterm results of doxorubicin-loaded DC bead. *Abdom. Imaging*., 2008, 33, 512-519.

155. Malagari K, Chatzimichael K, Alexopoulou E, et al. Transarterial chemoembolization of unresectable hepatocellular carcinoma with drug eluting Beads : results of an open-label study of 62 patients. *Cardiovasc. Intervent. Radiol*., 2008, 31, 269-280.

156. Malagari K, Pomoni M, Spyridopoulos TN, et al. Safety Profile of Sequential Transcatheter Chemoembolization with DC Bead™: Results of 237 Hepatocellular Carcinoma (HCC) Patients. *Cardiovasc. Intervent. Radiol*., 2010, 34, 774-785.

157. Malbranche C, Boulin M, Guiu B, et al. Impact économique de la chimioembolisation avec microsphères chargées dans le traitement du carcinome hépatocellulaire. *Bull. Cancer*., 2011, 98, 671-678.

158. Mandishona E, Mac phail AP, Gordeuk VR, et al. Dietary iron overload as a risk factor for hepatocellular carcinoma in Black Africans. *Hepatology*., 1998, 27, 1563-1566.

159. Mankhetkorn S, Dubru F, Hesschenbrouck J, Fiallo M, Garnier-Suillerot A. Relation among the resistance factor, kinetics of uptake, and kinetics of the P-glycoprotein efflux of doxorubicin, daunorubicin, 8-(S)-fluoroidarubicin, and idarubicin in multidrug-resistant K562 cells. *Mol. Pharm.,* 1996, 49, 532-539.

160. Marelli L, Stigliano R, Triantos C, et al. Transarterial therapy for hepatocellular carcinoma : which technique is more effective? A systematic review of cohort and randomized studies. *Cardiovasc. Intervent. Radiol.,* 2007, 30, 6-25.

161. Margolis HS. Hepatitis B virus infection. *Bull. World. Health. Organ*., 1998, 76 (Suppl 2), 152-153.

162. Marrero JA, Fontana RJ, Barrat A, et al. Prognosis of hepatocellular carcinoma: comparison of 7 staging systems in an American cohort. *Hepatology*., 2005, 41, 707-716.

163. Mathurin P, Rixe P, Carbonell N, et al. Review articles : overview of medical treatments in unresectable hepatocellular carcinoma – an impossible metaanalysis? *Aliment. Pharmacol. Ther*. 1998, 12, 111-126.

164. Matsumoto K, Nagahara T, Okano J, Murawaki Y. The growth inhibition of hepatocellular and cholangiocellular carcinoma cells by gemcitabine and the roles of extracellular signal-regulated and checkpoint kinases. *Oncol. Rep.,* 2008, 20, 863-872.

165. Mazzafero V, Regalia E, Doci R, et al. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N. Engl. J. Med*., 1996, 334, 693-699.

166. Michielsen PP, Francque SM, van Dongen JL. Viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *W. J. Surg.Oncol.*, 2005, 3, 27-29.

167. Miller DL, O'Leary TJ, Girton M. Distribution of iodized oil within the liver after hepatic arterial injection. *Radiology*., 1987, 162, 849-852.

168. Minemura M, Tanimura H, Tabor E. Overexpression of multidrug resistance genes MDR1 and Cmoat in human hepatocellular carcinoma and hepatoblastoma cell lines. *Int. J. Oncol*., 1999, 15, 559-563.

169. Miyoshi Y, Iwao K, Nagasawa Y, et al. Activation of the beta catenin gene in primary hepatocellular carcinomas by somatic alterations involving exon 3. *Cancer. Res*., 1998, 58, 2524-2527.

170. Mok TS, Choi E, Yau D, et al. Effects of patupilone (epotheline B; EPO906), a novel chemotherapeutic agent, in hepatocellular carcinoma: an in vitro study. *Oncology.,* 2006, 71, 292-296.

171. Montalto G, Cervello M, Giannitrapani L, et al. Epidemiology, risk factors, and natural history of hepatocellular carcinoma. *Ann. N. Y. Acad. Sci*., 2002, 963, 13-20.

172. Munaka M, Kohshi K, Kawamoto T, et al. Genetic polymorphisms of tobacco- and alcohol-related metabolizing enzymes and the risk of hepatocellular carcinoma. *J. Cancer. Res. Clin. Oncol*., 2003, 129, 355-360.

173. Nakamura H, Toshiro S, Hiraoka T, et al. Hepatocellular carcinoma and metastatic cancer detected by oidized oil. *Radiology*., 1983, 148, 397-401.

174. Nakamura H, Hashimoto T, Oi H, Sawada S. Transcatheter oily chemoembolization of hepatocellular carcinoma. *Radiology*., 1989, 170, 47-53.

175. Namur J. *Microsphères d'embolisation pour la libération de principas actifs : étude de la libération in vivo par microspectroscopies optiques*, 231 p. Thèse : Ingénierie de la santé. Biophysique : Reims : 2009.

176. Namur J, Citron SJ, Sellers MT, et al. Embolization of hepatocellular carcinoma with drug-eluting beads: Doxorubicin tissue concentration and distribution in patient liver explants. *J. Hepatol*., 2011, [Epub ahead of print].

177. National Institutes of Health. ClinicalTrials.gov. Disponible sur : http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=dc+bead. [Consulté le 5 juillet 2011].

178. National Institutes of Health. ClinicalTrials.gov. Disponible sur : http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01387932?term=HEPASPHERE&rank=1. [Consulté le 5 juillet 2011].

179. Nelson BS, Heischober B. Betel nut: A common drug used by naturalized citizens from India, Far East Asia and the South Pacific Islands. *Ann. Emerg. Med.,* 1999, 34, 238-243.

180. Ni YH, Chang MH, Huang LM, et al. Universal hepatitis B vaccination in Taïwan and the incidence of hepatocellular carcinoma in children and adolescents in an hypernedemic area: 15 years after mass hepatitis B vaccination. *Ann. Intern. Med.*, 2001, 135, 796-800.

181. Nicolini A, Martinetti L, Crespi S, et al Transarterial Chemoembolization with Epirubicin-eluting Beads versus Transarterial Embolization before Liver Transplantation for Hepatocellular Carcinoma. *JVIR*., 2010, 21, 327-332.

182. Nordenstedt H, White DL, El Serag H. The changing pattern of epidemiology in hepatocellaular carcinoma. *Dig Liver Dis*., 2010, 42 (Suppl 3), 206-214.

183. Niiya T, Litonius E, Petäjä L, et al. Intravenous lipid emulsion sequesters amiodarone in plasma and eliminates its hypotensive action in pigs. *Ann. Emerg. Med*., 2010, 56, 402-408.

184. Ofjord ES, Clausen G. Intrarenal flow of microspheres and red blood cells: skimming in slit and tube models. *Am. J. Physiol*., 1983, 245, 429-436.

185. Oh MK, Winn J, Poordad F. Diagnosis and treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.,* 2008, 28, 503-522.

186. Okamoto Y, Konno A, Togawa K, Kato T, Tamakawa Y, Amano Y. Arterial chemoembolization with cisplatin microcapsules. *Br. J. Cancer*., 1986, 53, 369-375.

187. Okuda K, Musha H, Nakajima Y, et al. Clinicopathologic features of encapsulated hepatocellular carcinoma. A study of 26 cases. *Cancer*., 1977, 40, 1240-1245.

188. Okuda K, Ohtuski T, Obata H, et al. Natural history of hepatocellular carcinoma and prognosis in relation to treatment. Study of 850 patients. *Cancer*., 1985, 56, 918-928.

189. Okuda K, Fujimoto I, Hanai K, Urano Y. Changing incidence of hepatocellular carcinoma in Japan. *Cancer. Res.*, 1987, 47, 4967-4972.

190. Okusaka T, Kasugai H, Shioyama Y, et al. Transarterial chemotherapy alone versus transarterial chemoembolisation for hepatocellular carcinoma: A randomised phase III trial. *J. Hepatol.*, 2009, 51, 1030-1036.

191. Olweny CL, Toya T, Katongole-Mbidde E, et al. Treatment of hepatocellular carcinoma with Adriamycin: preliminary communication. *Cancer.,* 1975, 36, 1250-1257.

192. Orlando A, Leandro G, Olivo M, Andriulli A, Cottone M. Radiofrequency thermal ablation vs. percutaneous ethanol injection for small hepatocellular carcinoma in cirrhosis: meta-analysis of randomized controlled trials. *Am. J. Gastroenterol.*, 2009, 104, 514-524.

193. Park JG, Lee SK, Hong JG, et al. MDR1 gene expression: its effect on drug resistance to doxorubicin in human hepatocellular carcinoma cell lines. *J. Natl. Cancer. Inst.*, 1994, 86, 700-705.

194. Park JG, Lee JH, Kang MS, et al. Characterization of cell lines established from human hepatocellular carcinoma. *Int. J. Cancer.,* 1995, 62, 276-282.

195. Pelage JP, Laurent A, Wassef M, et al. Uterine artery embolization in sheep: comparison of acute effects with polyvinyl alcohol particles and calibrated microspheres. *Radiology.*, 2002, 224, 436-445.

196. Pelletier G, Roche A, Ink O, et al. A randomized trial of hepatic arterial chemoembolization in patients with unresectable hepatocellular carcinoma. *J. Hepatol.*, 1990, 11, 181-184.

197. Pelletier G, Ducreux M, Gay F, et al. Treatment of unresectable hepatocellular carcinoma with lipiodol chemoembolisation: a multicenter randomised trial. *J. Hepatol.,* 1998, 29, 129-134.

198. Pelletier G. Stéatose hépatique non alcoolique. *Rev. Prat. Med. Gen.*, 2011, 25, 275-277.

199. Pérez-Tomàs R. Multidrug resistance: retrospect and prospects in anti-cancer drug treatment. *Curr. Med. Chem.,* 2006, 13, 1859-1876.

200. Petraccia L, Onori P, Sferra R, et al. MDR (Multidrug resistance) in clinical-therapeutic implications. *Clin. Ter.*, 2003,154, 325-335.

201. Pietrangelo A, Montosi G, Garuti C, et al. Hereditary hemochromatosis in adults without pathogenic mutations in the hemochromatosis gene. *N. Engl. J. Med.,* 1999, 341, 725-732.

202. Powell LW, Subramaniam VN, Yapp TR. Haemochromatosis in the new millennium. *J. Hepatol.,* 2000, 32, 48-62.

203. Prokopczyk B, Rivenson A, Bertinato P, et al. 3-(Methylnitroso)propionitrile: occurrence in saliva of betel quid chewers, carcinogenicity, and DNA methylation in F344 rats. *Cancer. Res*., 1987, 47, 467-471.

204. Pugh RN, Murray-Lyon IM, Dawson JL, Pietroni MC, Williams R. Transection of oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br. J. Surg.*, 1973, 60, 646-649.

205. Qian GS, Ross RK, Yu MC, et al. A follow-up study of urinary markers of aflatoxin exposure and liver cancer risk in Shanghai, People's Republic of China. *Cancer. Epidemiol. Biomarkers. Prev*., 1994, 3, 93-100.

206. Raoul JL, Bourguet P, Bretagne JF, et al. Hepatic artery injection of I131 labeled Lipiodol. I Biodistribution study results in patients with hepatocellular carcinoma and liver metastases. *Radiology*., 1988, 168, 541-545.

207. Raoul JL, Sangro B, Forner A, et al. Evolving strategies for the management of intermediate-stage hepatocellular carcinoma: available evidence and expert opinion on the use of transarterial chemoembolization. *Cancer. Treat. Rev*., 2011, 37, 212-220.

208. Ratziu V, Fromenty B, Poynard T. Stéatohépatite non alcoolique. Aspects physiopathologiques. *Hepato-Gastro*., 2002, 9, 199-207.

209. Realdi G, Fattovich G, Hadziyannis S, et al. Survival and prognostic factors in 366 patients with compensated cirrhosis type B: a multicenter study. The investigators of the European Concerted Action on Viral Hepatitis (EUROHEP). *J. Hepatol.*, 1994, 21, 656-666.

210. Reyes DK, Vossen JA, Kamel IR, et al. Single-center phase II trial of transarterial chemoembolization with drug-eluting beads for patients with unresectable hepatocellular carcinoma: initial experience in the United States. *Cancer. J*., 2009, 15, 526-532.

211. Roovers DJ, Van Vliet M, Bloem AC, Lokhorst HM. Idarubicin overcomes P-glycoprotein-related multidrug resistance: comparison with doxorubicin and daunorubicin in human multiple myeloma cell lines. *Leuk. Res.,* 1999, 23, 539−548.

212. Royer B, Guardiola E, Polycarpe E, et al. Serum and intraperitoneal pharmacokinetics of cisplatin within intraoperative intraperitoneal chemotherapy: influence of protein binding. *Anticancer. Drug*s., 2005, 16, 1009-1016.

213. Rotteo A, Totaro A, Cazzola M, et al. Juvenile hemochromatosis locus maps to chromosome Iq. *Am. J. Hum. Genet.,* 1999, 64, 1388-1393.

214. Saffrog R, Pham P, Lemoine P, Debuire B. Biologie moléculaire et carcinome hépatocellulaire : données actuelles et futures. *Ann. Biol. Clin*., 2004, 62, 10-15.

215. Sala M, Llovet JM, Vilana R, et al. Barcelona Clinic Liver Cancer Group. Initial response to percutaneoius ablation predicts survival in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatology*., 2004, 40, 1352-1360.

216. Salem R, Lewandowski RJ, Mulcahy MF, et al. Radioembolization for hepatocellular carcinoma using Yttrium-90 microspheres : a comprehensive report of long-term outcomes. *Gastroenterology*., 2010, 138, 54-62.

217. Sangro B, Bilbao JL, Boan J, et al. Radioembolization using 90Y-resin microspheres for patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Int. J. Radiat. Oncol. Phys*., 2006, 66, 792-800.

218. Sasaki Y, Imaoka S, Kasugai H, et al. A new approach to chemoembolization therapy for hepatoma using ethiodized oil, cisplatin, and gelatin sponge. *Cancer.*, 1987, 60, 1194-1203.

219. Schoenleber SJ, Kurtz DM, Talwalkar JA, Roberts LR, Gores GJ. Prognostic role of vascular endothelial growth factor in hepatocellular carcinoma: systematic review and meta-analysis. *Br. J. Cancer*., 2009, 100, 1385-1392.

220. Seber GAF, Wild CJ. *Nonlinear regression*. 1st ed. New York: John Wiley & Sons Inc, 1989.

221. Seki A, Hori S, Kobayashi K, Narumiya S. Transcatheter arterial chemoembolization with epirubicin-loaded superabsorbent polymer microspheres for 135 hepatocellular carcinoma patients: single-center experience. *Cardiovasc. Intervent. Radiol.*, 2011, 34, 557-565.

222. Seki A, Hori S. Switching the Loaded Agent from Epirubicin to Cisplatin: Salvage Transcatheter Arterial Chemoembolization with Drug-eluting Microspheres for Unresectable Hepatocellular Carcinoma. *Cardiovasc. Intervent. Radiol*., 2011, [Epub ahead of print].

223. Shepard CW, Finelli L, Alter MJ. Global epidemiology of hepatitis C virus infection. *Lancet. Infect. Dis.*, 2005, 5, 558-567.

224. Shiah HS, Liu TW, Chen LT, et al. Pulmonary embolism after transcatheter embolization. *Eur. J. Cancer. Care.*, 2005, 14, 115-118.

225. Shiga T, Tanaka T, Irie S, et al. Pharmacokinetics of intravenous amiodarone and its electrocardiographic effects on healthy Japanese subjects. *Heart. Vessels*., 2010, 26, 274-281.

226. Shiina S, Teratani T, Obi S, et al. A randomized controlled trial of radiofrequency ablation with ethanol injection for small hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*., 2005, 129, 122-130.

227. Shimamatsu K, Kage M, Nakashima O, Kojiro M. Pathomorphological study of HCV antibody-positive liver cirrhosis. *J. Gastroenterol. Hepatol*., 1994, 9, 624-630.

228. Shimamura Y, Gunven P, TakenakaY, et al. Combined peripheral and central chemoembolization of liver tumors. Experience with lipiodol-doxorubicin and gelatine sponge. *Cancer.*, 1988, 61, 238-242.

229. Simonetti RG, Liberati A, Angiolini C, Pagliaro C. Treatment of hepatocellular carcinoma: a systematic review of randomized controlled trials. *Ann. Oncol*., 1997, 8, 117-136.

230. Smela ME, Currier SS, Bailey EA, Essigmann JM. The chemistry and biology of aflatoxin B(1): from mutational spectrometry to carcinogenesis. *Carcinogenesis*., 2001, 22, 535-545.

231. Sobin L, Wittekind C. International Union against cancer: TNM classification of malignant tumours. 6th ed. New York: *Wiley-Liss*, 2007.

232. Sottani C, Leoni E, Porro B, et al. Validation of an LC-MS/MS method for determination of epirubicin in human serum of patients undergoing Drug Eluting Microsphere-Transarterial Chemoembolization (DEM-TACE). *J. Chromatol*., 2009, 877, 3543-3548.

233. Speakman TJ. Internal occlusion of a carotid-cavernous fistula. *J. Neurosurg*., 1964, 21, 303-305.

234. Struk D, Rankin R, Karlik S. Stability studies on chemoembolization mixtures. *Invest. Radiol*., 1993, 28, 1024-1027.

235. Takayasu K, Shima Y, Muramatsu Y, et al. Hepatocellular carcinoma: treatment with intraarterial iodized oil with or without chemotherapeutic agents. *Radiology*., 1987,163, 345-351.

236. Takayasu K, Arii S, Ikai I, et al. Prospective cohort study of transarterial chemoembolisation for unresectable hepatocellular carcinoma in 8510 patients. *Gastroenterology.,* 2006, 131, 461-469.

237. Thésaurus National de Cancérologie Digestive. Carcinome hépatocellulaire (cancer primitif du foie). http://www.snfge.asso.fr/data/ModuleDocument/publication/5/pdf/TNCD-chapitre-1598.pdf. (mise à jour 23 septembre 2010) [Consulté le 28 septembre 2011].

238. Tiribelli C, Melato M, Crocè LS, et al. Prevalence of hepatocellular carcinoma and relation to cirrhosis: comparison of two different cities of the world -- Trieste, Italy and Chiba, Japan. *Hepatology*., 1989, 10, 998-1002.

239. Tong MJ, el-Farra NS, Reikes AL, et al. Clinical outcomes after transfusion-associated hepatitis C. *N. Engl J. Med.,* 1995, 332, 1463-1466.

240. Tremosini S, Reig M, Rodrigues de Lope C, Forner A, Bruix J. Treatment of early hepatocellular carcinoma: Towards personalized therapy. *Dig. Liver. Dis*., 2010, 42 (Suppl 3), 242-248.

241. Trinchet JC, Alperovitch A, Bedossa P, Degos F, Hainaut P, Van Beers B. Epidémiologie, prévention, dépistage et diagnostic du carcinoma hépatocellulaire. *Bull. Cancer*., 2009, 96, 35-43.

242. Tsai JF, Chuang LY, Jeng JE, et al. Betel quid chewing as a risk factor for hepatocellular carcinoma: a case-control study. *Br. J. Cancer*., 2001, 84, 709-713.

243. Van der Graaf W, De Vries E, Uges D, et al. In vitro and in vivo modulation of multi-drug resistance with amiodarone. *Int. J. Cancer*., 1991, 48, 616-622.

244. Vander Borght S, Komuta M, Libbrecht L, et al. Expression of multidrug resistance-associated protein1 in hepatocellular carcinoma is associated with a more aggressive tumour phenotype and may reflect a progenitor cell origin. *Liver. Int.,* 2008, 28, 1370-1380.

245. Varela M, Real MI, Burrel M, et al. Chemoembolization of hepatocellular carcinoma with drug eluting beads: efficacy and doxorubicin pharmacokinetics. *J. Hepatol.,* 2007, 46, 474−481.

246. Verdecchia A, Francisci S, Brenner H, et al. Recent cancer survival in Europe: a 200-02 period analysis of EUROCARE-4 data. *Lancet. Oncol*., 2007, 8, 784-796.

247. Wang CK, Su HY, Lii CK. Chemical composition and toxicity of Taiwanese betel quid extract. *Food. Chem. Toxicol.*, 1999, 37, 135-144.

248. Watanabe S, Nishioka M, Ohta Y, Ogawa N, Ito S, Yamamoto Y. Prospective and randomized controlled study of chemoembolization therapy in patients with advanced hepatocellular carcinoma. Cooperative Study Group for Liver Cancer Treatment in Shikoku area. *Cancer. Chemother. Pharmacol.,* 1994, 33 (suppl 1), 93-96.

249. Weiss MA, Drullinsky P, Maslak P, Scheinberg D, Golde DW. A phase I trial of a single high dose of idarubicin combined with high-dose cytarabine as induction therapy in relapsed or refractory adult patients with acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia.,* 1998, 12, 865-668.

250. Wilhelm S, Carter C, Lynch M, et al .Discovery and development of sorafenib: a multikinase inhibitor for treating cancer. *Nat. Rev. Drug. Discov*., 2006, 5, 835-844.

251. Williet N, Zaanan A, Hebbar H, et al. Gemcitabine plus oxaliplatin (GemOx) in advanced hepatocellular carcinoma (HCC): A multicenter study of over 200 patients. *J. Clin. Oncol*., 2011, 29 (suppl 1) A4033.

252. Yamagiwa K. Zur kenntnis des primären parenchymatösen leberkarzinoms « Hepatomas ». *Virch. Arch*., 1911, 206, 437-450.

253. Yang Q, McDonnell SM, Khoury MJ, et al. Hemochromatosis-associated mortality in the United States from 1979 to 1992: an analysis of Multiple-Cause Mortality Data. *Ann. Intern. Med.*, 1998, 129:946-953.

254. Yi SW, Kim YH, Kwon IC, et al. Stable lipiodolized emulsions for hepatoma targeting and treatment by transcatheter arterial chemoembolization. *J. Contr. Release*., 1998, 50, 135-143.

255. Yu JS, Kim KW, Jeong MG, Lee DH, Park MS, Yoon SW. Predisposing factors of bile duct injury after transcatheter arterial chemoembolization (TACE) for hepatic malignancy. *Cardiovasc. Intervent. Radiol*., 2002, 25, 270-274.

256. Yumoto Y, Jinno K, Tokuyama K, et al. Hepatocellular carcinoma detected by iodized oil. *Radiology*., 1985, 154, 19-24.

257. Zhang JB, Chen Y, Zhang B, et al. Prognostic significance of serum gamma-glutamyl transferase in patients with intermediate hepatocellular carcinoma treated with transcatheter arterial chemoembolization. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol*., 2011, 23, 787-793.

258. Zheng C, Feng G, Liang H. Bletilla striata as a vascular embolizing agent in interventional treatment of primary hepatic carcinoma. *Chin. Med. J*., 1998, 111, 1160-1063.

259. Zucman-Rossi J. Molecular classification of hepatocellular carcinomas. *Dig. Liver. Dis*., 2010, 42 (Suppl 3), 235-241.

Annexe 1.

IDASPHERE Dossier technique relatif au produit fini : microsphères DC Bead™ chargées d'idarubicine

Les DC Bead™ sont constitués d'une gamme de microsphères d'hydrogel biocompatibles, hydrophiles, compressibles mais non résorbables, stériles, et apyrogènes précisément calibrés. Il s'agit d'un dispositif médical de classe IIb (directive 93/42/CEE transposée en droit français dans le Code de la Santé Publique). DC Bead™ a reçu le marquage CE selon l'annexe II 3.2, déclaration CE de conformité, système complet d'assurance qualité. L'organisme notifié ayant procédé au contrôle du dossier DC Bead™ est le BSI (n°0086). Le BSI a délivré un certificat de conformité n° CE 79333 le 3 novembre 2003. Conformément au décret n° 2002-2001, leur mise sur le marché français a été déclarée auprès de l'AFSSAPS. L'accusé réception date du 24 février 2005.
Les indications du marquage CE sont les suivantes :
« Les DC Bead™ doivent être chargées de doxorubicine dans le but de procéder à :
- l'embolisation des vaisseaux qui alimentent la (les) tumeur(s) maligne(s) hypervascularisée(s)
- la libération d'une dose contrôlée et prolongée de doxorubicine au niveau de la(les) tumeur(s). »

Le dossier technique suivant pour l'essai IDASPHERE est donc relatif au produit fini utilisé dans cet essai : particules DC Bead™ de taille nominale 300-500 µm, référence DC2V305, chargées d'idarubicine.

1. Caractéristiques du chargement DC Bead™-idarubicine

Les DC Bead™ sont donc constituées d'une gamme de microsphères d'hydrogel produites à partir d'alcool polyvinylique modifié par des groupes sulfonates. La doxorubicine mais potentiellement toutes les molécules chargées positivement vont donc pouvoir se fixer sur les microsphères par une liaison ionique, comme cela est montré sur la figure 1 (Liu 2001, Lewis 2006).

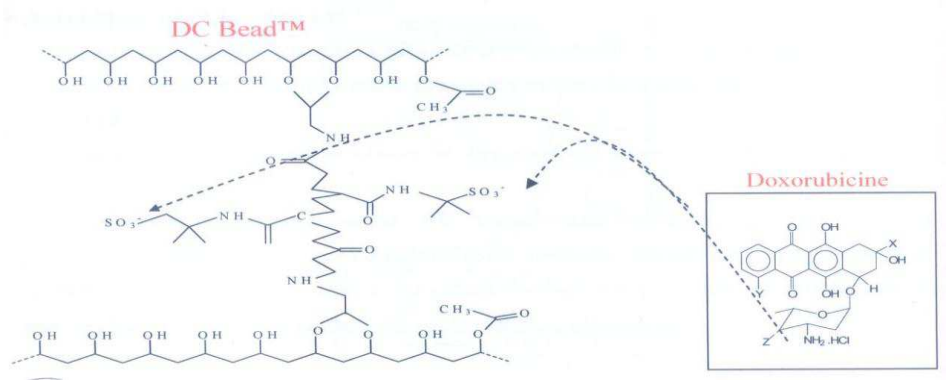


Figure 1. Chargement des DC Bead avec la doxorubicine (d'après dossier produit DC Bead™, Terumo, août 2007)

En effet, comme la doxorubicine, l'idarubicine se présente sous forme de chlorhydrate et possède le même groupement amine protoné. Les deux molécules sont des anthracyclines, elles sont très proches d'un point de vue physico-chimique. La principale différence entre les 2 molécules est la suppression du radical méthoxy OCH3 en position 4 de l'aglycone (cf. figure 2).

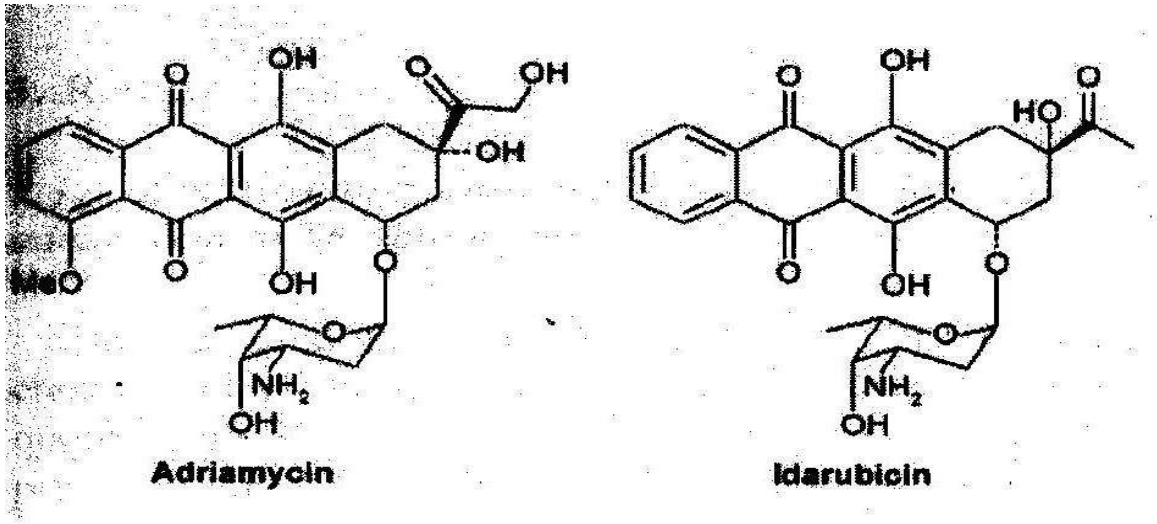


Figure 2. Structure de la doxorubicine et de l'idarubicine (d'après Zahraei, European Journal of Pharmacology 2007)

Leurs formules développées sont $C_{27}H_{29}NO_{11}HCl$ pour le chlohydrate de doxorubicine (masse moléculaire = 579,99 g/mol) et $C_{26}H_{27}NO_9HCl$ pour le chlorhydrate d'idarubicine (masse moléculaire = 533,96 g/mol). Elles possèdent donc chacune un seul groupement amine protoné sous forme de chlorhydrate qui va se lier ioniquement au groupement sulfonate des DC Bead™.

2. Instructions relatives au chargement DC Bead™-idarubicine

Le chargement se fera dans des conditions rigoureuses d'asepsie, sous hotte à flux d'air laminaire en raison du risque lié à l'utilisation d'idarubicine pour le manipulateur.
Les micropshères DC Bead™ sont de couleur bleue et sont délivrées dans des flacons en verre de 10 ml contenant environ 2 ml de produit et 6 ml de sérum physiologique.
Pour obtenir une charge finale de x mg d'idarubicine pour un flacon de 2 ml de DC Bead™, le mode opératoire sera le suivant (il est peu différent de celui préconisé par le laboratoire Terumo pour le chargement des DC Bead™ avec la doxorubicine) :

- reconstituer chaque flacon contenant 10 mg d'idarubicine (Zavedos®) avec 10 ml d'eau pour préparation injectable stérile. Bien mélanger pour obtenir une solution limpide (1 mg/ml)
- transférer tout le contenu d'un flacon de DC Bead™ avec une aiguille 18G dans une seringue de polypropylène de 60 ml

- expulser de cette seringue autant de sérum physiologique que possible (à la verticale, les microsphères se déposent contre le piston)
- ajouter la quantité souhaitée d'idarubicine précédemment reconstituée (1 mg/ml) dans la seringue
- retourner doucement et régulièrement la solution de DC Bead™/idarubicine pour faciliter le mélange puis laisser reposer jusqu'à ce que les DC Bead™ soient oranges et la solution surnageante presque incolore (en pratique, elle reste légèrement jaunâtre-orangée) (Figure 3 et 4)
- après la période de chargement, rejeter le liquide incolore en excès (ne contenant donc pas d'idarubicine)
- visser à la seringue un robinet 3 voies (celui-ci permettra au radiologue d'ajouter facilement dans la solution de DC Bead™ chargées le produit de contraste non ionique).

Une quantité pouvant atteindre 37,5 mg d'idarubicine par ml de DC Bead™ peut être chargée. Dans l'essai IDASPHERE, le dernier palier de dose pour l'idarubicine est de 25 mg ; cette dose pourra être chargée dans 2 ml de DC Bead™. Les microsphères DC Bead™ chargées d'idarubicine peuvent se conserver pendant 7 jours au réfrigérateur à 2-8°C.

<u>Informations sur le temps de chargement</u>

Le temps de chargement d'un flacon DC Bead™ de taille moyenne 300-500µm avec une solution d'idarubicine de 1 mg/ml a été determiné par une méthode chromatographie HPLC avec détecteur de fluorescence (longueur d'onde d'excitation 485 nm, longueur d'onde d'émission 542 nm). Le temps de chargement est de :

- 1 h pour obtenir un chargement > 70%
- 2 h pour obtenir un chargement > 90%
- 4 h pour obtenir un chargement > 95% (chargement considéré comme complet) (Figure 5).

Le chargement d'idarubicine dans les sphères quand la seringue est conservée entre +2 et +8°C pendant 6 mois reste supérieur à 95%.

Figure 3. Photographie d'une seringue de DC Bead™ 300-500µm (2 ml) chargées avec 10 mg d'idarubicine (1mg/1ml). Le volume final est de 5 ml car 7 ml de surnageant ont été retirés. Les microsphères chargées sont oranges comme on le voit dans le haut de la seringue, le surnageant est orangé très clair témoignant de sa très faible teneur en idarubicine.

Figure 4. Photographie de 2 flacons de DC Bead™ 300-500µm après chargement avec doxorubicine (gauche) et idarubicine (droite) ; les microsphères sont rouges (gauche) ou oranges (droite) et les surnageants sont saumon (gauche) ou jaunâtre (droite)

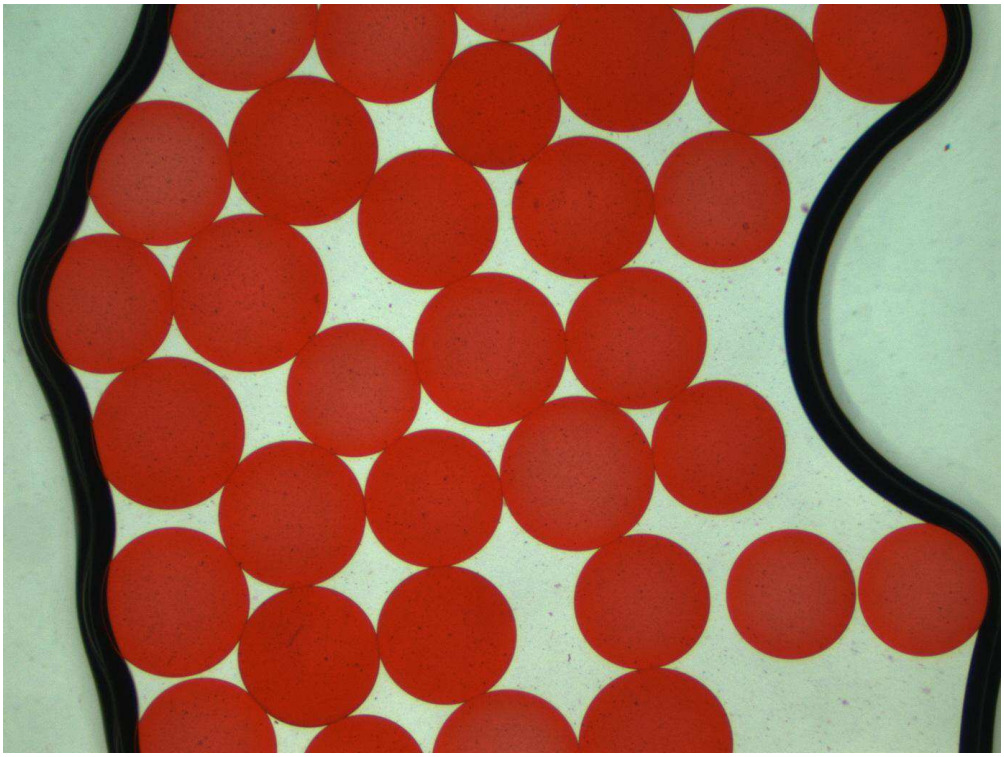


Figure 5. Photographie des microsphères DC Bead™ 300-500 µm après 4h de chargement avec l'idarubicine (2 ml de microsphères avec 10 mg d'idarubicine). Le chargement est complet comme en témoigne la coloration prise par les microsphères et surtout l'absence de coloration rouge-orangée en dehors des microsphères. La photographie est identique à 3 mois lorsque la seringue a été conservée entre +2 et +8°C. Cette photographie a été réalisée en déposant quelques gouttes de solution entre lame et lamelles avec un microscope inversé, motorisé équipé pour fluorescence (Station Cell Observer, Zeiss, Plateforme Imagerie Cellulaire IFR 100, Université de Bourgogne). Le diamètre des microsphères chargées est conforme à l'étiquetage, 95% des microsphères ont une taille comprise entre 300 et 500µm, mesures effectuées à l'aide du logiel Axovision intégré au microscope).

3. Instructions relatives à l'administration du produit

• Evaluer soigneusement le réseau vasculaire associé à la lésion par l'intermédiaire d'une imagerie à haute résolution avant de commencer la procédure d'embolisation.
• Choisir un cathéter d'administration en se basant sur la taille du vaisseau cible. Les DC Beads peuvent subir une compression temporaire de 20 à 30 % afin de faciliter leur passage au travers du cathéter d'administration.
• Introduire le cathéter d'administration dans le vaisseau cible conformément aux techniques standard. Positionner l'extrémité du cathéter aussi près que possible du site de traitement pour éviter l'occlusion accidentelle de vaisseaux normaux.
• Les DC Beads ne sont pas radio-opaques. Il est recommandé de surveiller l'embolisation sous radioscopie en ajoutant une quantité adéquate de milieu de contraste au liquide de mise en suspension.

• Injecter lentement les DC Beads dans le cathéter d'administration sous contrôle radioscopique tout en observant le débit du milieu de contraste. Procéder à un évaluation conservatrice pour déterminer le point final de l'embolisation.
• A la fin du traitement, retirer le cathéter tout en maintenant une aspiration légère de façon à ne pas déloger les DC Beads restant dans la lumière du cathéter.

Bibliographie

- Liu Z, Cheung R, Wu XY, et al. A study of doxorubicin loading onto and release from sulfopropyl dextran ion exchange microspheres. J Control Release 2001; 77: 213-224.
- Lewis AL, Gonzalez MV, Lloyd AW, et al. DC Bead : In vitro characterization of a drug-delivery device for transarterial chemoembolization. JVIR 2006; 17: 335-342.
- Laboratoires Terumo, Dossier produit DC Bead, août 2007.
- Zahraei Z, Rabbani-Chadegani A. A comparison of the effect of anticancer drugs, idarubicin and adriamycin, on soluble chromatin. European Journal of Pharmacology 2007; 575: 28-33.

Annexe 2.

IDASPHERE

Chimioembolisation des carcinomes hépatocellulaires non résécables, non métastatiques par des microsphères d'embolisation (DC Bead™) chargées avec de l'idarubicine (Zavedos®) : étude de phase I

Version 3.1 du 22/01/2010

Version 3.1 Approuvée le 09/07/2009 par le CPP Est I
Version 3.1 Approuvée le 22/01/2010 par l'AFSSAPS

Version 4 du 26/05/2010

Version 4 Approuvée le 17/06/2010 par le CPP Est I
Version 4 Approuvée le 18/06/2010 par l'AFSSAPS

Étude clinique de phase I

Catégorie de la recherche : Médicaments

Promoteur : CHU de DIJON

ASSURANCE :

Société Hospitalière d'Assurances Mutuelles (SHAM)
Police n° 129.234

N° EudraCT : 2009-013288-20
MS1: 2009-013288-20 / 1
MS2: 2009-013288-20 / 2

I. Investigateurs et structure administrative de l'étude

Promoteur	CHU DE DIJON 1 Bd Jeanne D'Arc BP77908 21079 DIJON Cedex	**Signatures**
Responsable de la Recherche	Direction de la Recherche et de l'Innovation CHU de Dijon. Fax : 03.80.29.36.90	
Médecin coordonnateur du Pôle Recherche Clinique	Pr Jean FAIVRE Pôle de Recherche Clinique CHU de Dijon. Tél. : 03.80.29.55.80 Fax : 03.80.29.36.90 e-mail : jean.faivre@chu-dijon.fr	
Investigateur Coordonnateur	Monsieur le Professeur BEDENNE CHU de Dijon Service d' Hépatogastroentérologie Hôpital du Bocage Boulevard Maréchal De Lattre De Tassigny BP 77980 21079 DIJON Cedex Tél : 03.80.29.37.50 Fax : 03.80.29.37.22 e-mail : lbedenne@u-bourgogne.fr	
Méthodologiste / Statisticien	BONNETAIN Franck Responsable Unité de biostatistiques et épidémiologie Centre Georges François Leclerc 1 rue Professeur Marion BP 77980 21079 DIJON Cedex Tél : 03.80.73.77.84 Fax : 03.80.73.77.34 E-mail : FBonnetain@dijon.fnclcc.fr	
Responsable de la Pharmacovigilance	Dr Aurélie GRANDVUILLEMIN CHU de Dijon Tél. : 03.80.29.32.46 Fax : 03.80.29. 36.90 e-mail :aurélie.grandvuillemin@chu-dijon.fr	
Investigateurs (médecins thésés)	Liste fournie dans un document indépendant	

II. SYNOPSIS

Titre de l'étude	**IDASPHERE** Chimioembolisation des carcinomes hépatocellulaires non résécables, non métastatiques par des microsphères d'embolisation (DC Bead™) chargées avec de l'idarubicine (Zavedos®) : étude de phase I
Promoteur	**CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DE DIJON**
Investigateurs	* Dr Romaric LOFFROY, Dr Jean Michel LERAIS, Dr Jean Pierre CERCUEIL, Pr Denis KRAUSE, Département d'Imagerie Médicale, CHU DIJON * Dr Jean Louis JOUVE, Dr Anne MINELLO, Dr Alice GAGNAIRE, Dr Côme LEPAGE, Dr Mathilde DAVID, Dr Simona COSCONEA, Pr Jean FAIVRE, Pr Patrick HILLON, Pr Laurent BEDENNE, Département d'Hépato-gastroentérologie, CHU DIJON * Dr François GHIRINGHELLI, Dr Nicolas ISAMBERT, Pr Bruno CHAUFFERT, Département d'Oncologie Médicale, Centre Régional de Lutte contre le Cancer Georges François Leclerc, DIJON
Justification de la recherche	La chimioembolisation est une méthode de traitement reconnue des carcinomes hépatocellulaires (CHC) • la chimioembolisation classique consiste à injecter une émulsion d'un médicament anticancéreux dans le Lipiodol® par le biais de l'artère hépatique • la doxorubicine, une anthracycline, est le médicament le plus utilisé en CEL • cependant moins de la moitié des CHC répondent favorablement à une CEL classique par doxorubicine/Lipiodol® Il est proposé dans cet essai d'introduire en clinique une solution utilisant l'idarubicine à la recherche d'une plus grande efficacité antitumorale en raison des considérations suivantes, récemment mises en évidence par notre équipe : • l'idarubicine est une anthracycline qui pénètre plus rapidement dans les cellules tumorales et qui est plus cytotoxique que la doxorubicine sur les lignées de carcinome hépatocellulaire • l'idarubicine est injectée dans une solution de microsphères d'embolisation de diamètre calibré (300-500µm) permettant un relargage progressif et contrôlé de l'anticancéreux alors que l'émulsion doxorubicine/Lipiodol® est instable
Objectifs	• **OBJECTIF PRINCIPAL :** Déterminer la dose maximale tolérée (DMT) de l'idarubicine administrée dans une solution de microsphères au cours d'une chimioembolisation à utiliser dans les essais de phase II et III et d'en déduire la dose limitante toxique. • **OBJECTIFS SECONDAIRES :** • Etudier la pharmacocinétique de l'idarubicine sous cette forme d'administration nouvelle • Evaluer le taux des réponses objectives • Evaluer le temps jusqu'à progression • Evaluer le temps jusqu'à détérioration définitive de la qualité de vie
Durée prévue de l'étude	24 mois
Nombre de patients prévu	Technique de « Continual Reassessment Method » (CRM) L'arrêt de l'étude s'effectuera lorsque 9 patients auront été traités à une dose ou si 2 DLT ont été observées au palier 0 ou après l'inclusion d'un maximum de 18 patients.

Sélection des sujets	• **CRITERES D'INCLUSION** - CHC prouvé par cytologie ou histologie ou diagnostiqué selon les critères 2005 de l'American Association for the Study of Liver Diseases, (AASLD), qui nécessite la présence d'une cirrhose histologique ou indiscutable et suivant la taille du (des) nodule(s) : • nodule < 1 cm : augmentation de taille durant un suivi par échographie tous les 3-4 mois • nodule entre 1 et 2 cm : 2 techniques d'imagerie concordantes parmi scanner, IRM, échographie de contraste (CEUS); diagnostic de CHC en présence d'une image typique (hypervascularisée à la phase artérielle + wash-out) avec les 2 méthodes d'imagerie ; dans les autres cas, biopsie. • nodule > 2 cm : scanner ou IRM ou CEUS (1 seule technique) ; diagnostic de CHC en présence d'une image hypervascularisée associée soit à une image de wash-out soit à une alphafoetoprotéine> 200 µg/L ; dans les autres cas, biopsie. – Au maximum 3 nodules (Maladie unilobaire sans limite du nombre de nodules, ou maximum 3 nodules en cas de maladie bilobaire) repartis dans le foie détectés sur une IRM hépatique avec injection de chélate de Gadolinium, datant de moins d'1 mois. En cas de contre-indication à l'IRM (pacemaker, corps étrangers métalliques intra-oculaires, certaines valves cardiaques et certains clips intra-craniens), un scanner sans et avec injection de produit de contraste iodé sera réalisé). – En cas de cirrhose : stade Child-Pugh A ou B 7 sans ascite, ni ictère – Etat général OMS 0, 1 – Plaquettes > 50 000/mm^3, Polynucléaires neutrophiles > 1000/mm^3 – Créatininémie < 150 µmol/l – Pas d'insuffisance cardiaque (FEV isotopique ou échographique > 50%) – Age ≥ 18 ans – Consentement éclairé signé • **CRITERES DE NON INCLUSION** – Patient pouvant bénéficier d'une résection chirurgicale ou d'une transplantation hépatique ou d'un traitement local par radio-fréquence – Métastases extra-hépatiques (poumon, os, péritoine...) – Hémorragie digestive datant de moins d'un mois – Patient sous anticoagulant – Thrombose portale portant sur plus d'une branche segmentaire ou flux hépatofuge au doppler – Femme enceinte – Infection non contrôlée – Hypersensibilité aux anthracyclines – Hypersensibilité aux produits de contraste iodés – Patient sous tutelle, curatelle ou sauvegarde de justice
Déroulement de l'étude	• **DESCRIPTION CHRONOLOGIQUE DE L'ETUDE** Etude de phase I unicentrique avec escalade de dose. Le traitement comportera une seule cure de chimioembolisation, administrée à dose fixe dans un palier, quelque soit le poids et la taille du patient. Les patients seront hospitalisés durant 3 jours à compter de la date de chimioembolisation et ensuite suivis régulièrement durant 2 mois à compter de la date de la chimioembolisation (surveillance

	clinique, biologique et radiologique). La poursuite du traitement au delà des 2 mois est laissée à l'appréciation des investigateurs en fonction de la tolérance et des résultats obtenus. En cas de retraitement, il sera privilégié de maintenir le traitement administré lors de l'essai.
Déroulement des traitements/escalade de dose	L'inclusion des patients et l'affectation des paliers de doses se feront selon la méthode Continual Reassessment Method (CRM). L'escalade de dose ne portera que sur l'idarubicine, (la quantité des microsphères d'embolisation restant identique) selon les modalités suivantes en débutant au palier 1 : - palier 0 idarubicine 5 mg - palier 1 idarubicine 10 mg - palier 2 idarubicine 15 mg - palier 3 idarubicine 20 mg - palier 4 idarubicine 25 mg <u>Dose limitante toxique (DLT)</u> : survenue d'une toxicité : - allergique/immunologique de grade 4 - auditive/oculaire de grade 3 ou 4 - hématologique de grade 4 (pour la valeur des polynucléaires neutrophiles et des plaquettes une toxicité de grade 4 n'est pas définie comme une DLT si retour grade ≤3 en 7 jours ou moins) - cardiaque de grade 4 - des marqueurs de la coagulation grade 4 - des signes généraux de grade 4 - cutanée grade 3 ou 4 - endocrinienne grade 3 ou 4 - gastro-intestinale grade 4 - hémorragique grade 4, - hépatobiliaire/pancréatique grade 3 ou 4 - infectieuse grade 4 - lymphatique grade 3 ou 4 - métabolique/biologique grade 4 (exceptions : une bilirubinémie totale > 5N durant > 5 jours et une créatininémie grade 3 considérées comme DLT) - musculosquelettique grade 4 - neurologique grade 3 ou 4 - oculaire/visuelle grade 4 - douleurs grade 4 - pulmonaire grade 3 ou 4 - rénale/génitourinaire grade 3 ou 4 - sur les fonctions de reproduction grade 3 ou 4 - vasculaire grade 3 ou 4. Les DLT seront étudiées dans un intervalle de 1 mois à compter de la date de la chimioembolisation. <u>Dose maximale tolérée (DMT)</u> : définie comme le palier de dose précédant celui définissant la dose limitante c'est-à-dire le palier pour lequel 20% des patients au maximum ont une DLT. C'est aussi la dose recommandée. Les patients seront inclus par cohorte de 1 patient, 1 mois après l'inclusion du patient précédent (i.e. après analyse de la DLT pour le patient précédemment inclus). L'affectation des patients suivants se fera en fonction de l'existence de DLT ou non pour les patients inclus, la méthode CRM affectant (logiciel NP1) le patient dans le palier dont la probabilité de toxicité est la plus proche du palier cible (i.e. DMT) est optimisé.
Modalités d'administration	La chimioembolisation se déroulera en salle de Radiologie Interventionnelle du Département d'Imagerie Médicale diagnostique et interventionnelle du CHU de Dijon. L'examen radiologique avec contraste comprendra une exploration vasculaire complète : cathétérisme fémoral, aortographie, tronc coeliaque, artère mésentérique supérieure et recherche de vascularisation accessoire éventuelle (artères diaphragmatiques, surrénaliennes, intercostales, etc…).

	Une embolisation ultrasélective avec les sphères chargées sera réalisée après cathétérisme par un microcathéter. Juste avant l'injection, le radiologue ouvrira la gaine contenant la seringue préparée à la pharmacie ; celle-ci contient les microsphères chargées avec la dose définie d'idarubicine. Il ajoutera alors via un robinet 3 voies cinq millilitres de Visipaque® qui servira à visualiser l'injection. Le mélange sphères chargées-produit de contraste sera homogénéisé par simple retournement et injecté au mieux dans des branches segmentaires ou sous-segmentaires, éventuellement dans une branche sectorielle (antérieure ou postérieure droite). En cas de vascularisation accessoire, l'injection sera réalisée dans les branches accessoires via un micro cathéter, le plus en distalité possible. Une chimioembolisation lobaire (artère hépatique droite ou gauche) ne sera réalisée qu'en cas d'impossibilité de cathétérisme ultra-sélectif.
Critères d'évaluation de l'étude	• **CRITERE D'EVALUATION PRINCIPAL** Tolérance : les toxicités seront définies selon l'échelle NCI CTC AE v3.0 (annexe 9) pour déterminer la dose limitante. • **CRITERES D'EVALUATION SECONDAIRES** - Pharmacocinétique : des échantillons de sang (5 ml) seront prélevés à des temps réguliers avant, à 5 mn, 15 mn, 30 mn, 2h, 6h, 24h et 72 h après la fin de la perfusion. Les échantillons sanguins seront centrifugés et congelés (- 20°C) avant dosage de l'idarubicine. La concentration de l'idarubicine sera déterminée à l'aide d'une technique HPLC (High Pressure Liquid Chromatography) couplée à une détection par fluorimétrie validée et adaptée de Kuhlmann et coll., 1999. Les dosages seront effectués au sein du laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie du Pr DUMAS-MARION, CHU DIJON, France. Les paramètres pharmacocinétiques estimés à l'aide des différents dosages seront : T max, C max et aire sous la courbe (AUC). - Réponses objectives : évaluation selon les critères de l'European Association for Study of the Liver (Bruix 2000) à l'aide des IRM hépatiques à 1 mois et 2 mois. - Temps jusqu'à progression : défini comme l'intervalle de temps entre la date d'inclusion et la date de 1ère progression. Les patients vivants sans progression seront censurés à la date de dernière nouvelle. Les patients décédés sans progression seront censurés à la date de décès. - Qualité de vie : questionnaire spécifique QLQ-C30 version 3 (annexe 11) de l'European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC). Une différence, quel que soit le suivi, de + 5 points pour le score de santé globale sera jugé comme étant la plus petite différence ayant un sens clinique à détecter. Le temps jusqu'à détérioration définitive du score de santé global sera défini comme l'intervalle de temps entre la date de randomisation et la date d'une diminution du score de plus de 5 points sans amélioration ultérieure de plus de 5 points ou le décès ou la date de dernières nouvelles. Les patients vivants sans diminution de plus de 5 points du score seront censurés aux dernières nouvelles.
Méthodologie statistique	Toutes les analyses de l'objectif principal seront réalisées en per-protocole, auprès de l'ensemble des patients ayant reçu le traitement au palier retenu. Toutes les analyses seront réalisées à l'aide du logiciel Stata (V10). Elles seront descriptives, les variables qualitatives seront décrites à l'aide de fréquence et pourcentage avec leur intervalle de confiance à 95%, les variables continues seront décrites à l'aide de moyenne (SD), médiane (Min-Max). Après description du nombre d'événements, les survies et les temps jusqu'à progression ou détérioration définitive de la qualité de vie seront estimés selon la méthode de Kaplan-Meier et décrites à l'aide de médianes et de taux avec leur intervalle de confiance à 95%.
Calendrier Prévisionnel	- date de début d'inclusion : octobre 2009 - date de fin d'inclusion : mars-mai 2011 - date de fin de l'étude : septembre 2011 - durée totale de participation pour un patient : 2 mois

III. LISTE DES ABREVIATIONS ET DEFINITION DES TERMES

Abréviations	Significations
AC	Autorité Compétente
AFSSaPS	Agence Française de Sécuité Sanitaire et des Produits de Santé
Ag HBs	Antigène du virus de l'hépatite virale B
ASAT et ALAT	Aspartate aminotransférase et Alanine aminotransférase
BCLC	Barcelona Clinic Liver Cancer
CHC	Carcinome Hépatocellulaire
CIC	Centre d'Investigation Clinique
CPP	Comité de Protection des Personnes
CRF	Case Report Form
CRM	Continual Reassessment Method
CLIP	Cancer of the Liver Index of Prognosis
CLUD	Comité de lutte contre la douleur
DASRI	Déchets d'activité de soins à risque infectieux
DMT	Dose maximale tolérée
EASL	European association for study of the liver
ECG	Electrocardiogramme
EI	Evènement indésirable
EIG	Evènement indésirable grave
EORTC	European Organisation for Research and Treatment of Cancer
FEV	Fraction d'éjection ventriculaire
GGT	Gamma-glutamyl-transpeptidase
IRM	Imagerie par résonance magnétique
MTD	Dose maximale tolérée
NCI CTC AE v3.0	National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Event version 3
NFS	Numération formule sanguine
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PAL	Phosphatases alcalines
PCA	Perfusion continue autoadministrée
RCP	Résumé des Caractéristiques du Produit
TCA	Temps de céphaline activée
TP	Taux de prothrombine
VHB	Virus de l'hépatite B
VHC	Virus de l'hépatite C

1. INTRODUCTION

1.1. Etat de l'art

Le carcinome hépatocellulaire (CHC), de par son incidence, représente le 5ème cancer le plus fréquent dans le monde. Il se situe au 3ème rang mondial de la mortalité par cancers (Bosch 2004, El-Serag 2007). On estime à 1 million le nombre de patients atteints d'un CHC dans le monde et autant de décès.
En France, on comptait 5976 nouveaux cas de CHC en 2000 (Source INCa 2007). L'incidence du CHC a triplé en 20 ans en France (Remontet 2003). Les raisons avancées sont : le pic de cancers dus aux infections virales C contractées il y a 20 à 30 ans, l'amélioration des traitements des complications autres des cirrhoses (infections, hémorragies...) et la forte augmentation des stéatohépatites non alcooliques liées à l'obésité et au diabète. Au Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, environ 120 nouveaux patients atteints d'un CHC ont été pris en charge en 2008.
Ce cancer affecte majoritairement les hommes avec un sex-ratio homme/femme de 5,2 avec un âge moyen de survenue de 67,5 ans (Borie 2004).
Les principaux facteurs de risque identifiés en France sont la consommation chronique et excessive d'alcool, l'infection par le virus de l'hépatite B et l'infection par le virus de l'hépatite C (Borie 2004, Merle 2005).
Le CHC survient dans plus de 80 % des cas sur une cirrhose préexistante, d'origine alcoolique, virale ou mixte (Borie 2004, Saffroy 2004). La majorité d'entre eux sont diagnostiqués à un stade avancé, d'où un pronostic sombre (Borie 2004, Saffroy 2004).
Le taux de survie à 5 ans n'est que de 33% avec un traitement à visée curative et ne dépasse pas 2% avec un traitement à visée palliative (Borie 2004, Saffroy 2004).

1.2. Connaissances scientifiques actuelles et questions restant en suspens

1.2.1- Décrire les traitements ou prise en charge déjà existants et leurs limites

Même s'il n'y a pas de métastase au diagnostic, le traitement du CHC reste difficile. Si la tumeur est localisée et la cirrhose est peu évoluée, la résection chirurgicale doit être tentée (Mazziotti 1998), voire renouvelée (Farges, 1998). Si le sujet est jeune, une transplantation hépatique doit être discutée (Tanz, 1998). Malheureusement, dans environ 70% des cas, le CHC est pluri-focal ou non résécable compte tenu de l'état hépatique et il n'y a pas de chimiothérapie systémique clairement efficace. La chimioembolisation a été proposée pour traiter les CHC non résécables. Cette technique s'appuie sur l'hypervascularisation des CHC et sur le double apport vasculaire au foie, ce qui permet d'interrompre temporairement le flux artériel sans entraîner de nécrose ischémique hépatique. La chimioembolisation utilise également les propriétés de vecteur du Lipiodol®, produit de contraste lipidique se distribuant préférentiellement dans la microcirculation abondante et terminale des CHC. En revanche, la microcirculation du parenchyme hépatique est telle que l'émulsion la traverse rapidement sans s'y arrêter (Khan 1991). En pratique, les médicaments anticancéreux les plus fréquemment utilisés pour la chimioembolisation des CHC sont la doxorubicine, le cisplatine, l'épirubicine et la mitomycine C (Marelli 2007). Ceux-ci sont émulsionnés par agitation mécanique avec le Lipiodol® et injectés immédiatement dans l'artère hépatique. Une embolisation de l'artère hépatique complète généralement le geste. L'émulsion est retenue pendant plusieurs jours dans le réseau vasculaire tumoral, ce qui accroît l'efficacité des médicaments cytotoxiques.
La chimioembolisation possède une efficacité antitumorale certaine avec 30 à 50 % de réponses parfois prolongées (Venook, 1990). Deux études randomisées récentes (Lo 2002, Llovet 2002) et une méta-analyse (Llovet 2003) confirment que la chimioembolisation augmente la survie par rapport à l'abstention thérapeutique. Les résultats de cette méta-analyse pourraient être cependant quelque peu modifiés par la prise en compte des données récemment publiées d'une étude française qui est négative (Doffoel 2008). La chimioembolisation est surtout efficace quand les tumeurs hépatiques retiennent bien le Lipiodol®, ce qui est le cas dans 2/3 des cas (Lee 2002, Ebied 2003). Cependant, la toxicité de la chimioembolisation est importante, particulièrement si la fonction hépatique est déjà altérée ou s'il y a une thrombose portale (Trinchet 1998). Cette toxicité est en grande partie attribuable à l'embolisation artérielle qui aggrave l'insuffisance hépatique et produit une nécrose pouvant se surinfecter. L'injection du simple mélange Lipiodol®-molécule anticancéreuse sans obstruction de

l'artère hépatique est mieux tolérée mais son efficacité antitumorale est moindre (Suzuki, 1997). Une solution pour éviter l'insuffisance hépatique est de n'emboliser qu'une des deux branches, droite ou gauche, de l'artère hépatique en débutant le traitement par le coté le plus atteint (Li, 1998), notamment si le volume tumoral hépatique est important.

Si la chimioembolisation classique a prouvé son efficacité, elle reste très dépendante de l'opérateur et de nombreuses questions restent en suspens. En effet, à ce jour, on ne sait pas quel est l'anticancéreux de choix, quel est le meilleur vecteur pour une libération progressive de la molécule, s'il faut faire une embolisation simultanée ou non, quelle est la meilleure technique de préparation de l'émulsion, à quelle vitesse injecter l'émulsion, quelle doit être la fréquence entre deux cures…Toutes ces questions ont été récemment soulevées par un auteur italien (Marelli 2007) et sont actuellement sans réponse.

1.2.2- Décrire le nouveau traitement ou la nouvelle prise en charge proposée

Il est proposé dans cet essai de tester une nouvelle chimioembolisation consistant en l'injection d'une solution d'un anticancéreux, l'idarubicine, chargée dans des microsphères d'embolisation d'un diamètre moyen de 400µm.

<u>Idarubicine</u>
Nous faisons donc l'hypothèse que l'efficacité de la chimioembolisation pourrait être augmentée en utilisant une molécule anticancéreuse plus cytotoxique que celles utilisées classiquement depuis de nombreuses années. Leur utilisation ne repose en effet sur aucune étude pharmacologique préclinique valide. Nous avons récemment réalisé une étude pharmacologique préclinique *in vitro* qui consistait à évaluer la cytotoxicité de différents anticancéreux (molécules déjà utilisées et nouvelles molécules) sur des lignées cellulaires cancéreuses humaines.
Il ressort de cette étude que l'idarubicine, molécule de la famille des anthracyclines, a clairement une cytotoxicité supérieure aux autres molécules, notamment celles classiquement utilisées pour la chimioembolisation des patients atteints d'un CHC (Boulin 2009). Dans cette étude, nous avons en effet montré que sur 3 lignées de carcinome hépatocellulaire humain, l'idarubicine est la seule molécule capable de tuer 90% des cellules, et ce dès qu'on expose les cellules à des concentrations faibles de la molécule de l'ordre de 100 µg/ml. Dans cette étude de cytotoxicité *in vitro*, l'idarubicine est clairement plus cytotoxique sur les 3 lignées cellulaires testées que la doxorubicine, le cisplatine, l'épirubicine, la mitomycine C. Les 4 dernières molécules sont les plus utilisées à travers le monde pour la chimioembolisation des CHC (Marelli 2007).
Un autre avantage de la molécule pourrait être sa capacité à surmonter la résistance multidrogue (MDR), phénomène intrinsèquement exprimé par les cellules de carcinome hépatocellulaire (Minnemura 1993). En effet, grâce à sa lipophilie, la molécule pénètre rapidement à l'intérieur de la cellule cancéreuse, permet ainsi d'obtenir des concentrations rapidement cytotoxiques, prévenant du même coup les phénomènes de MDR. Cette hypothèse a été vérifiée sur des cellules de myélome (Roovers 2001). Elle est également confirmée par nos travaux récents : sur des lignées cellulaires humaines de cancers colorectaux, la concentration intracellulaire mesurée d'idarubicine est 20 fois supérieure à celle de doxorubicine pour un temps d'exposition et une concentration initiale identique. Nous avons également montré que l'efficacité de l'idarubicine n'est pas majorée par l'addition d'amiodarone, un inhibiteur de la MDR (Chauffert 1986), alors que l'amiodarone augmente clairement la cytotoxicité de la doxorubicine (Boulin 2009).

L'idarubicine est un antibiotique cytotoxique de la famille des anthracyclines. Elle est utilisée depuis de nombreuses années en hématologie, chez des patients atteints de leucémies aiguës (myéloblastiques et lymphoblastiques). La molécule est administrée par voie intraveineuse à la posologie de 12 mg/m² pendant 3 jours consécutifs ou 8 mg/m² pendant 5 jours consécutifs.
L'idarubicine interagit avec l'ADN en s'intercalant entre 2 bases adjacentes, interagit avec la topo-isomérase II, et a un effet inhibiteur sur la synthèse des acides nucléiques.
La modification apportée sur la position 4 du noyau de l'anthracycline confère à l'idarubicine une forte lipophilie ; de ce fait, l'idarubicine présente une meilleure pénétration intracellulaire que la doxorubicine ou la daunorubicine, notamment.

A ce jour, la molécule n'a jamais été administrée chez l'homme par voie intra-artérielle. En revanche son efficacité a déjà été testée chez des patients atteints d'un CHC non résécables. Quarante cinq patients ont en effet reçu 5 mg d'idarubicine par voie orale pendant 21 jours consécutifs, chaque cycle reprenant à J28. Avec un nombre médian de cycles égal à 4 (1-14) et une médiane de survie sans progression de 4 mois (2-17), les auteurs concluent à une inocuité et une efficacité de la molécule chez ces patients cirrhotiques (Tumolo 2002).

Microsphères d'embolisation

Nous faisons également l'hypothèse que l'efficacité de la chimioembolisations pourrait être augmentée en utilisant un vecteur plus spécifique que le Lipiodol®, à savoir les microsphères d'embolisation.

Le Lipiodol® présente en effet deux inconvénients : certaines tumeurs environ 25% ne retiennent pas le produit (Lee 2002, Ebied 2003) et les émulsions réalisées en mélangeant ce produit de contraste à la doxorubicine, molécule la plus utilisée à travers le monde pour les chimioembolisations, sont instables (Heresbach 1989, Favoulet 2001).

D'ailleurs, une étude ayant comparé la survie de patients atteints de CHC traités par chimiothérapies intra-artérielles à base de doxorubicine et de Lipiodol ou par des chimiothérapies intraveineuses de doxorubicine ne rapporte aucune différence entre les 2 groupes (Kalayci 1990). Les mêmes auteurs ont également étudié les caractéristiques pharmacocinétiques de la doxorubicine en fonction des modalités d'administration de la molécule (intraveineuse, intra-artérielle avec et sans Lipiodol®). En l'absence de différence, ils concluaient que le Lipiodol® n'était pas un vecteur approprié pour l'injection intra-artérielle de doxorubicine (Johnson 1991).

Une solution à ce problème spécifique du vecteur pourrait donc être le recours à des microsphères d'embolisation, dispositifs médicaux récemment commercialisés par deux laboratoires pharmaceutiques, Terumo (DC Bead™) et Biosphère Médical (HepaSphere™). Il s'agit donc de microsphères produites à partir d'alcool polyvinylique, biocompatibles, hydrophiles, stériles et apyrogènes, précisément calibrées en terme de taille et qui peuvent être chargées avec différentes molécules, à la condition que ces dernières soient chargées positivement. Cela est notamment le cas de la doxorubicine mais aussi de l'idarubicine. En pratique, il suffit de mettre en contact la quantité souhaitée de l'anticancéreux dans un flacon contenant les microsphères, attendre un certain délai de chargement (1 heure en moyenne), de retirer le surnageant (qui ne contient ni les microsphères ni donc l'anticancéreux), de prélever la solution obtenue dans une seringue qui sera prête à l'emploi pour le radiologue. Juste avant administration, le radiologue ajoutera à la solution quelques millilitres d'un produit de contraste non ionique (afin de ne pas déplacer la liaison ionique anticancéreux chargé positivement- sphères chargées négativement) à l'aide d'un robinet 3 voies.

Les sphères d'embolisation permettent d'une part l'embolisation des vaisseaux alimentant la(les) tumeur(s) hypervascularisée(s) dont on sait qu'elle seule a une efficacité antitumorale (Marelli 2007) et d'autre part, la libération contrôlée et prolongée de l'anticancéreux au contact de la tumeur. Cette seconde propriété pourrait permettre de renforcer l'efficacité locale de la chimiothérapie, limiter la dissémination systémique de l'anticancéreux et donc améliorer la tolérance de la procédure.

Cet avantage des microsphères a été clairement établi par une étude récente (Varela 2007). Les auteurs ont en effet montré que la concentration de doxorubicine dans le sang des patients dans les 7 jours suivant la séance de chimioembolisation étaient nettement supérieurs dans le groupe des patients traités avec une émulsion classique lipiodolée comparativement au groupe des patients traités avec microsphères.

Auparavant, des résultats prometteurs de l'utilisation des sphères chargées sur des modèles animaux avaient été publiés, que ce soit avec DC Bead™ (Hong 2006, Lewis 2006) ou avec HepaSphere™ (De Luis 2008). A ce jour, les premiers résultats cliniques ont confirmé le profil pharmacocinétique favorable des microsphères avec de bonnes réponses tumorales et un faible taux de complications.

La 1ère étude de chimioembolisation avec DC Bead™ chargées avec de la doxorubicine chez 27 patients atteints d'un CHC non métastatique non résécable Child A, a indiqué un taux de réponse globale selon les critères de l' European Association for Study of the Liver (EASL) de 66% pour un taux de complications de 7% et une probabilité de survie à 2 ans de 89% (Varela 2007). Les résultats de cette étude ont été confirmés par une seconde étude réalisée avec DC Bead™ (Malagri 2008) et par une étude multicentrique avec HepaSphere™ chargée avec doxorubicine ou épirubicine (Grosso 2008). Dans la seconde étude ayant testé l'efficacité et la tolérance des chimioembolisations avec DC Bead™ chez 62 patients présentant un CHC non opérable, les auteurs rapportent un taux de réponse objective à 9 mois selon les critères de l'EASL de 80%. Les patients ont reçu dans cette étude 3 chimioembolisations successives à 3 mois d'intervalle, les microsphères étaient chargées avec la

doxorubicine à une dose comprise entre 50mg à 150 mg. Deux complications sévères liées à la procédure se sont produites (3,2%) : un abcès hépatique chez 1 patient et une cholécystite chez 1 patient.
La 3ème et dernière étude publiée à ce jour sur l'efficacité et la tolérance des chimioembolisations avec microsphères d'embolisation a été réalisée avec HepaSphere™. Il s'agit encore d'une étude non randomisée, celle-ci est en revanche multicentrique et a inclus 50 patients présentant un CHC non résécable avec 90% d'entre eux avec un Child A (10% Child B). Le diamètre moyen total des lésions traitées étaient 4,2 cm avec un maximum de 4 nodules. Ces caractéristiques tumorales sont comparables à celles des patients inclus dans les deux études précedentes. Les résultats obtenus sont comparables à ceux des études ayant testé les DC Bead™, à savoir un taux global de réponses objectives à 6 mois toujours selon les critères de l'EASL de 77%.
A ce jour, un essai international de phase III ayant comparé l'efficacité et la tolérance de chimioembolisations par DC Bead™-doxorubicine versus Lipiodol®-doxorubicine chez des patients atteints d'un CHC non résécable a été réalisé. La présentation des résultats de cette étude a été faite très récemment (Lammer 2008) ; ceux-ci apparaissent relativement nuancés. Le principal avantage des microsphères à l'heure actuelle pour la chimioembolisation est de permettre de « standardiser » la technique.

Justificatif des doses d'idarubicine
Il est décidé dans cet essai de travailler sur des doses fixes de l'anticancéreux (et non sur des doses rapportées à la surface corporelle des patients) comme cela est d'ailleurs classiquement fait dans les essais de chimioembolisations. Cela est lié à la nature même du traitement, dont le but est bien une délivrance locale « hépatique » de la chimiothérapie et non pas une dissémination comme dans le cas général des chimiothérapies intraveineuses.
La dose initiale de 10 mg d'idarubicine a notamment été estimée à partir des données connues de cardiotoxicité des anthracyclines (source Vidal 2009). La toxicité cardiaque de l'idarubicine et de la doxorubicine survient en effet pour des doses cumulées totales de 93 mg/m² et 550 mg/m² respectivement. Cela correspond environ à un rapport 1/6. Au cours des chimioembolisations avec la doxorubicine, il est injecté des doses comprises entre 50 mg et 150 mg que ce soit avec le Lipiodol depuis de nombreuses années ou avec les microsphères plus récemment (cf. précédemment). En se basant donc sur ce rapport 1/6, nous avons donc fixé nos paliers de dose d'idarubicine entre 10 mg et 25 mg (à l'exception du palier de dose de désescalade).
Enfin, si l'on se réfère aux doses d'idarubicine utilisées couramment par voie intraveineuse en hématologie (12 mg/m² 3 jours consécutifs ou 8 mg/m² 5 jours consécutifs) et pour lesquelles la toxicité est parfaitement connue en raison notamment de l'ancienneté du produit, nous pensons qu'une dose maximale de 25 mg pour la chimioembolisation ne fait pas courir de risques toxiques au patient.

1.3. Rapport bénéfice / risque

Le pronostic des patients atteints d'un CHC reste très péjoratif. Presque trois quart d'entre eux, non résécables auront un traitement palliatif. Parmi eux, ceux qui bénéficieront d'une chimioembolisation auront une médiane de survie de l'ordre de 18 mois (Marelli 2007). Cette technique mondialement répandue, dont l'efficacité a été prouvée par deux essais randomisés (Lo 2002, Llovet 2002) et une méta-analyse (Llovet 2003) demeure cependant largement perfectible.
Si l'objectif principal de cet essai est de déterminer le profil de tolérance de l'idarubicine administrée dans des microsphères d'embolisation, il est attendu de cette nouvelle technique de chimioembolisation qu'elle améliore le pronostic des patients atteints d'un CHC non résécable, non métastatique, avec une bonne fonction hépatique et en l'absence de thrombose portale. A la suite de cet essai, il est évidemment prévu de réaliser des essais de phase II puis III afin de répondre à cette question.

L'inclusion séquentielle des patients sera déterminée à l'aide de la technique dite « Continual Reassessment Method » (CRM). Cette technique permet de diminuer le nombre de patients aux paliers faibles (et vraisemblablement inefficaces) ou trop toxiques, de fait elle permet d'augmenter les inclusions dans le palier ciblé en focalisant l'étude sur les doses potentiellement efficaces. Avant d'inclure un nouveau patient, la dose maximale tolérée (MTD) est estimée en prenant en compte les toxicités expérimentales survenues chez les patients déjà traités dans les différents paliers.

La faisabilité de cette étude de phase I testant une nouvelle chimioembolisation à base d'idarubicine chargée dans des sphères d'embolisation de 300-500µm repose sur les éléments suivants :

- L'idarubicine est une anthracycline utilisée depuis de nombreuses années par voies intraveineuse et orale dans le traitement des leucémies aiguës ; elle pénètre plus rapidement dans les cellules tumorales et est plus cytotoxique que la doxorubicine sur les lignées de CHC ; son profil de toxicité est connue, elle sera ici utilisée à des doses plus faibles que celles employées en hématologie.
- L'utilisation de sphères d'embolisation s'est généralisée depuis quelques années pour la réalisation de chimioembolisations ; leur inocuité et les avantages qu'elles offrent sont connus.

1.4. Réglementation

1.5.1 Conduite éthique de l'étude

La planification et la conduite de cette étude sont régies par les lois françaises et européennes (notamment la loi n° 88-1138 modifiée dite loi « Huriet » publiée au Journal Officiel du 22 décembre 1988, ses amendements et ses décrets d'application et la Directive européenne 2001-20-CE du 4 avril 2001). Cet essai ne pourra commencer que lorsque l'ensemble des dispositions légales relatives aux obligations préalables à la mise en œuvre d'une recherche biomédicale auront été respectées. L'étude sera conduite en accord avec les principes éthiques de la déclaration d'Helsinki et les recommandations des Bonnes Pratiques Cliniques – ICH du 17 janvier 1997.

Le responsable de la recherche du promoteur pourra décider de l'arrêt complet de l'étude pour raisons médicales. De plus, le promoteur se réserve le droit de mettre fin à l'étude à tout moment si celle-ci ne peut pas être menée en accord avec le protocole.

En cas d'arrêt prématuré ou en cas de suspension de l'étude, le promoteur informera rapidement les investigateurs, ainsi que les autorités réglementaires et le C.P.P. de l'arrêt ou de la suspension de l'étude, ainsi que de la raison de cette décision.

1.5.2. Engagement de l'Investigateur- Bonnes Pratiques

L'investigateur s'engage à respecter le protocole et à l'appliquer en tenant compte des bonnes pratiques cliniques.
Il s'engage à laisser libre l'accès aux données de l'étude au promoteur, moniteurs, auditeurs ou personnes représentant les Autorités de Santé.

1.5. Description de la population à étudier

La chimioembolisation a prouvé son efficacité chez des patients atteints d'un CHC non résécables, non métastatiques, présentant une bonne fonction hépatique et en l'absence de thrombose portale (Lo 2002, Llovet 2002, Llovet 2003). Notre essai s'adresse donc exclusivement à ce type de patients.

2. OBJECTIFS DE L'ETUDE

L'étude IDASPHERE est une étude de phase I monocentrique, en ouvert, contrôlé, évaluant la tolérance et l'efficacité d'une chimioembolisation avec de l'idarubicine administrée dans des microsphères d'embolisation d'un diamètre moyen de 400 µm pour le traitement des patients atteints d'un CHC non métastatique, non résécable avec une bonne fonction hépatique et en l'absence de thrombose portale.

2.1 Objectif Principal

L'objectif principal de l'étude est de déterminer la dose maximale tolérée (DMT) de l'idarubicine administrée dans une solution de microsphères au cours d'une chimioembolisation à utiliser dans les essais de phase II et III et d'en déduire la dose limitante toxique.

2.2 Objectifs Secondaires

Les objectifs secondaires de l'étude sont :

- Etudier la pharmacocinétique de l'idarubicine avec cette nouvelle modalité d'administration
- Evaluer le taux de réponses objectives
- Evaluer le temps jusqu'à progression
- Evaluer le temps jusqu'à détérioration de la qualité de vie

3 CONCEPTION DE LA RECHERCHE

3.1 Critères d'évaluation de l'étude

3.1.1 Critères d'évaluation principaux

La dose limitante toxique (DLT) est définie comme le palier de dose responsable de l'apparition d'une toxicité dont on considère qu'elle empêche le retraitement d'un patient à savoir une toxicité :

- allergique/immunologique de grade 4
- auditive/oculaire de grade 3 ou 4
- hématologique de grade 4 (pour la valeur de l'hémoglobine, des neutrophiles totaux et des plaquettes une toxicité de grade 4 n'est pas définie comme une DLT si retour grade ≤3 en 7 jours ou moins)
- cardiaque de grade 4
- des marqueurs de la coagulation grade 4
- des signes généraux de grade 3 (hormis pour la fatigue, insomnies uniquement grade 4)
- cutanée grade 3 ou 4
- endocrinienne grade 3 ou 4
- gastro-intestinale grade 4
- hémorragique grade 4,
- hépatobiliaire/pancréatique grade 3 ou 4
- infectieuse grade 4
- lymphatique grade 3 ou 4
- métabolique/biologique grade 4 (exceptions : une bilirubinémie totale > 5N durant > 5 jours et une créatininémie grade 3 considérées comme DLT)
- musculosquelettique grade 4
- neurologique grade 3 ou 4
- oculaire/visuelle grade 4
- douleurs grade 4
- pulmonaire grade 3 ou 4
- rénale/génitourinaire grade 3 ou 4
- sur les fonctions de reproduction grade 3 ou 4
- vasculaire grade 3 ou 4.

Les toxicités prises en compte pour la DLT sont celles qui surviennent dans un intervalle de temps de 1 mois à compter de la date de la chimioembolisation.

La toxicité sera évaluée selon l'échelle du National Cancer Institute – Common Toxicity Criteria for Adverse Events (NCI-CTCAE version 3.0) (annexe 9).

La dose maximale tolérée (DMT) est définie comme le palier de dose précédant celui définissant la dose limitante c'est-à-dire le palier pour lequel 20% des patients au maximum ont une DLT. C'est aussi la dose recommandée.

3.1.2 Critères d'évaluation secondaires

Pharmacocinétique de l'idarubicine et de l'idarubicinol

Des échantillons de sang seront prélevés sur cathéter périphérique à des temps réguliers avant, à 5 mn, 15 mn, 30 mn, 2h, 6h, 24h et 72h après la fin de la chimioembolisation. Cinq ml de sang total par dosage seront prélevés sur héparinate de lithium, acheminés au Laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie du CHU de Dijon. Les prélèvements seront immédiatement centrifugés pendant 10 minutes à 4000 tours / minute puis congelés dans des tubes en plastique avec bouchon vissé à –20°C.
Les concentrations d'idarubicine et de son métabolite principal, l'idarubicinol, seront déterminées par chromatographie liquide haute performance couplée à une détection par fluorimétrie validée et adaptée de Kuhlmann et coll., 1999. Brièvement, après extraction au méthanol, les échantillons sont dosés à la longueur d'onde d'excitation de 485 nm et d'émission de 542 nm. La phase mobile est constituée d'un mélange eau-méthanol-acide orthophosphorique (vol % : 79/19/2) ajustée à pH 2,2. Le débit est de 1 ml/min. Les dosages seront effectués par le laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie du Pr DUMAS-MARION, CHU DIJON, France.

Les paramètres pharmacocinétiques estimés à l'aide des différents dosages seront :
- T max
- C max
- Aire sous la courbe (AUC).

L'aire sous la courbe sera calculée par la méthode des trapèzes à l'aide du logiciel Kinetica®.

Taux de réponses objectives

Les critères utilisés pour juger les réponses seront les critères de l'EASL 2000 (Bruix J Hepatol 2001) et les critères RECIST modifiés (Llovet JNCI 2008). Ces critères seront évalués sur une IRM hépatique réalisée avec injection de chélate de gadolinium. En cas de contre-indication à l'IRM (pacemaker, corps étrangers métalliques intra-oculaires, certaines valves cardiaques et certains clips intra-craniens), un scanner sans et avec injection de produit de contraste iodé sera réalisé.
Les critères EASL sont les suivants: Une réponse complète est définie comme la disparation de toutes les lésions initiales et l'absence de nouvelles lésions déterminée par deux observations espacées d'au moins 4 semaines. Une réponse partielle est définie comme la diminution de plus de 50% de la somme des produits des 2 plus grands diamètres de la partie hypervasculaire de chaque lésion tumorale. Une stabilité de la maladie est définie en l'absence de réponse complète ou de réponse partielle ou de progression de la maladie. Une progression de la maladie est définie en cas d'augmentation de plus de 25% de la somme des produits des 2 plus grands diamètres de la partie hypervasculaire de chaque lésion tumorale ou l'apparition de nouvelles lésions.
Les critères RECIST modifiés sont les suivants: une réponse complète est définie comme la disparation de toutes les lésions prenant le contraste à la phase artérielle et l'absence de nouvelles lésions déterminée par deux observations espacées d'au moins 4 semaines. Une réponse partielle est définie comme la diminution de plus de 30% de la somme des diamètres des lésions viables initiales (prise de contraste à la phase artérielle), en prenant comme référence les sommes des diamètres des lésions initiales. Une stabilité de la maladie est définie en l'absence de réponse complète ou de réponse partielle ou de progression de la maladie. Une progression de la maladie est définie en cas d'augmentation de plus de 20% de la somme des diamètres des lésions viables initiales (prise de contraste à la phase artérielle) en prenant comme référence la somme la plus faible des diamètres des lésions avant traitement, ou l'apparition de toute nouvelle lésion.
Le bilan d'imagerie (IRM ou scanner) sera réalisé à 1 mois et à 2 mois.

Temps jusqu'à progression

Il est défini comme l'intervalle de temps entre la date d'inclusion et la date de 1ère progression. Les patients vivants sans progression seront censurés à la date de dernière nouvelle. Les patients décédés sans progression seront censurés à la date de décès.

Temps jusqu'à détérioration définitive d'un score de qualité de vie (EORTC QLQ-C30)

La qualité de vie sera évaluée à l'aide du questionnaire spécifique QLQ-C30 version 3 (annexe 11) de l'European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC). La validation interne de ce questionnaire, composé de 30 items, a permis d'identifier 15 dimensions et de calculer 15 scores: 5 scores d'aptitude fonctionnelle (capacité physique, aptitude à travailler ou à accomplir toute tâche ménagère, capacité cognitive, état émotionnel, état social), un score de santé globale, un score de problèmes financiers et 8 scores de symptômes (fatigue, nausée/vomissement, douleur, dyspnée, perturbation du sommeil, perte d'appétit, constipation, diarrhée).

Une différence, quel que soit le suivi, de + 5 points pour le score de santé globale sera jugé comme étant la plus petite différence ayant un sens clinique à détecter.
Les scores spécifiquement étudiés seront le score de santé globale, la fonction physique la fatigue et la douleur du QLQ-C30.

Le temps jusqu'à détérioration définitive du score de santé global sera défini comme l'intervalle de temps entre la date de randomisation et la date d'une diminution du score de plus de 5 points sans amélioration ultérieure de plus de 5 points ou le décès ou la date de dernières nouvelles. Les patients vivants sans diminution de plus de 5 points du score seront censurés aux dernières nouvelles.

3.2 Description de la méthodologie de la recherche

3.2.1 Sélection des sujets

Le recrutement des sujets se fera lors de la Réunion hebdomadaire de Concertation Pluridisplinaire de cancérologie digestive. Tout nouveau patient atteint d'un CHC chez qui sera retenu une indication de chimioembolisation (selon les critères habituels détaillés précédemment) se verra proposer de participer à l'essai.

Chaque co-investigateur des services d'Imagerie Médicale, d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Médicale sera responsable de la visite de sélection des sujets qui se déroulera donc au CHU de Dijon ou au Centre Régional de Lutte contre le Cancer Georges François Leclerc à Dijon.

Au cours de cette visite une information sur la mise en place et les objectifs de la recherche est donnée au sujet (lecture et remise de la note d'information au sujet).

La signature du consentement libre et éclairé du sujet avant toute procédure de l'étude est indispensable.

3.2.2 Inclusion des patients

Un bilan initial avant inclusion est obligatoire. Il comprendra les examens suivants et devra être réalisé dans le mois précédent le traitement sauf mentions ultérieures :

- Examen clinique complet : poids, taille, état général OMS, scores Child-Pugh, Cancer of the Liver Index of Prognosis (CLIP) et Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC) ; hormis les scores CLIP et BCLC, ces examens devront dater de ≤ 7 jours avant traitement
- Bilan biologique : numération formule sanguine, plaquettes, TP, ALAT, ASAT, PAL, GGT bilirubinémie, facteur V, ionogramme sanguin, créatininémie, albuminémie, glycémie, calcémie (datant ≤ 7 jours avant traitement pour ces examens), AgHBs, Ac anti-HBc, Ac anti-VHC, α-foetoprotéine et β-HCG (chez la femme en âge de procréer)
- Fibroscopie oeso-gastrique si non faite dans les 2 mois précédents. Traitement des varices oesogastriques de grade>1. Un délai d'au moins 1 mois doit séparer une séance de ligature ou d'encollage de varices oeso-gastriques de la chimioembolisation.

- Scanner thoraco-abdominal
- IRM hépatique initiale avec injection de chélate de gadolinium pour juger de l'évolution de la masse tumorale selon les critères EASL. En cas de contre-indication à l'IRM (pacemaker, corps étrangers métalliques intra-oculaires, certaines valves cardiaques et certains clips intra-craniens), un scanner sans et avec injection de produit de contraste iodé sera réalisé
- Doppler portal (option si suspicion de thrombose porte sur l'imagerie)
- ECG à réaliser dans les 7 jours précédant la date de la chimioembolisation
- FEV (isotopique ou échographique) à réaliser dans les 7 jours précédant la date de la chimioembolisation
- Scintigraphie osseuse si point d'appel clinique
- Qualité de vie QLQ-C30.

3.2.3 Traitement et surveillance post-interventionnelle

A la fin de la chimioembolisation, le patient sera immédiatement transféré dans le service d'Hépatogastroentérologie du CHU de Dijon. La surveillance post-interventionnelle sera la suivante :
- toutes les 4h : pouls, tension artérielle, fréquence respiratoire, température, état de conscience, recherche de foyers infectieux si point d'appel
- 1 fois par 24h : examen clinique complet, état général OMS, Child-Pugh, numération formule sanguine, plaquettes, TP, facteur V, ALAT, ASAT, PAL, GGT, bilirubinémie, ionogramme sanguin, créatininémie, albuminémie, glycémie, calcémie
- recueil de tous les évènements indésirables

En parallèle des échantillons sanguins seront prélevés sur cathéter périphérique par une IDE pour l'étude pharmacocinétique de l'idarubicine. Les modalités précises de prélèvement sont décrites au sous-paragraphe 3.1.2 « Pharmacocinétique de l'idarubicine et de l'idarubicinol ».

Au 4ème jour à compter de la date de la chimioembolisation, soit 72 heures après celle-ci, la sortie du patient sera autorisée en l'absence de toxicité de grade 3-4 selon les critères NCI CTC AE v3.0.

3.2.4 Visite 1

La 1ère visite de suivi aura lieu en consultation 15 jours à compter de la date de la chimioembolisation
Les examens réalisés seront :

- examen clinique complet avec poids, taille, état général OMS, score Child-Pugh
- bilan biologique : numération formule sanguine, plaquettes, TP, facteur V, ALAT, ASAT, PAL, GGT, bilirubinémie, ionogramme sanguin, créatininémie, albuminémie, glycémie et calcémie
- ECG
- recueil de tous les évènements indésirables survenus entre la sortie de l'hôpital et J15
- qualité de vie QLQ-C30.

3.2.5 Visite 2

La seconde visite de suivi aura lieu en consultation 1 mois à compter de la date de la chimioembolisation.
Les examens réalisés seront :

- examen clinique complet avec poids, taille, état général OMS, scores Child-Pugh, CLIP, BCLC
- bilan biologique : numération formule sanguine, plaquettes, TP, facteur V, ALAT, ASAT, PAL, GGT, bilirubinémie, ionogramme sanguin, créatininémie, albuminémie, glycémie, calcémie et α-foetoprotéine
- bilan d'imagerie (IRM ou scanner si contre indication à l'IRM)
- échographie cardiaque
- recueil de tous les évènements indésirables survenus entre la visite 1 et la visite 2
- qualité de vie QLQ-C30.

3.2.6 Fin de l'étude

La visite de fin d'étude aura lieu en consultation 2 mois à compter de la date de la chimioembolisation. Les examens réalisés seront :

- examen clinique complet avec poids, taille, état général OMS, scores Child-Pugh, CLIP, BCLC
- bilan biologique : numération formule sanguine, plaquettes, TP, facteur V, ALAT, ASAT, PAL, GGT, bilirubinémie, ionogramme sanguin, créatininémie, albuminémie, glycémie, calcémie et α-foetoprotéine
- ECG et échographie cardiaque
- bilan d'imagerie (IRM ou scanner si contre-indication à l'IRM)
- recueil de tous les évènements indésirables survenus entre la visite 2 et la visite de fin d'étude
- qualité de vie QLQ-C30.

La poursuite du traitement au delà des 2 mois est laissée à l'appréciation des investigateurs en fonction de la tolérance et des résultats obtenus. En cas de retraitement, il sera privilégié de maintenir le traitement administré lors de l'essai. La surveillance sera ensuite celle réalisée classiquement comme chez tout patient ayant eu une chimioembolisation.

3.2.7 Organigramme de l'étude

	Screening (< 1 mois)	Traitement et surveillance post-interventionnelle*	Visite 1	Visite 2	Fin étude
		J1 à J4	J15	M1	M2
Consentement éclairé	X				
Examen clinique, poids, taille, état général OMS, Child-Pugh, CLIP, BCLC	X (datant de ≤ 7 jours sauf CLIP ni BCLC)	X (sauf CLIP ni BCLC)	X (sauf CLIP ni BCLC)	X	X
β HCG	X				
NFS plaquettes, TP, ALAT, ASAT, PAL, GGT, bilirubinémie, facteur V, ionogramme sanguin, créatininémie, albuminémie, glycémie, calcémie, α-foetoprotéine	X (datant de ≤ 7 jours sauf α-foetoprotéine)	X (sauf α-foetoprotéine)	X (sauf α-foetoprotéine)	X	X
AgHBs, Ac anti HBc, Ac anti-VHC	X				
Fibroscopie oeso-gastrique	X				
Scanner thoraco-abdominal	X				
IRM hépatique avec injection de chélate de gadolinium (en cas de contre-indication, scanner sans et avec injection de produit de contraste iodé)	X			X	X
Doppler portal (option si suspicion de thrombose porte sur l'imagerie)	X				
ECG	X(datant de ≤ 7 jours				X
FEV isotopique (ou échographique en cas d'arythmie)	X(datant de ≤ 7 jours				
Echographie cardiaque				X	X
Scintigraphie osseuse si point d'appel clinique	X				
Questionnaire qualité de vie QLQ-C30	X		X	X	X
Evènements indésirables		X	X	X	X
Traitement		X (J1)			

* Pour le détail de la surveillance post-interventionnelle, se référer au paragraphe 3.2.3.

3.3 Description des mesures prises pour réduire et éviter les biais.

3.3.1 Tirage au sort

NA

3.3.2 Méthodes de mise en aveugle

NA

3.3.3 Autre

NA

3.4 Durée de l'étude

3.4.1 Durée totale de l'étude

Début des inclusions : octobre 2009
Fin des inclusions : mars-mai 2011
Fin de l'étude : juillet 2011
Analyse des données : août-septembre 2011
Durée totale de l'étude : 24 mois

3.4.2 Durée de participation d'un patient ayant accepté de participer à la Recherche

Durée du traitement : 1 séance unique de chimioembolisation
Durée de suivi : 2 mois
Durée totale de l'étude pour un patient : 2 mois

NB : Il est prévu, le cas échéant, de prolonger cette étude de phase I par une étude de phase II.

3.5 Modalités d'arrêt temporaire ou définitif de l'étude

3.5.1 Arrêt définitif ou temporaire de l'étude pour un patient

Sortie prématurée de l'étude :

- Décision du patient
- Décision de l'investigateur
- Non respect des critères d'inclusion et/ou de non-inclusion
- Interruption prématurée du traitement (patient récusé avant traitement ou en per-interventionnel)
- Déviation majeure du protocole

3.5.2 Arrêt définitif ou temporaire de l'étude/la recherche

Arrêt temporaire de la recherche :

- Problème liée à la technique d'injection

Arrêt définitif de la recherche :

- Toxicité inacceptable au 1er palier de dose

3.6 Procédures de comptabilité du ou des médicaments expérimentaux

Il n'y a pas de procédure particulière de comptabilité du traitement expérimental hormis les généralités mentionnées au paragraphe 5.4. Tous les médicaments et dispositifs médicaux utilisés dans cet essai seront en effet directement pris sur le stock interne de la Pharmacie du CHU de Dijon.

3.7 Procédures de levée d'aveugle

NA

3.8 Identification de toutes les données à recueillir directement dans les cahiers d'observation, qui seront considérées comme des données sources

Les données seront recueillies sur un cahier d'observation rempli par le médecin investigateur ou la personne autorisée.

4 SELECTION DES SUJETS

4.1 Information et Recueil du Consentement Eclairé

Selon l'article L1122-1 du CSP, préalablement à la réalisation d'une recherche biomédicale sur une personne, l'investigateur l'informera (ou ses représentants légaux si le sujet est mis sous tutelle) de la nature de l'essai, de ses objectifs, de sa méthodologie, de sa durée, des bénéfices attendus, des contraintes et risques prévisibles y compris en cas d'arrêt de l'essai avant son terme, les alternatives médicales, des modalités de prise en charge médicale prévues en fin de recherche si nécessaire,

Il lui fera part de l'avis du CPP, et le cas échéant de l'interdiction de participer simultanément à une autre recherche.

Cette discussion informative sera basée sur une note d'information au patient fournie par le promoteur (cf. annexe).
Le patient (ou ses représentants légaux) aura toute latitude pour poser toute question concernant l'essai et sera informé de son droit de refuser de participer à l'essai ou de retirer son consentement à tout moment sans préjudice aucun et sans avoir à justifier les raisons de sa décision.

Après cette information et préalablement à l'inclusion dans l'étude, le patient devra signer un formulaire de recueil du consentement fourni par le promoteur.

L'investigateur conserve un original du formulaire de consentement. L'investigateur devra consigner dans le dossier médical et le cahier d'observation(le cas échéant) de chaque patient le fait que le patient a bien été informé et qu'il a bien signé le formulaire de consentement.

L'autre original du formulaire est remis au patient.

L'information destinée au patient et toute autre information écrite donnée aux patients devra être actualisée si de nouvelles données sont disponibles, susceptibles de modifier l'avis du patient ou si un amendement au protocole impose une correction de l'information et du formulaire de consentement. L'investigateur informe le patient de ces modifications et lui demande de confirmer son accord en datant et signant un nouveau formulaire de consentement. Toute modification de ces documents doit être approuvée par le CPP et l'autorité compétente.

4.2 Critères d'Inclusion

L'inclusion dans l'étude nécessite que soient remplis tous les critères d'inclusion énumérés ci-dessous :

– CHC prouvé par cytologie ou histologie ou diagnostiqué selon les critères 2005 de l'American Association for the Study of Liver Diseases, AASLD), qui nécessite la présence d'une cirrhose histologique ou indiscutable et suivant la taille du (des) nodule(s) :

- nodule < 1 cm : augmentation de taille durant un suivi par échographie tous les 3-4 mois
- nodule entre 1 et 2 cm : 2 techniques d'imagerie concordantes parmi scanner, IRM, échographie de contraste (CEUS); diagnostic de CHC en présence d'une image typique (hypervascularisée à la phase artérielle + wash-out) avec les 2 méthodes d'imagerie ; dans les autres cas, biopsie.
- nodule > 2 cm : scanner ou IRM ou CEUS (1 seule technique) ; diagnostic de CHC en présence d'une image hypervascularisée associée soit à une image de wash-out soit à une alphafoetoproteine> 200 µg/L ; dans les autres cas, biopsie.

– Au maximum 3 nodules (Maladie unilobaire sans limite du nombre de nodules, ou maximum 3 nodules en cas de maladie bilobaire) repartis dans le foie détectés sur une IRM hépatique avec injection de chélate de Gadolinium, datant de moins d'1 mois. En cas de contre-indication à l'IRM

(pacemaker, corps étrangers métalliques intra-oculaires, certaines valves cardiaques et certains clips intra-craniens), un scanner sans et avec injection de produit de contraste iodé sera réalisé).

- En cas de cirrhose : stade Child-Pugh A ou B 7 sans ascite ni ictère
- Etat général OMS 0, 1
- Plaquettes > 50 000/mm^3, Polynucléaires neutrophiles > 1000/mm^3
- Créatininémie < 150 µmol/l
- Pas d'insuffisance cardiaque (FEV isotopique ou échographique > 50%)
- Age ≥ 18 ans
- Consentement éclairé signé

4.3 Critères de non inclusion

- Patient pouvant bénéficier d'une résection chirurgicale ou d'une transplantation hépatique ou d'un traitement local par radio-fréquence
- Métastases extra-hépatiques (poumon, os, péritoine...)
- Hémorragie digestive datant de moins d'un mois
- Patient sous anticoagulant
- Thrombose portale portant sur plus d'une branche segmentaire ou flux hépatofuge au doppler
- Femme enceinte
- Infection non contrôlée
- Hypersensibilité aux anthracyclines
- Hypersensibilité aux produits de contraste iodés
- Patient sous tutelle, curatelle ou sauvegarde de justice

4.4 Traitements autorisés et interdits dans le protocole

Pour les patients traités au long cours par metformine, celle-ci sera reprise 48 h après la chimioembolisation avec une clairance de la créatinine normale.

4.5 Critères de Sortie d'Etude

4.5.1 Critères et modalités d'arrêt prématuré du traitement à l'étude

- Décès d'un patient dès le 1er palier de dose (décès attribué au traitement)
- Toxicité majeure survenue chez un patient dès le 1er palier de dose
- Décision du promoteur
- Décision de l'investigateur coordonnateur

4.5.2 Critères et modalités d'exclusion d'une personne se prêtant à la recherche

- Décision du patient
- Décision de l'investigateur
- Non respect des critères d'inclusion et/ou de non-inclusion
- Interruption prématurée du traitement (patient récusé avant traitement ou en per-interventionnelle)
- Déviation du protocole
- Evènement indésirable grave inacceptable
- Toxicité majeure
- Maladie progressive
- Décès du patient

4.5.3 Modalités et calendrier de recueil des données de ces personnes

En cas de sortie prématurée d'un patient, l'investigateur remplira dans le CRF du patient le formulaire « Visite de sortie d'étude », prévu à cet effet.

4.5.4 Modalités de remplacement des personnes prématurément sorties d'étude

Seuls les patients sortis de l'étude avant traitement seront remplacés.

4.5.5 Modalités de suivi des personnes sorties prématurément de la Recherche

Le suivi des personnes sorties prématurément de l'étude est laissé au libre choix de l'investigateur.

5 TRAITEMENT ADMINISTRE

5.1 Médicament expérimental

5.1.1 Dénomination spéciale

Zavedos® poudre pour solution pour perfusion, flacon de poudre, boîte unitaire

5.1.2 Nom de code

4-MDR, IMI 30, IDA

5.1.3 Dénomination scientifique et D.C.I. du (des) principes(s) actif(s)

Déméthoxy-4 daunorubicine, DCI : chlorhydrate d'idarubicine

5.1.4 Forme pharmaceutique (Pharmacopée)

Poudre

5.1.5 Composition qualitative et quantitative (en utilisant les dénominations communes internationales ou à défaut européennes ou françaises)

Idarubicine 5 mg ou 10 mg, lactose

5.1.6 Principe actif nouveau

Oui ☐ Non ☒

5.1.7 Classes (classification D. Ph. M - base de données LIBRA)

1 clinique : ☐
2 pharmacologique : ☒
3 chimique : ☐

5.1.8 Fabricant(s)

PFIZER 23-25, av du Dr-Lannelongue 75014 Paris

5.1.9 Importateur

PFIZER 23-25, av du Dr-Lannelongue 75014 Paris

5.1.10 A.M.M.

3400955748465 (1991 révisée le 06.07.2006) fl 5 mg.
3400955748236 (1991 révisée le 06.07.2006) fl 10 mg.
Liste I.

- France : oui ☒ non ☐ refus ☐ suspension ☐ retrait ☐
- Etranger (citer les principaux pays) : Etats-Unis, Allemagne, Angleterre…

5.2 Produit de contraste

5.2.1 Dénomination spéciale

Visipaque® 270 mg I/ml, flacons de 50 ml

5.2.2 Dénomination scientifique et D.C.I. du (des) principe(s) actif(s)

Iodixanol

5.2.3 Forme pharmaceutique (Pharmacopée)

Solution injectable

5.2.4 Composition qualitative et quantitative en principes actifs (en utilisant les dénominations communes internationales ou à défaut européennes ou françaises)

Iodixanol 55g/100 ml (correspondant à iode 27 g/ml), trométamol, chlorure de sodium, chlorure de calcium, calcium édétate de sodium, acide chlorhydrique, eau ppi.

5.2.5 Fabricant(s)

GE HEALTHCARE SA
11, av Morane-Saulnier
78140 Velizy-Villacoublay

5.2.6 Importateur

GE HEALTHCARE SA
11, av Morane-Saulnier
78140 Velizy-Villacoublay

5.2.7 Principe actif nouveau

Oui ☐ Non ☒

5.2.8 Classes (classification D. Ph. M - base de données LIBRA)

1 clinique : ☐
2 pharmacologique : ☒
3 chimique : ☐

5.2.9 A.M.M.

3400935202895 (1 flacon PP 50 ml), AMM en 1995 révisée le 10.07.2007. Liste I

France : oui ☒ non ☐ refus ☐ suspension ☐ retrait ☐
Etranger (citer les principaux pays) : Etats-Unis, Allemagne, Angleterre…

5.3 Dispositif médical expérimental

5.3.1 Dénomination commune

Système d'embolisation à libération médicamenteuse, destiné à
l'embolisation des vaisseaux qui alimentent la (les) tumeur(s) maligne(s) hypervascularisée(s)
la libération d'une dose contrôlée et prolongée de doxorubicine ».

5.3.2 Dénomination commerciale (modèle, type, version)

DC Bead™, microsphères d'hydrogel produites à partir d'alcool polyvinylique, biocompatibles, hydrophiles, compressibles, mais non résorbables, stériles et apyrogènes, de taille nominale 300-500 µm, référence DC2V305. Les DC Bead™ sont de couleur bleue dans des flacons de verre de 10 ml contenant environ 2 ml de produit dans 6 ml de sérum physiologique. Le délai de conservation des DC Bead™, dans ces conditions et avant ouverture est de 4 ans. Les flacons sont scellés par un bouchon en aluminium et par un couvercle qui porte un code couleur. Chaque flacon est à usage unique et doit être utilisé pour un seul patient.

5.3.3 Statut réglementaire

Dispositif médical de classe IIb (directive 93/42/CEE transposée en droit français dans le Code de la Santé Publique). DC Bead™ a reçu le marquage CE selon l'annexe II 3.2, déclaration CE de conformité, système complet d'assurance qualité. L'organisme notifié ayant procédé au contrôle du dossier DC Bead™ est le BSI (n°0086°. Le BSI a délivré un certificat de conformité n° CE 79333 le 3 novembre 2003. Conformément au décret n° 2002-2001, leur mise sur le marché français a été déclarée auprès de l'AFSSAPS. L'accusé réception date du 24 février 2005.

5.3.4 Fabricant (nom ou dénomination et adresse)

Biocompatibles Ltd
Farnham Business Park
Weydon Lane
Farnham, Surrey
GU9 8QL United Kingdom

5.3.5 Distributeur (nom ou dénomination et adresse)

Terumo France
1 rue Hélène Boucher
78284 Guyancourt

5.4 Description du traitement expérimental

Modalités de préparation

La solution d'idarubicine chargée avec des microsphères d'embolisation de 400 µm sera préparée à l'Unité de Préparations et de Contrôles de la Pharmacie du CHU de Dijon. La préparation sera faite dans l'unité sous hotte à flux d'air laminaire vertical. En pratique, un flacon contenant 5 mg d'idarubicine sous forme de poudre (Zavedos®) sera reconstitué avec 2,5 ml d'eau pour préparations injectables. La quantité voulue d'idarubicine (en fonction du palier de dose) sera donc ensuite introduit dans un flacon de DC Bead™ contenant 2 ml de sphères de taille nominale 300-500µm et dont on aura retiré autant de solution saline que possible. Après agitation brève, la solution sera laissée en contact 1 heure, délai nécessaire au chargement des microsphères. A l'issue du chargement (les sphères initialement bleues, deviennent rouges), la solution sera prélevée en totalité dans une seringue de 20 ml Luer Lock. Après ajustement du volume final, un robinet 3 voies sera adapté à l'embout terminal de la seringue.
Immédiatement après, la seringue sera enrobé de papier aluminium pour la protéger de la lumière puis emballée dans une gaine protectrice doublement scellée aux 2 extremités.

Description de l'étiquetage

La préparation sera doublement étiquetée : une 1ère étiquette sera collée directement sur la seringue avant de la recouvrir de papier aluminium, la seconde sera collée sur la gaine protectrice. Cette étiquette comporte : nom, prénom du patient, Dénomination Commune Internationale du produit avec dosage, voie d'administration, date de péremption de la préparation, n° d'ordonnancier de la préparation et les conditions de conservation de la préparation « A conserver à l'abri de la lumière » et « + 4°C » et la mention « Respecter les doses prescrites ». La stabilité des sphères chargées est de 7 jours à l'abri de la lumière et au réfrigérateur (brochure produit). L'étiquette est autocollante, à liseré rouge, l'idarubicine comme tous les médicaments anticancéreux étant inscrit sur la liste I.

Procédures de dispensation et de comptabilité

La préparation et la dispensation de la seringue sera faite la veille au soir après obtention du feu vert médical. La dispensation sera enregistrée dans le dossier pharmaceutique du patient où seront inscrits sur l'ordonnance de chimioembolisation, les quantités d'idarubicine et de microsphères utilisées avec les numéros de lot des flacons et leurs péremptions. Ces informations seront également mentionnées dans le CRF du patient. En pratique, l'acheminement de la préparation dans la salle de Radiologie Interventionnelle du Département d'Imagerie Médicale du CHU de Djion sera fait la veille au soir de la procédure, dans une caisse rigide doublement scellée ne contenant que cette préparation, selon le circuit habituel pour toutes les chimiothérapies. Une fois dans le service, la préparation sera conservée dans le réfrigérateur prévu à cet effet.

Une fois la préparation administrée, cette information sera renseignée dans le CRF du patient. Une des deux étiquettes sera collée sur l'ordonnance originale dans le dossier médical du patient. Après utilisation, la seringue sera directement disposée dans un sac jaune prévu à cet effet et éliminé selon la procédure en vigueur des Déchets d' Activités de Soins à Risque Infectieux (DASRI).
A l'inverse, si l'administration n'est finalement pas faite, cette information sera également reportée dans le CRF du patient, son dossier médical et le dossier pharmaceutique. La préparation sera alors retournée à la pharmacie et éventuellement détruite à péremption de celle-ci.
Il n'existe pas d'autre procédure hormis celle décrite précédemment pour évaluer l'observance du traitement, celui-ci consistant en une perfusion unique.

Modalités d'administration
En pratique, le patient sera toujours hospitalisé la veille de l'intervention dans le service d'Hépatogastroentérologie du CHU de Dijon. La chimioembolisation se déroulera le lendemain matin en salle de Radiologie Interventionnelle du Département d'Imagerie Médicale diagnostique et interventionnelle du CHU de Dijon. L'examen radiologique avec contraste comprendra une exploration vasculaire complète : cathétérisme fémoral, aortographie, tronc coeliaque, artère mésentérique supérieure et recherche de vascularisation accessoire éventuelle (artères diaphragmatiques, surrénaliennes, intercostales, etc…). Une embolisation ultrasélective avec les sphères chargées sera réalisée après cathétérisme par un microcathéter. Juste avant l'injection, le médecin radiologue ouvre la gaine contenant la seringue préparée à la pharmacie. Il prélève dans une seringue luer lock de 10 ml quelques millilitres du produit de contraste qui servira à visualiser l'injection, à savoir Visipaque®. Il ajoute immédiatement le contenu de cette seringue dans la seringue contenant les sphères chargées à l'aide du robinet 3 voies. Le mélange sphères chargées-produit de contraste sera homogénéisé par simple retournement et injecté au mieux dans les branches segmentaires ou sous-segmentaires, éventuellement dans une branche sectorielle (antérieure ou postérieure droite). En cas de vascularisation accessoire, l'injection sera réalisée dans les branches accessoires via un microcathéter, le plus en distalité possible. Une chimioembolisation lobaire (artère hépatique droite ou gauche) ne sera réalisée qu'en cas d'impossibilité de cathéterisme ultra-sélectif.

Prémédication et traitements concomittants

- Prophylaxie de la toxicité rénale du produit de contraste. Le patient recevra la veille et le jour de l'examen du MUCOMYST® (acétylcystéine) par voie orale (200 mg x 3/jour X 2 jours) (Tepel, 2000). Du bicarbonate de sodium à 14 g/l (500 ml en 1 heure) sera injecté juste avant l'examen (Merten, 2004).
- Une hydratation suffisante (jusqu'à 2 litres par jour), adaptée au contexte cirrhotique sera prescrite avant et au décours de la chimioembolisation pendant au moins 48 heures.
- Une prophylaxie par céftriaxone (ROCEPHINE®), 1 g /jour pendant 5 jours, à débuter le jour de la chimioembolisation, est systématique en l'absence d'allergie connue.
- En cas de nausées, vomissements, un traitement par ondansétron 8 mg injectés par voie IV en 15 minutes sera débuté, éventuellement à répéter toutes les 12 heures en fonction de l'importance des nausées et vomissements.
- Pendant toute la durée de la procédure, la douleur ressentie par le patient sera enregistrée à l'aide d'une échelle visuelle analogique (EVA cotée de 0 à 10). Toutes les 5 minutes seront enregistrés : EVA, fréquence respiratoire, vigilance à l'aide de l'échelle de sédation, pouls et pression artérielle. Si EVA > 3, titration de morphine IV par IDE conformément aux recommandations (annexe 12).
- Au décours du geste, les antalgiques de niveau 1 à 3 OMS seront utilisés à dose adaptée selon la douleur observée en se référant aux recommandations élaborées conjointement par le service d'hépato-gastro-entérologie du CHU (annexe 10) et le Centre anti-douleur du Centre GF Leclerc.
- Une durée d'hospitalisation d'environ 4 jours est à prévoir pour chaque cure, en l'absence de complication.

5.5 Observance du traitement

NA

5.6 Conditions de stockage des médicaments expérimentaux

Tous les médicaments et dispositif médical nécessaires à la préparation du traitement expérimental seront pris sur le stock de la Pharmacie du CHU de Dijon sous la responsabilité d'un pharmacien. En effet, les missions des pharmacies à usage intérieur comportent notamment la préparation, le contrôle et l'approvisionnement des médicaments, conformément à l'article L 5125-6 du Code de la Santé Publique.

6 EVALUATION DE L'EFFICACITE

6.1 Description des paramètres d'évaluation de l'efficacité

Les critères utilisés pour juger de l'efficacité du traitement seront les critères de l'EASL (Bruix 2000). Ces critères seront évalués sur une IRM hépatique réalisée avec injection de chélate de gadolinium.

En cas de contre-indication à l'IRM (pacemaker, corps étrangers métalliques intra-oculaires, certaines valves cardiaques et certains clips intra-craniens), un scanner sans et avec injection de produit de contraste iodé sera réalisé. Une réponse complète est définie comme la disparation de toutes les lésions initiales et l'absence de nouvelles lésions déterminée par deux observations espacées d'au moins 4 semaines. Une réponse partielle est définie comme la diminution de plus de 50% de la somme des produits des 2 plus grands diamètres de la partie hypervasculaire de chaque lésion tumorale. Une stabilité de la maladie est définie en l'absence de réponse complète ou de réponse partielle ou de progression de la maladie. Une progression de la maladie est définie en cas d'augmentation de plus de 25% de la somme des produits des 2 plus grands diamètres de la partie hypervasculaire de chaque lésion tumorale ou l'apparition de nouvelles lésions.

6.2 Calendrier et méthodes

Le bilan d'imagerie (IRM ou scanner) sera réalisé à 1 mois et à 2 mois.

7 EVALUATION DE LA SECURITE

7.1 Description des paramètres d'évaluation de la sécurité

L'évaluation de la sécurité se fera par l'évaluation de l'état général et clinique des patients et l'ensemble des examens réalisés au cours du suivi du patient durant l'hospitalisation initiale et lors des différentes visites comme décrits au paragraphe 3.2. Les toxicités seront évaluées grâce à l'échelle de toxicité NCI-CTC-AE version 3 (cf. annexe 9).

En cas d'urgence, le patient, ou son entourage ou son médecin traitant devra appeler l'investigateur pour prévenir d'un événement.

7.2 Définitions

a. Evénement Indésirable (EI)

Un événement indésirable est une manifestation nocive survenant chez une personne qui se prête à une recherche biomédicale, que cette manifestation soit liée ou non à la recherche ou au produit sur lequel porte cette recherche.

Tous les événements indésirables seront consignés dans le cahier d'observation aux pages prévues à cet effet.

b. Evénement Indésirable Grave (EIG)

Est considéré comme un événement indésirable grave (EIG) tout évènement :

- entraînant le décès
- mettant en jeu le pronostic vital
- entraînant une hospitalisation ou une prolongation d'hospitalisation
- provoquant une invalidité permanente ou une incapacité temporaire grave
- provoquant une anomalie congénitale, une malformation fœtale ou un avortement
- médicalement significatif.

Les termes invalidité et incapacité correspondent à tout handicap physique ou psychique temporaire ou permanent, cliniquement significatif et retentissant sur l'activité physique et/ou la qualité de vie du patient.

Est considéré comme médicalement significatif tout événement clinique ou résultat de laboratoire considéré comme grave par l'investigateur et ne correspondant pas aux critères de gravité définis ci-dessus. Ils peuvent faire courir un risque au patient et nécessitent une intervention médicale pour prévenir une issue correspondant à l'un des critères de gravité mentionné précédemment (exemples : surdosages, seconds cancers, grossesses et faits nouveaux peuvent être considérés comme médicalement significatifs).

c. Effet Indésirable

Toute réaction nocive et non désirée à un médicament expérimental quelle que soit la dose administrée ou à tout élément expérimental. L'effet indésirable est grave s'il présente un critère de gravité (Cf ci-dessus).

d. Fait Nouveau

Un fait nouveau peut être : une fréquence inattendue d'un EIG attendu, EIG lié à la procédure de l'essai, efficacité insuffisante dans les maladies à pronostic vital, données non cliniques.

e. Intensité (ou sévérité)

Le critère d'intensité ne doit pas être confondu avec le critère de gravité qui sert de guide pour définir les obligations de déclaration.

L'intensité des événements sera estimée selon l'extrait de la classification CTC-AE version 3.0 (cf. annexe 11). L'intensité des évènements indésirables non listés dans cette classification sera appréciée selon les qualificatifs suivants :

Légère (grade 1) : n'affecte pas l'activité quotidienne habituelle du patient
Modérée (grade 2) : perturbe l'activité quotidienne habituelle du patient
Sévère (grade 3) : empêche l'activité quotidienne habituelle du patient
Très Sévère (grade 4) : impose des mesures de réanimation/ menace le pronostic vital
Décès (grade 5)

f. Effet Indésirable Grave Inattendu

Un effet indésirable grave inattendu est un événement non mentionné, ou différent par sa nature, son intensité, son évolution par rapport au document de référence du produit.

Dans cet essai, les documents de référence des produits utilisés sont :

- Pour l'idarubicine : le Résumé des Caractéristiques du Produit (RCP) de Zavedos® poudre pour solution pour perfusion
- Pour le produit de contraste iodé : le Résumé des Caractéristiques du Produit (RCP) de Visipaque® 270
- Pour les microsphères : le mode d'emploi de DC Bead™

Les versions des RCP utilisés en cours d'étude seront les dernières disponibles à la date anniversaire de début de l'essai.

7.3 Evènements dans le cadre de la recherche

Dans le cadre de ce protocole, ne seront PAS considérés comme Evénements Indésirables Graves :

- un évènement entraînant un passage transitoire à la consultation d'un hôpital, à un service de porte ou à un hôpital de jour,
- les hospitalisations (plus d'une nuit sur place) ou prolongations d'hospitalisations motivées par les raisons suivantes :
  - Les hospitalisations programmées pour des interventions ou traitements de routine faisant partie d'un programme de surveillance ou de thérapie défini à l'avance,
  - Une hospitalisation ou une intervention requise par le protocole,
  - Les hospitalisations pour exploration non liées à une modification de l'état du patient,
  - Une hospitalisation de confort ou pour raisons sociales (ex : hospitalisation d'une personne âgée en relation de dépendance du conjoint qui vient d'être hospitalisé)
  - Une hospitalisation élective non associée à une aggravation de l'état clinique et non liée à l'objectif de l'étude clinique et ayant lieu au cours de l'étude clinique (ex : chirurgie esthétique),

Les effets attendus pour ces produits d'après les versions actuelles des RCP ou mode d'emploi sont les suivants :

- Zavedos® poudre pour solution pour perfusion (RCP révisé le 06/07/2006 cf. annexe 11) :

- Hypoplasie médullaire importante qui peut être responsable d'affections graves, voire fatales
- Alopécie réversible à l'arrêt du traitement
- Troubles digestifs : nausées, vomissements, diarrhée
- Stomatites, oesophagites
- Élévation des enzymes hépatiques et de la bilirubine dans 20 à 30 % des cas
- Rashs cutanés
- Troubles du rythme cardiaque aigus, insuffisance cardiaque aiguë ou tardive (rare avant une dose cumulée de 93 mg/m2)
- Coloration rouge des urines 24 à 48 heures après le traitement.

Comme avec d'autres agents anticancéreux altérant l'ADN, des syndromes myélodysplasiques et des leucémies aiguës myéloïdes ont été observés après traitement combiné incluant une anthracycline. Avec les inhibiteurs de la topo-isomérase II, il a été rapporté une incidence plus élevée qu'attendue de leucémies secondaires se présentant comme des leucémies de novo LAM2, LAM3, LAM4. De telles formes peuvent présenter une courte période de latence (de 1 à 3 ans). Ces formes, accessibles à un traitement curatif, nécessitent un diagnostic précoce et un traitement adapté à visée curative.

- Visipaque® 270 (RCP révisé le 10/07/2007 cf. annexe 12) :

Fréquence des effets indésirables : très fréquents (>= 10 %), fréquents (>= 1 %, < 10 %), peu fréquents (>= 0,1 %, < 1 %), rares (>= 0,01 %, < 0,1 %) et très rares (< 0,01 %).
Réactions anaphylactoïdes et d'hypersensibilité :
Les réactions d'hypersensibilité, incluant les réactions anaphylactiques ou anaphylactoïdes, pouvant aller jusqu'au décès regroupent un ou plusieurs des effets suivants :

- Cutanéomuqueux (peu fréquent) :

immédiates : prurit, érythème, rougeur, urticaire localisé ou étendue, oedème de Quincke ;
retardées : eczéma, exanthème maculopapuleux, érythème polymorphe et, exceptionnellement, syndrome de Stevens-Johnson ou syndrome de Lyell

- Respiratoires (rares) : crise d'éternuements, toux, sensation de gorge serrée, dyspnée, bronchospasme, arrêt respiratoire
- Cardiovasculaires (très rares) : hypotension, vertiges, malaise, tachycardie, arrêt cardiaque
- Autres manifestations (peu fréquentes) : nausées, vomissements, douleurs abdominales

Autres effets indésirables :

- Cardiovasculaires (rares) :
  - ✓ Malaise vagal, troubles du rythme, angor, infarctus du myocarde, plus fréquent en cas d'injection intracoronaire
  - ✓ Collapsus cardiovasculaire de gravité variable pouvant survenir d'emblée, sans aucun signe annonciateur, ou compliquer les manifestations cardiovasculaires décrites ci-dessus
- Neurosensoriels (peu fréquents) :
  - ✓ Administration systémique : sensation de chaleur, céphalées
  - ✓ Examens au cours desquels le produit de contraste iodé est à une concentration élevée dans le sang artériel cérébral : agitation, état confusionnel, hallucinations, amnésie, troubles du langage, troubles visuels (photophobie, cécité transitoires), troubles auditifs, tremblements, paresthésies, parésie/paralysie, modifications mineures de l'EEG, convulsions, somnolence, coma
  - ✓ Voie intrathécale : syndrome méningé, probablement dû à une diminution de la pression lombaire, résultant de la fuite de liquide céphalorachidien au point de ponction (un retrait excessif du LCR doit être évité afin de minimiser la diminution de pression) ; douleurs radiculaires
- Digestifs (peu fréquents) :
  - ✓ Nausées, vomissements, hypertrophie des parotides dans les jours qui suivent l'examen, hypersalivation, troubles transitoires du goût
  - ✓ Douleurs abdominales et diarrhée surtout liées à l'administration par voie orificielle digestive haute ou basse
  - ✓ Augmentation de l'amylasémie, due à la pression d'injection, et, rarement, survenue d'une pancréatite aiguë après une CPRE
- Respiratoires (très rares) : oedème du poumon
- Rénaux (très rares) : une augmentation transitoire de la créatininémie peut être observée mais l'insuffisance rénale aiguë anurique est rare (cf Mises en garde/Précautions d'emploi)
- Thyroïdiens (très rares) : cf Mises en garde/Précautions d'emploi et Interactions
- Effets locaux (rares) :
  - ✓ Douleur et oedème locaux bénins, transitoires peuvent apparaître au point d'injection en l'absence d'extravasation du produit injecté. En administration intra-artérielle, la sensation douloureuse au site d'injection dépend de l'osmolalité du produit injecté. En cas d'extravasation, une réaction inflammatoire locale, voire une nécrose tissulaire, peuvent être observées
  - ✓ Thrombophlébite.

- DC Bead™ (mode d'emploi 2006 cf. annexe 13) :

- Reflux indésirable ou passage des DC Beads dans les artères normales adjacentes à la lésion ciblée ou au travers de la lésion vers d'autres artères ou lits artériels
- Embolisation non cible
- Embolisation pulmonaire
- Ischémie à un endroit non souhaité
- Saturation du lit capillaire et lésions des tissus
- Accident ischémique cérébral ou infarctus ischémique
- Rupture d'un vaisseau ou de la lésion et hémorragie
- Déficits neurologiques dont paralysie des nerfs crâniens
- Vasospasme
- Décès
- Reperméabilisation
- Réactions vis-à-vis de corps étrangers nécessitant une intervention médicale
- Infection nécessitant une intervention médicale
- Formation d'un caillot à l'extrémité du cathéter et mobilisation ultérieure.

- Effets attendus liés à la procédure d'embolisation

- Fièvre
- Douleurs du quadrant hépatique supérieur droit
- Nausées, vomissements
- Thrombocytopénie
- Dysfonctionnement hépatique transitoire, augmentation des transaminases (cytolyse)
- Manifestations ischémiques et septiques locales (cholécystites, infarctus hépatique, abcès hépatique, hémorragie digestive)
- Insuffisance rénale.

7.4 Conduite à tenir en cas d'événement indésirable grave

7.4.1 Responsabilité de l'investigateur

L'investigateur informe le promoteur de tous les Evènements Indésirables Graves (Attendus et inattendus) qu'ils soient imputables ou non à la recherche, qui se produisent durant l'étude (soit 2 mois après administration des traitements à l'étude).

Tous les Événements Indésirables Graves retardés (survenant après la fin de l'essai) considérés comme raisonnablement liés aux traitements à l'étude ou à la recherche doivent être déclarés sans limitation de délai.

La déclaration se fait par envoi par fax du formulaire de "notification d'un événement indésirable grave" (cf. annexe 2) documenté le plus précisément possible, daté et signé, dans les 24 heures ouvrées suivant leur constatation au : **03 80 29 37 23**

Puis par courrier dans les 48 heures ouvrables par la fiche de déclaration d'événement indésirable grave complétée :

Direction de la Recherche Clinique, Bocage sud-1 Bd Jeanne d'Arc

21079 Dijon cedex

L'investigateur notera entre autre pour chaque évènement :

- Sa description aussi clairement que possible selon la terminologie médicale
- L'intensité
- La date de début et de fin de l'événement
- Les mesures entreprises et la nécessité ou non d'un traitement correcteur
- Si le traitement de l'essai a été interrompu
- Son évolution. En cas d'évènement non fatal, l'évolution devra être suivie jusqu'à la guérison ou le retour à l'état antérieur ou à la stabilisation d'éventuelles séquelles
- La relation de causalité entre cet évènement et le traitement à l'essai ou une contrainte liée à la recherche (période sans traitement, examens complémentaires demandés dans le cadre de la recherche etc...)
- La relation de causalité avec la pathologie traitée, une autre pathologie ou un autre traitement.

L'investigateur doit également joindre au rapport d'évènement indésirable grave, à chaque fois que possible :

- Une copie du compte-rendu d'hospitalisation ou de prolongation d'hospitalisation
- Une copie du rapport d'autopsie si nécessaire
- Une copie de tous les résultats d'examens complémentaires réalisés, y compris les résultats négatifs pertinents en y joignant les valeurs normales du laboratoire
- Tout autre document qu'il juge utile et pertinent.

Tous ces documents doivent être anonymisés.
Des compléments d'informations pourront être demandés (par fax, par téléphone ou lors d'une visite) par le moniteur et/ ou le promoteur.

7.4.2 Responsabilité du promoteur

Dès réception de la déclaration de l'événement indésirable grave établie par l'investigateur, le promoteur doit émettre un avis sur la relation de causalité entre l'événement indésirable grave et les produits à l'étude.
Si l'événement indésirable grave est relié par l'investigateur et/ou le promoteur à l'un des produits à l'étude (il s'agit donc d'un effet indésirable grave) il doit établir le caractère attendu ou inattendu de cet effet.
S'il s'agit d'un effet indésirable grave inattendu, ou si il s'agit un fait nouveau, le promoteur rédige un rapport initial qui sera transmis à l'AFSSaPS, au CPP et à l'EMEA (via EudraVigilance) dans les 7 jours en cas de décès sinon dans les 15 jours.
S'il s'agit d'un effet indésirable grave attendu, il sera colligé en vue de la rédaction des rapports semestriels et annuels de sécurité.

7.5 Modalités et durée du suivi des personnes suite à la survenue d'événements indésirables

L'investigateur est responsable du suivi médical approprié des patients jusqu'à la résolution ou la stabilisation de l'effet ou jusqu'au décès du patient. Cela peut impliquer parfois que ce suivi se prolonge après la sortie du patient de l'essai.

Il transmet les informations complémentaires au promoteur à l'aide d'un formulaire de déclaration des EIG (en cochant la case Suivi n° X pour préciser qu'il s'agit d'un rapport de suivi et non d'un rapport initial) dans les 24 heures suivant leur obtention. Il transmet également le dernier suivi à la résolution ou à la stabilisation de l'EIG.

Il conserve les documents concernant l'effet indésirable présumé afin de permettre, en cas de nécessité de compléter les informations précédemment transmises.

Il répond aux demandes d'informations complémentaires afin de documenter l'observation initiale.

8 STATISTIQUES

Il s'agit d'un essai de phase I, la méthodologie retenue pour l'inclusion des patients et l'affectation des paliers doses est la méthode Continual Reassessment Method (CRML) (O'Quigley 1990 & 1996).
Le modèle de distribution dose toxicité est un modèle de puissance (x^a) où x prend des valeurs sur (0, 1). La dose est recodée sur l'échelle des probabilités selon O'Quigley et Shen (1996): x0=0,04, x1=,07 x2=0,2 x3=0,35 x4 = 0,55 où x0 est le code pour la dose ,5mg, x1 pour 10mg, x2 pour 15mg, x3 pour 20mg et x4 pour 25mg.

Cinq paliers de doses sont étudiés :

Palier	Idarubicine	Hypothèses pour la CRML Taux de toxicité attendu
0	5 mg	4%
1	10 mg	7%
2	15 mg	20%
3	20 mg	35%
4	25 mg	55%

Les hypothèses sont les suivantes :

- la dose maximale tolérée (DMT) est définie comme étant le palier pour lequel moins de 20% des patients ont une dose limitante toxique (DLT) au cours du 1er mois suivant le début de la chimioembolisation
- la première inclusion sera réalisée dans le palier 1 à la dose de 10 mg
- les DLT seront étudiées dans un intervalle de 1 mois à compter de la date de la chimioembolisation.

Globalement, les patients seront inclus par cohorte de 1 patient, 1 mois après l'inclusion du patient précédent (i.e. après analyse de la DLT pour le patient précédemment inclus).
En revanche l'estimateur du maximum de vraisemblance utilisé par la méthode CRM ne peut être calculé qu'après que la 1ère DLT ait été observée.
La méthode se déroulera donc en 2 étapes compte tenu de la méthode CRM employée
L'affectation des patients suivants se fera en fonction de l'existence de DLT ou non pour les patients inclus, la méthode CRM affectant (logiciel NP1) le patient dans le palier dont la probabilité d'être le palier cible (i.e. DMT) est optimisé. Les patients dont le diagnostic d'une maladie de Gilbert est établi après inclusion seront exclus et remplacés dans le palier correspondant.

Etape pré-DLT:
Tant qu'aucune DLT n'est observée, les doses seront escaladées selon le schéma suivant: 1 patient sera traité à la dose 1 (10 mg), en l'absence de DLT, 2 patients seront traités à la dose 2 (15mg); si aucun des 2 n'a de DLT, 3 patients seront traités à la dose 3 (20mg) et 4 patients à la dose 4 (25 mg). Un décalage d'une semaine minimum devra être respecté entre les 2 premiers patients consécutifs traités à la même dose.
Si aucune DLT n'est observée à la dose 4, soit il sera décidé d'ouvrir un palier de dose supérieur soit les patients suivants seront traités à cette dose jusqu'à occurrence d'une DLT ou inclusion de 9 patients conduisant à l'arrêt de l'étude et à la recommandation du palier 25mg pour des études ultérieures.

Etape dès occurrence de la 1ère DLT :
Le choix de la dose à administrer au prochain patient se fondera sur l'estimation du modèle de la relation dose-toxicité. Cette estimation sera réalisée par le maximum de vraisemblance à partir de l'ensemble de toutes les observations collectées. La dose dont l'estimation de la probabilité de toxicité est la plus proche de 20% sera recommandée pour le patient suivant.
Pour un patient donné, si la dose attribuée n'est pas la dose recommandée, cette information sera quand même prise en compte pour les réestimations séquentielles de la relation dose-toxicité.

Après chaque patient évalué, un arbre décisionnel présentant les paliers de doses à visiter pour les 3 patients suivants selon la séquence de leur réponse toxique sera fourni par le statisticien au coordonateur de l'étude.

L'arrêt de l'étude s'effectuera lorsque 9 patients auront été traités à une dose ou si 2 DLT ont été observées au palier 0 ou après un maximum de 18 patients
Le palier recommandé est celui pour lequel le patient suivant aurait été inclus après arrêt des inclusions.

8.1 Stratégies d'Analyse des Données

Toutes les analyses seront réalisées à l'aide du logiciel Stata (V10).
Elles seront descriptives, les variables qualitatives seront décrites à l'aide de fréquence et pourcentage avec leur intervalle de confiance à 95%, les variables continues seront décrites à l'aide de moyenne (SD), médiane (Min-Max).
Après description du nombre d'événements, les survies et les temps jusqu'à progression ou détérioration définitive de la qualité de vie seront estimés selon la méthode de Kaplan-Meier et décrites à l'aide de médianes et de taux avec leur intervalle de confiance à 95%.

8.2 Nombre de personnes prévues et justification

Nombre maximal de patients : 18
Arrêt des inclusions dès que 9 patients auront été inclus au même palier
Méthode : CRML (cf. paragraphe 8)

8.3 Degré de signification

NA

8.4 Critères statistiques d'arrêt de la recherche

Nombre maximal de patients : 18
Arrêt des inclusions dès que 9 patients auront été inclus au même palier

8.5 Analyse des données manquantes ou non valides

NA

8.6 Changement de stratégie

NA

8.7 Choix des personnes à inclure dans les analyses

L'analyse se fera en per-protocole, sur l'ensemble des patients ayant reçu une chimioembolisation quel que soit leurs critères d'inclusion.

9 DROIT D'ACCES AUX DONNEES ET DOCUMENTS SOURCES

L'investigateur s'engage à respecter le protocole et à l'appliquer en tenant compte des bonnes pratiques cliniques.
Il s'engage à laisser libre l'accès aux données de l'étude au promoteur, moniteurs, auditeurs ou personnes représentant les Autorités de Santé.

10 CONTROLE ET ASSURANCE QUALITE

10.1 Comité scientifique

Un comité scientifique sera responsable de l'application stricte du protocole, des critères de surveillance et de toutes les décisions qui en découleront (arrêt de la recherche, changement du palier de dose…). Ce comité scientifique sera sous la responsabilité de l'investigateur coordonateur, rassemblera l'ensemble des investigateurs de l'étude et le méthodologiste-statisticien de l'étude. Il se réunira régulièrement, tous les 3 patients inclus soit environ tous les 3 mois. C'est l'investigateur coordonateur de l'essai, M. le Pr Bedenne, qui programmera ces réunions.

10.2 Monitoring et contrôle de qualité

Un assistant de recherche clinique, délégué par le promoteur (ARC promoteur), visitera de façon régulière chaque centre de l'étude lors de la mise en place de l'essai, une ou plusieurs fois en cours d'essai selon le rythme préétabli dépendant du niveau de risque attribué à la recherche.

Ces visites ont pour objet :
- de contrôler le respect du protocole,
- de vérifier les consentements éclairés,
- de vérifier la notification des Evènements Indésirables Graves,
- suivre la traçabilité des médicaments de l'étude (visite à la pharmacie, stockage et comptabilité des médicaments),
- d'assurer le contrôle de qualité : confronter les données du cahier d'observation avec les documents source du centre.

Les personnes chargées du contrôle de qualité d'une recherche biomédicale et dûment mandatées à cet effet par le promoteur ont accès, sous réserve de l'accord des personnes concernées, aux données individuelles strictement nécessaires à ce contrôle ; elles sont soumises au secret professionnel dans les conditions définies par les articles 226-13 et 226-14 du code pénal.
Toute visite fera l'objet d'un rapport de monitoring par compte-rendu écrit (traçabilité des visites).

10.3 Audit et inspection

Les investigateurs acceptent de se conformer aux exigences du promoteur et de l'Autorité Compétente en ce qui concerne un audit ou une inspection de l'étude.
L'audit pourra s'appliquer à tous les stades de l'étude, du développement du protocole à la publication des résultats et au classement des données utilisées ou produites dans le cadre de l'étude.

11 CONSIDERATIONS ETHIQUES ET REGLEMENTAIRES

11.1 Autorisation et Responsables et Lieux de l'Etude

Le responsable de la recherche est Monsieur le Professeur BEDENNE, CHU de Dijon, Service d' Hépatogastroentérologie, Hôpital du Bocage, Boulevard Maréchal De Lattre De Tassigny, BP 77980, 21079 DIJON Cedex
Tél : 03.80.29.37.50 – Fax : 03.80.29.37.22
e-mail : lbedenne@u-bourgogne.fr

11.2 Comité de Protection des Personnes (CPP) et Autorité compétente

L'essai ne peut débuter sans avoir reçu la double autorisation du C.P.P. Est I et de l'Autorité compétente autorisée.
Le protocole a reçu l'avis favorable du CPP Est I le 09/07/2009 et l'autorisation de l'Autorité compétente (AFSSaPS) en date du 09/11/2009.

L'autorisation de l'autorité compétente **devient caduc** si **dans un délai d'un an** suivant l'autorisation, la recherche n'a pas débuté (à savoir aucune personne incluse dans le protocole).

Ni l'investigateur, ni le promoteur ne peuvent modifier ce protocole sans accord préalable écrit de l'autre partie. Si des modifications substantielles doivent être apportées, celles-ci doivent faire l'objet d'un amendement au protocole.
Cet amendement sera appliqué lorsqu'il aura reçu la double autorisation du C.P.P. Est I et de l'Autorité compétente autorisée.

11.3 Lettre d'Information aux Directeurs et pharmacies des établissements de santé

Le promoteur s'est assuré que le chef d'établissement et le pharmacien du centre de l'essai ont été informés avant le début de l'essai de la mise en place de l'étude et qu'une convention à été établie avec chaque établissement de santé participant au protocole.

11.4 Responsabilités de l'investigateur

- L'investigateur s'engage à ce que cette étude soit réalisée en conformité avec la loi n° 2004-806 du 9 août 2004 relative à la politique de santé publique et à ses décrets d'application, la déclaration d'Helsinki, les Bonnes Pratiques Cliniques. Toutes les données, tous les documents et rapports pourront faire l'objet d'audits et d'inspections réglementaires sans que puissent être opposé le secret médical.
- L'investigateur informera les volontaires des objectifs et des contraintes de l'étude, de leurs droits de refuser de participer à l'étude ou de la quitter à tout moment. Lorsque l'information aura été donné au sujet, l'investigateur se sera assuré qu'il a bien compris les implications de la participation à l'étude, son consentement écrit sera recueilli par un des investigateurs en deux exemplaires originaux. Un exemplaire original du formulaire d'information et du consentement signé sera remis au sujet, l'autre exemplaire du consentement sera conservé par l'investigateur.
- Toutes les informations recueillies sont confidentielles et ne pourront être divulguées. L'investigateur s'assurera que l'anonymat de chaque volontaire participant à l'étude est garanti. Aucune information permettant l'identification des personnes ne sera communiquée à des tiers autres que ceux, représentant du promoteur et du Ministère de la Santé,

réglementairement habilités à détenir cette information (et qui sont tenus au secret professionnel.

11.5 Responsabilités du promoteur

Le CHU de DIJON se porte promoteur de cette étude.
Conformément à la loi n° 2004-806 du 9 août 2004 relative à la politique de santé publique et à ses décrets d'application, le promoteur s'engage à réaliser l'ensemble des opérations qui lui incombent :

- Enregistrement de l'étude : le promoteur enregistrera l'étude au niveau européen et obtiendra le N° EUDRACT pour les études portant sur le médicament.
- Assurance :
- le CHU de DIJON, promoteur de l'étude, souscrit pour toute la durée de l'étude une assurance garantissant sa propre responsabilité civile ainsi que celle de tout intervenant impliqué dans la réalisation de l'essai, indépendamment de la nature des liens existant entre les intervenants et le promoteur.
- Comité de Protection des Personnes et Autorité Compétente : le CHU de DIJON sollicitera l'avis d'un Comité de Protection des Personnes ainsi que l'autorisation soit de l'AFSSAPS si l'étude porte sur un médicament ou un dispositif médical, soit de la Direction générale de la santé dans les autres cas. La recherche ne pourra être mise en œuvre qu'après l'avis favorable du CPP et l'autorisation de l'autorité compétente.
- Commission Nationale Informatique et Liberté : Les informations recueillies lors de cette étude pourront faire l'objet d'un traitement informatique. Une demande d'autorisation de traitement automatisé des données en matière de recherche dans le domaine de la santé sera effectuée auprès de la CNIL (Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés).
- Modification substantielle : Après le commencement de l'étude, toute modification substantielle du protocole à l'initiative de l'investigateur sera soumise au promoteur ; celui-ci doit obtenir, préalablement à sa mise en œuvre, un avis favorable du CPP et une autorisation de l'autorité compétente.

12 TRAITEMENTS DES DONNEES ET CONSERVATION

12.1 Anonymat des sujets

Toutes les données enregistrées au cours de l'étude et consignées dans le cahier d'observation des patients seront anonymisées. L'identification des patients se fera par leur numéro dans l'étude ainsi que les deux 1ères lettres de leur nom et la 1ère lettre de leur prénom sur la couverture du cahier d'observation.

12.2 Confidentialité

Conformément aux dispositions de l'article R. 5120 du Code de la Santé Publique, l'investigateur et toute personne appelée à collaborer aux essais sont tenus au secret professionnel, en particulier en ce qui concerne notamment la nature des produits étudiés, les essais, les personnes qui s'y prêtent et les résultats obtenus sous réserve des dispositions de l'article L. 1123-9 (nouvelle numérotation) du Code de la Santé Publique.

Ils ne peuvent, sans l'accord du promoteur (le CHU de DIJON), fournir d'information sur l'étude qu'aux Autorités de Santé, incluant les inspecteurs tel que mentionné dans l'article L.209-13 (ancienne numérotation) du Code de la Santé Publique.

Les essais ne feront l'objet d'aucun commentaire, oral ou écrit, sans une autorisation conjointe de l'investigateur coordonnateur et du promoteur (le CHU de Dijon).

Le fichier informatique utilisé pour réaliser la présente recherche fera l'objet d'une autorisation de la C.N.I.L. en application des articles 40-1 et suivants de la loi "informatique et liberté". Les données médicales concernant les patients font l'objet d'un traitement informatique et ne seront transmises qu'au promoteur, ainsi que le cas échéant aux autorités sanitaires habilitées, dans des conditions garantissant leur confidentialité. Les patients pourront exercer leurs droits d'accès et de rectification auprès de leur investigateur.

12.3 Recueil des données

Toutes les données requises par ce protocole doivent être consignées le plus tôt possible dans les cahiers d'observation de l'étude. L'entrée des données dans le cahier d'observation devra être faite à l'aide d'un stylo à bille et devra être lisible. Les crayons et fluides correcteurs ne doivent pas être utilisés.

Si des corrections s'avèrent nécessaires, elles seront faites par l'investigateur ou un membre autorisé de son équipe de la manière suivante : la donnée erronée sera barrée, tout en restant lisible, et la donnée correcte sera écrite à côté de celle-ci. Les corrections devront être certifiées par la date et les initiales. Pour les corrections concernant les événements indésirables ou la variable principale d'efficacité, le motif de la correction devra être fourni.

L'original des notes d'information/consentement éclairé sera conservé dans le classeur investigateur. Les Agendas patients seront conservés dans le cahier d'observation du patient.

12.4 Archivage

Au terme de l'étude, tous les documents en relation avec l'étude (y compris la copie des cahiers d'observation) seront archivés sur le site de l'étude ou dans une archive centralisée. Une attention particulière doit être portée à la liste permettant d'identifier les patients inclus dans l'essai et aux formulaires de consentement. Cette liste et les formulaires de consentement sont les documents les plus importants des dossiers devant être archivés par l'investigateur.

Tous les documents en relation avec l'étude devront être conservés pendant 30 ans après la fin de l'étude. A la fin de cette période, le Promoteur informera les investigateurs de la fin de l'archivage.

13 FINANCEMENT DE L'ETUDE

13.1 Contrat investigateur

Un contrat investigateur sera signé entre le CHU de Dijon et l'investigateur-coordonnateur avant le début de l'étude. Ce contrat fixe les responsabilités de chacun dans la réalisation du projet de Recherche.

13.2 Financement du protocole

Ce projet de recherche est financé par le CHU de Dijon.

13.3 Assurance/ Compensation des dommages aux patients

Le promoteur a souscrit une assurance couvrant sa responsabilité civile en cas de conséquences dommageables au cours de cette recherche.

Conformément à la législation en vigueur (article L. 1121-7 de la loi Huriet) chaque patient est assuré contre toute altération de son état de santé pouvant résulter de sa participation à l'étude.
Le nom de la compagnie d'assurance du CHU de Dijon est Société Hospitalière d'Assurances Mutuelles (SHAM) Police n° 129.234.
L'investigateur doit rapporter immédiatement à la Direction de la Recherche Clinique du CHU de Dijon toute réclamation faite par un patient et susceptible d'être liée à l'étude. Le Directeur de la Recherche Clinique transmettra cette réclamation au service juridique.

14 RAPPORT ET PUBLICATIONS

14.1 Rapport

Un rapport officiel daté et signé par l'investigateur coordonateur sera rédigé et transmis au promoteur pour co-signature.

Un résumé du rapport final sera transmis à l'autorité compétente et au Comité de Protection des Personnes dans les 12 mois suivant la fin de l'étude.
A la fin de l'étude, l'investigateur coordonateur et le conseil scientifique se réuniront pour décider de poursuivre l'étude IDASPHERE par un essai de phase II.

14 .2 Règles de Publication

14.2.1 Le promoteur

Le CHU de Dijon est intéressé par la publication des résultats de chaque essai.
L'investigateur devra pour toute publication faire référence au CHU de Dijon, selon la Charte de publication.

Ainsi, dans le cas d'une étude financée par le PHRC ou une dotation spécifique du CHU de Dijon, (Appel d'Offre interne par exemple), la publication doit préciser les sources de financement, le promoteur, le CIC.

14.2.2 Règles de publication pour l'essai

Les auteurs de la publication sont dans l'ordre en fonction du travail fourni et du nombre de patients inclus :

- en 1er M BOULIN, rédacteur principal
- en 2d M GUIU, rédacteur associé
- en 3ème M BONNETAIN, méthodologiste-statisticien
- puis un nombre limité d'investigateurs
- en avant dernier (equally contributed) M CHAUFFERT
- en dernier auteur, M BEDENNE, investigateur coordonnateur de l'essai
- le nombre maximum d'auteurs autorisés par les revues sera utilisé
- dans le cas d'une publication dérivée ou d'un travail annexe, les auteurs pourront être différents de ceux de l'article princeps et refléter la spécialité intéressée par l'article Ex : un article spécifiquement dédié à la pharmacocinétique de l'idarubicine sous cette modalité d'administration peut être signé par des pharmacologues collaborateurs de l'essai. Le dernier auteur de cette publication dérivée est le premier signataire de l'article princeps.

Tous les participants ne figurant pas dans les auteurs sont cités en fin d'article. Les partenaires sont remerciés.

Communication orale à partir des résultats de l'essai :
Un investigateur ou collaborateur peut avec l'accord du rédacteur principal, présenter en son nom tout ou partie des résultats en communication orale. Les auteurs sont en règle générale les mêmes que pour l'article écrit, mais l'ordre des auteurs pour les articles et les communications peut varier, et varier aussi selon les congrès où la communication est faite. Dans certains cas (études d'imagerie, biologiques, sur la qualité de vie par exemple), d'autres auteurs parmi les investigateurs et/ou collaborateurs pourront être choisi en fonction de leur travail. Le partenariat devra toujours être cité lors de ces communications.

14.3 Information des sujets sur les résultats globaux de la recherche

A la fin de l'étude, si le patient le souhaite, il pourra être informé des résultats globaux de la recherche (Article L1122-1, dernier alinéa). Il n'y a pas de possibilité pour les personnes d'être informées des résultats individuels de la recherche mais elles peuvent être informées de leurs données médicales.
Le patient devra faire la demande par écrit au médecin investigateur.

15 BIBLIOGRAPHIE

* Bosch FX, Ribes J, Cleries R, Diaz M. Epidemiology of hepatocellular carcinoma. Clin Liver Dis 2005; 9:191-211

* Borie F, Tretarre B, Daures JP, le réseau français des registres des tumeurs (FRANCIM). L'hépatocarcinome en France : épidémiologie, étiologie, traitement et survie. XXIVème forum de cancérologie. Bull Cancer 2004; 91: 503
* Boulin M, Guiu B, Guiu S, Cercueil JP, Bedenne L, Chauffert B. Etude de cytotoxicité in vitro des différents anticancéreux candidats à la chimioembolisation des carcinomes hépatocellulaires. Gastroenterol Clin Biol 2009; 33: A78
* Bruix J, Sherman M, Llovet JM et al. Clinical Management of Hepatocellular Carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL Conference. J Hepatol 2001; 35: 421-430
* Cercueil JP, Ferrant E, Isambert N, Jouve JL, Flesch M, Krause D, Bedenne L, Chauffert B. Réponse majeure d'un volumineux carcinome hépatocellulaire à une chimioembolisation par pirarubicine, amiodarone et Lipiodol®. Gastroenterol Clin Biol 2004; 28:1281-1283
* Chauffert B, Martin M, Hammann A, Michel MF, Martin F. Amiodarone-induced enhancement of doxorubicin and 4'-deoxydoxorubicin cytotoxicity to rat colon cancer cells *in vitro* and *in vivo*. Cancer Res 1986; 46: 825-830
* Chauffert B, Rey D, Coudert B, Dumas M, Martin F. Amiodarone is more efficient than verapamil in reversing resistance to anthracyclines in tumour cells. Br J Cancer. 1987; 56: 119-122
* Colombo M. Hepatocellular carcinoma in cirrhotics. Semin Liver Dis 1993; 13: 374-383
* Doffoel M, Bonnetain F, Bouché O et al. Multicentre randomised phase III trial comparing Tamoxifen alone or with Transarterial Lipiodol Chemoembolisation for unresectable hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients (Fédération Francophone de Cancérologie Digestive 9402). Eur J Cancer 2008; 44: 528-538
* Ebied OM, Federle MP, Carr BI et al. Evaluation of responses to chemoembolization in patients with unresectable hepatocellular carcinoma. Cancer 2003; 97: 1042-50
* El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. Gastroenterology 2007; 132: 2257-2276
* Farges O, Regimbeau JM, Belghiti J. Aggressive management of recurrence following surgical resection of hepatocellular carcinoma. Hepatogastroenterology 1998; 45: 1275-1280
* Favoulet P, Cercueil JP, Faure P et al. Increased cytotoxicity and stability of Lipiodol-pirarubicin emulsion compared to classical doxorubicin-Lipiodol: advantage for chemoembolization of unresectable hepatocellular carcinoma. Anticancer Drugs 2001; 12: 801-806
* Grosso M, Vignali C, Quaretti P et al. Transarterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma with drug eluting microspheres : preliminary results from an Italian multicentre study. Cardiovasc Intervent Radiol 2008; 31: 1141-1149
* Heresbach D, Raoul JL, Bentue-Ferrer D, Bretagne JF, Van Den Driessche J, Gastard J. Chimiothérapie couplée au Lipiodol®. Etude in vitro de la cinétique de libération de l'adriamycine. Gastroenterol Clin Biol 1989; 13: 775-778
* Hong K, Khwaja A, Liapi E, Torbenson MS, Georgiades CS, Geschwind JF. New intra-arterial drug delivery system for the treatment of liver cancer : preclinical assessment in a rabbit model of liver cancer. Clin Cancer Res 2006; 12: 2563-2567
* Johnson PJ, Kalayci C, Dobbs N et al. Pharmacokinetics and toxicity of intra-arterial of adriamycin for hepatocellular carcinoma:effects of coadministration of lipiodol. J Hepatol 1990; 11: 349-353
* Kalayci C, Johnson PJ, Roby N, Metivier EM, Williams R. Intra-arterial doxorubicin and Lipiodol for inoperable hepatocellular carcinoma: a comparison with intravenous doxorubicin. J Hepatol 1991; 13: 120-127
* Khan KN, Nakata K, Kusumoto Y et al. Evaluation of nontumorous tissue damage by transcatheter arterial embolization for hepatocellular carcinoma. Cancer Res 1991; 51: 5667-5671
* Lammer J. PRECISION V Presentation. Prospective randomised study of doxorubicin in the treatment of hepatocellular carcinoma by Drug-Eluting Bead Embolisation. CIRSE 2008, Nice.
* Lee HS, Kim KM, Yoon JH et al. Therapeutic efficacy of transcatheter arterial chemoembolization as compared with hepatic resection in hepatocellular carcinoma patients with compensatedliver function in a hepatitis B virus-endemic area: a prospective cohort study. J Clin Oncol 2002; 20: 4459-4465
* Lencioni R, Paolicchi A, Moretti M et al. Combined trancatheter arterial chemoembolization and percutaneous ethanol injection for the treatment of large hepatocellular carcinoma: local therapeutic effect and long-term survival rate. Eur Radiol 1998; 8: 439-444
* Lewis AL, Gonzalez V, Lloyd A et al. DC Bead : in vitro characterization of a drug-delivery device for transarterial chemoembolization. JVIR 2006. 17: 335-342
* Li L, Wu PH, Li JQ et al. Segmental transcatheter arterial embolization for primary hepatocellular carcinoma. World J Gastroenterol 1998; 4: 511-512
* Llovet JM, Real MI, Montana X et al. Arterial embolisation or chemoembolisation versus symptomatic treatment in patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised controlled trial. Lancet 2002; 359: 1734-1739
* Llovet JM, Burroughs A, Bruix J et al. Hepatocellular carcinoma. Lancet 2003; 362: 1907-1917
* Lo CM, Ngan H, Tso WK et al. Randomized controlled trial of transarterial lipiodol chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma. Hepatology 2002; 35: 1164-1171

* Malagri K, Chatzimichael K, Alexopoulou E et al. Transarterial chemoembolization of unresectable hepatocellular carcinoma with drug eluting Beads : results of an open-label study of 62 patients. Cardiovasc Intervent Radiol 2008; 31: 269-280
* Marelli L, Stigliano R, Triantos C, et al. Transarterial therapy for hepatocellular carcinoma : which technique is more effective? A systematic review of cohort and randomized studies. Cardiovasc Intervent Radiol 2007; 30: 6-25
* Matsui O, Kadoya M, Kameyam T et al. Benign and malignant nodules in cirrhotic livers: distinction based on blood supply. Radiology 1991; 178: 493-497
* Mazziotti A, Grazi GL, Cavallari A. Surgical treatment of hepatocellular carcinoma on cirrhosis: a Western experience. Hepatogastroenterology 1998; 45: 1281-1287
* Merten GJ, Burgess WP, Gray LV, Holleman JH, Roush TS, Kowalchuk GJ, Bersin RM, Van Moore A, Simonton CA 3rd, Rittase RA, Norton HJ, Kennedy TP. Prevention of contrast-induced nephropathy with sodium bicarbonate: a randomized controlled trial. JAMA 2004; 291: 2328-2334
* Minemura M, Tanimura H, Tabor E. Overexpression of of multidrug resistance genes MDR1 and Cmoat in human hepatocellular carcinoma and hepatoblastoma cell lines. Int J Oncol 1999; 15: 559-563
* O'Quigley J, Shen LZ. Continual reassessment method: a likelihood approach. Biometrics 1996; 52: 673-684
* O'Quigley J, Pepe M, Fisher L. Continual Reassessment Method: A practical design for Phase I clinical studies in cancer. Biometrics 1990; 46: 33-48
* Remontet L, Esteve J, Bouvier AM et al. Cancer incidence and mortality in France over the period 1978-2000. Rev Epidemiol Sante Publique 2003; 51: 3-30
* Roovers DJ, Van Vliet M., Bloem AC, Lokhorst HM. Idarubicin overcomes *P*-glycoprotein-related multidrug resistance: comparison with doxorubicin and daunorubicin in human multiple myeloma cell lines. Leuk Res 1999 ; 23 : 539-548
* Saffroy R, Pham P, Lemoine A, Debuire B. Biologie moléculaire et carcinoma hépatocellulaire : données actuelles et développements futures. Ann Biol Clin 2004; 62 : 649-656
* Sasaki Y, Imaoka S, Kasugai H et al. A new approach to chemoemebilization therapy for hepatoma using ethiodized oil, cisplatin, and gelatin sponge. Cancer 1987; 60: 1194-1203
* Suzuki M, Suzuki H, Yamamoto T et al. Indication of chemoembolization therapy without gelatin sponge for hepatocellular carcinoma. Semin Oncol 1997; 24: 110-115
* Tanaka K, Nakamura S, Numata K et al. The long term efficacy of combined transcatheter arterial embolization and percutaneous ethanol injection in the treatment of patients with large hepatocellular carcinoma and cirrhosis. Cancer 1998; 82: 78-85
* Tanz Z. Treatment of hepatocellular carcinoma. Digestion 1998; 59: 556-562 and effectiveness in vitro and in vivo. Drugs Exp Clin Res 1986; 12: 257-64
* Tepel M, van der Giet M, Schwarzfeld C et al. Prevention of radiographic-contrast-agent-induced reductions in renal function by acetylcysteine. N Engl J Med 2000; 20:180-184
* Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA et al. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. JNCI 2000; 92: 205-216
* Trinchet JC, Ganne-Carrie N, Beaugrand M. Intra-arterial chemoembolization in patients with hepatocellular carcinoma. Hepatogastroenterology 1998; 45: 1242-1247
* Tumolo S, Toffoli G, Baerz A et al. Oral idarubicin for the treatment of hepatocellular carcinoma. Proc Am Soci Clin Oncol 2002; 21: A635
* Varela M, Real MI, Burrel M et al. Chemoembolization of hepatocellular carcinoma with drug eluting beads : efficacy and doxorubicin pharmacokinetics. J Hepatol 2007; 46: 474-481
* Venook AP, Stagg RJ, Lewis BJ et al. Chemoembolization for hepatocellular carcinoma. J Clin Oncol 1990; 8: 1108-1114

16 DATE ET SIGNATURES

ENGAGEMENTS

Le protocole suivant a été approuvé par le Comité de Protection des Personnes Est I et a reçu l'autorisation de l'autorité compétente.
Les informations qu'il contient sont en accord avec la morale, l'éthique, les principes réglementaires des Autorités de Santé et les Bonnes Pratiques Cliniques.

Promoteur Centre Hospitalier Universitaire DE DIJON

Date :……Signature : ……..

Nom en toutes lettres :……

Je confirme avoir pris connaissance du présent protocole. Je m'engage à travailler en accord avec celui-ci ainsi qu'en accord avec les bonnes pratiques cliniques et les exigences réglementaires adéquates.
Je m'engage à laisser libre accès aux données de l'étude au promoteur, moniteurs, auditeurs ou personnes représentant les Autorités de Santé, et à conserver les documents relatifs à l'étude pendant une durée de trente ans après la fin de l'étude.

Investigateur :

Date : ……Signature : ……..

Nom en toutes lettres :……

ANNEXES

1. Formulaire d'Information et de Consentement Eclairé
2. Conduite à tenir pour la déclaration d'Evènement Indésirable Grave
3. Liste des Investigateurs participants et leurs Coordonnées
4. Déclaration d'Helsinki
5. Cahier d'Observation (document à part)
6. Copie de l'avis favorable du CPP (à insérer ultérieurement dans le document)
7. Copie de l'attestation d'assurance (à insérer ultérieurement dans le document)
8. Copie de l'autorisation au Ministère (à insérer ultérieurement dans le document)
9. National Cancer Institute – Common Toxicity Criteria for Adverse Events (version 3.0)
10. Procédures d'adaptation du traitement antalgique
11. Questionnaire EORTC QLQ-C30 version 3
12. Résumé des Caractéristiques du Produit Zavedos®
13. Résumé des Caractéristiques du Produit Visipaque®
14. Mode d'emploi DC Bead™

ANNEXE 1. FORMULAIRE D'INFORMATION ET DE CONSENTEMENT ECLAIRE

Note d'information

Etude : **IDASPHERE**
Chimioembolisation des carcinomes hépatocellulaires non résécables, non métastatiques par des microsphères d'embolisation (DC Bead™) chargées avec de l'idarubicine (Zavedos®) : étude de phase I
N° EudraCT: 2009-013288-20

(Fait en 2 exemplaires : Un remis au patient, l'autre conservé par l'investigateur.)

Promoteur : CHU Dijon - Direction Recherche et Innovation
1, Bd Jeanne d'Arc
BP 77908 - 21079 Dijon Cedex
Tél : 03 80 29 35 10 / Fax : 03 80 29 36 90

Madame, Monsieur, Mademoiselle,

Le Professeur / Docteur : BEDENNE Laurent
Département d'Hépatogastroentérologie
Hôpital du Bocage
CHU DIJON
Boulevard Maréchal De Lattre De Tassigny
BP 77980
21079 DIJON Cedex
03 80 29 37 50, Médecin Investigateur

et le CHU de Dijon mènent actuellement une recherche biomédicale sur le carcinome hépatocellulaire.

Nous souhaitons vous solliciter pour participer à cette étude, réalisée selon la loi n°2004-806 du 9 août 2004 relative à la politique de santé publique.

Nous vous présentons ici les informations nécessaires pour comprendre l'intérêt et le déroulement de l'étude, les bénéfices attendus, les contraintes et les risques prévisibles

Lisez attentivement cette notice.
Posez toutes les questions qui vous sembleront utiles.
Après avoir obtenu les réponses satisfaisantes à vos questions et disposé d'un délai de réflexion adapté, vous pourrez alors décider si vous voulez participer à cette étude ou non.

Le but de l'étude :

Le but de cette étude est d'apprécier la tolérance et l'efficacité d'une nouvelle méthode de chimioembolisation hépatique. Cette technique est mondialement pratiquée depuis 30 ans. Elle consiste en l'injection directe dans l'artère de votre foie d'un médicament, la doxorubicine, avec un « vecteur », des microbilles inertes, qui retiennent le médicament dans le foie.

Notre équipe médicale a fait des recherches préalables et pense que l'injection d'un autre médicament, l'idarubicine pourrait permettre une meilleure efficacité du traitement.

Le déroulement de l'étude :

A/ Présentation générale :

Cette étude est une étude régionale mais avec une portée nationale voire internationale. Dix huit patients au maximum seront inclus dans cette étude.

Si vous acceptez de participer à cette étude, votre médecin, s'assurera qu'il n'y a pas de contre indication au traitement qui vous est proposé. Pour cela, il vous examinera et fera tout le bilan de votre maladie (prise de sang, fibroscopie oeso-gastrique, scanner thoraco-abdominal, IRM hépatique, électrocardiogramme).

Si vous acceptez de participer à cette étude, vous ne pouvez pas participer à une autre Recherche simultanément.

Le traitement proposé dans cette étude (chimioembolisation hépatique) est identique à celui habituellement réalisé, c'est-à-dire en dehors du cadre de l'étude. Seul, le médicament change, l'idarubicine remplace la doxorubicine. Tout le reste de la technique, à savoir, l'injection directe dans votre foie du médicament avec des microbilles reste donc identique.

Tous les patients recevront le même traitement, seule la dose du médicament changera. Elle sera augmentée progressivement si les premiers patients la supportent bien. Le traitement sera unique c'est-à-dire qu'il consistera en une seule séance de chimioembolisation au cours de laquelle le médicament vous sera administré.

B/ Déroulement de votre participation à cette étude :

Que vous participiez ou non à cette étude, la prise en charge globale de votre maladie sera identique. Vous aurez les mêmes examens de surveillance avec une fréquence identique. Il y a juste une chose supplémentaire pour vous liée à l'étude. On vous fera des prélèvements sanguins de quelques millilitres (1 tube = 5 ml x 8 fois) pour doser le médicament dans votre sang.

En pratique, une séance de chimioembolisation se déroule de la façon suivante :

Vous êtes hospitalisé la veille de l'examen dans le Service d'Hépatogastroentérologie du CHU de Dijon. Le lendemain matin, vers 8 heures, vous descendrez dans le service de Radiologie du CHU de Dijon où vous serez allongé sur une table d'intervention.

Le médecin radiologue ponctionne alors l'artère fémorale et y introduit un petit tuyau en plastique appelé cathéter. Ce cathéter est dirigé dans les artères à explorer. Après avoir étudié la vascularisation du foie, le cathéter est placé dans l'artère principale du foie pour

injecter le médicament. Ensuite, on retire le cathéter et on comprime l'artère pour empêcher un saignement.

Du fait de la possible survenue de douleurs pendant la séance, le médecin radiologue pourra vous administrer un traitement anti-douleur intraveineux par de la morphine.

La chimioembolisation nécessite une hospitalisation de quelques jours (ce sera 3 jours dans le cadre de l'étude) au cours de laquelle nous effectuons tous les contrôles cliniques et biologiques (prises de sang) nécessaires à la surveillance de votre traitement et à votre sécurité. Vous serez donc hospitalisé pour cette surveillance dans le Service d' Hépatogastroentérologie du CHU de Dijon. A la fin de ces 3 jours, sauf contre indication médicale, vous rentrerez chez vous.

Par la suite de nouveaux examens (prises de sang, une IRM) seront réalisés comme à l'habitude pour évaluer les résultats en terme d'efficacité et de tolérance. En pratique, vous réaliserez dix jours après la chimioembolisation une prise de sang. Puis vous viendrez en consultation auprès du médecin qui vous suit habituellement dans le cadre de votre maladie, 15 jours, 1 mois et 2 mois à compter de la date de la chimioembolisation. Au-delà des 2 mois, la surveillance et un nouveau traitement est laissée libre au médecin qui vous suit. Il serait fait comme si vous n'aviez pas participé à l'essai.

Lors de l'hospitalisation puis lors des 3 consultations de suivi, il vous sera demandé de remplir un questionnaire dont le but est de savoir si le traitement a amélioré votre qualité de vie.

Enfin, pendant la séance de chimioembolisation et durant les 3 jours suivants, un échantillon de sang (5 ml à huit temps différents) vous sera prélevé afin d'étudier la concentration du médicament qui vous a été injecté.

Les bénéfices attendus :

L'avantage que vous pouvez attendre de cette étude est une amélioration de votre état de santé.

L'utilisation d'une nouvelle molécule, l'idarubicine devrait augmenter l'efficacité de la chimioembolisation hépatique. En réalité, cette molécule n'est pas nouvelle ; elle est couramment utilisée par voie intraveineuse depuis plus de dix ans dans le monde entier. Son efficacité et son profil de tolérance sont parfaitement connus. Cependant, elle n'a jamais été injectée par voie intra-artérielle. Nous pensons suite à nos premières recherches que cette molécule sera plus efficace que la chimioembolisation classique avec la doxorubicine.

Les résultats de cette étude seront très utiles aux patients qui pourraient dans le futur recevoir le même traitement.

Votre acceptation et votre consentement écrit sont indispensables avant de décider du traitement qui vous sera appliqué.

Les risques prévisibles :

Le traitement qui vous est proposé présente les mêmes effets indésirables que tout traitement classique par chimioembolisation. Ces effets sont inconstants et variables dans leur survenue et dans leur sévérité d'une personne à l'autre. Vous pouvez au cours de cette étude ressentir un des effets indésirables décrits ci-dessous. Ils sont le plus souvent réversibles. Il peut exister des effets indésirables qui ne peuvent pas être prédits.

Compte tenu des informations disponibles à ce jour, les effets indésirables décrits pour le traitement proposé sont :

Effets indésirables habituels :

- Nausées, vomissements prévenus le plus souvent par un traitement adapté
- Diminution du taux des globules blancs, des globules rouges et des plaquettes
- Elévation des enzymes hépatiques et de la bilirubine

- Douleur prévenu par un traitement antalgique adapté
- Coloration rouge des urines 24 à 48 heures après le traitement.

Effets indésirables rares :

- Réactions allergiques
- Douleur, œdème au point d'injection
- Sensation de chaleur, céphalées lors de la perfusion
- Infection
- Insuffisance hépatique
- Troubles du rythme cardiaque.

Information sur les éventuelles alternatives médicales :

Comme mentionné précédemment, si vous ne participez pas à l'étude, vous aurez le même traitement pour votre maladie, à savoir une chimioembolisation hépatique. Le médicament sera la doxorubicine à la place de l'idarubicine.

Prise en charge médicale en fin d'étude :

A la fin de l'étude, vous continuerez à être suivi médicalement conformément aux recommandations en vigueur pour cette pathologie.

Indemnisation – prise en charge des frais liés à l'étude :

- Tous les examens et traitements de l'étude sont pris en charge.
- Vous ne percevrez aucune contrepartie financière pour votre participation à l'étude

Aspects réglementaires et administratifs :

- Pour participer à l'étude proposée, vous devez être affilié(e) à un régime de sécurité sociale.
- Vous ne pouvez pas être sous tutelle, curatelle ou sauvegarde de la justice.

Le promoteur de l'étude, le CHU de Dijon, a pris toutes les dispositions prévues par la loi sur la protection des participants (Code de la Santé Publique, titre II, livre 1er, relatif aux recherches médicales).

Cette étude a reçu pour sa mise en oeuvre :

- un avis favorable du Comité de Protection des Personnes (CPP) Est I en date du 09/07/2009,

dont la mission est de vérifier si les conditions requises pour votre protection et l'ensemble de vos droits ont été respectés.

- une autorisation auprès de l'autorité compétente, l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSaPS) en date du 09/11/2009

Le promoteur a souscrit une assurance garantissant sa responsabilité civile pour couvrir les éventuelles conséquences préjudiciables de cette étude (compagnie SHAM, n° de contrat : 129.234, 18, rue Edouard Rochet, 69372 LYON Cedex 08)

Traitement informatique des données personnelles :

Cette étude sera réalisée conformément aux dispositions de la loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés modifiée par la loi n°2004-801 du 6 août 2004 relative à la protection des personnes physiques à l'égard des traitements de données à caractère personnel, de la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (CNIL).

- Les données médicales vous concernant et les données nécessaires à l'étude seront recueillies et transmises au Promoteur de la recherche ou aux personnes ou sociétés agissant pour son compte, en France ou à l'étranger.
- Un traitement de vos données personnelles va être mis en œuvre pour permettre l'analyse des résultats, dans des conditions assurant leur confidentialité. Toutes les données seront rendues anonymes.
- Vous disposez d'un **droit d'accès** et **de rectification**.
- Vous disposez également d'un **droit d'opposition** à la transmission de vos données personnelles utilisées dans le cadre de cette étude. Ces droits s'exercent auprès du médecin Investigateur qui vous suit dans le cadre de l'étude et qui connaît votre identité. (Tel 03 80 29 37 50)

Droit d'accès au dossier médical :

En application de la loi 2002-303 du 4 mars 2002 relative aux droits des malades et à la qualité du système de santé, vous avez un droit d'accès, au cours et à l'issue de l'étude, à votre dossier médical. Le dossier de recherche constitue un élément communicable du dossier médical du patient, selon les termes de l'article L 1111-7 du Code de la Santé Publique.

Informations sur l'étude :

- Tout au long de votre participation, vous serez informé(e) de la survenue de toute nouvelle donnée sur le déroulement de l'étude ou sa mise en œuvre susceptible de modifier votre décision quant à votre participation à l'étude.
- Vous avez la possibilité à tout moment de l'étude de contacter le Pr BEDENNE Laurent, Département d'Hépatogastroentérologie, Hôpital du Bocage, CHU DIJON, Boulevard Maréchal De Lattre De Tassigny, BP 77980, 21079 DIJON Cedex, tel 03 80 29 37 50 pour toute demande d'information complémentaire sur l'étude, sur votre participation ou sur vos données personnelles liées à votre santé.
- Vous pourrez être informé(e), si vous le souhaitez, des résultats globaux de la recherche à la fin de l'étude (Art L.1122-1 Code de la Santé Publique). En pratique, il vous suffira de les demander à votre médecin Investigateur.

Participation volontaire du sujet/patient :

Votre participation à cette étude est entièrement volontaire et libre.

Votre éventuel refus de participer n'aura aucune conséquence sur le type et sur la qualité de votre prise en charge, ainsi que sur vos relations avec le médecin investigateur.

Si vous acceptez de participer, vous pourrez à tout moment quitter cette étude sans justification et conséquence sur la qualité de votre future prise en charge.

Par ailleurs, vous pourrez éventuellement être sorti(e) de l'étude par le médecin s'il l'estime nécessaire. Votre participation pourra également être interrompue en cas d'arrêt prématuré de l'étude.

Cette note d'information vous appartient et vous pouvez la communiquer et en parler à votre médecin traitant ou à vos proches pour avis.

Nous vous remercions de votre coopération.
Si vous êtes d'accord pour participer à cette étude, nous vous demandons de bien vouloir signer le formulaire de consentement ci-joint.

FORMULAIRE DE RECUEIL DE CONSENTEMENT ECLAIRE

Participation à une recherche biomédicale

(Fait en 2 exemplaires : un exemplaire est remis à la personne, l'autre est conservé par l'investigateur)

De : M., Mme, Mlle

Nom : ……..

Prénom : …….

Adresse : ……

……..

Date de naissance : ……..

N° de sécurité sociale……

Le Docteur ……..……, m'a proposé de participer à une étude intitulée :

IDASPHERE

Chimioembolisation des carcinomes hépatocellulaires non résécables, non métastatiques par des microsphères d'embolisation (DC Bead™) chargées avec de l'idarubicine (Zavedos®) : étude de phase I

N° EudraCT: 2009-013288-20

dont le promoteur est le CHU de Dijon, 1 Bd Jeanne D'Arc, 21079 DIJON, Cedex.

J'ai reçu oralement et par écrit toutes les informations nécessaires pour comprendre l'intérêt et le déroulement de l'étude, les bénéfices attendus, les contraintes et les risques prévisibles.

J'ai pu poser toutes les questions nécessaires à la bonne compréhension de ces informations et j'ai reçu des réponses claires et précises.

J'ai disposé d'un délai de réflexion adapté entre les informations reçues et ce consentement avant de prendre ma décision.

Interruption de la participation :

Sans justifications et sans compromettre la qualité des soins qui me sont dispensés :

- Je suis libre de refuser de participer à cette étude,
- Je peux interrompre ma participation à tout moment, auquel cas j'en informerai le médecin qui me suit au cours de cette étude, pour qu'il me propose, le cas échéant, une prise en charge adaptée.

En foi de quoi, **j'accepte librement et volontairement de participer à cette recherche.**

Par ailleurs, je pourrai éventuellement être sorti(e) de l'étude par le médecin s'il l'estime nécessaire.

Ma participation pourra également être interrompue en cas d'arrêt prématuré de l'étude.

Législation :

Mon consentement ne décharge pas les organisateurs de la recherche de leurs responsabilités à mon égard et je conserve tous mes droits garantis par la loi.

J'ai été informé(e), qu'en conformité avec la loi n° 2004-806 du 9 août 2004 relative à la politique de santé publique :

- le CPP Est 1 (Comité de Protection des Personnes) a donné un avis favorable à la réalisation de cette étude en date du 09/07/2009,

- l'autorité compétente, l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSAPS) a autorisé la réalisation de cette étude en date du 09/11/2009,

- le promoteur de l'étude a souscrit un contrat d'assurance garantissant sa responsabilité pour cette étude. (compagnie SHAM, n° de contrat : 129.234, 18, rue Edouard Rochet, 69372 LYON Cedex 08)

Examen médical préalable :

J'ai été informé(e) que je bénéficierai d'un examen médical préalable à l'étude. Les résultats éventuels me seront communiqués directement ou par l'intermédiaire d'un médecin de mon choix.

Docteur ……..
Adresse : ……

Recueil des données :

Les données ayant trait à mon état de santé, demeurent strictement confidentielles et ne peuvent être consultées que par le médecin qui me suit et ses collaborateurs, par des personnes mandatées par le promoteur et astreintes au secret professionnel et par des autorités mandatées par les autorités sanitaires et judiciaires.

Informatisation des données :

J'accepte le traitement informatisé des données personnelles en conformité avec les dispositions de la loi 78/17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés, modifiée par la Loi n° 2004-801 du 6 août 2004 de la commission nationale de l'informatique et des libertés (CNIL), relative à la protection des personnes physiques à l'égard des traitements de données à caractère personnel. En particulier, j'ai noté que je pourrais exercer, à tout moment, un droit d'accès et de rectification de mes données personnelles, en m'adressant auprès du Professeur BEDENNE Laurent, Département d'Hépatogastroentérologie, Hôpital du Bocage, CHU DIJON, Boulevard Maréchal De Lattre De Tassigny, BP 77980, 21079 DIJON Cedex, tel 03 80 29 37 50.

J'ai bien été informé(e) que mes données personnelles seront rendues anonymes, avant d'être intégrées dans un rapport ou une publication scientifique.

Information :

A ma demande, je peux obtenir toute information complémentaire auprès du Professeur BEDENNE Laurent, Département d'Hépatogastroentérologie, Hôpital du Bocage, CHU DIJON, Boulevard Maréchal De Lattre De Tassigny, BP 77980, 21079 DIJON Cedex, tel 03 80 29 37 50.

Je serai informé(e) de toute nouvelle information durant l'étude, susceptible de modifier ma décision quant à ma participation à celle-ci.

J'ai le droit d'être informé(e) des résultats globaux de l'étude, à l'issue de celle-ci.

Interdiction de participer à une autre étude

J'ai été informé que je ne pourrai pas participer à une autre étude biomédicale pendant ma participation à cette étude.

Obligations :

J'atteste que je suis affilié(e) à un régime de sécurité sociale.

Je certifie ne pas être sous sauvegarde de justice.

Je conserve un exemplaire de la note d'information et du présent formulaire de consentement.

Partie à remplir par le patient	*Partie à remplir par le médecin investigateur*
Nom et Prénom du patient	Nom et Prénom du médecin
Signature	Signature
A……. Le……..	A…….. Le……..

Si la personne est inapte à lire et à écrire le français : le cas échéant,

En l'absence d'autonomie de lecture et d'écriture de Mme, Melle, M……, la tierce personne (personne de confiance) ci-dessous identifiée, atteste avoir personnellement et fidèlement lu au sujet la notice d'information et le présent formulaire de consentement, et recueilli son accord pour signer ici en son nom.

Tierce personne (personne de confiance):

Mme, Mlle, M…….

Signature.....

ANNEXE 2. CONDUITE A TENIR POUR LA DECLARATION D'EVENEMENT INDESIRABLE GRAVE

RAPPEL

Est considéré comme un événement indésirable grave (EIG) tout évènement :

- entraînant le décès
- mettant en jeu le pronostic vital
- entraînant une hospitalisation ou une prolongation d'hospitalisation
- provoquant une invalidité permanente ou une incapacité temporaire grave
- provoquant une anomalie congénitale, une malformation fœtale ou un avortement
- médicalement significatif.

Les termes invalidité et incapacité correspondent à tout handicap physique ou psychique temporaire ou permanent, cliniquement significatif et retentissant sur l'activité physique et/ou la qualité de vie du patient.

Est considéré comme médicalement significatif tout événement clinique ou résultat de laboratoire considéré comme grave par l'investigateur et ne correspondant pas aux critères de gravité définis ci-dessus. Ils peuvent faire courir un risque au patient et nécessitent une intervention médicale pour prévenir une issue correspondant à l'un des critères de gravité mentionné précédemment (exemples : surdosages, seconds cancers, grossesses et faits nouveaux peuvent être considérés comme médicalement significatifs).

DEMARCHE A SUIVRE

La déclaration se fait par envoi par fax du formulaire de "Fiche de déclaration d'un événement indésirable grave" documenté le plus précisément possible, daté et signé, dans les 24 heures ouvrées suivant leur constatation au : **03 80 29 37 23**

Puis remplir et adresser par courrier dans les 48 heures ouvrables par la fiche de déclaration d'événement indésirable grave complétée :

Direction de la Recherche Clinique,
Centre Hospitalier Universitaire de Dijon
Bocage sud – Rez de Jardin
1, Boulevard Jeanne d'Arc
BP 77908, 21079 DIJON CEDEX

	FICHE DE DECLARATION D'EVENEMENT INDESIRABLE GRAVE (EIG) Cette fiche est à faxer dûment complétée dans les 24 heures ouvrées au 03.80.29.37.23

IDASPHERE : Chimioembolisation des carcinomes hépatocellulaires non résécables, non métastatiques par des microsphères d'embolisation (DC Bead™) chargées avec de l'idarubicine (Zavedos®) : étude de phase I

N° EudraCT :2009-013288-20

Type de rapport : Rapport initial □ Rapport de suivi □

Promoteur : CHU DIJON 1, Bd Jeanne d'Arc BP 77908 - 21079 DIJON CEDEX	Date de déclaration (jj/mm/aa) : _____	Date de l'intervention (J1) (jj/mm/aa) : _____
Investigateur coordonateur : Mr le Pr BEDENNE CHU DIJON- Service d'hépatogastroentérologie Bd Maréchal de Lattre de Tassigny BP 77980 - 21079 DIJON CEDEX Tél : 0380293750 Fax : 0380293722 Email : lbedenne-bourgogne.fr	Patient N° : _____ Initiales du patient : _____	Sexe Homme □ Femme □ Poids (kg) : ____ Taille (cm) : _____
Déclarant Nom : _____ Fonction et service : _____ Tél : _____	Date de naissance (jj/mm/aa) _____	Palier : 0 : 5 mg □ 1 : 10 mg □ 2 : 15 mg □ 3 : 20 mg □ 4 : 25 mg □

Effet indésirable grave (EIG)					
Nature de l'EIG	Date de début (jj/mm/aa)	Date de fin (jj/mm/aa)	Gravité (a)	Grade (b)	Evolution (c)

a) Critères de Gravité : 1 = hospitalisation ou prolongation d'hospitalisation 2 = événement médical important 3 = invalidité ou incapacité durable ou significative 4 = mise en jeu du pronostic vital 5 = patient décédé 6 = anomalie congénitale ou malformation	***b) Grade de toxicité/sévérité :*** **codé selon NCI CTC vers 3.0.** **Si non applicable codé :** 1 = léger 2 = modéré 3 = sévère 4 = mise en jeu pronostic vital 5 = décès lié à l'EI.	***c) Evolution :*** 1 = guérison sans séquelle 2 = guérison avec séquelle 3 = guérison en en cours 4 = sujet non encore rétabli 5 = décès

Descriptif : Décrire ci-dessous la séquence chronologique des événements incluant l'histoire de la maladie et les maladies concomitantes pertinentes existant dans le contexte de l'Evénement Indésirable Grave.

Causalité des médicaments ci-dessous dans la survenue de l'EIG

	Rélié	Douteux	Non rélié	Non applicable
Zavedos®				
Visipaque®				
DCBead™				

Traitements concomitants						
Nom	**Administré OUI**	**NON**	**Date Début**	**Date Fin**	**Dose/unité**	**Indication du traitement**
MUCOMYST						
ROCEPHINE						
ONDANSETRON						
MORPHINE						
Autres traitements pris dans les 15 jours précédant l'EIG						

Si la relation de causalité entre l'EIG et chacun des produits à l'étude est 'non reliée', quelle est, selon vous, la cause de cet EIG ? (cocher la case appropriée)

- ☐ Progression de la maladie
- ☐ Condition pré-existante, préciser : _____
- ☐ Traitement concomitant, préciser lequel : _____
- ☐ Maladie intercurrente
- ☐ Autre, préciser _____
- ☐ Relation avec les procédures de l'étude, préciser _____

Ajouter si nécessaire une documentation supplémentaire : copies des pages du Cahier d'observation, résumé de sortie d'hôpital, résultats de tests diagnostics, notification de décès, ...

ANNEXE 3. LISTES DES INVESTIGATEURS (Médecins thésés) ET LEURS COORDONNEES

Nom de l'investigateur	Qualité	Service	Hôpital et adresse	Téléphone	Fax
CERCUEIL Jean Pierre	Dr	Département d'Imagerie Médicale	CHU DIJON Hôpital du Bocage Bd Maréchal De Lattre De Tassigny BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 80 29 35 26	03 80 29 32 43
KRAUSE Denis	Pr	Département d'Imagerie Médicale	CHU DIJON Hôpital du Bocage Bd Maréchal De Lattre De Tassigny BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 80 29 35 26	03 80 29 32 43
LERAIS Jean Michel	Dr	Département d'Imagerie Médicale	CHU DIJON Hôpital du Bocage Bd Maréchal De Lattre De Tassigny BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 80 29 35 26	03 80 29 32 43
LOFFROY Romaric	Dr	Département d'Imagerie Médicale	CHU DIJON Hôpital du Bocage Bd Maréchal De Lattre De Tassigny BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 80 29 35 26	03 80 29 32 43
BEDENNE Laurent	Pr	Département d'Hépato-gastroentérologie	CHU DIJON Hôpital du Bocage Bd Maréchal De Lattre De Tassigny BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 80 29 37 50	03 80 29 37 22
COSCONEA Simona	Dr	Département d'Hépato-gastroentérologie	CHU DIJON Hôpital du Bocage Bd Maréchal De Lattre De Tassigny BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 80 29 37 50	03 80 29 37 22
DAVID Mathilde	Dr	Département d'Hépato-gastroentérologie	CHU DIJON Hôpital du Bocage Bd Maréchal De Lattre De Tassigny BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 80 29 37 50	03 80 29 37 22
FAIVRE Jean	Pr	Département d'Hépato-gastroentérologie	CHU DIJON Hôpital du Bocage Bd Maréchal De Lattre De Tassigny BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 80 29 37 50	03 80 29 37 22
GAGNAIRE Alice	Dr	Département d'Hépato-gastroentérologie	CHU DIJON Hôpital du Bocage Bd Maréchal De Lattre De Tassigny BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 80 29 37 50	03 80 29 37 22
HILLON Patrick	Pr	Département d'Hépato-gastroentérologie	CHU DIJON Hôpital du Bocage Bd Maréchal De Lattre De Tassigny BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 80 29 37 50	03 80 29 37 22
JOUVE Jean Louis	Dr	Département d'Hépato-gastroentérologie	CHU DIJON Hôpital du Bocage Bd Maréchal De Lattre De Tassigny BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 80 29 37 50	03 80 29 37 22
LEPAGE Côme	Dr	Département d'Hépato-gastroentérologie	CHU DIJON Hôpital du Bocage Bd Maréchal De Lattre De Tassigny BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 80 29 37 50	03 80 29 37 22
MINELLO Anne	Dr	Département d'Hépato-gastroentérologie	CHU DIJON Hôpital du Bocage Bd Maréchal De Lattre De Tassigny BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 80 29 37 50	03 80 29 37 22

CHAUFFERT Bruno	Pr	Département d'Oncologie Médicale	Centre Régional de Lutte Contre le Cancer Georges François Leclerc 1 rue Professeur Marion BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 80 73 75 06	03 80 73 77 16
GHIRINGHELLI François	Dr	Département d'Oncologie Médicale	Centre Régional de Lutte Contre le Cancer Georges François Leclerc 1 rue Professeur Marion BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 80 73 75 06	03 80 73 77 16
ISAMBERT Nicolas	Dr	Département d'Oncologie Médicale	Centre Régional de Lutte Contre le Cancer Georges François Leclerc 1 rue Professeur Marion BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 80 73 75 06	03 80 73 77 16

LISTES DES COLLABORATEURS SCIENTIFIQUES ET LEURS COORDONNEES

Nom de l'investigateur	Qualité	Service	Hôpital et adresse	Téléphone	Fax
BOULIN Mathieu	Dr	Pharmacie	CHU DIJON Hôpital du Bocage Bd Maréchal De Lattre De Tassigny BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 80 29 37 96	03 80 29 32 75
FAGNONI Philippe	Dr	Pharmacie	CHU DIJON Hôpital du Bocage Bd Maréchal De Lattre De Tassigny BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 80 29 37 96	03 80 29 32 75
GUIGNARD Marie Hélène	Dr	Pharmacie	CHU DIJON Hôpital du Bocage Bd Maréchal De Lattre De Tassigny BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 80 29 37 96	03 80 29 32 75
ONTENIENTE Sylvain	Interne	Pharmacie	CHU DIJON Hôpital du Bocage Bd Maréchal De Lattre De Tassigny BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 80 29 37 96	03 80 29 32 75
PERNOT Corinne	Dr	Pharmacie	CHU DIJON Hôpital du Bocage Bd Maréchal De Lattre De Tassigny BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 80 29 37 96	03 80 29 32 75
GUIU Boris	Interne	Département d'Imagerie Médicale	CHU DIJON Hôpital du Bocage Bd Maréchal De Lattre De Tassigny BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 80 29 35 26	03 80 29 32 43
GUIU Séverine	Interne	Département d'Oncologie Médicale	Centre Régional de Lutte Contre le Cancer Georges François Leclerc 1 rue Professeur Marion BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 80 73 75 28	03 80 73 77 12

BONNETAIN Franck	Dr	Unité de Biostatistiques et Epidémiologie	Centre Régional de Lutte Contre le Cancer Georges François Leclerc 1 rue Professeur Marion BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 80 73 77 84	03 80 73 77 34
PAOLETTI Xavier	Dr	Unité de Biostatistiques et Epidémiologie	Centre Régional de Lutte Contre le Cancer Georges François Leclerc 1 rue Professeur Marion BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 80 73 77 84	03 80 73 77 34
BARDOU Marc	Pr	Centre d'Investigation Clinique	CHU DIJON Hôpital du Bocage Bd Maréchal De Lattre De Tassigny BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 80 29 37 50	03 80 29 37 22
ARTUR Michèle	Dr	Laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie	CHU DIJON Hôpital du Bocage Bd Maréchal De Lattre De Tassigny BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 90 29 37 64	03 80 29 32 94
GOIRAND Françoise	Dr	Laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie	CHU DIJON Hôpital du Bocage Bd Maréchal De Lattre De Tassigny BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 90 29 37 64	03 80 29 32 94
GUERARD Pascal	Dr	Laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie	CHU DIJON Hôpital du Bocage Bd Maréchal De Lattre De Tassigny BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 90 29 37 64	03 80 29 32 94
DUMAS-MARION Monique	Pr	Laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie	CHU DIJON Hôpital du Bocage Bd Maréchal De Lattre De Tassigny BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 90 29 37 64	03 80 29 32 94
VADOT Lucie	Interne	Laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie	CHU DIJON Hôpital du Bocage Bd Maréchal De Lattre De Tassigny BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 90 29 37 64	03 80 29 32 94
GRANDVUILLEMIN Aurélie	Dr	Centre Régional de Pharmaco-vigilance	CHU DIJON Hôpital du Bocage Bd Maréchal De Lattre De Tassigny BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 80 29 32 46	03 80 29 36 90
PIERRE Sabrina	Externe	Centre Régional de Pharmaco-vigilance	CHU DIJON Hôpital du Bocage Bd Maréchal De Lattre De Tassigny BP 77980 21079 DIJON Cedex	03 80 29 32 46	03 80 29 36 90

ANNEXE 4. WORLD MEDICAL ASSOCIATION DECLARATION OF HELSINKI

Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects
Adopted by the 18th WMA General Assembly, Helsinki, Finland, June 1964, and amended by the
29th WMA General Assembly, Tokyo, Japan, October 1975
35th WMA General Assembly, Venice, Italy, October 1983
41st WMA General Assembly, Hong Kong, September 1989
48th WMA General Assembly, Somerset West, Republic of South Africa, October 1996
and the 52nd WMA General Assembly, Edinburgh, Scotland, October 2000
Note of Clarification on Paragraph 29 added by the WMA General Assembly, Washington 2002
Note of Clarification on Paragraph 30 added by the WMA General Assembly, Tokyo 2004

A. INTRODUCTION
1. The World Medical Association has developed the Declaration of Helsinki as a statement of ethical principles to provide guidance to physicians and other participants in medical research involving human subjects. Medical research involving human subjects includes research on identifiable human material or identifiable data.

2. It is the duty of the physician to promote and safeguard the health of the people. The physician's knowledge and conscience are dedicated to the fulfillment of this duty.

3. The Declaration of Geneva of the World Medical Association binds the physician with the words, "The health of my patient will be my first consideration," and the International Code of Medical Ethics declares that, "A physician shall act only in the patient's interest when providing medical care which might have the effect of weakening the physical and mental condition of the patient."

4. Medical progress is based on research which ultimately must rest in part on experimentation involving human subjects.

5. In medical research on human subjects, considerations related to the well-being of the human subject should take precedence over the interests of science and society.

6. The primary purpose of medical research involving human subjects is to improve prophylactic, diagnostic and therapeutic procedures and the understanding of the aetiology and pathogenesis of disease. Even the best proven prophylactic, diagnostic, and therapeutic methods must continuously be challenged through research for their effectiveness, efficiency, accessibility and quality.

7. In current medical practice and in medical research, most prophylactic, diagnostic and therapeutic procedures involve risks and burdens.

8. Medical research is subject to ethical standards that promote respect for all human beings and protect their health and rights. Some research populations are vulnerable and need special protection. The particular needs of the economically and medically disadvantaged must be recognized. Special attention is also required for those who cannot give or refuse consent for themselves, for those who may be subject to giving consent under duress, for those who will not benefit personally from the research and for those for whom the research is combined with care.

9. Research Investigators should be aware of the ethical, legal and regulatory requirements for research on human subjects in their own countries as well as applicable international requirements. No national ethical, legal or regulatory requirement should be allowed to reduce or eliminate any of the protections for human subjects set forth in this Declaration.

B. BASIC PRINCIPLES FOR ALL MEDICAL RESEARCH
10. It is the duty of the physician in medical research to protect the life, health, privacy, and dignity of the human subject.

11. Medical research involving human subjects must conform to generally accepted scientific principles, be based on a thorough knowledge of the scientific literature, other relevant sources of information, and on adequate laboratory and, where appropriate, animal experimentation.

12. Appropriate caution must be exercised in the conduct of research which may affect the environment, and the welfare of animals used for research must be respected.

13. The design and performance of each experimental procedure involving human subjects should be clearly formulated in an experimental protocol. This protocol should be submitted for consideration, comment, guidance, and where appropriate, approval to a specially appointed ethical review committee, which must be independent of the investigator, the sponsor or any other kind of undue influence. This independent committee should be in conformity with the laws and regulations of the country in which the research experiment is performed.
The committee has the right to monitor ongoing trials. The researcher has the obligation to provide monitoring information to the committee, especially any serious adverse events. The researcher should also submit to the committee, for review, information regarding funding, sponsors, institutional affiliations, other potential conflicts of interest and incentives for subjects.

14. The research protocol should always contain a statement of the ethical considerations involved and should indicate that there is compliance with the principles enunciated in this Declaration.

15. Medical research involving human subjects should be conducted only by scientifically qualified persons and under the supervision of a clinically competent medical person. The responsibility for the human subject must always rest with a medically qualified person and never rest on the subject of the research, even though the subject has given consent.

16. Every medical research project involving human subjects should be preceded by careful assessment of predictable risks and burdens in comparison with foreseeable benefits to the subject or to others. This does not preclude the participation of healthy volunteers in medical research. The design of all studies should be publicly available.

17. Physicians should abstain from engaging in research projects involving human subjects unless they are confident that the risks involved have been adequately assessed and can be satisfactorily managed. Physicians should cease any investigation if the risks are found to outweigh the potential benefits or if there is conclusive proof of positive and beneficial results.

18. Medical research involving human subjects should only be conducted if the importance of the objective outweighs the inherent risks and burdens to the subject. This is especially important when the human subjects are healthy volunteers.

19. Medical research is only justified if there is a reasonable likelihood that the populations in which the research is carried out stand to benefit from the results of the research.

20. The subjects must be volunteers and informed participants in the research project.

21. The right of research subjects to safeguard their integrity must always be respected. Every precaution should be taken to respect the privacy of the subject, the confidentiality of the patient's information and to minimize the impact of the study on the subject's physical and mental integrity and on the personality of the subject.

22. In any research on human beings, each potential subject must be adequately informed of the aims, methods, sources of funding, any possible conflicts of interest, institutional affiliations of the researcher, the anticipated benefits and potential risks of the study and the discomfort it may entail. The subject should be informed of the right to abstain from participation in the study or to withdraw consent to participate at any time without reprisal. After ensuring that the subject has understood the information, the physician should then obtain the subject's freely-given informed consent, preferably in writing. If the consent cannot be obtained in writing, the non-written consent must be formally documented and witnessed.

23. When obtaining informed consent for the research project the physician should be particularly cautious if the subject is in a dependent relationship with the physician or may consent under duress. In that case the informed consent should be obtained by a well-informed physician who is not engaged in the investigation and who is completely independent of this relationship.

24. For a research subject who is legally incompetent, physically or mentally incapable of giving consent or is a legally incompetent minor, the investigator must obtain informed consent from the legally authorized representative in accordance with applicable law. These groups should not be included in research unless the research is necessary to promote the health of the population represented and this research cannot instead be performed on legally competent persons.

25. When a subject deemed legally incompetent, such as a minor child, is able to give assent to decisions about participation in research, the investigator must obtain that assent in addition to the consent of the legally authorized representative.

26. Research on individuals from whom it is not possible to obtain consent, including proxy or advance consent, should be done only if the physical/mental condition that prevents obtaining informed consent is a necessary characteristic of the research population. The specific reasons for involving research subjects with a condition that renders them unable to give informed consent should be stated in the experimental protocol for consideration and approval of the review committee. The protocol should state that consent to remain in the research should be obtained as soon as possible from the individual or a legally authorized surrogate.

27. Both authors and publishers have ethical obligations. In publication of the results of research, the investigators are obliged to preserve the accuracy of the results. Negative as well as positive results should be published or otherwise publicly available. Sources of funding, institutional affiliations and any possible conflicts of interest should be declared in the publication. Reports of experimentation not in accordance with the principles laid down in this Declaration should not be accepted for publication.

C. ADDITIONAL PRINCIPLES FOR MEDICAL RESEARCH COMBINED WITH MEDICAL CARE

28. The physician may combine medical research with medical care, only to the extent that the research is justified by its potential prophylactic, diagnostic or therapeutic value. When medical research is combined with medical care, additional standards apply to protect the patients who are research subjects.

29. The benefits, risks, burdens and effectiveness of a new method should be tested against those of the best current prophylactic, diagnostic, and therapeutic methods. This does not exclude the use of placebo, or no treatment, in studies where no proven prophylactic, diagnostic or therapeutic method exists.[1]

30. At the conclusion of the study, every patient entered into the study should be assured of access to the best proven prophylactic, diagnostic and therapeutic methods identified by the study.[2]

31. The physician should fully inform the patient which aspects of the care are related to the research. The refusal of a patient to participate in a study must never interfere with the patient-physician relationship.

32. In the treatment of a patient, where proven prophylactic, diagnostic and therapeutic methods do not exist or have been ineffective, the physician, with informed consent from the patient, must be free to use unproven or new prophylactic, diagnostic and therapeutic measures, if in the physician's judgement it offers hope of saving life, re-establishing health or alleviating suffering. Where possible, these measures should be made the object of research, designed to evaluate their safety and efficacy. In all cases, new information should be recorded and, where appropriate, published. The other relevant guidelines of this Declaration should be followed.

[1] **Note of clarification on paragraph 29 of the WMA Declaration of Helsinki**
The WMA hereby reaffirms its position that extreme care must be taken in making use of a placebo-controlled trial and that in general this methodology should only be used in the absence of existing proven therapy. However, a placebo-controlled trial may be ethically acceptable, even if proven therapy is available, under the following circumstances:
- Where for compelling and scientifically sound methodological reasons its use is necessary to determine the efficacy or safety of a prophylactic, diagnostic or therapeutic method; or
- Where a prophylactic, diagnostic or therapeutic method is being investigated for a minor condition and the patients who receive placebo will not be subject to any additional risk of serious or irreversible harm. All other provisions of the Declaration of Helsinki must be adhered to, especially the need for appropriate ethical and scientific review.

[2] **Note of clarification on paragraph 30 of the WMA Declaration of Helsinki**
The WMA hereby reaffirms its position that it is necessary during the study planning process to identify post-trial access by study participants to prophylactic, diagnostic and therapeutic procedures identified as beneficial in the study or access to other appropriate care. Post-trial access arrangements or other care must be described in the study protocol so the ethical review committee may consider such arrangements during its review.
9.10.2004

ANNEXE 5. CAHIER D'OBSERVATION

ANNEXE 6. COPIE DE L'AVIS FAVORABLE DU CPP

ANNEXE 7. COPIE D'ATTESTATION DE L'ASSURANCE

ANNEXE 8. COPIE DE L'AUTORISATION AU MINISTERE

ANNEXE 9. NATIONAL CANCER INSTITUTE – COMMON TOXICITY CRITERIA FOR ADVERSE EVENTS (version 3.0)

National Cancer Institute – Common Toxicity Criteria for Adverse Events
(NCI-CTCAE, version 3.0, décembre 2003)

Version intégrale : http://ctep.cancer.gov/forms/CTCAEv3.pdf

ANNEXE 10. PROCEDURES D'ADAPTATION DU TRAITEMENT ANTALGIQUE

-FEUILLE DE PRESCRIPTION - TITRATION EN MORPHINE INTRAVEINEUSE

Etiquette patient

CHLORHYDRATE DE MORPHINE ampoule injectable 1ml à 10mg (1%) à diluer avec 9ml de sérum physiologique pour obtenir 10 ml de solution à 1mg/ml.

- Vérification de la disponibilité de NARCAN® (naloxone) dans la pharmacie du service.
- Le médecin doit être joignable pendant toute la procédure de titration.
- Oxygénothérapie systématique 3 l/mn.

CRITERES DE DEBUT DE TITRATION : EVA ou EN≥4 FR ≥12 SpO2 ≥ 95%
Echelle de sédation (EDS) =0

CRITERES D'ARRET DE TITRATION : EVA ou EN<4 FR<12 SpO2<95%
Echelle de sédation (EDS) =2 ou 3

DOSE ET RYTHME D'ADMINISTRATION :

Injection IVD toutes les 5 minutes :

	PREMIERE INJECTION	INJECTIONS SUIVANTES
EVA ou EN ≥ 7 Et Age < 70ans	☐2 mg ou ☐3 mg	☐1 mg ou ☐2 mg
4 ≤ EVA ou EN < 7 Ou Age > 70 ans	1mg	1mg

F.R = fréquence respiratoire. E.D.S = echelle de sédation. E.N = échelle numérique de mesure de la douleur.

Si RESPIRATION IRREGULIERE, FR < 10 /mn, ou EDS = 2 ou 3 :
→ interrompre le traitement.
→ appel immédiat du médecin, stimuler, oxygénothérapie 8 l/min au masque.
Et si FR < 8/min, **APNEE ou PAUSE RESPIRATOIRE :**
→ventilation au masque
→Injection de NARCAN® : ampoule injectable 1ml à 0.4 mg à diluer avec 9ml de sérum physiologique pour obtenir 10 ml de solution à 0.04 mg/ml → 1 ml IVD toutes les 2 mn jusqu'à récupération, puis relais IVPSE 2 ampoules sur 3 à 4h à renouveler si besoin.

EVA ou EN, FR, SpO2 et EDS doivent être reportés avant chaque injection sur la feuille de surveillance

☐ **Après la titration : relais par PCA** (cf feuille de prescription)

Date : ____ / ____ /_____ Prescripteur :_____

-FEUILLE DE PRESCRIPTION -
PCA MORPHINE

Vérification de la disponibilité de NARCAN® (naloxone) dans la pharmacie du service.

PRESCRIPTION PCA :

PCA mode unique à 50mg de morphine pour 50ml de solution
Bolus : 1 mg (1 ml)
Interdiction : 7 minutes

CHLORHYDRATE DE MORPHINE : 50 mg
ZOPHREN® : 1 ampoule de 4 mg
SERUM PHYSIOLOGIQUE : compléter pour obtenir 50 ml de solution

PRECAUTIONS PENDANT TOUTE LA PROCEDURE :

- O2 : 3 l/minute par lunettes.
- Toujours utiliser une valve antireflux sur la ligne de perfusion.
- Pas de prescription de sédatif (benzodiazépines), antidépresseur ou antalgique opiacé excepté après avis spécialisé.

SURVEILLANCE :

■ EVA ou EN, FR, échelle de sédation (EDS), pouls et TA
doivent être reportés sur la feuille de surveillance : -tous les ¼ heures pendant 2 heures,
-puis toutes les heures pendant 4 heures,
-puis toutes les 4 heures.

Si RESPIRATION IRREGULIERE, FR < 10 /mn, ou EDS = 2 ou 3 ou patient confus:
→ interrompre le traitement.
→ appel immédiat du médecin, stimuler, oxygénothérapie 8 l/min au masque.
Et si FR < 8/min, **APNEE ou PAUSE RESPIRATOIRE :**
→ventilation au masque
→Injection de NARCAN® : ampoule injectable 1ml à 0.4 mg à diluer avec 9ml de sérum physiologique pour obtenir 10 ml de solution à 0.04 mg/ml → 1 ml IVD toutes les 2 mn jusqu'à récupération, puis relais IVPSE 2 ampoules sur 3 à 4h à renouveler si besoin.

F.R = fréquence respiratoire. E.D.S = échelle de sédation. E.N = échelle numérique de mesure de la douleur.

■ DIURESE : appel du médecin si suspicion de globe vésical.

TRAITEMENTS ASSOCIES :
□ FORLAX® : 2 sachets le matin. Ou □ DUPHALAC® : 1 sachet matin, midi et soir.
□ PRIMPERAN® : 1 ampoule de 10 mg IV à renouveler si besoin toutes les 6 heures si nausées ou vomissements. Si échec, appel du médecin.

Date : ____ / ____ /_____ Prescripteur :_____

ANNEXE 11. QUESTIONNAIRE QUALITE DE VIE EORTC QLQ-C30 version 3

EORTC QLQ-C30 (version 3.0)

Nous nous intéressons à vous et à votre santé. Répondez vous-même à toutes les questions en entourant le chiffre qui correspond le mieux à votre situation. Il n'y a pas de " bonne " ou de " mauvaise " réponse. Ces informations sont strictement confidentielles.

	Pas du tout	**Un peu**	**Assez**	**Beaucoup**
1. Avez-vous des difficultés à faire certains efforts physiques pénibles, comme porter un sac à provision chargé ou une valise ?	1	2	3	4
2. Avez-vous des difficultés à faire une longue promenade ?	1	2	3	4
3. Avez-vous des difficultés à faire un petit tour dehors ?	1	2	3	4
4. Etes-vous obligé de rester au lit ou dans un fauteuil pendant la journée ?	1	2	3	4
5 Avez-vous besoin d'aide pour manger, vous habiller, faire votre toilette ou aller au WC ?	1	2	3	4

Au cours de la semaine passée :

	Pas du tout	**Un peu**	**Assez**	**Beaucoup**
6. Avez-vous été gêné pour faire votre travail ou vos activités de tous les jours ?	1	2	3	4
7. Avez-vous été gêné dans vos activités de loisirs ?	1	2	3	4
8. Avez-vous eu le souffle court ?	1	2	3	4
9. Avez-vous eu mal ?	1	2	3	4
10. Avez-vous eu besoin de repos ?	1	2	3	4
11. Avez-vous eu des difficultés pour dormir ?	1	2	3	4
12. Vous êtes-vous senti faible ?	1	2	3	4
13. Avez-vous manqué d'appétit ?	1	2	3	4
14. Avez-vous eu des nausées (mal au cœur) ?	1	2	3	4
15. Avez-vous vomi ?	1	2	3	4
16. Avez-vous été constipé ?	1	2	3	4
17. Avez-vous eu de la diarrhée ?	1	2	3	4
18. Etiez-vous fatigué ?	1	2	3	4

Au cours de la semaine passée :

	Pas du tout	Un peu	Assez	Beaucoup
19. Des douleurs ont-elles perturbé vos activités quotidiennes ?	1	2	3	4
20. Avez-vous eu des difficultés à vous concentrer sur certaines choses, par exemple, pour lire le journal ou regarder la télévision ?	1	2	3	4
21. Vous êtes-vous senti tendu ?	1	2	3	4
22. Vous êtes-vous fait du souci ?	1	2	3	4
23. Vous êtes-vous senti irritable ?	1	2	3	4
24. Vous êtes-vous senti déprimé ?	1	2	3	4
25. Avez-vous eu des difficultés pour vous souvenir de certaines choses ?	1	2	3	4
26. Votre état physique ou votre traitement médical vous ont-ils gêné dans votre vie familiale ?	1	2	3	4
27. Votre état physique ou votre traitement médical vous ont-ils gêné dans vos activités sociales (par exemple sortir avec des amis, aller au cinéma…) ?	1	2	3	4
28. Votre état physique ou votre traitement médical vous ont-ils causé des problèmes financiers ?	1	2	3	4

Pour les deux questions suivantes, veuillez répondre en entourant le chiffre entre 1 et 7 qui s'applique le mieux à votre situation

29. Comment évalueriez-vous votre état de santé au cours de la semaine passée ?

1 2 3 4 5 6 7

(i)Très mauvais
Excellent

30. Comment évalueriez-vous l'ensemble de votre qualité de vie au cours de la semaine passée ?

1 2 3 4 5 6 7

(ii) Très mauvais
Excellent

ANNEXE 12. RESUME DES CARACTERISTIQUES DU PRODUIT ZAVEDOS®

ZAVEDOS® poudre pour solution pour perfusion idarubicine

Formes et présentations | Composition | Indications | Posologie et mode d'administration | Contre-indications | Mises en garde et précautions d'emploi | Interactions | Grossesse et allaitement | Effets indésirables | Surdosage | Pharmacodynamie | Pharmacocinétique | Incompatibilités | Conditions de conservation | Modalités manipulation/élimination | Prescription/délivrance/prise en charge

FORMES et PRÉSENTATIONS (début page)

Poudre pour solution pour perfusion : Flacons de poudre, boîtes unitaires.

COMPOSITION (début page)

	p flacon
Idarubicine (DCI) chlorhydrate	5 mg
ou	10 mg

Excipient (commun) : lactose.

DC INDICATIONS (début page)

- Leucémies aiguës myéloblastiques.
- Leucémies aiguës lymphoblastiques en rechute.

DC POSOLOGIE ET MODE D'ADMINISTRATION (début page)

Posologie :

- Leucémies aiguës myéloblastiques (LAM) :
  Chez l'adulte, la dose recommandée est de 12 mg/m^2 par jour en IV pendant 3 jours consécutifs, ou 8 mg/m^2 par jour en IV pendant 5 jours consécutifs.
- Leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) :
  Chez l'adulte, la dose recommandée est de 12 mg/m^2 par jour en IV pendant 3 jours consécutifs ; chez l'enfant, la dose recommandée est de 10 mg/m^2 par jour en IV pendant 3 jours consécutifs.
- Dose cumulative :
  Une dose cumulative de 93 mg/m^2 apparaît rarement cardiotoxique chez l'adulte. Le petit enfant peut être plus susceptible à la cardiotoxicité cumulative.

Ces schémas posologiques doivent être considérés en tenant compte de l'état hématologique du patient et des doses des autres cytotoxiques associés.

Mode d'administration :

Reconstitution de la solution :

Dissoudre le contenu d'un flacon de 5 mg dans 5 ml d'eau pour préparations injectables ou le contenu d'un flacon de 10 mg dans 10 ml d'eau pour préparations injectables.

Administration :

Voie intraveineuse stricte ; la solution reconstituée doit être injectée dans la tubulure d'une perfusion intraveineuse de chlorure de sodium à 0,9 %, en 5 à 10 minutes.
En cas d'extravasation, l'administration sera interrompue immédiatement.

Attention :
Il est extrêmement important de s'assurer que l'administration est intraveineuse.
Toute extravasation risquerait de produire une nécrose des tissus environnants.
Dans ce cas, il convient d'interrompre immédiatement l'injection.

La préparation des solutions injectables de cytotoxiques doit être obligatoirement réalisée par un personnel spécialisé et entraîné ayant une connaissance des médicaments utilisés, dans des conditions assurant la protection de l'environnement et surtout la protection du personnel qui manipule. Elle nécessite un local de préparation réservé à cet usage. Il est interdit de fumer, de manger, de boire dans ce local. Les manipulateurs doivent disposer d'un ensemble de matériel approprié à la manipulation, notamment blouses à manches longues, masques de protection, calot, lunettes de protection, gants à usage unique stériles, champs de protection du plan de travail, conteneurs et sacs de collecte des déchets. Les excreta et les vomissures doivent être manipulés avec précaution. Les femmes enceintes doivent être averties et éviter la manipulation des cytotoxiques. Tout contenant cassé doit être traité avec les mêmes précautions et considéré comme un déchet contaminé. L'élimination des déchets contaminés se fait par incinération dans des conteneurs rigides étiquetés à cet effet.

Ces dispositions peuvent être envisagées dans le cadre du réseau de cancérologie (circulaire DGS/DH/98, n° 98/188, du 24 mars 1998) en collaboration avec toute structure adaptée et remplissant les conditions requises.

DC CONTRE-INDICATIONS (début page)

- Sujets présentant une cardiopathie avec insuffisance myocardique.
- Insuffisance rénale ou hépatique grave.
- Infections non contrôlées.
- Grossesse et allaitement : cf Grossesse/Allaitement.
- Vaccin anti-amarile (fièvre jaune) : cf Interactions.

DC MISES EN GARDE et PRÉCAUTIONS D'EMPLOI (début page)

Mises en garde :
Zavedos sous forme injectable s'administre par voie intraveineuse stricte.
Une surveillance hématologique et cardiaque stricte doit permettre de contrôler efficacement des éventuelles modifications toxiques.
Certaines leucémies secondaires aux agents anticancéreux (cf Effets indésirables) peuvent être curables, à condition d'une prise en charge précoce et adaptée. En conséquence, tout patient traité par l'idarubicine doit faire l'objet d'une surveillance hématologique.
Précautions d'emploi :
L'administration aux doses thérapeutiques induit constamment une myélodépression : une surveillance hématologique sanguine et médullaire très attentive est nécessaire.
La lyse des cellules leucémiques peut induire une hyperuricémie qu'il convient de surveiller et de prévenir.
Avant d'entreprendre le traitement antileucémique, il est nécessaire de mettre en oeuvre les mesures appropriées pour contrôler toutes infections systémiques.
La survenue possible de troubles cardiovasculaires exige un bilan préalable et des contrôles cardiologiques (cliniques, électriques et fonctionnels).
Il semble indispensable de diminuer les doses chez les sujets atteints d'insuffisance hépatique sévère.

DC INTERACTIONS (début page)

Interactions médicamenteuses :

Interactions communes à tous les cytotoxiques :
En raison de l'augmentation du risque thrombotique lors des affections tumorales, le recours à un traitement anticoagulant est fréquent. La grande variabilité de la coagulabilité au cours de ces affections, à laquelle s'ajoute l'éventualité d'une interaction entre les anticoagulants oraux et la chimiothérapie anticancéreuse, imposent, s'il est décidé de traiter le patient par anticoagulant oraux, d'augmenter la fréquence des contrôles de l'INR.

Contre-indiquées (cf Contre-indications) :

- Vaccin anti-amarile (fièvre jaune) : risque de maladie vaccinale généralisée mortelle.

Déconseillées (cf Mises en garde/Précautions d'emploi) :

- Phénytoïne (et, par extrapolation, fosphénytoïne) : risque de survenue de convulsions par diminution de l'absorption digestive de la seule phénytoïne par le cytotoxique, ou bien risque de majoration de la

toxicité ou de perte d'efficacité du cytotoxique par augmentation de son métabolisme hépatique par la phénytoïne ou la fosphénytoïne.

- Vaccins vivants atténués sauf anti-amarile : risque de maladie vaccinale généralisée éventuellement mortelle. Ce risque est majoré chez les sujets déjà immunodéprimés par la maladie sous-jacente. Utiliser un vaccin inactivé lorsqu'il existe (poliomyélite).

A prendre en compte :

- Immunosuppresseurs : immunodépression excessive avec risque de syndrome lymphoprolifératif.

DC GROSSESSE et ALLAITEMENT (début page)

Zavedos est contre-indiqué pendant la grossesse et l'allaitement.

DC EFFETS INDÉSIRABLES (début page)

- Hypoplasie médullaire importante qui peut être responsable d'affections graves, voire fatales.
- Alopécie réversible à l'arrêt du traitement.
- Troubles digestifs : nausées, vomissements, diarrhée.
- Stomatites, oesophagites.
- Élévation des enzymes hépatiques et de la bilirubine dans 20 à 30 % des cas.
- Rashs cutanés.
- Troubles du rythme cardiaque aigus, insuffisance cardiaque aiguë ou tardive (rare avant une dose cumulée de 93 mg/m^2).
- Coloration rouge des urines 24 à 48 heures après le traitement.

Comme avec d'autres agents anticancéreux altérant l'ADN, des syndromes myélodysplasiques et des leucémies aiguës myéloïdes ont été observés après traitement combiné incluant une anthracycline.
Avec les inhibiteurs de la topo-isomérase II, il a été rapporté une incidence plus élevée qu'attendue de leucémies secondaires se présentant comme des leucémies de novo LAM2, LAM3, LAM4. De telles formes peuvent présenter une courte période de latence (de 1 à 3 ans). Ces formes, accessibles à un traitement curatif, nécessitent un diagnostic précoce et un traitement adapté à visée curative (cf Mises en garde/Précautions d'emploi).

DC SURDOSAGE (début page)

Le surdosage comporte un risque de toxicité myocardique aiguë et différée et de majoration de la myélodépression et des autres effets indésirables.
L'administration de très fortes doses d'idarubicine risque de provoquer une toxicité myocardique aiguë dans les 24 heures et une myélodépression sévère pendant les 7 à 14 jours suivants.
Le traitement repose sur le maintien des fonctions vitales dans des unités de soins spéciales, cette période comporte des mesures comme des transfusions sanguines et des soins infirmiers palliatifs.
Des cas d'insuffisance cardiaque différée ont été observés plusieurs mois après le surdosage en anthracyclines.
Il convient donc de surveiller soigneusement le patient et, si des signes d'insuffisance cardiaque se déclarent, d'instaurer le traitement adéquat.

PP PHARMACODYNAMIE (début page)

Classe pharmacothérapeutique : anthracyclines et apparentés (code ATC : L01DB06 ; L : antinéoplasiques et immunomodulateurs).
Antibiotique cytotoxique de la famille des anthracyclines.
L'idarubicine interagit avec l'ADN en s'intercalant entre 2 bases adjacentes, interagit avec la topo-isomérase II, et a un effet inhibiteur sur la synthèse des acides nucléiques.
La modification apportée sur la position 4 du noyau de l'anthracycline confère à l'idarubicine une forte lipophilie ; de ce fait, l'idarubicine présente une meilleure pénétration intracellulaire que la doxorubicine ou la daunorubicine.
Le principal métabolite, l'idarubicinol, a montré une activité antitumorale, in vivo et in vitro, sur des modèles expérimentaux.

PP PHARMACOCINÉTIQUE (début page)

Après administration IV chez des patients présentant des fonctions rénales ou hépatiques normales, la demi-vie d'élimination de l'idarubicine se situe entre 11 et 25 heures.
97 et 94 % respectivement d'idarubicine et d'idarubicinol, métabolite actif, sont liés aux protéines plasmatiques pour une concentration de 10 ng/ml.
Le médicament a été dosé dans les cellules sanguines et médullaires nucléées de patients leucémiques. Ces études montrent que les concentrations cellulaires d'idarubicine atteignent leur maximum quelques minutes après l'injection. Les concentrations d'idarubicine et d'idarubicinol dans les cellules nucléées du sang et de la moelle sont plus de 100 fois supérieures aux concentrations plasmatiques.
La valeur extrêmement élevée de la clairance plasmatique totale (0,7 à 0,9 l/min), bien supérieure au débit hépatique prévu, traduit une élimination lente due à une distribution importante du produit dans les tissus et suggère l'existence d'un métabolisme extra-hépatique important.
L'idarubicine est en grande partie transformée en un métabolite actif, l'idarubicinol, dont la demi-vie d'élimination est plus lente, entre 41 et 69 heures.
La vitesse d'élimination de Zavedos est à peu près comparable dans le plasma et les cellules, sa demi-vie terminale est d'environ 15 heures.
L'idarubicine, métabolisée en majeure partie sous forme d'idarubicinol, est éliminée par voie biliaire et rénale.

DP INCOMPATIBILITÉS (début page)

L'association avec l'héparine entraîne une précipitation du produit.

DP CONDITIONS DE CONSERVATION (début page)

A conserver à une température ne dépassant pas 25 °C.
Après reconstitution : la solution est stable 48 heures à température comprise entre + 2 °C et + 8 °C (au réfrigérateur) ou 24 heures à température ne dépassant pas 25 °C.

DP MODALITÉS MANIPULATION/ÉLIMINATION (début page)

Du fait de la nature toxique de Zavedos, les recommandations suivantes doivent être suivies :

- Le personnel médical doit être entraîné à l'administration de ce type de médicament.
- Toute femme enceinte doit être exclue de la manipulation de ce médicament.
- En cas de fuite ou de renversement du produit, la surface doit être traitée puis laissée en contact avec l'hypochlorite de sodium dilué (1 % de chlore libre) puis rincée avec de l'eau.
- En cas de contact accidentel de la solution avec la peau ou les yeux, laver immédiatement et abondamment à l'eau ou à l'eau savonneuse ou avec une solution de bicarbonate de sodium, et consulter un médecin.
- Tous les objets utilisés pour l'administration et le nettoyage (y compris les gants) ainsi que les flacons entamés doivent être placés dans des sacs spéciaux destinés à l'incinération.

La manipulation de ce cytotoxique par le personnel infirmier ou médical nécessite un ensemble de précautions permettant d'assurer la protection du manipulateur et de son environnement (cf Posologie/Mode d'administration).
Tout produit non utilisé ou déchet doit être éliminé conformément à la réglementation en vigueur.

PRESCRIPTION/DÉLIVRANCE/PRISE EN CHARGE (début page)

LISTE I
Médicament soumis à prescription hospitalière. Prescription réservée aux spécialistes en oncologie ou en hématologie, ou aux médecins compétents en cancérologie. Médicament nécessitant une surveillance particulière pendant le traitement.
AMM 3400955748465 (1991 rév 06.07.2006) fl 5 mg.
3400955748236 (1991 rév 06.07.2006) fl 10 mg.
Mis sur le marché en 1992.
Inscrit sur la liste de rétrocession avec prise en charge à 100 %. Collect.
Inscrit sur la liste des spécialités prises en charge en sus de la T2A.

PFIZER
23-25, av du Dr-Lannelongue. 75014 Paris
Tél : 01 58 07 30 00
Info médic : Tél : 01 58 07 34 40

VISIPAQUE® 270 et 320 mg I/ml
iodixanol

Formes et présentations | Composition | Indications | Posologie et mode d'administration | Contre-indications | Mises en garde et précautions d'emploi | Interactions | Grossesse et allaitement | Effets indésirables | Surdosage | Pharmacodynamie | Pharmacocinétique | Incompatibilités | Conditions de conservation | Modalités manipulation/élimination | Prescription/délivrance/prise en charge

FORMES et PRÉSENTATIONS (début page)

Solution injectable :
Visipaque 270 et 320 :
Flacon (verre) de 20 ml et flacons (PP) de 50 ml, 100 ml, 150 ml et 200 ml, boîtes unitaires.

Modèles hospitaliers : flacons (PP) de 50 ml, 100 ml, 150 ml et 200 ml, boîtes de 10.

COMPOSITION (début page)

	p 100 ml
Visipaque 270 :	
Iodixanol (DCI)	55 g
(soit en iode : 27 g/100 ml)	
Visipaque 320 :	
Iodixanol (DCI)	65,2 g
(soit en iode : 32 g/100 ml)	

Excipients (communs) : trométamol, chlorure de sodium, chlorure de calcium, calcium édétate de sodium, acide chlorhydrique, eau ppi.

Osmolalité à 37 °C : 290 mOsm/kg H_2O.
Viscosité à 20 °C : 11,3 mPa.s (Visipaque 270) ; 25,4 mPa.s (Visipaque 320).
Viscosité à 37 °C : 5,8 mPa.s (Visipaque 270) ; 11,4 mPa.s (Visipaque 320).

DC INDICATIONS (début page)

Ce médicament est à usage diagnostique uniquement.
Visipaque 270 :

- Angiographie cardiaque.
- Artériographie périphérique, cérébrale ou abdominale.
- Urographie.
- Phlébographie.
- Tomodensitométrie.
- Myélographie lombaire, thoracique et cervicale.
- Arthrographie.
- Hystérosalpingographie.
- Examens du tractus gastro-intestinal.

Visipaque 320 :

- Angiographie cardiaque.
- Artériographie périphérique ou cérébrale.

- Urographie.
- Tomodensitométrie.
- Myélographie lombaire, thoracique et cervicale.
- Examens du tractus gastro-intestinal.

DC POSOLOGIE ET MODE D'ADMINISTRATION (début page)

La dose peut varier selon le type d'examen et la technique utilisée et selon le poids, le débit cardiaque et l'état général du patient.
Le produit peut être utilisé en administration intra-artérielle, intraveineuse, intrathécale et intracavitaire (sauf Visipaque 320), ou par voie orale ou rectale.
La posologie moyenne recommandée est :

Indication/examen	Concentration	Volume
Administration intra-artérielle		
Artériographie :		
- cérébrale sélective	270/320 mg I/ml	5 à 10 ml/inj
- aortographie	270/320 mg I/ml	40 à 60 ml/inj
- périphérique	270/320 mg I/ml	30 à 60 ml/inj
- viscérale sélective (ia numérisée)	270 mg I/ml	10 à 40 ml/inj
Angiocardiographie :		
Adulte :		
- inj dans le ventricule gauche ou la racine de l'aorte	320 mg I/ml	30 à 60 ml/inj
- coronarographie sélective	320 mg I/ml	4 à 8 ml/inj
Enfant :	270/320 mg I/ml	Dépend de l'âge, du poids et de la pathologie (la dose maximale recommandée est de 10 ml/kg)
Administration intraveineuse		
Urographie :		
Adulte :	270/320 mg I/ml	40/80 ml(1)
Enfant :		
- < 7 kg	270/320 mg I/ml	2 à 4 ml/kg
- > 7 kg	270/320 mg I/ml	2 à 3 ml/kg La dose dépend de l'âge, du poids et de la pathologie (maxi 50 ml)
Phlébographie	270 mg I/ml	50 à 150 ml/jambe
Tomodensitométrie :		
Adulte :		
- tomodensitométrie cérébrale	270/320 mg I/ml	50 à 150 ml
- tomodensitométrie corps entier	270/320 mg I/ml	75 à 150 ml
Enfant :		
- tomodensitométrie cérébrale et corps entier	270/320 mg I/ml	2 à 3 ml/kg jusqu'à 50 ml (dans de rares cas jusqu'à 150 ml)
Administration intrathécale		
Myélographie lombaire et thoracique (injection lombaire)	270 mg I/ml 320 mg I/ml	10 à 12 ml(2) 10 ml(2)
Myélographie cervicale (injection lombaire ou cervicale)	270 mg I/ml 320 mg I/ml	10 à 12 ml(2) 10 ml(2)

Administration intracavitaire		
Arthrographie	270 mg I/ml	1 à 15 ml
Hystérosalpingographie	270 mg I/ml	5 à 10 ml La dose recommandée peut être dépassée, en cas par exemple de reflux dans la cavité utérine (une dose allant jusqu'à 40 ml a été étudiée)
Examens du tractus gastro-intestinal		
Administration par voie orale :		
Adulte :		
- Transit oesogastroduodénal	320 mg I/ml	80 à 200 ml ont été étudiés
- OEsophage	320 mg I/ml	10 à 200 ml ont été étudiés
- Estomac	320 mg I/ml	20 à 200 ml ont été étudiés
Enfant :	270/320 mg I/ml	5 ml/kg de poids corporel 10 à 240 ml ont été étudiés
Administration rectale :		
Enfant :	270/320 mg I/ml	30 à 400 ml ont été étudiés

(1) Des posologies supérieures peuvent être utilisées pour l'urographie à dose élevée.
(2) Une dose totale de 3,2 g d'iode ne doit pas être dépassée, afin de minimiser l'apparition d'éventuels effets indésirables.

DC CONTRE-INDICATIONS (début page)

- Antécédent de réaction immédiate majeure ou cutanée retardée (cf Effets indésirables) à l'injection du produit de contraste iodé (Visipaque).
- Insuffisance cardiaque décompensée en injection systémique (ne concerne que les produits ioniques de haute osmolalité).
- Thyréotoxicose manifeste.
- Hystérosalpingographie en cas de grossesse.
- Hypersensibilité à la substance active ou à l'un des excipients.

DC MISES EN GARDE et PRÉCAUTIONS D'EMPLOI (début page)

Quelles que soient la voie d'administration et la dose, un risque allergique existe.
le risque d'intolérance n'est pas univoque quand il s'agit de spécialités administrées localement pour l'opacification de cavités corporelles :

- L'administration par certaines voies particulières (articulaire, biliaire, intrathécale, intra-utérine...) entraîne un passage systémique non négligeable : des effets systémiques peuvent être observés.
- L'administration per os ou par voie rectale entraîne normalement une diffusion systémique très limitée ; si la muqueuse digestive est normale, on ne retrouve alors dans l'urine qu'au plus 5 % de la dose administrée, le reste étant éliminé par les fèces. Par contre en cas d'altération de la muqueuse, l'absorption est augmentée ; elle est totale et rapide en cas de perforation avec passage dans la cavité péritonéale et le médicament est éliminé par voie urinaire. L'éventuelle survenue d'effets systémiques dose-dépendants est donc fonction de l'état de la muqueuse digestive.
- Le mécanisme immuno-allergique est en revanche non dose-dépendant et toujours susceptible d'être observé, quelle que soit la voie d'administration.

Donc, du point de vue de la fréquence et de l'intensité des effets indésirables, s'opposent :

- les spécialités administrées par voie vasculaire et certaines voies locales ;
- les spécialités administrées par voie digestive et peu absorbées a l'état normal.

Mentions générales correspondant à l'ensemble des produits de contraste iodés :

Mises en garde :

Tous les produits de contraste iodés peuvent être à l'origine de réactions mineures ou majeures, pouvant mettre en jeu le pronostic vital. Elles peuvent être immédiates (moins de 60 minutes) ou retardées (jusqu'à 7 jours). Elles sont souvent imprévisibles.
Le risque de réaction majeure implique d'avoir à disposition immédiate les moyens nécessaires à une réanimation d'urgence.
Plusieurs mécanismes ont été évoqués :

- toxicité directe sur l'endothélium vasculaire et les protéines tissulaires ;
- action pharmacologique modifiant la concentration de certains facteurs endogènes (histamine, fractions du complément, médiateurs de l'inflammation), plus fréquente avec les produits hyperosmolaires ;
- allergie immédiate de type IgE dépendante au produit de contraste Visipaque (anaphylaxie) ;
- réactions allergiques de mécanisme cellulaire (réactions cutanées retardées).

Les patients ayant déjà présenté une réaction lors d'une précédente administration d'un produit de contraste iodé ont un risque augmenté de nouvelle réaction en cas de réadministration du même PCI, ou éventuellement d'un autre, et sont donc considérés comme sujets à risque.
Produits de contraste iodés et thyroïde (cf ci-après Précautions d'emploi : Dysthyroïdie) :

- Il convient de s'assurer avant l'administration de produits de contraste iodés que le patient ne va pas bénéficier d'une exploration scintigraphique ou biologique de la thyroïde ou d'une administration d'iode radioactif à visée thérapeutique.
- En effet, l'administration, quelle qu'en soit la voie, de produits de contraste iodés perturbe les dosages hormonaux et la fixation d'iode par la thyroïde ou les métastases de cancer thyroïdien jusqu'à la normalisation de l'iodurie.

Précautions d'emploi :

- Intolérance au PCI :

Avant examen :

- Identifier les sujets à risque par un interrogatoire précis sur les antécédents. Les corticostéroïdes et les antihistaminiques H1 ont été proposés comme prémédication chez les patients présentant le plus grand risque de réaction d'intolérance (intolérants connus à un PCI). Ils n'empêchent cependant pas la survenue d'un choc anaphylactique grave ou mortel.
  Pendant la durée de l'examen, il convient d'assurer :
  - une surveillance médicale ;
  - le maintien d'une voie d'abord veineuse.

Après examen :

- Après l'administration d'un produit de contraste, le patient doit rester en observation au moins 30 minutes, car la majorité des effets indésirables graves surviennent dans ce délai.
- Le patient doit être prévenu de la possibilité de réactions retardées (jusqu'à 7 jours) : cf Effets indésirables.
- Insuffisance rénale :
  Les produits de contraste iodés peuvent provoquer une altération transitoire de la fonction rénale ou aggraver une insuffisance rénale préexistante. Les mesures préventives sont les mêmes que pour les autres produits de contraste iodés même si une étude a estimé, chez des diabétiques avec insuffisance rénale chronique modérée (clairance de la créatinine voisine de 50 ml/min) que le risque de développer une néphropathie induite après injection intra-artérielle est moindre avec l'iodixanol (cf Pharmacodynamie).
  Ces mesures sont :
  - Identifier les patients à risque : patients déshydratés, insuffisants rénaux, diabétiques, insuffisants cardiaques sévères, atteints d'une gammapathie monoclonale (myélome multiple, maladie de Waldenstrôm), sujets ayant des antécédents d'insuffisance rénale après administration de produits de contraste iodés, enfants de moins de 1 an, sujets âgés athéromateux.
  - Hydrater par un apport hydrosodé approprié le cas échéant.

- Éviter d'associer des médicaments néphrotoxiques.

- Respecter un intervalle d'au moins 48 heures entre deux explorations radiologiques avec injection de produit de contraste, ou différer tout nouvel examen jusqu'à la restauration de la fonction rénale initiale.

- Prévenir une acidose lactique chez le diabétique traité par la metformine en se fondant sur la créatininémie.
  Fonction rénale normale : l'administration de metformine est arrêtée dès l'administration du produit de contraste pour une période d'au moins 48 heures ou jusqu'au retour d'une fonction rénale normale.
  Fonction rénale anormale : la metformine est contre-indiquée.
  En urgence : si l'examen s'impose, des précautions doivent être mises en place : arrêt de la metformine, hydratation, suivi de la fonction rénale et recherche des signes d'acidose lactique.

Les patients hémodialysés peuvent recevoir des produits de contraste iodés, car ces deniers sont dialysables. La programmation des séances n'a pas à être modifiée.

- Insuffisance hépatique :
  Une attention particulière est nécessaire lorsqu'une insuffisance hépatique s'ajoute à une insuffisance rénale chez un patient, situation qui majore le risque de rétention du produit de contraste.

- Asthme :
  L'équilibration de l'asthme est recommandée avant injection d'un PCI.
  Une attention particulière est nécessaire en cas de crise d'asthme déclarée dans les 8 jours avant l'examen, en raison du risque accru de survenue d'un bronchospasme.

- Dysthyroïdie :
  A la suite de l'injection d'un produit de contraste iodé, en particulier chez les patients porteurs de goitre ou ayant des antécédents de dysthyroïdie, il existe un risque, soit de poussée d'hyperthyroïdie, soit d'induction d'une hypothyroïdie. Il existe également un risque d'hypothyroïdie chez le nouveau-né qui a reçu, ou dont la mère a reçu, un produit de contraste iodé.

- Maladies cardiovasculaires sévères :
  En cas d'insuffisance cardiaque avérée ou débutante, de coronaropathie, d'hypertension artérielle pulmonaire ou de valvulopathie, les risques d'oedème pulmonaire, d'ischémie myocardique et de troubles du rythme, et de troubles hémodynamiques sévères sont augmentés après l'administration du PCI.

- Troubles du système nerveux central :
  Le rapport bénéfice/risque doit être estimé au cas par cas :

  - en raison du risque d'aggravation de la symptomatologie neurologique chez les patients présentant un accident ischémique transitoire, un infarctus cérébral aigu, une hémorragie intracrânienne récente, un oedème cérébral, et une épilepsie idiopathique ou secondaire (tumeur, cicatrice) ;

  - en cas d'utilisation par voie intra-artérielle chez un éthylique (éthylisme aigu ou chronique) et chez les toxicomanes à d'autres substances.

- Phéochromocytome :
  Les patients atteints de phéochromocytome peuvent développer une crise hypertensive après administration intravasculaire de produit de contraste et nécessitent une prise en charge adaptée avant l'examen.

- Myasthénie :
  L'administration de produit de contraste peut aggraver les symptômes de myasthénie.

- Majoration des effets secondaires :
  Les manifestations des effets indésirables liés à l'administration de produit de contraste iodé peuvent être majorées par les états prononcés d'excitation, l'anxiété et la douleur. Une prise en charge adaptée peut s'avérer nécessaire pouvant aller jusqu'à la sédation.

Mises en garde et Précautions d'emploi propres à certaines voies d'administration avec diffusion systémique notable :

Spécialités administrables par voie intra-utérine :
Contre-indications :

- Grossesse dans l'hystérosalpingographie.

Précautions d'emploi :

- Par l'interrogatoire et par des mesures appropriées, rechercher systématiquement chez la femme en âge de procréer l'éventualité d'une grossesse. L'exposition aux rayons X des voies génitales féminines doit faire l'objet d'une évaluation attentive du rapport bénéfice/risque.

- En cas d'inflammation ou d'infection pelvienne aiguë, l'hystérosalpingographie ne peut être réalisée, qu'après évaluation attentive du rapport bénéfice/risque.

Spécialités injectables par voie intrathécale :
Précautions d'emploi :

- L'indication d'une myélographie doit être soigneusement pesée chez les malades ayant un risque épileptogène accru, des antécédents épileptiques ou présentant une grave insuffisance hépatorénale.

- Les malades sous traitement anticonvulsivant ne doivent pas interrompre leur traitement. Les manipulations du malade pendant et après l'examen doivent être de faible amplitude. Après l'examen, le malade doit rester allongé, la tête surélevée pendant au moins 8 heures. La surveillance du patient est attentive pendant 24 heures, pendant lesquelles il est recommandé au patient de ne pas se pencher.

Spécialités administrables per os ou par voie intrarectale :
Contre-indications :

- En cas de suspicion de fistule oesobronchique ou de risque de fausse route, les produits de contraste monomères ioniques hyperosmolaires sont contre-indiqués en raison du risque de survenue d'un oedème intra-alvéolaire.

Mises en garde :

- Si la muqueuse digestive est normale, la diffusion systémique du produit de contraste iodé est en principe trop faible pour provoquer des effets systémiques dose dépendants. Il n'en est pas de même si la paroi digestive est lésée, et en cas de perforation, le risque d'effets indésirables est alors le même que celui d'une administration par voie générale.

- Une faible diffusion systémique n'exclut pas la possibilité de survenue de réactions allergiques. Ces réactions sont imprévisibles, mais plus fréquentes chez les patients qui ont présenté une sensibilité particulière lors d'un examen antérieur à l'aide d'un produit iodé.

- Les explorations thyroïdiennes étant perturbées par les produits iodés, il convient de les réaliser avant l'exploration radiologique.

Précautions d'emploi :

- L'apparition d'une diarrhée peut entraîner une déshydratation, notamment chez l'enfant et surtout le nourrisson. Il convient de veiller à la rééquilibration hydroélectrolytique chez le sujet déshydraté.

Pancréatographie rétrograde par voie endoscopique (PRE) en cas de pancréatite aiguë, sauf lorsqu'il y a une indication de sphinctérotomie.

DC INTERACTIONS (début page)

Interactions médicamenteuses :

- Metformine chez le diabétique (cf Mises en garde/Précautions d'emploi : Insuffisance rénale).

- Radiopharmaceutiques (cf Mises en garde/Précautions d'emploi) : les produits de contraste iodés perturbent pendant plusieurs semaines la capture de l'iode radioactif par le tissu thyroïdien pouvant entraîner d'une part un défaut de fixation dans la scintigraphie thyroïdienne et d'autre part une baisse d'efficacité du traitement par l'iode 131. Lorsqu'une scintigraphie rénale réalisée par injection de radiopharmaceutique sécrété par le tubule rénal est prévue, il est préférable de l'effectuer avant l'injection de produit de contraste iodé.

- Bêtabloquants, substances vasoactives, inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, antagonistes des récepteurs de l'angiotensine : ces médicaments entraînent une baisse de l'efficacité des mécanismes de compensation cardiovasculaire des troubles tensionnels : le médecin doit en être informé avant l'injection de PCI et disposer des moyens de réanimation.

- Diurétiques : en raison du risque de déshydratation induit par les diurétiques, une réhydratation hydroélectrolytique préalable est nécessaire pour limiter les risques d'insuffisance rénale aiguë.

- Interleukine 2 : il existe un risque de majoration de réaction aux produits de contraste en cas de traitement récent par l'interleukine 2 (voie intraveineuse) : éruption cutanée ou plus rarement hypotension, oligurie, voire insuffisance rénale.

- Autres médicaments : les neuroleptiques, antalgiques, antiémétiques et sédatifs de la famille des phénothiazines sont susceptibles de diminuer le seuil épileptogène lors de l'injection intrathécale de produit de contraste.

Autres formes d'interactions :

Des concentrations élevées de produit de contraste iodé dans le plasma et l'urine peuvent interférer avec les dosages in vitro de bilirubine, de protéines et de substances inorganiques (fer, cuivre, calcium et phosphate) ; il est recommandé de ne pas faire pratiquer ces dosages dans les 24 heures qui suivent l'examen.

DC GROSSESSE et ALLAITEMENT (début page)

Grossesse :

Embryotoxicité :

Les études effectuées chez l'animal n'ont pas mis en évidence d'effet tératogène.
En l'absence d'effet tératogène chez l'animal, un effet malformatif dans l'espèce humaine n'est pas attendu. En effet, à ce jour, les substances responsables de malformations dans l'espèce humaine se sont révélées tératogènes chez l'animal au cours d'études bien conduites sur deux espèces.

Foetotoxicité :

La surcharge iodée ponctuelle consécutive à l'administration du produit à la mère peut entraîner une dysthyroïdie foetale si l'examen a lieu après 14 semaines d'aménorrhée. Cependant, la réversibilité de cet effet et le bénéfice maternel attendu justifient de ne pas surseoir a l'administration ponctuelle d'un produit de contraste iodé dans le cas où l'indication de l'examen radiologique chez une femme enceinte est bien pesée.

Mutagénicité et fertilité :

Les études toxicologiques réalisées sur la fonction de reproduction n'ont pas montré d'effet sur la reproduction, la fertilité ou le développement foetal et post-natal.

Allaitement :

Une administration ponctuelle de produit de contraste iodé à la mère ne nécessite pas l'interruption d'allaitement

DC EFFETS INDÉSIRABLES (début page)

Fréquence des effets indésirables : très fréquents (>= 10 %), fréquents (>= 1 %, < 10 %), peu fréquents (>= 0,1 %, < 1 %), rares (>= 0,01 %, < 0,1 %) et très rares (< 0,01 %).

Réactions anaphylactoïdes et d'hypersensibilité :

Les réactions d'hypersensibilité, incluant les réactions anaphylactiques ou anaphylactoïdes, pouvant aller jusqu'au décès regroupent un ou plusieurs des effets suivants :

- Cutanéomuqueux (peu fréquent) :
  - immédiates : prurit, érythème, rougeur, urticaire localisé ou étendue, oedème de Quincke ;
  - retardées : eczéma, exanthème maculopapuleux, érythème polymorphe et, exceptionnellement, syndrome de Stevens-Johnson ou syndrome de Lyell.
- Respiratoires (rares) : crise d'éternuements, toux, sensation de gorge serrée, dyspnée, bronchospasme, arrêt respiratoire.
- Cardiovasculaires (très rares) : hypotension, vertiges, malaise, tachycardie, arrêt cardiaque.
- Autres manifestations (peu fréquentes) : nausées, vomissements, douleurs abdominales.

Autres effets indésirables :

- Cardiovasculaires (rares) :
    - Malaise vagal, troubles du rythme, angor, infarctus du myocarde, plus fréquent en cas d'injection intracoronaire.
    - Collapsus cardiovasculaire de gravité variable pouvant survenir d'emblée, sans aucun signe annonciateur, ou compliquer les manifestations cardiovasculaires décrites ci-dessus.
- Neurosensoriels (peu fréquents) :
    - Administration systémique : sensation de chaleur, céphalées.
    - Examens au cours desquels le produit de contraste iodé est à une concentration élevée dans le sang artériel cérébral : agitation, état confusionnel, hallucinations, amnésie, troubles du langage, troubles visuels (photophobie, cécité transitoires), troubles auditifs, tremblements, paresthésies, parésie/paralysie, modifications mineures de l'EEG, convulsions, somnolence, coma.
    - Voie intrathécale : syndrome méningé, probablement dû à une diminution de la pression lombaire, résultant de la fuite de liquide céphalorachidien au point de ponction (un retrait excessif du LCR doit être évité afin de minimiser la diminution de pression) ; douleurs radiculaires.
- Digestifs (peu fréquents) :
    - Nausées, vomissements, hypertrophie des parotides dans les jours qui suivent l'examen, hypersalivation, troubles transitoires du goût.
    - Douleurs abdominales et diarrhée surtout liées à l'administration par voie orificielle digestive haute ou basse.
    - Augmentation de l'amylasémie, due à la pression d'injection, et, rarement, survenue d'une pancréatite aiguë après une CPRE.
- Respiratoires (très rares) : oedème du poumon.
- Rénaux (très rares) : une augmentation transitoire de la créatininémie peut être observée mais l'insuffisance rénale aiguë anurique est rare (cf Mises en garde/Précautions d'emploi).
- Thyroïdiens (très rares) : cf Mises en garde/Précautions d'emploi et Interactions.
- Effets locaux (rares) :
    - Douleur et oedème locaux bénins, transitoires peuvent apparaître au point d'injection en l'absence d'extravasation du produit injecté. En administration intra-artérielle, la sensation douloureuse au site d'injection dépend de l'osmolalité du produit injecté. En cas d'extravasation, une réaction inflammatoire locale, voire une nécrose tissulaire, peuvent être observées.
    - Thrombophlébite.

DC SURDOSAGE (début page)

En cas de très forte dose, la perte hydrique et électrolytique doit être compensée par une réhydratation appropriée. La fonction rénale doit être surveillée pendant au moins 3 jours. Si nécessaire, une hémodialyse peut être réalisée.

PP PHARMACODYNAMIE (début page)

Produit de contraste iodé (V : divers ; code ATC : V08AB09).
Ce médicament est un produit de contraste radiologique hexa-iodé, non ionique dimère, soluble dans l'eau.
Ce médicament a une osmolalité égale à celle du sang total. Il est isotonique par rapport aux liquides biologiques normaux grâce à la présence d'électrolytes.
Au cours d'un essai multicentrique, randomisé, en double aveugle, 129 patients présentant un diabète de type I ou II et une insuffisance rénale modérée (clairance de la créatinine voisine de 50 ml/min) ont été analysés. Les

résultats de cette étude comparant Visipaque à un produit non ionique monomère (iohexol) ont montré que le risque de développer une néphropathie induite par le produit de contraste administré par voie artérielle est statistiquement significativement inférieur avec Visipaque :

- Au cours des 3 jours suivant l'injection, l'augmentation de la créatininémie a été de 11,2 µmol/l sous Visipaque (vs 48,2 µmol/l avec le produit non ionique de basse osmolalité ; p = 0,001).

- 3 % des patients ont présenté une augmentation de la créatinémie >= 44,2 µmol/l sous Visipaque (vs 26 % avec le produit non ionique de basse osmolalité ; p = 0,002).

- Aucun des patients sous Visipaque n'a présenté d'augmentation de la créatininémie >= 88,4 µmol/l (vs 15 % avec le produit non ionique de basse osmolalité).

Deux essais multicentriques prospectifs, randomisés, en double aveugle, ont inclus respectivement 815 et 1411 patients à risque élevé ou non de complications thrombotiques (angor instable, infarctus aigu, ischémie post-infarctus). Les résultats de ces études comparant Visipaque à un produit ionique de basse osmolarité ne montrent pas de différence significative sur le nombre de patients ayant eu des événements cardiovasculaires majeurs (décès d'origine cardiaque, infarctus non fatal avec ou sans onde Q, accident vasculaire cérébral, accident artériel thromboembolique, occlusion coronaire aiguë, pontage coronaire non programmé, nouveau cathétérisme ou nouvelle angioplastie en urgence).

PP PHARMACOCINÉTIQUE (début page)

L'iodixanol se distribue rapidement dans l'organisme, avec une demi-vie de distribution moyenne d'environ 21 minutes. Le volume apparent de distribution est du même ordre que celui du liquide extracellulaire (0,26 l/kg de poids corporel), ce qui indique que l'iodixanol se distribue exclusivement dans le compartiment extracellulaire.
Aucun métabolite n'a été décelé. La fixation aux protéines est inférieure à 2 %.
La demi-vie d'élimination moyenne est d'environ 2 heures. L'iodixanol est principalement excrété par voie rénale.

DP INCOMPATIBILITÉS (début page)

Ce produit ne doit pas être mélangé directement à d'autres produits ; il convient d'utiliser une seringue distincte.

DP CONDITIONS DE CONSERVATION (début page)

A conserver à une température ne dépassant pas 30 °C, à l'abri de la lumière et des rayons ionisants.
En conditionnement de 50 ml, 100 ml, 150 ml et 200 ml (flacons polypropylène), ce médicament peut être conservé pendant 1 mois à 37 °C.
En conditionnement de 20 ml (flacon verre), ce médicament peut être conservé pendant 1 mois à 37 °C.

DP MODALITÉS MANIPULATION/ÉLIMINATION (début page)

Comme tous les produits à usage parentéral, l'iodixanol doit être contrôlé visuellement pour vérifier l'absence de particules ou de changement de couleur et contrôler l'intégrité du conditionnement avant l'emploi. Ce produit doit être transféré dans la seringue juste avant l'emploi. Les flacons sont à usage unique et toute quantité résiduelle doit être rejetée.
Ce produit peut être réchauffé à la température corporelle avant l'administration.
Tout produit non utilisé ou déchet doit être éliminé conformément à la réglementation en vigueur.

PRESCRIPTION/DÉLIVRANCE/PRISE EN CHARGE (début page)

LISTE I
Visipaque 270 :
AMM 3400933846336 (1 flacon verre 20 ml).
3400935202895 (1 flacon PP 50 ml).
3400935203328 (1 flacon PP 100 ml).
3400935203557 (1 flacon PP 150 ml).
3400935203908 (1 flacon PP 200 ml).

3400935202956 (10 flacons PP 50 ml).
3400935203496 (10 flacons PP 100 ml).
3400935203618 (10 flacons PP 150 ml).
3400935204097 (10 flacons PP 200 ml).
AMM 1995 révisées le 10.07.2007.

Visipaque 320 :
AMM 3400933846855 (1 flacon verre 20 ml).
3400935200884 (1 flacon PP 50 ml).
3400935201256 (1 flacon PP 100 ml).
3400935201485 (1 flacon PP 150 ml).
3400935201836 (1 flacon PP 200 ml).

3400935200945 (10 flacons PP 50 ml.
3400935201317 (10 flacons PP 100 ml.
3400935201546 (10 flacons PP 150 ml).
3400935202086 (10 flacons PP 200 ml.
AMM 1995 révisées le 08.08.2007.

Prix :
Visipaque 270 :
8.35 euros (1 flacon 20 ml).
19.97 euros (1 flacon 50 ml).
35.45 euros (1 flacon 100 ml).
65.65 euros (1 flacon 200 ml).
50.57 euros (1 flacon 150 ml).
Visipaque 320 :
9.79 euros (1 flacon 20 ml).
23.58 euros (1 flacon 50 ml).
41.05 euros (1 flacon 100 ml).
76.87 euros (1 flacon 200 ml).
58.97 euros (1 flacon 150 ml).
Remb Séc soc à 65 %. Collect.
Modèles hospitaliers : Collect.

Titulaire et exploitant de l'AMM :
GE HEALTHCARE SA
11, av Morane-Saulnier
78140 Velizy-Villacoublay
Tél : 01 34 49 54 54

ANNEXE 14. MODE D'EMPLOI DC BEAD™

DC BEAD ™

Système d'embolisation à libération médicamenteuse

MODE D'EMPLOI

DC Bead
Système d'embolisation à libération médicamenteuse
STERILE • STRICTEMENT A USAGE UNIQUE • APYROGENE
Français
2006

DESCRIPTION:

Les DC Beads sont constituées d'une gamme de microsphères d'hydrogel biocompatibles, hydrophiles, non résorbables, précisément calibrées et qui peuvent être chargées de doxorubicine. Les DC Beads sont produites à partir d'alcool polyvinylique et elles sont disponibles dans la gamme de tailles suivante :

Taille nominale des perles	Couleur de l'étiquette
100 – 300 µm	Jaune
300 – 500 µm	Bleu
500 – 700 µm	Rouge
700 – 900 µm	Verte

Lors du chargement avec la doxorubicine, les DC Beads subissent une légère diminution de leur taille, diminution qui peut atteindre 20 % lors d'un chargement à 25 mg/ml.

PRESENTATION:

• Flacon de verre de 10 ml.

• Chaque flacon contient environ 2 ml de DC Beads dans une solution saline physiologique tamponnée, apyrogène, stérile. Le volume total de la solution saline et des DC Beads est d'environ 8 ml.

• Le flacon est scellé par un bouchon en aluminium et par un couvercle qui porte un code de couleur.

• Chaque flacon doit être utilisé pour un seul patient. Ne pas restériliser.
Jeter tout matériel non utilisé.

INDICATIONS:

Les DC Bead doivent être chargées de doxorubicine dans le but de procéder à

- l'embolisation des vaisseaux qui alimentent la(les) tumeur(s) maligne(s) hypervascularisée(s).

- la libération locale d'une dose contrôlée et prolongée de doxorubicine au niveau de la(les tumeur(s).

CONTRE-INDICATIONS – DC BEADS:

- Patients intolérants aux procédures d'occlusion vasculaires.

- Anatomie vasculaire qui exclut la mise en place d'un cathéter ou l'injection
d'emboles.

- Présence ou apparition probable d'un vasospasme.

- Présence ou apparition probable d'une hémorragie.

- Présence d'une atteinte athéromateuse grave.

- Présence d'artères nourricières plus petites que les branches distales dont
elles émergent.

- Présence d'anastomoses extra à intracrâniennes ou de shunts patents.

- Présence de voies vasculaires collatérales mettant potentiellement en danger les territoires normaux pendant l'embolisation.

- Présence d'artères terminales conduisant directement aux nerfs crâniens.

- Présence d'artères irriguant la lésion pas assez larges pour recevoir les DC Beads.

- Résistance vasculaire périphérique des artères nourricières excluant le passage des DC Beads dans la lésion.

- Ne pas utiliser les DC Beads dans les applications suivantes :

. Embolisation de tumeurs non malignes.

. Embolisation de shunts artério-veineux de grand diamètre (c'est-à-dire où le sang n'emprunte pas la transition artérielle/capillaire/veineuse mais passe directement de l'artère à la veine).

. Tout système vasculaire où l'agent embolique des DC Beads est susceptible de passer directement dans l'artère carotide interne ou autre territoire ne constituant pas une cible.

CONTRE-INDICATIONS – DOXORUBICINE :

- Voir la notice de la doxorubicine pour les contre-indications concernant son utilisation.

AVERTISSEMENT : Des études ont montré que les DC Beads ne formaient pas d'agrégats et, par conséquent, pénétraient plus profondément dans le système vasculaire que des particules PVA de même taille.

MISES EN GARDE :

• Ne pas utiliser si le flacon ou le conditionnement semblent endommagés.

• Choisir la taille et la quantité de DC Beads appropriées pour la pathologie à traiter.

• L'embolisation avec les DC Beads ne doit être mise en oeuvre que par un médecin ayant suivi une formation appropriée portant sur les occlusions interventionnelles dans la région devant faire l'objet de l'embolisation.

• En cas de dépassement d'une dose de charge de 37,5 mg de doxorubicine pour 1 ml de DC Beads, il peut se produire une certaine distribution systémique et des effets indésirables associés.

COMPLICATIONS POTENTIELLES :

• Reflux indésirable ou passage des DC Beads dans les artères normales adjacentes à la lésion ciblée ou au travers de la lésion vers d'autres artères ou lits artériels.
• Embolisation non-cible.
• Embolisation pulmonaire.
• Ischémie à un endroit non souhaité.
• Saturation du lit capillaire et lésions des tissus.
• Accident ischémique cérébral ou infarctus ischémique.
• Rupture d'un vaisseau ou de la lésion et hémorragie.
• Déficits neurologiques dont paralysie des nerfs crâniens.
• Vasospasme.
• Décès.
• Reperméabilisation.
• Réactions vis-à-vis de corps étrangers nécessitant une intervention médicale
• Infection nécessitant une intervention médicale.
• Formation d'un caillot à l'extrémité du cathéter et mobilisation ultérieure.

INSTRUCTIONS RELATIVES AU CHARGEMENT MEDICAMENTEUX :

Les DC Beads ne peuvent être chargées UNIQUEMENT que de chlorhydrate de doxorubicine. Les formulations liposomales de doxorubicine ne peuvent pas être chargées dans les DC Beads.

Pour obtenir une charge finale de 50 mg de doxorubicine pour un flacon de 2 ml de DC Beads:

. Reconstituer un flacon contenant 50 mg de doxorubicine avec 2 ml d'eau pour préparation injectable stérile. Bien mélanger pour obtenir une solution limpide (25 mg/ml).

. Extraire autant que possible de solution saline d'un flacon de DC Beads à l'aide d'une seringue et d'un aiguille de petit calibre.

. A l'aide d'une seringue et d'une aiguille, ajouter les 2 ml de solution de doxorubicine reconstituée directement dans le flacon de DC Beads.

. Agiter doucement la solution de DC Beads/doxorubicine pour faciliter le mélange puis laisser reposer jusqu'à ce que les DC Beads soient rouges et la solution presque incolore.

. Le chargement dure au minimum 20 minutes pour les DC Beads de la plus petite taille et jusqu'à 90 minutes pour les DC Beads de la plus grande taille.

. Avant emploi, transférer les DC Beads chargées de doxorubicine dans une seringue et ajouter un volume égal de milieu de contraste non ionique. Retourner doucement la seringue pour obtenir une suspension régulière de DC Beads.

. Une dose pouvant atteindre 37,5 mg de doxorubicine par ml de DC Beads peut être chargée.

. La dose totale maximum recommandée de doxorubicine par procédure est de 150 mg.

CONSERVATION DES DC BEADS CHARGEES DE MEDICAMENT :

Les DC Beads chargées de doxorubicine peuvent se conserver pendant 24 heures au réfrigérateur à 2-8°C en présence ou en l'absence de milieu de contraste non ionique.

INSTRUCTIONS RELATIVES A L'ADMINISTRATION :

• Evaluer soigneusement le réseau vasculaire associé à la lésion par l'intermédiaire d'une imagerie à haute résolution avant de commencer la procédure d'embolisation.

• Les DC Beads sont disponibles dans diverses tailles. Prendre soin de choisir la taille de DC correspondant le mieux à la pathologie (c'est-à-dire, cible vasculaire/taille du vaisseau) et permettant d'obtenir les résultats cliniques souhaités.

• Choisir un cathéter d'administration en se basant sur la taille du vaisseau
cible. Les DC Beads peuvent subir une compression temporaire de 20 à 30 % afin de faciliter leur passage au travers du cathéter d'administration.

• Introduire le cathéter d'administration dans le vaisseau cible conformément
aux techniques standard. Positionner l'extrémité du cathéter aussi près que possible du site de traitement pour éviter l'occlusion accidentelle de vaisseaux normaux.

• Les DC Beads ne sont pas radio-opaques. Il est recommandé de surveiller l'embolisation sous radioscopie en ajoutant une quantité adéquate de milieu de contraste au liquide de mise en suspension.

. Prendre soin de réaliser une suspension correcte des DC Beads dans le milieu de contraste pour renforcer la distribution pendant l'injection.

. Prélever les DC Beads dans l'aiguille d'une seringue dont le calibre est supérieur ou égal à 19 (1,07 mm).

. Injecter lentement les DC Beads dans le cathéter d'administration sous contrôle radioscopique tout en observant le débit du milieu de contraste. Procéder à un évaluation conservatrice pour déterminer le point final de l'embolisation.

• A la fin du traitement, retirer le cathéter tout en maintenant une aspiration légère de façon à ne pas déloger les DC Beads restant dans la lumière du cathéter.

• Jeter toutes les DC Beads non utilisées chargées de doxorubicine.

CONSERVATION ET STOCKAGE :

• Conserver les DC Beads non ouvertes dans un lieu frais, sec et sombre, dans
leur conditionnement d'origine.

• Utiliser avant la date indiquée sur l'étiquette du flacon.

• Ne pas congeler.

Manufactured by:
Biocompatibles UK Limited
Chapman House
Farnham Business Park
Weydon Lane
Farnham
Surrey GU9 8QL
United Kingdom
Tel: +44 (0)1252 732 732
Fax: +44 (0)1252 732 777

Annexe 3.

Centre Hospitalier Universitaire Dijon

AOI 2009 - FORMULAIRE DE PROMOTION

Titre du Projet

IDASPHERE

Chimioembolisation des carcinomes hépatocellulaires non résécables, non métastatiques par des microsphères d'embolisation (DC Bead™) chargées avec de l'idarubicine (Zavedos®) : étude de phase I

Coordonnateur

Nom : BOULIN

Prénom : Mathieu

Né le 10 janvier 1976

Téléphone : 03.80.29.37.96

Télécopie : 03.80.29.32.75

e-mail : mathieu.boulin@chu-dijon.fr

Adresse précise : CHU de Dijon
Service Pharmacie
Hôpital du Bocage
Boulevard Maréchal De Lattre De Tassigny
BP 77980
21079 DIJON Cedex

Etablissement Hospitalier :

CHU de Dijon

Service ou Département :

Service Pharmacie

Chef de Service ou Responsable d'Unité

(si différent de l'investigateur principal) **:**

Dr Marie Hélène GUIGNARD

COMPOSITION DE L'EQUIPE PARTICIPANT AU PROGRAMME

Investigateurs associés

(Citer tous les investigateurs associés (**médecins thésés**) sollicités pour participer à cette recherche)

Nom et Prénom	**Service**	**Etablissement Hospitalier**	**% du temps ouvrable consacré au programme de recherche présenté**
Dr Jean Pierre CERCUEIL Pr Denis KRAUSE Dr Jean Michel LERAIS Dr Romaric LOFFROY	Département d'Imagerie Médicale	CHU DIJON	
Pr Laurent BEDENNE Dr Simona COSCONEA Dr Mathilde DAVID Pr Jean FAIVRE Dr Alice GAGNAIRE Pr Patrick HILLON Dr Jean Louis JOUVE Dr Côme LEPAGE Dr Anne MINELLO	Département d'Hépato-gastroentérologie	CHU DIJON	
Pr Bruno CHAUFFERT Dr François GHIRINGHELLI Dr Nicolas ISAMBERT	Département d'Oncologie Médicale	Centre Régional de Lutte contre le Cancer Georges François Leclerc DIJON	

(chercheurs, ingénieurs, techniciens, doctorants et post-doctorants)				
Nom-prénom-âge	**Titre ou grade**	**Appartenance administrative**	**Formation Compétence**	**% du temps ouvrable consacré au programme de recherche présenté**
Dr Mathieu BOULIN	AHU	CHU DIJON	Pharmacie	
Dr Philippe FAGNONI	MCU-Praticien attaché		Pharmacie	
M Sylvain ONTENIENTE	Interne en pharmacie		Pharmacocinétique	
Dr Corinne PERNOT	Praticien hospitalier		Pharmacie	
Dr Marie Hélène GUIGNARD	Praticien hospitalier-chef de service		Pharmacie	
M Boris GUIU	Interne	CHU DIJON	Radiologie interventionnelle	
Mme Séverine GUIU	Interne	Centre Régional de Lutte contre le Cancer Georges François Leclerc DIJON	Oncologie Médicale	
Dr Franck BONNETAIN	M.	Centre Régional de Lutte contre le Cancer Georges François Leclerc DIJON	Méthodologiste Biostaticien	
Pr Marc BARDOU	PU-PH	CHU DIJON	Directeur du CIC-P	
Dr Michèle ARTUR	Praticien hospitalier	CHU DIJON	Pharmacologie/ Toxicologie	
Dr Françoise GOIRAND	MCU-PH			
Dr Pascal GUERARD	Praticien hospitalier			
Pr Monique DUMAS-MARION	PU-PH			
Mlle Lucie VADOT	Interne			
Dr Aurélie GRANDVUILLEMIN	Praticien hospitalier	CHU DIJON	Pharmacovigilance	
Mlle Sabrina PIERRE	Externe			

PROJET DE RECHERCHE

Essai thérapeutique	**oui** ■			**non** ☐
Phase d'Expérimentation	**I** ■	**II** ☐	**III** ☐	**IV** ☐

b) Méthodologie de la recherche

Monocentrique ☐	**Ouverte** ■	**Randomisée** ☐	**Croisée** ☐
Multicentrique ■	**Simple Insu** ☐	**Contrôlée** ■	**Groupes parallèles** ☐
Internationale ☐	**Double Insu** ☐	**Autres** ■	*(précisez)* **:** escalade de dose avec technique Continual Reassessment Method (CRM)

<u>Catégorie de la recherche</u>

Etude physiologique	☐	Comparaison de stratégies diagnostiques	☐
Etude physiopathologique	☐	Comparaison de stratégies thérapeutiques	☐
Etude génétique	☐	Etude relative aux greffes d'organes ou de tissus	☐
Etude épidémiologique	☐	Autres : Thérapeutique	■

c) Population étudiée

Nombre de personnes prévues : 9 à 18

Groupe expérimental	Patients ■	Sujets sains ☐
Groupe témoin : aucun	Patients ☐	Sujets sains ☐

S'agit-il de :

Mineurs	☐
Femmes enceintes ou allaitant	☐
Personnes séjournant dans un établissement sanitaire et social	☐
Majeurs sous tutelle ou curatelle	☐
Personnes en situation d'urgence	☐
Personnes non bénéficiaires d'un régime de sécurité sociale	☐
Personnes privées de liberté	☐
	☐

d) Classification de l'Etude

Recherche Biomédicale :	OUI ■	NON ☐

Portant sur	Médicament ■	Dispositif médical ■	
	organes, tissus ☐	Autre ☐	
Recherche non interventionnelle	oui ☐		non ■
Recherche évaluant les soins courants	oui ☐		non ■
Montant de l'indemnité éventuellement prévue par personne*:* Aucun			

e) Durée de la recherche

Durée totale prévue de la recherche : **24 mois maximum avec analyse des données**
(temps nécessaire au recrutement + durée de participation maximale)

Durée de participation maximale d'une personne : 3 mois

EQUIPEMENTS *Mi-lourds et lourds existant dans le service* *(préciser ceux utilisés pour le programme)*

Aucun

Nature des frais supplémentaires relatifs à la recherche Investigateur : AOI - Année : 2009	
PROMOTION RECHERCHE BIOMEDICALE OUI ■ NON ☐ si oui, compter 800 euros (assurance) **Durée de l'étude** 24 mois maximum **Nombre de patients** 9 à 18	
DEPENSES	**Montant**
◆ Papeterie Papier Pochettes Classeurs autres (préciser) : cahier d'observation x 18	300 €
◆ Fournitures de bureau et informatique Disquettes cartouches imprimantes autres (préciser) :	Aucun
◆ Location d'équipement **Pour tout service commandé à l'extérieur du CHU (fournisseurs autorisés) , il est impératif de fournir le ou les devis correspondants** préciser l'équipement	Aucun
◆ Maintenance et Réparation d'équipement **Pour tout service commandé à l'extérieur du CHU (fournisseurs autorisés) , il est impératif de fournir le ou les devis correspondants** préciser l'équipement	Aucun
◆ Documentation Préciser	Aucun
◆ Services **Pour tout service commandé à l'extérieur du CHU (fournisseurs autorisés) , il est impératif de fournir le ou les devis correspondants** transport d'échantillons Prestations de Biologie ou d'imagerie HORS CHU Randomisation Saisie des données Analyse statistique Reprographie autres : préciser	500 € TTC 1500 € TTC
◆ Valorisation Congrès Articles	2000 € TTC

DEPENSES (SUITE)	MONTANT
Pharmacie Prestation spécifique (confection placebo, Préparations particulières)	
Produits pharmaceutiques ou dispositifs médicaux supplémentaires par rapport au traitement habituel des patients Médicaments en stock ☐ à commander ☐ Dispositifs médicaux en stock ☐ à commander ☐ Coût 10 mg idarubicine Zavedos® = 247,5 € Quantité maximale nécessaire pour l'essai = 395 mg Total coût idarubicine = 9780 € Coût supplémentaires disposotif médical DC Bead™ versus Hepasphere™ = 200 € x 18 chimioembolisations Total coût supplémentaire dispositif médical = 3600 €	13 380 € TTC
Petit Matériel médical et Fournitures de laboratoire Tubes Pipettes Autres :	Aucun
Réactifs de laboratoire Kit Réactifs Autres :	Aucun
◆Actes médico-techniques supplémentaires par rapport au traitement habituel des patients Actes nomenclaturés (hors scanner IRM scintigraphie) **Biologie** : Dosage sanguin anticancéreux (B140 Nomenclature des Actes de Biologie Médicale) = 37,80 € Nombre de dosages totaux : 18 patients x 8 dosages = 144 Total coût dosages = 5450 € Autre biologie : examen réalisé en externe à J10 (NFS, Plaquettes = B35 Nomenclature des Actes de Biologie Médicale) = 9,45 € X 18 patients = 170 €	5620 € TTC
Radiologie Nomenclaturés en Z Non nomenclaturés (forfait)	Aucun
Autres examens complémentaires Echographie cardiaque ECG Holter ECG Non Nomenclaturés en K Scanner IRM Scintigraphie Autres Actes	Aucun
◆Journées d'hébergement supplémentaires Hospitalisation de 24 heures Hospitalisation inférieure à 24 heures Visite 1 (consultation auprès d'un spécialiste à J15) = 23 € X 18 patients Total coût consultations supplémentaires = 414 €	420 € TTC
Prestation (CRB, CIC-EC, CIC-P, protéomique, etc…). Prestations IDE CIC-P : Surveillance post-interventionnelle = 30 mn/jour x 18 patients soit 27 h = 810 € Prélèvements pharmacocinétique (n=8) = 2h x 18 patients soit 36 h = 1080 € Remplissage cahiers d'observation = 45 mn pour visite d'inclusion puis 15 mn pour les suivis soit 2h x 18 patients soit 36 h = 1080 €	2970 € TTC
Téléphone	Aucun
Courrier	Aucun
TOTAL	**27 490 € TTC**

Annexe 4.

Rapport Annuel de Sécurité

Essai IDASPHERE
Chimioembolisation des carcinomes hépatocellulaires non résécables, non métastatiques par des microsphères d'embolisation (DC Bead™) chargées avec de l'idarubicine (Zavedos®) : étude de phase I

(Numéro EUDRACT : 2009-013288-20**)**
Autorisation de l'Afssaps le 22 janvier 2010

Période du 22 janvier 2010 au 21 janvier 2011

1. Introduction

Ce document est le premier Rapport Annuel de Sécurité (RAS) pour l'essai IDASPHERE compilé pour les autorités de santé (AFSSAPS) et le comité d'éthique (CPP) dans le format défini par l'arrêté du 19 mai 2006 fixant les modalités de déclaration, la forme et le contenu du rapport de sécurité d'une recherche biomédicale portant sur un médicament à usage humain. Il résume les données de sécurité pour la période du 22 janvier 2010 au 21 janvier 2011 concernant l'essai suivant :

Chimioembolisation des carcinomes hépatocellulaires non résécables, non métastatiques par des microsphères d'embolisation (DC Beads™) chargées avec de l'idarubicine (Zavedos®) : étude de phase I

Le Centre Hospitalier Universitaire de Dijon 1 Bd jeanne D'Arc BP 77908 21079 DIJON Cedex est le promoteur de l'essai.

- Médicaments utilisés dans cet essai
  Traitement expérimental : Idarubicine (Zavedos®)
  Produit de contraste : Visipaque (iodixanol)

- Dispositif médical utilisé dans cet essai : Microsphères d'embolisation (DC Beads™)

- Méthodologie :

Les documents de référence pour la définition du caractère attendu ou inattendu des effets indésirables graves sont :

- le Résumé des caractéristiques du Produit de ZAVEDOS® révisé le 06.07.2006
- le Résumé des caractéristiques du Produit de VISIPAQUE révisé le 10.07.2007
- le mode d'emploi de DC Beads™ en vigueur au cours de la période couverte par ce rapport.

Les événements indésirables ont été codés à l'aide du dictionnaire MedDRA version 13.1

2. Nouvelles données pertinentes de sécurité des médicaments à l'étude pendant la période couverte par le present rapport

Analyse globale de sécurité

Aucune nouvelle information de sécurité concernant l'idarubicine n'a été identifiée au cours de la période couverte par ce rapport. Les données de sécurité sont en accord avec les informations présentes dans le Résumé des Caractéristiques du Produit.

Autres études cliniques

Le CHU de Dijon n'est pas promoteur d'autre étude avec de l'idarubicine.

Modifications survenues dans cet essai au cours de la période couverte par ce rapport

Plusieurs amendements au protocole ont été réalisés.
Modification n°1 : Jusque là, une augmentation de la bilirubinémie supérieure à 3 fois la norme était considérée comme une DLT (dose limitante toxique). Ceci a été modifié afin que les augmentations de la bilirubinémie à maximum 5 fois la norme pendant 5 jours ne soient pas considérées comme des DLT.
Modification n°2 : Les critères de réponse RECIST modifiés ont été ajoutés aux critères EASL.
Modification n°3 : Les critères d'inclusion ont été élargis afin d'y intégrer les maladies unilobaires.
Modification n°4 : La maladie de Gilbert a été ajoutée en tant que critère d'exclusion.

3. Analyse de sécurité et evaluation des benefices-risques pour des médicaments expériemntaux sur la population traitée

Nombre de patients inclus

Au 21 janvier 2011, un total de 10 patients a été inclus depuis le début de l'étude.
Aucun patient n'est sorti prématurément de l'étude. Tous les patients inclus ont reçu une séance de chimioembolisation.

Nombre de patients ayant présenté une DLT (dose limitante toxique)

Deux patients ont présenté une DLT : le patient n°1 d'une part (hyperbilirubinémie de grade 3) et le patient 3 d'autre part (syndrome coronarien de grade 4). Le patient suivant a reçu une dose correspondant au palier 1 (idarubicine 10mg). Par conséquent, les autres patients ont été traités au palier 0 (idarubicine 5 mg).

Nombre d'événements indésirables graves

Six déclarations correspondant à **6** événements indésirables graves ont été rapportés au cours de la période couverte par ce rapport.

<u>Reliés au traitement à l'étude</u>

Cinq des ces évènements ont été reliés au protocole de la recherche, et 4 ont été reliés au traitement à l'étude (1 évènement relié aux microbilles).
Parmi ces évènements, 3 ont été considérés comme inattendus (2 reliés au traitement et 1 relié de façon douteuse aux microbilles).

- **Hémorragie digestive sur ulcère gastrique – grade 3 : 201000001 (IDA-001-patient01)**

Le patient 01, âgé de 64 ans (né le 25/07/1945), a été traité dans le cadre de l'essai IDASPHERE le 2 mars 2010 dans le palier 1 (10 mg).
Il a été hospitalisé le 10/03/2010 pour une hémorragie digestive sur ulcère gastrique de grade 3.
Parmi ses antécédents, nous retenons : rétrécissement aortique, diabète de type II, reflux gastro-esophagien, insuffisance hépatocellulaire sur hépatocarcinome, varices œsophagiennes.
Son traitement habituel comporte :
- depuis au moins janvier 2009 : Metformine 1000 x3/j, Pravastatine 40mg/j, LOPRIL 25 (Captopril) 3/j, Furosémide 20mg/j, Zolpidem 10 mg/j, TARDYFERON 80 (Sulfate ferreux) 2/j.
- depuis au moins janvier 2010 : LYRICA 75 (Prégabaline) 2/j, SPIRIVA 18 (Tiotropium bromure) 1/j.
- depuis avant mars 2010 : Acide folique 5mg/j.

Il présentait à l'entrée une anémie sévère à 7 g/dl, une asthénie profonde et un méléna. Après transfusion de 4 culots globulaires, le patient a présenté une hémoglobine à 10.8g/dL, stable avec des selles de coloration normale. Il n'y avait plus de déglobulisation. La fibroscopie gastrique réalisée le 12 mars a retrouvé un ulcère bulbaire hémorragique (sans saignement actif au moment de l'examen).
Son traitement de sortie comporte en plus de son traitement habituel INEXIUM 40 (esoméprazole) 1/j et arrêt du LOPRIL (tension artérielle spontanée à 12/7). Le patient a quitté l'hôpital le 16 mars 2010.
A noter que la fibroscopie gastrique réalisée le 25 février 2010 ne retrouvait pas d'ulcération du bulbe (gastropathie fundique d'hypertension portale minime avec 3 varices œsophagiennes grade 1 sans signe rouge. Discrète œsophagite peptique grade 2). L'évolution est considérée comme favorable, sans séquelle.
Selon l'investigateur la causalité avec ZAVEDOS a été considérée comme douteuse. La causalité a été considérée comme exclue pour VISIPAQUE et DC BEAD. Cet effet indésirable grave est considéré comme inattendu.

- **Syndrome coronarien aigu – grade 4 : 201000011 (IDA-002-patient03)**

Le patient 03, âgé de 67 ans (né le 19/04/1943) a été traité dans le cadre de l'essai IDASPHERE le 15 juin 2010 dans le palier 0 (5 mg).
Il a présenté le 16 juin 2010 un syndrome coronarien aigu grade 4 nécessitant son hospitalisation en soins intensifs de cardiologie.
Parmi ses antécédents, nous retenons : hypertension artérielle, diabète, obésité, dyslipidémie, pas de tabagisme, infarctus du myocarde en 1996 (stent sur l'artère interventriculaire antérieure), resténose en 1997 avec angioplastie.
Ses traitements au long cours sont les suivants : Amlodipine 10 mg/j, Metformine 1000 x3/j (stoppé le 10 juin), Clopidogrel 75mg/j stoppé le 14 juin, Allopurinol 300 mg/j, Celiprolol 200 mg/j, Esoméprazole 20 mg/j, Furosémide 40mg/j, Lisinopril 20mg/j, Pravastatine 20mg/j, Carbamazépine LP400mg/j, Trimétazidine 35 mg/j, Insuline (NOVOMIX 30) 62 UI matin et soir stoppée le 14 juin.
Concernant la chimioembolisation, il a reçu : Acétylcystéine les 14 et 15 juin, Ondansétron et Morphine du 15 au 17 juin.
Le 16 juin 2010 (soit 24h après la chimioembolisation), le patient a présenté une douleur rétrosternale constrictive, trinitro-résistante. L'ECG montrait un rythme sinusal régulier avec un aspect QS, un petit sus-décalage millimétrique en antérieur, déjà présent sur les ECG précédents et des ondes T négatives en V5 et V6. La troponine était augmentée à 0.46. Le patient reçoit 4 comprimés de Clopidogrel + 250 mg d'Acétylsalicylate de lysine en intraveineuse. Il est muté en Cardiologie pour réalisation d'une coronarographie. Cette dernière retrouve une sténose ostiale de l'IVA à 70% et une sténose serrée du tronc circonflexe dominante. La circonflexe a été dilatée grâce à un stent nu, permettant un bon résultat. Un guide de pression de l'IVA a été fait, ne conduisant à aucune dilatation. L'évolution a été favorable. Le 24 juin, le patient quitte l'hôpital pour un autre service de Cardiologie plus près de chez lui.
Selon l'investigateur, l'événement indésirable grave est relié de façon douteuse à l'idarubicine et aux microbilles et n'est pas relié au Visipaque®. De plus, il existe un terrain vasculaire altéré, pouvant représenter une autre cause selon l'investigateur. Cet effet indésirable grave est considéré comme inattendu. Il constitue une DLT.

- **Œdème des membres inférieurs douloureux – grade 3 : 201000020 – IDA-06-patient05**

La patiente 05, âgée de 72 ans (née le 29/08/1938) a été traitée dans le cadre de l'essai IDASPHERE le 28 septembre 2010 dans le palier 0 (5 mg).
Elle a reçu MUCOMYST (N-acétylcystéine) du 27/09 au 28/09, à la dose de 200 mg x3/j, Ondansétron du 28/09 au 29/09 et de la Morphine du 28/09 au 29/09.
Ses traitements habituels sont : Périndopril 2.5 mg/j, Trimétazidine 35 mg x2/j, Spironolactone 25 mg/j, Furosémide 40 mg/j, Propranolol 20 mg x2/j, Prazépam 10 mg/j, Dihydrocodéine 60 LP x2/j depuis le

08/11/2010 pour des hépatalgies, Paracétamol 1g/j selon les douleurs hépatiques depuis le 08/11/2010, Lévocétirizine 5 mg/j depuis le 08/11/2010 pour un prurit.
La patiente a bénéficié de la chimioembolisation le 28/09/2010. Elle présente des œdèmes des membres inférieurs douloureux à la palpation depuis le 17/11/2010. Elle est donc hospitalisée du 22 au 26/11/2010. Le 23/11, un examen angiologique par écho-doppler est réalisé pour suspicion de thrombose veineuse des membres inférieurs : il n'y a pas d'argument en faveur d'une thrombose veineuse profonde d'allure récente des membres inférieurs ni de thrombose porte. La radiographie pulmonaire est normale. Le traitement par Spironolactone a été renforcé à 50mg/j et par Furosémide à 60mg/j. Lors d'une nouvelle consultation le 06/12/2010, il existe une très nette diminution des œdèmes des membres inférieurs avec les nouvelles doses de Spironolactone et Furosémide. (grade 1)
NB : Un bilan effectué par son cardiologue avant l'hospitalisation montrait une fonction cardiaque normale.
L'investigateur juge cet évènement non relié à Zavedos® ni Visipaque®. Selon lui, la causalité est douteuse pour les microbilles. Une autre cause avancée est la cirrhose (la patiente présentant une discrète hypoalbuminémie).

Décès
Aucun décès n'est survenu au cours de la période couverte par ce rapport.

Cas particuliers

- Surdosage

Aucun cas de surdosage n'a été signalé au cours de la période couverte par ce rapport.

- Grossesse / allaitement

Aucun cas d'exposition durant la grossesse ou l'allaitement n'a été signalé au cours de la période couverte par ce rapport.

Actions requises concernant cet essai

Au vu de la toxicité présentée par le 1er patient (DLT), il a été décidé que les autres patients seraient traités avec une dose d'idarubicine correspondant au palier 0 de l'essai (5 mg d'idarubicine).

Evaluation des bénéfices - risques pour l'essai

Deux patients ont présenté des DLT. Pour le premier, il s'agissait d'une hyperbilirubinémie de grade 3, ce qui a conduit à traiter les patients suivants au palier 0 de l'étude.
Parmi les effets indésirables, deux ont été considérés comme inattendu : une hémorragie digestive sur ulcère gastrique, survenue chez le patient 1 (traité dans le palier 0, c'est à dire 10 mg). Ce patient présentait des antécédents de reflux gastro-oesophagien sans traitement avant la survenue de l'événement indésirable. Le deuxième est un syndrome coronarien aigu, qui est survenu 24 heures après la chimioembolisation. Nous notons qu'il est survenu chez un patient avec un terrain vasculaire altéré, ce qui a pu constituer un facteur de risque. Ceci a été considéré comme une DLT (affections cardiaques de grade 4 conformément au protocole), mais n'a pas eu d'impact sur la dose reçue par les patients suivants (ce patient ayant été traité avec le palier 0).
Deux atteintes hématologiques ont été rapportées, dont une très tardive avec une imputabilité douteuse (thrombopénie à J29).

Au vu de ces données, la balance bénéfice/risque de cet essai n'est donc pas modifiée. Les modalités de surveillance des patients semblent adéquates.

4. Liste des effets indésirables graves survenus entre le 22 janvier 2010 et le 21 janvier 2011.

Etude/Identification patient	Age Sexe	Dose reçue	Date de survenue de l'EIG par rapport au début du traitement	PT	Grade	Gravité	Evolution	Attendu / Inattendu	DLT ?	Commentaires
Affections hématologiques										
IDA-004-patient04 201000018	56 ans M	Palier 0 (5mg)	J5	Neutropénie fébrile	3	Hospitalisation ou prolongation d'hospitalisation	Guérison	Attendu	Non	
IDA-005-patient04 201000019	56 ans M	Palier 0 (5mg)	J29	Thrombopénie	4 (puis 2 en 4 jours)	Hospitalisation ou prolongation d'hospitalisation	Guérison en cours	Attendu	Non	
Affections cardiaques										
IDA-002-patient03 201000011	67 ans M	Palier 0 (5mg)	24 heures	Syndrome coronarien aigu	4	Mise en jeu du pronostic vital	Guérison en cours	Inattendu	Oui	
Affections gastrointestinales										
IDA-001-patient01 201000001	64 ans M	Palier 1 (10mg)	J9	Hémorragie digestive sur ulcère gastrique	3	Hospitalisation ou prolongation d'hospitalisation	Guérison	Inattendu	Non	DLT pour ce même patient pour hyperbilirubinémie de grade 3
Troubles généraux et au site d'administration										
IDA-006-patient05 201000020	72 ans F	Palier 0 (5mg)	7 semaines	Œdèmes douloureux des membres inférieurs	3	Hospitalisation ou prolongation d'hospitalisation	Guérison en cours	Inattendu	Non	Effet non relié à un médicament mais relié de façon douteuse aux microbilles

5. Tableau de synthèse des événements indésirables graves reliés au traitement à l'étude survenus depuis le début de l'essai

Classe Organe	**PT**	
Affections hématologiques et du système lymphatique	Neutropénie fébrile	1
	Thrombopénie	1
	Sous-total	***2***
Affections cardiaques	Syndrome coronarien aigu	1
	Sous total	***1***
Affections gastro-intestinales	Hémorragie digestive sur ulcère gastrique	1
	Sous total	***1***
Troubles généraux et au site d'administration	Œdèmes douloureux des membres inférieurs	1
	Sous total	***1***
TOTAL		***5***

Annexe 5.

Travaux *in vitro* annexes au travail doctoral

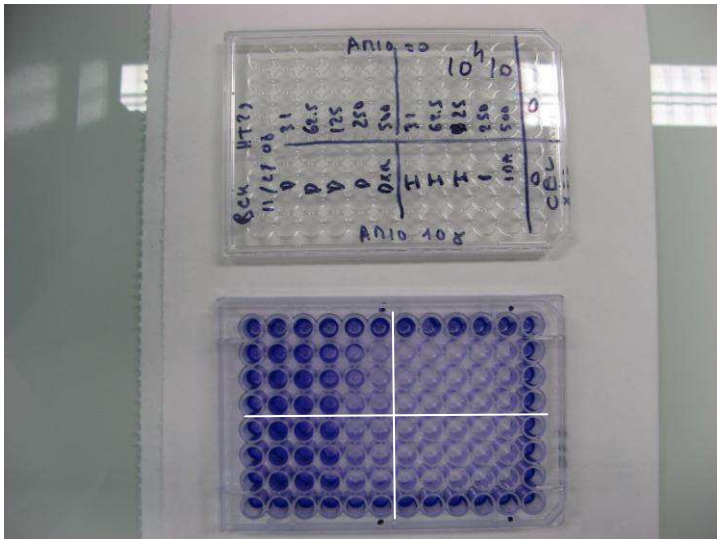


Figure 1. Photographie d'une plaque 96 puits. Les cellules HT-29 (20 000/puits) ont été exposées à des concentrations de 500, 250, 125, 62 et 31 µg/ml de doxorubicine (partie gauche de la plaque), ou d'idarubicine (partie droite de la plaque). Dans les puits du bas, était ajouté l'amiodarone à la concentration de 10 µg/ml. Les puits extérieurs sont les puits contrôles non traités. La coloration au Crystal violet 1% revèle les cellules vivantes. Plus la coloration est intense, plus il y a de cellules vivantes. Sur cette photographie, on note la supériorité d'efficacité de l'idarubicine par rapport à la doxorubicine. Sur la partie gauche de la plaque, on note également que l'amiodarone (puits du bas) augmente la cytotoxicité de la doxorubicine.

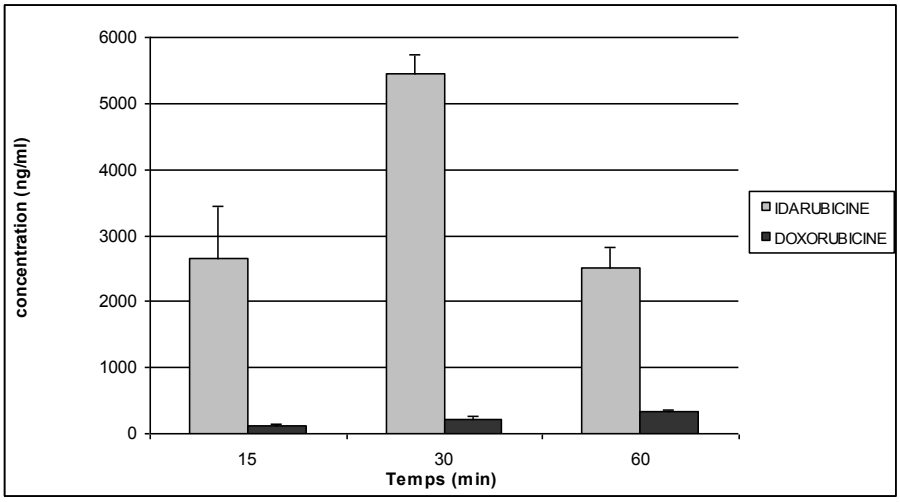


Figure 2. Concentrations intracellulaires de doxorubicine et d'idarubicine après exposition des cellules HT-29 à la concentration de 500µg/ml de chacune des 2 molécules (moyennes avec écart-types obtenus à partir de 3 puits). Les concentrations ont été déterminées par HPLC avec détecteur de fluorescence.

Annexe 6.

Émulsion lipiodolée avec idarubicine et tensioactifs

Figure 1. Photographie d'une seringue contenant une émulsion à base d'idarubicine, de lipiodol et de tensioactifs à HLB élevée. L'émulsion est stable 6 mois à 37°C.

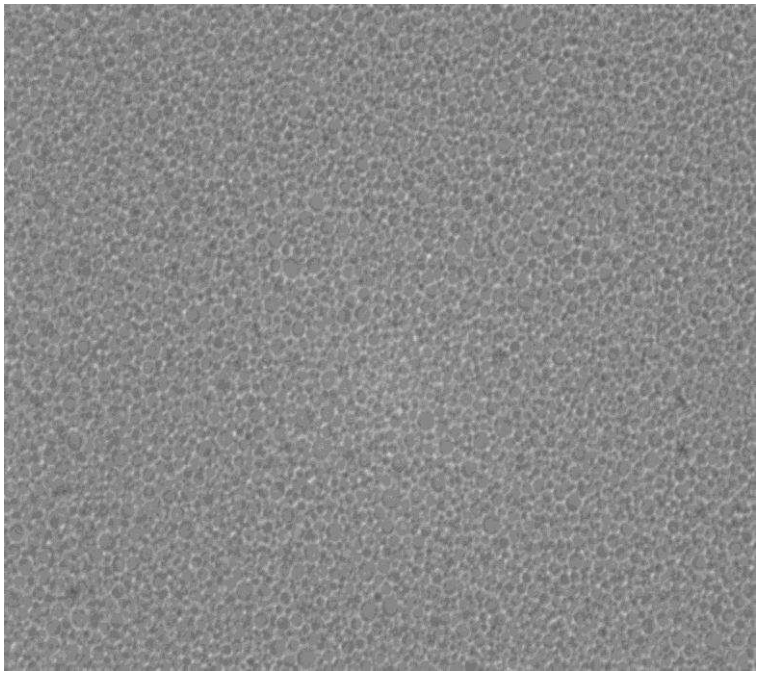


Figure 2. Photographie microscopique de l'émulsion précédente. La photographie a été réalisée en déposant quelques gouttes de l'émulsion entre lame et lamelles avec un microscope inversé, motorisé équipé pour fluorescence (Station Cell Observer, Zeiss, Plateforme Imagerie Cellulaire IFR 100, Université de Bourgogne). Le diamètre des gouttelettes se situe entre 10 et 50µm, mesures effectuées à l'aide du logiel Axovision intégré au microscope).

UNIVERSITÉ DE BOURGOGNE
UFR PHARMACIE

THÈSE DE DOCTORAT Environnement – Santé/STIC

Chimioembolisation des carcinomes hépatocellulaires : essai d'optimisation de la procédure

AUTEUR *Mathieu Boulin*

RÉSUMÉ

Avec environ 700 000 décès en 2008, le carcinome hépatocellulaire se situe au 3ème rang de la mortalité par cancers dans le monde. La chimioembolisation est le traitement recommandé chez les patients atteints d'un carcinome hépatocellulaire de stade intermédiaire B de la classification Barcelona Clinic Liver Cancer. Cette technique de radiologie interventionnelle consiste en l'injection intraartérielle d'un agent anticancéreux à l'aide d'un vecteur (lipiodol ou microsphères d'embolisation) complétée par une occlusion artérielle lorsque le lipiodol est utilisé. La médiane de survie des patients traités par chimioembolisation pour un carcinome hépatocellulaire n'excède pas 2 ans et il n'existe aucun consensus sur la procédure optimale.

L'objectif de notre travail est d'essayer d'améliorer la procédure de chimioembolisation en optimisant d'une part l'agent anticancéreux et d'autre part, son vecteur.

Il a été démontré au cours d'un travail de sélection *in vitro*, que l'idarubicine est l'agent anticancéreux le plus cytotoxique sur 3 lignées humaines de carcinome hépatocellulaire. Cette anthracycline présente une cytotoxicité supérieure à 10 autres agents anticancéreux dont ceux utilisés en pratique clinique pour la chimioembolisation des carcinomes hépatocellulaires.

L'essai de chimioembolisation de phase II randomisé LIPIOAMIO a montré que l'addition d'amiodarone utilisé pour stabiliser une émulsion à base de lipiodol et d'anthracycline n'augmente pas signicativement la survie des patients atteints d'un carcinome hépatocellulaire non résécable non métastatique. Nous avons par ailleurs montré que l'idarubicine était chargeable et donnait une solution stable plusieurs mois avec les microsphères d'embolisation DC Bead™.

Un essai de phase I est en cours pour déterminer la dose limitante de l'idarubicine administrée dans une solution de microsphères DC Bead™ au cours d'une séance de chimioembolisation chez des patients atteints d'un carcinome hépatocellulaire non résécable, non métastatique. Quelques résultats préliminaires de cet essai sont présentés dans le manuscrit.

MOTS CLÉS

Carcinome hépatocellulaire, chimioembolisation, agent anticancéreux, lipiodol, microsphères d'embolisation