# Optimisation des stratégies thérapeutiques en radiologie interventionnelle : application en embolisation et en oncologie

Audrey Fohlen

▶ **To cite this version:**

Audrey Fohlen. Optimisation des stratégies thérapeutiques en radiologie interventionnelle : application en embolisation et en oncologie. Médecine humaine et pathologie. Normandie Université, 2019. Français. NNT : 2019NORMC424 . tel-02471068

**HAL Id: tel-02471068**
**https://theses.hal.science/tel-02471068**

Submitted on 7 Feb 2020

**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.

Normandie Université

# THÈSE

**Pour obtenir le diplôme de doctorat**

**Spécialité RECHERCHE CLINIQUE, INNOVATION TECHNOLOGIQUE, SANTE PUBLIQUE**

**Préparée au sein de l'Université de Caen Normandie**

# Optimisation des stratégies thérapeutiques en radiologie interventionnelle: application en embolisation et en oncologie.


**Présentée et soutenue par**
**Audrey FOHLEN**


| Thèse soutenue publiquement le 19/12/2019 devant le jury composé de | | |
|---|---|---|
| M. BRUNO CHAUFFERT | Professeur des universités PraticienHosp, CHU Amiens-Picardie | Rapporteur du jury |
| Mme HELENE VERNHET-KOVALSKI | Professeur des universités PraticienHosp, CHU Arnaud de Villeneuve | Rapporteur du jury |
| M. EMMANUEL BERGOT | Professeur des universités PraticienHosp, Université Caen Normandie | Président du jury |
| M. MATHIEU BOULIN | Maître de conférences, praticien hosp., CHU Dijon-Bourgogne | Membre du jury |
| Mme ANNE-VIRGINIE SALSAC | Directeur de recherche, Univ Technologique de Compiegne - UTC | Membre du jury |
| Mme MYRIAM BERNAUDIN | Directeur de recherche au CNRS, Université Caen Normandie | Directeur de thèse |
| M. BORIS GUIU | Professeur des universités PraticienHosp, Université Montpellier 1 | Co-directeur de thèse |

**Thèse dirigée par MYRIAM BERNAUDIN et BORIS GUIU, Imagerie et Stratégie Thérapeutiques de Pathologies Cérébrales et Tumorales**

UNIVERSITÉ CAEN NORMANDIE

ED 497 NBISE
Normande de Biologie Intégrative, Santé, Environnement

IST2 Imagerie & Stratégies Thérapeutiques des Pathologies Cérébrales & Tumorales

# Remerciements


## A Madame Myriam Bernaudin.

Merci Myriam de m'avoir accueillie dans ton équipe et d'avoir bien voulu diriger cette thèse malgré sa complexité et ce jusqu'au point final. Sans toi, je n'aurai pu entamer ces travaux. Merci. J'ai beaucoup apprécié l'ambiance et l'émulation au sein de l'équipe. J'espère pouvoir continuer de travailler avec vous tous.

## A Monsieur Boris Guiu

Boris, j'admire la recherche que tu fais en RIO. « Démonter les mythes et reconstruire sur des bases scientifiques », voici comment que je vois ton travail. Merci c'est un soulagement. Merci d'avoir accepté de diriger cette thèse. Tu as eu connaissances des difficultés à surmonter. Merci pour ta patience. J'espère que cette thèse n'est que le début d'une collaboration scientifique. Clinical trials … on y va.

## A Karim Bordji

Karim, tu m'as formé à la culture cellulaire. Merci. Tu as toujours été là quand j'avais besoin d'aide avec l'azote, les PSM, le RPMI, les dilutions, les pipettes, ….Et un grand merci d'avoir protégé mon petit Eliott de toutes ces chimiothérapies que tu m'as aidé à manipuler.

## A Elodie Peres

Elodie, j'ai apprécié l'aide que tu as pu m'apporter. Ton calme m'impressionne et ta mémoire aussi. Je pouvais revenir plusieurs mois après une manipulation, tu avais tout en tête. Tu es une grande scientifique.

## A Mikaël Naveau

Mikaël, j'aimerai beaucoup maîtriser les statistiques comme toi. Même si parfois cela n'a pas été simple de confronter statistiques et réalités biologiques… merci pour ton aide précieuse jusqu'au bout.

## A Samuel Valable

Samuel, merci pour ton aide et ta disponibilité sur les stats et l'informatique aussi. J'aurai bien aimé travailler avec toi concrètement sur les techniques d'imagerie. Mais vu les perspectives de ma thèse, j'aurai peut-être la chance de travailler avec toi sur l'hypoxie en imagerie.

## A Valérie Chedru-legros, Cécile Breuil et toute l'équipe de l'UPC

Un grand merci à vous pour votre disponibilité et le soutien matériel apporté lors de ma thèse. Vous avez toujours répondu positivement à mes sollicitations, même au dernier moment. Vous avez grandement facilité ce travail et toujours avec le sourire. Merci.

## A Nicolas Delcroix

Merci Nicolas d'avoir trouvé une solution « logistique » pour l'enregistrement et le post traitement de mes données à rallonge. Merci de m'avoir permis de travailler avec Mikaël.

## A Anne Virginie Salsac

Je suis ravie de t'avoir rencontrée et que nous ayons pu collaborer sur les colles. Merci de m'avoir accueillie dans ton laboratoire pour certes de brefs passages, que certains ont pu trouver trop longs… Je crois que nous n'avons pas terminé. On continue si tu veux bien.

## A Frédéric Mouriaux

Monsieur, un grand merci pour votre enthousiasme. Merci de m'avoir autorisé avec Myriam de travailler sur les lignées de mélanome de l'uvée. J'aurai aimé que vous puissiez juger ce travail.

## A Céline Gongora

Merci pour les lignées cellulaires de CRC. Nous avons mis de côté les résultats sur les lignées résistantes car ils étaient surprenants. J'aimerai aller jusqu'au bout pour comprendre.

## A Madame Hélène Vernhet Kovacsik

Chère Hélène, je te remercie d'avoir accepté de juger ce travail. Une femme, Professeur, qui pratique la RI, c'est aussi rare que précieux à mes yeux. Je te remercie de la confiance que tu m'accordes au sein de la FRI.

## A Monsieur Bruno Chauffert

Monsieur, je suis fière que mon travail puisse être jugé par vous. Boris m'a parlé de vous au tout début des travaux de screening. Je n'aurai pas imaginé pouvoir vous compter parmi mon jury. Merci

## A Mathieu Boulin

Monsieur, j'admire les travaux que vous faites en collaboration avec Boris. J'ai toujours su que les collaborations interdisciplinaires étaient bien plus riches et fructueuses qu'en intra-discipline. J'aime moi-même beaucoup travailler avec des non radiologues. Merci d'avoir accepté de juger ce travail très largement inspiré de votre thèse.

## A Emmanuel Bergot

Merci Emmanuel de m'avoir donné un peu d'air et de m'avoir permis de terminer cette thèse dans de bonnes conditions. Merci aussi d'avoir accepté de faire partie de mon jury.

## A Léa et Alicia

Merci à toutes les deux pour votre travail. Votre rigueur a été appréciée.

## A Rhéda

Le 3ème lorrain … Pas de soucis c'est Rhéda qui fait les aliquots. Merci pour ton soutien et ton aide tout au long de cette thèse. Bon courage à toi pour le 16.

## A toute l'équipe CERVOxy et aux étudiants.

Merci à Edwige pour ces gentils mots. Omar, on n'avait pas parlé de Marmouset au tout début ? Florence, Carole, votre bonne humeur et votre assistance étaient précieuses. Merci à tous ceux qui m'ont aidé ne serait-ce qu'une fois. J'ai gardé contact avec d'anciens étudiants, j'en suis ravie.

## A mes collègues de RI

A vous qui avez assuré la continuité dans le service. Je sais que cela n'a pas été facile. Merci.

## A mes amis

Merci de comprendre et respecter mes choix et merci pour votre soutien.

## A Jean Pierre

Tout cela c'est grâce ou à cause de toi. J'ai voulu le faire aussi. Ce n'était pas facile. On a subi des tempêtes. Tu crois plus en moi que je ne crois en moi. Je crois en revanche à ton amour et tu peux t'accrocher au mien.

## A mes parents, à ma sœur Anne et à toute ma famille

Merci pour votre soutien, même si vous êtes tous loin, beaucoup trop loin.

## A Eliott

Le meilleur pour la fin. Mon petit Amour, je te dédie ce travail. J'ai essayé de ne pas sacrifier les moments précieux avec toi, car te voir grandir est la chose la plus importante pour moi. Je te promets que j'ai essayé au maximum de te consacrer du temps même pendant ces derniers mois. Ta maman qui t'aime.

Table des matières

*Liste des abréviations* 9

*Sommaire des tableaux* 11

*Sommaire des figures* 13

*INTRODUCTION GENERALE* 19

**Avant-propos** 19

**La radiologie interventionnelle (RI)** 21

1. Généralités sur les actes de radiologie interventionnelle 21
2. Les stratégies thérapeutiques en radiologie interventionnelle 22
   a. Point de vue clinique 22
   b. Point de vue technique 26

*PARTIE 1 :* 31

*OPTIMISATION EN EMBOLISATION AUX AGENTS LIQUIDES COLLANTS* 31

**I. INTRODUCTION des études 1 et 2** 33

**1. Objectifs et indications de l'embolisation** 33
   a. Embolisation d'hémostase 33
   b. Embolisation d'anomalies vasculaires 35
   c. Embolisations veineuses 36
   d. Embolisation tumorale 37
   e. Autres indications d'embolisation 37

**2. Les agents d'embolisation** 38
   a. Agents embolisants temporaires versus définitifs 38
   b. Agents embolisants proximaux versus distaux 39
   c. Agents liquides versus solides 40

**3. Les agents liquides collants** 42
   a. Généralités sur l'embolisation à la colle 42
   b. Les différents types de colles 44
   c. La polymérisation de la colle et intérêts du mélange lipiodol-colle 45
   d. Recommandations cliniques sur l'embolisation à la colle 47
      i. Température d'utilisation des colles et du lipiodol 47
      ii. Préparation du mélange colle – lipiodol 48
      iii. Interactions avec les ions $OH^-$ 50
      iv. Compatibilité avec les seringues et les microcathéters 51
      v. Injection du mélange et rinçage du microcathéter 51
   e. Travaux sur l'impact de l'injection dynamique des colles 52

**II. OBJECTIFS des études 1 et 2** 52

**III. MATERIELS et METHODES de l'étude 1** 53

**IV. RESULTATS de l'étude 1** 58

**1. Temps de polymérisation des mélanges colles-lipiodol** 58
   a. Impact du ratio sur les temps de polymérisations : 58
   b. Impact du type de colle sur les temps de polymérisations 60
   c. Impact de la température sur les temps de polymérisations 63
   d. Analyse multivariée 65

**2. Analyse de la fluidité des mélanges** 66

**3. Aspect macroscopique et microscopique des mélanges** 66

**4. Evaluation de la radio opacité des mélanges** 70

**V. CONCLUSION ET DISCUSSION de l'étude 1 ____ 71**

**VI. MATERIELS et METHODES de l'étude 2 ____ 72**

**VII. RESULTATS de l'étude 2 ____ 76**

**1. Glubran 2 et Histoacryl. ____ 76**

**2. Purefill ____ 77**

**VIII. CONCLUSION et DISCUSSION de l'étude 2 ____ 79**

**IX. DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES SUR L'EMBOLISATION AUX AGENTS LIQUIDES COLLANTS ____ 80**

***PARTIE 2 : ____ 83***

***OPTIMISATION EN RADIOLOGIE INTERVENTIONNELLE ONCOLOGIQUE (RIO) ____ 83***

***Chapitre 1 IMPLICATION DE LA RI DANS LE DIAGNOSTIC DES TUMEURS ____ 85***

**I. INTRODUCTION de l'étude 3 « biopsies endobiliaires » ____ 85**

**II. MATERIELS ET METHODES de l'étude 3 ____ 87**

**III. RESULTATS de l'étude 3 (article 1) ____ 89**

**IV. CONCLUSION de l'étude 3 ____ 101**

***Chapitre 2 IMPLICATION DE LA RI DANS LE TRAITEMENT DES TUMEURS HEPATIQUES ____ 102***

***A. LES TECHNIQUES DE RADIOLOGIE INTERVENTIONNELLE ONCOLOGIQUE (RIO) ____ 102***

**I. INTRODUCTION de l'étude 4 « Evaluation des pratiques en TACE pour le traitement du CHC en France » ____ 102**

**1. Les traitements percutanés ____ 102**

**2. Les traitements intra-artériels hépatiques ____ 103**

a. Embolisation exclusive ____ 103

b. Chimioembolisation artérielle ____ 104

i. Rationnel de l'utilisation du lipiodol (cTACE) ____ 105

ii. Préparation de l'émulsion lipiodol-cytotoxique ____ 106

iii. Choix de l'agent cytotoxique ____ 106

iv. Embolisation ____ 107

v. Technique aux billes chargées (DEB-TACE) ____ 107

vi. Comparaison cTACE vs DEB-TACE ____ 108

c. Chimiothérapie intra-artérielle hépatique (CIAH) ____ 110

d. Radiothérapie interne sélective (SIRT) ____ 111

**II. MATERIELS et METHODES de l'étude 4 ____ 113**

**III. RESULTATS de l'étude 4 (article 2) ____ 114**

**IV. CONCLUSION de l'étude 4 ____ 124**

***B. LES METASTASES HEPATIQUES DES MELANOMES DE L'UVEE ____ 126***

**I. INTRODUCTION de l'étude 5 « Screening in vitro d'agents cytotoxiques sur des lignées cellulaires de mélanome de l'uvée » ____ 126**

**1. Epidémiologie des mélanomes de l'uvée ____ 126**

**2. Anatomopathologie, pathogénèse et stades des mélanomes ____ 127**

**3. Traitements intra artériels des métastases hépatiques de mélanome de l'uvée (hors SIRT) ____ 129**

a. Chimioembolisation artérielle lipiodolée (cTACE) 129
b. Chimioembolisation artérielle aux billes chargées (DEB-TACE) 130
c. Chimiothérapie intra artérielle hépatique (CIAH) 131

**II. OBJECTIF de l'étude 5 132**

**III. MATERIELS et METHODES de l'étude 5 132**
**1. Les lignées cellulaires** 132
**2. Les chimiothérapies** 133
**3. La méthode de screening** 135
**4. Evaluation de la viabilité cellulaire** 136
**5. Analyse des résultats sur la viabilité cellulaire** 138

**IV. RESULTATS de l'étude 5 139**

**V. CONCLUSION ET DISCUSSION de l'étude 5 150**

**VI. INTRODUCTION de l'étude 6 « Etude in vitro de l'impact de l'hypoxie sur l'effet des chimiothérapies sur la viabilité de lignées cellulaires de mélanome de l'uvée » 154**

**VII. OBJECTIF de l'étude 6 154**

**VIII. MATERIELS et METHODES de l'étude 6 155**
**1. Choix des lignées cellulaires** 155
**2. Choix des agents cytotoxiques** 155
**3. Protocole expérimental d'hypoxie post-chimiothérapie in vitro** 156
**4. Evaluation de la viabilité cellulaire** 157
a. Fixation et marquage cellulaires 157
b. Prise d'images et comptages 158
c. Présentation des résultats et analyse statistique 158

**IX. RESULTATS de l'étude 6 158**

**X. CONCLUSION ET DISCUSSION de l'étude 6 166**

***C. LES METASTASES HEPATIQUES DU CANCER COLO-RECTAL 172***

**I. INTRODUCTION de l'étude 7 « Screening in vitro d'agents cytotoxiques sur différentes lignées cellulaires de cancer colorectal » 172**
**1. Epidémiologie des métastases hépatiques des cancers colorectaux** 172
**2. Anatomopathologie et stades des cancers colorectaux** 173
**3. Traitements intra-artériels des métastases hépatiques de cancer colorectaux (hors SIRT)** 175
a. La chimioembolisation aux billes chargées (DEB-TACE) 175
b. La chimioembolisation lipiodolée (cTACE) 176
c. La chimiothérapie intra artérielle hépatique (CIAH) 177

**II. OBJECTIFS de l'étude 7 180**

**III. MATERIELS ET METHODES de l'étude 7 181**
**1. Les lignées cellulaires** 181
**2. Les chimiothérapies** 183
**3. La méthode de screening** 185
**4. Evaluation de la viabilité cellulaire** 186
**5. Analyse et représentation des résultats sur la viabilité cellulaire** 186

**IV. RESULTATS de l'étude 7 188**

**XI. CONCLUSION ET DISCUSSION de l'étude 7 208**

***DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES 217***

***CONCLUSION GENERALE 225***

*Bibliographie* _____ *227*

*ANNEXE 1* _____ *255*

*ANNEXE 2* _____ *264*

*ANNEXE 3* _____ *276*

# Liste des abréviations

| | |
|---|---|
| AASLD | American association for the study of liver diseases |
| ACE | Antigène carcino-embryonnaire |
| ADC | Apparent diffusion coefficent |
| AJCC | American joint committee on cancer |
| ANAES | Agence nationale de l'accréditation et d'évaluation en santé |
| ATCC | American type culture collection |
| BCLC | Barcelona clinic liver center |
| CCAM | Classification commune des actes médicaux |
| CCR | Cancer colorectal |
| CHC | Carcinome hépatocellulaire |
| CIAH | Chimiothérapie intra-artérielle hépatique |
| CIN | Chromosomal instability |
| CPRE | Cholangiopancréatographie rétrograde endoscopique |
| c-TACE | Conventional-TACE (e.g. au lipiodol) |
| DEB-TACE | Drug eluting beads-TACE |
| DM | Dispositifs médicaux |
| DMSO | Diméthyl sulfoxide |
| DSM | Degradable starch microspheres |
| DTP | Destruction tumorale percutanée |
| EASL | European association for the study of the liver |
| EBRT | External beam radiotherapy |
| EGF | Epidermal growth factor |
| EH | Extraction hépatique |
| EORTC | European organization for research and treatment of cancer |
| EVOH | Ethylene-vinyl alcohol copolymer |
| FBGC | Foreign body giant cells |
| FOLFIRI | Protocole de chimiothérapie basé sur du 5-FU + Irinotecan |
| FOLFOX | Protocole de chimiothérapie basé sur du 5-FU + oxaliplatine + acide folinique |
| FRI | Fédération de radiologie interventionnelle |
| HAIC | Hepatic arterial infusion chemotherapy |
| HAS | Haute autorité de santé |
| i.a. | intra artériel |
| i.v. | intra veineux |
| IBCA | Isobutyl 2-cyanoacrylate |
| IBS | Indeterminate biliary stricture |
| II | Imagerie interventionnelle |
| INCa | Institut national du cancer |
| IRE | Irreversible electroporation |
| IRM | Imagerie par résonance magnétique |
| ISSVA | International society for the study of vascular anomalies |
| MAA | Macro-agrégats d'albumine |
| MAV | Malformations artério-veineuses |
| mCCR | Métastases hépatiques de cancer colorectal |
| MDR | Multi drug resistance |

| | |
|---|---|
| MMR | Mis match repair |
| mMU | Métastases hépatiques de mélanome de l'uvée |
| MO | Microscopie optique |
| MS | Methacryloxysulpholane |
| MSI | Microsatellite instability |
| MU | Mélanome de l'uvée |
| MWA | Micro-waves ablation |
| NBCA | n-butyl 2-cyanoacrylate |
| NHCA | n-hexyl-cyanoacrylate |
| NRI | Neuroradiologie interventionnelle |
| OMS | Organisation mondiale de la santé |
| PFA | Paraformaldéhyde |
| PVA | Polyvinyl alcohol |
| RCP | Réunion de concertation pluridisciplinaire |
| RECIST | Response evaluation criteria in solid tumors |
| RF | Radiofréquence |
| RFA | Radiofrequency ablation |
| RI | Radiologie interventionnelle |
| RILD | Radiation induced liver disease |
| RIO | Radiologie interventionnelle oncologique |
| RM | Résonance magnétique |
| RT | Radiation therapy |
| RX | Rayons X |
| SABR | Stereotactic ablative body radiotherapy |
| SFR | Société française de radiologie |
| SIRT | Selective internal radiotherapy |
| SMANCS | Styrene maleic acid neocarzinostatin |
| STR | Short tandem repeat |
| TACE | Trans artérial chemo embolization |
| TDM | Tomodensitométrie |
| TEP | Tomographie par émissions de positons |
| TNCD | Thésaurus national de cancérologie digestive |
| TNE | Tumeurs neuro-endocrines |
| TNM | Tumor nodes metastasis |
| TP | Temps de polymérisation |
| UICC | Union for international cancer control |
| UM | Uveal melanoma |
| US | Ultrasons |

# Sommaire des tableaux

Tableau 1: Grade des recommandations fondée sur le niveau de preuve scientifique selon la Haute Autorité de santé (HAS). ..... 22
Tableau 2: Classification des agents d'embolisation. ..... 41
Tableau 3: Principaux avantages et inconvénients de l'embolisation à la colle. ..... 44
Tableau 4: Les différentes colles les plus utilisées en 2019, agrément d'utilisation et prix. ..... 44
Tableau 5: Structure chimique du nBCA, nBCA+MS et nHCA. ..... 45
Tableau 6 : Propriétés physico-chimiques des colles comparées au lipiodol et au sang. ..... 47
Tableau 7 : Résultats de l'étude de Bracard et al. sur la viscosité du nBCA en fonction de la température et de la concentration de colle dans un élange colle+lipiodol (Bracard et al. 1998). ..... 48
Tableau 8 : Résumé des 6 conditions de température de test des mélanges colle-lipiodol. ..... 55
Tableau 9 : Aspects en MO (X100) des films obtenus en fin de polymérisation, selon les conditions a à f, au ratio 1 :1, pour chaque colle. ..... 68
Tableau 10 : Aspects en MO (X100) des films obtenus en fin de polymérisation, selon les conditions a à f, au ratio 1 :4, pour chaque colle ..... 69
Tableau 11 : Tableau des résultats intermédiaires des temps caractéristiques du Purefill comparés aux 2 autres colles (solution ionique avec glycérol). ..... 77
Tableau 12 : Tableau des résultats intermédiaires des temps caractéristiques du Purefill comparés aux 2 autres colles (solution ionique sans glycérol). ..... 78
Tableau 13 : Temps pour obtenir un début de réaction volumique avec le Purefill comparé au Glubran. ..... 79
Tableau 14 : Différentes billes chargeables en chimiothérapie disponibles en 2015 sur le marché français (Boulin et al. 2015). ..... 109
Tableau 15 : Principales caractéristiques des 2 types de sphères radioactives disponibles en 2019. ..... 111
Tableau 16: Principaux indicateurs et intervalles de confiance à 95% des mélanomes de l'uvée en France métropolitaine en 2018 (Guizard et al. 2019). ..... 126
Tableau 17: Etudes évaluant la TACE pour le traitement des métastases hépatiques de mélanome de l'uvée utilisant une variété de chimiothérapies (Eschelman et al. 2013). ..... 130
Tableau 18 : Chimiothérapies utilisées pour le screening in-vitro sur les 4 lignées cellulaires de mélanome de l'uvée. ..... 134
Tableau 19 : Valeurs des IC50 (moyenne et ET) pour les 8 chimiothérapies testées (doxorubicine, cisplatine, muphoran, mitomycine C, paclitaxel, melphalan, dacarbazine, carmustine) en fonction des lignées cellulaires de mélanomes de l'uvée (µ2, µ2F, mel270 et OMM1.3). ..... 146
Tableau 20: Valeurs des IC90 (moyenne et ET) pour les 8 chimiothérapies testées (doxorubicine, cisplatine, muphoran, mitomycine C, paclitaxel, melphalan, dacarbazine, carmustine) en fonction des lignées cellulaires de mélanomes de l'uvée (µ2, µ2F, mel270 et OMM1.3). ..... 146
Tableau 21 : Valeurs des CyI90 (moyenne et ET) pour les 8 chimiothérapies testées (doxorubicine, cisplatine, muphoran, mitomycine C, paclitaxel, melphalan, dacarbazine, carmustine) en fonction des lignées cellulaires de mélanomes de l'uvée (µ2, µ2F, mel270 et OMM1.3). ..... 147
Tableau 22 : Principaux indicateurs en 2018 pour le cancer colorectal avec intervalles de confiance à 95% (Bouvier et al. 2019). ..... 172

Tableau 23 : Résumé des caractéristiques des lignées cellulaires de CCR utilisées dans l'étude de screening. ..... 182
Tableau 24 : Tableau récapitulatif des molécules utilisées pour le screening des lignées cellulaires de cancer colo-rectal..... 184
Tableau 25 : Valeurs des IC50 pour chaque chimiothérapie et chaque lignée cellulaire de CCR (moyenne +- ET). Les valeurs les plus basses au sein de chaque lignée sont en gras. ..... 203
Tableau 26 : Valeurs des IC90 pour chaque chimiothérapie et chaque lignée cellulaire de CCR (moyenne +- ET). Les valeurs les plus basses au sein de chaque lignée sont en gras. ..... 203
Tableau 27 : Valeurs des CyI90 pour chaque chimiothérapie et chaque lignée cellulaire (moyenne +- ET). Les valeurs les plus élevées au sein de chaque lignée sont en gras. ..... 204
Tableau 28 : Tableau des avantages pharmacocinétiques pour l'infusion intra artérielle hépatique (Dizon et al. 2008). EH (%) : taux d'extraction hépatique. ..... 211

# Sommaire des figures

Figure 1: Algorithme de traitement du CHC proposé par le BCLC, soutenu par l'EASL et l'EORTC en 2011. ..... 23
Figure 2: Algorithme de traitement du CHC, mis à jour en 2018 par l'EASL. ..... 24
Figure 3: Focus sur les stades précoces dans l'algorithme de traitement des CHC proposé par l'EASL en 2011 ..... 25
Figure 4: Focus sur les stades précoces dans l'algorithme de traitement des CHC proposé par l'EASL en 2018 ..... 25
Figure 5: Algorithme modifié du BCLC proposé par le congrès Asie - Pacifique en 2016 pour le positionnement de la radioembolisation (SIRT). ..... 25
Figure 6: Algorithme modifié du BCLC proposé par le congrès Asie - Pacifique en 2016 pour le positionnement de la radiothérapie. ..... 26
Figure 7: Représentation de la répartition des agents cytotoxiques utilisés en chimioembolisation artérielle hépatique pour le traitement du CHC selon l'analyse de la littérature de Marelli et al. 2007. (SMANCS : Styrene Maleic Acid Neocarzinostatin) ..... 27
Figure 8: Coupe axiale d'un scanner hépatique réalisé chez un patient traumatisé au temps veineux.. ..... 34
Figure 9: Angiographie correspondant au scanner de la figure 8. ..... 34
Figure 10: Image endoscopique mettant en évidence un saignement en jet à partir d'un ulcère duodénal ..... 35
Figure 11: Angiographie mettant en évidence une érosion artérielle en rapport avec un ulcère.. ..... 35
Figure 12: Artériographie d'une malformation artério-veineuse utérine. ..... 36
Figure 13 : Torpédos de gélatine obtenus après découpe de la plaque de gélatine. ..... 39
Figure 14 : Petits cubes de gélatine obtenus après découpe de la plaque de gélatine ..... 39
Figure 15 : Découpe d'une plaque de gélatine. ..... 39
Figure 16 : Représentation de la viscosité du mélange nBCA-lipiodol, en fonction du % de lipiodol (Takasawa et al. 2012) ..... 49
Figure 17 : Capacité de diffusion du mélange nBCA-lipiodol représentée indirectement par l'aire formée par le mélange à la surface d'une boîte de pétri en fonction du volume de lipidol (Takasawa et al. 2012). ..... 49
Figure 18 : Temps de polymérisation en fonction du volume de lipiodol (Takasawa et al. 2012) ..... 50
Figure 19 : Photo du montage expérimental pour évaluer les TP des mélanges lipiodol-colle au sein du laboratoire Guerbet.. ..... 54
Figure 20 : Schéma du montage expérimental pour évaluer les TP des mélanges lipiodol-colle au sein du laboratoire Guerbet ..... 54
Figure 21 : Bain marie à 37°C permettant de réchauffer colle et lipiodol ® à 37°C. ..... 55
Figure 22: Portoir pour tubes à hémolyse contenant les mélanges colle-lipiodol. ..... 56
Figure 23 : Photo réalisée à la fin d'une polymérisation d'un mélange de colle + lipiodol, à la surface du SVF. ..... 56
Figure 24 : Impact du ratio colle-lipiodol sur les TP, toutes colles confondues. ..... 58
Figure 25 : Impact du ratio colle-lipiodol sur les TP, pour le Glubran 2 ..... 59
Figure 26 : Impact du ratio colle-lipiodol sur les TP, pour l'Histoacryl. ..... 59
Figure 27 : Impact du ratio colle-lipiodol sur les TP, pour le Purefill. ..... 60
Figure 28 : Impact du type de colle sur les TP, tous ratios confondus. ..... 60

Figure 29 : Impact du type de colle sur les TP, au ratio 1:1. ..... 61
Figure 30 : Impact du type de colle sur les TP, au ratio 1:4. ..... 62
Figure 31: Impact de la température sur les TP, toutes colles confondues, tous ratios. ..... 63
Figure 32 : Impact de la température sur les TP, pour le Glubran, à chaque ratio. ..... 64
Figure 33 : Impact de la température sur les TP, pour l'Histoacryl, à chaque ratio. ..... 64
Figure 34 : Impact de la température sur les TP, pour le Purefill, à chaque ratio. ..... 64
Figure 35 : Aspect macroscopique des produits de polymérisation colle-lipiodol, au ratio 1:1. ..... 66
Figure 36 : Différence macroscopique entre les ratios pour les 3 colles, en fonction des ratios. ..... 67
Figure 37 : Plaque contenant soit du lipiodol pur, soit les mélanges colle-lipiodol, soit lipidol-tantal ou tantal pur, radiographiée. ..... 70
Figure 38 : Radiographies sur lame, des produits de polymérisations, en fonction des ratios et des colles. ..... 70
Figure 39 : Modèle expérimental (a) utilisé pour évaluer la réaction de polymérisation d'une solution contenant de la colle au contact d'une solution ionique. Les 2 solutions sont mises en contact dans un microtube (b). ..... 72
Figure 40: Composition d'un litre de solution ionique (Li et al. 2017). ..... 72
Figure 41: Modification de l'interface entre la solution ionique et la solution contenant la colle, évaluée sur des temps courts (Li et al. 2017). ..... 73
Figure 42: Modification à partir de l'interface vers la solution contenant la colle, évaluées sur des temps longs (Li et al. 2017). ..... 73
Figure 43 : Photo des seringues connectées à l'aide d'un connecteur mono-voie, pour la réalisation des mélanges colle-lipiodol, à l'UTC de Compiègne. ..... 74
Figure 44 : Photo du montage expérimental pour évaluer la polymérisation des colles - UTC de Compiègne. ..... 75
Figure 45: Principe du calcul des temps caractéristiques (T f) reflétant les temps de polymérisation au niveau de l'interface d'après Li et al. 2017. ..... 76
Figure 46 : Résultats des temps caractéristiques pour une polymérisation à 90 % (Li et al. 2017) pour le Glubran (G) et l'Histoacryl (H) en fonction des concentrations de colle dans le mélange avec le lipidol (L) (Li et al. 2017). ..... 76
Figure 47 : Représentation (b) de la propagation de la polymérisation en volume avec une solution ionique ayant la même viscosité que le sang à partir des enregistrements vidéo (a) (Li et al. 2017). ..... 76
Figure 48 : Représentation de la polymérisation avec une solution ionique contenant des protéines. Exemple du Glubran avec une concentration de colle à 50 % (Li et al. 2017). ..... 77
Figure 49 : Analyse préliminaire de la polymérisation interfaciale avec le Purefill®. ..... 77
Figure 50 : Absence d'opacité du mélange Purefill-lipiodol au sein des micro-tubes (à 1h ou à 23h après le début du contact colle-lipiodol). ..... 78
Figure 51 : Microtube après 4h et 23h de la mise en contact du mélange Purefill-lipiodol et solution ionique. ..... 79
Figure 52 : Taux d'incidence selon la classe d'âge en France en 2018 des mélanomes de l'uvée (Guizard et al. 2019). ..... 126
Figure 53 : Voie de signalisation de G alpha dans le mélanome de l'uvée (Yang et al. 2018). ..... 128

Figure 54: Photographies des lignées cellulaires de mélanome de l'uvée utilisées utlisée pour l'étude du screening de chimiothérapies. Photographie prise au microscope inversé (Primo Vert, Zeiss, Gottingen, Allemagne ; grossissement X40). ..... 133
Figure 55 : Exemple de plaque 96 puits ensemencée avec une lignée cellulaire (OMM 1.5) et mise en contact avec 2 chimiothérapies (A et B) à des concentrations décroissantes pendant 30 minutes. La colonne 12 correspond au témoin sans drogue. ..... 136
Figure 56 : Plaque 96 puits obtenu après incubation de 2 heures du réactif WST-1, avant la lecture dans le spectrophotomètre. ..... 137
Figure 57 : Schéma résumant la chronologie de la méthode de screening. ..... 137
Figure 58 : Courbe de viabilité des 4 lignées de mélanome de l'uvée, mises en contact 30 minutes avec la doxorubicine à J1. Analyse de la viabilité à J4. ..... 140
Figure 59 : Courbe de viabilité des 4 lignées de mélanome de l'uvée, mises en contact 30 minutes avec le cisplatine. à J1. Analyse de la viabilité à J4. ..... 140
Figure 60 : Courbe de viabilité des 4 lignées de mélanome de l'uvée, mises en contact 30 minutes avec le muphoran à J1. Analyse de la viabilité à J4. ..... 141
Figure 61 : Courbe de viabilité des 4 lignées de mélanome de l'uvée, mises en contact 30 minutes avec la mitomycine C à J1. Analyse de la viabilité à J4. ..... 141
Figure 62 : Courbe de viabilité des 4 lignées de mélanome de l'uvée, mises en contact 30 minutes avec le paclitaxel.à J1. Analyse de la viabilité à J4.. ..... 142
Figure 63 : Courbe de viabilité des 4 lignées de mélanome de l'uvée, mises en contact 30 minutes avec le melphalan.à J1. Analyse de la viabilité à J4.. ..... 142
Figure 64 : Courbe de viabilité des 4 lignées de mélanome de l'uvée, mises en contact 30 minutes avec la dacarbazine.à J1. Analyse de la viabilité à J4.. ..... 143
Figure 65 : Courbe de viabilité des 4 lignées de mélanome de l'uvée, mises en contact 30 minutes avec la carmustine.à J1. Analyse de la viabilité à J4. . ..... 143
Figure 66 : Histogramme des CyI90 en fonction des chimiothérapies pour µ2. ..... 148
Figure 67 : Histogramme des CyI90 en fonction des chimiothérapies pour µ2F. ..... 148
Figure 68 : Histogramme des CyI90 en fonction des chimiothérapies pour mel 270. ..... 149
Figure 69 : Histogramme des CyI90 en fonction des chimiothérapies pour OMM 1.3. ..... 149
Figure 70 : Graphe schématique du choix des concentrations des chimiothérapies pour les tests d'hypoxie. ..... 155
Figure 71 : Schéma d'une plaque 24 puits pour les tests d'hypoxie. ..... 156
Figure 72 : Récapitulatif chronologique du protocole d'hypoxie. ..... 157
Figure 73 : Effet de l'hypoxie seule sur les 4 lignées de mélanome de l'uvée. ..... 159
Figure 74 : Effet de la chimiothérapie seule sur les lignées de mélanomes de l'uvée. ..... 160
Figure 75: Courbe de viabilité du test de screening sur les lignées de UM avec la doxorubicine ..... 161
Figure 76: Courbe de viabilité du test de screening sur les lignées de UM avec le cisplatine ..... 161
Figure 77 : Pourcentage du nombre de cellules (µ2) par rapport au contrôle (100 %) à chaque taux d'oxygène, en fonction de la chimiothérapie. ..... 162
Figure 78 : Pourcentage du nombre de cellules (µ2F) par rapport au contrôle (100 %) à chaque taux d'oxygène, en fonction de la chimiothérapie. ..... 163
Figure 79 : Pourcentage du nombre de cellules (mel 270) par rapport au contrôle (100 %) à chaque taux d'oxygène, en fonction de la chimiothérapie. ..... 164
Figure 80 : Pourcentage du nombre de cellules (OMM 1.3) par rapport au contrôle (100 %) à chaque taux d'oxygène, en fonction de la chimiothérapie. ..... 165

Figure 81 : Voie de HIF (Harris et al. 2002). ..... 168
Figure 82 : Taux d'incidence et de mortalité selon la classe d'âge en France en 2018 pour le cancer colorectal (Bouvier et al. 2019). ..... 173
Figure 83 : Courbe de viabilité des 6 lignées cellulaires de CCR, mises en contact 30 minutes à J1 avec le lipiodol. Analyse de la viabilité à J4. ..... 188
Figure 84 : Courbe de viabilité des 6 lignées cellulaires de CCR, mises en contact 30 minutes à J1 avec le bevacizumab. Analyse de la viabilité à J4 ..... 188
Figure 85 : Courbe de viabilité des 6 lignées cellulaires de CCR, mises en contact 30 minutes à J1 avec le 5-FU. Analyse de la viabilité à J4. ..... 189
Figure 86 : Courbe de viabilité des 6 lignées cellulaires de CCR, mises en contact 30 minutes à J1 avec l'oxaliplatine. Analyse de la viabilité à J4 ..... 189
Figure 87 : Courbe de viabilité des 6 lignées cellulaires de CCR, mises en contact 30 minutes à J1 avec l'irinotecan. Analyse de la viabilité à J4 ..... 190
Figure 88 : Courbe de viabilité des 6 lignées cellulaires de CCR, mises en contact 30 minutes à J1 avec l'idarubicine. Analyse de la viabilité à J4. ..... 191
Figure 89 : Courbe de viabilité des 6 lignées cellulaires de CCR, mises en contact 30 minutes à J1 avec la doxorubicine. Analyse de la viabilité à J4. ..... 192
Figure 90 : Courbe de viabilité des 6 lignées cellulaires de CCR, mises en contact 30 minutes à J1 avec l'épirubicine. Analyse de la viabilité à J4. ..... 192
Figure 91 : Courbe de viabilité des 6 lignées cellulaires de CC, mises en contact 30 minutes à J1 avec la mitomycine C. Analyse de la viabilité à J4. ..... 193
Figure 92 : Courbe de viabilité des 6 lignées cellulaires de CCR, mises en contact 30 minutes à J1 avec la gemcitabine. Analyse de la viabilité à J4. ..... 193
Figure 93 : Courbe de viabilité des 6 lignées cellulaires de CCR, mises en contact 30 minutes à J1 avec le raltitrexed. Analyse de la viabilité à J4 ..... 194
Figure 94 : Courbe de viabilité des 6 lignées de CCR, mises en contact 30 minutes à J1 avec le cisplatine. Analyse de la viabilité à J4. ..... 194
Figure 95 : Courbe de viabilité des 6 lignées cellulaires de CCR, mises en contact 30 minutes à J1 avec la streptozocine. Analyse de la viabilité à J4. ..... 195
Figure 96 : Courbe de viabilité des 6 lignées cellulaires de CCR, mises en contact 30 minutes à J1 avec le paclitaxel. Analyse de la viabilité à J4. ..... 196
Figure 97 : Courbe de viabilité cellulaire de CaCO2 en fonction des 12 chimiothérapies testées. ..... 197
Figure 98 : Courbe de viabilité cellulaire de HCT 116 en fonction des 12 chimiothérapies testées. ..... 198
Figure 99 : Courbe de viabilité cellulaire de HT 29 en fonction des 12 chimiothérapies testées. ..... 199
Figure 100 : Courbe de viabilité cellulaire de SW 48 en fonction des 12 chimiothérapies testées. ..... 200
Figure 101 : Courbe de viabilité cellulaire de SW 480 en fonction des 12 chimiothérapies testées. ..... 201
Figure 102 : Courbe de viabilité cellulaire de SW620 en fonction des 12 chimiothérapies testées. ..... 202
Figure 103 : CyI90 moyen pour CaCO2, en fonction des 12 chimiothérapies. ..... 205
Figure 104 : CyI90 moyen pour HT29, en fonction des 12 chimiothérapies. ..... 205
Figure 105 : CyI90 moyen pour SW480, en fonction des 12 chimiothérapies. ..... 206
Figure 106 : CyI90 moyen pour SW620, en fonction des 12 chimiothérapies. ..... 206

Figure 107 : CyI90 moyen pour HCT116, en fonction des 12 chimiothérapies. ..... 207
Figure 108 : CyI90 moyen pour SW48, en fonction des 12 chimiothérapies. ..... 207
Figure 109: Profil de concentration de la doxorubicine dans les tissus autour des billes à 8h, 9=14 jours et 32-36 jours après embolisation aux billes chargées à la doxorubicine (moyenne et écart type) (Namur J. 2009). ..... 220
Figure 110 : Billes chargées à la doxorubicine dans un nodule tumoral à 8 heures (A), dans la nécrose de coagulation à 32 heures (B). Coloration HES (Hématoxyline Eosine Safran) (Namur J, 2009). ..... 220
Figure 111: Photographies d'une émulsion « eau dans huile » (Nakamura et al. 1989). ..... 221
Figure 112: Modification de la microcirculation intra-tumorale (A) après embolisation seule (B) et après chimioembolisation au lipiodol complétée par une embolisation aux particules (C) (Kan et al. 2008, modifié par K Osuga). ..... 222

# INTRODUCTION GENERALE

## Avant-propos

L'imagerie médicale est une spécialité regroupant toutes les techniques (rayons X (RX), ultrasons (US), tomodensitométrie (TDM) et résonance magnétique (RM)) permettant d'explorer l'ensemble des parties du corps. La diversité de cette spécialité et les avancées technologiques ont donné naissance à des surspécialités telles que l'imagerie uro-digestive, ostéoarticulaire ou cardio-thoracique. L'imagerie interventionnelle (II), aussi appelée Radiologie Interventionnelle (RI) est une surspécialité de la radiologie, dont la définition retenue par la Société Française de Radiologie (SFR) et la Fédération de Radiologie Interventionnelle (FRI) est la suivante : **« La Radiologie Interventionnelle comprend l'ensemble des actes médicaux invasifs ayant pour but le diagnostic et/ou le traitement d'une pathologie et réalisée sous guidage et sous contrôle d'un moyen d'imagerie (RX, ultrasons, scanner, IRM) »** (Interventionnelle 2010)**.** Depuis les années 70, les radiologues ont utilisé les techniques d'imagerie pour guider certains gestes (ponction et drainage) qui sont devenus de plus en complexes (destruction tumorale percutanée par radio-fréquence, micro-ondes ou cryothérapie). L'imagerie du système vasculaire est quant à elle bien plus ancienne. En 1907 Kassabian aurait rapporté « l'étude des vaisseaux sanguins en leur injectant une substance opaque aux rayons X » (Joffre 2002). En 1927, la première opacification vasculaire de l'aorte (aortographie) par voie trans-lombaire a été réalisée par Reynaldo Dos Santos, un urologue portugais (dos Santos 1971). C'est en 1953 qu'une révolution survient lorsqu'un radiologue suédois, Sven-Ivar Seldinger invente la technique, qui porte son nom, utilisée au quotidien, pour le cathétérisme vasculaire (Seldinger 1953). C'est en 1963 que nait la radiologie interventionnelle à visée thérapeutique. En effet, Charles Dotter, Professeur de Radiologie à Portland dans l'Oregon, appelé depuis le « père de la radiologie interventionnelle », rapporte lors du « Czechoslovak Radiological Congress » les possibilités thérapeutiques d'un cathéter endovasculaire (Payne 2001). En 1964, il réalise la première angioplastie pour traiter une ischémie artérielle des membres inférieures (Payne 2001). L'embolisation (occlusion vasculaire) guidée par un cathéter est née à la fin des années 1960.

L'américain Sidney Wallace et les français René Djindjian et Jean-Jacques Merland ont réalisés les premières embolisations de tumeurs et malformations vasculaires (Joffre 2002). La première embolisation pour hémorragie digestive a été réalisée par Josef Rösch et Charles Dotter en 1972 aux Etats Unis, grâce à des caillots autologues utilisés comme agent d'embolisation (Rösch, Dotter, and Brown 1972). Le Professeur Jacques Rémy (Lille, France) a réalisé la première embolisation artérielle bronchique en 1973 et en 1974 Le Professeur Jean-Jacques Merland la première embolisation artérielle utérine à l'hôpital Lariboisière de Paris) (Brault et al. 1976). L'embolisation a été utilisée ensuite, courant des années 80, pour traiter des tumeurs hépatiques, seule ou additionnée à des agents anti-cancéreux et du lipiodol (Yamada et al. 1983a; Sasaki et al. 1985; Ohishi et al. 1985a, 1985b; Okada et al. 1988; Fukushima et al. 1989).

Actuellement, les radiologues sont ainsi impliqués dans des actes interventionnels diagnostiques et thérapeutiques de complexités variées intéressant toutes les spécialités médicales.

D'après une enquête conduite en 2010 par la Fédération de Radiologie Interventionnelle (FRI), en France et portant sur l'activité de 2009, un peu plus de 545 000 malades ont été pris en charge pour un acte de RI diagnostique (314 920) ou thérapeutique (230 128) (Interventionnelle 2010). Les actes de sénologie interventionnelle représentaient 153 012 actes de ponctions guidées et 15 220 macro-biopsies. La RI rachidienne comportait 52 324 actes dont 48 861 infiltrations. Une explosion des poses d'accès veineux percutanés a été observée : 45 350 actes en 2009 pour 9 800 actes en 2007, soit une activité quasiment multipliée par 5 en deux ans. Les actes lourds (ou de niveau avancé) ont eux aussi augmenté. En 2011, la FRI publie les résultats d'une enquête sur l'embolisation (Bartoli and Beregi 2011). En 2010, 150 centres pratiquaient l'embolisation dont 112 assuraient la permanence des soins urgents (Bartoli and Beregi 2011). Un total de 17 462 actes avait été réalisé : traitement artériel 10 345 ; traitement de tumeurs 3 441 ; intervention veineuse 2 874 et malformation vasculaire 802. Les enquêtes précédentes relevaient : 11 046 actes en 2007 et 16 819 en 2009 (Interventionnelle 2010). Même constatation pour les actes de revascularisation pour lesquels une augmentation de 35% a été observée entre 2007 et 2009. Il existe à l'heure actuelle près de 600 types d'actes dans le répertoire de la classification commune des actes médicaux (CCAM).

Le radiologue « interventionnel » est un spécialiste qui doit connaitre les recommandations de prise en charge globale d'un patient notamment lorsqu'il s'intègre dans un parcours de soins. Il doit connaître et savoir manier tout le matériel nécessaire aux différents gestes qu'il pratique. Il en est de même pour les médicaments ou chimiothérapies qu'il est amené à utiliser. Dans ce travail, nous aborderons deux grands thèmes de la RI que sont « l'embolisation » et la « radiologie interventionnelle oncologique ».

Ce travail est motivé par le fait que la RI est encore en plein essor et qu'un travail transversal « de la paillasse au lit du malade » ou inversement pourrait permettre des améliorations et optimisations des techniques. La RI est une discipline « jeune » puisqu'elle a un peu plus de 50 ans, ce qui dans l'histoire de la médecine est infime.

# La radiologie interventionnelle (RI)

## 1. Généralités sur les actes de radiologie interventionnelle

L'objectif premier de la RI est d'accéder à une cible. Pour cela les modalités d'imagerie utilisées peuvent être soit non irradiantes (US et IRM) soit irradiantes, utilisant les RX soit en scopie ou graphie ou encore en TDM. Ce contrôle radiologique confère une très grande précision de ciblage des lésions. Il est entendu que l'utilisation de l'IRM n'est pas démocratisée à ce jour pour la RI, pour des raisons de coût, de conditions d'accès aux organes dans l'environnement IRM et de problématiques de matériel (nécessairement amagnétique).

L'accès à la cible peut se faire selon trois modalités que sont la voie percutanée directe, le réseau vasculaire (artériel ou veineux) ou encore par un orifice naturel. Les techniques de guidage par imagerie peuvent être utilisées seules ou en combinaison. Ainsi une intervention sur les voies biliaires sera d'abord pratiquée par abord percutané sous contrôle échographique et ensuite par navigation dans les canaux biliaires dont le repérage se fera après opacification (injection de produit de contraste) des voies biliaires sous RX (scopie).

Comme nous l'avons vu dans l'avant-propos, la RI se positionne sur les versants diagnostic et thérapeutique. Elle peut permettre la confirmation d'une anomalie vasculaire par angiographie, le diagnostic anatomopathologique d'une lésion tumorale par biopsie mais aussi et de plus en plus permettre de traiter une anomalie vasculaire, une tumeur …

Du fait de son large développement, la RI a été récemment scindée en 3 catégories :

- La Radiologie Interventionnelle Oncologique et traitement de la douleur (RIO et douleur)
- La Neuroradiologie (NRI)
- La Radiologie Interventionnelle endovasculaire et traitement des urgences.

## 2. Les stratégies thérapeutiques en radiologie interventionnelle

### a. Point de vue clinique

La radiologie interventionnelle doit se positionner par rapport aux autres traitements d'une pathologie. Elle est ainsi principalement confrontée aux techniques chirurgicales, aux médicaments, parfois à la radiothérapie et aussi aux autres traitements de RI.
Les données de la littérature, issues d'études, d'essais, de séries de cas, permettent d'établir en fonction des niveaux de preuve scientifique (niveau 1 à 4) des recommandations pour la pratique clinique classées en grades de A à C (tableau 1) selon l'agence nationale de l'accréditation et d'évaluation en santé (ANAES) et la Haute Autorité de Santé (HAS). En cas de données insuffisantes ou incomplètes dans la littérature, les recommandations sont basées sur des accords professionnels. En cas de niveau de preuve scientifique élevé (niveau 1) entrainant ainsi un grade A de recommandations, un acte peut être inclus avec force et consensus dans un algorithme de prise en charge.

| Grade des recommandations | Niveau de preuve scientifique fourni par la littérature |
|---|---|
| A<br>Preuve scientifique établie | Niveau 1<br>- essais comparatifs randomisés de forte puissance ;<br>- méta-analyse d'essais comparatifs randomisés ;<br>- analyse de décision fondée sur des études bien menées. |
| B<br>Présomption scientifique | Niveau 2<br>- essais comparatifs randomisés de faible puissance ;<br>- études comparatives non randomisées bien menées ;<br>- études de cohortes. |
| C<br>Faible niveau de preuve scientifique | Niveau 3<br>- études cas-témoins. |
| | Niveau 4<br>- études comparatives comportant des biais importants ;<br>- études rétrospectives ;<br>- séries de cas ;<br>- études épidémiologiques descriptives (transversale, longitudinale). |

*Tableau 1: Grade des recommandations fondée sur le niveau de preuve scientifique selon la Haute Autorité de santé (HAS).*

C'est par exemple le cas pour la chimioembolisation artérielle hépatique, que nous appellerons dans ce document aussi sous le terme anglosaxon TACE pour Trans Arterial Chemo Embolization. Dans la prise en charge du carcinome hépato-cellulaire (CHC), la TACE est validée pour le traitement des stades intermédiaires B sur la base de nombreuses études cliniques dont deux essais comparatifs randomisés et deux méta-analyses d'essais comparatifs randomisés (Lo et al. 2002; Llovet et al. 2002; Cammà et al. 2002; Llovet and Bruix 2003). L'EASL (European Association for the Study of the Liver) a publié ses premières recommandations pour la prise en charge du CHC en 2001(J Bruix et al. 2001) à la suite du congrès du BCLC (Barcelona Clinic Liver Center) en 2000. Après les publications de 2002 et 2003, l'EASL et l'EORTC (European Organization for Research and Treatment of Cancer) ont, de façon commune, publié des recommandations de prises en charge du CHC ("EASL-EORTC Clinical Practice Guidelines: Management of Hepatocellular Carcinoma." 2012). L'algorithme de traitement soutenu par l'EASL et l'EORTC est présenté sur la figure 1. On y retrouve la « TACE » (entourée en rouge) pour le traitement des stades intermédiaires. Cet algorithme est également soutenu par l'AASLD (American Association for the Study of Liver Diseases) (Jordi Bruix and Sherman 2011).

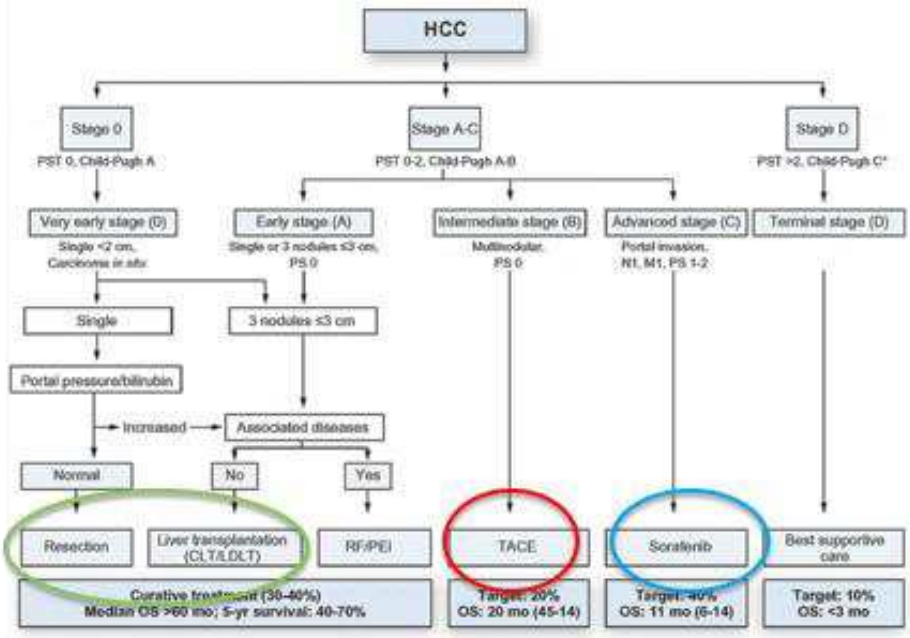



*Figure 1: Algorithme de traitement du CHC proposé par le BCLC, soutenu par l'EASL et l'EORTC en 2011.*

Dans cet exemple d'algorithme, la place d'un traitement de RI (en rouge) est bien définie par rapport aux traitements chirurgicaux (en vert) et au traitement médicamenteux (en bleu), en fonction des stades évolutifs de la maladie (stades 0, A, B, C ou D).

En fonction des évolutions scientifiques, les algorithmes sont amenés à être rediscutés. C'est le cas de l'algorithme pour le management du CHC, remis à jour par l'EASL en 2018 (Galle et al. 2018). L'algorithme validé en 2018 est présenté en figure 2. La place de la TACE n'a pas changé du fait du niveau de preuve élevé pour ce traitement (entouré en rouge).

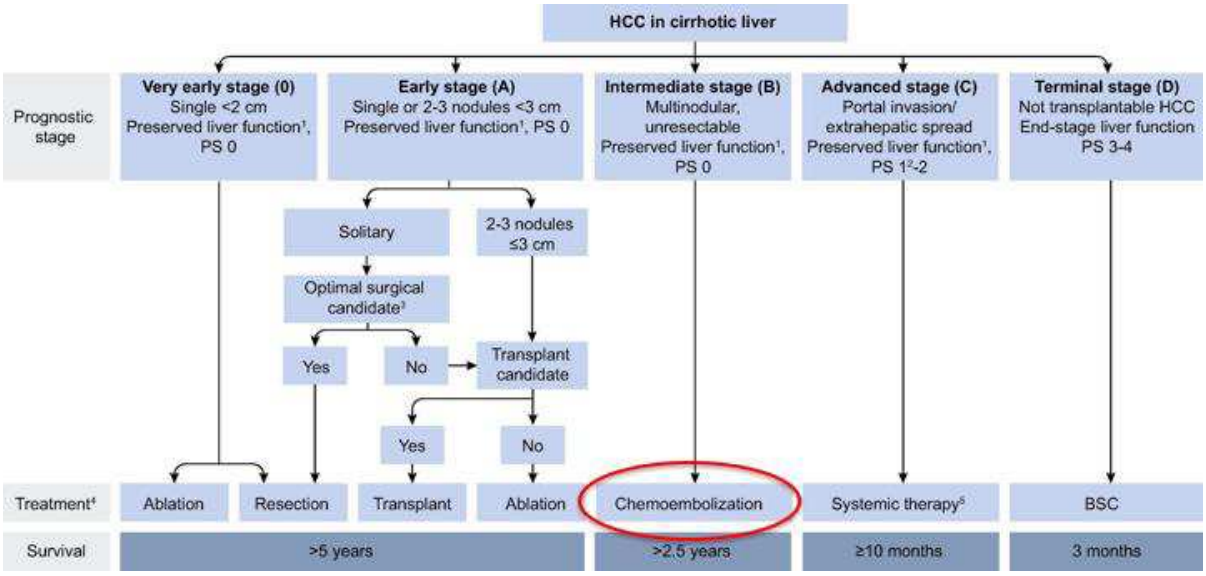



*Figure 2: Algorithme de traitement du CHC, mis à jour en 2018 par l'EASL.*

Intéressons-nous maintenant à un second traitement de RIO : l'ablation percutanée. Nous rappelons ici que nous introduisons la place des traitements de RI dans une stratégie de prise en charge. Nous détaillerons dans les chapitres suivants les détails techniques. Entre l'algorithme de 2011 et celui de 2018, les recommandations de traitement des stades précoces A et très précoces 0 ont été modifiées. La place de l'ablation percutanée qui apparait sous le terme de RF (radio-fréquence) en 2011 et sous le terme d'ablation en 2018 est différente (figures 3 et 4).

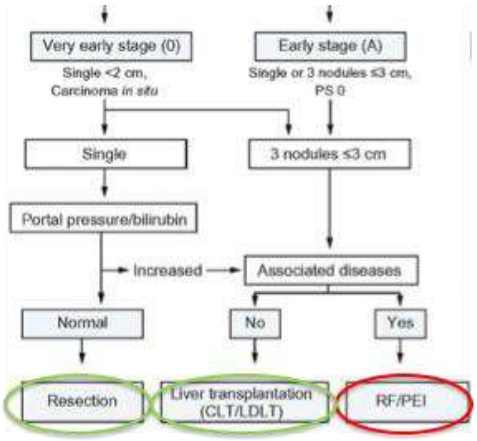



*Figure 3: Focus sur les stades précoces dans l'algorithme de traitement des CHC proposé par l'EASL en 2011*

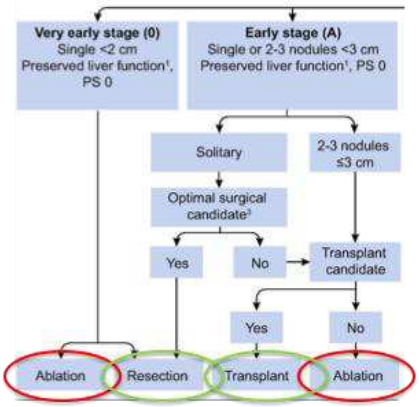



*Figure 4: Focus sur les stades précoces dans l'algorithme de traitement des CHC proposé par l'EASL en 2018*

Les algorithmes présentés sont ceux acceptés par l'EASL donc des recommandations européennes. Sur ces algorithmes n'apparaissent aucun traitement de radiothérapie, alors que s'est développée depuis plusieurs années une nouvelle technique de RI utilisant la radiothérapie : la radioembolisation ou SIRT (Selective Internal RadioTherapy).

En parallèle, sur le continent asiatique, des recommandations ont également été rédigées. Un consensus portant sur la place de la SIRT sur l'algorithme a été publié en 2016 (figure 5) (Park et al. 2016).

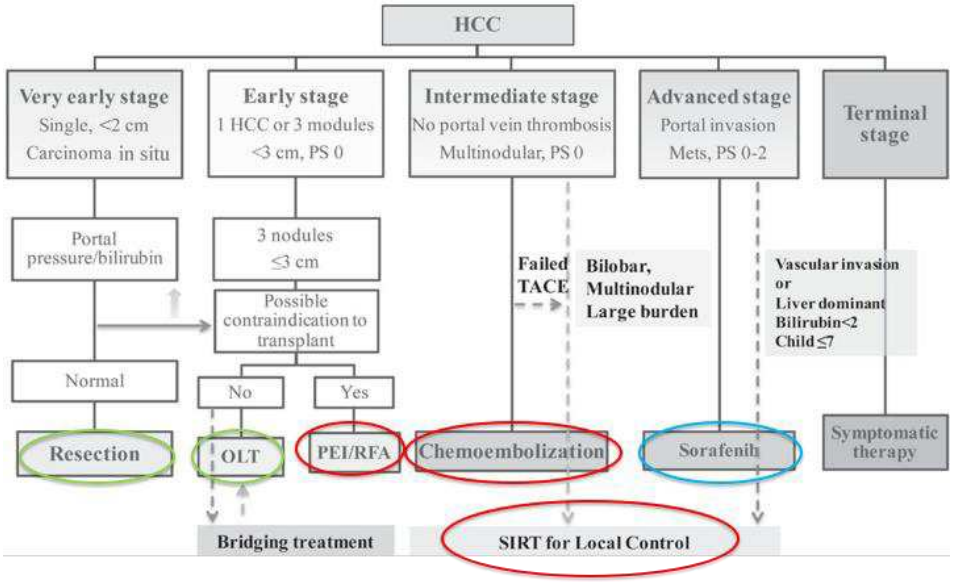



*Figure 5: Algorithme modifié du BCLC proposé par le congrès Asie - Pacifique en 2016 pour le positionnement de la radioembolisation (SIRT).*

Les recommandations asiatiques ont également intégré les traitements de radiothérapie (RT : radiation therapy) et ses variantes techniques (SABR : stereotactic ablative body RT ; EBRT : external beam RT), entourées en violet (figure 6).

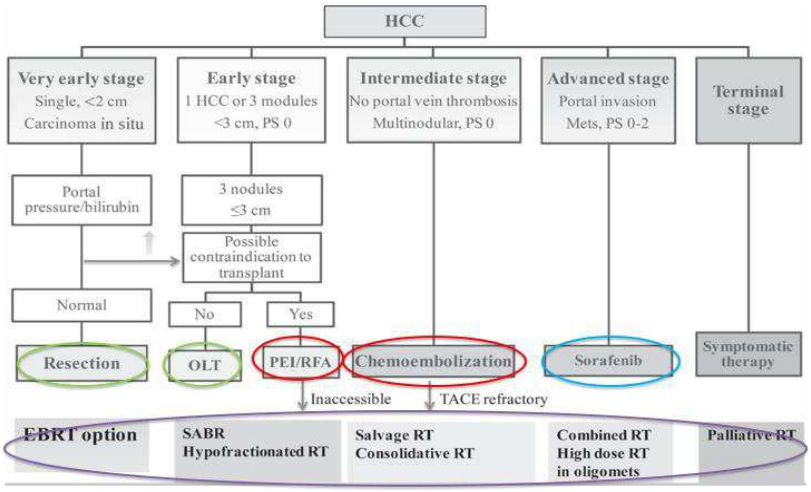



*Figure 6: Algorithme modifié du BCLC proposé par le congrès Asie - Pacifique en 2016 pour le positionnement de la radiothérapie.*

On peut donc observer des recommandations de pratique différentes en fonction des continents. Il peut également arriver et c'est malheureusement le cas le plus fréquent, que la place de la RI ne soit pas si claire. Les algorithmes restent de simples propositions selon des accords professionnels.

Concernant les actes endovasculaires d'urgence qui consistent à occlure des vaisseaux (embolisations) il est difficile de trouver des algorithmes de traitements reconnus et suivis par tous.

### b. Point de vue technique

Les stratégies de prise en charge peuvent également varier d'un point de vue purement technique. Les améliorations technologiques ont permis d'améliorer les pratiques de RI que ce soit des améliorations sur les systèmes de guidage (angio-scanner multi-détecteurs, IRM, fusion d'images, imagerie 3D …) ou des améliorations du matériel utilisé (micro-cathéter, particules, spires métalliques, …). L'amélioration ou optimisation des techniques permet d'élargir les indications, d'améliorer l'efficacité et également de diminuer le taux de complications. L'optimisation technique a un impact direct sur l'optimisation des stratégies de prise en charge.

Nous allons encore prendre comme exemple les traitements de RI pour le CHC. J'ai à ce sujet pu participer en tant que dernier auteur à une revue intitulée « Interventional oncology for HCC » publiée en 2016 dans le journal Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology. Cet article, co-rédigé avec le Pr Guiu, est disponible en annexe de ce travail (annexe 1).

Nous soulignons dans cet article le fait que dans la littérature de niveau 1 sur la chimioembolisation artérielle hépatique, la technique utilisée était la chimioembolisation dite conventionnelle c'est-à-dire réalisée avec du lipiodol. Nous l'appellerons cTACE pour conventional-TACE. Cette technique implique la réalisation d'une émulsion de chimiothérapie dans du lipiodol suivie d'une embolisation. Encore faut-il savoir quelle(s) chimiothérapie(s) étaient utilisée(s), à quelle dose, avec quelle quantité de lipiodol et quel agent d'embolisation ?

Concernant le choix de la chimiothérapie, il a été montré une grande hétérogénéité de l'agent voire même de combinaisons d'agent cytotoxique utilisées au travers le monde (Marelli et al. 2007). Dans cette analyse de 175 études randomisées et cohortes, il en ressort que dans 75 % des cas une seule drogue était utilisée, dans 15 % des cas deux drogues et dans 6 % trois agents cytotoxiques. La proportion de répartition entre les différents cytotoxiques est représentée sur la figure ci-dessous (figure 7), avec la doxorubicine comme agent le plus répandu.

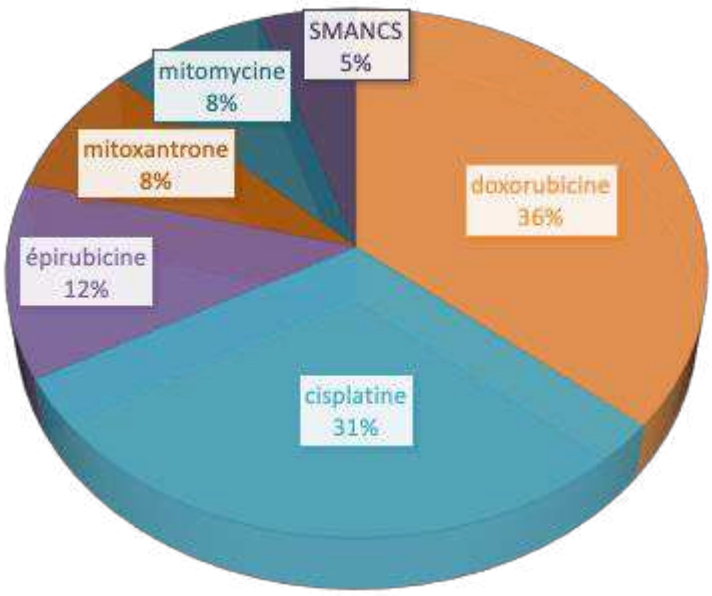



*Figure 7: Représentation de la répartition des agents cytotoxiques utilisés en chimioembolisation artérielle hépatique pour le traitement du CHC selon l'analyse de la littérature de Marelli et al. 2007. (SMANCS : Styrene Maleic Acid Neocarzinostatin)*

Les auteurs ont également relevé que l'agent d'embolisation le plus utilisé était la gélatine pour 71 %. Certains utilisaient toutefois des particules : de PVA (alcool polyvinylique) pour 8%, les DSM (degradable starch microspheres) pour 4 % et les microsphères de tris-acryl Embosphère pour 4 %.

L'objectif de l'analyse était aussi de tenter d'identifier la technique la plus efficace. Les auteurs concluaient :

- qu'aucun agent cytotoxique n'apparaissait meilleur qu'un autre ;
- qu'il n'y avait pas de supériorité du lipiodol ;
- que la gélatine était l'agent le plus utilisé mais que les particules pourraient s'avérer meilleures ;
- que l'embolisation seule apparaissait aussi efficace que la chimioembolisation ;
- que des améliorations étaient nécessaires pour réduire le risque de complications post TACE.

Mathieu Boulin et al. (2011) ont recherché le meilleur agent cytotoxique pour la chimioembolisation artérielle du CHC (Mathieu Boulin et al. 2011). On profite ici pour rappeler que le CHC fait partie des tumeurs les plus résistantes aux traitements pharmacologiques lié à la présence des protéines MDR (Multi Drug Resistance) (Petraccia et al. 2003). Ils sont partis du constat qu'aucune étude randomisée n'avait pu comparer la supériorité d'une drogue par rapport à une autre et qu'aucune étude *in-vitro* d'envergure n'avait montré quel agent cytotoxique était le plus efficace avec des temps de contact court, sur des lignées cellulaires de CHC. Le temps de contact court est en effet le reflet de ce qui se passe en chimio-embolisation artérielle hépatique, comme a pu le montrer Varela et al.(Varela et al. 2007) C'est ce travail qui a été publié en 2011 et qui a permis de démontrer *in-vitro* que l'idarubicine était la meilleure drogue sur 3 lignées cellulaires de CHC et s'avérait plus efficace que la doxorubicine classiquement utilisée (Mathieu Boulin et al. 2011).

***J'ai pris cet exemple car ce sont ces travaux qui ont conduit à une grande partie des recherches menées dans le cadre de ma thèse pour l'optimisation des stratégies thérapeutiques en radiologie interventionnelle oncologique. Ce sujet sera traité en détails dans la 2ème partie de ce manuscrit.***

Au sein des traitements endovasculaires et la prise en charge des urgences notamment hémorragiques, l'embolisation prend une place considérable. Elle se pratique avec des agents d'embolisations très variés. Parmi ceux-ci les agents liquides collants représentent une catégorie dont la manipulation est très délicate. Le mécanisme d'occlusion ainsi que les temps d'occlusion en fonction des préparations des colles sont assez mal connus. Les plus jeunes radiologues attendent des recommandations claires pour l'utilisation des colles.

***Les premiers travaux réalisés dans le cadre de ma thèse ont porté sur l'étude in vitro des agents liquides collants. La 1ère partie de ce manuscrit porte donc logiquement sur l'embolisation aux agents liquides collants.***

# PARTIE 1 :

# OPTIMISATION EN EMBOLISATION AUX AGENTS LIQUIDES COLLANTS

# I. INTRODUCTION des études 1 et 2

## 1. Objectifs et indications de l'embolisation

L'embolisation est un acte médical qui consiste à occlure un ou plusieurs vaisseaux (artère ou veine) à l'aide d'agents embolisants, sous contrôle de l'imagerie. Il peut s'agir de vaisseaux de petit ou moyen calibre, de vaisseaux normaux ou pathologiques, d'anomalies vasculaires acquises ou congénitales. L'occlusion vasculaire peut être nécessaire si le ou les vaisseaux sont à l'origine d'un saignement aigu (hémorragie), à risque de saignement ou encore responsables d'une hypervascularisation tumorale. Dans la majorité des cas l'embolisation est réalisée par voie endovasculaire, sous contrôle angiographique.

### a. Embolisation d'hémostase

L'embolisation peut être indiquée dans un contexte d'hémorragie urgente à traiter. L'objectif est alors d'occlure l'anomalie vasculaire à l'origine du saignement ou le vaisseau porteur de l'anomalie. L'effet attendu est une baisse de la pression en amont de la fuite qui favorise la cicatrisation. Le geste doit se pratiquer le plus rapidement possible car l'hémorragie peut engager le pronostic vital du patient. Dans ce contexte, les anomalies peuvent être des plaies vasculaires ou des faux anévrysmes principalement. L'objectif est d'obtenir une occlusion rapide pour arrêter le saignement en phase aigüe. La lésion vasculaire peut survenir dans un contexte de traumatisme direct (coup, chute, chirurgie, plaie par arme blanche …) ou indirect (décélération). Les vaisseaux peuvent être lésés dans leur portion intra-parenchymateux (situés dans les organes) (figure 8 et 9) mais aussi extra-parenchymateuse (lame porte vaisseaux).

*Figure 8: Coupe axiale d'un scanner hépatique réalisé chez un patient traumatisé au temps veineux. Multiples plaies vasculaires traduit par des fuites massives (flaques blanches) de produit de contraste sur le parenchyme hépatique.*

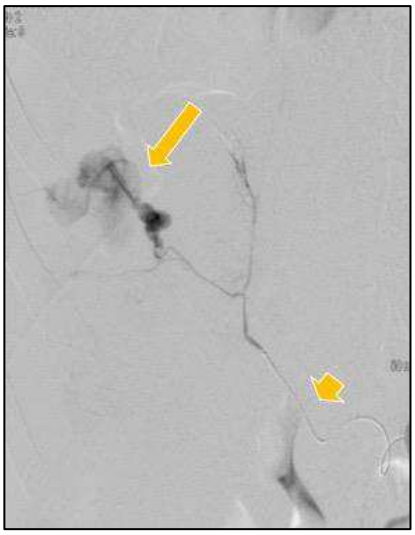


*Figure 9: Angiographie correspondant au scanner de la figure 8. La flèche jaune courte met en évidence l'extrémité du cathéter. La flèche jaune longue met en évidence une fuite de produit de contraste liée à la plaie vasculaire*

Les lésions vasculaires peuvent également être dues aux conditions locales. Une érosion vasculaire en rapport avec un environnement inflammatoire peut survenir et créer un faux anévrysme. C'est notamment le cas dans les pancréatites aiguës où les vaisseaux peuvent se retrouver au contact du liquide pancréatique qui contient des enzymes protéolytiques. On parle de faux anévrysme car il s'agit d'une dilatation anormale de la paroi vasculaire, non plus composée de 3 couches (intima, média et adventice) mais d'une seule couche donc fragilisée. Le risque de rupture est très élevé. Son occlusion serait donc à réaliser sans délai dès sa découverte.

Les hémorragies digestives (figure 10 et 11) constituent aussi des indications d'embolisation en urgence, notamment en cas d'échec des traitements endoscopiques (I.M. et al. 2015). Le mécanisme lésionnel est souvent ici aussi une érosion vasculaire secondaire à une ulcération de la muqueuse digestive. J'ai pu participer à la rédaction d'un éditorial sur les hémorragies digestives, publié en 2017, où nous soulignions la place de plus en plus prépondérante de l'embolisation dans la prise en charge des hémorragies digestives basses (Soyer, Fohlen, and Dohan 2017).

*Figure 10: Image endoscopique mettant en évidence un saignement en jet à partir d'un ulcère duodénal.*

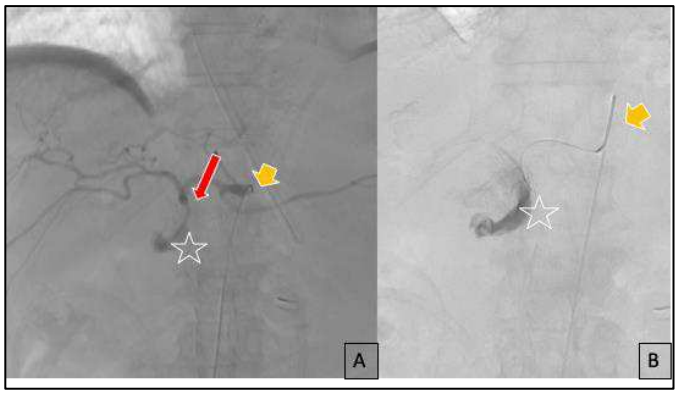



*Figure 11: Angiographie mettant en évidence une érosion artérielle en rapport avec un ulcère. L'étoile blanche met en évidence le saignement massif à partir de l'artère gastro-duodénale (flèche rouge). La flèche jaune montre l'extrémité de la sonde porteuse.*

Les hématomes spontanés des tissus mous peuvent également être traités par embolisation avec un succès technique de 90 % et clinique de 86 % d'après une étude publiée en 2015 (Dohan et al. 2015). Les résultats d'une étude multicentrique publiée en 2019 sont similaires avec des taux de succès angiographique de 95,5 % et clinique de 83 % (Barral et al. 2019).

La place et l'efficacité de l'embolisation artérielle pour traiter les hémorragies utérines du post partum sont établies depuis longtemps. J'ai pu participer à la rédaction de la mise à jour des recommandations pour la pratique clinique en 2014 (J-P Pelage, Fohlen, and Le Pennec 2014). L'atonie utérine en est l'étiologie la plus fréquente.

L'hémoptysie (extériorisation de sang rouge provenant de l'arbre bronchique) massive est une urgence médicale grevée d'une mortalité élevée. L'issu de sang dans les voies respiratoires peut entrainer des difficultés d'oxygénation et de ventilation amenant à une asphyxie. L'origine peut en être variée (lésion tumorale, mucoviscidose, érosion vasculaire…). L'embolisation fait partie des armes thérapeutiques pour contrôler définitivement le saignement (Davidson and Shojaee 2019).

### b. Embolisation d'anomalies vasculaires

Les anomalies vasculaires sont complexes et variées. L'ISSVA (International Society for the Study of Vascular Anomalies) a revu la classification en 2014, séparant les tumeurs vasculaires (hémangiomes, hémangioendothéliomes …) des malformations à flux lents (malformations capillaires, veineuses ou lymphatiques) et à flux rapides (malformations

artérielles, fistules artério-veineuses ou malformations artério-veineuses) (Dasgupta and Fishman 2014). Parmi ces anomalies, certaines sont à risque hémorragique notamment les malformations à flux rapides. Ces lésions sont traitées par embolisation pour obtenir une occlusion complète et à long terme. Dans le cas de shunts artério-veineux, l'embolisation permet de supprimer le vol artériel et l'hyperpression veineuse. Ces interventions sont réalisées à froid.

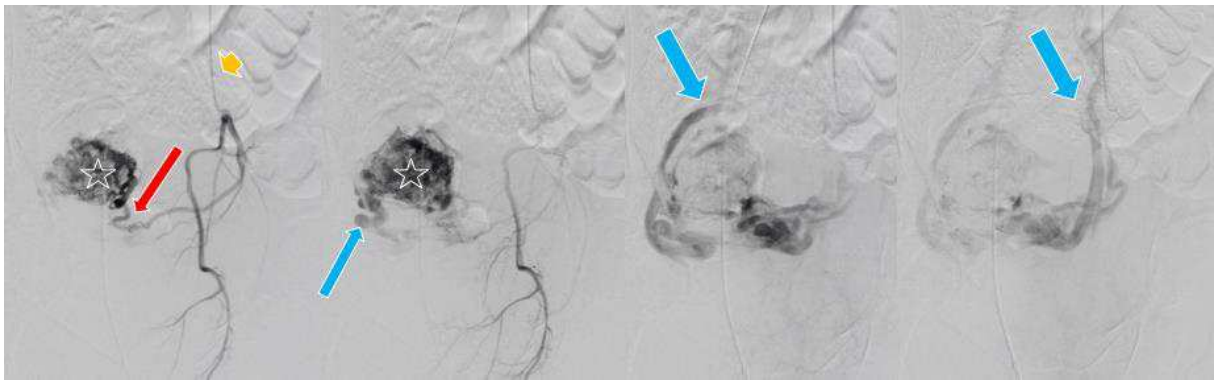


*Figure 12: Artériographie d'une malformation artério-veineuse utérine.*

Sur la figure 12, un exemple de malformation artério-veineuse (MAV) utérine identifiée en angiographie est présenté. On y observe le nidus (étoile) faisant communiquer d'un côté l'artère utérine afférente (flèche rouge) au réseau veineux de drainage (flèches bleues). Le traitement consiste à atteindre le nidus par l'agent embolisant afin de stopper l'alimentation de la sortie (veineuse) de la malformation vasculaire. Il faut donc utiliser un agent qui puisse migrer en distalité sous l'effet du flux sanguin et remplir le lit vasculaire.

Les anévrysmes artériels (dilatation sacciforme ou fusiforme d'une artère) sont également à risque hémorragique. L'occlusion doit le plus souvent intéresser le sac anévrysmal lui-même afin de l'exclure de la circulation pour empêcher son accroissement et sa rupture.

### c. Embolisations veineuses

Les dilatations anormales (varices) du système veineux sont aussi des indications d'embolisation. Les varices les plus fréquentes traitées par embolisation sont les varices pelviennes, les varicocèles ainsi que les varices digestives. Un autre territoire veineux, pouvant être embolisé, est le réseau portal, qui assure la vascularisation principale du parenchyme

hépatique sain. L'embolisation portale consiste en l'occlusion d'une partie du réseau veineux porte du foie, sans que les vaisseaux soient pathologiques. L'embolisation a alors pour objectif de diminuer la vascularisation d'une partie de l'organe afin de stimuler l'hypertrophie du foie controlatéral. Cette technique est utilisée pour préparer le foie à une résection chirurgicale extensive.

### d. Embolisation tumorale

L'embolisation peut également être indiquée pour dévasculariser et réduire la taille d'une lésion tumorale, qu'elle soit bénigne ou maligne. Dans ce cas, l'embolisation doit cibler les vaisseaux intra-tumoraux en distalité. Parmi les tumeurs bénignes, les fibromes utérins sont une cible thérapeutique pour l'embolisation, de par leur hyper-artérialisation. L'embolisation entraine une diminution de leur vascularisation et par conséquent une diminution des symptômes hémorragiques. J'ai pu participer à la rédaction de la mise à jour des recommandations en 2011(Kahn, Fohlen, and Pelage 2011). Depuis 2011, deux équipes de radiologues interventionnels dans le monde (portugaise et brésilienne) ont développé l'embolisation prostatique pour le traitement des hypertrophies bénignes (Pisco et al. 2011; Carnevale et al. 2011). L'embolisation a pour but de diminuer la taille de l'organe embolisé. Concernant l'embolisation des tumeurs malignes, nous aborderons ce sujet plus largement dans la seconde partie du manuscrit, portant sur la RI oncologique.

### e. Autres indications d'embolisation

Au cours de la maladie hémorroïdaire, la ligature élective par voie transanale des artères hémorroïdales sous contrôle Döppler a démontré son efficacité. Ces artères hémorroïdales sont alimentées par l'artère rectale supérieure. Partant de ce constat, des radiologues français ont imaginé que l'occlusion artérielle pouvait se faire non pas par ligature mais par embolisation. Cette technique qu'ils ont appelée « Emborrhoïd » s'est développée depuis 2014 (Vidal et al. 2014, 2015). Les indications d'embolisation sont très larges. Très récemment l'embolisation est venue se faire une place dans la prise en charge des tendinopathies chroniques de l'épaule et du coude (Hwang et al. 2018).

Comme nous l'avons vu les Français prennent une part importante aux développements des techniques et des indications. Les techniques d'embolisation doivent être adaptées à l'objectif de chaque indication : embolisation urgente, embolisation la plus distale possible, embolisation préventive, embolisation définitive ou temporaire. Ainsi, le radiologue doit savoir choisir parmi les outils que sont les agents d'embolisation, le ou les meilleurs en fonction des indications.

Nous allons donc présenter une revue synthétique des agents d'embolisation disponibles dans la section suivante pour ensuite se focaliser sur les agents liquides collants. L'embolisation aux colles fait intervenir des mécanismes complexes tels que la polymérisation et la biomécanique des fluides.

## 2. Les agents d'embolisation

En radiologie interventionnelle, de nombreux agents sont utilisés pour occlure les vaisseaux (éthanol, gélatine, coïls, particules calibrées ou non, etc.) (A Laurent 2006; Leyon et al. 2014) . Comme nous l'avons vu, le choix de l'agent est effectué en fonction du type d'embolisation souhaité : occlusion proximale ou distale ; définitive ou temporaire ; simple ralentissement de flux, hémo-détournement ou occlusion agressive (Coldwell, Stokes, and Yakes 1994; Leyon et al. 2014). Il dépend également du type de lésion à occlure (anévrysme, faux-anévrysme, malformation artério-veineuse, plaie vasculaire, hypervascularisation tumorale, etc.) ainsi que de la taille de la cible à emboliser et de son accessibilité (Coldwell, Stokes, and Yakes 1994; Leyon et al. 2014). Les agents d'embolisation peuvent être classés en fonction de leur durée d'action, de leur capacité à migrer distalement, de leur mécanisme d'action (mécanique ou chimique) et de leur propriété physique intrinsèque (solide ou liquide).

### a. Agents embolisants temporaires versus définitifs

La première caractéristique d'un agent est sa durée de vie dans le système vasculaire et par conséquent la durée de son effet. On distingue donc des agents à effet temporaire et des agents à effet définitif. Pour une embolisation temporaire, les agents résorbables sont utilisés.

L'agent résorbable utilisé le plus ancien est l'éponge de gélatine. Elle est disponible sous forme de plaque que l'on peut découper et préparer de différentes façons et sous différentes tailles (figures 13 à 15) ou sous forme de cubes calibrés déjà préparés.

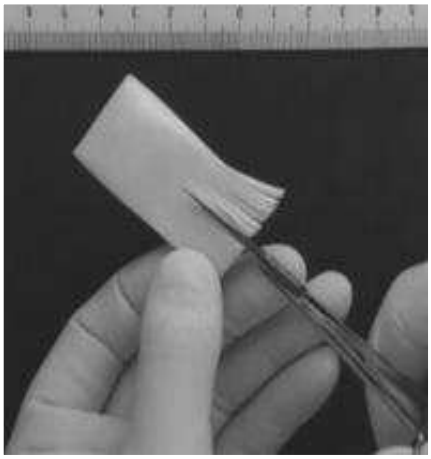


*Figure 15 : Découpe d'une plaque de gélatine.*

*Figure 14 : Petits cubes de gélatine obtenus après découpe de la plaque de gélatine*

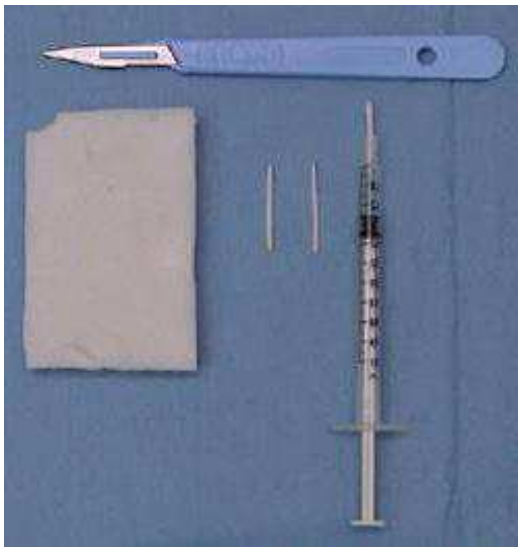


*Figure 13 : Torpédos de gélatine obtenus après découpe de la plaque de gélatine.*

La dégradation est liée à une réaction inflammatoire à corps étranger, qui aboutit à la dégradation de l'agent en quelques jours ou semaines par activation macrophagique. La recanalisation qui en résulte est en général effective mais partielle en moins d'un mois (J.-P. Pelage et al. 2006). Selon Laurent et al. (2017), les agents dégradables , bien que peu nombreux actuellement sur le marché, auraient de nombreux avantages : « la disparition du corps étranger, la possibilité d'emboliser à nouveau, la délivrance totale du médicament en un temps donné font tout l'intérêt des emboles dégradables » (Laurent Alexandre and Moine Laurence 2017). Ainsi plusieurs types de particules calibrées résorbables sont en cours de développement ou commencent à être disponibles sur le marché.

### b. Agents embolisants proximaux versus distaux

La seconde caractéristique d'un agent est sa capacité à migrer plus ou moins distalement à partir de l'extrémité du cathéter qui délivre l'agent. Une particule de petit calibre délivrée dans la circulation va être emportée par le flux et se bloquer lorsqu'elle rencontrera des

vaisseaux dont le calibre est plus petit qu'elle. La migration distale d'un agent peut ainsi être recherchée (exemple des embolisations tumorales aux particules), mais elle peut entrainer des complications en cas d'embolisation « hors- cible ». Le choix de la taille des particules est capital pour éviter ces complications. En revanche une spire métallique (coïl) va s'enrouler à la sortie du cathéter et bloquer le flux juste à la sortie de celui-ci (si le choix de la taille est correctement effectué par l'opérateur). De la même façon, un plug va être déployé pour se positionner juste à l'extrémité du cathéter.

J'ai pu, lors de mon Master 2, réaliser un travail préclinique sur un modèle animal (brebis), comparant deux types de coils : les coils fibrés et les hydrocoils. Ce travail a fait l'objet de deux publications (A. Fohlen et al. 2017; Audrey Fohlen et al. 2019). Les hydrocoils font intervenir un mécanisme d'occlusion différent des coils fibrés. Ces derniers, de par la présence de fibres de Dacron ajoutées sur les boucles de métal, favorisent l'agrégation des plaquettes au contact des boucles de platine. Il s'en suit une formation de thrombus dans la lumière vasculaire, qui correspondait à 69 % de la surface vasculaire. En revanche, pour les hydrocoils dont les boucles de platine sont enduites d'un coating d'hydrogel, l'hydrogel gonfle par échanges ioniques avec le sang et remplit la lumière vasculaire. Le thrombus formé ne représentait plus que 42 % de la surface vasculaire soit une différence statistiquement significative (p =0,0047) entre les 2 types de coils. A moyen terme (4 mois), 75 % des artères embolisées avec des coils fibrés étaient recanalisés versus 20 % pour celles embolisées avec des hydrocoils (p=0,01), ceci du fait de la lyse physiologique du thrombus avec le temps.

### c. Agents liquides versus solides

Les agents liquides ont par définition une faible viscosité ce qui rend leur injection aisée. Ils sont entrainés par le flux sanguin vers la zone cible. Ils sont, par conséquent utilisés pour leur capacité à atteindre des vaisseaux très distaux, pour lesquels le cathétérisme sélectif est impossible voire dangereux. Ils peuvent également être utilisés pour leur capacité à remplir les vaisseaux ou lésions vasculaires comme les dilatations veineuses type varicocèles ou les MAV. De par le volume qu'ils prennent dans la lumière vasculaire, leur diffusion est bien moindre que des particules. On distingue les agents sclérosants (éthanol et détergents) des

agents, qui entrainent une occlusion par formation d'un « cast » endovasculaire (les colles). Les agents sclérosants ont un effet chimique toxique sur l'endothélium, entrainant une activation du système de coagulation et l'occlusion vasculaire. Ils ont été largement utilisés dans l'embolisation des MAV avec des complications parfois sévères telles que l'hémolyse, la toxicité rénale et la vasoconstriction artérielle pulmonaire (Leyon et al. 2014). Les seconds se solidifient une fois délivrés dans la lumière vasculaire, à une vitesse plus ou moins rapide. Ils peuvent être adhésifs (colles), ou non-adhésifs (Onyx®). L'Onyx® a été introduit au début des années 2000 (Jahan et al. 2001). Il s'agit d'un copolymère (*ethylene-vinyl alcohol copolymer*, EVOH). Il est associé à un solvant, le diméthyl sulfoxide (DMSO). Sa solidification survient de l'extérieur vers l'intérieur et est liée à la diffusion du DMSO. La solidification est beaucoup plus lente que celle des colles, ce qui permet d'éviter la capture du cathéter dans le « cast » et de mieux maîtriser l'injection. De la poudre de tantale doit être ajoutée au polymère et au DMSO pour rendre l'Onyx® radio-opaque. L'injection doit être lente, en raison de la présence du solvant, qui entraine, par ailleurs, une haleine odorante (ail). Les cathéters doivent être compatibles au DMSO. Par rapport aux colles, l'Onyx® présente le désavantage de ne pas créer d'inflammation sur la paroi vasculaire. De plus, en raison de la résorption du «cast» dans la lumière, des recanalisations à long terme ont été décrites (Bauer, Bain, and Rasmussen 2015). Enfin, l'Onyx ® est aussi plus onéreux que les colles.

Le tableau 2 résume les différentes catégories d'agents d'embolisation

| Durée théorique de l'occlusion | **Agents d'embolisation** | | |
|---|---|---|---|
| Temporaire | **gélatine, particules résorbables** | | |
| Définitive | Agents solides | proximaux | **coils, plugs** |
| | | distaux | **particules de PVA, microsphères de tris-acryl** |
| | Agents liquides | adhésifs | **colles** |
| | | non adhésifs | **Onyx** |
| | | sclérosants | **alcool absolu, détergents** |

*Tableau 2: Classification des agents d'embolisation.*

Nous allons maintenant détailler les caractéristiques des agents liquides collants (colles). L'utilisation des colles repose actuellement beaucoup sur des connaissances empiriques et sur les compétences acquises en pratique clinique par les radiologues.

## 3. Les agents liquides collants

### a. Généralités sur l'embolisation à la colle

Les colles sont des agents fluides, translucides, non radio-opaques, qui se solidifient rapidement au contact de fluides ioniques tels que le sang, les solutés salins et certains produits de contraste ioniques. On parle de phénomène de polymérisation. C'est justement la formation d'un « cast » ou « plug » de colle dans la lumière vasculaire, qui permet l'occlusion de celle-ci. La colle est injectée dans le flux sanguin par un cathéter. La progression de l'agent liquide dans le système vasculaire doit être suffisante mais non excessive. Comme détaillé ultérieurement, la manipulation des colles nécessite beaucoup de précautions tant lors de leur préparation que lors de leur utilisation. Les colles entrainent un effet inflammatoire local aigu (Vinters et al. 1985a). Les effets des colles sur les tissus ont été étudiées il y a de nombreuses années (R. I. White et al. 1977; Vinters et al. 1985b). On peut notamment retrouver :

- Une nécrose intimale
- Un œdème périvasculaire (maximal dans les premières semaines).
- Une réaction à corps étranger : réaction inflammatoire à macrophages puis à cellules géantes évoluant vers la fibrose et l'incorporation du matériel dans la paroi vasculaire.

La réaction inflammatoire participe au phénomène d'occlusion vasculaire. En revanche si l'inflammation est prolongée, elle peut être source de complication en rapport avec une réponse granulomateuse, caractérisée par une prolifération de macrophages de type FBGC (*foreign body giant cells*) (Talan-Hranilović et al. 2003). La dégradation du matériel serait très lente et s'effectuerait sur plusieurs années. La recanalisation est par conséquent rare mais possible alors qu'il est habituel de considérer ce type d'embolisation comme définitive. Les premières embolisations à la colle datent de 1975 (Kerber 1975)(Dotter, Goldman, and Rösch 1975). Une embolisation pour hémorragie vaginale massive et une embolisation rénale

bilatérale pour traiter une protéinurie massive ont été les deux premiers cas publiés par Charles Dotter (Dotter, Goldman, and Rösch 1975). Ensuite, les séries publiées d'embolisation à la colle ont été réalisées en neuroradiologie, dans les années 80 (Cromwell and Harris 1980; Debrun et al. 1982; Pelz et al. 1988). La colle est alors utilisée pour l'embolisation de MAV ou de fistules AV. Elle est utilisée pour sa capacité à atteindre le nidus des MAV et à permettre leur occlusion. Certains auteurs rapportent des complications tels que des déficits neurologiques post embolisation et concluent même que ce traitement ne doit être réservé qu'aux lésions non opérables du fait que cette technique est « hasardeuse » (Whittle et al. 1983).

Certaines indications sont peu à peu apparues en embolisation périphérique comme l'embolisation des vaisseaux portes du foie (Guiu et al. 2013), des embolisations urgentes comme les hémorragies digestives (Yata et al. 2013) ou les embolisations rénales (An et al. 2015).

En plus des risques d'embolisation hors cible, de reflux, comme d'autres agents d'embolisation, sa fluidité peut entraîner une migration trop distale (cible dépassée). Son caractère collant lui confère un risque supplémentaire qu'est l'adhésion (capture) de l'extrémité du micro-cathéter (encollage) dans la colonne de colle polymérisée. Un autre inconvénient est le risque d'occlusion du cathéter lié à la polymérisation de la colle dans la lumière du cathéter. La vitesse de polymérisation (inférieur à la minute) ne donne également que très peu de temps à l'opérateur pour réaliser son intervention. Pour toutes ces raisons, les agents liquides collants sont les agents d'embolisation les plus difficiles à maîtriser et à contrôler (A Laurent 2006; Coldwell, Stokes, and Yakes 1994; Leyon et al. 2014). Leur utilisation, délicate, est réservée aux opérateurs experts et parfois même restreinte à quelques centres de RI. Pourtant, les avantages d'un tel agent sont indéniables (tableau 3) comme le démontre la littérature (Pollak and White 2001; Guiu et al. 2013; Loffroy 2017).

| Avantages | Inconvénients |
|---|---|
| Occlusion prolongée | Nécessité d'un micro-cathéter |
| Occlusion immédiate (rapide) | Polymérisation rapide |
| Occlusion d'un espace de grand volume | Adhésif (risque d'encollage ou d'occlusion du cathéter) |
| Compatibilité avec tous les cathéters et micro-cathéters | Contrôle difficile, peu prévisible |
| Utilisation possible dans les artères, les veines et les MAV | Utilisation réservée aux experts |
| Migration distale | Réaction exothermique |
| Injection aisée | Incompatibilité avec les solutés de rinçage ionique |
| Coût faible | Impossibilité de repositionnement du « cast » |
| Occlusion indépendante de la coagulation | Impossibilité de recapture du « cast » |
| Réaction inflammatoire | Réaction inflammatoire |

*Tableau 3: Principaux avantages et inconvénients de l'embolisation à la colle.*

## b. Les différents types de colles

Les colles sont des dispositifs médico-chirurgicaux de classe III. Les colles chirurgicales utilisées sont à base de monomères de cyanoacrylate. La première, utilisée aux Etats-Unis, a été de l'Isobutyl 2-cyanoacrylate (Bucrylate®, IBCA). Sa production a été arrêtée du fait d'un potentiel effet carcinogène. Elle a été remplacée par le n-butyl 2-cyanoacrylate (Histoacryl®, Enbucrylate®, NBCA) (Brothers et al. 1989). D'autres colles ont été développées depuis et sont actuellement utilisées par voie endovasculaire comme le TruFill® (USA), Glubran 2® (Europe) ou plus récemment Purefill® (Europe). Les indications d'utilisation sont approuvées par les autorités compétentes : Federal Drug Administration (FDA) aux Etats-Unis, marquage CE dans l'Union Européenne. On souligne toutefois que l'Histoacryl® n'est ni marqué CE ni approuvé par la FDA pour l'usage endovasculaire, alors qu'il est encore largement utilisé. Le tableau 4 résume les disparités entre les colles.

| Nom | Composition | Fabriquant / Pays | Utilisation endovasculaire | Marquage CE | FDA approuvé | Prix par fiole |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Histoacryl | N-butyl-2-cyanoacrylate (nBCA) | B.Braun / Allemagne (Tuttlingen) | NON | NON | NON | 25 € |
| Trufill | N-butyl-2-cyanoacrylate (nBCA) | Cordis / USA (Miami Lakes, Floride) | OUI | NON | OUI | 2000 $ |
| Purefill | Monomères de cyanoacrylate de n-hexyle (nHCA) | Fimed / France (Bobigny) | OUI mais pas aux USA ni au Japon | OUI | NON | 100 € |
| Glubran 2 | N-butyl-2-cyanoacrylate + Methacryloxysulpholane (nBCA+MS) | GEM SRL / Italie (Viareggio) | OUI mais pas aux USA ni au Japon | OUI | NON | 100 € |

*Tableau 4: Les différentes colles les plus utilisées en 2019, agrément d'utilisation et prix.*

D'après le fabricant, le Glubran 2® entrainerait une réaction inflammatoire modérée. La polymérisation débute après 1-2 secondes environ et s'achève en 60-90 secondes. La polymérisation terminée, la colle n'a plus aucun pouvoir adhésif. Le processus de dégradation est plus lent lors de l'utilisation en embolisation qu'en utilisation chirurgicale.

Pour l'Histoacryl®, le fabricant stipule que cette colle ne doit pas être appliquée sur l'intima et la média des vaisseaux sanguins car une thrombose et une altération de la paroi vasculaire pourrait se produire. La réaction inflammatoire serait majeure.

En 2018, une nouvelle colle a obtenu le marquage CE, commercialisée par les laboratoires Balt. Cette colle, dénommée Magic Glue®, n'est autre que du Purefill®.

### c. La polymérisation de la colle et intérêts du mélange lipiodol-colle

Les colles sont des adhésifs tissulaires. Comme vu ci-dessus, ils sont constitués de monomères de cyanoacrylate (liquides). Parmi les différentes colles actuellement sur le marché, 3 structures chimiques différentes sont disponibles. Deux sont pures, n-butyl-2-cyanoacrylate (nBCA) et n-hexyl-cyanoacrylate (nHCA), et la dernière est un mélange de 2 co-monomères : n-butyl-2-cyanoacrylate (nBCA) et methacryloxysulpholane (MS). Leur formule chimique est représentée dans le tableau 5.

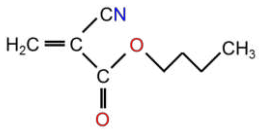
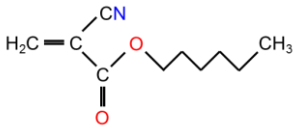
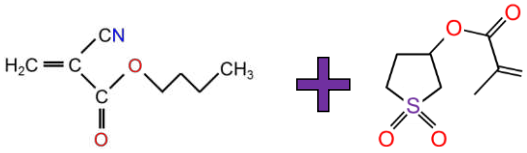
| Nom | Composition |
|---|---|
| Histoacryl | nBCA  |
| Purefill | nHCA  |
| Glubran 2 | nBCA+MS  |

*Tableau 5: Structure chimique du nBCA, nBCA+MS et nHCA.*

Au contact d'un environnement ionique (sang, eau), une réaction de polymérisation (solidification) des monomères se produit instantanément. La polymérisation est un phénomène anionique car induit par les ions $OH^-$. Elle se caractérise par un amorçage, une propagation et un arrêt de la réaction. La polymérisation produit de la chaleur (réaction exothermique) et des phénomènes inflammatoires sur les tissus adjacents (Levrier et al. 2003). Une fois polymérisée, la colle forme une structure solide, qui entraine l'occlusion vasculaire. Celle-ci est donc en théorie indépendante des paramètres de coagulation du patient. La polymérisation quasi-instantanée de la colle la rend difficilement utilisable telle quelle en embolisation. D'autre part, les colles sont radio-transparentes. Pour permettre son utilisation en radiologie, le début de la polymérisation de la colle doit être retardée et la colle rendue radio-opaque. L'incorporation d'agent huileux permet de diminuer la structuration tridimensionnelle des polymères et de retarder le phénomène de polymérisation. La colle est typiquement mélangée au lipiodol (Guerbet, Aulnay-sous-Bois, France), qui appartient à la classe pharmaco-thérapeutique des produits de contraste iodés non hydrosolubles et est composé d'esters éthyliques d'acides gras iodés de l'huile d'œillette. Il combine donc radio-opacité et composition huileuse. Il est lipophile et neutre (sans ion). Il est commercialisé sous la forme ULTRA FLUIDE, à 480 mg d'iode/ml. C'est un produit injectable, utilisé depuis de nombreuses années pour ralentir la solidification des colles(Cromwell and Kerber 1979). En RI, il n'est pas seulement utilisé pour ces deux propriétés mais également en raison de sa capacité à vectoriser une chimiothérapie et à cibler les vaisseaux tumoraux (Idée and Guiu 2013). D'après le fabricant, il n'est pas recommandé d'utiliser plus de 15 ml de lipiodol par séance d'embolisation. Les matériaux utilisés avec le lipiodol ne doivent pas être en plastique. Sa conservation se fait à l'abri de la lumière. Les colles, le lipiodol et le sang ont des caractéristiques physico-chimiques différents (tableau 6).

| Nom | présentation commerciale | viscosité (cP; mPa.s) | densité (g/cm³) | température de polymérisation | température de stockage |
|---|---|---|---|---|---|
| Histoacryl (n-BCA) | | 2-3,5 à 20 °C | 1,0 (20°C) | 90°C | 0°C - 4°C |
| Purefill (n-HCA) | | 12 à 20°C | nd | 2°C | 2 ans à < 5°C<br>6mois à 25°C |
| Glubran 2 (n-BCA+MS) | | 3,5 à 25°C | 1,03 | 45°C | 0°C - 4°C |
| lipiodol ultra-fluide | | 70 à 15°C<br>47,8 à 25°C<br>25 à 37°C | 1,280 (15°C) | nd | 20-25°C |
| sang | | 4-6 à 37°C | 1,053 - 1,059 | | |

*Tableau 6 : Propriétés physico-chimiques des colles comparées au lipiodol et au sang.*

## d. Recommandations cliniques sur l'embolisation à la colle

De par les propriétés intrinsèques des colles et du lipiodol, leur utilisation doit respecter certaines recommandations. Nous citons dans ce chapitre toutes les recommandations retrouvées pour l'embolisation avec des agents liquides collants que ce soit dans la littérature scientifique ou dans les instructions d'utilisation des fabricants.

### i. Température d'utilisation des colles et du lipiodol

La plupart des colles sont conservées à 4°C, le lipiodol est en revanche conservé à température ambiante. Nous avons vu plus haut (tableau 6) que les viscosités variaient en fonction de la température. Aucune recommandation concernant la température optimale d'utilisation intégrant l'impact sur la polymérisation n'existe. Une étude *in vitro* a toutefois été réalisée par Bracard et al. (1998) pour démontrer l'impact de la température sur la viscosité du mélange lipiodol et colle (Bracard et al. 1998). Les auteurs rapportent qu'en chauffant le mélange (histoacryl et lipiodol) à près de 40°C, la viscosité de celui-ci diminuait significativement et que son injection était plus aisée. Le tableau 7 est issu de cet article. Pour le Purefill®, le fabricant stipule que la fiole doit être sortie de son lieu de stockage quelques minutes avant son utilisation.

| | Concentration of NBCA | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Temperature** | **0%** | **20%** | **33%** | **50%** | **66%** | **80%** | **100%** |
| 15°C | 67.7797 | 30.8039 | 19.5455 | 11.5476 | 7.3739 | 5.5147 | 3.8545 |
| 20°C | 51.7964 | 25.0243 | 16.3772 | 9.9704 | 6.4834 | 4.8772 | 3.3935 |
| 25°C | 40.3552 | 20.0956 | 13.4214 | 8.3972 | 5.6164 | 4.3196 | 3.1127 |
| 30°C | 32.5986 | 17.1034 | 11.7308 | 7.5330 | 5.1203 | 3.9603 | 2.8462 |
| 35°C | 26.7177 | 14.2950 | 9.9627 | 6.5582 | 4.5898 | 3.6410 | 2.7343 |
| 40°C | 21.9887 | 11.9321 | 8.4377 | 5.6972 | 4.1195 | 3.3668 | 2.6691 |

*Tableau 7 : Résultats de l'étude de Bracard et al. sur la viscosité du nBCA en fonction de la température et de la concentration de colle dans un élange colle+lipiodol (Bracard et al. 1998).*

### ii. Préparation du mélange colle – lipiodol

Les mélanges sont réalisés de façon empirique, selon les habitudes des opérateurs. On ne sait pas s'il existe une méthode de mélange optimale. En clinique, on observe des pratiques très variées concernant la méthode de mélange de la colle et du lipiodol. Certains utilisent un robinet 3 voies, d'autres utilisent la méthode de la bulle avec retournement de la seringue, d'autres encore préfèrent réaliser le mélange dans une cupule ou encore faire des aspirations-refoulements. Le mélange colle-lipiodol est effectué selon un ratio, qui dépendra de la fluidité du mélange souhaité. Le ratio le plus souvent utilisé est 1/1 soit 50 % de colle et 50 % de

lipiodol. On sépare les dilutions basses (1/1 ; 1/3) des dilutions hautes (1/4, 1/9). Le premier chiffre représente la proportion de colle, le deuxième celle du lipiodol. Cependant il est difficile d'apprécier la dilution nécessaire en fonction du territoire anatomique, du type de vaisseau, de la vitesse de circulation du vaisseau et du type de lésion à emboliser. De nombreux opérateurs ont des « habitudes » de travail non fondées sur des données scientifiques.

Il est admis qu'en ajoutant plus de lipiodol, la polymérisation est retardée. Takasawa et al. (2012) ont publié une analyse *in-vitro* et *in-vivo* (modèle canin) sur le mélange n-BCA (histoacryl) et lipiodol (Takasawa et al. 2012). Les résultats de l'étude *in vitro* ont permis de montrer une augmentation de la viscosité du mélange (mPa.s) avec l'ajout du lipidol (figure 16).

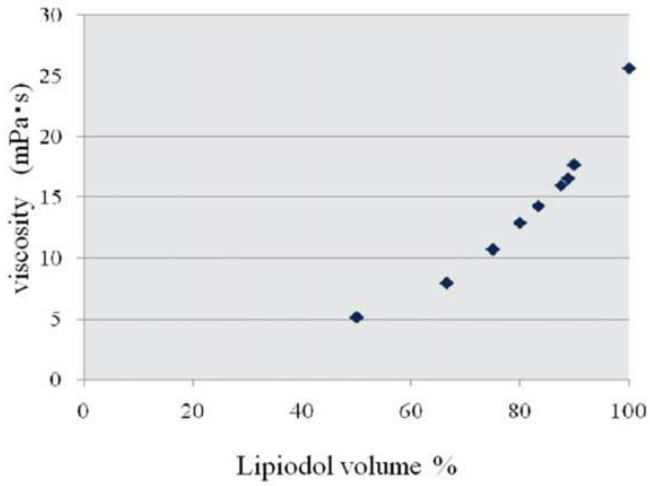



*Figure 16 : Représentation de la viscosité du mélange nBCA-lipiodol, en fonction du % de lipiodol (Takasawa et al. 2012).*

Les auteurs avaient également analysé indirectement la capacité de diffusion du mélange en mesurant l'aire formée par le mélange au contact d'un volume sanguin défini. Ils concluaient à une diffusion augmentée (augmentation de l'aire du polymère) qui suivait une exponentielle avec l'ajout du lipiodol (figure 17) (Takasawa et al. 2012).

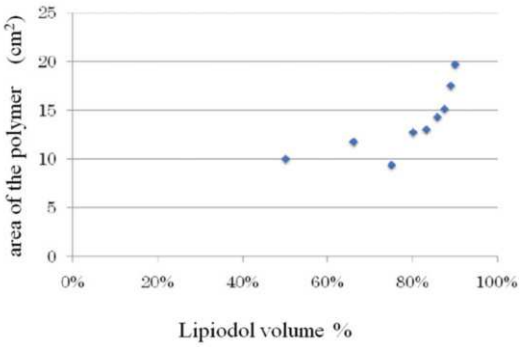



*Figure 17 : Capacité de diffusion du mélange nBCA-lipiodol représentée indirectement par l'aire formée par le mélange à la surface d'une boîte de pétri en fonction du volume de lipidol (Takasawa et al. 2012).*

Ils ont également montré une augmentation des temps de polymérisation avec l'ajout du lipiodol (figure 18) (Takasawa et al. 2012). Les temps étaient similaires entre les ratios 1 :1 et 1 :2, entre les ratios 1 :3 et 1 :5 et augmentaient exponentiellement pour les ratios 1 :6 et 1 :9.

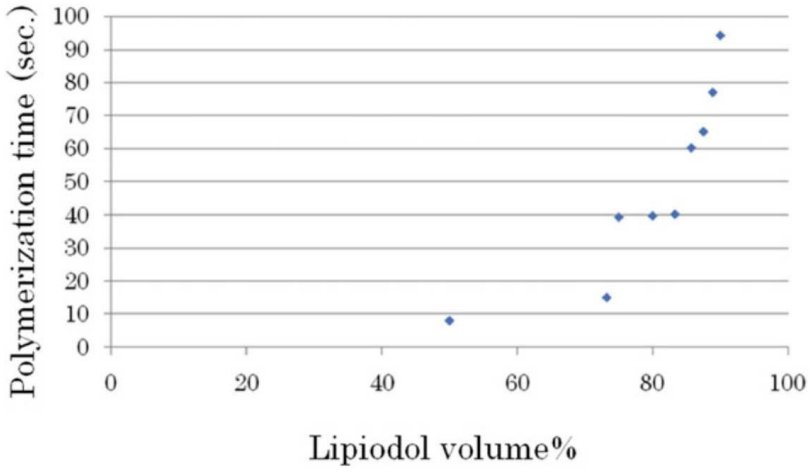



*Figure 18 : Temps de polymérisation en fonction du volume de lipiodol (Takasawa et al. 2012).*

Selon le fabricant, Le Purefill®, doit être mélangé avec une huile iodée dans les proportions 1 pour 2 et il est recommandé de réaliser ce mélange dans un bécher en verre stérile.

### iii. Interactions avec les ions $OH^-$

En raison du risque d'interaction des ions $OH^-$ contenus dans le sérum physiologique et/ou les produits de contraste ioniques avec la colle (risque de polymérisation précoce), ces produits sont proscrits lors de l'utilisation de colles. D'autre part, il ne faudra aucun contact de la colle avec le sang avant que celle-ci n'atteigne la cible à emboliser. Le rinçage des cathéters, microcathéters et de leur embase est nécessaire. Moore et al. (2006) ont publié une note technique sur l'utilisation de glucosé à 5 %, injecté simultanément avec le mélange colle-lipiodol, pour diminuer les réactions ioniques et favoriser la progression du mélange (Moore, Murphy, and Gailloud 2006). Depuis, il est recommandé d'utiliser du sérum glucosé à 5 % lors des embolisations à la colle, pour le rinçage des cathéters et microcathéters.
Le fabricant du Purefill® recommande également le rinçage au G5%.

### iv. Compatibilité avec les seringues et les microcathéters

L'utilisation de cyanoacrylate nécessite l'utilisation de seringues compatibles (polyéthylène, PE ou polypropylène, PP). Les seringues en polycarbonate (PC) sont à proscrire. Le fabricant du Glubran2® souligne qu'outre le polycarbonate, la colle ne doit pas être utilisée avec des dispositifs ou instruments contenant du silicone. Il est recommandé de toujours utiliser des microcathéters pour injecter le mélange colle-lipiodol.
Tous ces microcathéters sont compatibles avec les colles, contrairement au DMSO (solvant nécessaire pour l'utilisation d'agents liquides non adhésifs).

### v. Injection du mélange et rinçage du microcathéter

Un rinçage du cathéter par une première injection de lipiodol pourrait permettre de lubrifier celui-ci. La colonne de mélange peut être injectée lors d'une seule injection ou selon la technique du sandwich. Elle peut être faite en flux bloqué ou en flux libre. Le choix se fait en fonction des habitudes des opérateurs. La vitesse d'injection au travers du cathéter ne suit actuellement pas de recommandation. La colonne de mélange colle-Lipiodol pourrait être poussée par du lipiodol seul. Une fois la colonne de mélange injectée, le micro-cathéter est rincé puis rapidement retiré sous scopie afin d'éviter le risque d'encollage dans le vaisseau. Certains préconisent l'utilisation de paraffine ou d'huile siliconée pour éviter cette complication (A Laurent 2006). La perméabilité du microcathéter doit être vérifiée sur la table d'angiographie avant une nouvelle utilisation. Il est fréquent que le microcathéter soit occlus par un « cast » de colle empêchant sa réutilisation. Il convient également de vérifier qu'il n'existe pas de résidu de colle polymérisée à l'extrémité du cathéter porteur. Ce dernier ne pourra pas être réutilisé si c'est le cas. Les résidus de colle peuvent être nettoyés à l'aide de solvant tel que l'acétone, mais cette technique n'est pas utilisée pour les cathéters. Afin d'augmenter la visibilité du mélange, certains préconisent de rajouter de la poudre de tantale. La baisse du pH du mélange retarderait la polymérisation (Spiegel et al. 1986)

Pour le fabricant du Glubran2®, il est recommandé de ne pas utiliser plus d'1 ml par injection pour éviter une embolisation non ciblée.

### e. *Travaux sur l'impact de l'injection dynamique des colles*

L'injection (phénomène dynamique) du mélange est réalisée dans un système circulant dont le débit est plus ou moins rapide (flux veineux versus flux artériel). Il est donc capital d'évaluer le phénomène de polymérisation, combiné aux phénomènes qui régissent la biomécanique des fluides.

Les travaux de thèse Mihai-Cristinel Sandulache au sein de l'équipe UMR CNRS 7338 dirigée par le Dr Anne-Virginie Salsac ont permis de simuler *in vitro* l'injection de la colle dans des conditions similaires à l'injection *in vivo* (Sandulache 2011). Ces travaux ont permis d'étudier l'injection dans un co-écoulement en environnement confiné de taille millimétrique pour simuler l'embolisation *in vivo* et d'analyser dans ces conditions les 2 régimes d'éjection que sont le « dripping » et le « jetting ». Le « dripping » correspond à la formation de gouttes d'un liquide injecté à bas débit dans un autre liquide. Avec l'augmentation du débit, le fluide injecté sort en formant en jet, on parle du « jetting ». Ces travaux ont été ensuite réalisés avec de la colle à des concentrations variables. Lorsque la concentration en colle est faible, le « dripping » et le « jetting » sont observés. En revanche, l'augmentation de la concentration de colle (50 et 75 %) entraine une éjection du fluide sous forme de jet continu, lié au phénomène de polymérisation (Sandulache 2011).

## II. OBJECTIFS des études 1 et 2

L'utilisation clinique de la colle en embolisation reste encore actuellement empirique. L'expertise de certains opérateurs a permis d'élargir les indications en dehors des MAV. Des astuces techniques ont été développées pour éviter les complications ou optimiser l'embolisation à la colle. Certains utilisent des microcathéters dont l'extrémité est détachable mais qui engendre un coût supplémentaire. Il en est de même pour l'occlusion vasculaire intermittente grâce à des ballons (Bank et al. 2013). Certains ont développé des techniques pour rendre l'embolisation plus sécurisée (technique dite du sandwich). La plupart des opérateurs utilisent un mélange 1 pour 1 quel que soit le type d'anomalie embolisé ou le territoire anatomique. Jusqu'alors, les études *in vitro* ont principalement porté sur le n-BCA (Histoacryl®) et l'IBCA étudiés sur des montages statiques (Stoesslein, Ditscherlein, and Romaniuk 1982; Spiegel et al. 1986; Brothers et al. 1989; Takasawa et al. 2012). Ces études

ont montré que le temps d'initiation de la polymérisation augmentait avec la concentration en huile iodée et de façon linéaire avec la concentration en acide acétique glacial (Spiegel et al. 1986; Brothers et al. 1989). Il manquait des études comparatives incluant les nouvelles colles actuellement disponibles sur le marché.

Nous proposons à la vue des travaux réalisés *in vitro* principalement sur l'Histoacryl®, de **caractériser *in vitro* les nouvelles colles actuellement disponibles sur le marché** (Glubran 2® et Purefill®). On rappelle que l'Histoacryl® ne devrait plus être utilisé en endovasculaire au vu des AMM (Autorisations de mise sur le marché).

Une première phase d'études *in vitro* **(étude 1)** a été réalisée sur un modèle statique, dont l'objectif principal était la comparaison *in vitro* (dans du plasma bovin) des temps de polymérisation de 3 colles (Glubran 2®, Histoacryl® et Purefill®), en fonction de deux ratios « colle : lipiodol » (1 : 1 et 1 : 4) et de 6 conditions de mélange en fonction de la température d'utilisation de la colle (4°C, 25°C, 37°C) et du lipiodol (25°C, 37°C). Les objectifs secondaires ont porté sur l'évaluation de la fluidité des mélanges, l'évaluation en microscopie optique des mélanges polymérisés ainsi que l'évaluation de la radio-opacité des mélanges.

Ces travaux ont été complétés par une deuxième étude **(étude 2)** préliminaire sur le Purefill® en collaboration avec l'unité UMR CNRS 7338 à l'Université de Compiègne dont un étudiant avait des travaux en cours sur l'Histoacryl® et le Glubran 2®. Cette étude 2 devait permettre l'évaluation des temps caractéristiques des colles selon un modèle développé au sein de cette unité de recherche.

# III. MATERIELS et METHODES de l'étude 1

Cette étude a été réalisée au sein des laboratoires Guerbet à Aulnay Sous-Bois. Trois colles ont été utilisées, le Glubran 2®, le Purefill® ainsi que l'Histoacryl®, en raison de leur formule chimique différente. Elles ont été mélangées avec du Lipiodol Ultra Fluide (LUF). Le dispositif expérimental consiste en un vase double enveloppe thermostaté à 37°C, dont la température est contrôlée en continu par un thermomètre (Testo 925), contenant 100 ml de Sérum de Veau Fœtal (SVF) filtré (w/sodium citrate) (Fournisseur : Dominique DUTSCHER). Conservé au congélateur à -20°C, il est filtré sur un tamis de 0.45 µm avant utilisation et chauffé à 37°C (Hoake DC 10 37,8°C) pour son utilisation lors des manipulations.

Une seringue de 1 ml Terumo® BS-01T (destinée à recevoir le mélange à tester) est placée dans le support au-dessus de la surface de SVF. Une aiguille de 27G Terumo®, Neolus NN-2719R est placée à l'extrémité de la seringue avant le positionnement dans le support. Le support est fixe et la distance extrémité de l'aiguille – surface du SVF est constante (2 cm).
Le dispositif est éclairé par une lampe halogène durant la totalité des tests. Un enregistrement vidéo par une caméra (dont les paramètres* sont détaillés ci-dessous) est réalisé en continu au cours des manipulations (figures 19 et 20).

*Paramètres de vidéoscopie :
Luminosité : 65
Contraste : 50
Grossissement : 50
Teinte : 0
Saturation : 200
Netteté : 10
Résolution de la caméra : 640 X 480
Scintillement : 50 Hz

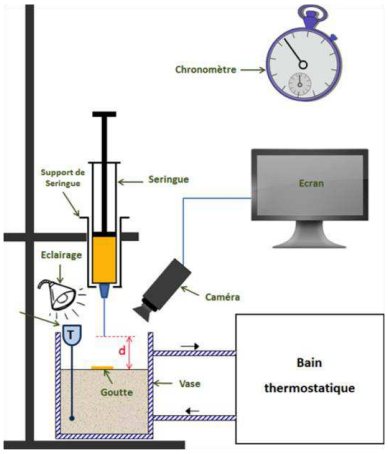



*Figure 20 : Schéma du montage expérimental pour évaluer les TP des mélanges lipiodol-colle au sein du laboratoire Guerbet*

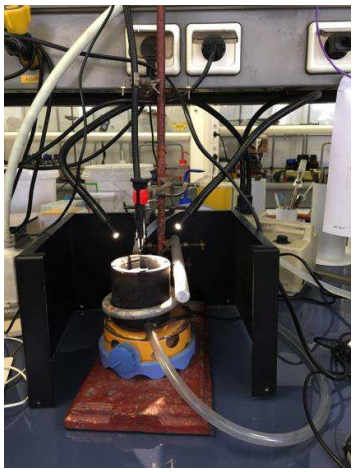


*Figure 19 : Photo du montage expérimental pour évaluer les TP des mélanges lipiodol-colle au sein du laboratoire Guerbet..*

Trois températures d'utilisation des colles sont évaluées :

- Conditionnement au réfrigérateur : 4°C
- Conditionnement à l'air ambiant : 25°C
- Conditionnement chauffé au bain marie : 37 °C

Les colles sont préparées au début des manipulations. Elles sont conditionnées dans des tubes à hémolyse et placées respectivement sur un portoir (température ambiante), dans un bain marie (37°C) (figure 32) et au réfrigérateur (4°C). Les tubes à hémolyse sont fermés hermétiquement avec un bouchon.

Deux températures d'utilisation du Lipiodol® sont évaluées :

- Conditionnement à l'air ambiant : 25°C
- Conditionnement chauffé au bain marie : 37 °C

Le lipiodol est également préparé au début des manipulations, conditionné dans des tubes à hémolyse, placés sur un portoir (température ambiante) ou dans un bain marie (37°C) (figure 21)

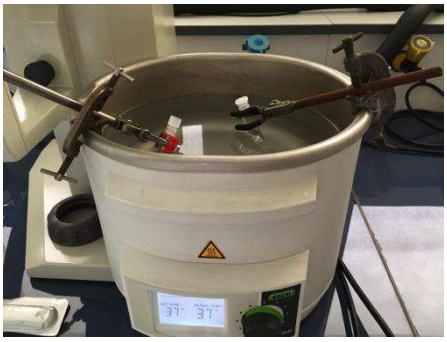


*Figure 21 : Bain marie à 37°C permettant de réchauffer colle et lipiodol ® à 37°C.*

Les mélanges répondent donc à 6 conditions de température, détaillées dans le tableau 8.

| Condition | Température de la colle | Température du Lipiodol® |
|---|---|---|
| a | 4°C | 25°C |
| b | 4°C | 37°C |
| c | 25°C | 25°C |
| d | 25°C | 37°C |
| e | 37°C | 25°C |
| f | 37°C | 37°C |

*Tableau 8 : Résumé des 6 conditions de température de test des mélanges colle-lipiodol.*

Deux ratios de mélange sont évalués, pour chaque colle et chaque condition de température (a à f) :

- le ratio 1:1, i.e. 1 dose de colle pour 1 dose de LUF, qui a consisté à mélanger 0,4 ml de colle et 0,4 ml de LUF.
- le ratio1:4, i.e. 1 dose de colle pour 4 doses de LUF, qui a consisté à mélanger 0,1 ml de colle et 0,4 ml de LUF.

La colle et le lipiodol sont aspirés par des pipettes automatiques (Gilson) dans les tubes à hémolyse (figure 22) et placés dans un nouveau tube à hémolyse. Ce dernier sert de réservoir pour réaliser les tests de polymérisation. Il est agité sur un vortex (MS2 Minishaker, IKA®) jusqu'à homogénéisation complète (10 secondes) juste avant son utilisation.

*Figure 22: Portoir pour tubes à hémolyse contenant les mélanges colle-lipiodol.*

Le mélange à tester est placé dans la seringue du dispositif. Une pression manuelle est exercée sur le poussoir, afin de faire tomber une goutte sur la surface de SVF, chauffé à 37°C. Plusieurs pressions successives ont été réalisées afin d'obtenir au moins 6 gouttes par condition. Après polymérisation, le mélange forme un film de forme ronde, solide à la surface du SVF (figure 23). Celui-ci est retiré à l'aide d'une aiguille pour réaliser la mesure suivante.

*Figure 23 : Photo réalisée à la fin d'une polymérisation d'un mélange de colle + lipiodol, à la surface du SVF.*

*<u>Analyse des temps de polymérisations :</u>*

En raison de la rapidité de la polymérisation (de l'ordre de quelques secondes), les temps de polymérisation ont été mesurés à partir des vidéos enregistrées lors des expériences.

Deux lecteurs ont analysé l'ensemble des vidéos. Ils se sont d'abord entrainés sur la première série de vidéos (colle Glubran2®, conditions a-f, ratio 1 :1), afin d'apprécier le début et la fin de la polymérisation pour chaque goutte. Trois mesures ont été réalisées pour chaque test. Le temps de polymérisation a été défini ainsi : du début de la chute de la goutte à l'extrémité de l'aiguille 27G à la fin de la modification de la goutte à la surface du SVF. Après cette phase d'entraînement, les lecteurs ont visionné toutes les vidéos enregistrées. Dans le cas où plusieurs gouttes calibrées arrivent sur la surface du SVF, les mesures ne sont pas prises en compte. Les 6 premières mesures sont enregistrées dans un tableur Excel, après consensus

entre les 2 lecteurs, pour chaque condition. Au total, 72 temps de polymérisation sont analysés par colle soit 216 mesures au total.

Les temps de polymérisation (n=216) ont été analysés grâce au logiciel JMP (Domaine de Grégy, Grégy-sur-Yerres – 77257 Brie Comte Robert Cedex – France). Une analyse descriptive a été réalisée avec calcul des médianes, moyennes et écart-type pour chaque colle, chaque condition et chaque ratio. Ces résultats sont représentés sur des graphiques grâce à des boîtes à moustaches. La valeur centrale du rectangle rouge représente la médiane, les bords les $1^{er}$ et $3^{ème}$ quartile. La valeur centrale des triangles verts représente la moyenne. Une analyse de variance a été réalisée grâce au logiciel JMP par un test ANOVA en uni puis multivarié. Un test t de Student a été utilisé pour les comparaisons de moyennes, suivi par un test HSD de Tuckey Kramer. Sur les graphiques les résultats significatifs sont notés par un * si $p< 0,05$ ; ** si $p< 0.001$

Analyse de la fluidité des mélanges

L'analyse consiste en une analyse indirecte de la fluidité traduite par la surface d'étalement de la goutte polymérisée à la surface du SVF. Le contourage des différentes gouttes a été réalisé grâce au logiciel Image J. Pour chaque condition de température, de colle et de ratio, les moyennes des surfaces ont été calculées puis comparées.

Analyse macroscopique et microscopique des produits de polymérisation

Plusieurs films (produits de la polymérisation) de chaque conditionnement ont été récupérés et étalés sur une lame (sans lamelle). Des observations au grossissement X100 sont réalisées en microscopie optique, avec capture d'image pour chaque mélange (n = 36)

Analyse de la radio-opacité des mélanges

Les mélanges non polymérisés des 3 colles aux 2 ratios d'étude ont été utilisés à J1 de leur préparation pour être radiographiés. Un échantillon de 100 µl de chaque mélange a été placé dans une plaque 48 puits sur une ligne. Le premier puit de la colonne est rempli avec

100 µl de LUF, la dernière avec du LUF mélangé avec du tantale. Le premier puit de la dernière ligne a été rempli uniquement avec du tantale

En parallèle, une radiographie des produits de polymérisation (cf ci-dessus) a été réalisée.

# IV. RESULTATS de l'étude 1

## 1. Temps de polymérisation des mélanges colles-lipiodol

La température ambiante était de 22°C lors de la manipulation. Le Purefill® était le plus difficile à aspirer dans la seringue pour les tests. Les étalements semblent d'emblée plus homogènes, de plus grand diamètre pour le ratio 1/1. Par colle, nous avons analysé 72 temps de polymérisation. Par condition, 36 temps de polymérisations ont été analysés et 108 par ratio. On notera TP pour temps de polymérisation.

### *a.* Impact du ratio sur les temps de polymérisations *:*

*Toutes colles confondues (figure 24)*

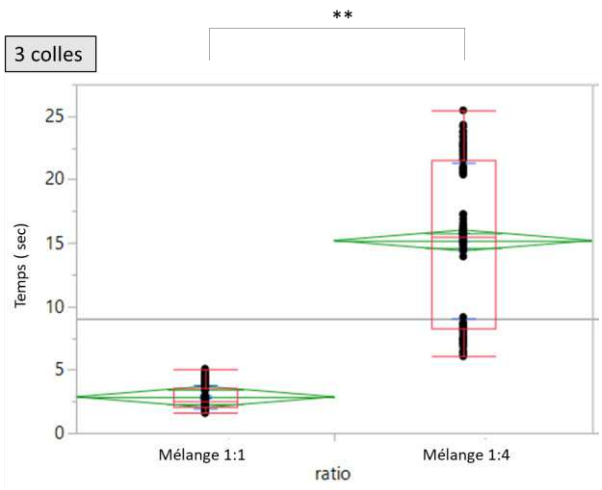



*Figure 24 : Impact du ratio colle-lipiodol sur les TP, toutes colles confondues.*

Pour les ratios 1 :1 (n=108)

La moyenne est de 2,85 secondes ± 0,91 avec un IC à 95%, la médiane était de 2,50 secondes

Pour les ratios 1 :4 (n=108)

La moyenne est de 15,18 secondes ± 6,09 avec un IC à 95%, la médiane était de 15,51 secondes

D'après le Test t de Student, la différence entre les deux groupes est significative ($p<0,001$) avec un IC à 95%

Le rapport moyenne ratio 1 :4 / ratio 1 :1 = 5,32

*Glubran 2 (figure 25)*

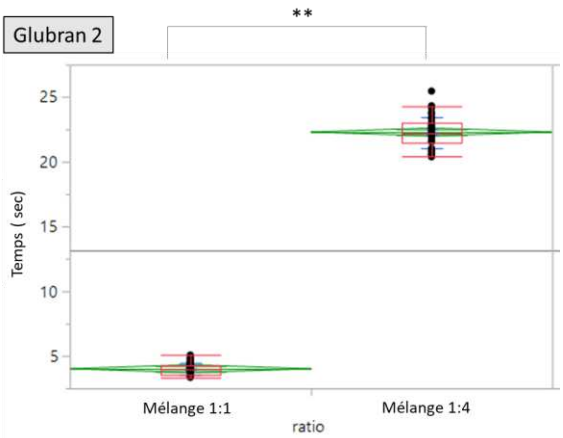



*Figure 25 : Impact du ratio colle-lipiodol sur les TP, pour le Glubran 2.*

Pour les ratios 1 :1 (n=36)

La moyenne est de 4,01 secondes ± 0,48 avec un IC à 95%, la médiane était de 3,97 secondes

Pour les ratios 1 :4 (n=36)

La moyenne est de 22,28 secondes ± 1,20 avec un IC à 95%, la médiane était de 22,2 secondes

D'après le Test t de Student, la différence entre les deux groupes est significative (p<0,001) avec un IC à 95%. Le rapport moyenne ratio 1 :4 / ratio 1 :1 = 5,55

*Histoacryl (figure 26)*

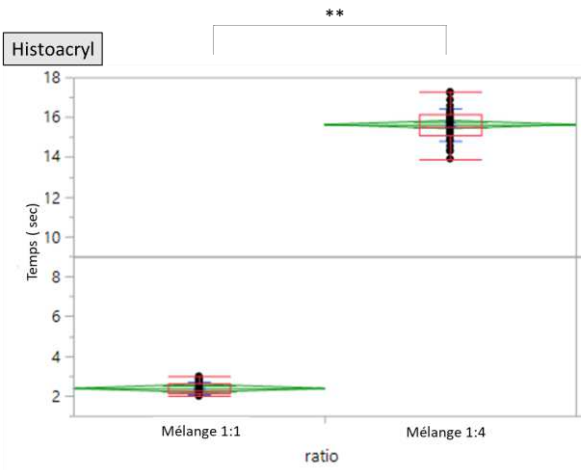



*Figure 26 : Impact du ratio colle-lipiodol sur les TP, pour l'Histoacryl.*

Pour les ratios 1 :1 (n=36)

La moyenne est de 2,37 secondes ± 0,30 avec un IC à 95%, la médiane était de 2,28 secondes

Pour les ratios 1 :4 (n=36)

La moyenne est de 15,62 secondes ± 0,81 avec un IC à 95%, la médiane était de 15,51 secondes

D'après le Test t de Student, la différence entre les deux groupes est significative (p<0,001) avec un IC à 95%. Le rapport moyenne ratio 1 :4 / ratio 1 :1 = 6,59

*Purefill (figure 27)*

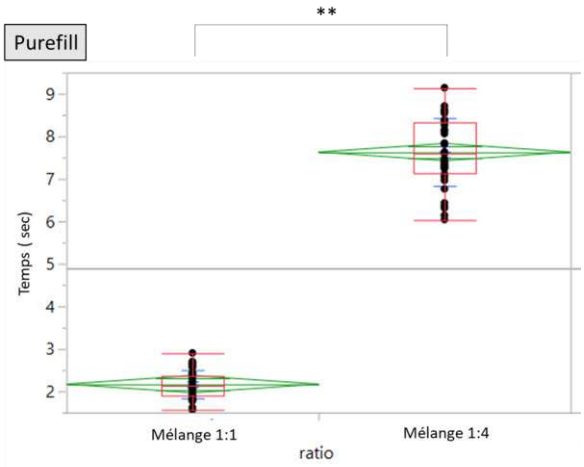



*Figure 27 : Impact du ratio colle-lipiodol sur les TP, pour le Purefill.*

Pour les ratios 1 :1 (n=36)

La moyenne est de 2,16 secondes ± 0,32 avec un IC à 95%, la médiane était de 2,13 secondes

Pour les ratios 1 :4 (n=36)

La moyenne est de 7,6 secondes ± 0,80 avec un IC à 95%, la médiane était de 7,61 secondes

D'après le Test t de Student, la différence entre les deux groupes est significative (p<0,001) avec un IC à 95%

Le rapport moyenne ratio 1 :4 / ratio 1 :1 = 3,52

## b. Impact du type de colle sur les temps de polymérisations

*Tous ratios confondus (figure 28)*

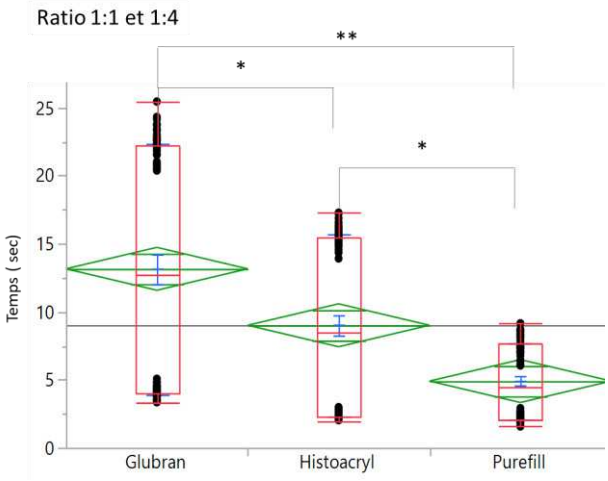



*Figure 28 : Impact du type de colle sur les TP, tous ratios confondus.*

La moyenne des TP avec le Glubran (n=72) était de 13,15 ± 9,25 secondes avec un IC à 95%, la médiane était de 12,71 secondes

La moyenne des TP avec l'Histoacryl (n=72) était de 9,00 ± 6,70 secondes avec un IC à 95%, la médiane était de 8,44 secondes

La moyenne des TP avec le Purefill (n=72) était de 4,90 ± 2,81 secondes avec un IC à 95%, la médiane était de 4,47 secondes

Après application d'un test t de Student, il existait une différence significative entre :

- Glubran® versus Histoacryl® (p= 0,0003)
- Purefill® versus Histoacryl® (p = 0,0004)
- Glubran® versus Purefill® (p< 0,0001)

Les TP obtenus avec le Purefill® étaient significativement les plus bas. La plus grande différence significative obtenue était entre Purefil® et Glubran®.

*Ratio 1 :1 (figure 29)*

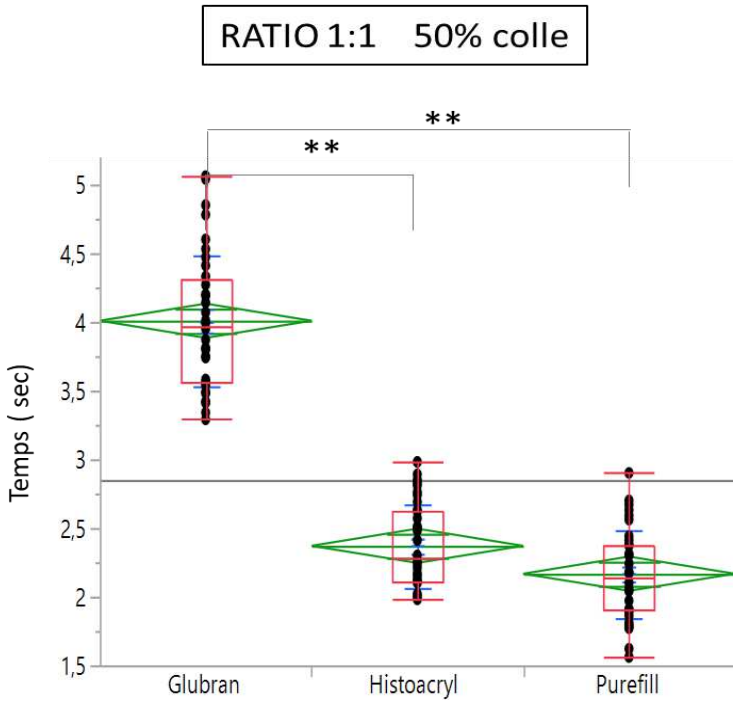



*Figure 29 : Impact du type de colle sur les TP, au ratio 1:1.*

La moyenne des TP avec le Glubran® (n=36) était de 4,01 ± 0,48 secondes avec un IC à 95%, la médiane était de 3,97 secondes

La moyenne des TP avec l'Histoacryl® (n=36) était de 2,37 ± 0,30 secondes avec un IC à 95%, la médiane était de 2,28 secondes

La moyenne des TP avec le Purefill® (n=36) était de 2,17 ± 0,32 secondes avec un IC à 95%, la médiane était de 2,13 secondes

Après application d'un test t de Student, il existait une différence significative entre :

- Glubran® versus Histoacryl® (p< 0,0001)
- Purefill® versus Histoacryl® (p = 0,0246)
- Glubran® versus Purefill® (p< 0,0001)

Les TP Histoacryl® et Purefill® étaient les moins différents.

*Ratio 1 :4 (figure 30)*

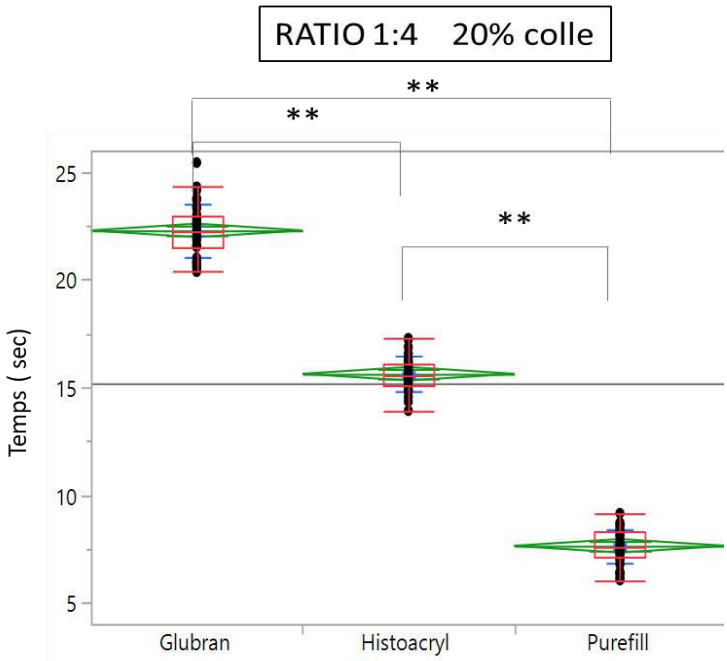



*Figure 30 : Impact du type de colle sur les TP, au ratio 1:4.*

La moyenne des TP avec le Glubran® (n=36) était de 22,28 ± 1,20 secondes avec un IC à 95%, la médiane était de 22,2 secondes

La moyenne des TP avec l'Histoacryl® (n=36) était de 15,62 ± 0,81 secondes avec un IC à 95%, la médiane était de 15,5 secondes

La moyenne des TP avec le Purefill® (n=36) était de 7,62 ± 0,80 secondes avec un IC à 95%, la médiane était de 7,6 secondes

Après application d'un test t de Student, il existait une différence significative entre :

- Glubran® versus Histoacryl® (p< 0,0001)
- Purefill® versus Histoacryl® (p< 0,0001)
- Glubran® versus Purefill® (p< 0,0001)

Les TP du Purefill® sont significativement les plus courts

## c. Impact de la température sur les temps de polymérisations

*Tous les ratios et toutes les colles (figure 31)*

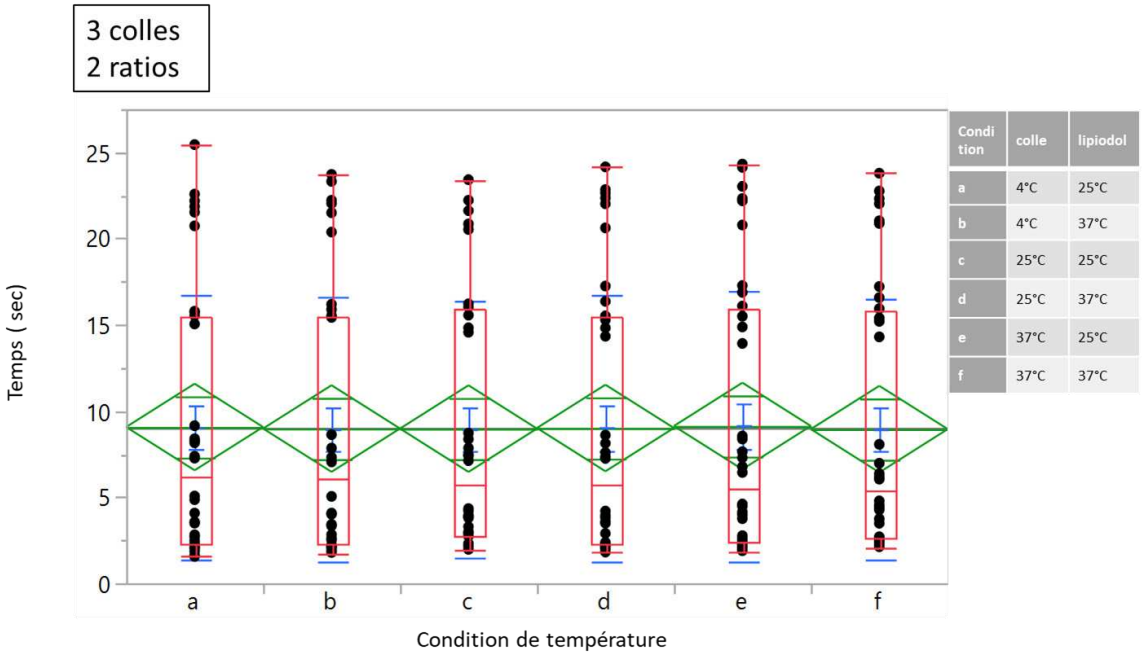



*Figure 31: Impact de la température sur les TP, toutes colles confondues, tous ratios.*

La moyenne des TP en condition a (n=36) était de 9,06 ± 7,65 secondes avec un IC à 95%, la médiane était de 6,16 secondes.

La moyenne des TP en condition b (n=36) était de 8,97 ± 7,66 secondes avec un IC à 95%, la médiane était de 6,04 secondes.

La moyenne des TP en condition c (n=36) était de 8,97 ± 7,45 secondes avec un IC à 95%, la médiane était de 5,72 secondes.

La moyenne des TP en condition d (n=36) était de 9,00 ± 7,71 secondes avec un IC à 95%, la médiane était de 5,71 secondes.

La moyenne des TP en condition e (n=36) était de 9,12 ± 7,80 secondes avec un IC à 95%, la médiane était de 5,51 secondes.

La moyenne des TP en condition f (n=36) était de 8,94 ± 7,58 secondes avec un IC à 95%, la médiane était de 5,41 secondes.

Après utilisation de l'HSD de Tukey-Kramer, les comparaisons de toutes les paires ne mettaient pas en évidence de différence significative

*Glubran (figure 32)*

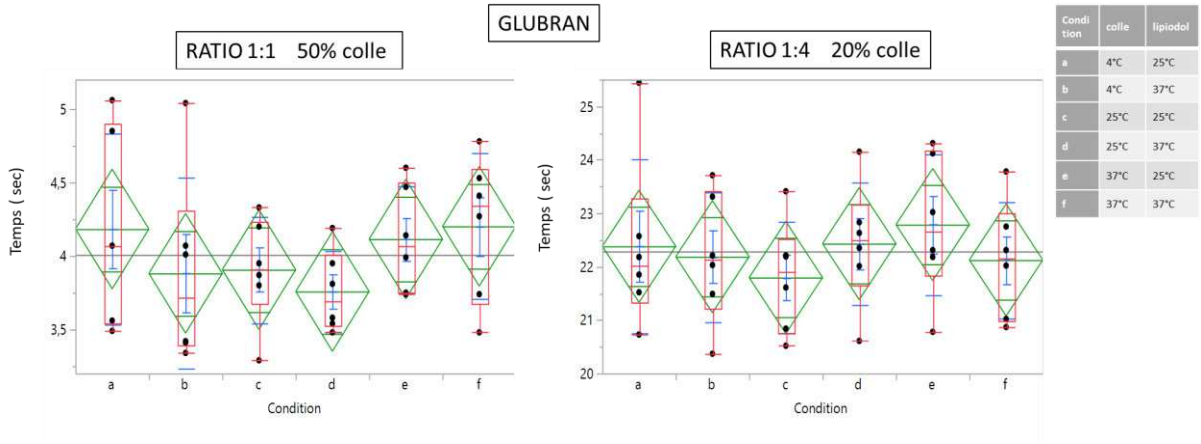



*Figure 32 : Impact de la température sur les TP, pour le Glubran, à chaque ratio.*

Pas de différence significative entre les groupes à chaque ratio

*Histoacryl (figure 33)*

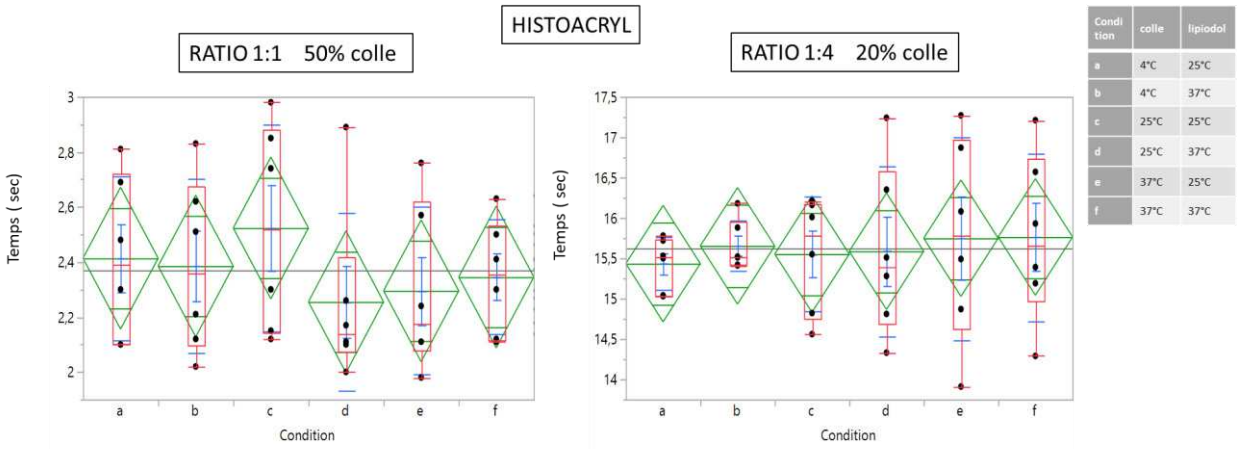



*Figure 33 : Impact de la température sur les TP, pour l'Histoacryl, à chaque ratio.*

Pas de différence significative entre les groupes à chaque ratio.

*Purefill (figure 34)*

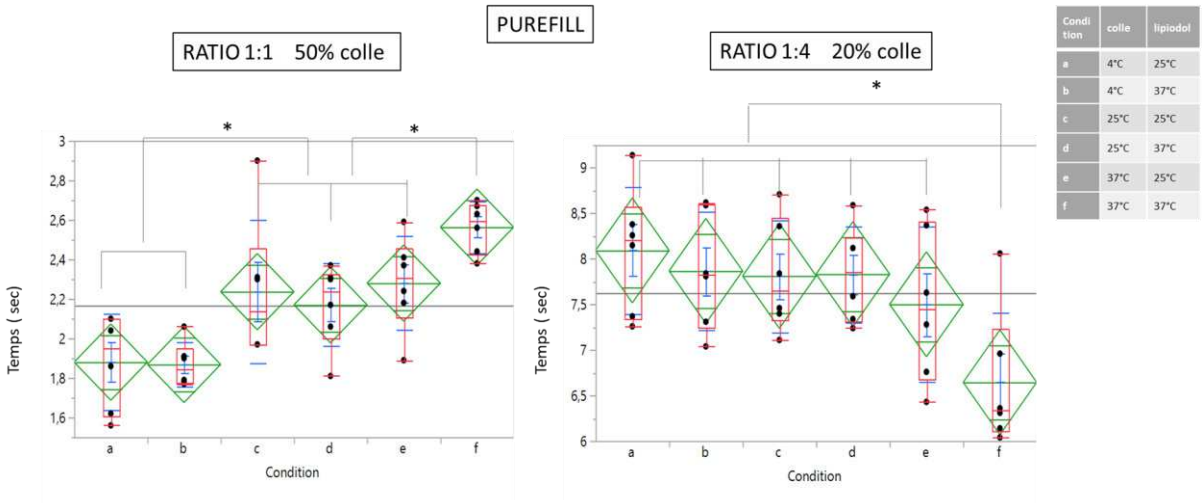



*Figure 34 : Impact de la température sur les TP, pour le Purefill, à chaque ratio.*

Au ratio 1 :1, la condition f est statistiquement différente des conditions c, d et e, elles même statistiquement différentes de a et b. Les plus statistiquement différentes sont f et a-b ce qui correspond à la température de la colle.
Lorsque le mélange est à 37°C, le Purefill allonge les TP de façon significative au ratio 1 :1
Au ratio 1 :4, la condition f est significativement différente des autres conditions, avec un TP plus rapide.

### d. Analyse multivariée

En analyse multivariée, ne restent significativement différents que le type de colle et le ratio.

## 2. Analyse de la fluidité des mélanges

Pour cette analyse nous avons été confrontés à deux problèmes principaux. Les tests ont été réalisés en été et la lumière solaire a entraîné des artéfacts sur les vidéos empêchant au logiciel (Image J) une détection des contours. De plus, les tests ont été réalisés sur une semaine, or le positionnement de la caméra après réglage n'était pas strictement le même lors des différentes conditions de test. Ainsi l'angulation de la caméra par rapport à la goutte située sur la surface de SVF pouvait varier. Après plusieurs tentatives nous avons décidé d'arrêter cette sous-analyse en raison du manque de reproductivité et des erreurs d'analyse.

## 3. Aspect macroscopique et microscopique des mélanges

On voit macroscopiquement une différence de forme (étalement) entre le Glubran2®, l'Histoacryl® et le Purefill® au ratio 1 :1 (figure 35).

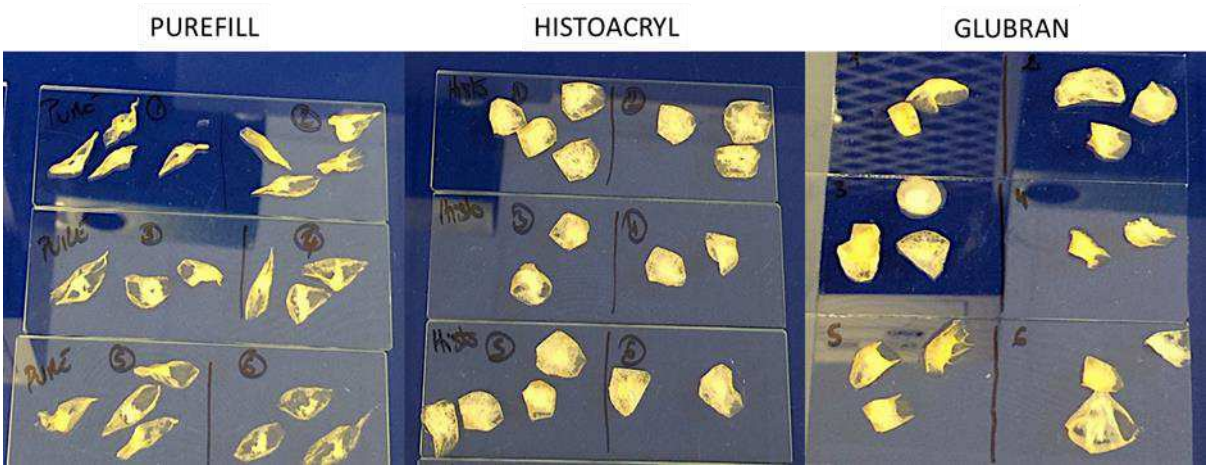



*Figure 35 : Aspect macroscopique des produits de polymérisation colle-lipiodol, au ratio 1:1.*

Les étalements du Purefill® sont très allongés. Ils présentent un centre plus dense avec des extrémités effilées moins denses. En revanche, les films étalés du Glubran 2 ® et de l'Hystoacryl® sont plus compactes, plus denses, plus orthogonaux. Ceux du Glubran 2® par rapport à ceux de l'Histoacryl® sont plus hétérogènes.

Macroscopiquement, la différence de ratio colle-lipiodol se voit nettement. Les films obtenus en ratio 1 :1 sont beaucoup plus denses que les ratios 1 :4 (figure 36).

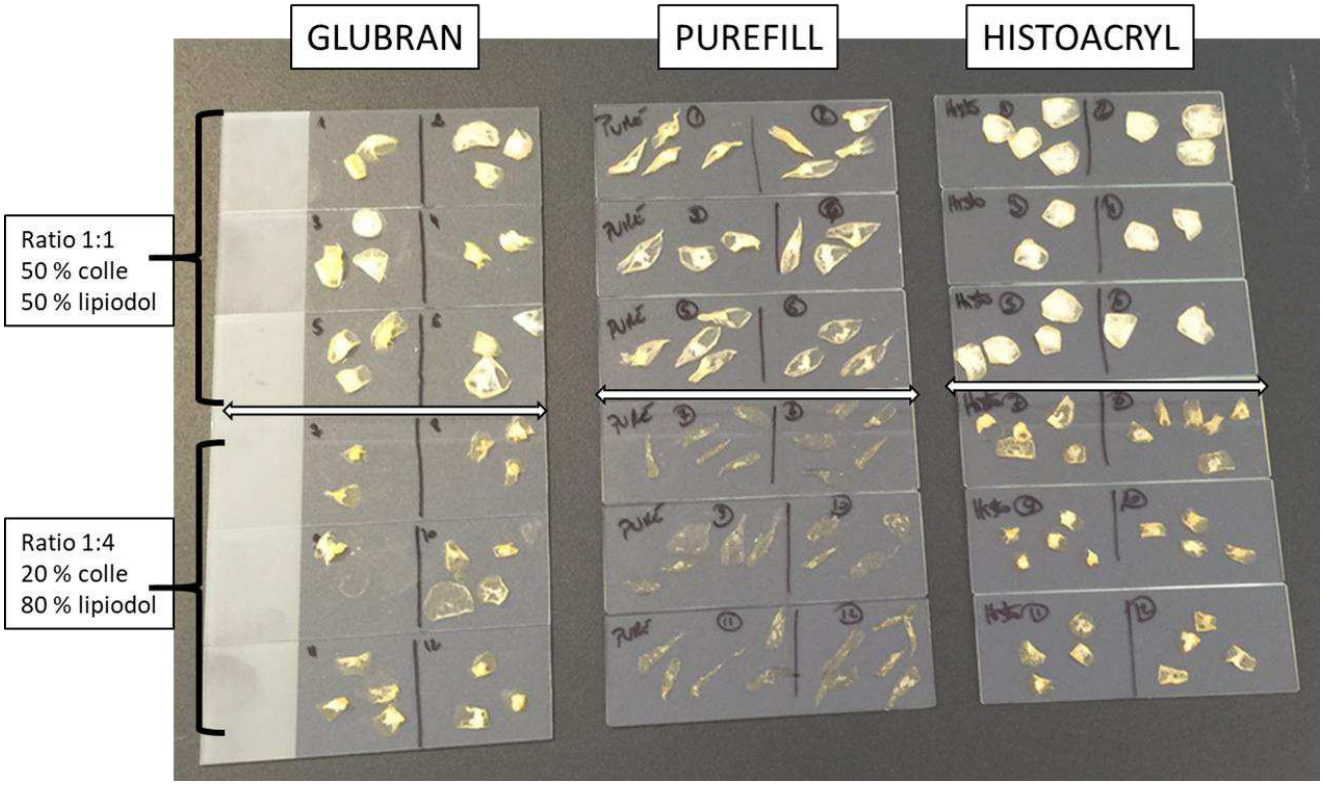



*Figure 36 : Différence macroscopique entre les ratios pour les 3 colles, en fonction des ratios.*

Concernant les aspects en MO, on peut voir que la structure polymérisée est moins lâche sur le ratio 1 :1 (tableau 9) que sur le ratio 1 : 4 (tableau10). On observe en effet un maillage avec des espaces vides lorsque l'on ajoute du lipidol.

D'autre part, en condition a et b, au ratio 1 :1, l'aspect du Purefill est très différent. Les travées sont très homogènes, alignées, contrairement aux deux autres colles. La différence est moins marquée selon les conditions de c à f.

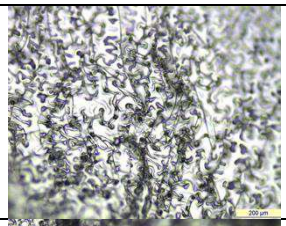
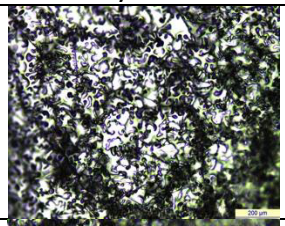
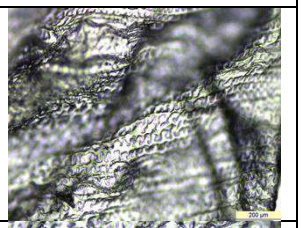
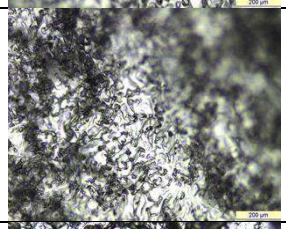
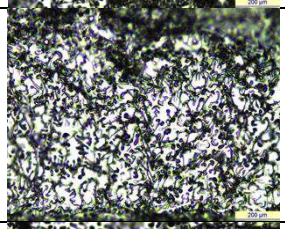
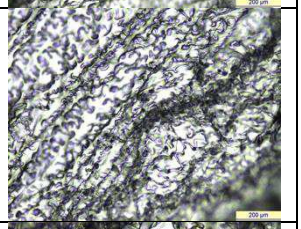
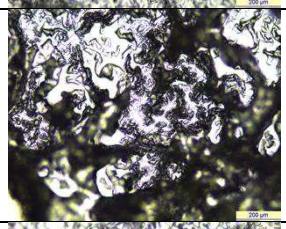
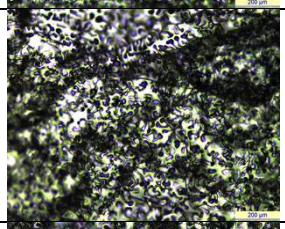
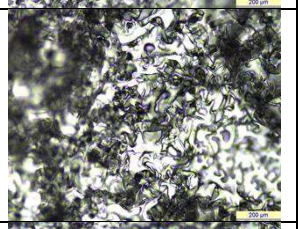
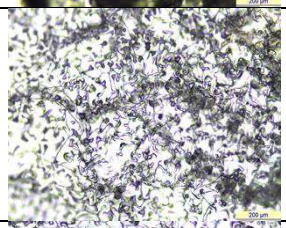
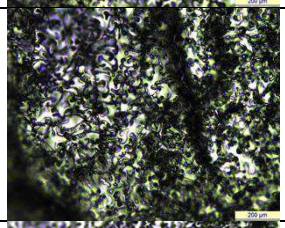
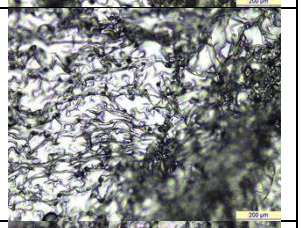
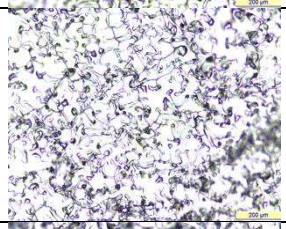
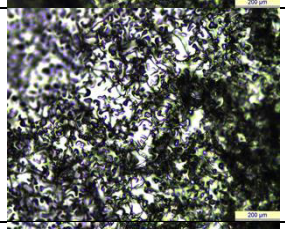
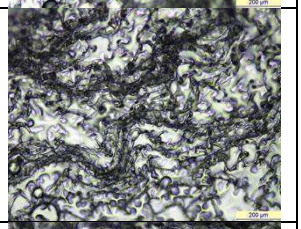
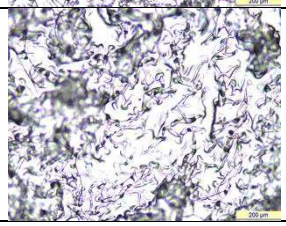
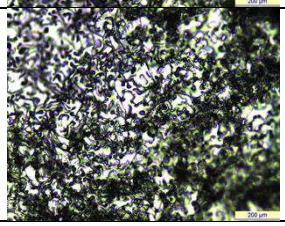
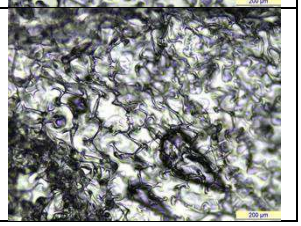
| Condition | Glubran 1 : 1 | Histoacryl 1 : 1 | Purefill 1 : 1 |
|---|---|---|---|
| a |  |  |  |
| b |  |  |  |
| c |  |  |  |
| d |  |  |  |
| e |  |  |  |
| f |  |  |  |

*Tableau 9 : Aspects en MO (X100) des films obtenus en fin de polymérisation, selon les conditions a à f, au ratio 1 :1, pour chaque colle.*

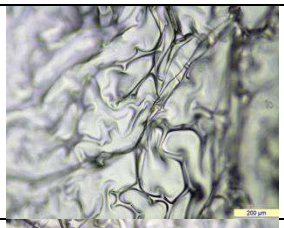
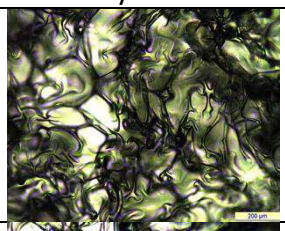
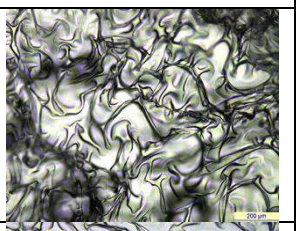
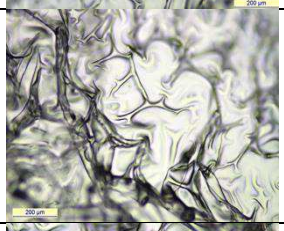
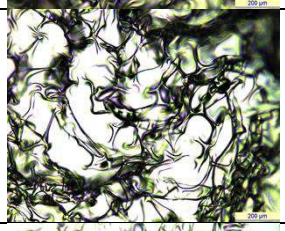
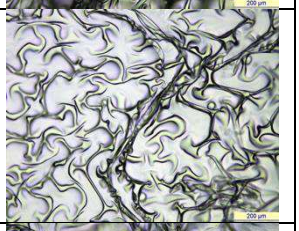
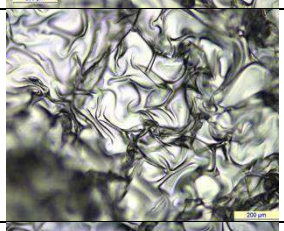
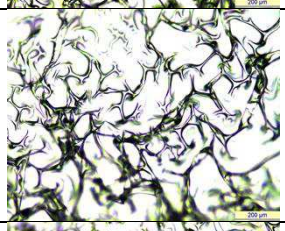
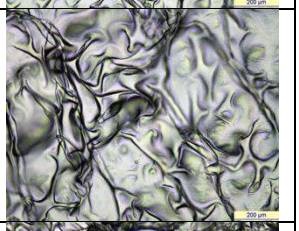
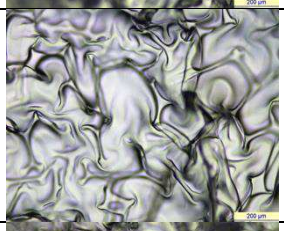
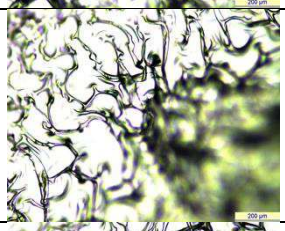
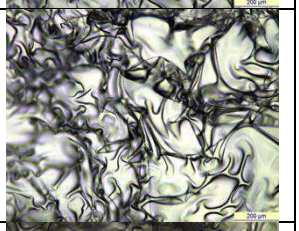
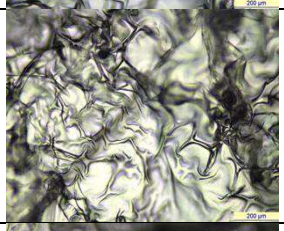
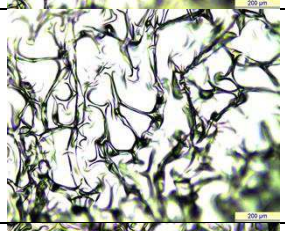
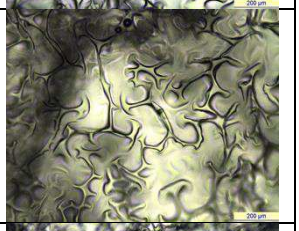
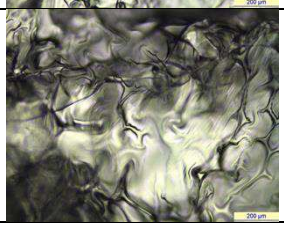
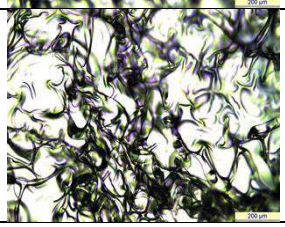
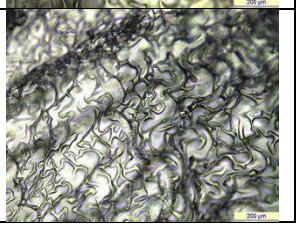
| Condition | Glubran 1 : 4 | Histoacryl 1 : 4 | Purefill 1 : 4 |
|---|---|---|---|
| a |  |  |  |
| b |  |  |  |
| c |  |  |  |
| d |  |  |  |
| e |  |  |  |
| f |  |  |  |

*Tableau 10 : Aspects en MO (X100) des films obtenus en fin de polymérisation, selon les conditions a à f, au ratio 1 :4, pour chaque colle*

## 4. Evaluation de la radio opacité des mélanges

Sur la radiographie des puits (figure 37), on observe une radio-opacité principalement sur les bords des puits. L'ajout du tantale accentue la radio-opacité même à très faible dose. On n'observe pas de différence de radio-opacité entre les colles. La radio-opacité du tantale est nettement supérieure à celle du lipiodol pur.

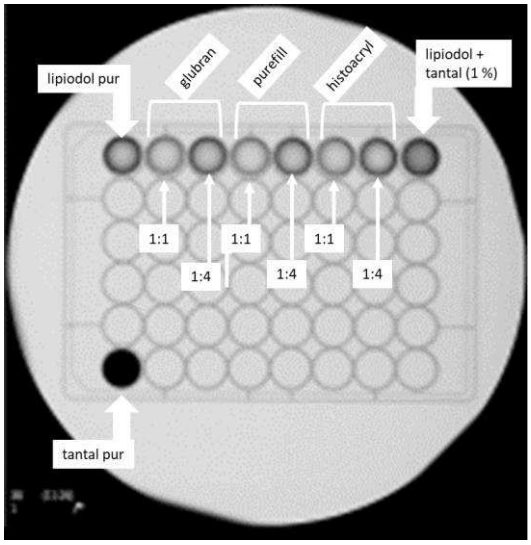



*Figure 37 : Plaque contenant soit du lipiodol pur, soit les mélanges colle-lipiodol, soit lipidol-tantal ou tantal pur, radiographiée.*

Sur les radiographies des produits de polymérisations, en fonction des ratios (figure 38) on identifie bien le caractère radio-opaque du lipiodol, puisque les produits sont mieux visibles sous RX lorsqu'il y a plus de lipiodol. D'autre part, la radio-opacité des produits polymérisés est plus marqué avec l'histoacryl et le glubran par rapport au purefill au ratio 1 :4, en rapport avec la forme plus allongée. Au ratio 1 :1, l'histoacryl est beaucoup moins bien visible que les 2 autres colles.

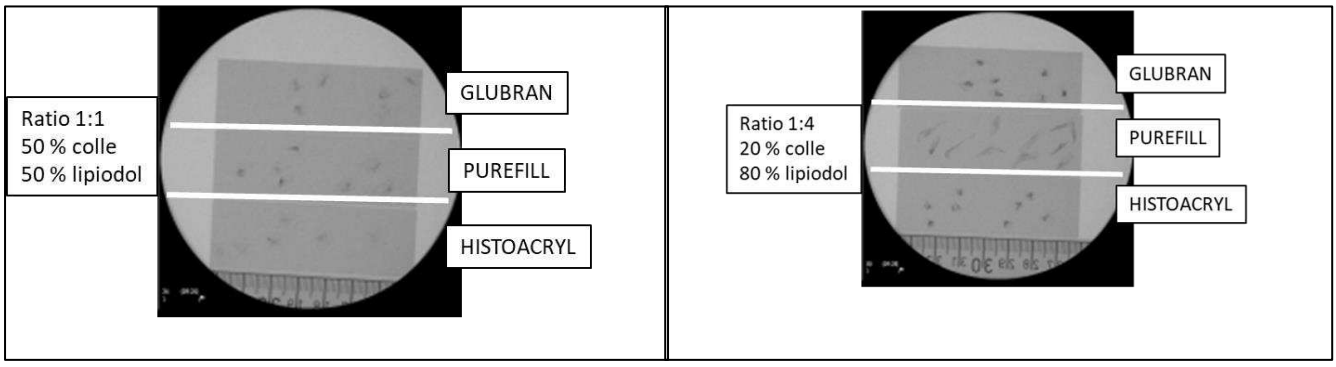



*Figure 38 : Radiographies sur lame, des produits de polymérisations, en fonction des ratios et des colles.*

# V. CONCLUSION ET DISCUSSION de l'étude 1

Pour toutes les colles, on observe un effet d'allongement significatif des TP avec l'ajout de lipiodol entre les ratios 1 :1 et 1 :4. En revanche cet allongement est différent en fonction des colles puisque le rapport est plus important pour l'Histoacryl® (6,6), que pour le Glubran 2® (5,5) et que pour le Purefill® (3,5). Le lipiodol aurait moins d'effet sur le Purefill® pour l'allongement des TP. Tous ratios confondus, le Purefill® polymérise plus vite que l'Histoacryl® qui lui-même polymérise plus vite que le Glubran2®. Cette différence est identique avec un mélange 80 % lipidol et 20 % de colle. En revanche avec plus de colle (50 %) c'est le Glubran® qui est significativement différent (TP plus longs) que les 2 autres colles. Seul le Purefill® est sensible aux conditions de température avec notamment pour le mélange qui contient le plus de colle (1 :1) un allongement des TP avec le chauffage du mélange (37°C). Si la colle est utilisée immédiatement après la sortie du réfrigérateur, les TP sont significativement plus courts. Pour le ratio avec 80 % de lipiodol, c'est l'inverse avec un TP qui est plus court en cas de chauffage à 37°C. Il aurait été intéressant de poursuivre les analyses de TP avec des ratios intermédiaires.

Les différences entre le Purefill® et les 2 autres colles sont retrouvées dans les analyses macroscopiques. L'ajout de lipiodol semble, d'après la MO, créer des espaces vides entre les parties polymérisées (solides).

Seul le lipiodol influe sur la radio-opacité. La poudre de tantale est bien plus radio-opaque que le lipidol. Nous n'avons pas étudié l'impact de la poudre de tantale sur les TP.

Le montage utilisé est un montage qui étudie la polymérisation en condition statique. Les mesures réalisées sont des mesures de temps de polymérisation mais ce qui est intéressant pour l'application en embolisation, c'est le T0 c'est à dire le début de la polymérisation. Le dispositif ne permet pas d'évaluer l'impact du débit d'injection sur la polymérisation ni l'impact du volume injecté.

Il serait judicieux de pouvoir évaluer les différences de ces colles et l'impact de la température sur le Purefill® sur un modèle dynamique, par conséquent un modèle animal. Un modèle animal permettrait aussi d'apprécier l'impact des variations de température sur l'hémostase.

Enfin, ce modèle ne permet pas d'analyser toutes les phases de la polymérisation. Les gouttes peuvent parfois ne pas être strictement identiques. C'est notamment pour ces raisons

que nous avons décidé de poursuivre l'évaluation du Purefill® sur le modèle disponible au laboratoire du Dr Salsac.

## VI. MATERIELS et METHODES de l'étude 2

Les travaux débutés par Yongjiang LI (Li 2018) au laboratoire de biomécanique et bio-ingénierie (UMR CNRS 7338) à l'Université de Technologie de Compiègne portaient sur l'étude quantitative des propriétés physiques de 2 colles cyanoacrylates (Histoacryl® et Glubran 2®) mélangées avec du lipiodol ainsi qu'une analyse quantitative du phénomène dynamique de polymérisation au contact de solutions ionique et protéique à partir du modèle présenté ci-dessous (figures 39 et 40).

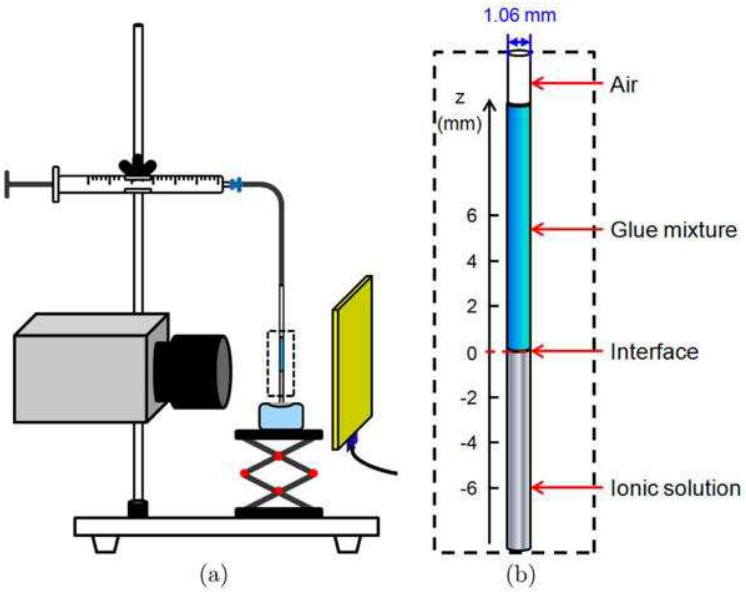



*Figure 39 : Modèle expérimental (a) utilisé pour évaluer la réaction de polymérisation d'une solution contenant de la colle au contact d'une solution ionique. Les 2 solutions sont mises en contact dans un microtube (b).*

| Solute | Quantity |
|---|---|
| NaCl | 7.19 g |
| KCl | 0.2 g |
| $KH_2PO_4$ | 0.2 g |
| $Na_2HPO_4 \cdot 12\ H_2O$ | 2.86 g |
| Glucose | 0.8 g |
| Glycerol | 320 ml |
| Deionized water | 680 ml |

*Figure 40: Composition d'un litre de solution ionique (Li et al. 2017).*

L'étude de la réaction de polymérisation a porté sur deux aspects.

Le premier est l'analyse de la solidification de l'interface entre la solution contenant la colle (en haut) et une solution ionique (même concentration ionique que le sang) à plusieurs concentrations de colle. Cette réaction étant initiée rapidement, elle a été analysée sur des temps courts (218 ou 436 secondes) à une cadence de 50 images par seconde. La polymérisation entrainant une opacification de la solution ionique, celle-ci a été analysée indirectement via les modifications d'opacité (échelle de gris) observés dans le film de colle laissé le long de la paroi du tube, dans la zone où la colle était avant que la solution ionique ne soit aspirée (figure 41).

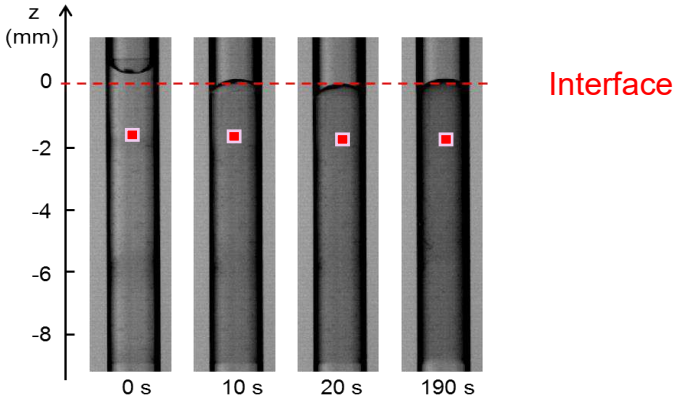



*Figure 41: Modification de l'interface entre la solution ionique et la solution contenant la colle, évaluée sur des temps courts (Li et al. 2017).*

*La ligne en pointillé rouge représente l'interface qui a été analysée selon plusieurs paramètres (angles des solutions avec les bords du micro tube, hauteur de l'interface). La mesure de l'opacité (échelle de gris) de la solution ionique a été réalisée à l'endroit des centres d'intérêts rouges.*

Le deuxième aspect étudié est la propagation de la réaction de polymérisation dans le volume de la colle à partir de l'interface avec la solution ionique. La propagation de la polymérisation entraine des modifications de volume et des modifications d'opacité visible à l'œil et par caméra rapide. Ces modifications des niveaux de gris apparaissent lentement et ont été étudiées sur des temps plus longs (90 et 180 minutes), avec une cadence image à 0,5 image par seconde (figure 42).

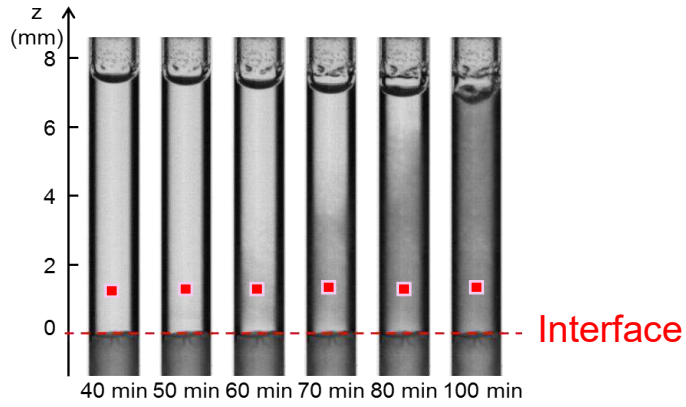



*Figure 42: Modification à partir de l'interface vers la solution contenant la colle, évaluées sur des temps longs (Li et al. 2017).*

*La ligne en pointillé rouge représente l'interface. Les modifications d'opacité (échelle de gris) ont été analysées à l'endroit des centres d'intérêts rouges.*

Lors de ma thèse, j'ai eu l'opportunité de pouvoir travailler avec l'équipe de recherche d'Anne-Virginie Salsac au moment où Yongjiang réalisait ses travaux. Grâce aux discussions scientifiques intégrant recherche biomécanique et réalité clinique, Yongjiang a pu compléter ses travaux. En effet, seules des concentrations élevées de colle étaient évaluées (100 %, 75 % et 50%), or en pratique clinique les mélanges utilisés sont plutôt de 50 % au maximum : la polymérisation a donc également été étudiée à 25%. D'autre part, comme nous nous étions posé la question sur l'impact potentiel des techniques de mélange sur la polymérisation, des tests complémentaires ont été réalisés. L'évaluation a notamment permis de conclure que les 2 composants (colle et lipidol) étaient miscibles et que par conséquent, à partir du moment où le mélange était correctement réalisé (temps de mélange assez long), il n'y avait aucune raison de voir de différence sur les temps de polymérisation. Un autre aspect a été discuté, à savoir la présence dans le sang de composants protéiques notamment l'albumine. L'évaluation de la polymérisation a ainsi pu être complétée par une solution ionique contenant des protéines sous la forme d'albumine de sérum bovin à 4 et 8 %. Ces travaux ont été publiés (Y. J. Li, Barthès-Biesel, and Salsac 2017a, 2017b).

Lors de mon premier passage à l'UTC, nous avons décidé de compléter ces travaux avec l'évaluation du Purefill. Les mesures ont été faites pour la plupart pendant mes passages à l'UTC, en parallèle des travaux de thèse de Yongjiang. En revanche, l'analyse des résultats (post traitement des films et analyse sur Matlab) a été effectuée par Yongjiang.

La préparation du mélange colle-lipiodol a été réalisée de la même façon que pour l'étude du Glubran 2 et de l'Histoacryl. La colle était sortie du réfrigérateur (4°C) et maintenu à la température ambiante de la pièce pendant 2 minutes. Deux seringues de 1 ml étaient utilisées. Les seringues étaient connectées à l'aide d'un connecteur mono-voie (figure 43). Le mélange était réalisé par aller-retour (150 fois en 90 secondes). Le mélange était utilisé une fois la disparition des microbulles.

*Figure 43 : Photo des seringues connectées à l'aide d'un connecteur mono-voie, pour la réalisation des mélanges colle-lipiodol, à l'UTC de Compiègne.*

La photo du montage expérimental est représentée sur la figure 44. Il est identique à celui présenté en introduction.

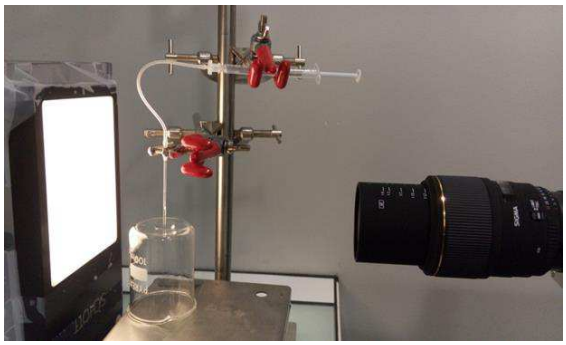


*Figure 44 : Photo du montage expérimental pour évaluer la polymérisation des colles - UTC de Compiègne.*

Un microtube était utilisé pour chaque expérimentation et son diamètre mesuré. Celui-ci était fixé au tube en silicone lui-même fixé sur le support en métal. Le microtube était placé bien à la verticale. Les paramètres d'enregistrement de la caméra étaient vérifiés et réglés au début de chaque expérimentation. Nous avons utilisé les mêmes paramètres de résolution (128*1024), les mêmes cadences images et les mêmes modes d'enregistrement.

Le positionnement de la caméra devait permettre d'inclure le microtube dans sa totalité. L'objectif était réglé afin d'obtenir une qualité d'image haute résolution.

Un bécher en verre était positionné à l'envers afin que le fond de celui-ci permette de déposer les solutions à aspirer dans le micro-tube. L'aspiration se faisait grâce à une seringue de 1 ml positionnée à l'extrémité du micro-tube en silicone.

Les solutions étaient aspirées au travers du microtube après le démarrage de l'enregistrement. La caméra était reliée au logiciel de traitement et post-traitement (Fastcam viewer 3). Une petite quantité du mélange (colle lipiodol) ou de la colle pure était déposée sur le fond du bécher en verre et aspirée dans le micro-tube (environ 1 cm de hauteur). Ensuite le bécher était changé pour y déposer la solution ionique, elle-même immédiatement aspirée dans le microtube. Pour l'évaluation de l'évolution du front de polymérisation, l'enregistrement se faisait avec un laps de temps. Le temps d'intervalle était de 2 secondes, le temps de répétition : 2700 (1 heure 30) et 3600 secondes (2 heures) avec une image par déclenchement.

Deux solutions ioniques ont été testées, avec et sans glycérol. Le glycérol avait été ajouté pour obtenir une viscosité proche de celle du sang.

Les temps de polymérisation ont été évalués pour 2 concentrations lors de mes passages dans l'unité de recherche

- 75% colle / 25% de lipiodol

- 100% colle / 0% de lipiodol®
- 50% colle / 50% de lipiodol

La concentration : 25% colle / 75 % de lipidol a été étudiée après mes passages à l'UTC.

# VII. RESULTATS de l'étude 2

## 1. Glubran 2 et Histoacryl.

Les résultats sont résumés sur les figures suivantes (figures 45 à 48), issues des 2 articles et de la thèse de Yongjiang.

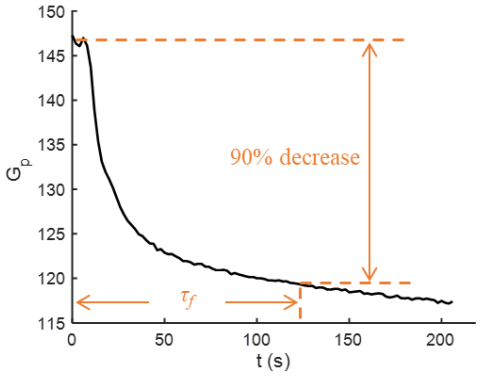



*Figure 45: Principe du calcul des temps caractéristiques (T f) reflétant les temps de polymérisation au niveau de l'interface d'après Li et al. 2017.*

| $\tau_f$ (s) | $C_G$=50% | $C_G$=75% | $C_G$=100% |
|---|---|---|---|
| G-L | 116 ± 8 | 79 ± 11 | 54 ± 9 |
| H-L | 86 ± 9 | 66 ± 13 | 41 ± 3 |

*Figure 46 : Résultats des temps caractéristiques pour une polymérisation à 90 % (Li et al. 2017) pour le Glubran (G) et l'Histoacryl (H) en fonction des concentrations de colle dans le mélange avec le lipidol (L) (Li et al. 2017).*

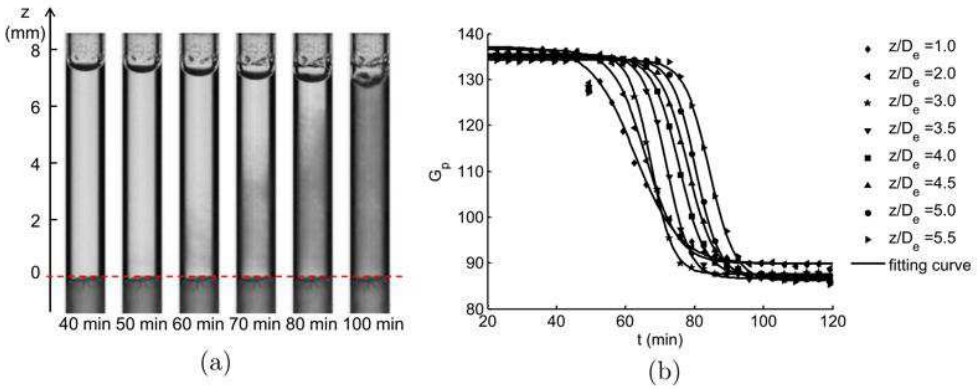



*Figure 47 : Représentation (b) de la propagation de la polymérisation en volume avec une solution ionique ayant la même viscosité que le sang à partir des enregistrements vidéo (a) (Li et al. 2017).*

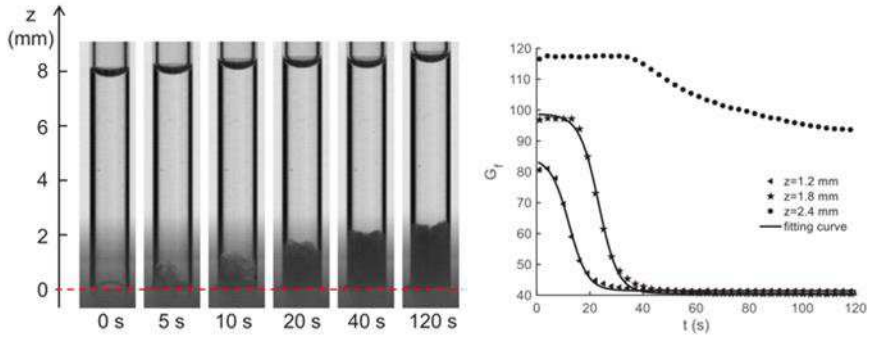



*Figure 48 : Représentation de la polymérisation avec une solution ionique contenant des protéines. Exemple du Glubran avec une concentration de colle à 50 % (Li et al. 2017).*

## 2. Purefill

Les analyses de résultats ont été effectuée à l'UTC après mon départ de l'UTC.

Sont présentés ici les résultats préliminaires. Des exemples de courbes obtenues avec le Purefill® sur l'analyse de la polymérisation interfaciale sont représentés en figure 49.

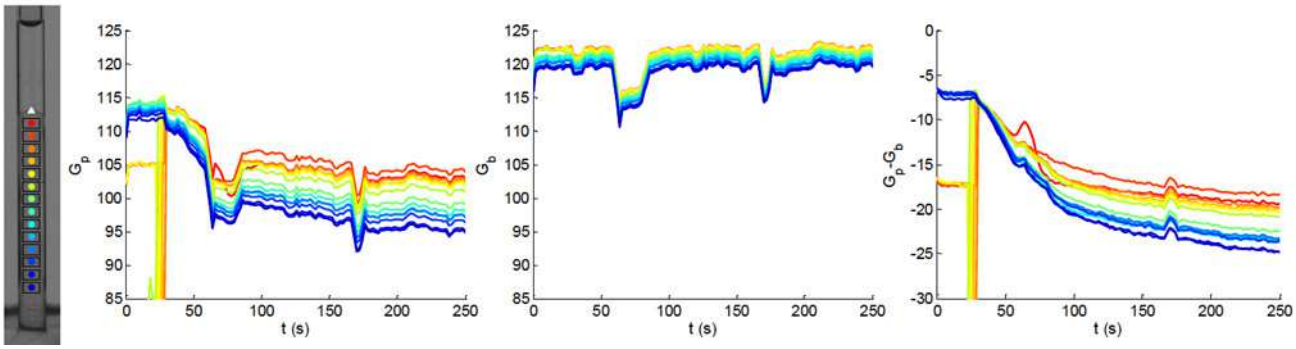



*Figure 49 : Analyse préliminaire de la polymérisation interfaciale avec le Purefill®.*

Le tableau 11 résume les valeurs caractéristiques de la polymérisation interfaciale entre le Glubran 2 et le Purefill, avec une solution ionique à laquelle avait été ajouté du glycérol pour obtenir une viscosité identique à celle du sang.

| $\tau_f \pm \sigma$ (s) | $C_G$ = 50% | $C_G$ = 75% | $C_G$ = 100% |
|---|---|---|---|
| Purefill-lipiodol | 161 ± 28 | 130 ± 14 | 121 ± 17 |
| Glubran 2-lipiodol | 116 ± 8 | 79 ± 11 | 54 ± 9 |

*Tableau 11 : Tableau des résultats intermédiaires des temps caractéristiques du Purefill comparés aux 2 autres colles (solution ionique avec glycérol).*

La polymérisation interfaciale est plus lente à obtenir avec le Purefill, qu'avec le Glubran 2, elle-même plus lente à obtenir qu'avec l'Histoacryl. On observe des temps plus courts lorsque la concentration de colle augmente.

Les modifications obtenues avec l'ajout de protéines, a fait suspecter un rôle du glycérol dans la polymérisation. Ainsi, de nouveaux tests ont été réalisés sans glycérol dans la solution ionique. Les résultats sont résumés dans le tableau 12.

| $\tau_f \pm \sigma$ (s) | $C_G$ = 50% | $C_G$ = 75% | $C_G$ = 100% |
|---|---|---|---|
| Purefill-lipiodol | 64 ± 3 | 59 ± 6 | 58 ± 3 |
| Glubran 2-lipiodol | 41 ± 3 | | |

*Tableau 12 : Tableau des résultats intermédiaires des temps caractéristiques du Purefill comparés aux 2 autres colles (solution ionique sans glycérol).*

Le glycérol impacte les temps caractéristiques en les augmentant. En effet, on observe à la concentration de colle 50 %, pour le Glubran 2, un temps de polymérisation interfaciale divisé quasiment par 3 sans glycérol, qui est le même que celui de l'histoacryl seul (100 %) dans la condition avec glycérol.

Concernant la polymérisation volumique, nous avons rencontré plusieurs problèmes. La polymérisation n'entraine pas d'opacité du mélange, celui-ci restant transparent (figure 50) même si l'on attend 23 h. De plus les temps de polymérisation sont extrêmement longs (cf tableau 13).

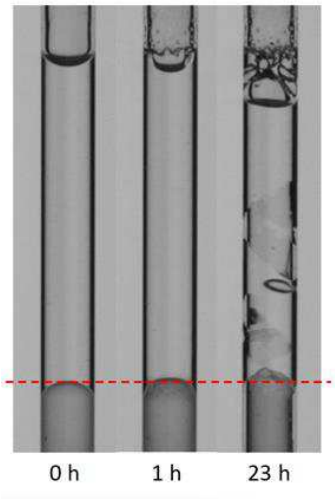



*Figure 50 : Absence d'opacité du mélange Purefill-lipiodol au sein des micro-tubes (à 1h ou à 23h après le début du contact colle-lipiodol).*

| | $C_G$ = 50% | $C_G$ = 75% | $C_G$ = 100% |
|---|---|---|---|
| Glubran 2-Lipiodol | 1h30 | | |
| Purefill-Lipiodol | 6h | - | 4h |

*Tableau 13 : Temps pour obtenir un début de réaction volumique avec le Purefill comparé au Glubran.*

Sur la figure 51, un exemple de microtube avec 100 % de Purefill, 4 heures et 23 heures après le début du contact avec la solution ionique. On y observe le problème de la mesure du volume avec une limite supérieure difficile à délimiter.

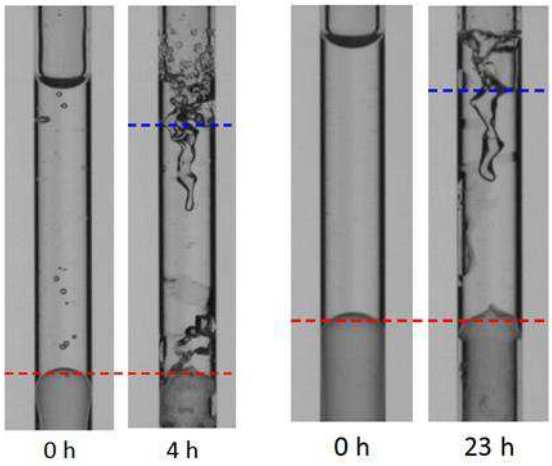



*Figure 51 : Microtube après 4h et 23h de la mise en contact du mélange Purefill-lipiodol et solution ionique.*

## VIII. CONCLUSION et DISCUSSION de l'étude 2

Le taux de polymérisation et la vitesse de propagation augmente avec la concentration de la colle. Le méthylsulfonate (composant du Glubran) diminue le processus de polymérisation. La polymérisation entraine une diminution de volume de la solution contenant la colle. L'impact des protéines est majeur sur la polymérisation mais reste très complexe et les mécanismes n'en sont pas encore bien élucidés.

Les résultats observés avec le Purefill sont très surprenants par rapport à ceux des deux autres colles. Les temps caractéristiques sont très longs sur ce modèle alors que nous avions trouvé un résultat inverse sur le modèle précédent.

Les études complémentaires du Purefill sont en cours avec notamment des temps d'observation plus longs.

# IX. DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES SUR L'EMBOLISATION AUX AGENTS LIQUIDES COLLANTS

Alors qu'il est admis par tous que la colle constitue l'agent d'embolisation le plus difficile à maîtriser, aucune recommandation pratique claire et détaillée pour son utilisation n'existe. La colle reste cependant l'un des rares agents d'embolisation efficace pour des indications cliniques telles que les malformations artérioveineuse (cérébrales ou périphériques) ainsi que les fistules durales. Son délai d'action ultra-rapide en fait un agent plébiscité dans les hémorragies très actives engageant le pronostic vital. L'arrivée sur le marché d'agents liquides non adhésifs type Onyx® devait diminuer les inconvénients des agents collants. Néanmoins, ils ne sont pas disponibles partout, sont plus chers et leur utilisation est parfois aussi complexe (nécessité de mélange avec la poudre de tantale pour les rendre radio-opaque) que potentiellement dangereuse : injection de solvant (DMSO) qui peut être toxique injecté à trop haut débit. Leur injection peut parfois nécessiter une anesthésie générale. Les colles présentent moins de contraintes. La colle fait donc partie des agents qui doivent pouvoir être maîtrisés par les opérateurs.

De la même façon qu'il existe plusieurs types de particules ou plusieurs types de coïls, nous avons pu démontrer qu'il existait plusieurs types de colle. Elles ont des comportements différents lors de l'injection mais aussi à moyen voire potentiellement à long terme. Vidal et al. (2016) ont pu réaliser une étude du Purefill sur l'animal (Izaaryene et al. 2016). Ils ont comparé le Purefill à l'Histoacryl ainsi qu'au Glubran 2. En termes d'occlusion à court ou long terme (90 jours), aucune différence n'a été observée sur le plan anatomo-pathologique entre les 3 colles. En revanche, il existait une différence en termes d'adhésivité, traduite

indirectement par une différence d'angulation et de mobilisation du cast de colle (Izaaryene et al. 2016).

L'étude 1 a été présentée en congrès national et international et va faire l'objet d'une publication bien que les résultats soient divergents avec les résultats obtenus sur le modèle de l'UTC. Nous souhaitions attendre les résultats définitifs de l'étude 2 pour tenter de comprendre une telle différence.

De plus, nous souhaitons avec le Dr Salsac pouvoir rédiger des recommandations de pratique d'utilisation des colles, en fonction du type de colle, en fonction des températures d'utilisation et des ratios. Il nous faudra encore extrapoler ces données *in vitro* à un modèle dynamique, par conséquent un modèle animal. Nous avons vu que le glycérol permettait d'allonger les temps de polymérisations. L'ajout d'additif biocompatible pourrait améliorer la maîtrise et le contrôle de l'embolisation à la colle en ralentissant le processus de polymérisation, mais il faudrait intégrer les variations de viscosités entraînées qui pourraient impacter le ciblage de la zone à traiter. On rappelle ici que ce n'est pas le caractère collant des colles qui nous intéresse mais la transformation d'un agent liquide en un agent solide qui forme un « plug » intravasculaire et permet d'occlure le vaisseau. Le modèle animal permettrait aussi d'analyser les mécanismes de recanalisation.

Comme nous l'avons fait pour l'évaluation et la comparaison de plusieurs types de coils, nous souhaiterions utiliser la brebis comme modèle animal (A. Fohlen et al. 2017; Audrey Fohlen et al. 2019). Ce modèle a largement été utilisé pour l'étude d'agents embolisants, du fait notamment de sa ressemblance anatomique avec la vascularisation chez l'homme(J. P. Pelage et al. 2001; Alexandre Laurent et al. 2006). L'artère splénique pourrait être utilisée comme artère à flux rapide, afin d'évaluer les différents types de mélanges et de préparation. Son embolisation n'impacterait pas la survie des animaux, permettant ainsi une évaluation à court, moyen et long terme de l'occlusion. Le système porte pourrait aussi permettre une évaluation de la recanalisation à court, moyen et long terme. Les artères iliaques pourraient être utilisées pour comparer les différentes colles, en privilégiant les 2 colles ayant l'AMM pour un usage endovasculaire à savoir le Purefill et le Glubran2. Le rete mirabile, qui est un modèle de MAV, pourrait aussi servir pour comparer le comportement des colles en fonction du type de colle et des types de mélanges. Les artères rénales pourraient aussi servir de site d'embolisation mais en veillant à réaliser une embolisation partielle si celle-ci était bilatérale.

L'installation d'une salle d'angiographie au sein de la plateforme CYCERON dans laquelle notre unité de recherche est hébergée pourrait permettre l'évaluation des colles sur modèle animal. Cet équipement angiographique pourra également permettre de former les praticiens à la préparation et à l'utilisation de la colle dans des conditions in vivo proches de la pratique clinique.

# PARTIE 2 :

# OPTIMISATION EN RADIOLOGIE INTERVENTIONNELLE ONCOLOGIQUE (RIO)

# Chapitre 1 IMPLICATION DE LA RI DANS LE DIAGNOSTIC DES TUMEURS

## I. INTRODUCTION de l'étude 3 « biopsies endobiliaires »

Jusqu'à présent les prélèvements biopsiques étaient nécessaires simplement pour porter le diagnostic histologique d'une tumeur. Or, depuis l'arrivée des thérapies ciblées, les biopsies permettent en plus la recherche d'anomalies moléculaires de type mutations, amplifications de gènes ou encore surexpression de récepteurs hormonaux. La biopsie permet d'obtenir l'identité moléculaire et génétique de la tumeur. Ces anomalies peuvent être ciblées par les traitements actuellement disponibles, indépendamment de l'histologie classique ou de la localisation de la tumeur. On parle ainsi de « médecine personnalisée », « médecine de précision » ou encore « médecine sur mesure ». Le radiologue interventionnel a donc un rôle clef dans la prise en charge des patients en oncologie. Il est capable, grâce aux techniques de guidage, de réaliser des prélèvements histologiques de la quasi-totalité des organes pleins, tissus mous ou adénopathies, par voie percutanée. Les deux systèmes de guidage les plus utilisés sont le scanner et l'échographie, avec pour avantage de l'échographie d'être non irradiant. Le radiologue peut également s'aider des imageries IRM ou TEP (tomographie par émissions de positions) du patient, qui donnent des informations métaboliques supplémentaires, pour mieux cibler la portion la plus « active » de la lésion. En effet, des logiciels permettent de venir positionner l'image acquise selon une modalité, sur une autre modalité. On parle de « fusion » d'images. La fusion la plus utilisée reste la fusion d'images IRM sur l'image échographique. J'ai pu collaborer avec un urologue du CHU en thèse dans l'équipe CERVOxy (Dr Clément Orczyk) sur l'intérêt de l'IRM multiparamétrique pour guider les biopsies prostatiques (Orczyk et al. 2019)

Certaines lésions restent de par leur localisation difficile d'accès. C'est notamment le cas des lésions situées sur les voies biliaires ou au contact. Ces lésions, quel que soit leur origine, entrainent une sténose des voies biliaires avec pour conséquence une dilatation d'amont. Le diagnostic étiologique de la sténose biliaire constitue un vrai défi pour l'imagerie en coupe, notamment pour l'IRM (Katabathina et al. 2014; Arrivé et al. 2015). Ces lésions peuvent être soit des lésions primitives biliaires, soit des lésions pancréatiques (principalement de la tête), ou encore des lésions extrinsèques à proximité de l'arbre biliaire. Les lésions peuvent être des

tumeurs malignes (d'origine biliaire, pancréatique ou métastatique d'une tumeur primitive à distance) mais aussi des lésions inflammatoires ou auto-immunes. Le diagnostic histologique est donc primordial pour proposer une prise en charge adaptée. Or, les sténoses biliaires sans histologie, nommée « IBS » pour *Indeterminate Biliary Stricture* dans la littérature, représentaient encore jusqu'à 20% des sténoses biliaires (Singh, Gelrud, and Agarwal 2014). Les lésions peuvent être accessibles par voies naturelles grâce aux techniques endoscopiques telles que la cholangiopancréatographie rétrograde endoscopique (CPRE) ou l'écho-endoscopie. Ces techniques permettent la réalisation de brossage, de cytoponction et parfois même de biopsies. La sensibilité des cytoaspirations ou biopsies par CPRE s'étend de 27% à 56% (de Bellis et al. 2002). En revanche la cytoaspiration par écho-endoscopie reste le gold standard avec des performances qui, en fonction des études, peuvent atteindre un peu plus de 92%(Lin et al. 2014). D'après ces auteurs, les performances sont largement liées à l'expérience de l'opérateur. De plus, l'échoendoscopie n'est pas disponibles dans certains centres. Enfin, il existe des contre-indications anatomiques empêchant sa réalisation comme les anastomoses chirurgicales. Il est clairement établi que les sténoses hautes sur l'arbre biliaire (au niveau de la convergence ou au-dessus) restent très difficile d'accès par voie naturelle que ce soit pour réaliser un prélèvement ou pour traiter la sténose (Weilert et al. 2014).

Parce que l'accès aux lésions biliaires constitue toujours un véritable défi pour les hépato-gastro-entérologues, de nouvelles techniques endoscopiques ont été développées dans le but de faciliter l'accès aux lésions canalaires bilio-pancréatiques (Tabibian et al. 2015; Tringali et al. 2015). Ces dernières techniques sont loin d'être disponibles dans tous les centres et sont très onéreuses.

En ce qui concerne la RI, elle conserve une place de première ou deuxième intention dans le traitement des sténoses biliaires grâce aux techniques de drainages percutanées(MORI et al. 1977; Nakayama, Ikeda, and Okuda 1978; Probst, Castaneda-Zuniga, and Amplatz 1978). De plus, elle permet d'accéder à la totalité de l'arbre biliaire que ce soit en amont ou en aval de la convergence. Elle intervient ainsi souvent en cas d'échec de la voie endoscopique ou parce que la lésion est trop haut située.

La voie percutanée est également une voie d'accès pour des prélèvements histologiques. Le premier cas de biopsie endobiliaire par voie percutanée a été décrit en 1980 (Elyaderani and Gabriele 1980). C'est seulement en 2002 que l'on peut retrouver une étude sur les biopsies

endobiliaires percutanées portant sur 130 patients (Jung et al. 2002). Il est étonnant de voir les techniques de drainage biliaire percutané sont très largement pratiquées alors que la biopsie endobiliaire n'a pas suivie la même évolution. Pourtant, les dispositifs utilisés en RI ont largement évolué avec la disponibilité de matériel dédié et miniaturisé. Il existe notamment une pince à biopsie endobiliaire sur le marché. Nous pensons que cette technique et ce matériel doivent être évalués dans l'objectif de permettre aux radiologues interventionnels d'aider à la prise en charge des patients atteints de sténoses biliaires avec errance diagnostique, pour qui des traitements d'épreuve sont mis en route.

## II. MATERIELS ET METHODES de l'étude 3

De janvier à juillet 2015, tous les patients consécutifs adressés en radiologie interventionnelle au CHU de CAEN, pour drainage biliaire percutané et sans diagnostic histologique, ont été inclus dans l'étude. L'étude a été approuvée par le CPP Nord-Ouest (CPP A15-D30-VOL.26). Pour chaque patient une série de biopsies endobiliaires au cours du drainage radiologique a été réalisée. L'indication de biopsies avait été posée et validée au cours de la réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP) d'oncologie digestive.

L'anamnèse, les données démographiques, les paramètres biologiques (bilan hépatique, bilirubinémie, dosage de marqueurs tumoraux) avant et après l'intervention ont été enregistrés. L'imagerie en coupe pré-opératoire (tomodensitométrie ou IRM) a été analysée par un des radiologues interventionnels (moi-même). Une comparaison au compte-rendu initial a été effectuée et un consensus retenu sur :

- La taille de la lésion ;
- La localisation de la lésion ;
- L'existence d'une invasion intracanalaire ;
- L'hypothèse diagnostique.

Les données de l'intervention ont été enregistrées : voie d'abord, succès du franchissement de sténose, pose de drain externe ou interne-externe, possibilité de réaliser les biopsies et qualité des prélèvements (nombre et aspects macroscopiques). Les données concernant le temps d'intervention ainsi que les données dosimétriques ont été analysées.

Les complications ont été répertoriées et classées selon la classification du SIR (Society of Interventional Radiology). Les interventions ont toutes été réalisées sur une table d'angiographie Artis Zee (Siemens Healthcare, Erlangen, Allemagne). Trois radiologues interventionnels ont réalisé ces procédures avec 15, 8 et 2 ans d'expérience en RI. Une antibiothérapie était administrée avant l'intervention selon les recommandations du SIR. Toutes les interventions ont été réalisées sous anesthésie générale. La ponction biliaire était réalisée sous contrôle échographique, à l'aide de la technique de Seldinger par micro ponction à l'aide d'une aiguille de 22 gauges (Merit Medical), permettant ensuite le positionnement d'un microguide 0.021 inch puis d'une gaine d'accès de 6 French. Celle-ci permettait d'introduire un guide hydrophile 0.035 inch dans les voies biliaires et de positionner le désilet long flexible de 7 French et 30 cm de longueur (Cook Medical). Ensuite une cholangiographie était réalisée pour repérer la zone de sténose. Le franchissement de celle-ci était tenté grâce à un cathéter 4F. En cas de franchissement la sonde était amenée dans le duodénum pour permettre un échange du guide. Un guide rigide (Amplatz, Cook Medical) était alors positionné jusqu'à l'angle de Treitz. La pince à biopsie était alors introduite dans le désilet, poussée jusqu'au contact de la lésion. Les biopsies étaient alors réalisées sous contrôle scopique, en utilisant l'extrémité distale de la gaine du désilet pour bien plaquer la tête de la pince sur la zone de sténose. La pince à biopsie utilisée faisait 5.2 French de diamètre externe, 60 cm de longueur, avec une cupule de prélèvement de 2,25 $mm^3$ (Cook Medical). Le nombre de prélèvements réalisés étaient relevés, ainsi que leur aspect macroscopique. Un drain interne-externe était laissé en place. Une prothèse biliaire métallique était positionnée dans un second temps en cas de confirmation de tumeur maligne. En cas de franchissement de sténose impossible, un drain externe était laissé en place. Les biopsies étaient également réalisées sur la zone de sténose. L'évaluation de l'efficacité du drainage a été faite sur l'évolution du bilan biologique (diminution significative de la bilirubinémie). Les biopsies biliaires étaient fixées et colorées comme n'importe quelle biopsie par les anatomopathologistes. Si nécessaire, une analyse immunohistochimique était réalisée. Toutes les biopsies endobiliaires ont été revues indépendamment par 2 anatomopathologistes. En cas de désaccord un consensus était obtenu. La performance des biopsies a été évaluée sur leur capacité à diagnostiquer une lésion tumorale versus non tumorale et parmi les lésions tumorales à diagnostiquer l'origine de la tumeur et sa différentiation. La sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive et négative ont été calculés

ainsi que la performance globale, avec leur intervalle de confiance à 95%. Nous avons considéré les prélèvements comme vrais positifs lorsque les 2 anatomopathologistes diagnostiquaient, de façon indépendante ou après consensus, la lésion comme ayant une origine maligne, en pouvant déterminer le type histologique exact ainsi que la différentiation. Dans les autres cas : pas de consensus trouvé entre les 2 anatomopathologistes ou l'absence de cellules tumorales décelées sur les prélèvements, les résultats étaient comparés aux prélèvements chirurgicaux et/ou prélèvements endoscopiques et/ou biopsies percutanés et/ou à l'imagerie de suivi et/ou au suivi clinique. Le suivi a été réalisé 14 mois après le début de l'étude. En cas de progression tumorale locale ou de progression de la maladie (métastases, adénopathies) au point de fin d'étude, une étiologie maligne était considérée comme le diagnostic final. En cas de décès ou d'altération de l'état général sans autre cause retrouvée, le diagnostic de sténose tumorale était également retenu.
Les corrélations entre performances des biopsies et anomalies radiologiques (hypothèses diagnostiques, invasion des structures canalaires, taille de la lésion, localisation de la sténose sur l'arbre biliaire) ont été calculées.

*Analyse statistique :*

Les variables continues ont été exprimées en moyenne / déviation standard et médiane / limites minimum-maximum. Les variables catégorielles ont été exprimées en pourcentage. Les corrélations ont été calculées selon un test de Pearson. Une valeur de $p<0.05$ était considérée comme significative.

J'ai pu réaliser l'analyse statistique au sein de l'unité de recherche grâce au logiciel JMP Pro 12.

## III. RESULTATS de l'étude 3 (article 1)

Pour tous les patients (50) il a été possible de réaliser le drainage biliaire associé aux biopsies endobiliaires. La sensibilité des biopsies était de 70% et la spécificité de 100 %, avec une performance globale de 72 %. Après une phase d'apprentissage et d'optimisation de la technique (en plaquant bien la pince à biopsie sur la lésion grâce à l'extrémité du désilet long de 7F), la sensibilité était de 78 % et la performance globale de 80 %.

Les performances étaient différentes en fonction de la localisation de la sténose : sensibilité de 87 % pour les sténoses hautes vs 55 % pour les sténoses basses de l'arbre biliaire.

Les performances étaient meilleures en cas de cholangiocarcinome ou d'invasion intra-canalaire suspectés sur l'imagerie pré-interventionnelle : 84 % et 81 % respectivement

Les complications étaient principalement mineures : 2 hémobilies, 1 pneumopéritoine et 1 fuite biliaire. Seule la fuite biliaire a nécessité une prise en charge adaptée qui a simplement consisté en la pose d'un drain pour assécher la plaie.

Tous les résultats sont détaillés dans l'article ci-après.

European Radiology (2019) 29:2426–2435
https://doi.org/10.1007/s00330-018-5852-x

HEPATOBILIARY-PANCREAS

# Transhepatic forceps biopsy combined with biliary drainage in obstructive jaundice: safety and accuracy

Audrey Fohlen[1,2] · Celine Bazille[2,3] · Benjamin Menahem[4,5] · Marc Antoine Jegonday[1] · Benoit Dupont[6] · Vincent Le Pennec[1] · Jean Lubrano[4,5] · Boris Guiu[7] · Jean Pierre Pelage[1,2]

Received: 9 April 2018 / Revised: 3 October 2018 / Accepted: 23 October 2018 / Published online: 3 December 2018
© European Society of Radiology 2018

## Abstract

**Purpose** This study was conducted in order to investigate the safety and accuracy of percutaneous transluminal forceps biopsy (PTFB) during percutaneous biliary drainage (PTBD) in patients with a suspicion of malignant biliary stricture.

**Material and methods** Fifty consecutive patients with obstructive jaundice underwent PTFB during PTBD. Biopsy specimens were obtained using 5.2-F flexible biopsy forceps and these specimens were independently analysed by two pathologists. Consensus was obtained in case of discrepancy. Biopsy was considered as a true positive when tumour cells were retrieved. In the absence of tumour cells, comparison with available surgical findings and/or endoscopic ultrasound fine-needle aspiration (EUS-FNA) and/or percutaneous liver biopsy and/or imaging or clinical follow-up was made to distinguish true and false negatives. Specificity, sensitivity, positive predictive value, negative predictive value and accuracy were calculated. Influence of tumour location and pre-operative imaging findings was evaluated. Adverse events were reported.

**Results** Biliary drainage and tissue sampling were achieved in 100% of patients. Sensitivity and specificity were 70 and 100%, respectively, while overall accuracy was 72%. After excluding the first 25 patients, accuracy and sensitivity for tissue sampling reached 80 and 78%, respectively. Sensitivity was better (87%) if stenosis was located at the upper part of the biliary tree, compared to the lower part (55%). In case of cholangiocarcinoma or intraductal invasion suspected on imaging, biopsy was contributive in 84 and 81% of patients, respectively. Four complications occurred consisting of one bile leak, two haemobilia and one pneumoperitoneum.

**Conclusion** PTFB combined with PTBD is a safe and effective technique for both histopathological diagnosis and biliary decompression of biliary strictures.

**Key Points**

Implications for patient care:

- *Percutaneous transbiliary forceps biopsy is technically feasible (100% of tissue sampling in our study) and is a safe technique.*
- *Radiological management combining PTFB plus PTBD may allow diagnosis and treatment of the biliary stricture at the same time.*
- *Sensitivity and accuracy for PTFB reached 78 and 80%, respectively, with a 100% specificity.*

**Electronic supplementary material** The online version of this article (https://doi.org/10.1007/s00330-018-5852-x) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Audrey Fohlen
fohlen@cyceron.fr

[1] Department of Interventional and Diagnostic Imaging, University Hospital of Caen, Avenue de la Côte de Nacre, 14033 Caen Cedex, France

[2] UNICAEN, CEA, CNRS, ISTCT/CERVOxy Group, Normandie University, 14000 Caen, France

[3] Department of Anatomopathology, University Hospital of Caen, Avenue de la Côte de Nacre, 14033 Caen Cedex, France

[4] Department of Digestive Surgery, University Hospital of Caen, Avenue de la Côte de Nacre, 14033 Caen Cedex, France

[5] UNICAEN, CEA, INSERM U1086, Normandie University, 14045 Caen Cedex, France

[6] Department of Hepato-Gastro-Enterology, University Hospital of Caen, Avenue de la Côte de Nacre, 14033 Caen Cedex, France

[7] Department of Radiology, St-Eloi University Hospital-Montpellier, 80, Avenue Augustin Fliche, 34295 Montpellier, France

**Keywords** Bile · Obstructive jaundice · Drainage · Biopsy · Bile duct neoplasms

**Abbreviations**

| | |
|---|---|
| ALT | Alanine aminotransferase |
| AST | Aspartate aminotransferase |
| CDHP | Cystic dystrophy in heterotopic pancreas |
| CE-CT | Contrast-enhanced computed tomography |
| CI | Confidence interval |
| CRP | C-reactive protein |
| CT | Computed tomography |
| DAP | Dose area product |
| ERCP | Endoscopic retrograde cholangiopancreatography |
| EUS-FNA | Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration |
| GGT | Gamma-glutamyltransferase |
| H&E | Haematoxylin and eosin |
| IBS | Indeterminate biliary stricture |
| MRI | Magnetic resonance imaging |
| NPV | Negative predictive value |
| PPV | Positive predictive value |
| PTBD | Percutaneous biliary drainage |
| PTFB | Percutaneous transhepatic forceps biopsy |
| SD | Skin dose |
| SIR | Society of Interventional Radiology |

## Introduction

Identification of the cause of biliary stricture remains the main challenge. Despite the development of non-invasive imaging techniques [1, 2], indeterminate biliary stricture (IBS), biliary stricture without histopathologic diagnosis, remains high at up to 20% [3]. Different endoscopic techniques are available or under development: endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP)-guided brushing, cyto-aspiration or biopsy, endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration (EUS-FNA) or biopsy, and cholangioscopy with direct biopsy, as well as other novel techniques such as intraductal ultrasonography and confocal laser endomicroscopy [4, 5]. ERCP tissue sampling techniques suffer from low sensitivity ranging from 27 to 56% for bile aspirated cytology or forceps biopsy, respectively [6]. EUS-FNA has proven to be superior to ERCP (guided) in suspected malignant biliary obstructions [7–9]. In a prospective study comparing EUS-FNA to EUS-core biopsy, accuracy for FNA was 92.3%, compared to 84.6% for biopsy [10]. Nowadays, EUS-FNA is the gold standard for tissue sampling in cases of suspected malignant biliary stricture. However, in some cases, this technique may not be available or feasible (e.g. surgical anastomosis). Its accuracy also relies on the operator's experience [10]. Lesions located at the proximal part of the biliary tree (hilar strictures) are especially challenging and associated with a lower accuracy for sampling [8].

In 1980, the first case of tissue sampling (brush and forceps biopsy) through a percutaneous access was described [11]. Twenty years later in 2002, a large study of 130 patients reported on the performance of percutaneous transhepatic forceps biopsy (PTFB) [12]. Since the beginning of the twenty-first century, endoscopic techniques, interventional radiology materials and imaging techniques have largely improved.

The objectives of the present study were to evaluate the feasibility, safety and clinical results of tissue sampling during percutaneous biliary drainage (PTBD) in patients with presumed malignant biliary stricture. We evaluated the efficacy of percutaneous biliary drainage and included a radiation dose analysis.

## Materials and methods

Local ethics and National Data Protection committee approval was obtained (reference CPP A15-D30-VOL.26) for this retrospective study.

### Recording data

Over a 7-month period (January 2015 to July 2015), all consecutive patients with obstructive jaundice referred for PTBD without histological diagnosis were retrospectively analysed. Indications for radiological treatment and tissue sampling were validated by a pluridisciplinary tumour board. Endoscopic management of the patients was retrospectively analysed.

Clinical history, demographic data, tumour markers, pre- and post-procedure (within 7 days after treatment) liver parameters and C-reactive protein (CRP) were also recorded. Pre-operative imaging findings were also reported. Available imaging was retrospectively reviewed by one of the radiologists involved in the study, blinded of the final diagnosis, and subsequently compared with the initial report. Consensus was obtained for lesion size, suspected intraductal invasion, suspected diagnosis and tumour location (level on the biliary tree). The biliary stricture location on cross-sectional imaging was ranged according to the biliary tree anatomy (right and left intrahepatic bile duct, hilum, common hepatic duct, common bile duct, ampullary segment and gallbladder). The entire extrahepatic bile duct included the bile duct from the hilum to the ampullary segment.

Technical aspects of the procedure were recorded. Procedure-related complications were reported according to the Society of Interventional Radiology (SIR) Standards of

Practice Committee classification [13, 14]. Dosimetry parameters were recorded for each procedure.

## PTBD and PTFB procedure details

All procedures were performed in an angiography suite Artis zee (Siemens Healthcare) by three interventional radiologists with 15, 8 and 2 years of experience, respectively.

SIR guidelines for PTBD were followed [14]. Broad spectrum antibiotics (amoxicillin and clavulanate potassium or cephalosporin) were administered before intervention. Percutaneous access to the biliary system was always performed using a micropuncture Seldinger technique with a 22-gauge access system (Merit Medical), under US guidance and general anaesthesia. A cholangiography under fluoroscopy allowed the identification of the biliary stricture (Fig. 1). A flexor sheath 7-F, 30 cm long (Cook Medical), with radiopaque tip was inserted over a 0.035-in. wire (Terumo). If possible, biliary obstruction was crossed using a 4-F catheter. In case of successful stricture crossing, a rigid 0.035-in. wire (Amplatz, Cook Medical) was placed distally in the duodenum. The 4-F catheter was then removed. The flexible biopsy forceps 5.2-F, 60 cm long, 2.25 $mm^3$ cup volume (Cook Medical) was inserted in the sheath, along the stiff wire. Tissue sampling was performed, under fluoroscopy, with the opened cup pushed into the stricture. The cup is then closed to capture the sample. Intraprocedural imaging is covered in Fig. 2. After tissue sampling, an internal drainage catheter was left in place. In case of malignant strictures, a biliary stent (Luminexx, Bard) was placed secondarily (10 mm in diameter and length chosen according to the biliary tree anatomy).

In cases of failed stricture crossing, an external drainage catheter was left in place.

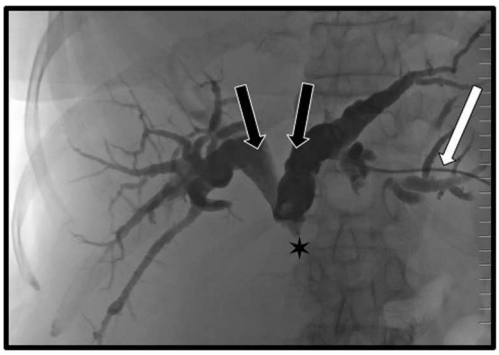


**Fig. 1** A 60-year-old male patient with jaundice and suspected hilar cholangiocarcinoma on pre-operative cross-sectional imaging. Cholangiography under fluoroscopy performed with a left side approach (white arrow, showing the 4-F catheter) demonstrates enlarged right and left intrahepatic bile ducts (black arrow). Stricture is located at the biliary convergence (star). Percutaneous transbiliary biopsy was contributive, with a final histopathological diagnosis of cholangiocarcinoma

## Evaluation of efficacy and accuracy

Efficacy of PTBD was based on changes of biological parameters. Samples were considered feasible and adequate by the radiologist if the size was macroscopically large enough: 1 mm length (minimum) and consists of solid tissue (no liquid sample or fragmented tissue) (Fig. 2d).

Samples were considered adequate by the pathologists if the samples were quantitatively and qualitatively adequate for a pathologist to formulate a diagnosis.

Percutaneous transbiliary specimens collected at the site of stenosis were fixed, routinely processed and embedded in paraffin. H&E staining on 4-μm sections was used to perform diagnosis. Three cutting levels were performed on each biopsy. If necessary, immunohistochemistry was performed using an automated immunohistochemical staining processor (Autostainer Plus, Dako).

Biopsy sample slides were retrospectively and independently analysed by two pathologists with 10 and 7 years of experience, respectively. Consensus was obtained in case of discrepancy. Performance of PTFB was established on the ability to diagnose malignant tissue and, for malignant tumour, to diagnose the type of tumour and lesion differentiation. Sensitivity, specificity, positive (PPV) and negative (NPV) predictive values and accuracy of PTFB and their 95% CI were calculated.

Where there was consensus of malignant tissue on PTFB specimens, biopsy was considered as a true positive. In the other cases, pathological examination of the surgical specimen and/or EUS-FNA and/or percutaneous liver biopsy and/or imaging follow-up and/or clinical follow-up was used to determine the final diagnosis. The endpoint for clinical and imaging follow-up was 14 months after the initiation of the study. If a progressive disease included the occurrence of metastasis or lymph nodes or progression of tumoural tissue within a long follow-up period (14 months) was observed on follow-up imaging, malignant aetiology was considered as final diagnosis. For clinical follow-up, where death or deterioration of performance status (PS) took place, malignant aetiology was considered as final diagnosis, when no other reason for PS deterioration was found.

Correlations between PTFB accuracy and imaging findings (suspected diagnosis, suspected invasion of biliary duct on cross-sectional imaging, lesion size, location of the stricture on the biliary tree) were calculated.

## Statistical analysis

Continuous variables were expressed as mean values/standard deviation and median/range (min–max). Categorical variables were expressed as counts and percentages.

Sensitivity, specificity, and positive and negative predictive values (95% CI) were calculated for the

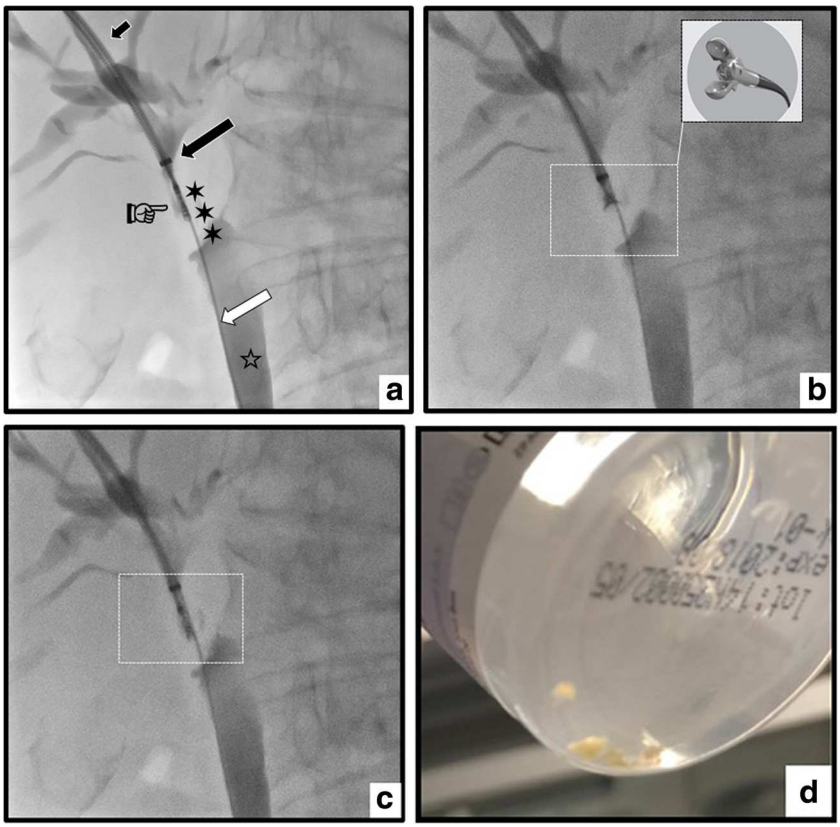



**Fig. 2** A 65-year-old male patient with suspected hilar cholangiocarcinoma on pre-operative cross-sectional imaging. Cholangiography (**a**) performed with a right side approach shows the 7-F flexor sheath (small black arrow) with a radio-opaque tip (large black arrow). The stricture (black stars) was successfully crossed and a 0.035-in. rigid wire (white arrow) was placed distally in the common bile duct (white star) and duodenum. The flexible biopsy forceps 5.2-F, 60 cm long, is inserted with closed cup into the sheath (index finger). Intraprocedural imaging shows the opened 2.25-$mm^3$ cup volume pushed into the stricture (**b**). The cup is then closed to capture the sampling (**c**) and is removed from the sheath to retrieve the sample. Macroscopic sample is then placed in a formol area (**d**)

percutaneous biopsy technique. Accuracy (95% CI) for percutaneous transbiliary forceps biopsy was calculated as the sum of true positives and true negatives divided by the sum of all tests and was expressed as percentages. For mean comparison, a paired *t* test was used.

Correlation between different data (binomial distribution), as described above, was calculated with a correlation test (Pearson). A $p$ value $< 0.05$ was considered as a significant difference. All calculations were performed with the JMP Pro 12 software.

## Results

Fifty patients were included in this study. Characteristics of the population are summarised in Table 1. Pre-operative imaging consisted of 49 CE-CT and 11 hepato-biliary MRI (Table 1). The mean delay between imaging and percutaneous biliary procedure was 26 ± 22 days (SD); median was 21 days (range 7–112). Five patients had a history of non-bilio-pancreatic malignant tumour including one gastric adenocarcinoma, one recto-sigmoidal adenocarcinoma, one lung carcinoma (small cell carcinoma), one breast cancer and one ovarian mucinous tumour. The patient with a history of breast cancer had an increased CA 15-3 (92 U/mL, normal level < 25 U/mL) and the patient with ovarian cancer had a CA 125, near normal level (39 U/mL, normal level < 35). Out of 13 patients with available CEA dosage, only 4 (31%) patients had an abnormal level (> 5 ng/mL). All procedures were performed by interventional radiologists with 15 ($n = 19$), 8 ($n = 22$) and 2 ($n = 9$) years of experience, respectively. Eighty-eight percent (44/50) of the biliary interventions were performed through a right-sided approach. All (100%) stenosis were successfully crossed and tissue sampling was always macroscopically adequate for the radiologist. Concerning PTFB sampling, the mean number of specimens per patient was 3 ± 1 (SD) and median was 3 (range 2–8), because the IR decided to add sampling according to the macroscopic aspect of specimens.

Concerning the size of the specimens (Fig. 2d), pathologists reported the following findings: 1 mm ($n = 26$); 1 mm $< x \leq 3$ mm ($n = 19$); 1 mm $< x \leq 4$ mm ($n = 4$); and 1 mm $< x \leq 7$ mm ($n = 1$).

Secondary stent placement was always feasible (100%). Concerning laboratory parameters, results are presented in Table 2.

The mean dose area product (DAP) ($n = 49$) was 3016 ± 2805 μGy $m^2$ and median was 2148 μGy $m^2$ (range 732–14,783), the mean skin dose SD ($n = 44$)

**Table 1** Population details: patient characteristics, indication for interventional radiology management and imaging data. Endoscopic management is considered dysfunctional in cases of biliary prosthesis obstruction or in cases of prosthesis migration or inappropriate positioning

| | |
|---|---|
| Demographic data | |
| Age (years) ($n = 50$) | Mean 69.5 (± 12.5), median 68.5 (range 40–90) |
| Height (cm) ($n = 43$) | Mean 170.8 (± 9.7), median 173 (range 153–191) |
| Weight (kg) ($n = 47$) | Mean 73.2 (± 16.6), median 72 (range 45–115) |
| Body mass index ($n = 43$) | Mean 25.2 (± 5.4), median 24.7 (range 15.0–42.2) |
| Male:female ratio ($n = 50$) | 1.9:1 |
| Cholangitis | 4/50 (8%) |
| Indications for IR management | |
| Endoscopic management dysfunction | 7/50 (14%) |
| Failed prosthesis placement | 26/50 (52%) |
| Biliary stricture location challenging for endoscopic route | 8/50 (16%) |
| Surgical anastomosis | 2/50 (4%) |
| Delay for endoscopic care | 7/50 (14%) |
| Specific past history | |
| Chronic calcific pancreatitis (CCP) | 2/50 (4%) |
| Intraductal papillary mucinous tumour of the pancreas | 1/50 (2%) |
| Lithiasis disease | 1/50 (2%) |
| Extra bilio-pancreatic tumour | 5/50 (10%) |
| None | 41/50 (82%) |
| Pre-op imaging findings | |
| Size of the lesion (mm) ($n = 50$) | Mean 25 mm (± 24), median 18.5 (range 2–90) |
| Suspected intraductal invasion | 38/50 (76%) |
| Suspected diagnosis | |
| Pancreatic lesion | 17/50 (34%) |
| Cholangiocarcinoma | 20/50 (40%) |
| Gallbladder tumour | 5/50 (10%) |
| Pediculitis | 4/50 (8%) |
| Duodenal tumour | 1/50 (2%) |
| Colorectal liver metastasis | 1/50 (2%) |
| Breast liver metastasis | 1/50 (2%) |
| Degenerative intraductal papillary mucinous tumour of the pancreas | 1/50 (2%) |
| Lesion location | |
| Hilum ± right or left intrahepatic bile duct | 10/50 (20%) |
| Common hepatic duct | 5/50 (10%) |
| Common bile duct | 15/50 (30%) |
| Ampullary segment | 10/50 (20%) |
| Entire extrahepatic bile duct | 3/50 (6%) |
| Common bile duct + ampullary segment | 2/50 (4%) |
| Hilum + common hepatic duct | 5/50 (10%) |

was 373 ± 468 mGy and median was 184 mGy (range 38–2144) and mean fluoroscopy time (FT) ($n = 49$) was 18 ± 12 min and median was 13 min (range 5–58).

## Safety

Complications occurred in four patients (8%) consisting of three minor (grade A) and one major (grade D) complication. Minor complications included two (4%) haemobilia (resolved spontaneously within 24 h) and one (2%) pneumoperitoneum related to a duodenal perforation (cholangiocarcinoma was suspected on imaging and biliary biopsy was negative), also spontaneously resolved. One biliary injury (2%) was depicted on cholangiography and unenhanced CT after drainage, showing biliary leakage. This leakage was successfully treated with external drainage catheter placement for 1 week (grade D).

Detailed histopathological findings with PTFB are available in the Supplemental data.

**Table 2** Laboratory parameters pre- and post-interventional radiology management at day 7 to evaluate the efficacy of biliary drainage

| | Pre-PTFB and PTBD Mean ± SD, median (range) | Post-PTFB and PTBD Mean ± SD, median (range) | *t* test | *p* value |
|---|---|---|---|---|
| Liver functions | | | | |
| Total bilirubin level (μmol/L) | 348 ± 146, 343 (41–909) ($n = 50$) | 165 ± 112, 131 (14–428) ($n = 32$) | 8.290 | $p < 0.00001$ |
| Conjugated bilirubin (μmol/L) | 204 ± 87, 200 (17–508) ($n = 49$) | 93 ± 64, 78 (18–257) ($n = 32$) | 8.194 | $p < 0.00001$ |
| SGOT (IU/L) | 170 ± 128, 139 (44–676) ($n = 43$) | 95 ± 72, 70 (21–324) ($n = 31$) | 2.899 | $p = 0.0075$ |
| SGPT (IU/L) | 140 ± 124, 98 (15–652) ($n = 49$) | 80 ± 44, 74 (12–218) ($n = 32$) | 3.509 | $p = 0.00103$ |
| GGT (IU/L) | 632 ± 470, 541 (56–1965) ($n = 49$) | 532 ± 490, 396 (46–1779) ($n = 32$) | 1.89 | $p = 0.06764$ |
| ALP (IU/L) | 563 ± 390, 397 (116–2020) ($n = 49$) | 518 ± 364, 420 (101–1481) ($n = 32$) | 1.35 | $p = 0.09281$ |
| CRP (IU/L) | 48 ± 39, 35 (3–160) ($n = 42$) | 74 ± 66, 56 (2–237) ($n = 32$) | 2.32 | $p = 0.02826$ |

In 32 (64%) patients, tissue sampling histology found neoplastic tissue with tumour cells. Among the 18 (36%) patients without evidence of tumour cells on tissue sampling, we used surgical findings or surgical specimens ($n = 2$), EUS-FNA ($n = 3$), and clinical and/or imaging follow-up ($n = 13$) for the determination of final diagnosis. For the three patients with EUS-FNA, histology was not available at the time of percutaneous drainage; therefore, the PTFB was performed. Among those 18 patients, four were finally true negative (no neoplastic pathology): one CDHP, confirmed with surgical biopsy (patient 2 on the Supplemental data); two autoimmune pancreatitis (one Ig-G4-related disease) with normalisation of pancreas aspect on MRI after corticoid treatment (patients 7 and 47 on the Supplemental data); and one chronic cholecystitis, complicated with a cholecystico-colic fistula (patient 44 on the Supplemental data). Among the 14 false negative cases, two corresponded to hepatic pediculitis (secondary to a cholecystitis with adhesions), one from gastric carcinoma and the other from small cell carcinoma. For the 12 others, eight (67%) corresponded to suspected pancreatic adenocarcinoma on imaging.

In eight (8/50; 16%) patients, pathologists reported crushing artefacts. These artefacts are a common finding in histological section and may represent a major pitfall for pathologists to conclude. In two patients, these artefacts prevented a definitive diagnosis. Examples of histopathology findings including immunohistochemistry analysis are represented in Fig. 3.

## Performance

For the global population (50 patients), sensitivity, specificity, PPV, PNV and accuracy were 70% (95% CI 0.55–0.81), 100% (95% CI 0.51–1), 100% (95% CI 0.89–1), 22% (95% CI 0.09–0.45) and 72% (95% CI 0.58–0.82), respectively.

Taking into consideration the learning curve of the readers, the last 25 patients were analysed separately. Both groups were similar in terms of difficulty for biliary tree access or for stricture crossing.

Performance increased with reported sensitivity, specificity, PPV, PNV and accuracy of 78% (95% CI 0.58–0.9), 100% (95% CI 0.34–1), 100% (95% CI 0.82–1), 29% (95% CI 0.08–0.64) and 80% (95% CI 0.61–0.91), respectively.

After a 14-month follow-up, among the 46 patients with malignant tumours, 29 (63%) had a PS < 3, 6 (13%) had a PS ≥ 3 and 11 (24%) died.

Sensitivity was lower if the stenosis involved the lower part of the biliary tree (55%; 15/27) (95% CI 0.37–0.72) compared to the upper part (87%; 20/23) (95% CI 0.68–0.95), but the difference was not significant ($p = 0.57$).

In case of intraductal invasion or cholangiocarcinoma suspected on pre-procedural imaging, biopsy contributed in 81% (31/38) (95% CI 0.67–0.91) and 84% (21/25) (95% CI 0.65–0.94) of the patients, respectively. Conversely, in case of the absence of intraductal invasion or suspected pancreatic neoplastic lesion, biopsy contributed in only 33% (4/12) (95% CI 0.14–0.61) and 53% (9/17) (95% CI 0.31–0.74), respectively. A significant difference in terms of accuracy was found where there was intraductal invasion on pre-operative imaging ($p = 0.014$). No difference was found according to the initial suspected diagnosis (pancreatic adenocarcinoma or cholangiocarcinoma) ($p = 0.49$).

The median value of lesion size on pre-op imaging was 18.5 mm, mean was 25.3 ± 23.6 mm and median was 18.5 mm (range 3–90). No significant difference was found between positive biopsy and lesion size larger than the median value ($p = 0.354$). Performance of PTFB is summarised in Table 3.

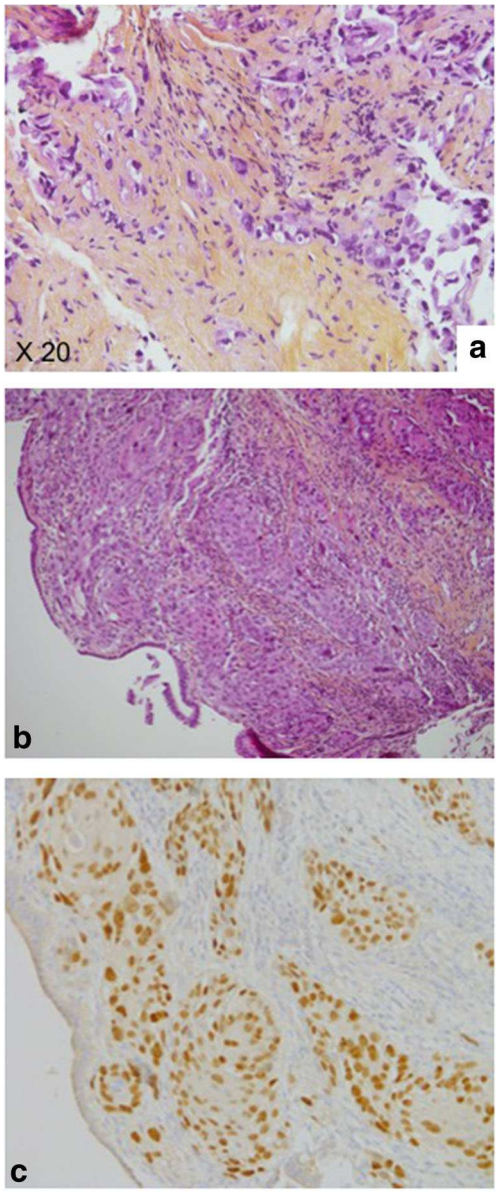



**Fig. 3** Histopathology (tissue characterisation and immunohistochemistry analysis) of sampling. Examples of a cholangiocarcinoma (**a**) and an adenosquamous carcinoma (**b**) with nuclei labelling IHC P40 (**c**) for epidermal component

### Endoscopic management analysis of the population

Among 50 patients, 17/50 (34%) have not been evaluated using endoscopic examination before interventional radiology treatment and referral to the radiologist. Reasons are summarised in Table 1.

Endoscopic management of the population is summarised in Fig. 4. For 7/33 (21%) patients, EUS-FNA was feasible. Final accuracy was 4/7 (57%) consisting of three positive biopsy (pancreatic adenocarcinoma) and one true negative.

Material coming from the radiological technique and EUS-FNA is represented on Fig. 5.

## Discussion

In our study, radiological management for biliary stricture was proposed in 82% of cases after failure of endoscopic management: failed prosthesis placement (52%), biliary stricture location not accessible for endoscopic route (16%) and endoscopic drainage dysfunction (14%).

Percutaneous biliary drainage was efficient with an improvement of liver parameters including a significant decrease of bilirubin, SGOT and SGPT (Table 2).

Specimens obtained with PTFB were large enough for pathologists to provide tissue characterisation and immunohistochemistry analysis. PTFB accuracy increased up to 80% after a short learning curve, and up to 81 and 84% in case of intraductal invasion or suspected cholangiocarcinoma on pre-op imaging.

If only endoscopic management had been available, only 8% of patients would have histological diagnosis, e.g. 92% with difficult treatment choice, particularly with chemotherapy and surgical indication. Endoscopic techniques face the challenges of difficulty of access, difficulty reaching the target (distal lesion) and the necessity of trained, dedicated and available endoscopists.

To our knowledge, this is the first study that underlines the added value of radiological management for these patients. Other studies only focus on PTFB performance.

In terms of performance for PTFB and biliary stricture location, we found a better sensitivity (87%) for lesions located at the upper part of the biliary tree (hilum or intrahepatic bile duct) for percutaneous access where endoscopic management is more difficult [8]. Jung et al [12] found similar results (sensitivity 100% for hilum), while Ierardi et al [15] underline a very low sensitivity (60%) for hilar lesion.

Exclusion of a malignancy is also challenging for biliary stricture management. With this technique, in our study and in the literature, specificity was always 100% [12, 15–17].

Our study also highlights that the most predictive factor for a true positive histology was intraductal invasion on pre-op imaging ($p = 0.014$), which was not analysed in other published studies [11, 12, 15, 16].

In terms of complications, and in contradiction of other authors, we used the dedicated classification for interventional radiology, which is the most widely accepted [13, 18]. Nevertheless, we had similar complication rates as the largest study (8 vs 6%) [12] and significantly less than Ierardi et al (37.5%) [15].

Endoscopic management may lead to more complications compared to radiological techniques [19]. Conversely, percutaneous biliary access may lead to tumour seeding along the catheter tract, even if the reported incidence is low [19]. A recent review article stated that PTBD was associated with fewer complications compared to endoscopic biliary drainage as the initial procedure for pre-operative drainage in patients with resectable perihilar cholangiocarcinoma [20].

**Table 3** Summarised performance of percutaneous transhepatic biliary biopsy

| | Sensitivity (%) | Specificity (%) | PPV (%) | NPV (%) | Accuracy (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| Global population ($n = 50$) | 70 | 100 | 100 | 22 | 72 |
| 25 first patients | 61 | 100 | 100 | 18 | 64 |
| 25 latest patients | 78 | 100 | 100 | 29 | 80 |
| Lower part of the biliary tree ($n = 27$) | 52 | 100 | 100 | 14 | 56 |
| Upper part of the biliary tree ($n = 23$) | 86 | 100 | 100 | 40 | 87 |
| Intraductal invasion suspected on pre-op imaging ($n = 38$) | 81 | 100 | 100 | 22 | 82 |
| No intraductal invasion suspected on pre-op imaging ($n = 12$) | 20 | 100 | 100 | 20 | 33 |
| Cholangiocarcinoma suspected on pre-op imaging ($n = 25$) | 83 | 100 | 100 | 20 | 84 |
| Pancreatic adenocarcinoma suspected on pre-op imaging ($n = 17$) | 43 | 100 | 100 | 27 | 53 |

*PPV* positive predictive value, *NPV* negative predictive value

Biliary interventions are considered as proximal procedure (i.e. procedure during which the operators' hands are close to the radiation source), with a potential high radiation exposure to the operators' extremities. Occupational radiation protection should be taken into account for each interventional procedure and follow guidelines [21]. For patients, effective dose may also be high, up to 6.77 mSv according to a study using the Monte Carlo codes [22]. The organ receiving the maximum radiation dose was the lumbar spine [22].

Regarding the dosimetry parameters, mean DAP was 3016 μGy $m^2$ corresponding to 30.16 Gy $cm^2$, and the mean FT was 18 min for PTBD combined with PTFB. These parameters are very close to the already reported dosimetry parameters. For PTBD only, mean FT was 16 min in a recent French study [23]. For bilioplasty, patient's DAP was 0.7–52.54 Gy $cm^2$ and FT was 1.13–24.47 min in a study published in 2018 [24]. Adding biliary biopsy does not seem to increase radiation dose significantly and may therefore be considered safe with regard to radiation exposure.

EUS-FNA is still considered to be the gold standard for tissue sampling in biliary stricture, particularly for solid pancreatic masses with a high accuracy, ranging from 78 to 95% [25], and lesions in close proximity to the gastrointestinal tract [26, 27]. Nevertheless, a recently published study comparing PTFB and EUS-FNA showed similar sensitivity, negative predictive value and accuracy for proximal biliary stricture [28].

Moreover, there are some controversies associated with the EUS-FNA technique regarding the most suitable diameter for the needle (19, 22 or 25 gauges), the appropriate number of needle passes and the necessity for in-site cyto-pathological evaluation. In a comparative study, EUS-guided FNA and EUS-guided core biopsy showed similar results in terms of accuracy [10].

A comparative study of three intraductal biliary biopsy techniques (cytological brush, clamshell forceps under

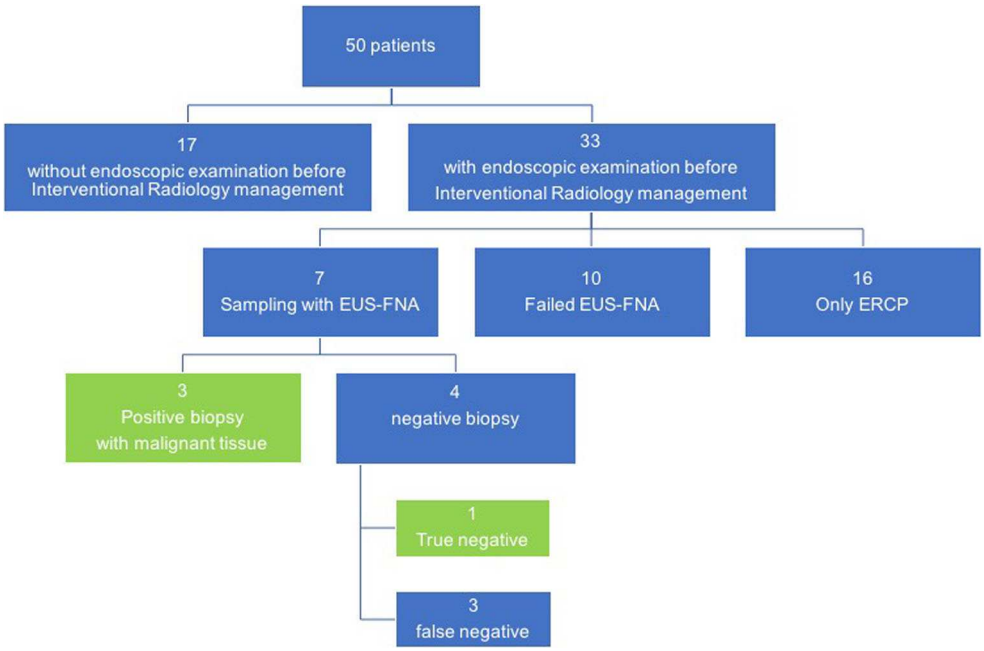



**Fig. 4** Endoscopic management of the population. Reasons for no endoscopic management are summarised in Table 1. The reasons for failed EUS-FNA were failure to cross the stenosis ($n = 6$), invisible mass ($n = 2$), lesion considered to be too small ($n = 1$) and sampling considered too risky due to the presence of a cavernoma ($n = 1$)

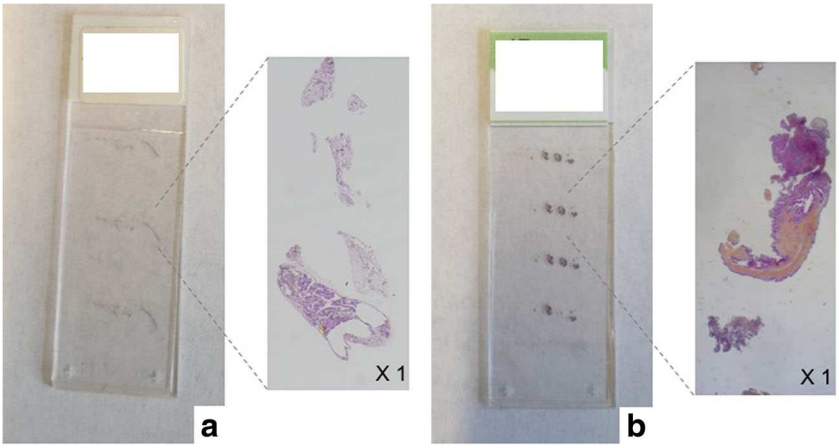



**Fig. 5** EUS-FNA material (**a**) and PTFB material (**b**)

choledochoscope guidance and under fluoroscopic guidance) was in favour of choledochoscope guidance (sensitivity 44%, specificity 100%) vs fluoroscopic guidance (30, 88%) [29]. Sensitivity was low in this study regardless of the biopsy technique.

Regarding the technique for tissue sampling, brushing cytology has insufficient sensitivity and it allows only cytology analysis, with poor accuracy [30]. Tapping et al compared cytological sampling vs forceps biopsy during PTBD and concluded better sensitivity and negative predictive value for biopsy (78, 30% vs 61, 19%) [31]. PTFB is considered by the authors as the recommended technique for histology during PTBD in patients with inoperable malignant biliary strictures [31]. PTFB clearly has very good performance in the literature [12, 15, 17].

Moreover, interventional radiology materials have largely improved. The first biopsy forceps used by radiologists needed a 10–12-F introducer catheter [11], while we now use a 7-F sheath. Now, radiologists also have dedicated material for the biliary system, whereas the biopsy forceps used in the Jung 1et al study was originally designed for endomyocardial biopsies [12].

The main limitation of this study was that only clinical and imaging follow-up was used for 13 patients out of 18 without tumour cells retrieved on sampling, to conclude final diagnosis. Because we manage a large population of biliary stricture patients in our centre (50 patients were enrolled in 7 months), we could have included more patients. We also may have increased our performance by using the modified method for tissue sampling, provided by Patel et al [17].

## Conclusion

Percutaneous radiological access for histology sampling and biliary stricture treatment is a "2-in-1" technique—feasible, safe and efficient. The radiological technique may be the first line in cases of intraductal invasion on pre-procedural imaging, for lesions located at the upper part of the biliary tree and in all cases of failed endoscopic approach.

## Summary statement

The data suggests that PTFB and PTBD are safe with a relatively high overall accuracy for diagnosis in the setting of biliary stricture.

**Funding** The authors state that this work has not received any funding.

## Compliance with ethical standards

**Guarantor** The scientific guarantor of this publication is Prof. Jean Pierre Pelage.

**Conflict of interest** The authors declare that they have no conflict of interest.

**Statistics and biometry** One of the authors has significant statistical expertise.

No complex statistical methods were necessary for this paper.

**Informed consent** Written informed consent was not required for this study because it was a retrospective study, based on acquired data.

**Ethical approval** Institutional Review Board approval was obtained. CPP Nord Ouest-France, reference: CPP A15-D30-VOL.26.

**Methodology**
- Retrospective
- Observational
- Performed at one institution

## References

1. Katabathina VS, Dasyam AK, Dasyam N, Hosseinzadeh K (2014) Adult bile duct strictures: role of MR imaging and MR cholangiopancreatography in characterization. Radiographics 34: 565–586

2. Arrivé L, Hodoul M, Arbache A, Slavikova-Boucher L, Menu Y, El Mouhadi S (2015) Magnetic resonance cholangiography: current and future perspectives. Clin Res Hepatol Gastroenterol 39:659–664
3. Singh A, Gelrud A, Agarwal B (2014) Biliary strictures: diagnostic considerations and approach. Gastroenterol Rep (Oxf) 3:22–31
4. Tabibian JH, Visrodia KH, Levy MJ, Gostout CJ (2015) Advanced endoscopic imaging of indeterminate biliary strictures. World J Gastrointest Endosc 7:1268–1278
5. Tringali A, Lemmers A, Meves V et al (2015) Intraductal biliopancreatic imaging: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) technology review. Endoscopy 47:739–753
6. de Bellis M, Sherman S, Fogel EL et al (2002) Tissue sampling at ERCP in suspected malignant biliary strictures (part 2). Gastrointest Endosc 56:720–730
7. Rösch T, Hofrichter K, Frimberger E et al (2004) ERCP or EUS for tissue diagnosis of biliary strictures? A prospective comparative study. Gastrointest Endosc 60:390–396
8. Weilert F, Bhat YM, Binmoeller KF et al (2014) EUS-FNA is superior to ERCP-based tissue sampling in suspected malignant biliary obstruction: results of a prospective, single-blind, comparative study. Gastrointest Endosc 80:97–104
9. De Moura DTH, Moura EGH, Bernardo WM et al (2016) Endoscopic retrograde cholangiopancreatography versus endoscopic ultrasound for tissue diagnosis of malignant biliary stricture: systematic review and meta-analysis. Endosc Ultrasound 7:10–19
10. Lin M, Hair CD, Green LK et al (2014) Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration with on-site cytopathology versus core biopsy: a comparison of both techniques performed at the same endoscopic session. Endosc Int Open 2:220–223
11. Elyaderani MK, Gabriele OF (1980) Brush and forceps biopsy of biliary ducts via percutaneous transhepatic catheterization. Radiology 135:777–778
12. Jung GS, Huh JD, Lee SU, Han BH, Chang HK, Cho YD (2002) Bile duct: analysis of percutaneous transluminal forceps biopsy in 130 patients. Radiology 7:725–730
13. Omary RA, Bettmann MA, Cardella JF et al (2003) Quality improvement guidelines for the reporting and archiving of interventional radiology procedures. J Vasc Interv Radiol 14:S293–S295
14. Saad WE, Wallace MJ, Wojak JC, Kundu S, Cardella JF (2010) Quality improvement guidelines for percutaneous transhepatic cholangiography, biliary drainage, and percutaneous cholecystostomy. J Vasc Interv Radiol 21:789–795
15. Ierardi AM, Mangini M, Fontana F et al (2013) Usefulness and safety of biliary percutaneous transluminal forceps biopsy (PTFB): our experience. Minim Invasive Ther Allied Technol 3:1–6
16. Li TF, Ren KW, Han XW (2014) Percutaneous transhepatic cholangiobiopsy to determine the pathological cause of anastomotic stenosis after cholangiojejunostomy for malignant obstructive jaundice. Clin Radiol 69:13–17
17. Patel P, Rangarajan B, Mangat K (2015) Improved accuracy of percutaneous biopsy using "cross and push" technique for patients suspected with malignant biliary strictures. Cardiovasc Intervent Radiol 38:1005–1010
18. Brown DB, Nikolic B, Covey AM et al (2012) Quality improvement guidelines for transhepatic arterial chemoembolization, embolization, and chemotherapeutic infusion for hepatic malignancy. J Vasc Interv Radiol 23:287–294
19. Kim KM, Park JW, Lee JK, Lee KH, Lee KT, Shim SG (2015) A comparison of preoperative biliary drainage methods for perihilar cholangiocarcinoma: endoscopic versus percutaneous transhepatic biliary drainage. Gut Liver 9:791–799
20. Al Mahjoub A, Menahem B, Fohlen A et al (2017) Preoperative biliary drainage in patients with resectable perihilar cholangiocarcinoma: is percutaneous transhepatic biliary drainage safer and more effective than endoscopic biliary drainage? A meta-analysis. J Vasc Interv Radiol 28:576–582
21. Miller DL, Vañó E, Bartal G et al (2010) Occupational radiation protection in interventional radiology: a joint guideline of the Cardiovascular and Interventional Radiology Society of Europe and the Society of Interventional Radiology. J Vasc Interv Radiol 21:607–615
22. Karavasilis E, Dimitriadis A, Gonis H, Pappas P, Georgiou E, Yakoumakis E (2014) Effective dose in percutaneous transhepatic biliary drainage examination using PCXMC2.0 and MCNP5 Monte Carlo codes. Phys Med 30:432–436
23. Etard C, Bigand E, Salvat C et al (2017) Patient dose in interventional radiology: a multicentre study of the most frequent procedures in France. Eur Radiol 27:4281–4290
24. Degiorgio S, Gerasia R, Liotta F et al (2018) Radiation doses to operators in hepatobiliary interventional procedures. Cardiovasc Intervent Radiol 41:772–780
25. Yoshinaga S, Suzuki H, Oda I, Saito Y (2011) Role of endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration (EUS-FNA) for diagnosis of solid pancreatic masses. Dig Endosc 23(Suppl 1):29–33
26. Vander Noot MR 3rd, Eloubeidi M, Chen VK et al (2004) Diagnosis of gastrointestinal tract lesions by endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy. Cancer 102:157–163
27. Chen VK, Eloubeidi MA (2005) Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration of intramural and extraintestinal mass lesions: diagnostic accuracy, complication assessment, and impact on management. Endoscopy 37:984–989
28. Mohkam K, Malik Y, Derosas C et al (2017) Percutaneous transhepatic cholangiographic endobiliary forceps biopsy versus endoscopic ultrasound fine needle aspiration for proximal biliary strictures: a single-centre experience. HPB (Oxford) 19:530–537
29. Savader SJ, Prescott CA, Lund GB, Osterman FA (1996) Intraductal biliary biopsy: comparison of three techniques. J Vasc Interv Radiol 7:743–750
30. Navaneethan U, Njei B, Lourdusamy V, Konjeti R, Vargo JJ, Parsi MA (2015) Comparative effectiveness of biliary brush cytology and intraductal biopsy for detection of malignant biliary strictures: a systematic review and meta-analysis. Gastrointest Endosc 81:168–176
31. Tapping CR, Byass OR, Cast JE (2012) Cytological sampling versus forceps biopsy during percutaneous transhepatic biliary drainage and analysis of factors predicting success. Cardiovasc Intervent Radiol 35:883–889

# IV. CONCLUSION de l'étude 3

L'impact de la technique de biopsie endobiliaire dans la prise en charge des patients est évident. Elle est sûre et techniquement quasiment toujours faisable (100 % dans notre étude). La technique combine dans le même temps : drainage biliaire et biopsies endobiliaires, ne nécessitant ainsi qu'une seule anesthésie et un délai de prise en charge réduit. Elle permet dans 80 % des cas un diagnostic histologique, voire plus en fonction de la localisation de la lésion (jusqu'à 87 %) et de l'aspect en imagerie (jusqu'à 84 %).

A la vue des résultats de notre étude, la réalisation de biopsies endobiliaires au cours d'un drainage biliaire, en cas d'absence diagnostique histologique, est rentrée dans la pratique courante dans notre centre depuis 2016. Elle intervient dans la réflexion de stratégie de prise en charge des patients puisque nous savons qu'elle sera plus performante qu'une cytoaspiration lors d'une CPRE.

# Chapitre 2 IMPLICATION DE LA RI DANS LE TRAITEMENT DES TUMEURS HEPATIQUES

Nous restreindrons la RIO à la RIO des tumeurs hépatiques, domaine d'application le plus vaste actuellement.

## A. LES TECHNIQUES DE RADIOLOGIE INTERVENTIONNELLE ONCOLOGIQUE (RIO)

### I. INTRODUCTION de l'étude 4 « Evaluation des pratiques en TACE pour le traitement du CHC en France »

#### 1. Les traitements percutanés

Ce paragraphe n'est pas exhaustif mais permet de citer et positionner les techniques de RI percutanées pour le traitement des tumeurs. Ces techniques viennent en complément des traitements intra-artériels pour les lésions hépatiques. Elles peuvent même être utilisées en traitement combiné c'est-à-dire avec des traitements endo-artériels. Elles peuvent également permettre le traitement de tumeur pulmonaire, rénale, des parties molles, des os, de la thyroïde et voire même du pancréas (Meijerink et al. 2015; Palussière et al. 2017; Koch et al. 2018; Cazzato et al. 2018; Moris et al. 2019; Nouri-Neuville, Ben Ammar, and Cornelis 2019; Ridouani and Srimathveeravalli 2019)

Si l'on se focalise sur les lésions hépatiques, les techniques de destruction tumorale percutanée (DTP) sont principalement représentées par la radiofréquence (*radiofrequency ablation*, RFA) et le micro-ondes (*micro-wave ablation*, MWA). Ces techniques entrainent une destruction des tumeurs par la chaleur. La destruction des CHC fait partie des algorithmes de traitement (Galle et al. 2018). Les lésions métastatiques hépatiques peuvent également être traitées par DTP (Thierry de Baere et al. 2017; Putzer, Schullian, and Bale 2019).

Une technique permettant la destruction des lésions par le froid est également disponible. On parle de cryothérapie. Cette technique a été évaluée dans le traitement des tumeurs hépatiques par quelques équipes (Aghayev and Tatli 2014; Hu 2014; Mahnken, König, and Figiel 2018). Néanmoins à l'heure actuelle par manque de données de haut niveau de preuve, elle n'est pas utilisée en pratique courante dans le traitement des pathologies hépatiques.

Une autre technique percutanée est l'électroporation irréversible *(Irreversible electroporation*, IRE). Elle permet de délivrer des pulses électriques jusqu'à 3 kV aux cellules tumorales et créer des nanopores dans la membrane cellulaire. Cette technique semble être prometteuse pour des applications hépatiques notamment pour ne pas léser les structures biliaires ou vasculaires. Elle aurait en théorie une place dans le traitement des lésions hépatiques centrales(Lee, Thai, and Kee 2010; Charpentier et al. 2011). L'électroporation irréversible n'est cependant pas encore utilisée en pratique courante mais commence à se positionner par rapport aux autres techniques de DTP notamment dans le CHC (Sutter et al. 2017).

Lors de ma thèse, j'ai pu participer à la réalisation d'un travail rétrospectif sur la réponse tumorale en IRM après traitement par radio-fréquence percutanée des CHC. Cet article est présenté en annexe (annexe 2) (Barat et al. 2017). Dans ce travail, nous avons inclus 59 patients avec des lésions hépatiques (35 patients avec CHC et 24 patients avec métastases). Nous avons analysé les IRM à 1 mois et 3 mois après traitement par RFA et notamment les valeurs d'ADC (Apparent Diffusion Coefficient). Les ADC des patients ayant présenté une récidive locale étaient comparées aux ADC des patients sans récidive. Une analyse en sous-groupe (CHC, métastase) a été réalisée. L'analyse a permis de montrer qu'un coefficient ADC bas à 1 mois après RFA était associé à une récidive locale précoce en cas de CHC. Cette association n'était pas retrouvée pour les métastases.

## 2. Les traitements intra-artériels hépatiques

Partant du principe que les lésions hépatiques, contrairement au parenchyme hépatique sain, sont vascularisées par les artères hépatiques (Breedis and Young 1954; Ackerman 1974), des techniques endo-artérielles ont été développées pour traiter les tumeurs hépatiques primitives ou secondaires. Plusieurs techniques sont disponibles et sont présentées ci-après.

### a. Embolisation exclusive

L'embolisation ou occlusion artérielle seule est envisagée depuis bien longtemps dans le traitement des lésions hépatiques. La dévascularisation de la lésion entraine en théorie son

asphyxie puis la mort cellulaire. On parle dans la littérature anglo-saxone de « Bland embolization ».

Le traitement par embolisation de nodules de CHC a été réalisé pour la première fois par Dominique Doyon, radiologue Français, en 1974, à l'aide de gélatine(Doyon et al. 1974). Les asiatiques sont largement impliqués dans le développement des traitements endo-artériels hépatiques (Vincent P Chuang and Wallace 1981). Une première série japonaise de 120 hépatocarcinomes non résécables traités par embolisation artérielle hépatique a été publiée en 1983 (Yamada et al. 1983b). Actuellement, pour le traitement du CHC, l'embolisation seule n'est plus recommandée d'après les recommandations de l'EASL et de l'EORTC (Galle et al. 2018). Néanmoins, une publication récente suggère que le débat n'est pas clos (Facciorusso et al. 2017). En effet, une équipe italienne a repris toutes les études randomisées contrôlées qui comparaient l'embolisation seule à la chimioembolisation artérielle dans le traitement du CHC. Au total, 6 études ont été analysées incluant 676 patients. La méta-analyse a démontré une non-supériorité de la TACE par rapport à l'embolisation seule. L'analyse avait été réalisée sur la survie des patients traités à 1, 2 et 3 ans ainsi que sur la réponse tumorale en imagerie. Les auteurs ont même mis en évidence une différence significative entre les 2 techniques en termes de toxicité en défaveur de la TACE. Ils soulignent que cela peut être lié à l'hétérogénéité des pratiques.

### b. Chimioembolisation artérielle

La technique combinant administration de cytotoxique et embolisation a toutefois permis d'améliorer les résultats (V P Chuang and Wallace 1981; Okamura et al. 1982; Y Z Patt et al. 1983; Konno et al. 1983a; K Takayasu et al. 1987). La chimioembolisation artérielle hépatique est un traitement considéré comme palliatif que ce soit pour le traitement des tumeurs primitives du foie (CHC) ou de certaines lésions secondaires (métastases). Elle consiste en l'administration dans les branches artérielles hépatiques, d'un cytotoxique (chimiothérapie) vectorisé suivi d'un ralentissement voire d'une occlusion du flux artériel (embolisation). La chimioembolisation fait partie des traitements loco-régionaux hépatiques qui ont l'avantage de cibler les lésions à traiter. Elle permet ainsi de diminuer les effets secondaires systémiques par rapport à un traitement délivré par voie intra veineuse,

d'augmenter les doses de cytotoxiques administrées ainsi que le temps de contact entre les lésions et le cytotoxique. En outre, l'embolisation permet d'augmenter l'efficacité du traitement par un effet ischémique surajouté (Vincent P Chuang and Wallace 1981; Y Z Patt et al. 1983)

La TACE est principalement utilisée dans le traitement des CHC. L'indication la plus couramment retenue est le CHC au stade B (intermédiaire) selon la classification BCLC avec un niveau de recommandation 1A (evidence 1iiA).

La chimioembolisation est aussi utilisée dans le traitement des métastases hépatiques hyper-artérialisées. J'ai pu participer à une étude sur la chimioembolisation artérielle des métastases hépatiques de tumeurs neuro-endocrines, dans laquelle nous rapportons l'efficacité de la d'une drogue spécifique de la pathologie, la streptozocine (Jean-Pierre Pelage et al. 2017).

Il existe deux types de technique de chimioembolisation : la TACE conventionnelle, la plus ancienne, qui utilise le lipiodol (Guerbet, France) comme vecteur pour la chimiothérapie et la TACE aux billes chargées. Dans ce cas, la chimiothérapie est vectorisée grâce à des microparticules dont il existe actuellement plusieurs types sur le marché : LifePearl (Terumo European Interventional Systems, Leuven, Belgium), DC Bead (BTG, Farnham, United Kingdom), HepaSphere (Merit Medical, South Jordan, Utah) et Tandem (Varian Medical, Palo Alto, California)

### i. Rationnel de l'utilisation du lipiodol (cTACE)

La technique de chimioembolisation artérielle hépatique au lipiodol a été développée dans les années 80 au Japon (Konno et al. 1983b; Yamada et al. 1983b; Nakamura et al. 1989; Uchida et al. 1990). Elle consiste en l'administration d'une émulsion « cytotoxique + lipiodol » dans les artères hépatiques suivie d'une injection de gélatine (agent embolisant résorbable). C'est cette technique de TACE qui a été évaluée par deux études randomisées publiées en 2002 (Llovet et al. 2002; Lo et al. 2002). Le lipiodol est un agent de contraste lipophile constitué d'esthers éthyliques d'acides gras iodés d'huile d'œillette, fabriqué en France par le laboratoire Guerbet. Il est vendu depuis 1901. Son utilisation dans le traitement endoartériel des tumeurs hépatiques est basée sur de nombreuses propriétés (Idée and Guiu 2013). Son accumulation prédomine dans les tumeurs hyperartérialisées (Laval-Jeantet et al. 1972; T de Baere et al. 1995, 1996a). La rétention du lipiodol dans les tumeurs et le tissu adjacent dure

plusieurs semaines à plusieurs mois, alors qu'il est phagocyté par le tissu sain (via les cellules de Küpffer) au bout de sept jours. On lui connaît aussi un effet emboligène (Thierry De Baère et al. 1998). Les gouttelettes de lipiodol ont l'avantage de par leur taille de passer au travers des plexus péribiliaires du versant artériel des tumeurs au versant portal (Terayama et al. 2001). Utilisé comme vecteur il favorise un meilleur effet pharmacocinétique des drogues, d'autant plus que l'administration de l'émulsion drogue-lipiodol est suivie d'une embolisation (Raoul et al. 1992).

### ii. Préparation de l'émulsion lipiodol-cytotoxique

La préparation du mélange lipiodol – drogue doit être effectuée selon les recommandations émanant des études *in vitro* réalisées dans les années 90. Le mélange « eau dans l'huile » *(water in oil en anglais, encore abrégé wio)* a démontré sa supériorité en termes de captation et de rétention intra-tumorale (T de Baere et al. 1996b; T de Baère et al. n.d.). Il est conseillé de réaliser l'émulsion grâce à un robinet 3 voies résistant au lipiodol, immédiatement avant son injection intra-artérielle. Il est également recommandé de ne pas utiliser plus de 20 ml de Lipiodol / séance, en raison de sa toxicité sur les voies biliaires et le poumon (Chung et al. 1996). Certains auteurs recommandent de ne pas utiliser plus de 15 ml de Lipiodol par séance, d'autres recommandent d'adapter la quantité de lipiodol à la taille du volume tumoral : en cas de lésion hyperartérialisée 2-3 ml / cm de tumeur ; en cas de lésion peu artérialisée : 1ml / cm de tumeur. Afin d'obtenir une émulsion optimale, le volume de la phase huileuse doit être le double de celle de la phase aqueuse (Nakamura et al. 1989). La seringue de Lipiodol (phase huileuse) est connectée au robinet, ainsi que la seringue de cytotoxique (phase aqueuse), en respectant les conditions de stérilité du matériel. On débute par l'injection de la seringue de drogue vers la seringue de lipiodol, puis on réalise au moins dix allers-retours au travers du robinet. L'injection endo-vasculaire doit ensuite être réalisée vigoureusement afin de faciliter la pénétration de l'émulsion dans les artères tumorales.

### iii. Choix de l'agent cytotoxique

Comme nous l'avons vu dans le paragraphe d'introduction sur les stratégies thérapeutiques en RI, la doxorubicine, le cisplatine et l'épirubicine sont les agents les plus

utilisés au monde pour la chimioembolisation néanmoins sans fondement préclinique rigoureux (Mathieu Boulin et al. 2011). Certains utilisent une seule drogue, d'autres une association d'agents cytotoxiques. L'idarubicine a montré sa supériorité en termes de toxicité *in vitro* (Mathieu Boulin et al. 2011). Les contre-indications d'utilisation de ces drogues de la famille des anthracyclines, notamment en termes de cardio-toxicité sont à respecter.

.

### iv. Embolisation

L'agent d'embolisation le plus anciennement utilisé est la gélatine. En cas d'utilisation de gélatine, il est préférable d'utiliser des fragments préparés de 1-1,5mm plutôt que des fragments de gélatine préparés au travers d'un robinet 3 voies (Katsumori and Kasahara 2006). Néanmoins des agents non résorbables peuvent être utilisés (microsphères non chargées). Une étude japonaise a mis en évidence une meilleure survie avec l'utilisation de microparticules (Kenichi Takayasu et al. 2010). Certains recommandent d'utiliser des particules de 100-300 μm. L'utilisation de particules de plus petit diamètre entrainerait des complications ischémiques graves (Brown 2004). L'objectif est d'obtenir une stase dans les branches de second ou troisième ordre de la branche lobaire hépatique (Lencioni, Petruzzi, and Crocetti 2013).

D'après l'EASL et l'EORTC, d'après la revue de la littérature, l'utilisation de la chimiothérapie intra-artérielle, l'embolisation seule ou encore la chimio-lipiodolée c'est-à-dire sans embolisation complémentaire ne sont pas recommandées ("EASL-EORTC Clinical Practice Guidelines: Management of Hepatocellular Carcinoma." 2012).

### v. Technique aux billes chargées (DEB-TACE)

Cette technique a été développée en 2006 grâce au développement de billes chargeables en chimiothérapie. On parle alors de chimioembolisation artérielle non plus conventionnelle lipiodolée mais aux billes chargées ou DEB-TACE pour Drug-eluting beads - TACE. Contrairement à la technique lipiodolée, l'agent cytotoxique est chargé sur les billes (selon différents mécanismes en fonction du type de particules). Le chargement est le plus souvent réalisé en unité de chimiothérapie des pharmacies. Les billes sont livrées en radiologie interventionnelle une fois le chargement terminé sous la forme de seringues stériles.

Les particules sont ensuite mélangées avec un produit de contraste non-ionique, selon les recommandations des fabricants. Pour exemple, il est recommandé de mélanger 5 à 10 ml de contraste avec 1 ml de DC Beads (Lencioni et al. 2012). La suspension doit être homogène.
L'injection des particules doit être lente (1ml de suspension/minute) et pratiquée aussi sélectivement que possible dans les branches segmentaires ou sous-segmentaires alimentant les tumeurs, à l'aide d'un microcathéter. Il faudra s'assurer pendant toute la durée de l'injection de l'homogénéité de la suspension. Des mouvements de balancement de la seringue ou encore un passage doux au travers d'un robinet 3 voies peuvent aider à conserver l'homogénéité du mélange (Lencioni et al. 2012).

Le point d'arrêt d'embolisation (end-point angiographique) attendu ici est une quasi stase dans les branches à destinée tumorale c'est à dire que la colonne de contraste doit être lavée au bout de 2 à 5 battements cardiaques. A ce moment, l'injection de billes doit être interrompue. En cas de point d'arrêt non atteint, deux attitudes peuvent être adoptées. La première consiste à compléter l'embolisation avec des billes non chargées. La deuxième consiste à interrompre l'intervention et à programmer une deuxième séance avec billes chargées. Actuellement, aucune donnée ne permet de positionner une attitude supérieure à l'autre.

Le relargage progressif de la chimiothérapie s'effectue à partir des billes vers les tissus adjacents.

### vi. Comparaison cTACE vs DEB-TACE

La technique de chimioembolisation aux billes chargées présente un avantage pharmacocinétique par rapport au lipiodol. Elle permet un relargage systémique moindre de la chimiothérapie et un relargage local plus lent (Varela et al. 2007). De plus, elle pourrait en théorie permettre une standardisation des pratiques par rapport à la c-TACE. Deux études randomisées ont comparé les deux techniques mais n'ont pas montré de différence en termes de survie (Lammer et al. 2010; Golfieri et al. 2014). La technique aux billes chargées était mieux tolérée, les patients souffrant moins de douleurs abdominales(Lammer et al. 2010). On précise que les billes étaient chargées avec de la doxorubicine dans les 2 publications sus-

citées (Lammer et al. 2010; Golfieri et al. 2014). En termes de complications, les billes chargées semblent entrainer plus de lésions hépato-biliaires (Guiu et al. 2012).

Finalement la standardisation de la technique de TACE grâce aux billes chargées reste difficile en raison du nombre de particules différentes disponibles sur le marché ainsi que des mécanismes de chargement et de relargage différents (M. Boulin et al. 2015). Il existe également un grand nombre de tailles disponibles allant de 30 µm à 900 µm (M. Boulin et al. 2015). Le tableau 14 est issu de cet article.

| | Dc Bead | HepaSphere | | Embozene Tandem |
|---|---|---|---|---|
| Company | Biocompatibles | Biosphere Medical | | Celo Nova Biosciences |
| Composition | Macromere of polyvinyl alcohol with an acoryl group replacement and a sulfate monomer | Poly copolymer (sodium acrylate–co-vinyl alcohol) | | Hydrogel (body) surrounded by polyzene F |
| Granule size (µm) | | Dry particles | Reconstituted particles | |
| | 70–150[b] | 30–60 | 120–240[c] | 40 ± 10[d] |
| | 100–300[b] | 50–100 | 200–400[c] | 75 ± 15[d] |
| | 300–500[b] | 100–150 | 400–600[c] | 100 ± 25[d] |
| | 500–700[b] | 150–200 | 600–800[c] | |
| | 700–900[b] | | | |
| Loadable molecule | Doxorubicin/irinotecan | Doxorubicin | | Doxorubicin/idarubicin/epirubicin/irinotecan |
| Indications[a] (loadable anticancer agent) | Hypervascularized tumors (doxorubicin) or liver metastases from a colorectal cancer (irinotecan) | HCC and liver metastases (doxorubicin) | | HCC and hypervascularized tumors and other tumors (no indication with the anticancer agent) |

[a] For the exact indications, refer to the company data sheet; only the indications for microspheres for tumor embolization are shown here.
[b] Possible variation of 20% in size of microspheres (loaded with 25 mg/mL of doxorubicin).
[c] 20% reduction in size after loading with doxorubicin.
[d] Variation in microsphere size < 5%.

*Tableau 14 : Différentes billes chargeables en chimiothérapie disponibles en 2015 sur le marché français (Boulin et al. 2015).*

Les différences de résultats cliniques sont liées aux différentes drogues chargées sur les particules et aux différentes caractéristiques des billes (Malagari et al. 2014; Guiu et al. 2015c). De études récentes suggèrent une efficacité supplémentaire des billes de très petit calibre (≤ 100µm) en raison de leur capacité à migrer dans des vaisseaux intra-tumoraux plus distaux (Deipolyi et al. 2015; Guiu et al. 2015c). En parallèle aux développement de la technologie des billes chargées, une optimisation de l'émulsion drogue-lipiodol pourrait améliorer le profil de relargage en TACE conventionnelle (Mathieu Boulin et al. 2015).

### c. Chimiothérapie intra-artérielle hépatique (CIAH)

La chimiothérapie intra-artérielle hépatique (CIAH) consiste à injecter directement un traitement oncologique dans les artères hépatiques au travers d'un cathéter positionné et laissé en place dans les artères du foie. Contrairement aux techniques de TACE, il n'y a pas de vectorisation de l'agent cytotoxique ni d'embolisation. On parle d'infusion intra-hépatique, en anglais : *Hepatic Arterial Infusion Chemotherapy* (HAIC).

Le cathéter peut être implanté par voie chirurgicale ou radiologique. Par voie radiologique, il est le plus souvent fixé dans l'artère gastro-duodénale par des coils pour une meilleure stabilité (Frederic Deschamps et al. 2010). L'infusion est délivrée au foie via un trou latéral du cathéter positionné en regard de l'origine de l'artère hépatique propre. Les branches artérielles issues de l'artère hépatique mais alimentant des organes de voisinage tels que l'estomac, le pancréas, le duodénum, doivent être protégées au préalable. Ces branches à destinée extra-hépatiques sont habituellement embolisées par des coils. Le cathéter est relié à une chambre d'injection, positionnée en fosse iliaque droite. Les injections peuvent se faire en cure à intervalle régulier ou en infusion continue, après ponction de la chambre par une aiguille de Huber (Frederic Deschamps et al. 2010). La pose radiologique semble entrainer moins de complications avec un fonctionnement équivalent à la pose chirurgicale(F. Deschamps et al. 2011).

La CIAH permet d'augmenter les concentrations de chimiothérapies délivrées aux tumeurs, ce qui par conséquent permet d'augmenter le taux de réponse tumorale. En effet la plupart des tumeurs ont une courbe réponse-dose à pente élevée (*steep dose-response curve* en anglais). L'effet de premier passage hépatique est un avantage pour ce type de traitement. L'efficacité de la chimiothérapie délivrée en intra-artériel est proportionnelle au premier passage et inversement proportionnel à la clairance corporelle du produit.

Le choix de la chimiothérapie est donc capital. Le FUDR est extrait par le foie à plus de 95% lors du premier passage. L'exposition des tumeurs par voie intra-artérielle hépatique en est donc plus élevée comparé à l'injection systémique. Le rapport de dose délivrée au foie entre une exposition intra-artérielle et intra-veineuse, d'après Ammori et al. (Ammori and Kemeny 2010) est de 100 à 300 fois plus élevé pour le FUDR, 20 fois plus élevé pour le THP adryamicine,

5 à 10 fois pour le 5FU, 4 à 7 fois pour le cisplatine, 6 à 8 fois pour la mitomycine, 5 fois pour l'oxaliplatine et 2 fois pour la doxorubicine.

Cette technique est actuellement encore peu disponible et réservée aux centres experts.

### d. Radiothérapie interne sélective (SIRT)

Ce traitement intra-artériel consiste à injecter des particules radioactives dans l'artère hépatique. Dans la littérature anglo-saxonne on parle de « *Selective Internal Radiation Therapy* » (SIRT) qui est un terme bien plus juste que celui de « radioembolisation » initialement utilisé dans les pays francophones. Le phénomène d'embolisation n'existe quasiment pas avec ces techniques. Le principe thérapeutique est basé le plus souvent sur une émission de rayonnement β à partir de particules d'Yttrium$^{90}$. Le rayonnement émis a une faible pénétration tissulaire (2.5 mm), une demi-vie de 64,2 heures et une énergie moyenne de 0,937 MeV. Ces dispositifs font partie des dispositifs médicaux (DM) et leur évaluation a été longue à se mettre en place. Les développements techniques ont duré plus de 30 ans. Les premiers résultats d'essais cliniques de phase 3 ont été présentés en 2016-2017 pour le traitement du CHC et des métastases hépatiques de cancer colorectal (mCCR). La SIRT fait l'objet d'études sur d'autres tumeurs hépatiques telles que le cholangiocarcinome, les métastases de tumeurs neuro-endocrines (TNE), de mélanomes choroïdiens, entre autres(Levillain et al. 2019; Zubiri et al. 2018; Ponti et al. 2019). Actuellement, 2 produits sont commercialisés (microparticules de résine ou de verre) avec quelques différences en termes de taille de billes et d'activité (tableau 15).

| | Therasphère®, BTG, Royaume Uni | SIRSpheres®, SIRTEX, Australie |
|---|---|---|
| Type de sphères | Verre | Résine |
| Taille des sphères | 20-30 µm | 20-60 µm |
| Activité / sphère | 2500 Bq | 50Bq |
| Nbre de sphères / dose de 3 GBq | 1,2 millions | 40-80 millions |

*Tableau 15 : Principales caractéristiques des 2 types de sphères radioactives disponibles en 2019.*

Quel que soit le produit utilisé, le traitement consiste en 2 étapes :

- Une étape de préparation (*work-up*) qui consiste en la réalisation d'une artériographie hépatique suivie d'une injection de macro-agrégats d'albumine marqués au technétium (MAA). Une scintigraphie est ensuite réalisée afin de vérifier l'absence de contre-indication au traitement (shunts digestifs et/ ou pulmonaires) et permettre de calculer la dose à administrer lors du traitement.
- L'étape de traitement qui consiste en l'injection des sphères radioactives.

Le calcul de dose doit être très précis car il doit combiner une dose élevée sur les tumeurs, qui conditionne la réponse oncologique et une dose faible sur le foie sain, qui conditionne la toxicité du traitement. En effet des complications ont été rapportées avec notamment le syndrome de maladie hépatique induit par les radiations (*Radiation Induced Liver Disease, RILD*). Les calculs de dose sont basés sur des dosimétries personnalisées(Garin et al. 2013; Petitguillaume et al. 2014). Comme il s'agit d'un traitement combinant techniques de RI et produits radio-actifs, une collaboration entre les services de radiologie et de médecine nucléaire est nécessaire. Sa mise en œuvre complexe nécessite également une bonne coordination avec les oncologues, les chirurgiens et les hépato gastroentérologues.

Je ne développerai pas cette partie en détails dans ce travail mais la SIRT fait l'objet de nombreux travaux pour l'optimisation des doses. SIR-SPHERES (pour le CHC et les métastases de cancer colorectal) et THERASPHERES (pour le CHC) sont actuellement inscrits sur la liste des Produits et Prestations prévue à l'article L.165-1 du code de la sécurité sociale.

Devant l'hétérogénéité des pratiques en chimioembolisation artérielle pour le CHC, nous avons souhaité évaluer cette hétérogénéité sur notre territoire. Nous avons donc réalisé une enquête sur les pratiques de la TACE en France, avec le soutien de la FRI, de la SIAD (Société d'imagerie abdominale et digestive) ainsi que la SFICV (Société Française d'Imagerie Cardio Vasculaire). L'objectif principal était de chiffrer les variations en termes de techniques (chimiothérapie choisie, agent d'embolisation, vecteur de chimiothérapie,…). Les objectifs secondaires étaient nombreux : évaluation de la disponibilité des systèmes de guidage sur table d'angiographie, disponibilité des traitements percutanés, évaluation de la qualité en RI

notamment au travers de l'information aux patients (consultation dédiée) et modalités d'hospitalisation et de suivi des patients.

## II. MATERIELS et METHODES de l'étude 4

L'enquête a été réalisée sous l'égide de la Fédération de Radiologie Interventionnelle (FRI), de la Société d'Imagerie Abdominale et Digestive (SIAD) ainsi que de la Société Française d'Imagerie Cardio-Vasculaire (SFICV). Comme la chimioembolisation artérielle était un acte classé de niveau 2 de complexité selon la Société Française de Radiologie (SFR), nous avons voulu envoyer le questionnaire à tous les radiologues pratiquant des actes de niveau 2 et/ou 3 des centres publics et privés. Pour obtenir le listing de ces radiologues, nous avons demandé à la FRI et aux 2 sociétés d'organe de nous procurer la liste de ses membres. Nous avons également demandé la liste des radiologues interventionnels pratiquant des actes de niveau 2 et/ou 3 à tous les chefs de service des établissements publics et centres de lutte contre le cancer français. Pour ne pas omettre de radiologues nous avons également demandé le listing par l'intermédiaire des responsables régionaux de la FRI. Ainsi, nous avons obtenu un listing exhaustif des radiologues interventionnels susceptibles de pratiquer la TACE en France (métropole et DOM TOM). Le questionnaire a été envoyé à tous ces radiologues. Seuls les radiologues pratiquant la CEAH était invité à répondre au questionnaire. Un guide d'instructions accompagnant le questionnaire leur a été envoyé. Les réponses étaient anonymes.

Le questionnaire en lui-même était constitué de 66 questions. Il a été établi avec « google forms® ». Les radiologues avaient 3 mois pour y répondre.

Parmi les 66 questions :

- 11 portaient sur les radiologues eux-mêmes (leur type d'activité, la région dans laquelle ils travaillaient, le type de centre) ;
- 8 portaient sur les indications de la CEAH, leur potentielle validation par une RCP et la classification utilisée pour l'attribution des traitements du CHC ;
- 32 portaient sur la partie technique de la CEAH à savoir la ou les chimiothérapies utilisées, les doses, l'utilisation de la CEAH au lipiodol ou aux billes chargées, en précisant le type de particules chargées et leur taille, les agents d'embolisation utilisés (leur nom et leur taille) ;

- 5 portaient sur les autres techniques de RI disponibles pour traiter le CHC telles que les techniques de destruction tumorale percutanée et la SIRT ;
- 4 portaient sur l'imagerie de suivi ;
- 6 portaient sur les conditions de pratique de la RI dans leur centre (consultations, secteur d'hospitalisation dédié, …).

*Analyse statistique* :

Les variables quantitatives étaient exprimées en moyenne et écart-type, ainsi que les limites (minimum et maximum). Les variables qualitatives étaient exprimées en nombre, proportion et pourcentage. L'ensemble des analyses a été réalisé sur Excel (Microsoft® Office 2017)

## III. RESULTATS de l'étude 4 (article 2)

Sur les 232 radiologues interventionnels qui ont reçu le questionnaire, 64 ont répondu (27 %). Chaque radiologue pratiquait en moyenne 49 ± 45 TACE par an. L'indication de TACE pour BCLC B était loin d'être la seule indication de TACE puisque seulement 6 % des radiologues précisaient ne traiter que des BCLC B. Trente-trois pourcent des radiologues utilisaient une antibioprophylaxie avant l'intervention. Le choix entre cTACE vs DEB-TACE était principalement lié au nombre de lésions (35 %). Le stade OMS et le score de Child Pugh étaient pris en compte dans 12 % des cas. La plupart des radiologues (73 %) pratiquaient un cathétérisme sélectif lors des traitements. Parmi les chimiothérapies, la doxorubicine était la drogue la plus utilisée (81 %). Seuls 23 % des radiologues utilisaient uniquement de la gélatine comme agent embolisant pour la cTACE. Les billes utilisaient pour la DEB-TACE étaient le plus fréquemment des DC-Beads de taille : 100-300 µm.

A travers ce questionnaire, nous avons également pu analyser les pratiques en termes de DTP. La technique de radiofréquence monopolaire était la plus répandue (94 %). La SIRT n'était en revanche disponible que pour un peu plus de la moitié des radiologues (58 %).

De façon très surprenante, l'IRM n'était utilisée pour le suivi des patients que dans 20 % des cas.

Tous les résultats détaillés sont dans l'article ci-après.

Diagnostic and Interventional Imaging (2018) **99**, 527—535

ORIGINAL ARTICLE / *Cancer imaging*

# Transarterial chemoembolization (TACE) in the management of hepatocellular carcinoma: Results of a French national survey on current practices

**A. Fohlen [a,b,*], J.P. Tasu [c], H. Kobeiter [d,e], J.M. Bartoli [f], J.P. Pelage [a,b], B. Guiu [g]**

[a] *Department of Interventional and Diagnostic Imaging, University Hospital of Caen, Avenue de la Côte de Nacre, Caen Cedex 14033, France*
[b] *Normandie Univ, UNICAEN, CEA, CNRS, ISTCT/CERVOxy Group, 14000 Caen, France*
[c] *Diagnostic, Functional and Therapeutic Imaging Department, Poitiers University Hospital, Poitiers Cedex, France*
[d] *Department of Medical Imaging, AP-HP, Groupe Henri-Mondor Albert-Chenevrier, 51 Avenue du Maréchal de Lattre de Tassigny, 94010 Créteil, France*
[e] *University of Medicine, Université Paris 12, 94000 Créteil, France*
[f] *Department of Radiology, Hôpital Timone, 264, rue Saint-Pierre, 13385 Marseille Cedex 05, France*
[g] *Department of Radiology, St-Eloi University Hospital-Montpellier, 80, Avenue Augustin Fliche, 34295 Montpellier, France*

**KEYWORDS**
Transcatheter arterial chemoembolization (TACE);
Hepatocellular carcinoma (HCC);
Surveys and questionnaires;
Current practices

**Abstract**
*Purpose:* To report current practices of transarterial chemoembolization (TACE) by interventional radiologists (IR) for hepatocellular carcinoma (HCC) through a French national survey.
*Materials and methods:* An electronic survey was sent by e-mail to 232 IRs performing TACE in 32 private or public centers. The survey included 66 items including indications for TACE, technical aspects of TACE, other locally available treatments for HCC, follow-up imaging and general aspects of interventional radiology practices.
*Results:* A total of 64 IRs (64/232; 27%) answered the survey. Each IR performed a mean of 49 ± 45 (SD) TACE procedures per year. Marked variations in indications for TACE in HCC were

* Corresponding author at: Department of Interventional and Diagnostic Imaging, University Hospital of Caen, Avenue de la Côte de Nacre, Caen Cedex 14033, France.
*E-mail address:* fohlen@cyceron.fr (A. Fohlen).

https://doi.org/10.1016/j.diii.2018.03.003
2211-5684/© 2018 Société française de radiologie. Published by Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

observed. Six percent of IRs (4/64) treated only patients with Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC) stage B HCC. Antibioprophylaxis was not used by 43/64 of IRs (67%). The number of HCC nodules was considered to select conventional TACE versus drug-eluting beadsTACE (DEB-TACE) by 17/49 IRs (35%) followed by patient performance status and Child—Pugh score by 6/49 IRs (12%). Seventy-three percent of IRs (45/62) treated nodules selectively in patients with unilobar disease with cTACE. Thirty-three percent of IRs (21/64) planned systematically a second TACE session. Doxorubicin was the most frequently used drug (52/64; 81%) and 15/64 IRs (23%) used gelatine sponge as the only embolic agent. For DEB-TACE, 100—300 μm beads were used by 26/49 IRs (53%) and no additional embolization was performed by 19/48 IRs (39%). Monopolar radiofrequency technique was widely available (59/63; 94%) compared to selective internal radiation therapy (37/64; 58%). Magnetic resonance imaging was used for follow-up by 13/63 IRs (20%).

*Conclusion:* Current practices of TACE for HCC varied widely among IRs suggesting a need for more standardized practices.

© 2018 Société française de radiologie. Published by Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

## Introduction

According to the Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC) allocation system, transcatheter arterial chemoembolization (TACE) is recommended for patients with hepatocellular carcinoma (HCC) with BCLC stage B with a high level of evidence (recommendation 1A, evidence 1iiA) [1—3]. However, TACE can be used in other clinical situations such as bridge to transplantation, downstaging strategy or in patients with progressive disease after curative treatment [3,4]. Currently, little is known about the proportions of these different indications in current practice. TACE may also have potential indications for early stage HCC [4—6]. TACE may also be associated with local ablative therapies for combined techniques, especially in primary liver tumors >3 cm [7]. In addition, several questions remain unanswered. Of these, it is not known how many interventional radiologists (IRs) treat patients with early stage HCC with TACE rather than with ablative technique and how many IRs actually use combined techniques to broaden the indications of TACE.

Boulin et al. have underlined that doxorubicin, which is the most widely used drug for TACE is not the most effective using in vitro studies [8,9]. Considering the concept of anticancer drug carrier, ethiodized oil (Lipiodol®, Laboratoire Guerbet, Roissy Charles de Gaulle, France) has proven efficacy through large randomized controlled trials [10,11]. TACE using ethiodized oil is usually called ''conventional TACE'' or ''Lipiodol®-TACE''. Its efficacy and safety have been recently analyzed in a systematic review [12]. Gelatine sponge (Gelfoam) is the most frequently used embolic agent for Lipiodol®-TACE, as initially described. But, some IRs use bland-microspheres [13]. Based on the use of microspheres, drug eluting beads (DEB) have been recently used as anticancer drug-carriers introducing the concept of DEB-TACE. DEBs are considered as a platform with the potential to release the drug progressively. Different types of DEB are currently available. In 2010, a randomized control trial compared conventional TACE (Lipiodol®-TACE) to DEB-TACE [14]. No differences were observed in the two groups regarding the primary endpoint (i.e., tumor response rate at 6 months) [14]. Currently, marked variations in current practices exist regarding performance and application of TACE in patients with HCC. Some IRs prefer conventional-TACE to DEB-TACE. Similarly, some IRs prefer using bland particles for embolization rather than gelatine sponge. Some IRs perform TACE under general anesthesia, while others use sedation. Even if there are some quality improvement guidelines published about TACE, some technical aspects remain unclear or with limited level of evidence [15,16].

The purpose of this study was to evaluate the current practices of TACE by IRs for HCC through a French national survey.

## Materials and methods

Because TACE remains a level 2 intervention according to the French Society of Radiology, the survey was sent by e-mail to all French radiologists practicing level 2 and/or 3 adult interventional radiology procedures in private and public centers. The list of radiologists was established using the directory of the French Interventional Radiology group (Fédération de Radiologie Interventionnelle — FRI), the French Abdominal Imaging Society (Société d'Imagerie Abdominale et Digestive — SIAD) and the French Cardiovascular Imaging Society (Société Francaise d'Imagerie Cardio Vasculaire — SFICV). We also sent an e-mail to all heads of radiology departments of French university hospitals and cancer centers. To avoid missing level 3 IRs, we also contacted each regional correspondent of the French Interventional Radiology group. Each regional correspondent gave the list of level 3 IR in his/her region. Among level 2—3 IRs, only IRs practicing TACE were asked to answer the survey. Each IR was individually asked to complete the survey. Answers were kept anonymous. Recommendations and instructions were provided as a guidance to answer the survey.

The survey consisted in 66 questions. During the survey, radiologists had the opportunity to write free comments. Questions were divided into different categories: 11 questions about the IR him(her)self, his/her type of practice and the description of his/her center; 8 about indications for TACE (included validation of treatment by a pluridisciplinary tumor board or classification used for treatment allocation) and 32 about the technical aspects of TACE (conventional TACE and DEB-TACE). We also asked 5 questions about other available treatments for HCC such as selective internal radiation therapy or ablative techniques and 4 questions about follow-up imaging after TACE. Six questions were about general aspects of interventional radiology practice such as type of hospitalization (inpatient or outpatient), duration of hospital stay and dedicated office visit for TACE. In the interest of simplification, for questions about indications, underlying condition, some technical aspects and follow-up we proposed ranges such as 5—10%, <50%, ≥75%. The mandatory fields were: city of practice, practice setting (public or private), type of practicing center (university hospital, cancer center) and number of TACE per year. For the criteria used to select patients for conventional TACE or DEB-TACE, multiple choices (one or more answers) were proposed among: Child Pugh score, performance status, number of nodules, characteristics of nodules on cross-sectional imaging, tumor board recommendation and radiologist preference. Radiologists could answer the survey during a 3-month period. The software used was google forms®.

## Statistical analysis

Quantitative variables were expressed as mean, standard deviation and range. Qualitative variables were expressed as raw numbers, proportions and percentages. Analysis of responses was descriptive. Results were expressed in percentage.

# Results

A 4 month-period was needed to establish the final list of level 2—3 adult IRs, consisting in a total of 232 radiologists. The e-mail was sent once, with 2 reminders.

## Demographic data of IR responders

After 3 months, 64 level 2—3 IRs (64/232; 27.6%) answered the survey. Among them, 48 (48/64; 75%) worked only in a public center, 12 (12/64; 19%) only in a private center and 4 (4/64; 6%) had a shared private and public practice. Four IRs (4/64; 6%) worked in a cancer center. The responders originated from 32 different cities (Fig. 1). Each radiologist performed a mean of 49 ± 45 (SD) procedures per year (median; 35; range: 2—250 procedures), corresponding to a total of 3176 TACE per year. Thirty (30/64; 47%) IRs worked in a liver transplantation center and 43 (43/64; 67%) had a dedicated pluridisciplinary tumor board for liver tumors.

## General considerations about TACE practice

Fifty-two IRs (52/64; 81%) had their patients hospitalized in a medical hepato-gastroenterology unit. Antibioprophylaxis was not used by 43 IRs (43/64; 67%). Fifty-height IRs (58/64; 91%) performed TACE under general anesthesia in less than 5% of procedures, whereas 19 IRs (19/64; 29%) used neuroleptanalgesia for more than 80% of procedures. Thirty-five IRs (35/64; 55%) had a dedicated consultation before TACE whereas 46 IRs (46/64; 72%) were not involved

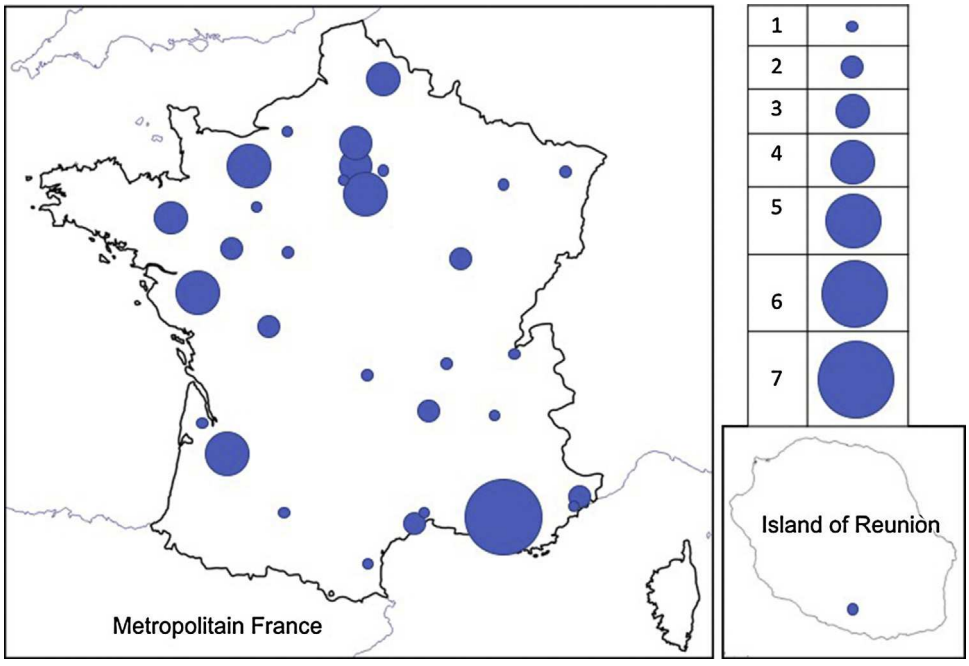



Fig. 1. Drawing shows the map of France and distribution of interventional radiologists who responded to the survey. The blue rings represent the number of responders by city.

in the follow-up after TACE. Forty-eight IRs (48/64; 75%) found the BCLC classification useful. Forty-eight IRs (48/64; 75%) had a three-dimensional computed tomography (3D-CT) equipment available and 13 IRs (13/48; 27%) performed an immediate evaluation with 3D-CT after TACE to assess Lipiodol® uptake.

## Indications for TACE

Four IRs (4/64; 6%) treated only BCLC B and 38 (38/64; 59%) treated <50% BCLC B patients (Fig. 2). Twelve IRs (12/64; 19%) never used TACE in BCLC A patients whereas 52 IRs (52/64; 81%) have already treated BCLC A patients. TACE for down-staging represented <10% of all patients for 43 IRs (43/64; 67%). Fifty-nine IRs (59/64; 92%) never or rarely (<5%) used TACE to select patient before surgery as an ''effort test''. TACE as a bridge to transplantation represented less than 10% of TACE for 36 IRs (36/64; 56%). TACE for tumor recurrence after surgery or percutaneous ablation represented <20% of indications for 54 IRs (54/64; 84%) and 56 IRs (56/64; 87.5%), respectively.

Five IRs (5/64; 8%) never treated patients with HCC with portal vein invasion and 59 IRs (59/64; 92%) treated patients with non-troncular portal vein invasion (Fig. 3). Fifty-one IRs (51/64; 80%) treated patients with portal vein invasion in <10% of cases. Thirty-nine IRs (39/64; 61%) never performed TACE in patients with transjugular intrahepatic portovenous shunts.

## Technical aspects for TACE

Regarding the conventional TACE technique (i.e., with Lipiodol®), in patients with unilobar involvement, no IR treated both lobes (0/62; 0%), 17 IRs (17/62; 27%) treated the involved hepatic lobe but unselectively. Forty-five IRs (45/62; 73%) treated the involved lobe more selectively by targeting each segment or subsegment. In patients with bilobar disease, 7 IRs (7/64; 11%) treated both lobes with a whole liver approach, 22 IRs (22/64; 34%) treated both lobes unselectively in 2 sessions (sequential approach) and 30 IRs (30/64; 47%) treated both lobes selectively (by targeting each segment or sub-segment). Microcatheters were not always used; 38 IRs (38/64; 59%) used a microcatheter for more than 75% of TACE. Forty-six IRs (46/64; 72%) used a 2.7-F microcatheter compared to 13 IRs (13/64; 20%) who used a 2.8-F and 5 IRs (5/64; 8%) who used a 2.4-F microcatheter.

Considering the end-point of TACE, embolization was stopped when stasis was achieved in the main hepatic artery, in 1st order branches, in 2nd order branches or in tumor branches for 5 IRs (5/62; 8%), 24 IRs (24/62; 39%), 18 IRs (18/62; 29%) and 13 IRs (13/62; 21%), respectively. Doxorubicin was the most frequent drug used for 52 IRs (52/64; 81%). Four other drugs were also used including idarubicine for 5 IRs (5/64; 8%), farmorubicine for 4 (4/64; 6%), epirubicine for 2 (2/64; 3%) and carboplatine for 1 IR (1/64; 2%).

Regarding the embolic agent used for conventional TACE, 15 IRs (15/64; 23%) used gelfoam as the only embolic agent. When gelfoam was used, it was prepared as a slurry through a 3 way-stopcock for 36 IRs (36/51; 70%), compared to large gelfoam torpedoes for 11 IRs (11/51; 21%). Two IRs (2/51; 4%) used indifferently gelfoam slurry or torpedoes and two (2/51; 4%) used very small gelfoam particles obtained after scratching. Some IRs used calibrated microspheres, non-spherical particles or a combination of particles and gelfoam. Six IRs (6/64; 9%) used microspheres as the only embolic agent. Among IR who used particles, the distribution of the different sizes used is presented in Fig. 4. In terms of Lipiodol® volume used for one treatment, 57 IRs (57/64; 89%) used less than 15 mL of Lipiodol® (Fig. 5).

Regarding criteria used to select patients for conventional TACE or DEB-TACE, 49 IRs (49/64; 76%) answered this question. Detailed replies are presented in Fig. 6. Representation in terms of percentage of practice between conventional TACE and DEB-TACE is detailed in Fig. 7. Forty-two IRs (42/64; 66%) used DEB-TACE for less than 20% of their TACE procedures.

Regarding the DEB-TACE end point, 9 IRs (9/50; 18%) stopped when stasis was achieved in 1st order branches, 21 IRs (21/50; 42%) stopped when stasis was achieved in 2nd order branches and 18 IRs (18/50; 36%) stopped when stasis was obtained in tumor branches. Among the types of DEB used, 26 IRs (26/49; 53%) used DC-Beads (BTG, 100—300 μm). Others type of loaded beads included Hepasphere® (Merit Medical Systems Inc., South Jordan, UT, USA) and Tandem® (Boston Scientific, Marlborough, MA, USA) and sizes used are detailed in Fig. 8. If all types of DEB were considered in the aggregate, the most frequently used size was 100—300 μm (Fig. 9). After DEB administration, additional injection of particles was performed occasionally for 25 IRs (25/48; 52%), always for 4 IRs (4/48; 8%) and never for 19 IRs (19/48; 39%). Doxorubicin was used by 44 IRs (44/49; 76%) with DEBs whereas idarubicine was used by 3 IRs (3/49; 6%).

## Available techniques for HCC treatment and combined techniques

Considering available endovascular treatments for HCC, all IRs (64/64; 100%) had access to conventional TACE, 47 IRs (47/64; 73%) to DEB-TACE, 37 f IRs (37/64; 58%) to selective internal radiation therapy (SIRT). Percutaneous ablative techniques were available for 63 IRs (63/64; 98%). Different types of ablatives techniques were available including monopolar radiofrequency for 59 IRs (59/63; 94%), microwave for 43 IRs (43/63; 68%), multipolar radiofrequency for 21 (21/63; 33%), cryotherapy for 10 IRs (10/63; 16%) and irreversible electroporation for 4 IRs (4/63; 6%). Only one IR (1/63; 2%) had access to all types of ablative treatments. Sixteen IRs (16/63; 25%) had monopolar radiofrequency ablation as the only available technique and 49 IRs (49/64; 76%) performed themselves both types of treatments (TACE and percutaneous ablation).

Regarding combined therapies, 52 IRs (52/63; 82%) never or rarely (≤10%) combined TACE and percutaneous ablation whereas 31 IRs (31/48; 64%) performed TACE before percutaneous ablation. Thirty-one IRs (31/53; 58%) performed both treatments the same day.

## Follow-up after TACE and re-treatment

In patients with uni- or bilobar disease, a second session of conventional TACE was always performed by 21 IRs (21/64; 33%), without proof of viable or recurrent disease on imaging and 2 (2/22; 9%) IRs performed 2 additional sessions

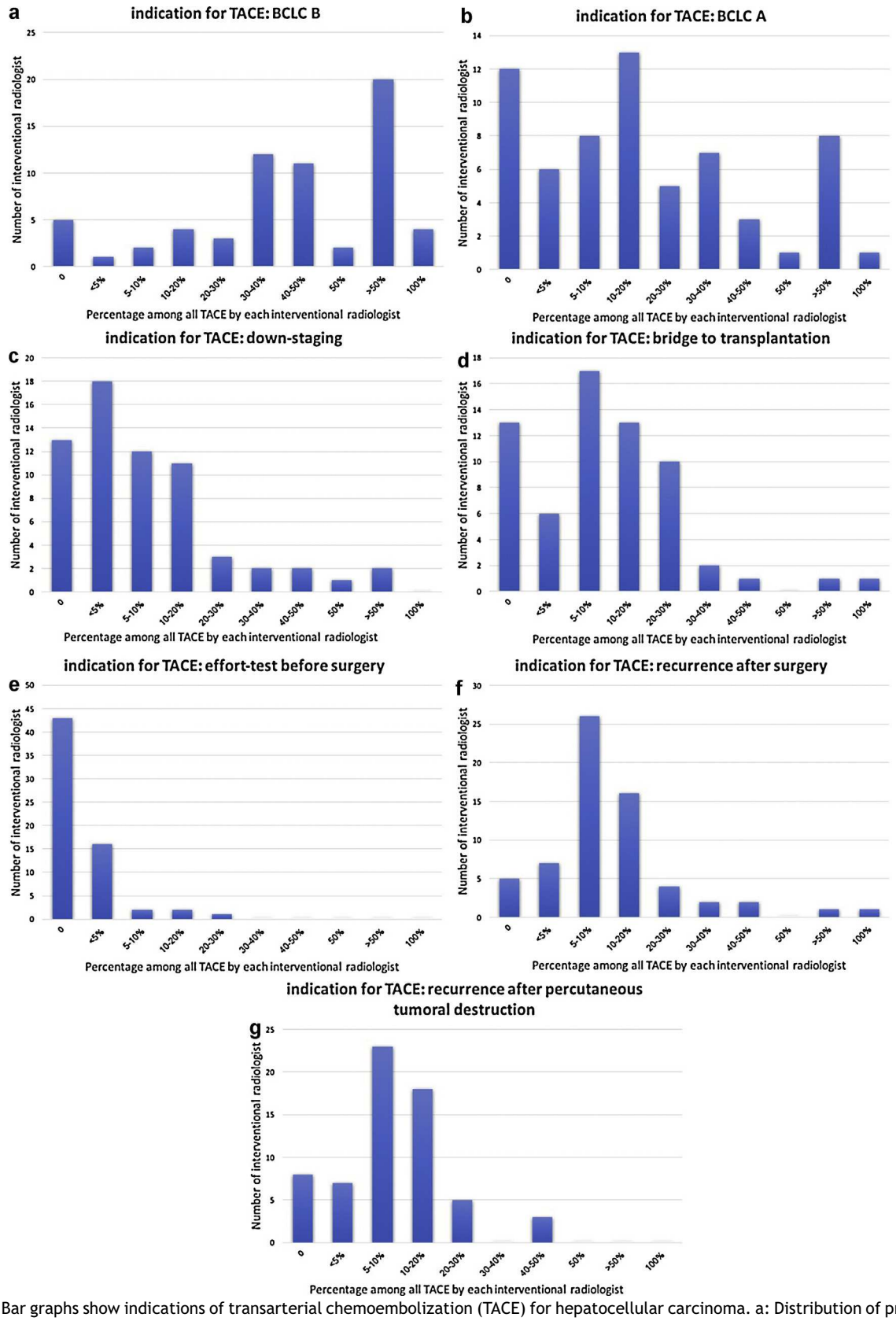



Fig. 2. Bar graphs show indications of transarterial chemoembolization (TACE) for hepatocellular carcinoma. a: Distribution of proportions of TACE performed for BCLC stage B patients by 64 interventional radiologists. b: Distribution of proportions of TACE performed for BCLC stage A patients by 64 interventional radiologists. c: Distribution of proportions of TACE performed for down-staging by 64 interventional radiologists. d: Distribution of proportions of TACE performed to select patient before surgery by 64 interventional radiologists. e: Distribution of proportions of TACE performed as a bridge to transplantation by 64 interventional radiologists. f: Proportions of TACE procedures performed for recurrence of HCC after surgery by 64 interventional radiologists. g: Proportions of TACE procedures performed for recurrence of HCC after percutaneous tumor ablation by 64 interventional radiologists.

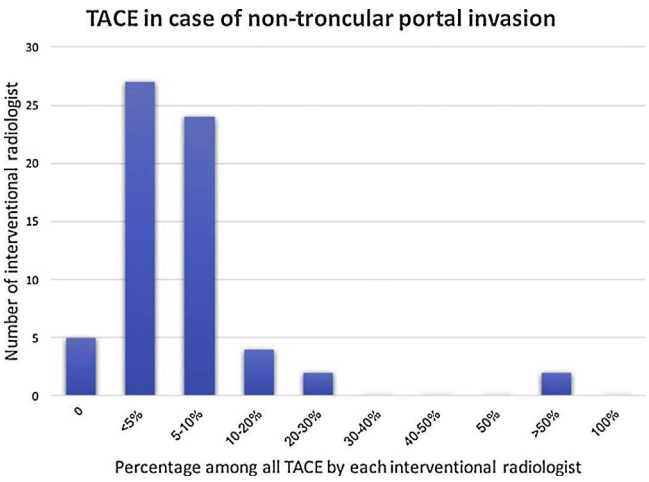



Fig. 3. Bar graph shows distribution of proportions of transarterial chemoembolization (TACE) procedures performed in patients with non-troncular portal invasion by 64 interventional radiologists.

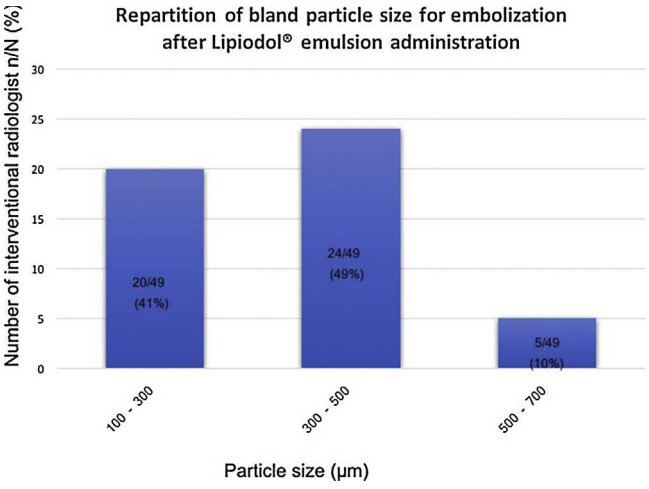



Fig. 4. Particles as embolic agent in Lipiodol®-transarterial chemoembolization (TACE). Bar graph shows distribution of particle size used by 49 interventional radiologists.

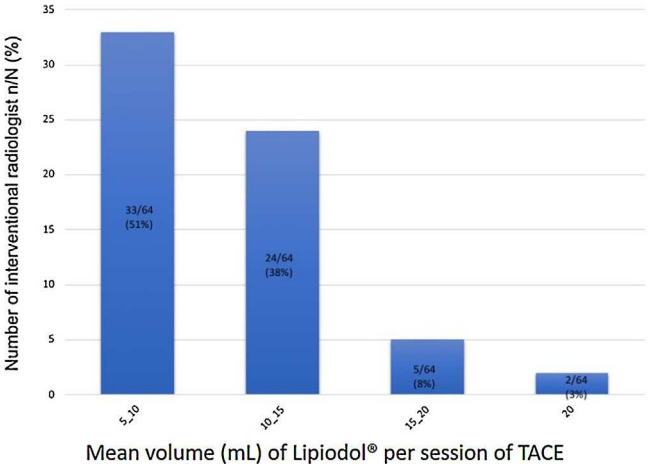



Fig. 5. Bar graph shows distribution of Lipiodol® volume used for conventional transarterial chemoembolization (TACE) procedures by 64 interventional radiologists.

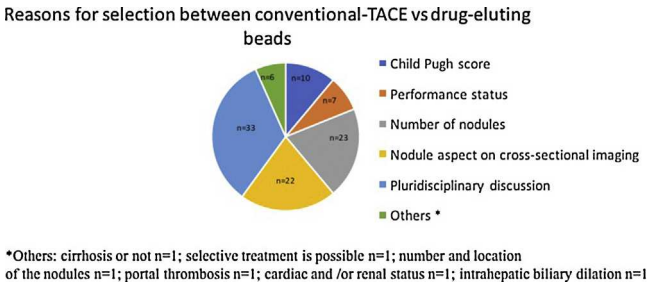



Fig. 6. Decision criteria for favoring conventional TACE or drug-eluting beads transarterial chemoembolization (TACE) procedures by 49 interventional radiologists. Diagram shows raw numbers after multiple-choice questionnaire.

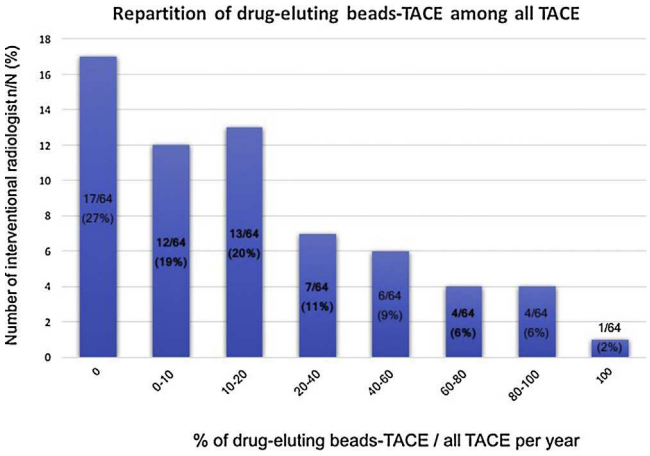



Fig. 7. Graph shows column bars corresponding to distribution of drug-eluting beads-transarterial chemoembolization (TACE) procedures among all TACE performed during one year period by 64 interventional radiologists.

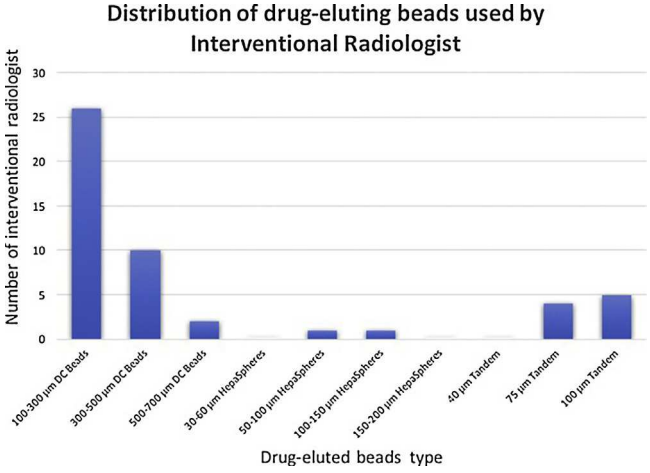



Fig. 8. Graph shows column bars corresponding to distribution of drug eluting beads type used by 49 interventional radiologists for transarterial chemoembolization (TACE) procedures.

after first TACE for a total of 3 systematic sessions. Among IR performing additional session systematically, 9 IRs (9/25; 36%) waited 4—6 weeks between 2 sessions and 10 (10/25; 40%) IRs waited between 6 weeks and 3 months. Sixteen IRs (16/64; 25%) performed non-contrast CT within 1 month after conventional TACE to evaluate Lipiodol® uptake and 25

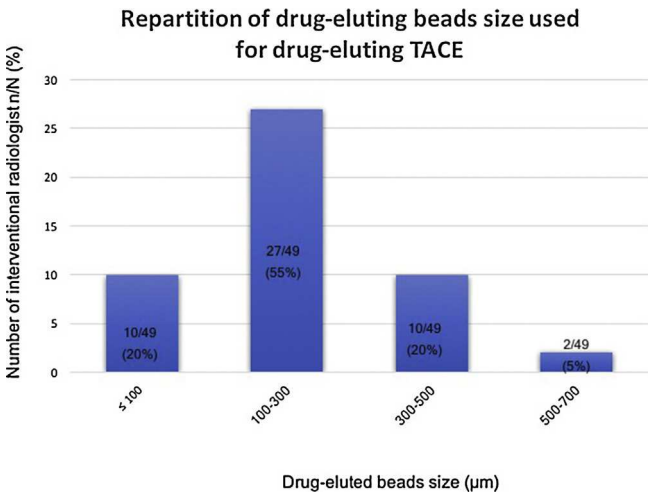



Fig. 9. Graph shows column bars corresponding to distribution of drug-eluting beads size used for drug-eluting beads-transarterial chemoembolization (TACE) procedures, regardless of the brand name by 49 interventional radiologists.

IRs (25/64; 39%) performed CT without and with iodinated contrast injection. For 51 IRs (51/64; 80%) MR imaging was not systematically used as the imaging modality for follow-up, mainly because of limited access for 21 IRs (21/37; 57%).

## Discussion

This survey about TACE practice for HCC shows heterogeneous practices, in terms of techniques and assessment of tumor response. Doxorubicin remains the most frequently used drug used for TACE in HCC. The choice between conventional TACE and DEB TACE remains unclear. Among available interventional radiology treatments for HCC, percutaneous tumor ablation techniques are the most frequently used after TACE. Approximately half of IRs have time for dedicated office visits and even fewer are involved in the follow-up after treatment.

In 2014, a survey was published about practices of locoregional treatments for HCC by Bargellini et al. [17]. These authors also underlined the high variability in practices regarding transarterial treatments across their country.

In terms of quality in interventional radiology, one of the key roles of IR is to inform patients before treatment to be involved in the clinical and imaging follow-up as underlined in CIRSE recommendations [18]. Changes in practice should include more dedicated time for patients.

Regarding indications, using BCLC staging and allocation system, TACE should only be offered to patients with BCLC stage B HCC. However, our survey reveals that patients with BCLC A or C stage HCC receive TACE. For early stage BCLC for Child Pugh A patients, Hocquelet et al. found that TACE is inferior to radiofrequency ablation in terms of tumor response and overall survival [19].

Portal venous invasion is considered as a contraindication for TACE but only in patients with bilobar portal invasion [20]. In a recent publication, survival rates of patients with HCC and portal vein involvement were poor after TACE, with similar results for conventional TACE and DEB-TACE [21]. These are the reasons why treatment of HCC should be considered by a multidisciplinary tumor board [22,23].

The use of prophylactic antibiotics is only recommended for specific situations [24,25]. Neuroleptanalgesia is a good compromise between local anesthesia, sometimes unsuitable to manage abdominal pain, and general anesthesia, associated with additional risks and with limited availability due to shortage in anesthesiologists. The utility of cone beam CT to optimize TACE treatment has been highlighted [18,26] but only 75% of IRs have this technology available in France. Institutions should be aware of the need for this technology to improve patient care.

Regarding catheter selectivity, even if number of nodules was not considered in the questionnaire, we observed that most of IRs tried to deliver selectively and used microcatheter. Selectivity in TACE is recommended and considered as a predictive factor for good response [27—29]. For major bilobar involvement of the liver sequential treatment with a 2—8 week interval between both TACE procedures is recommended [29]. Nevertheless, a study published in 2017, demonstrated a statistically significant association of superselective chemo-lipiodolization with the incidence (27.9%) of arteriopathy in hepatic arteries ($P = 0.003$) [30]. Consequences may be a change in treatment strategy for 29.4% of them [30].

Regarding embolization end-points, answers were heterogenous. Stasis in second or third order branches of lobar artery is recommended [28]. A selective occlusion should be attempted with a tree-in-the-winter aspect [29]. For chemotherapy agent, the most frequently used still remains doxorubicin even if in vitro data found that doxurubicin was not the most effective drug on HCC cell lines compared to idarubicin [8]. For conventional TACE, gelfoam is the most commonly used embolic agent [29]. Some IRs prefer using particles rather than gelatin sponge to achieve a more distal and targeted occlusion and hypoxia [13]. With the development of calibrated microspheres and more recently in a degradable form, changes in the embolization technique may be considered. At this point it is not known whether a temporary occlusion should be favored compared to definitive occlusion.

There is no consensus opinion with regards to the volume of Lipiodol® but De Baere et al. suggested the use of 15 mL or less per session in adults because more than 20 mL may lead to life-threatening adverse events [29]. A portal Lipiodol® uptake is associated with a better tumor response [29].

Concerning the choice between conventional TACE and DEB-TACE, the Precision V randomized controlled trial that compared conventional TACE and DEB-TACE found no differences in terms of response rate between the two techniques [14]. This study demonstrated less systemic side-effects using doxorubicin in the DEB-TACE group [14]. However, in this study, doxorubicin dose for conventional TACE was 50—75 mg/m$^2$ (i.e., 100—150 mg per session), whereas DEB were loaded with 25—150 mg. Varela et al. reported significantly lower doxorubicin concentrations in DEB patients than in conventional TACE patients [31]. A recent review underlined the efficacy and safety data about TACE with Lipiodol® [12]. Liver and biliary injuries after conventional TACE or DEB-TACE in patients with HCC and neuroendocrine tumor liver metastases were compared in a retrospective study and the authors concluded that such injuries

were independently associated with DEB-TACE [32]. Same results were obtained specifically in TACE for HCC [33]. French IRs mainly use conventional TACE rather than DEB-TACE for HCC. Conversely, Italian IRs perform DEB-TACE (52%) more frequently than conventional TACE (32%) [17]. Boulin et al. have showed that contraindications for TACE and rigorous application of the administration requirements for both techniques (Lipiodol® emulsion or loaded microspheres) should be strictly observed to reduce the rate of complications [34]. In our study, the number of nodules was the most frequently used criteria for selecting DEB. Whereas it has been claimed that the use of DEB-TACE should have resulted in a better standardization, it is now clear that this technique results in very heterogeneous applications, without consensus opinion among IRs.

Regarding other techniques to treat HCC, most IR (76%) perform endovascular and percutaneous treatments. While combined therapies using TACE and radiofrequency ablation (RFA) seem to be a promising strategies [35,36] they are rarely used in France. On the opposite, in the Italian survey, TACE + RFA were frequently used (68%).

The use of SIRT is not common in French centers, mainly because of reimbursement issues and disappointing current results. The French randomized controlled trail SARAH recently published did not demonstrate the superiority in terms of overall survival of SIRT compared to sorafenib in locally advanced or intermediate stage HCC after failed TACE [37].

Regarding the number of TACE procedures, there are different practices such as on-demand vs systematic second session, while the on-demand is more recommended [38].

There is a wide variability regarding the imaging modality used for tumor response assessment. Even if MR imaging is the most sensitive technique for liver evaluation, MR imaging access in France is still low [39]. Tumor response assessment is recommended after 4 weeks using the modified RECIST criteria [34]. Contrast-enhanced ultrasound has been compared to multiphase CT for tumor response [40]. Sensitivity of contrast-enhanced ultrasound for detection of residual disease was 94% vs 50% for CT [40].

New guidelines about Lipiodol®-TACE have been recently published [29]. More diffusion of these guidelines should be undertaken. Nevertheless, there is still a lack of scientific evidence, particularly regarding technical aspects (type and size of embolic agents, selection between DEB TACE and Lipiodol®-TACE).

The most important bias in your study was the low rate of responses (<30%). One of the potential explanations was the large number of IRs contacted because they were supposed to perform TACE procedures, but finally some of them never performed TACE. Another bias came from the type of proposed response (i.e., range of percentage). We avoid to ask IR the exact number for each question, because we found it was too time-consuming for responders.

In conclusion, indications, conditions, technique and follow-up for HCC treated with TACE varied widely among IRs in France. Recommendations on cTACE, published after the beginning of our survey should help IRs optimize their technique even if some technical aspects remain unclear and particularly the choice between conventional TACE and DEB-TACE. Future studies are still needed. Moreover, improvements in devices and techniques such as balloon-catheter assisted TACE, use of calibrated resorbable microspheres among others may lead to new guidelines.

## Disclosure of interest

The authors declare that they have no competing interest.

## References

[1] Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma: an update. Hepatology 2011;53:1020—2.
[2] EASL-EORTC clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma. J Hepatol 2012;56:908—43.
[3] Delicque J, Boulin M, Guiu B, Pelage J-P, Escal L, Schembri V, et al. Interventional oncology for hepatocellular carcinoma. Clin Res Hepatol Gastroenterol 2016;40:530—7.
[4] Kim JW, Kim JH, Sung K-B, Ko H-K, Shin JH, Kim PN, et al. Transarterial chemoembolization vs. radiofrequency ablation for the treatment of single hepatocellular carcinoma 2 cm or smaller. Am J Gastroenterol 2014;109:1234—40.
[5] Qi X, Wang D, Su C, Li H, Guo X. Hepatic resection versus transarterial chemoembolization for the initial treatment of hepatocellular carcinoma: a systematic review and meta-analysis. Oncotarget 2015;6:18715—33.
[6] Hsu KF, Chu CH, Chan DC, Yu JC, Shih ML, Hsieh HF, et al. Superselective transarterial chemoembolization vs hepatic resection for resectable early-stage hepatocellular carcinoma in patients with Child-Pugh class a liver function. Eur J Radiol 2012;81:466—71.
[7] Xie H, Wang H, An W, Ma W, Qi R, Yang B, et al. The efficacy of radiofrequency ablation combined with transcatheter arterial chemoembolization for primary hepatocellular carcinoma in a cohort of 487 patients. PLOS ONE 2014;9:e89081.
[8] Boulin M, Guiu S, Chauffert B, Aho S, Cercueil J-P, Ghiringhelli F, et al. Screening of anticancer drugs for chemoembolization of hepatocellular carcinoma. Anticancer Drugs 2011;22:741—8.
[9] Boulin M, Guiu B. Which is the best chemotherapeutic agent for transarterial chemoembolization of hepatocellular carcinoma? Cardiovasc Intervent Radiol 2016;39:953—4.
[10] Cammà C, Schepis F, Orlando A, Albanese M, Shahied L, Trevisani F, et al. Transarterial chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma: meta-analysis of randomized controlled trials. Radiology 2002;224:47—54.
[11] Llovet JM, Bruix J. Systematic review of randomized trials for unresectable hepatocellular carcinoma: chemoembolization improves survival. Hepatology 2003;37:429—42.
[12] Lencioni R, de Baere T, Soulen MC, Rilling WS, Geschwind JFH. Lipiodol transarterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma: a systematic review of efficacy and safety data. Hepatology 2016;64:106—16.
[13] Pelage JP, Fohlen A, Mitry E, Lagrange C, Beauchet A, Rougier P. Chemoembolization of neuroendocrine liver metastases using streptozocin and tris-acryl microspheres: Embozar (EMBOsphere + ZAnosaR) study. Cardiovasc Intervent Radiol 2017;40:394—400.
[14] 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 Intervent Radiol 2010;33:41—52.
[15] Basile A, Carrafiello G, Ierardi AM, Tsetis D, Brountzos E. Quality-improvement guidelines for hepatic transarterial chemoembolization. Cardiovasc Intervent Radiol 2012;35:765—74.

[16] Brown DB, Cardella JF, Sacks D, Goldberg SN, Gervais DA, Rajan DK, et al. Quality improvement guidelines for transhepatic arterial chemoembolization, embolization, and chemotherapeutic infusion for hepatic malignancy. J Vasc Interv Radiol 2009;20:S219—26. NaN-NaN10.
[17] Bargellini I, Florio F, Golfieri R, Grosso M, Lauretti DL, Cioni R. Trends in utilization of transarterial treatments for hepatocellular carcinoma: results of a survey by the Italian Society of Interventional Radiology. Cardiovasc Intervent Radiol 2014;37:438—44.
[18] Tsetis D, Uberoi R, Fanelli F, Roberston I, Krokidis M, van Delden O, et al. The provision of interventional radiology services in Europe: CIRSE recommendations. Cardiovasc Intervent Radiol 2016;39:500—6.
[19] Hocquelet A, Seror O, Blanc J, Frulio N, Nault J, Trillaud H. Transarterial chemoembolization for early stage hepatocellular carcinoma decrease local tumor control and overall survival compared to radiofrequency ablation. Oncotarget 2017;8:32190—200.
[20] Raoul JL, Sangro B, Forner A, Mazzaferro V, Piscaglia F, Bolondi L, 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.
[21] Gorodetski B, Chapiro J, Schernthaner R, Duran R, Lin M, Lee H, et al. Advanced-stage hepatocellular carcinoma with portal vein thrombosis: conventional versus drug-eluting beads transcatheter arterial chemoembolization. Eur Radiol 2017;27:526—35.
[22] Han K, Kim JH. Transarterial chemoembolization in hepatocellular carcinoma treatment: Barcelona clinic liver cancer staging system. World J Gastroenterol 2015;21:10327—35.
[23] Colombo M, Sangiovanni A. Treatment of hepatocellular carcinoma: beyond international guidelines. Liver Int 2015;35(Suppl. 1):129—38.
[24] Patel S, Tuite CM, Mondschein JI, Soulen MC. Effectiveness of an aggressive antibiotic regimen for chemoembolization in patients with previous biliary intervention. J Vasc Interv Radiol 2006;17:1931—4.
[25] Khan W, Sullivan KL, McCann JW, Gonsalves CF, Sato T, Eschelman DJ, et al. Moxifloxacin prophylaxis for chemoembolization or embolization in patients with previous biliary interventions: a pilot study. Am J Roentgenol 2011;197:W343—5.
[26] Miyayama S, Yamashiro M, Okuda M, Yoshie Y, Sugimori N, Igarashi S, et al. Usefulness of cone-beam computed tomography during ultraselective transcatheter arterial chemoembolization for small hepatocellular carcinomas that cannot be demonstrated on angiography. Cardiovasc Intervent Radiol 2009;32:255—64.
[27] Yamakado K, Miyayama S, Hirota S, Mizunuma K, Nakamura K, Inaba Y, et al. Hepatic arterial embolization for unresectable hepatocellular carcinomas: do technical factors affect prognosis? Jpn J Radiol 2012;30:560—6.
[28] Lencioni R, Petruzzi P, Crocetti L. Chemoembolization of hepatocellular carcinoma. Semin Intervent Radiol 2013;30:3—11.
[29] de Baere T, Arai Y, Lencioni R, Geschwind J-F, Rilling W, Salem R, et al. Treatment of liver tumors with Lipiodol TACE: technical recommendations from experts opinion. Cardiovasc Intervent Radiol 2016;39:334—43.
[30] Matsui Y, Figi A, Horikawa M, Jahangiri Noudeh Y, Tomozawa Y, Hashimoto K, et al. Arteriopathy after transarterial chemolipiodolization for hepatocellular carcinoma. Diagn Interv Imaging 2017;98:827—35.
[31] 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—81.
[32] Guiu B, Deschamps F, Aho S, Munck F, Dromain C, Boige V, et al. Liver/biliary injuries following chemoembolisation of endocrine tumours and hepatocellular carcinoma: lipiodol vs. drug-eluting beads. J Hepatol 2012;56:609—17.
[33] Monier A, Guiu B, Duran R, Aho S, Bize P, Deltenre P, et al. Liver and biliary damages following transarterial chemoembolization of hepatocellular carcinoma: comparison between drug-eluting beads and lipiodol emulsion. Eur Radiol 2017;27:1431—9.
[34] Boulin M, Delhom E, Pierredon-Foulongne MA, Cercueil JP, Guiu B. Transarterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma: an old method, now flavor of the day. Diagn Interv Imaging 2015;96:607—15.
[35] Takaki H, Yamakado K, Uraki J, Nakatsuka A, Fuke H, Yamamoto N, et al. Radiofrequency ablation combined with chemoembolization for the treatment of hepatocellular carcinomas larger than 5 cm. J Vasc Interv Radiol 2009;20:217—24.
[36] Zheng J-S, Long J, Sun B, Lu N-N, Fang D, Zhao L-Y, et al. Transcatheter arterial chemoembolization combined with radiofrequency ablation can improve survival of patients with hepatocellular carcinoma with portal vein tumour thrombosis: extending the indication for ablation? Clin Radiol 2014;69:e253—63.
[37] Vilgrain V, Pereira H, Assenat E, Guiu B, Ilonca AD, Pageaux G-P, et al. Efficacy and safety of selective internal radiotherapy with yttrium-90 resin microspheres compared with sorafenib in locally advanced and inoperable hepatocellular carcinoma (SARAH): an open-label randomised controlled phase 3 trial. Lancet Oncol 2017;18:1624—36.
[38] Tavernier J, Fagnoni P, Chabrot P, Guiu B, Vadot L, Aho S, et al. Comparison of two transarterial chemoembolization strategies for hepatocellular carcinoma. Anticancer Res 2014;34:7247—53.
[39] Prajapati HJ, Spivey JR, Hanish SI, El-Rayes BF, Kauh JS, Chen Z, et al. mRECIST and EASL responses at early time point by contrast-enhanced dynamic MRI predict survival in patients with unresectable hepatocellular carcinoma (HCC) treated by doxorubicin drug-eluting beads transarterial chemoembolization (DEB TACE). Ann Oncol 2013;24:965—73.
[40] Paul SB, Dhamija E, Gamanagatti SR, Sreenivas V, Yadav DP, Jain S, et al. Evaluation of tumor response to intra-arterial chemoembolization of hepatocellular carcinoma: comparison of contrast-enhanced ultrasound with multiphase computed tomography. Diagn Interv Imaging 2017;98:253—60.

# IV. CONCLUSION de l'étude 4

Alors que la standardisation des techniques est très attendue en RI et peut être encore plus en RIO, on observe encore une hétérogénéité des pratiques pour le traitement qui a le plus de preuves scientifiques (TACE).

Avant 2016 , il n'existait pas de recommandations pratiques sur la technique de cTACE (Thierry de Baere, Arai, et al. 2016). On peut imaginer qu'après la diffusion de recommandations, les pratiques vont se standardiser.

D'autre part, certains comptaient sur les billes chargées pour uniformier la technique de chimioembolisation. Néanmoins le choix de billes étant très varié en termes de taille et de plateforme (billes plus ou moins déformables, temps de relargage différent), la standardisation ne semble pas pouvoir venir de ce type de produit.

Bien que l'étude sur le screening de chimiothérapie sur les cellules de CHC de Boulin et al. ait été publié en 2011, plusieurs années plus tard la doxorubicine reste la chimiothérapie la plus répandue.

Finalement, la technique de TACE mérite encore d'être optimisée de façon consensuelle pour être diffusée largement et améliorer la survie des patients.

En parallèle, les pouvoirs publics doivent accorder de nouvelles autorisations d'équipements lourds de type IRM en France, puisqu'on note que les radiologues eux-mêmes ne peuvent pas évaluer la réponse tumorale avec la technique la plus performante pour l'analyse du foie du fait d'un accès limité ou de délais d'obtention trop longs. L'utilisation de l'IRM en pré et post-thérapeutique permet pourtant d'optimiser la prise en charge des patients.

*Les tumeurs du foie représentent la 2 ème cause de mortalité par cancer dans le monde après le cancer pulmonaire (Jacques Ferlay et al. 2015). Parmi les tumeurs hépatiques, le CHC est le plus fréquent (85-90 %), suivi par les métastases de cancer colorectal. La RIO s'est beaucoup développée dans le traitement du CHC. Les travaux réalisés par Mathieu Boulin et al. (depuis 2011) contribuent largement à l'optimisation des traitements du CHC en RIO (Mathieu Boulin et al. 2011; Favelier et al. 2013; M Boulin et al. 2014; Guiu et al. 2015a; Mathieu Boulin et al. 2016b; Guiu et al. 2018b; Guiu, Colombat, et al. 2019). Nous avons focalisé les travaux suivants sur les lésions secondaires du foie et notamment celles provenant des cancers colorectaux en raison de leur fréquence mais aussi sur les métastases de mélanomes de l'uvée de par leur pronostic sombre.*

*Le travail de Boulin et al. (2011) sur le screening d'agent anti-cancéreux pour le traitement du CHC (Mathieu Boulin et al. 2011) est venu conforter notre idée que la TACE devait être adaptée aux types de tumeur à traiter. En effet, nous avons publié une analyse rétrospective sur la TACE de patients porteurs de métastases hépatiques de tumeurs neuroendocrines à l'aide de streptozocine, agent anti-cancéreux de référence pour ces tumeurs (Jean-Pierre Pelage et al. 2017). Nous avons souhaité poursuivre les travaux de screening d'agent anti-cancéreux pour les 2 autres types de lésions hépatiques traitées par voie endo-artérielle à savoir les métastases hépatiques de mélanome de l'uvée et de cancer colorectaux.*

*D'autre part, l'embolisation seule ou associée à la chimiothérapie fait partie du traitement des tumeurs. Or, comme nous l'avons vu, l'embolisation consiste à dévasculariser une tumeur donc diminuer son apport sanguin et par conséquent son apport en oxygène. L'embolisation créé donc des conditions d'hypoxie sur les lésions. Ainsi, nous avons souhaité évaluer, in vitro, l'effet de l'hypoxie sur la survie cellulaire des lignées de mélanome de l'uvée ainsi que sur l'efficacité des chimiothérapies.*

# B. LES METASTASES HEPATIQUES DES MELANOMES DE L'UVEE

## I. INTRODUCTION de l'étude 5 « Screening in vitro d'agents cytotoxiques sur des lignées cellulaires de mélanome de l'uvée »

### 1. Epidémiologie des mélanomes de l'uvée

Le mélanome choroïdien est la tumeur maligne intra-oculaire la plus fréquente. Elle provient des mélanocytes de l'iris (3-5%), du corps ciliaire (5-8%) ou de la choroïde (85-90%). Les estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018 ont été publiées en juillet 2019. Ces estimations ont été faites à partir des registres des cancers du réseau Francim (Defossez et al. 2019). Le mélanome de l'uvée est une tumeur rare puisque l'on estime, d'après ces registres, à 448 le nombre de nouveaux cas en France en 2018, dont 54% chez l'homme. Les principaux indicateurs sont détaillés dans le tableau et la figure ci-dessous (tableau 16 et figure 52) (Guizard et al. 2019). L'âge médian au diagnostic est de 64 ans. Il survient préférentiellement sur les yeux clairs (bleus ou verts). Les autres facteurs de risque sont : les nævi cutanés atypiques, la peau claire, nævi cutanés communs, propension aux coups de soleils, naevus de l'iris, tâches de rousseurs. En revanche le rôle de l'exposition solaire (UV) dans la genèse tumorale n'est pas très claire.

| | Taux brut | Taux Standardisé Europe | Taux standardisé monde | Nombre de cas |
|---|---|---|---|---|
| **INCIDENCE** | | | | |
| **Homme** | 0,8 [0,6 ; 0,9] | 0,6 [0,5 ; 0,8] | 0,4 [0,4 ; 0,6] | 240 [194 ; 298] |
| **Femme** | 0,6 [0,5 ; 0,8] | 0,5 [0,4 ; 0,6] | 0,3 [0,3 ; 0,4] | 208 [164 ; 270] |

*Tableau 16: Principaux indicateurs et intervalles de confiance à 95% des mélanomes de l'uvée en France métropolitaine en 2018 (Guizard et al. 2019).*

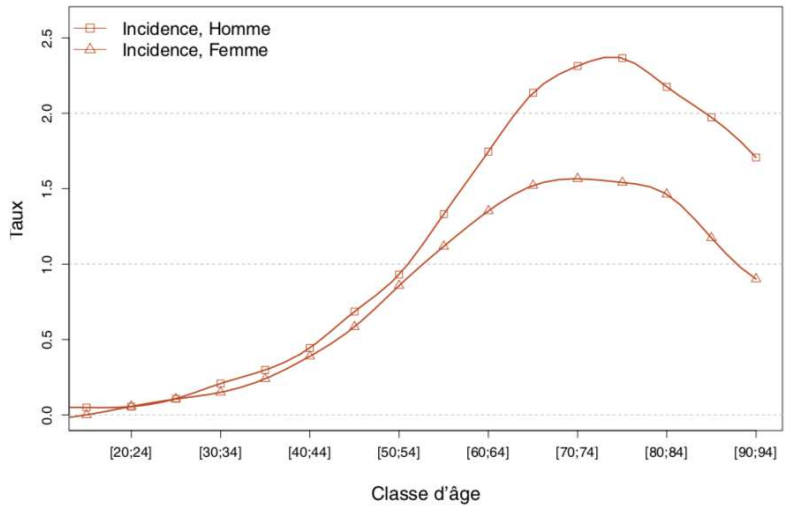



*Figure 52 : Taux d'incidence selon la classe d'âge en France en 2018 des mélanomes de l'uvée (Guizard et al. 2019).*

Environ 50 % des patients développeront des métastases dans les 6 à 12 mois après le diagnostic. Le site métastatique le plus fréquent est le foie (60.5 %), les poumons (24.4 %), la peau et /ou tissus mous (10.9 %) et l'os (8.4 %). Parmi les patients métastatiques, dans 90% le foie est atteint (Spagnolo, Caltabiano, and Queirolo 2012). La survie globale des mélanomes de l'uvée est de 69 % à 5 ans, 55 % à 15 ans et 51 % à 25 ans. Néanmoins, une fois la maladie métastatique déclarée, la survie à 2 ans baisse à 8 % avec une survie globale médiane de 13,4 mois (Krantz et al. 2017). Plus de 40 % des patients ont des métastases hépatiques lors du diagnostic initial. La survie médiane après le diagnostic de métastases hépatiques est de 4 à 5 mois (Spagnolo, Caltabiano, and Queirolo 2012). Les lésions secondaires hépatiques sont résistantes à la plupart des chimiothérapies et immunothérapies. La radiothérapie a permis de diminuer le taux d'énucléation, qui était le seul traitement proposé initialement.

## 2. Anatomopathologie, pathogénèse et stades des mélanomes

On distingue les formes fusiformes A ou B (bon pronostic), des formes épithélioïdes (mauvais pronostic) , des formes mixtes (D'Hermies 2007). La valeur pronostique de cette classification cytologique a été démontrée. La mortalité des patients avec tumeurs mixtes ou épithélioïdes à 15 ans est 3 fois plus élevée que celle des patients avec tumeurs exclusivement fusiformes (D'Hermies 2007). L'examen histologique de la tumeur doit préciser l'extension en profondeur, la densité et le type de vascularisation tumorale. L'expression du Ki67 peut être analysée pour déterminer l'activité mitotique de la tumeur ainsi que le PC-10, mais leur valeur pronostic n'est pas encore établie (Krantz et al. 2017).

Les mutations génétiques sont peu fréquentes mais très bien connues dans le mélanome de l'uvée (UM pour uveal melanoma) contrairement au mélanome cutané (Van Raamsdonk et al. 2010). Les altérations génétiques sont responsables de modifications du signal intra-cellulaire, de l'expression de récepteur de surface et de la production de ligands. Les mutations BAP1 sont reconnues comme facteur de risque. BAP1 est un gène suppresseur de tumeur localisé sur le chromosome 3. Il est muté dans 47 % des mélanomes de l'uvée (Krantz et al. 2017). La monosomie du chromosome 3 ainsi qu'un profil d'expression de gène (GEP : *gene expression profil*) de classe 2 de la tumeur sont associés à un pronostic très sombre. Des altérations du chromosome 8 accélèrent le processus métastatique en rapport

avec une sur expression du gène C-MYC (V. A. White et al. 1998). Les gènes GNAQ et GNA11 sont mutés dans plus de 80 % des mélanomes de l'uvée. Ces gènes encodent pour une protéine G, sous unité α. Van Raamsdonk et al. (2010) ont permis de rapporter la présence dans 81.6% des mélanomes primitifs de l'uvée de la mutation de GNA11 ou GNAQ et dans 90% des métastases de mélanomes de l'uvée (Van Raamsdonk et al. 2010). Ces deux gènes sont impliqués dans la voie de régulation de MAP kinase. Leur mutation entraine une activation de la voie MAPK. Mais cette seule activation ne permet pas de transformer les mélanocytes primaires en mélanocytes tumoraux. Un 2ème évènement tel que la mutation de p53 ou de CDK4 est nécessaire. Ces altérations génétiques ont été étudiées sur des lignées cellulaires de mélanomes (Griewank et al. 2012). Ces voies font l'objet de travaux de recherche pour trouver des thérapies ciblées efficaces. Les voies de Kit et MEK ont été ciblées et des travaux sur les mécanismes de résistance des thérapies ciblées sur ces voies ont été réalisées au sein du laboratoire de recherche (Calipel, Landreville, De La Fouchardière, et al. 2014).

La figure 53, issue de l'article de Yang et al. (2018) résume la voie de signalisation de G-alpha, activée par les mutations GNAQ ou GNA11. Sur cette figure on voit que les 3 voies de signalisation : MAPK, PI3K/Akt/mTOR et YAP (Yes-activated protein) peuvent être activées et la cible de thérapies, dont les taux de réponse (ORR pour taux de réponse globale et PFS pour survie sans progression) sont représentés sur cette figure.

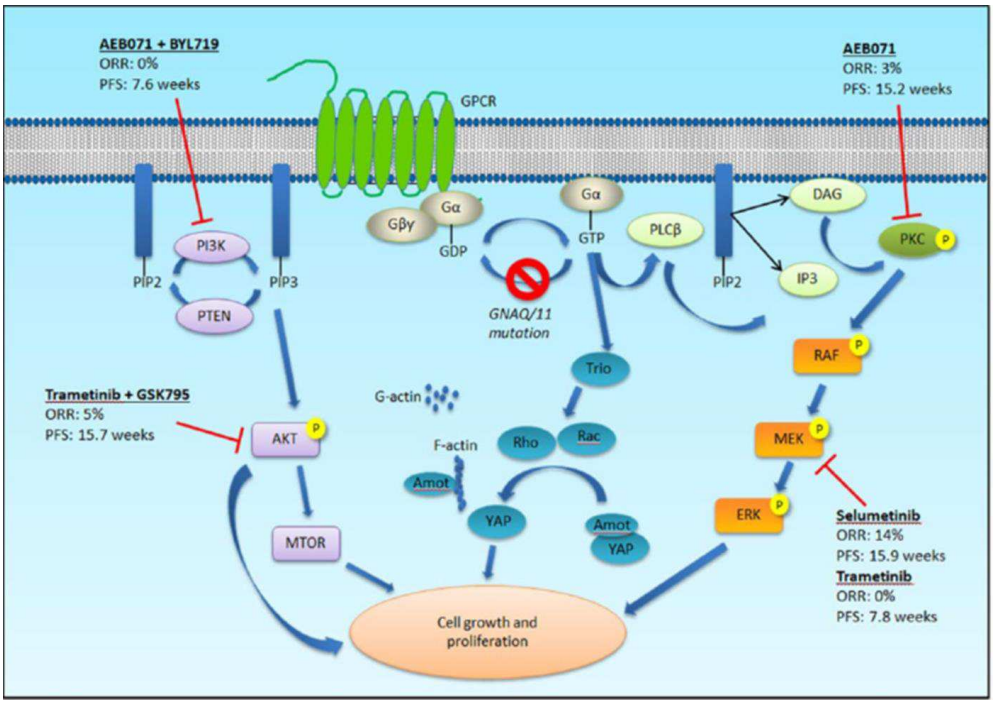



*Figure 53 : Voie de signalisation de G alpha dans le mélanome de l'uvée (Yang et al. 2018).*

La 8ème édition de la classification de l'AJCC doit être utilisée pour la stadification (Keung and Gershenwald 2018).

## 3. Traitements intra artériels des métastases hépatiques de mélanome de l'uvée (hors SIRT)

Les traitements systémiques utilisés dans le mélanome cutané ont été évalués par des essais de phase II. Aucune efficacité clinique n'a été démontrée. Parmi ces chimiothérapies on retrouve le carboplatine, le paclitaxel, la dacarbazine, la gemcitabine, la bendamustine, le temozolomide , la fotemustine et aussi l'association BOLD (bleomycine, vincristine, iomustine et dacarbazine) (Becker et al. 2002; Agop Y Bedikian et al. 2003; Kivelä et al. 2003; Schmidt-Hieber et al. 2004; Schmittel et al. 2005; O'Neill et al. 2006; Homsi et al. 2010a; Bhatia et al. 2012).

Avec les avancées de l'immunothérapie dans le mélanome, les anticorps anti-CTLA4, ipilimumab, et les anticorps anti-PD-1 ont été testés, avec des résultats mitigés (Khattak et al. 2013; Danielli et al. 2012; Maio et al. 2013; Algazi et al. 2016; Bender et al. 2017). Les inhibiteurs de MEK (selumetinib et trametinib) ainsi que l'inhibiteur de c-kit (CD117), sunitinib ont également montré des résultats décevants même sur un essai de phase 3 récent (Falchook et al. 2012; Carvajal et al. 2014, 2018). Des recommandations de prise en charge des mélanomes de l'uvée ont été publiées en 2018 (Mathis et al. 2018). Comme nous l'avons vu dans la figure 28 ci-dessus, les thérapies ciblées ont dans le mélanome de l'uvée des résultats médiocres.

En parallèle, ces différentes chimiothérapies ont été utilisées sans ou avec traitement systémique, en thérapie loco-régionale pour le traitement des métastases hépatiques.

### a. Chimioembolisation artérielle lipiodolée (cTACE)

La première série de patients traités par TACE pour métastases hépatiques de mélanomes de l'uvée (mMU) a été rapportée en 1988 (Mavligit et al. 1988). La chimiothérapie utilisée était du cisplatine et l'agent embolisant de la gélatine (polyvinyl sponge). La survie médiane globale était de 11 mois avec un taux de réponse de 46 %.

En 1995, le centre anti cancéreux MD Anderson publie une étude rétrospective sur 201 patients, traités soit par traitements systémiques, soit par CIAH ou par TACE (A Y Bedikian et al. 1995). Les auteurs concluent que c'est la TACE (réalisée au cisplatine) qui est le traitement le plus efficace des 3, avec un taux de réponse de 36 % versus moins de 1 % pour les traitements systémiques (A Y Bedikian et al. 1995). Eschelman et al. publient en 2013 une revue des traitements intra-hépatiques(Eschelman, Gonsalves, and Sato 2013). Le tableau 17 issu de cet article résume l'hétérogénéité des drogues utilisées pour la TACE.

| Study | No. of patients | Drug(s) | OS responders (mo) | OS nonresponders (mo) | Median OS (mo) |
|---|---|---|---|---|---|
| Mavligit et al[15] | 30 | Cisplatin | 14 | 6 | 11 |
| Cantore et al[22] | 8 | Carboplatin | – | – | 15 |
| Bedikian et al[13] | 44 | Cisplatin | 14.5 | 5 | 6 |
| Sato et al[16] | 14 | Cisplatin | – | – | 6.6 |
| Patel et al[17] | 24 | BCNU (100 mg) | 21.9 | 3.3 | 5.2 |
| Huppert et al[23] | 14 | Cisplatin/Carboplatin | 14.5 | 10 | 11.5 |
| Vogl et al[19] | 12 | Mitomycin C | 21 | 16.5 | 21 |
| Dayani et al[21] | 21 | Mitomycin C, cisplatin, doxorubicin | 12.7 | 3.7 | 7.6 (mean) |
| Gupta et al[24] | 125 | Mostly cisplatin | 15.8 | 6.1 | 6.7 |

Abbreviation: OS, overall survival.
Median overall survival along with the comparison of survival between responders and nonresponders.

*Tableau 17: Etudes évaluant la TACE pour le traitement des métastases hépatiques de mélanome de l'uvée utilisant une variété de chimiothérapies (Eschelman et al. 2013).*

Une association de drogues (cisplatine + doxorubicine + mitomycine C) a été évaluée (Sharma et al. 2008). Les survies moyenne et médiane étaient respectivement de 334 ± 71 jours et 271 jours. En 2012, les résultats d'une étude sur 21 patients traités par TACE à la fotemustine sont publiés (Edelhauser et al. 2012). La survie globale moyenne était de 28,7 mois, survie la plus élevée des séries de TACE dans la littérature. En revanche le BCNU n'a pas donné de résultats probant avec une survie globale à 7,1 mois (Gonsalves et al. 2015).

### b. Chimioembolisation artérielle aux billes chargées (DEB-TACE)

L'équipe de Fiorentini a évalué la DEB-TACE à l'irinotecan sur les métastases hépatiques de mélanome de l'uvée (Fiorentini et al. 2009). A la fin du suivi (moyenne de 10,6 mois), tous les patients étaient vivants. Carling et al. (2015) rapportent une survie moyenne de 14,8 mois mais avec des complications majeures nombreuses (12 sur 9 patients) dont un décès (Carling

et al. 2015). Les auteurs soulignent le fait que lors du premier scanner de contrôle 11 patients sur 13 étaient en progression. L'utilisation de billes chargées à l'irinotecan a montré une amélioration de la survie 16,5 mois vs 12,2 mois par rapport à d'autres traitements de première ligne, sans complication majeure (Valpione et al. 2015). Les auteurs insistent sur le fait que l'efficacité de la TACE dans le traitement des mMU doit être évaluées par des essais de phase 3, et éventuellement associée à une thérapie ciblée comme les inhibiteurs de MEK.

### c. Chimiothérapie intra artérielle hépatique (CIAH)

Cette technique a aussi été évaluée dans des essais de phase II. Plusieurs chimiothérapies ont été évaluées : carboplatine, cisplatine, fotémustine, melphalan, dacarbazin et nitrosourée(Cantore et al. 1994; Heusner et al. 2011; Farolfi et al. 2011; Leyvraz et al. 2014; Peters et al. 2006). La dacarbazine et le nitrosourée donnait un taux de réponse peu élevé, le melphalan d'après Heusner et al. (2011) une survie moyenne de 10 mois et la fotemustine une médiane de survie à 15 mois (Heusner et al. 2011). Une étude comparative, fotemustine intra-artérielle vs intra-veineuse n'a pas mis en évidence de bénéfice sur la survie dans le bras intra-artériel (Leyvraz et al. 2014). En revanche Farolfi et al. (2011) avaient des résultats probants avec la fotémustine ou le carboplatine avec une survie moyenne était de 21 mois (Farolfi et al. 2011). En traitement adjuvant, la fotémustine a été évaluée en injection intra-artérielle (Voelter et al. 2008). Les auteurs soulignent la toxicité majeure avec un bénéfice en termes de survie qui n'était pas significatif par rapport au groupe contrôle.

Les traitements intra-artériels des métastases de mélanome de l'uvée ont donc montré quelques résultats encourageants. Néanmoins il est difficile de savoir quelle chimiothérapie doit être utilisée et quelle méthode d'injection (TACE vs infusion) serait la plus efficace.

Il a été montré que le temps de contact en TACE ( que ce soit la TACE lipiodolée ou aux billes chargées) entre drogue et cellules tumorales était court (entre 20 et 40 minutes) (Varela et al. 2007). C'est pour cette raison que Boulin et al. (2011) ont réalisé le criblage de molécules cytotoxiques *in vitro* sur des lignées cellulaires de CHC avec un temps de contact court (30 minutes) (Mathieu Boulin et al. 2011).

# II. OBJECTIF de l'étude 5

L'objectif de cette étude est de trouver quelle(s) chimiothérapie(s) est la plus efficace *in vitro* sur des lignées cellulaires de mélanomes de l'uvée après un temps de contact court (30 minutes), qui simule les conditions d'exposition lors des traitements intra-artériels.

# III. MATERIELS et METHODES de l'étude 5

## 1. Les lignées cellulaires

L'équipe de recherche CERVOxy a déjà réalisé des travaux sur les mélanomes de l'uvée et notamment sur des lignées cellulaires humaines (OMM 1.3 et Mel 270) et murines (μ2, μ2F) (Calipel, Landreville, Rivoire, et al. 2014; Calipel et al. 2015). Ces lignées présentent la mutation *GNAQ* $^{Q209P}$. Elles sont particulièrement intéressantes car au sein de chaque couple, une lignée représente la tumeur primitive et l'autre une métastase : OMM 1.3 correspond à la métastase hépatique de mel 270 et μ2F à la métastase ganglionnaire de μ2. Ces lignées ont été fournies par le Pr F. Mouriaux (CHU Caen). Elles provenaient de laboratoires différents : pour MEL270 de Martine Jager (Leiden University Medical Center, Leiden, The Nedertlands) et pour μ2 de Loris G. Baggetto (Lyon, France). Toutes les lignées cellulaires sont cultivées en milieu RPMI (Roswell Park Memorial Institute medium) complété avec 5 % de sérum de veau fœtal (SVF), 1 % de pénicilline/streptomycine et 2 mM de L-glutamine. Les cellules sont maintenues en culture à 37 °C dans une atmosphère humide contenant 95 % d'$O_2$ et 5 % de $CO_2$. Les lignées ont été testées afin d'exclure une contamination en mycoplasme. Toutes les manipulations ont été réalisées sous hotte à flux laminaire (PSM2).

Les lignées ont été photographiées au microscope inversé (Primo Vert, Zeiss, Gottingen, Allemagne) (figure 54).

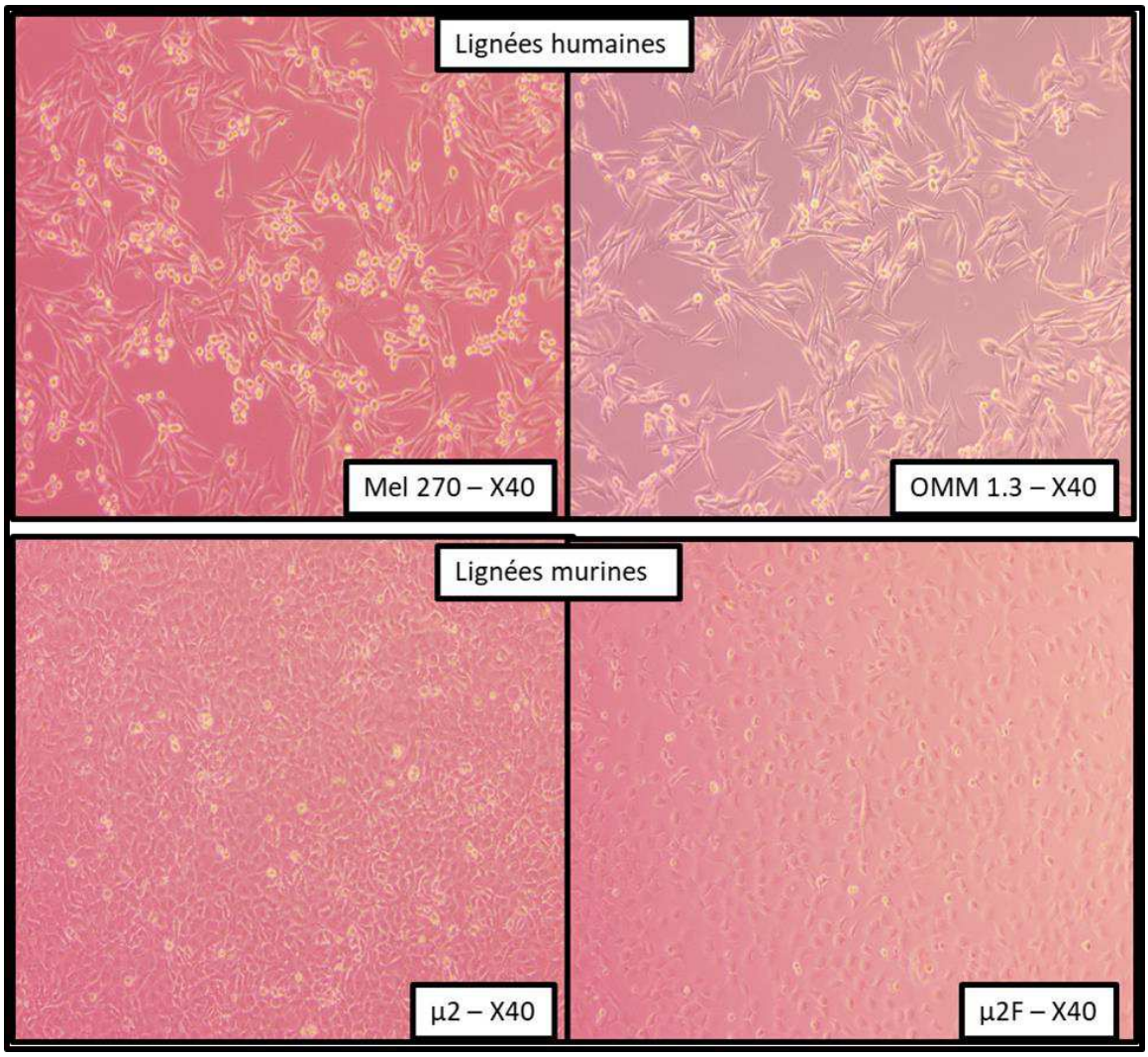



*Figure 54: Photographies des lignées cellulaires de mélanome de l'uvée utilisées utlisée pour l'étude du screening de chimiothérapies. Photographie prise au microscope inversé (Primo Vert, Zeiss, Gottingen, Allemagne ; grossissement X40).*

## 2. Les chimiothérapies

Le choix des chimiothérapies est basé sur l'analyse de la littérature (cf chapitre introduction). Nous avons sélectionné les drogues utilisées par voie systémique ainsi que celles utilisées en chimio-embolisation ou en infusion intra-artérielles. Les chimiothérapies étaient directement préparées sous forme de solution en seringue stérile par l'Unité de Préparation des Cytotoxiques UPC du CHU du CAEN, dont la quantité correspondait aux besoins pour une série de tests. Le tableau 18 résume les caractéristiques des drogues utilisées fournies par l'UPC.

| Famille pharmaceutique | Sous-catégorie | DCI | Nom de marque® | C max utilisée pour l'étude | Concentration commerciale | Forme | | Fournisseur |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Modificateur de l'ADN | Anthracyclines | Doxorubicine | DOXORUBICINE | 1 mg/ml | 200 mg/100 ml | solution | pharmaceutique | TEVA SANTE France |
| Agent alkylant | Antibiotique alkylant | Mitomycine C | AMETYCINE® | 1 mg/ml | 10 mg | poudre | pharmaceutique | KYOWA KIRIN PHARMA France |
| | Analogue de amino-5 imidazole-4 | Dacarbazine | DACARBAZINE | 10 mg/ml | 500 mg | poudre | pharmaceutique | MEDA France |
| | Nitroso-urées | Carmustine | BiCNU® | 3,3 mg/ml | 100 mg | poudre | pharmaceutique | CSP France |
| | | Fotémustine | MUPHORAN | 4 mg/ml | 208 mg | poudre | pharmaceutique | SERVIER France |
| | Moutardes azotées | Melphalan | ALKERAN® | 5 mg/ml | 50 mg | poudre | pharmaceutique | ASPEN DURBAN Afrique du Sud |
| | Dérivés du platine | Cisplatine | CISPLATINE | 1 mg/ml | 100 mg/100 ml | solution | pharmaceutique | ACCORD HEALTHCARE France SAS |
| Poison du fuseau | Taxane | Paclitaxel | PACLITAXEL | 6 mg/ml | 300 mg/50 ml | solution | pharmaceutique | HOSPIRA France SAS |

*Tableau 18 : Chimiothérapies utilisées pour le screening in-vitro sur les 4 lignées cellulaires de mélanome de l'uvée.*

## 3. La méthode de screening

Des plaques 96 puits ont été utilisées pour le screening. Une plaque correspondait à une lignée cellulaire et 2 drogues étaient testées sur une même plaque. Chaque puit contenait le même nombre de cellules. Le choix du nombre de cellules par puits a été défini par une expérimentation préliminaire qui a consisté en la mise en plaque de 2 500 - 5 000 - 10 000 et 20 000 cellules de chaque lignée par puits. Pour chaque condition, les puits de 2 colonnes ont été ensemencées soit 16 puits. Les plaques ont été cultivées jusqu'à confluence et observées au microscope à 24, 48 et 72 heures. La densité cellulaire d'ensemencement choisie a été celle qui permettait un comptage cellulaire 72 heures après l'exposition aux agents de chimiothérapies, sans que les cellules non traitées ne soient à confluence à ce même temps d'étude. La densité d'ensemencement choisie a été de 10 000 cellules par puits pour toutes les lignées. Une fois à confluence dans les boîtes de culture (T25), les cellules étaient décollées par action de la trypsine 0,05%-EDTA 0.02% (Ethylène Diamine Tétra Acétique) à 37°C. L'activité de la trypsine était ensuite inhibée par ajout de milieu de culture contenant du SVF. Les cellules sont comptées (cellules de Malassez) et mises en plaque avec la densité cellulaire choisie ci -dessus.

A J0, 4 plaques 96 puits étaient ainsi préparées (1 plaque par lignée) afin de pouvoir tester 2 chimiothérapies par séance. Les plaques étaient ensuite remises en culture dans l'incubateur pendant 24 heures.

A J1, les chimiothérapies étaient récupérées à l'UPC du CHU (voir tableau 19 ci-dessus). Dans le même temps, les cellules en puits étaient passées à un milieu de culture appauvri en SVF (0,5%) pour ne pas interférer avec les drogues. Le SVF est susceptible en effet d'inhiber l'action de certaines molécules (par mécanisme de chélation) notamment avec les protéines. Les drogues à la concentration maximale (C Max) étaient déposées dans la première colonne de chaque plaque. Ensuite des dilutions successives ont été réalisées (figure 55). La dernière colonne était laissée sans chimiothérapie (contrôle). Une première série de tests a été réalisée avec des dilutions successives au tiers. Au vu des résultats préliminaires, il nous a semblé préférable de diluer de moitié les drogues, afin de mieux analyser l'effet sur les concentrations les plus élevées.

Deux drogues étaient déposées par plaque. Ainsi, pour chaque drogue, 4 réplicats (n=4) ont été réalisés. Les drogues étaient laissées en contact avec les cellules 30 minutes à

37 °C (dans l'incubateur) avant d'être rincées 2 ou 3 fois en cas de viscosité élevée avec du RPMI à 0,5 % de SVF. Les plaques étaient ensuite replacées dans l'incubateur pour 72 h en RPMI 0,5%. Chaque expérience a été répétée 3 fois (N=3), sauf pour la fotémustine (N=1). La période totale pour la réalisation des tests a été de 11 mois.

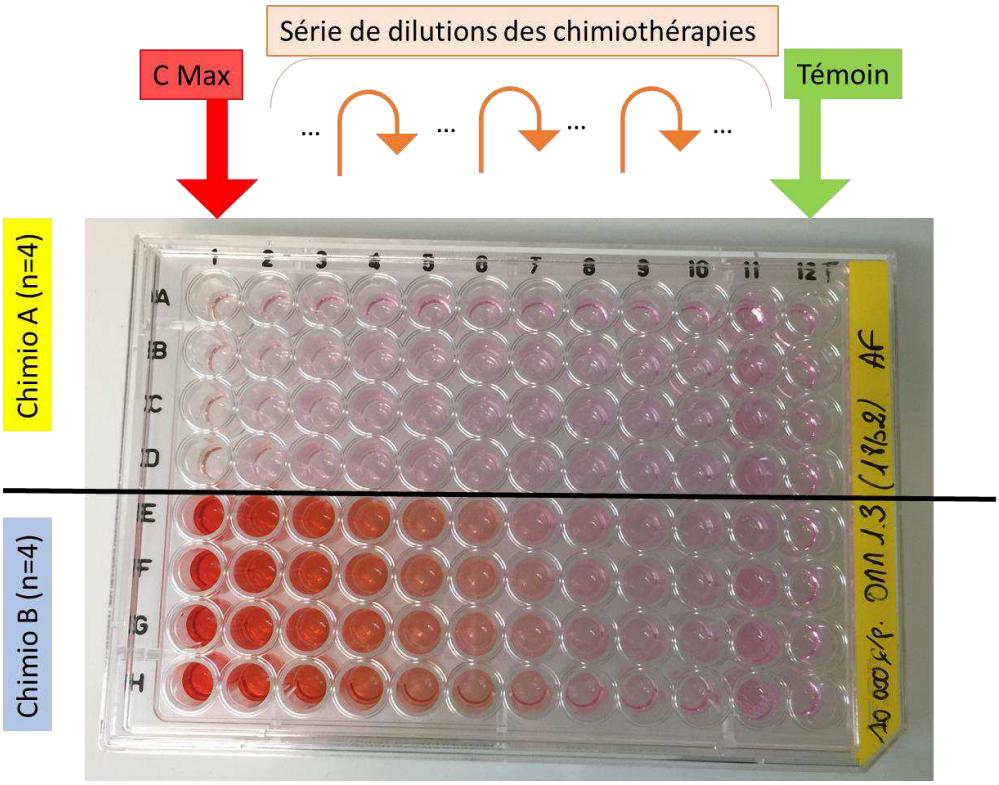



*Figure 55 : Exemple de plaque 96 puits ensemencée avec une lignée cellulaire (OMM 1.5) et mise en contact avec 2 chimiothérapies (A et B) à des concentrations décroissantes pendant 30 minutes. La colonne 12 correspond au témoin sans drogue.*

## 4. Evaluation de la viabilité cellulaire

A J4 (72 heures après une exposition de 30 minutes avec les drogues, rincées), la survie cellulaire a été évaluée par technique colorimétrique utilisant le réactif WST-1 (Sigma-Aldrich, Schnelldorf, Allemagne) à l'aide d'un spectrophotomètre en. Dix µl de réactif WST-1 était ajouté à chaque puits. Après 2 heures d'incubation à 37°C, les plaques étaient agitées puis la DO était lue à 440 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre comme recommandé par le fabricant (figure 56).

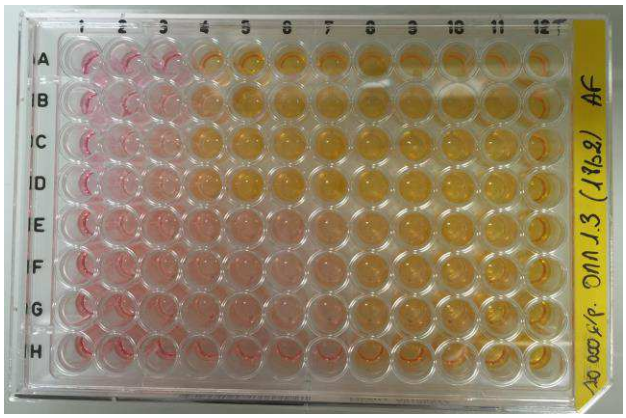


*Figure 56 : Plaque 96 puits obtenu après incubation de 2 heures du réactif WST-1, avant la lecture dans le spectrophotomètre.*

La figure 57 récapitule les différents temps du screening

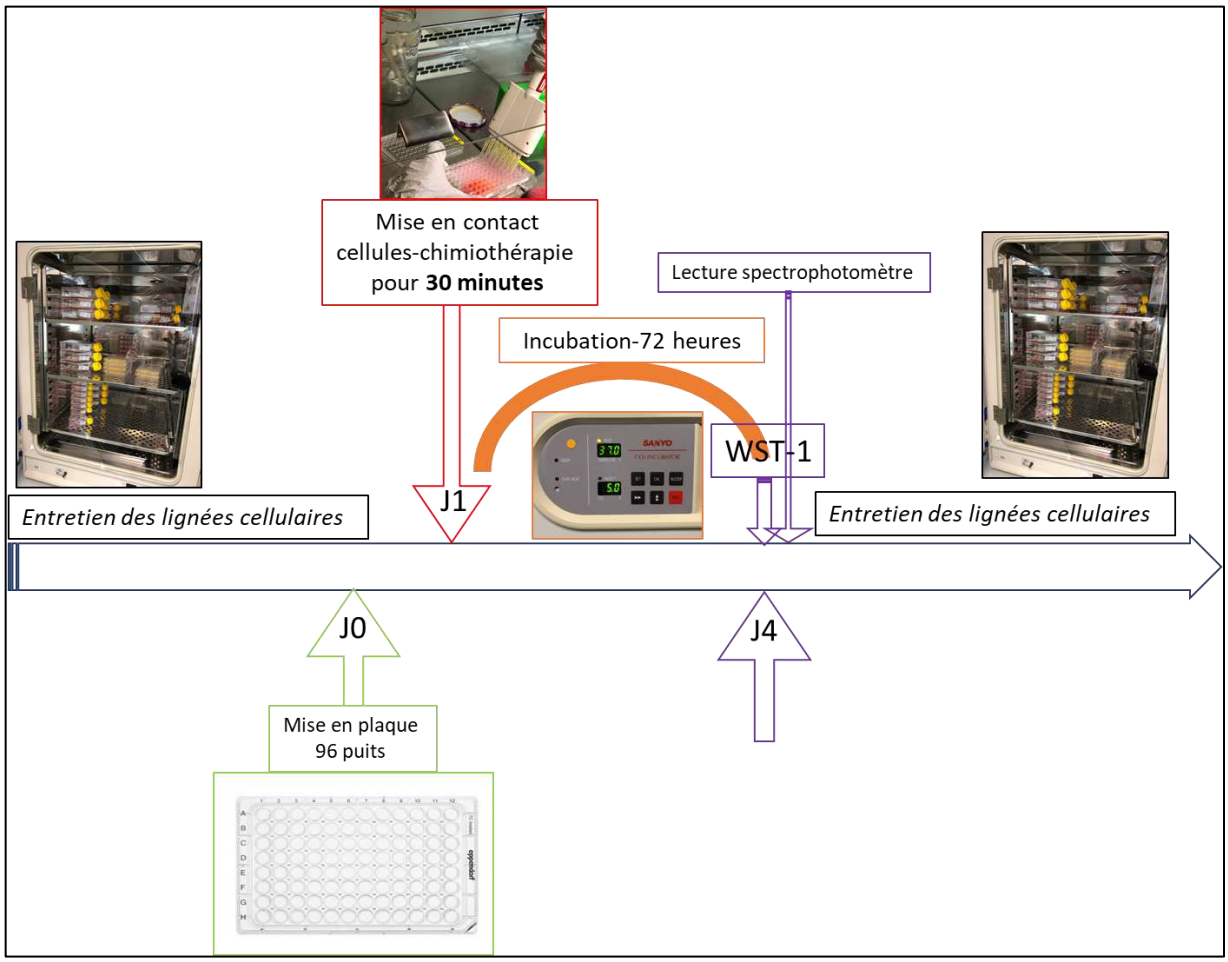



*Figure 57 : Schéma résumant la chronologie de la méthode de screening.*

Les densités optiques (DO) obtenues étaient ordonnées par lignée et par chimiothérapie.

## 5. Analyse des résultats sur la viabilité cellulaire

Une analyse par plaque a permis d'écarter un effet bord. En effet, les valeurs des lignes et colonnes situées sur les bords des plaques n'étaient pas différentes des valeurs de DO obtenues sur des puits centraux. Toutes les DO ont été normalisées par rapport au contrôle. Pour chaque répétition d'expérience (N), la moyenne des 4 réplicats a été calculée. Ensuite la moyenne obtenue pour chaque « N » a été calculée ainsi que leur écart type. Ces moyennes et ET des DO normalisées ont été représentés sur des graphiques (courbes de viabilité) pour chaque molécule (8). Les écarts types ne sont représentés que par leur valeur positive.

Les lignées murines (µ2, µ2F) sont représentées en couleur verte (vert clair pour les primitives et vert foncé pour les métastases). Les lignées humaines (mel 270 et OMM 1.3) sont représentées en bleu (bleu clair pour les primitives et bleu foncé pour les métastases). Une ligne rouge horizontale appliquée sur chaque graphe indique 10 % de viabilité cellulaire (90 % de mort cellulaire). Sur les graphiques représentant les courbes de viabilité, nous avons positionné une flèche verticale pour les lignées humaines (bleu clair pour mel 270 et bleu foncé pour OMM 1.3) en projection de la concentration de chimiothérapie à partir de laquelle la viabilité cellulaire passait de moins 10 % à plus de 10 %. Dans le cas où la viabilité cellulaire observée n'était jamais en dessous des 10 % (ligne rouge horizontale), aucune flèche n'était positionnée.

L'analyse spectrophotométrique est une analyse indirecte de la viabilité cellulaire. Parmi les chimiothérapies utilisées, certaines étaient colorées. De plus, le RPMI est de couleur rouge. Nous avons donc calculé les DO des drogues pour chaque concentration (C Max et les dilutions avec le RPMI) ainsi que les DO du RPMI seul pour les contrôles, afin d'évaluer le bruit de fond et permettre le calcul suivant. Seules les DO pour la C Max de la doxorubicine et les 2 premières dilutions ont été modifiées ainsi que les DO pour la C Max du Paclitaxel. La DO du RPMI seul était de 0,05.

Les données dose-réponse ont été représentées selon un modèle de régression non linéaire à 4 paramètres, adapté selon l'équation de Hill (Hill 1910)

$$\frac{DO(c) - DO_{baseline}(c)}{DO(0)} = \alpha + \frac{1-\beta}{1+\frac{c^{\delta}}{\gamma}}$$

Dans cette équation c correspond à la concentration de la drogue, DO $(c)$ à la densité optique (DO) à la concentration de la drogue $(c)$ ; $DO_{baseline}(c)$ correspond à la DO du RPMI et de la drogue seule et $(\alpha, \beta, \gamma, \delta)$ aux 4 paramètres estimés.
Le logiciel de traitement de données, Matlab (MathWorks®; R2018b; Natick; Etats-Unis) a permis de réaliser les courbes modélisées et d'extraire les $IC_{50}$ et $IC_{90}$ qui correspondent à la concentration de drogue nécessaire pour obtenir 50 et 90% de mort cellulaire respectivement.

Ensuite, dans le but de pouvoir comparer les drogues entre elles, nous avons calculé les index de cytotoxicité des drogues pour les IC90, selon la définition de Boulin et al.(Mathieu Boulin et al. 2011). Cet index a été appelé $CyI_{90}$ et correspond au rapport de la C Max d'une drogue sur son $IC_{90}$ moyen soit : $CyI_{90}$ = C Max / $IC_{90}$. Comme Boulin et al. l'explique, un $CyI_{90}$ de 1000 indique que la drogue tue 90% des cellules même si elle est diluée au 1 :1000.

Pour chaque lignée cellulaire, la moyenne des $CyI_{90}$ était testée avec un test ANOVA à un facteur. Dans le cas de variance significative, un test de comparaisons multiples (post-hoc) était réalisé (HSD Tukey). Une valeur de $p<0,05$ était considérée comme significative. Des histogrammes sont utilisés pour représenter, pour chaque lignée, en fonction de la chimiothérapie les valeurs de $CyI_{90}$. Un astérisque (*) est positionné sur les graphiques entre les conditions significativement différentes. On parlera de tendance lorsque p est < à 0,15. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel Statistica (TIBCO® Software; 13.4.0.14; Palo Alto; Etats-Unis). Une analyse a été effectuée sur le regroupement des lignées murines (µ2 et µ2F), des lignées humaines (mel 270 et OMM 1.3) ainsi que les 4 lignées.

## IV. RESULTATS de l'étude 5

Ci-après sont représentées les courbes de viabilité en fonction des chimiothérapies (figures 58 à 65).

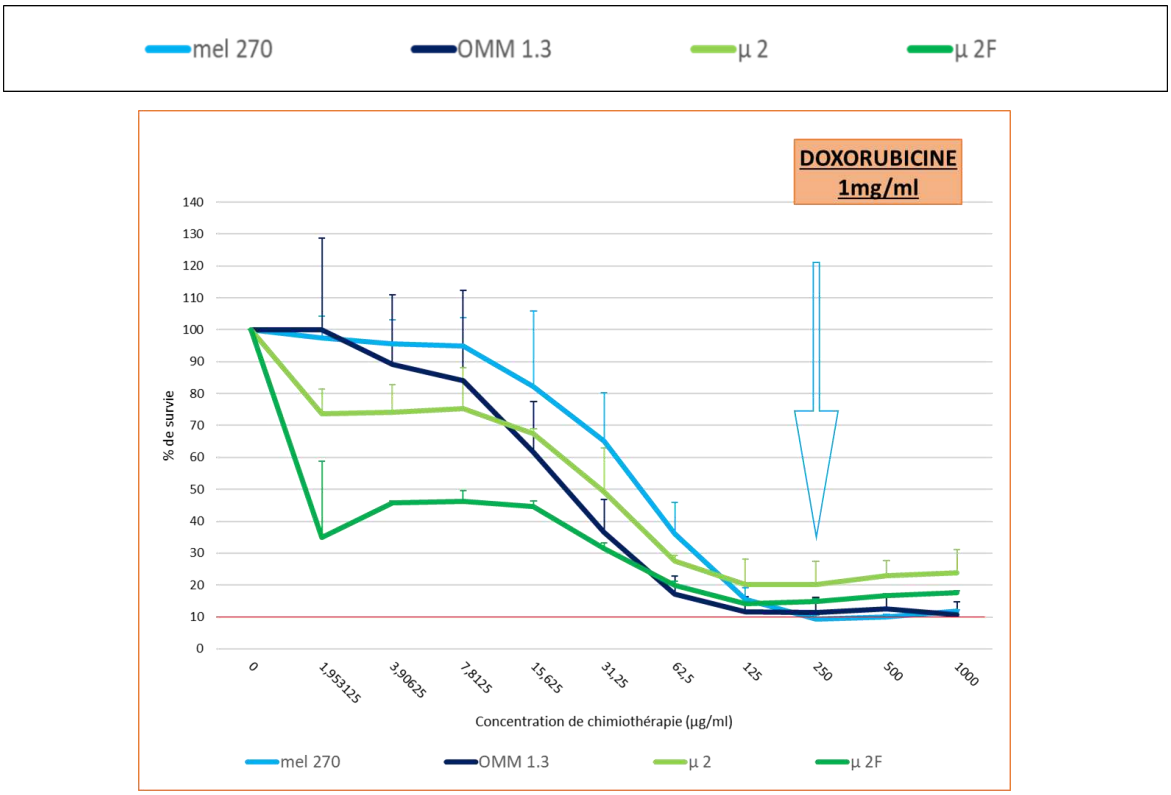



*Figure 58 : Courbe de viabilité des 4 lignées de mélanome de l'uvée, mises en contact 30 minutes avec la doxorubicine à J1. Analyse de la viabilité à J4. La ligne horizontale indique 10 % de viabilité cellulaire. La flèche bleu clair indique la concentration de doxorubicine à partir de laquelle la survie des mel 270 passe de moins 10 % à plus de 10 %. Ici, la viabilité des OMM 1.3 n'est jamais en dessous de 10 % (absence de flèche bleu foncé).*

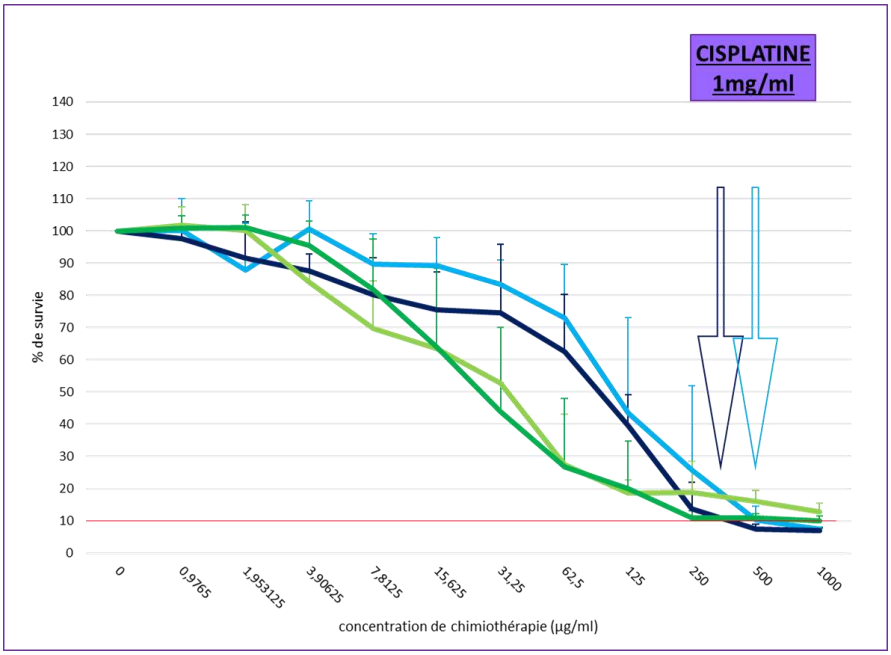



*Figure 59 : Courbe de viabilité des 4 lignées de mélanome de l'uvée, mises en contact 30 minutes avec le cisplatine. à J1. Analyse de la viabilité à J4. La ligne horizontale indique 10 % de viabilité cellulaire. Les flèches bleues indiquent la concentration de cisplatine à partir de laquelle la survie des mel 270 (bleu clair) et OMM 1.3 (bleu foncé) passe de moins 10 % à plus de 10 %.*

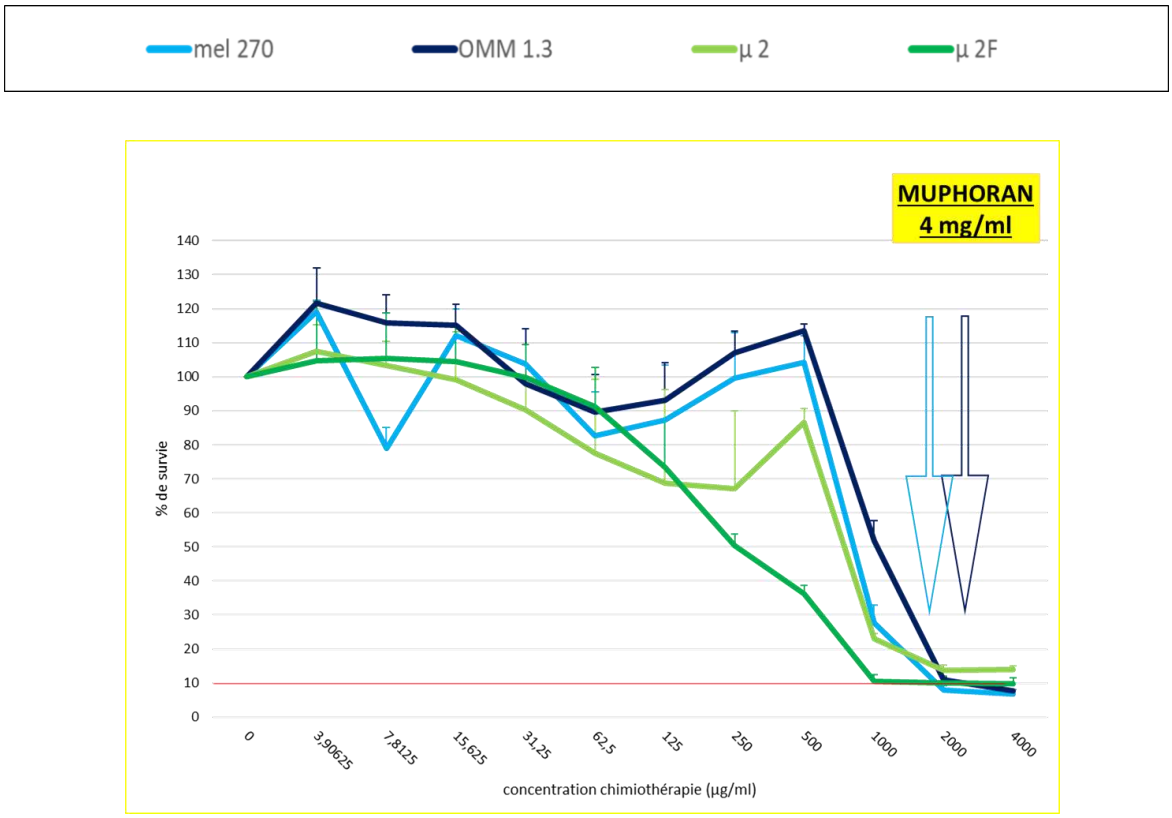



*Figure 60 : Courbe de viabilité des 4 lignées de mélanome de l'uvée, mises en contact 30 minutes avec le muphoran à J1. Analyse de la viabilité à J4. La ligne horizontale indique 10 % de viabilité cellulaire. Les flèches bleues indiquent la concentration de muphoran à partir de laquelle la survie des mel 270 (bleu clair) et OMM 1.3 (bleu foncé) passe de moins 10 % à plus de 10 %.*

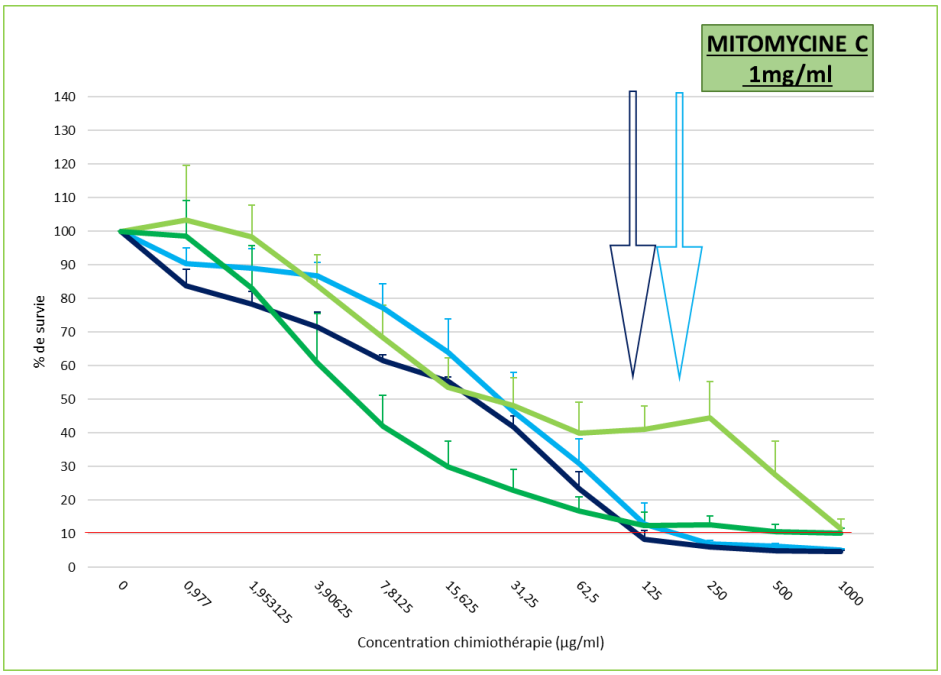



*Figure 61 : Courbe de viabilité des 4 lignées de mélanome de l'uvée, mises en contact 30 minutes avec la mitomycine C à J1. Analyse de la viabilité à J4. La ligne horizontale indique 10 % de viabilité cellulaire. Les flèches bleues indiquent la concentration de mitomycine C à partir de laquelle la survie des mel 270 (bleu clair) et OMM 1.3 (bleu foncé) passe de moins 10 % à plus de 10 %.*

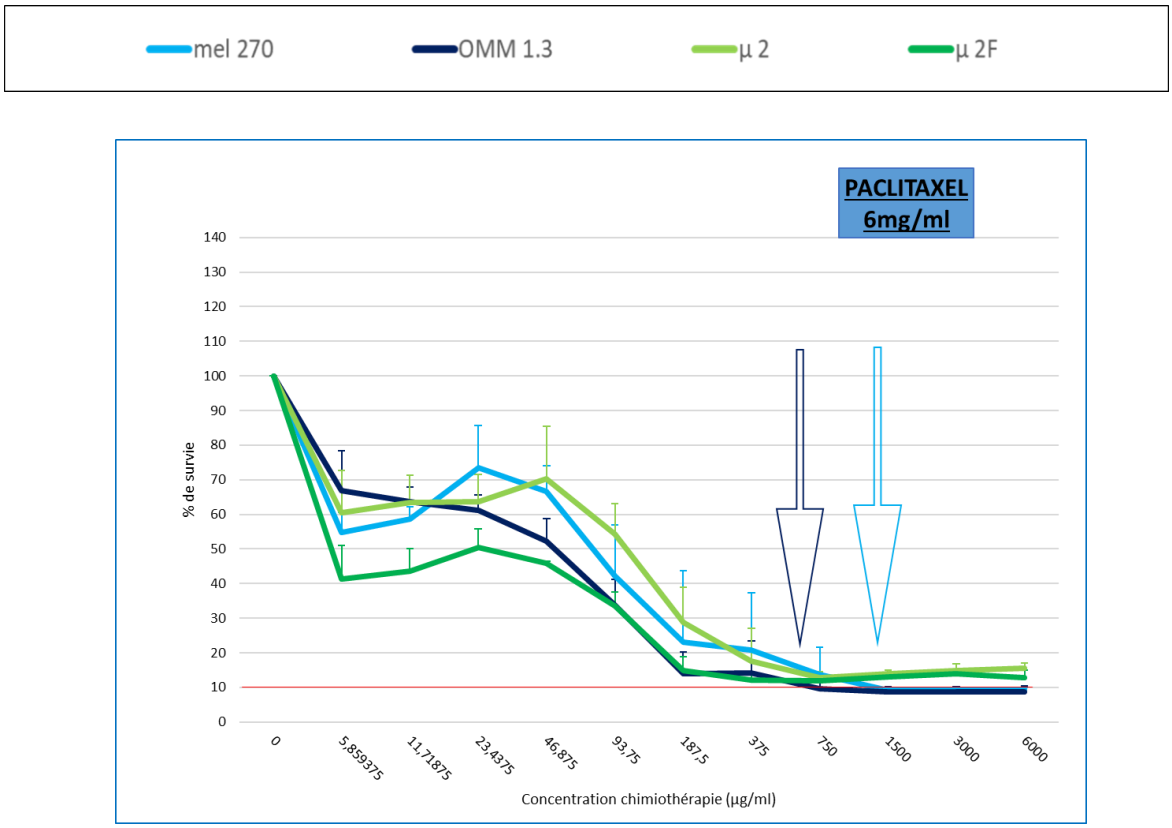



*Figure 62 : Courbe de viabilité des 4 lignées de mélanome de l'uvée, mises en contact 30 minutes avec le paclitaxel.à J1. Analyse de la viabilité à J4. La ligne horizontale indique 10 % de viabilité cellulaire. Les flèches bleues indiquent la concentration de paclitaxel à partir de laquelle la survie des mel 270 (bleu clair) et OMM 1.3 (bleu foncé) passe de moins 10 % à plus de 10 %.*

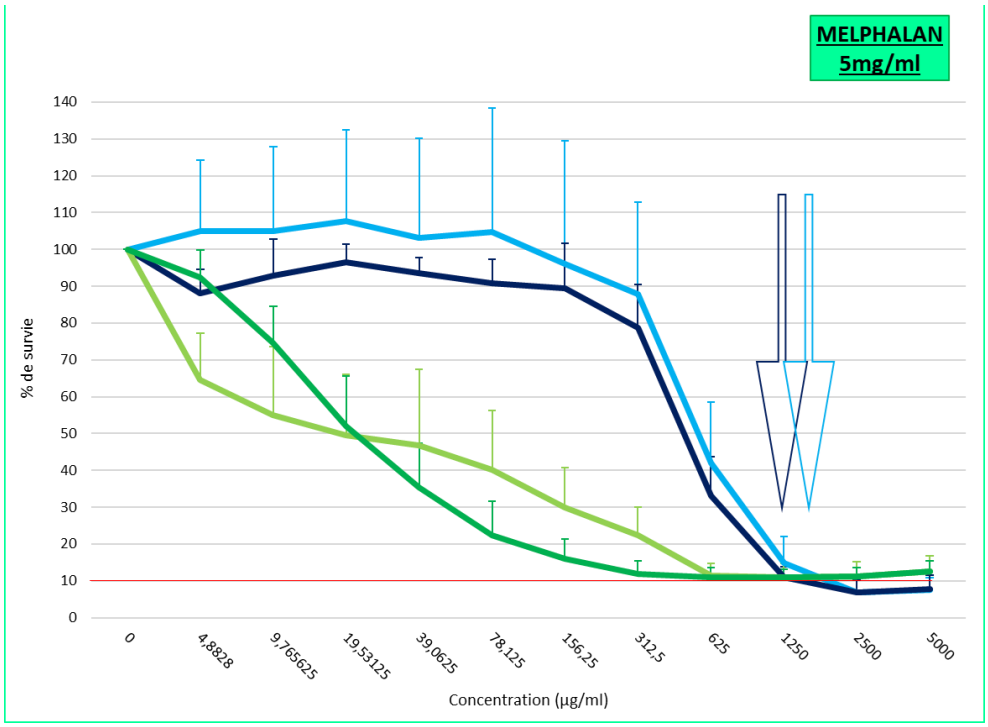



*Figure 63 : Courbe de viabilité des 4 lignées de mélanome de l'uvée, mises en contact 30 minutes avec le melphalan.à J1. Analyse de la viabilité à J4. La ligne horizontale indique 10 % de viabilité cellulaire. Les flèches bleues indiquent la concentration de melphalan à partir de laquelle la survie des mel 270 (bleu clair) et OMM 1.3 (bleu foncé) passe de moins 10 % à plus de 10 %.*

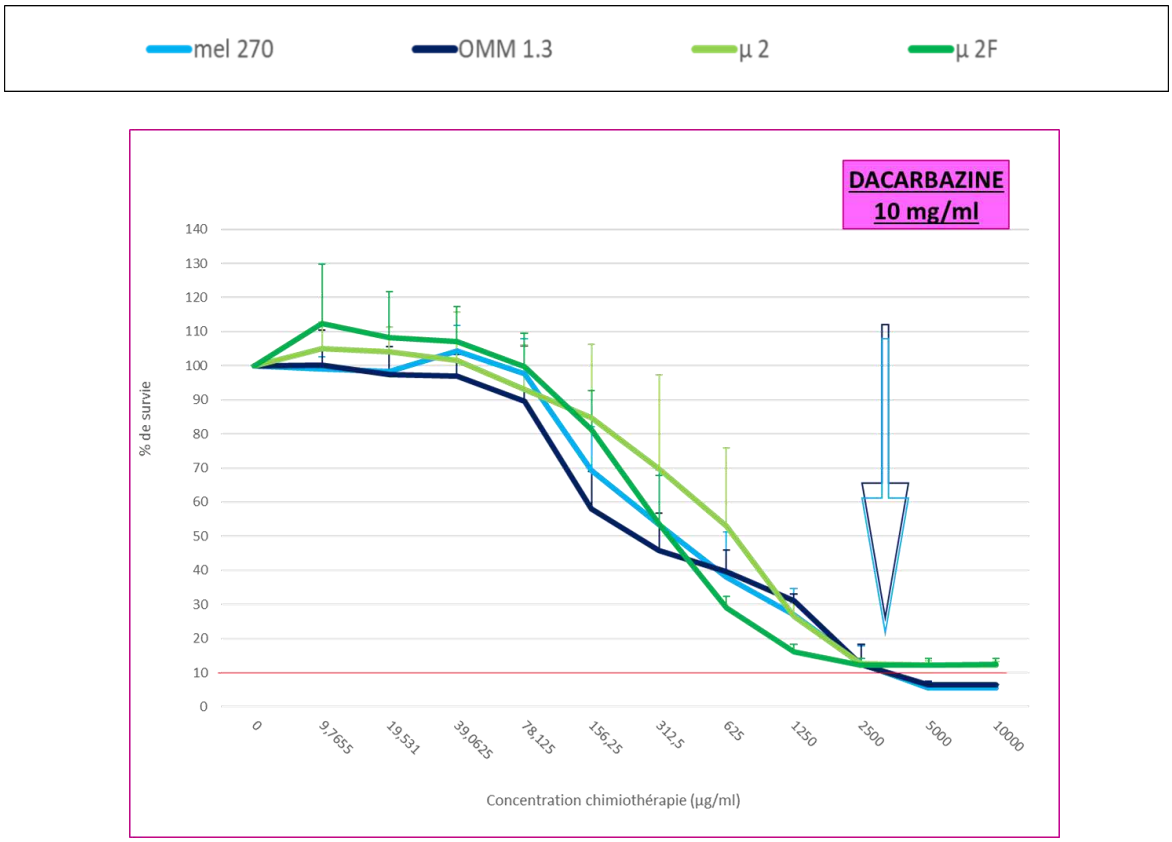



*Figure 64 : Courbe de viabilité des 4 lignées de mélanome de l'uvée, mises en contact 30 minutes avec la dacarbazine.à J1. Analyse de la viabilité à J4. La ligne horizontale indique 10 % de viabilité cellulaire. Les flèches bleues indiquent la concentration de dacarbazine à partir de laquelle la survie des mel 270 (bleu clair) et OMM 1.3 (bleu foncé) passe de moins 10 % à plus de 10 %.*

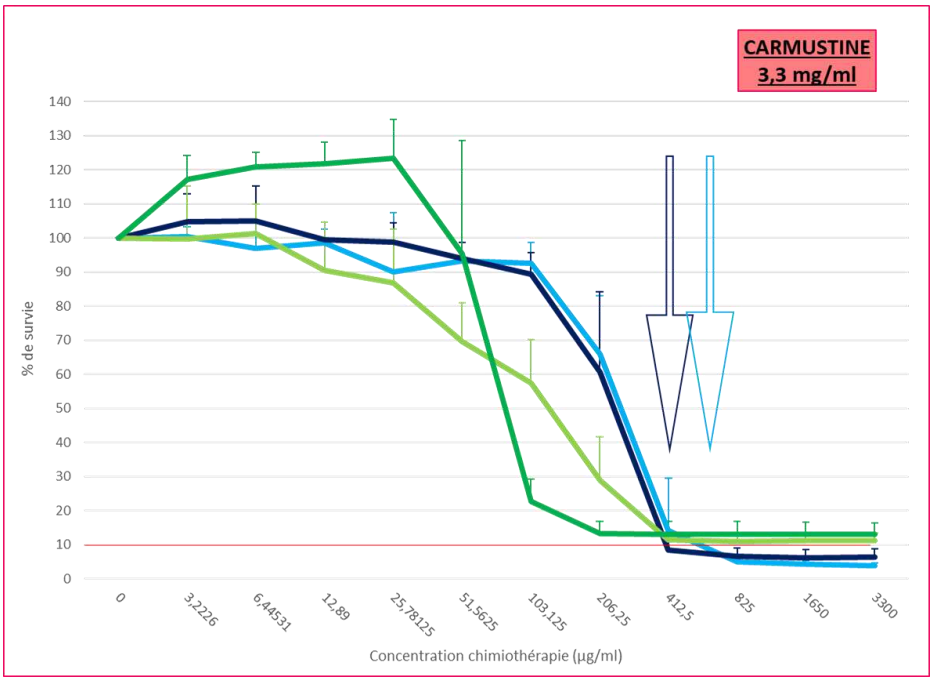



*Figure 65 : Courbe de viabilité des 4 lignées de mélanome de l'uvée, mises en contact 30 minutes avec la carmustine.à J1. Analyse de la viabilité à J4. La ligne horizontale indique 10 % de viabilité cellulaire. Les flèches bleues indiquent la concentration de carmustine à partir de laquelle la survie des mel 270 (bleu clair) et OMM 1.3 (bleu foncé) passe de moins 10 % à plus de 10 %.*

*Comparaison entre les lignées cellulaires murines (µ2, µ2F) et humaines (mel 270, OMM 1.3)*

Que ce soit les lignées murines ou humaines, elles répondent selon le même profil à toutes les chimiothérapies sauf le melphalan. Le melphalan est plus efficace sur les lignées murines que les lignées humaines. L'effet dose est très marqué pour mel 270 et OMM 1.3 après 2 dilutions de moitié (1,25 mg/ml vs Cmax à 5 mg/ml). En revanche la pente est beaucoup plus douce pour µ2 et µ2F.

On peut également noter une différence au sein des lignées murines pour la doxorubicine et la carmustine. La doxorubicine aux dilutions les plus élevées apparait plus efficace sur µ2F que sur les 3 autres lignées, néanmoins avec un écart type non négligeable. A l'inverse pour la carmustine µ2F semble très résistante à partir de la 5ème dilution avec un effet-dose très prononcé (inflexion de la courbe).

*Comparaison entre les lignées primitives (mel 270 et µ2) et les métastatiques (OMM1.3 et µ2F)*

Les profils de courbe des lignées humaines entre primitives et métastatiques suivent les mêmes évolutions. Seule µ2F est plus sensible que µ2 pour des doses très faibles de doxorubicine, et à l'inverse elle est plus résistante que µ2 pour des doses très faibles de carmustine. Pour les 6 autres chimiothérapies les lignées murines suivent le même profil.

*Comparaison des profils de courbe de survie en fonction des différentes chimiothérapies*

Les chimiothérapies ayant un effet-dose très marqué (inflexion de la courbe) sont : le muphoran et la carmustine pour les 4 lignées et le melphalan pour les lignées humaines uniquement. En revanche, il n'y a pas d'effet dose pour le cisplatine, le paclitaxel, la dacarbazine, la mitomycine C ou la doxorubicine. Pour toutes les drogues, on observe aux concentrations maximales 90% de mort cellulaire sur les lignées humaines en dehors de la doxorubicine sur OMM 1.3 où la courbe affleure les 10% de survie pour les concentrations les plus élevées. Si l'on regarde les concentrations (niveau de dilution) capable de maintenir 90 % de mort cellulaire (10 % de survie), pour mel 270, seule une dilution le permet pour le cisplatine, le muphoran, le melphalan, la dacarbazine. Pour la doxorubicine, la mitomycine C,

le paclitaxel et la carmustine, après 2 dilutions, on observe encore 90% de mort cellulaire. Pour les OMM1.3, la doxorubicine approche les 90% de mort cellulaire sans les atteindre. Seule une dilution de cisplatine, de muphoran et de dacarbazine permet 90 % de mort cellulaire. Le melphalan, après 2 dilutions entraine encore 90 % de mort cellulaire, en revanche on observe encore cette efficacité après 3 dilutions pour la mitomycine C, le paclitaxel ainsi que la carmustine. Finalement, en gardant la doxorubicine qui s'approche vraiment des 10 % de sruvie sur OMM 1.3 jusqu'à 3 dilutions 4 chimiothérapies semblent les plus efficaces sur les concentrations les plus élevées jusqu'à 2 voire 3 dilutions : la doxorubicine mais surtout la mitomycine C, le paclitaxel et la carmustine. La carmustine a un effet dose marquée et donc la limite de la dose efficace est nette. Pour ces 3 chimiothérapies intéressons-nous aux concentrations permettant 50 % de mort cellulaire. Sur mel 270, il faut au maximum 4 dilutions de doxorubicine, 5 de mitomycine c et 6 de paclitaxel. Pour OMM 1.3, il faut au maximum 5 dilutions de doxorubicine, 5 de mitomycine C et 6 de paclitaxel. Pour la concentration la plus faible, le paclitaxel permet encore 30 % de mort cellulaire (70 % de survie maximum) alors que pour la mitomycine C on observe entre 80 et 100 % de survie. Pour la doxorubicine la concentration la plus faible ne permet quasiment pas de mort cellulaire (près de 100 % de survie). Au global, le paclitaxel a un effet cytotoxique plus marqué et même à faible concentration. On n'observe pas de plateau de survie pour cette chimiothérapie.

Ci-après, les valeurs des IC50, IC90 ainsi que des $CyI_{90}$ sont détaillées dans les tableaux 19 à 21.

| IC50 | µ2 | | | µ2F | | | mel 270 | | | OMM 1.3 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| doxorubicine | 8,45139817 | ± | 3,10892948 | 1,57378509 | ± | 0,52631462 | 29,2301921 | ± | 20,69983922 | 14,47393841 | ± | 8,74337876 |
| cisplatine | 20,4190717 | ± | 4,73406959 | 10,2462438 | ± | 4,08296442 | 115,119979 | ± | 56,41865196 | 60,58171115 | ± | 9,672987874 |
| muphoran | 267,942579 | ± | na | 228,768702 | ± | | 785,174559 | ± | | 1068,389447 | ± | |
| mitomycine C | 24,7439898 | ± | 15,6287126 | 4,71923105 | ± | 2,68546058 | 22,9664724 | ± | 8,21281006 | 11,89954338 | ± | 0,911716061 |
| paclitaxel | 93,697142 | ± | 33,4470272 | 80,1450914 | ± | 16,7886902 | 48,8874999 | ± | 21,10053635 | 46,65707895 | ± | 23,62195378 |
| melphalan | 26,5525074 | ± | 25,3978996 | 18,3605289 | ± | 7,99702327 | 647,398745 | ± | 217,852075 | 400,6260677 | ± | 73,99428288 |
| dacarbazine | 524,226447 | ± | 324,133356 | 309,879179 | ± | 93,3547352 | 602,887411 | ± | 523,3668721 | 286,3457362 | ± | 94,47554877 |
| carmustine | 99,4695741 | ± | 24,5873606 | 85,242306 | ± | 14,8240082 | 198,588681 | ± | 46,99158555 | 177,7410662 | ± | 19,76637403 |

*Tableau 19: Valeurs des IC50 (moyenne et ET) pour les 8 chimiothérapies testées (doxorubicine, cisplatine, muphoran, mitomycine C, paclitaxel, melphalan, dacarbazine, carmustine) en fonction des lignées cellulaires de mélanomes de l'uvée (µ2, µ2F, mel270 et OMM1.3).*

| IC90 | µ2 | | | µ2F | | | mel 270 | | | OMM 1.3 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| doxorubicine | 99,6788333 | ± | 24,5708276 | 60,9078244 | ± | 25,1419776 | 263,046167 | ± | 186,2669775 | 130,9916919 | ± | 77,48082837 |
| cisplatine | 212,469251 | ± | 35,0457883 | 92,2130219 | ± | 36,7503278 | 1036,12897 | ± | 507,8654351 | 545,2072261 | ± | 87,05257518 |
| muphoran | 2411,44739 | ± | na | 2058,88773 | ± | | 7067,86585 | ± | | 9615,362168 | ± | |
| mitomycine C | 2177,92731 | ± | na | 44,7028017 | ± | 21,4522378 | 206,697622 | ± | 73,90026425 | 169,9215714 | ± | 56,05416091 |
| paclitaxel | 204,232983 | ± | 48,1240359 | 141,756669 | ± | 42,5954915 | 559,662601 | ± | 744,0164878 | 313,6498887 | ± | 193,5089103 |
| melphalan | 788,487835 | ± | 587,774185 | 169,028252 | ± | 65,4271865 | 5827,17962 | ± | 1960,867522 | 3605,759437 | ± | 666,0153478 |
| dacarbazine | 4718,1033 | ± | 2917,42104 | 2789,15044 | ± | 840,264265 | 2647,3989 | ± | 417,5310299 | 2872,220769 | ± | 945,3309719 |
| carmustine | 895,248769 | ± | 221,291833 | 593,348824 | ± | 427,877101 | 1787,25572 | ± | 423,0741669 | 1599,709984 | ± | 177,9018577 |

*Tableau 20 : Valeurs des IC90 (moyenne et ET) pour les 8 chimiothérapies testées (doxorubicine, cisplatine, muphoran, mitomycine C, paclitaxel, melphalan, dacarbazine, carmustine) en fonction des lignées cellulaires de mélanomes de l'uvée (µ2, µ2F, mel270 et OMM1.3).*

| CyI90 | µ2 | | | µ2F | | | mel 270 | | | OMM 1.3 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| doxorubicine | 0,01049083 | ± | 0,00281181 | 0,01808415 | ± | 0,00606144 | 0,00568925 | ± | 0,004381339 | 0,011561202 | ± | 0,010062391 |
| cisplatine | 0,00479497 | ± | 0,00080753 | 0,01255805 | ± | 0,00645897 | 0,00114437 | ± | 0,000571745 | 0,001867002 | ± | 0,00030963 |
| muphoran | 0,00165875 | ± | na | 0,0019428 | ± | na | 0,00056594 | ± | na | 0,000416001 | ± | na |
| mitomycine C | na | ± | na | 0,02565511 | ± | 0,01047326 | 0,00539736 | ± | 0,002360314 | 0,00632986 | ± | 0,002059129 |
| paclitaxel | 0,03039969 | ± | 0,00652964 | 0,04463437 | ± | 0,0115422 | 0,0321556 | ± | 0,024187295 | 0,023718549 | ± | 0,011345772 |
| melphalan | 0,01018909 | ± | 0,00857623 | 0,03393617 | ± | 0,01688471 | 0,0009162 | ± | 0,000259477 | 0,00141934 | ± | 0,000266806 |
| dacarbazine | 0,00305856 | ± | 0,0024033 | 0,00383565 | ± | 0,00126235 | 0,00383699 | ± | 0,000568881 | 0,003812682 | ± | 0,00151486 |
| carmustine | 0,00386901 | ± | 0,00111051 | 0,01335325 | ± | 0,01629147 | 0,00192304 | ± | 0,000489237 | 0,0020811 | ± | 0,000245922 |

*Tableau 21 : Valeurs des CyI90 (moyenne et ET) pour les 8 chimiothérapies testées (doxorubicine, cisplatine, muphoran, mitomycine C, paclitaxel, melphalan, dacarbazine, carmustine) en fonction des lignées cellulaires de mélanomes de l'uvée (µ2, µ2F, mel270 et OMM1.3).*

Les graphiques suivants représentent les histogrammes des $CyI_{90}$, par lignée (figures 66 à 69), dans le but de montrer par lignée quelle drogue avait un index de cytotoxicité 90 significativement plus grand que les autres drogues.

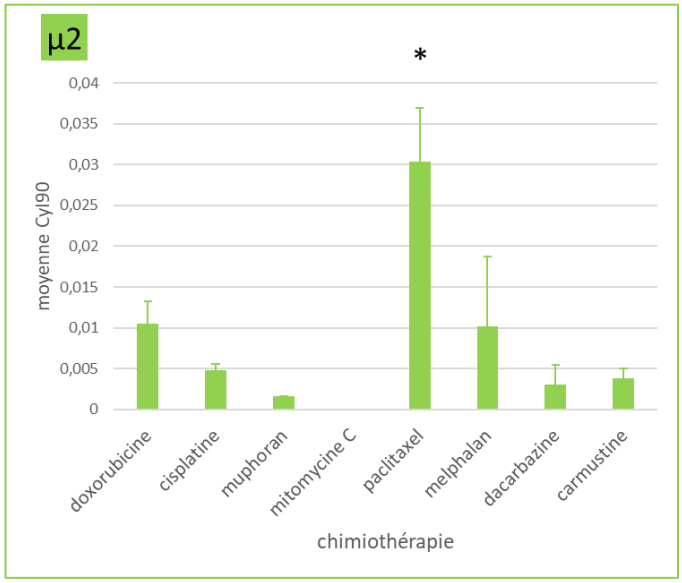



*Figure 66 : Histogramme des CyI90 en fonction des chimiothérapies pour µ2.*

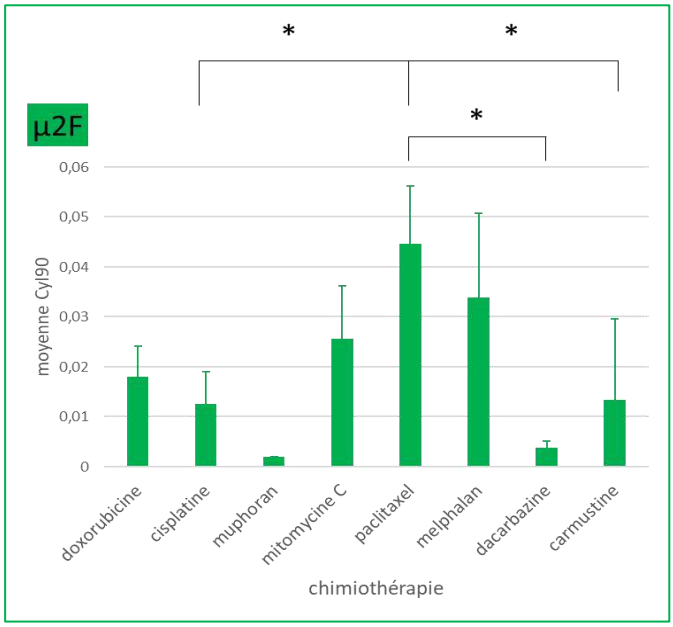



*Figure 67 : Histogramme des CyI90 en fonction des chimiothérapies pour µ2F.*

Pour µ2, le paclitaxel est significativement différent de toutes les autres chimiothérapies. Pour µ2F, le paclitaxel est significativement différent de la dacarbazine. En revanche on retrouve une tendance entre le paclitaxel et la doxorubicine (p=0,14) et le paclitaxel et le muphoran (p=0,07).

Si l'on regroupe les lignées murines, le paclitaxel est significativement différent de toutes les autres chimiothérapies sauf la mitomycine C et le melphalan.

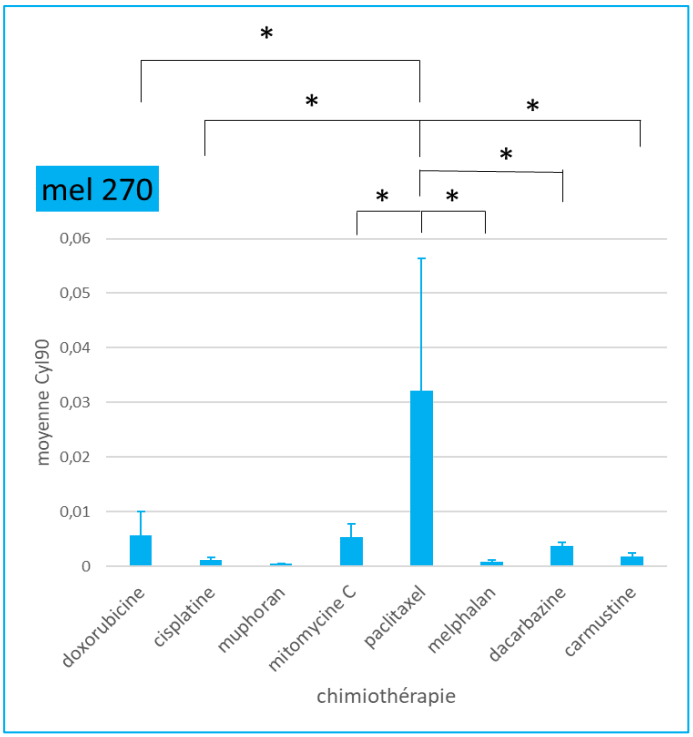



*Figure 68 : Histogramme des CyI90 en fonction des chimiothérapies pour mel 270.*

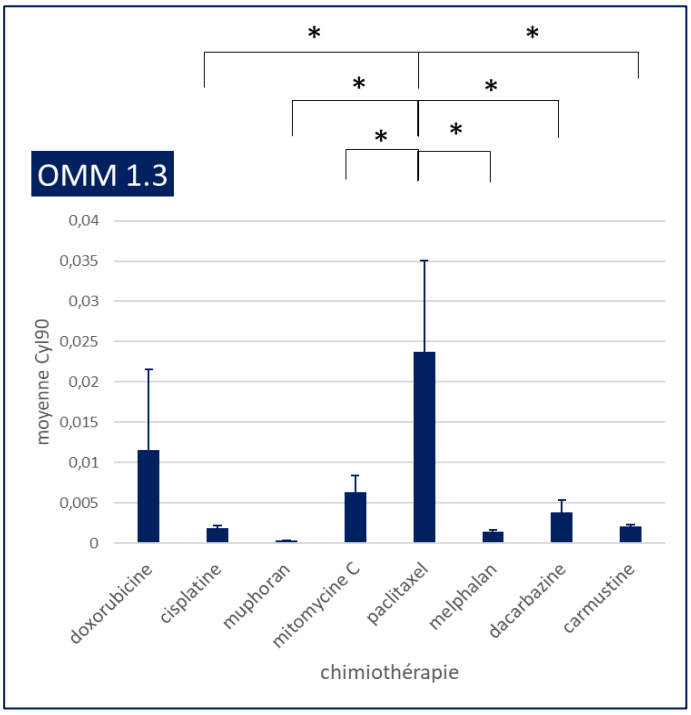



*Figure 69 : Histogramme des CyI90 en fonction des chimiothérapies pour OMM 1.3.*

Pour la lignée mel 270, le paclitaxel est significativement différent de toutes les chimiothérapies en dehors du muphoran pour laquelle il existe toutefois une tendance entre les deux drogues (p=0,13). Pour OMM 1.3, le paclitaxel est significativement différent des autres chimiothérapies en dehors de la doxorubicine (p=0,24).

Si l'on regroupe toutes les lignées humaines, le paclitaxel est significativement différent de toutes les autres chimiothérapies.

Si l'on regroupe toutes les lignées (murines et humaines, primitives et métastatiques) le paclitaxel est significativement différent de toutes les autres chimiothérapies testées.

## V. CONCLUSION ET DISCUSSION de l'étude 5

Les chimiothérapies utilisées par voie intra-artérielle pour le traitement des métastases hépatiques de mélanome de l'uvée sont variées. Nous avons souhaité comparer *in vitro* l'effet des drogues classiquement utilisées en situation mimant les traitements intra-artériels, c'est-à-dire avec temps de contact d'exposition court (30 minutes). L'objectif était d'essayer de trouver quel(s) traitement(s) pourrait être le plus efficace.

Nous n'avons pas montré de différence de courbe de survie entre les lignées métastatiques versus leur primitif que ce soit sur des lignées murines (µ2 et µ2F) ou des lignées humaines (mel 270 et OMM 1.3). En outre, les lignées murines avaient quasiment les mêmes profils de courbe de survie que les lignées humaines en dehors du melphalan. Le cisplatine, le muphoran, le melphalan ainsi que la dacarbazine ne semblent pas des chimiothérapies intéressantes dans ces conditions d'exposition. De plus, concernant le cisplatine, il faut de gros volumes et il n'y a pas d'émulsion correcte possible avec le lipiodol. Les drogues les plus intéressantes étaient la doxorubicine, la mitomycine C et le paclitaxel, avec une des courbes de survie vraiment très intéressantes pour le paclitaxel.

Pour des raisons déjà explicitées, nous n'avons pu réaliser qu'une seule répétition sur la fotémustine. Néanmoins à la vue des résultats obtenus, il ne nous semble pas nécessaire de tester à nouveau cette drogue. D'autre part, aucune analyse STR (Short Tandem Repeat) n'a été réalisée sur les lignées cellulaires. Nous souhaitions également signaler que le paclitaxel était une solution très visqueuse et que les rinçages après les temps de contact étaient parfois difficiles. Mais la viscosité pourrait être un avantage de cette drogue, car elle pourrait ralentir le flux et ainsi favoriser l'effet de premier passage. Elle pourrait aussi favoriser une émulsion plus stable avec le lipiodol.

L'absence de différence entre les lignées primitives et les lignées métastatiques peut être liée au fait que les cellules ont été testées seules. Néanmoins, lorsque les métastases sont

situées au niveau hépatique, elles sont dans un environnement très particulier. Le foie est un organe complexe, qui a de multiples fonctions de détoxification, de métabolisme notamment du glucose et un profil immunitaire complexe (Piñeiro Fernández et al. 2019). Il serait donc intéressant d'évaluer l'efficacité des cytotoxiques sur les métastases dans leur microenvironnement, donc sur un modèle animal.

Bedikian et al. (1995) a publié une revue (MD Anderson Cancer Center) qui comparait les différentes techniques intra-artérielles (TACE, embolisation et CIAH) pour le traitement des métastases hépatiques des mélanomes de l'uvée (Agop Y. Bedikian et al. 1995). Les auteurs concluaient que les traitements de TACE à base de cisplatine étaient les plus efficaces. On note toutefois que les TACE à base de cisplatine pouvaient inclure 1,2 voire 3 autres chimiothérapies et aucune information sur la composante embolisation n'était fournie. D'autre part, une seule étude portant sur l'embolisation seule était incluse en première ligne versus 24 pour la CIAH et 44 pour la TACE. Le cisplatine a été l'objet d'une publication récente (2017) de chimio-embolisation pour le traitement des métastases hépatiques de mélanome de l'uvée, avec des résultats très mitigés d'après les auteurs notamment sur le long terme (Shibayama et al. 2017).

Concernant le paclitaxel, il a été testé dans un essai de phase I en infusion intra-artérielle pour le traitement des métastases hépatiques (Tsimberidou et al. 2011). La dose maximale tolérée était de 225 mg/m2. Bien que le paclitaxel en injection systémique seul ne soit pas très prometteur (Homsi et al. 2010b), le paclitaxel fixé sur des nanoparticules d'albumine (nab-paclitaxel) donnait des résultats encourageants pour le traitement des métastases de mélanome (Evan M Hersh et al. 2010; E M Hersh et al. 2015). L'injection intra-artérielle de nab-paclitaxel a été évaluée pour le traitement des métastases hépatiques de mélanome avec des résultats décevants (Tsimberidou et al. 2013; Vera-Aguilera et al. 2018). On souligne que les études portaient sur des mélanomes et non pas spécifiquement sur des mélanomes de l'uvée.

Le paclitaxel est une chimiothérapie lipophile, ce qui lui donne un avantage pour l'émulsion avec le lipiodol en termes de stabilité. Or, la stabilité de l'émulsion est un facteur important pour améliorer la pharmacocinétique de la drogue *in vivo* (M. Boulin et al. 2016).

A côté des traitements par chimiothérapie, l'immuno-embolisation a été testée pour le traitement des métastases hépatiques de mélanome de l'uvée (Valsecchi et al. 2015). Le protocole consistait en un bras immuno-embolisation et un bras embolisation seule. Dans le

bras immuno-embolisation, les patients recevaient 2 000 µg de GM-CSF (Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor), mélangé à du lipiodol puis une embolisation à la gélatine. Dans le bras embolisation seule, le GM-CSF était remplacé par une solution saline. La survie globale était de 21,5 mois pour le groupe immuno-embolisation versus 17,2 mois pour le groupe embolisation. Dans le groupe immuno-embolisation, le taux d'interleukine (IL)-6 à 1 heure et d'IL-8 à 18 heures après le traitement était des facteurs significativement prédictifs d'une survie sans progression plus longue ($p < 0,001$).

L'immunothérapie intra-artérielle avait déjà été évaluée en 2008 dans un essai de phase I, dans laquelle des doses de 25 à 2000 µg étaient évaluées (Sato et al. 2008). La dose de 2000 µg étant bien tolérée, les auteurs avaient conduit un essai de phase II en double aveugle, randomisé (Yamamoto et al. 2009). L'immuno-embolisation amenait à une survie globale de 20,4 mois par rapport au groupe chimioembolisation avec du BCNU qui était de 9,8 mois.

Les inhibiteurs de la voie de signalisation MEK-ERK semblent être une piste prometteuse pour le traitement des mélanomes (Grimaldi et al. 2017; Savoia et al. 2019). Puisque les cascades de signalisation PKC, MAPK et Pi3K/AKT/mTOR sont associées à la progression tumorale, des thérapies ciblant ces voies ont été testées sur des lignées cellulaires de mélanomes de l'uvée (Amirouchene-Angelozzi et al. 2016). Les auteurs ont testé 7 thérapies ciblées seules ou en association (inhibiteur de PKK, de MEK, de AKT, de Pi3K et de mTOR) sur un panel de 10 lignées cellulaires d'UM. La synergie entre inhibiteur de mTOR (Everolimus) et inhibiteur de PI3K (GDC0941) était la plus efficace sur la viabilité cellulaire, prouvée par une augmentation de l'apoptose (Amirouchene-Angelozzi et al. 2016).

Nous avons débuté les évaluations de type de mort cellulaire sur les 4 lignées testées dans notre étude avec 2 drogues (doxorubicine et cisplatine) en utilisant la caspase 3 clivée. Il serait intéressant d'évaluer le type de mort cellulaire avec le paclitaxel également et de pouvoir comparé aux résultats obtenus par Amirouchene et al. (2016).

Même si les données cliniques sur le mélanome ne sont pas en faveur de l'utilisation du paclitaxel sur les métastases hépatiques, nous ne pouvons extrapoler aux UM. Nous devons donc poursuivre son évaluation dans cette indication spécifique, éventuellement en association avec des thérapies ciblées.

Dans un premier temps, une étude de phase I pour l'évaluation de la dose et la toxicité du paclitaxel en cTACE devra être mise en place. Les indications retenues pourraient être les métastases hépatiques des UM résistantes aux traitements systémiques usuels, en cas de

lésions secondaires hépatiques prédominantes. Une fois cette phase I réalisée, une étude de phase II pourra être mise en place, afin de vérifier l'efficacité du paclitaxel en cTACE pour le traitement des métastases hépatiques des UM. Ces résultats pourront être comparés à la littérature. Dans le cas d'une étude de phase II avec des résultats encourageants, une étude de phase III avec un bras thérapie systémique vs thérapie systémique plus cTACE au paclitaxel pourrait être envisagée.

A côté de la cTACE, on pourra évaluer la technique aux billes chargées de la même façon.

L'utilisation en CIAH serait plus difficile à mettre en œuvre du fait de la complexité de la technique.

## VI. INTRODUCTION de l'étude 6 « Etude in vitro de l'impact de l'hypoxie sur l'effet des chimiothérapies sur la viabilité de lignées cellulaires de mélanome de l'uvée »

En plus de l'hétérogénéité pour le choix de la chimiothérapie que nous avons souligné dans l'introduction de l'étude 5, nous avons montré dans l'étude 4 une hétérogénéité pour la partie embolisation de la TACE. En effet, le choix du type d'agent d'embolisation, de leur taille, de la sélectivité de l'embolisation et du point de fin d'embolisation sont très variables d'un praticien à un autre. Ce point technique mérite d'être analysé.

L'hypoxie peut être liée à 3 mécanismes : en relation avec un défaut de perfusion, en lien avec des problèmes de diffusion d'oxygène en rapport avec une distance accrue entre les vaisseaux et le tissu et enfin en rapport avec une anémie qui correspond à un défaut de la capacité de transport de l'oxygène (Challapalli, Carroll, and Aboagye 2017). L'embolisation entraine une hypoxie par défaut de perfusion des cellules tumorales puisqu'elle coupe la vascularisation tumorale. L'effet de l'hypoxie sur la chimiorésistance est un phénomène bien connu (Vaupel, Kelleher, and Höckel 2001)

L'équipe de recherche dans laquelle j'ai pu réaliser ma thèse est reconnue pour ses travaux sur l'hypoxie (Bernaudin and Sharp 2004; Bordji et al. 2014; Corroyer-Dulmont et al. 2015; Valable et al. 2017).

Nous avons voulu profiter des compétences et du matériel (chambres à hypoxie) disponibles afin d'appréhender *in vitro* la partie embolisation en l'imitant par une mise en hypoxie des lignées cellulaires après leur mise en contact avec une chimiothérapie

## VII. OBJECTIF de l'étude 6

L'objectif de cette étude était d'évaluer *in vitro* l'impact de l'hypoxie sur l'effet des chimiothérapies utilisées en chimioembolisation sur les cellules de mélanome de l'uvée, et ce, dans des conditions de temps d'exposition cellules-chimiothérapie courts (30 minutes).

# VIII. MATERIELS et METHODES de l'étude 6

## 1. Choix des lignées cellulaires

Nous avons utilisé les lignées cellulaires de mélanomes de l'uvée utilisées pour l'étude 5.

## 2. Choix des agents cytotoxiques

Après la première phase de screening (ci-dessus), deux chimiothérapies ont été retenues pour évaluer l'effet de l'hypoxie : la doxorubicine et le cisplatine. Nous avons choisi ces drogues pour évaluer une chimiothérapie qui d'après l'analyse de screening était efficace et une autre nettement moins efficace. Nous n'avons pas retenu le paclitaxel car le profil de courbe sur le screening n'était pas une sigmoïde, ce qui était le cas pour la doxorubicine et le cisplatine. A partir des C max (1 mg/ml) des deux chimiothérapies, deux concentrations différentes ont été retenues après lecture des courbes issues du screening, à savoir :

- Doxorubicine : 62,5 µg/ml (diluée 16X) et 15,62 µg/ml (diluée 64X)
- Cisplatine : 125 µg/ml (dilué 8X) et 31,25 µg/ml (dilué 32X)

Le choix s'est porté sur ces 2 concentrations en raison des profils de courbe (effet biologique). Nous avons choisi les concentrations qui correspondaient aux variations d'effet c'est à dire aux épaulements des courbes, qui correspondaient à 25 % de viabilité et à 75 %, comme représenté sur la figure 70.

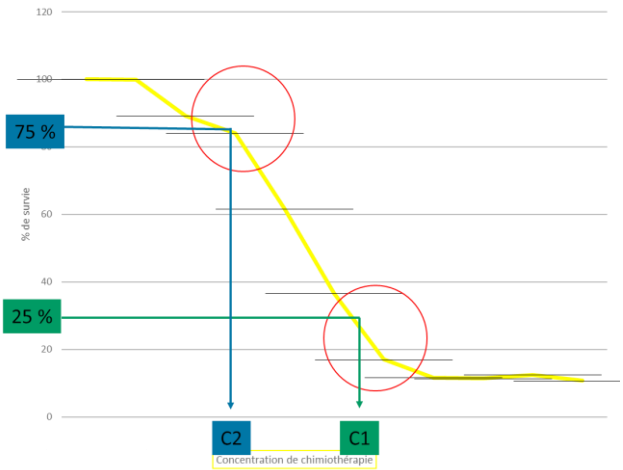



*Figure 70 : Graphe schématique du choix des concentrations des chimiothérapies pour les tests d'hypoxie.*

## 3. Protocole expérimental d'hypoxie post-chimiothérapie in vitro

Une fois à confluence, les cellules après rinçage au PBS sont décollées par action de la trypsine 0,05%-EDTA 0.02% (Ethylène Diamine Tétra Acétique) à 37°C. L'activité de la trypsine est ensuite inhibée par l'ajout de milieu de culture contenant du SVF. Les cellules sont récupérées et centrifugées à 300 g pendant 5 min. Le culot cellulaire est repris dans du milieu de culture et les cellules sont remises en culture aux densités voulues selon les expériences réalisées.

Ne connaissant pas l'effet de l'hypoxie sur les lignées de mélanome de l'uvée (primitives et métastatiques), un premier test a été réalisé avec deux pourcentages d'$O_2$ différents (1 % d'$O_2$ et 0,2% d'$O_2$) dans le but de déterminer la densité cellulaire optimale d'ensemencement au départ. En effet, cette densité devait être suffisante pour le comptage des cellules 72 h après l'exposition aux agents chimiothérapeutiques, sans que les cellules non traitées ne soient à confluence à ce temps d'étude. La densité d'ensemencement choisie est de 5 000 cellules par puits.

La culture cellulaire est réalisée en normoxie ou en hypoxie à deux taux d'oxygène différents (1 % d'$O_2$ et 0.2% d'$O_2$). La doxorubicine est ajoutée dans le milieu à une concentration de 15 µg/ml ou 62,5 µg/ml et le cisplatine est utilisé à 31 µg/ml ou 125 µg/ml.

En parallèle, des cellules n'ont subi aucun traitement de drogues cytotoxiques pour avoir un groupe contrôle (non traité).

A J0, 5000 cellules par puits sont ensemencées dans des plaques 24 puits avec du milieu RPMI 5% complet.

A J1, les cellules sont traitées pendant 30 min par la doxorubicine ou le cisplatine, aux concentrations indiquées précédemment, diluées dans du milieu RPMI contenant 0,5 % de SVF (figure 71).

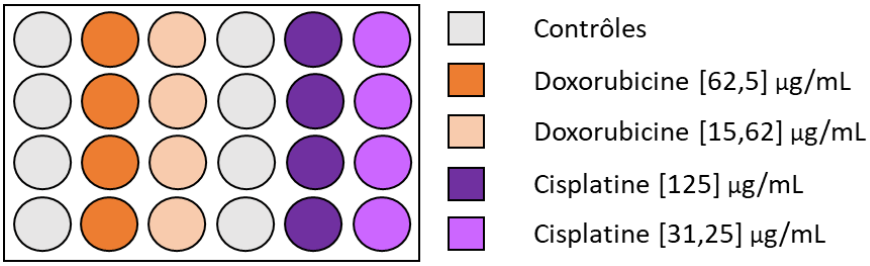



*Figure 71 : Schéma d'une plaque 24 puits pour les tests d'hypoxie.*

Ensuite, les cellules sont rincées au PBS et 500 µl de milieu RPMI complet (5% de SVF) sont ajoutés. Les plaques sont immédiatement mises en culture en condition de normoxie ou d'hypoxie (1 ou 0,2 % d'$O_2$) pendant 72 h. Pour que les cellules soient instantanément en conditions hypoxiques, le milieu de culture a été préalablement bullé dans les chambres d'hypoxie pendant une heure. Dans les conditions d'expérimentation en hypoxie, les cellules sont incubées selon le temps désiré dans une chambre d'hypoxie (*in vivo 500 et 1000, Ruskinn, ABE)* et maintenues à 37 °C dans une atmosphère à 1 % ou 0,2 % d'$O_2$, 5 % de $CO_2$ et 94 % ou 94,8 % de $N_2$.

## 4. Evaluation de la viabilité cellulaire

### a. Fixation et marquage cellulaires

Soixante-douze heures après le traitement, le milieu est éliminé, les cellules sont rincées au PBS puis fixées au PFA 4% (paraformaldéhyde) pendant 1 h à 4 °C. Les plaques sont protégées de la lumière par de l'aluminium. Les cellules sont ensuite rincées deux fois au PBS et sont incubées en présence d'une solution de Hoechst 33342 (5 µg/ml en PBS 0,01M), diluée au 1/5000$^{ème}$, pendant 30 min à température ambiante, en protégeant les solutions et les puits de la lumière. Cette substance chimique est un intercalant de l'ADN qui permet de marquer le noyau des cellules en bleu alors visible au microscope à épifluorescence à la longueur d'onde λ = 360 nm. Après la coloration, 3 rinçages sont réalisés au PBS puis les plaques sont stockées à 4°C. Le protocole est représenté schématiquement sur la figure 72.

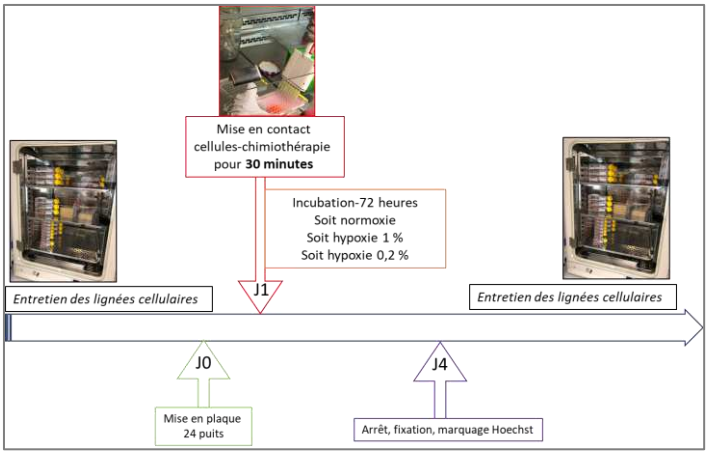



*Figure 72 : Récapitulatif chronologique du protocole d'hypoxie.*

### b. Prise d'images et comptages

Pour les différents types cellulaires (µ2, µ2F, mel 270, OMM 1.3) traités par chimiothérapie (doxorubicine et cisplatine) étudiés à différents degrés d'oxygénation (21 %, 1 % et 0,2 % d'$O_2$), 4 champs visuels sont photographiés par puits (objectif X10) sur un microscope à épifluorescence inversé. Quatre puits ont été analysés par condition. Le nombre de cellules pour chaque champ photographié est déterminé à l'aide d'un comptage automatique qui a été développé par notre équipe de recherche à partir du logiciel Image J (http://rsbweb.nih.gov/ij/).

### c. Présentation des résultats et analyse statistique

Les résultats normalisés sont présentés sous forme d'histogramme, représentant le nombre de cellules en fonction des conditions (lignée, traitement et taux d'oxygénation). Sur chaque graphique une ligne rouge représente 10 % du nombre de cellules par rapport au contrôle (100 %). Les comparaisons des moyennes des 3 répétitions, ont été réalisées grâce à une analyse de variance (ANOVA). En cas de significativité de celle-ci, nous avons réalisé un test post-hoc HSD de Tucker. Les valeurs de $p < 0,05$ sont considérées comme significatives. Les valeurs de $p < 0,15$ évoquent une tendance. Sur les graphiques, si $p< 0,05$, un astérisque (*) est positionné entre les valeurs concernées. En cas de $p< 0,01$, deux astérisques sont positionnés (**) et si $p< 0,001$ trois astérisques (***) sont positionnés.

## IX. RESULTATS de l'étude 6

*Analyse de l'effet de l'hypoxie seule*

Ici nous avons uniquement représenté les valeurs des contrôles sans chimiothérapie, dans les 3 conditions d'oxygénation (normoxie, hypoxie 1 % $O_2$ et 0,2 % $O_2$) (figure 73). Les valeurs ont été normalisées par rapport au groupe en normoxie (100 % $O_2$). La ligne rouge passe par 10 % de cellules.

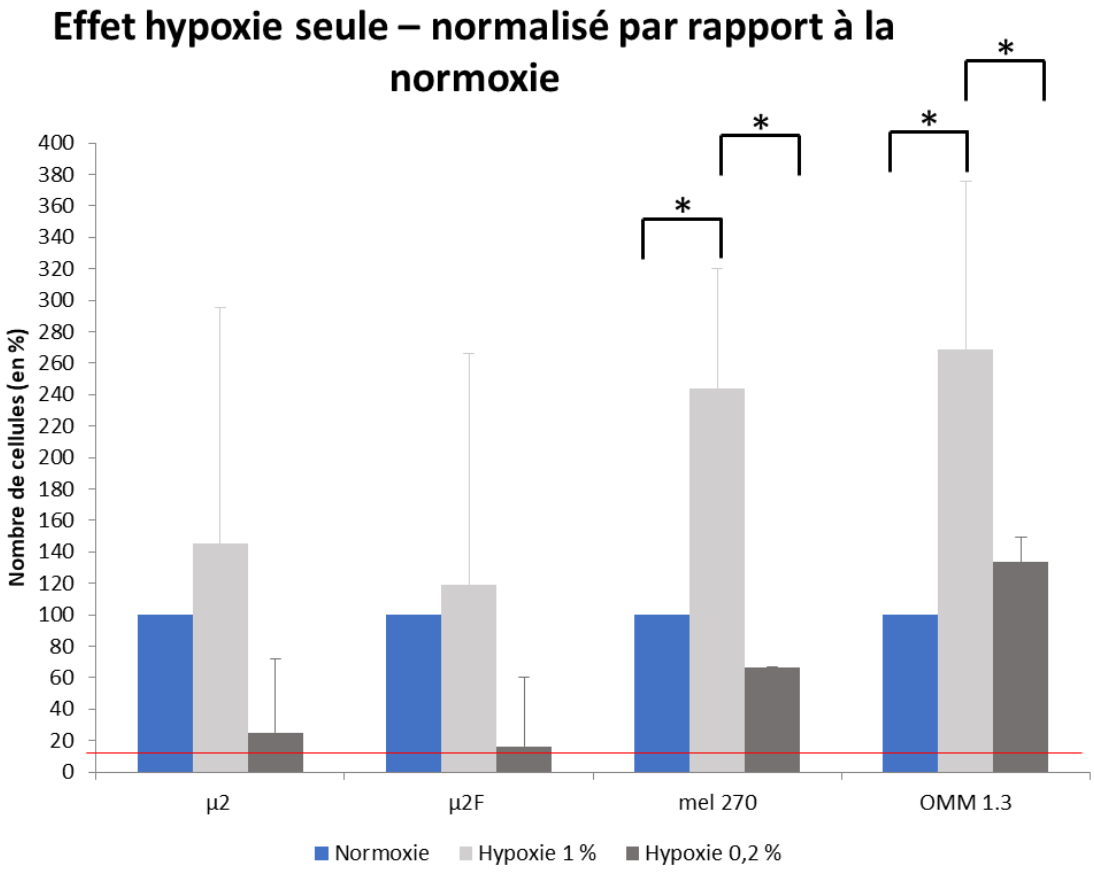



*Figure 73 : Effet de l'hypoxie seule sur les 4 lignées de mélanome de l'uvée.*

Dans le cas où seule l'hypoxie est appliquée, l'effet sur la viabilité est variable en fonction de la sévérité de l'hypoxie. On observe un nombre de cellules plus important en hypoxie modérée (1 % $O_2$) qu'en normoxie pour les 4 lignées, alors qu'on observe plutôt une diminution du nombre de cellules en hypoxie sévère (0,2 % $O_2$) sauf pour OMM 1.3.

Les effets sont significatifs sur les lignées humaines entre les conditions de normoxie et d'hypoxie à 1 % $O_2$. La viabilité cellulaire est accrue pour les mel 270 (p=0,04) et OMM 1.3 (p=0,025) entre ces 2 conditions. Il existe également une différence significative entre les 2 conditions d'hypoxie (0,2 % $O_2$ vs 1 % $O_2$) pour ces 2 lignées humaines (p=0,014 pour mel 270 et p=0,052 pour OMM 1.3).

Si l'on regroupe les lignées murines, il existe une différence significative entre les 2 conditions d'hypoxie (p=0,019). Si l'on regroupe les lignées humaines, il existe une différence significative entre la normoxie et l'hypoxie modérée (p=0,001) ainsi qu'entre les 2 conditions d'hypoxie (p=0,0009).

L'hypoxie modérée (1 % $O_2$) a plutôt tendance à favoriser la prolifération et même de façon significative sur les lignées humaines. Il n'est en revanche pas observé d'effet cytotoxique significatif en hypoxie sévère (0,2 % $O_2$). Néanmoins, sur toutes les lignées on observe un nombre de cellules diminué (sauf pour OMM 1.3) lorsque les cellules sont soumises à une hypoxie à 0,2 %.

*Effet de la chimiothérapie sur la viabilité des cellules*

Ici nous avons uniquement représenté (figure 74) les valeurs en condition de normoxie afin d'évaluer l'effet des chimiothérapies à différentes concentrations.

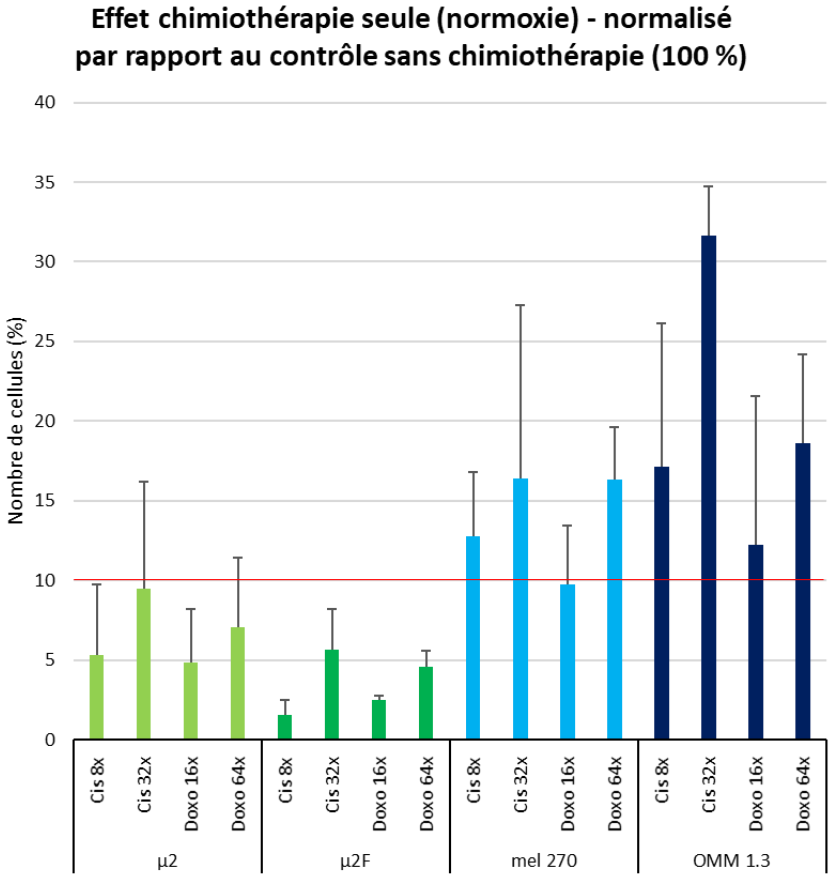



*Figure 74 : Effet de la chimiothérapie seule sur les lignées de mélanomes de l'uvée.*

On identifie un effet cytotoxique des 2 chimiothérapies avec logiquement un effet plus marqué pour les concentrations les plus élevées. En fonction des lignées, l'effet toxique est plus ou moins marqué. Les cellules murines sont plus sensibles que les lignées humaines. Au sein des lignées humaines, OMM 1.3 (la lignée métastatique) est plus résistante aux chimiothérapies testées. L'effet cytotoxique de la doxorubicine, alors qu'elle est utilisée à des doses moins concentrées (dilutions supérieures) est plus important. Ces résultats vont dans le même sens

que ceux que nous avons observés dans la phase de screening (étude 5) (figures 75 et 76). On retrouve pour le cisplatine cette même différence d'efficacité entre les lignées murines et humaines comme pour les tests de screening (figure 76). En revanche, cet effet n'était pas observé pour la doxorubicine (figure 75). Sur les figures 75 et 76, les encarts rouges sont centrés sur les concentrations utilisées dans les tests d'hypoxie.

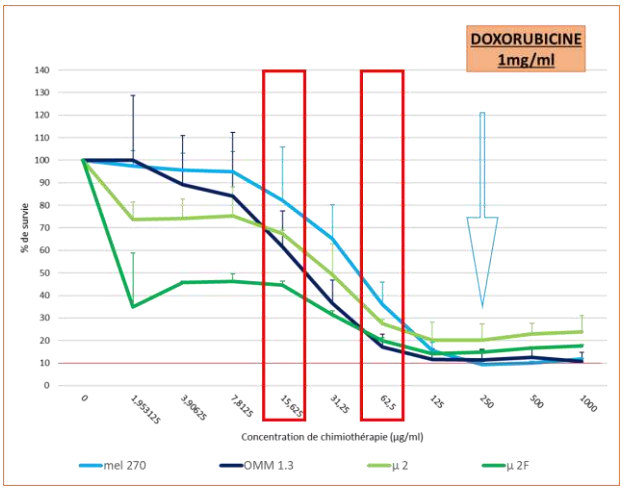



*Figure 75: Courbe de viabilité du test de screening sur les lignées de UM avec la doxorubicine*

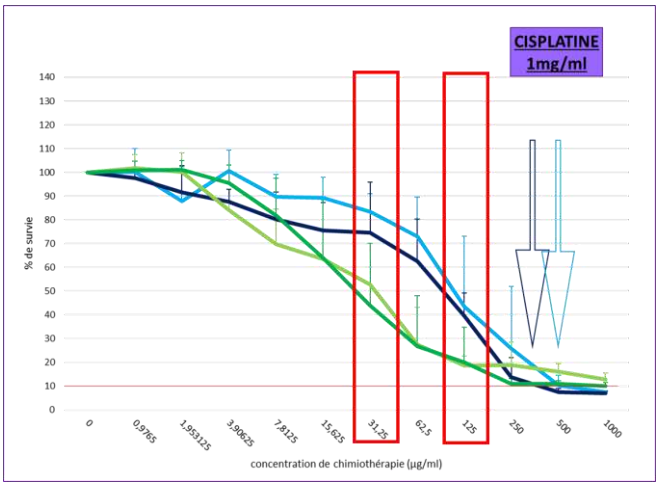



*Figure 76: Courbe de viabilité du test de screening sur les lignées de UM avec le cisplatine*

## *Analyse de l'effet de l'hypoxie sur l'efficacité de la chimiothérapie*

Après avoir analysé les effets de l'hypoxie et des chimiothérapies séparément, nous voulons maintenant analyser l'impact de l'hypoxie sur l'effet des chimiothérapies. En effet, lors d'une chimio-embolisation, on administre une chimiothérapie puis on embolise les vaisseaux dans lesquels a été délivrée la drogue. Ainsi, nous imaginons l'effet de l'embolisation, plus ou moins agressive comme l'effet d'une hypoxie plus ou moins sévère. Pour cela nous avons représenté le nombre de cellules restantes pour chaque lignée, normalisé par rapport au contrôle (non traité = 100%) à chaque condition d'oxygénation. Une figure représente une lignée cellulaire (figures 77 à 80).

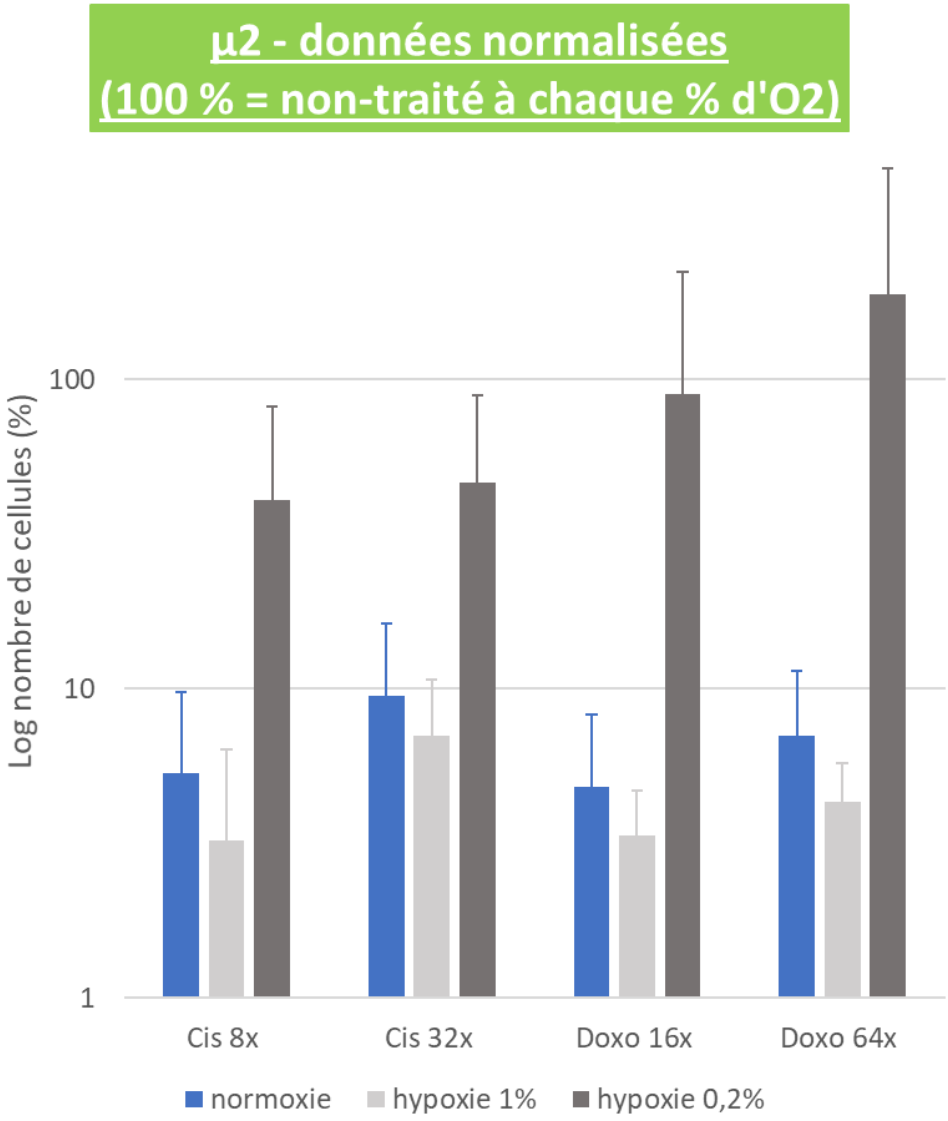



*Figure 77 : Pourcentage du nombre de cellules (µ2) par rapport au contrôle (100 %) à chaque taux d'oxygène, en fonction de la chimiothérapie.*

Sur la lignée µ2, les ANOVA ne sont pas significatives, quelle que soit la chimiothérapie et sa concentration. Néanmoins, on observe plus de cellules par rapport à la normoxie en hypoxie sévère et moins de cellules en hypoxie modérée, que ce soit pour n'importe quelle chimiothérapie et n'importe quelle dose.

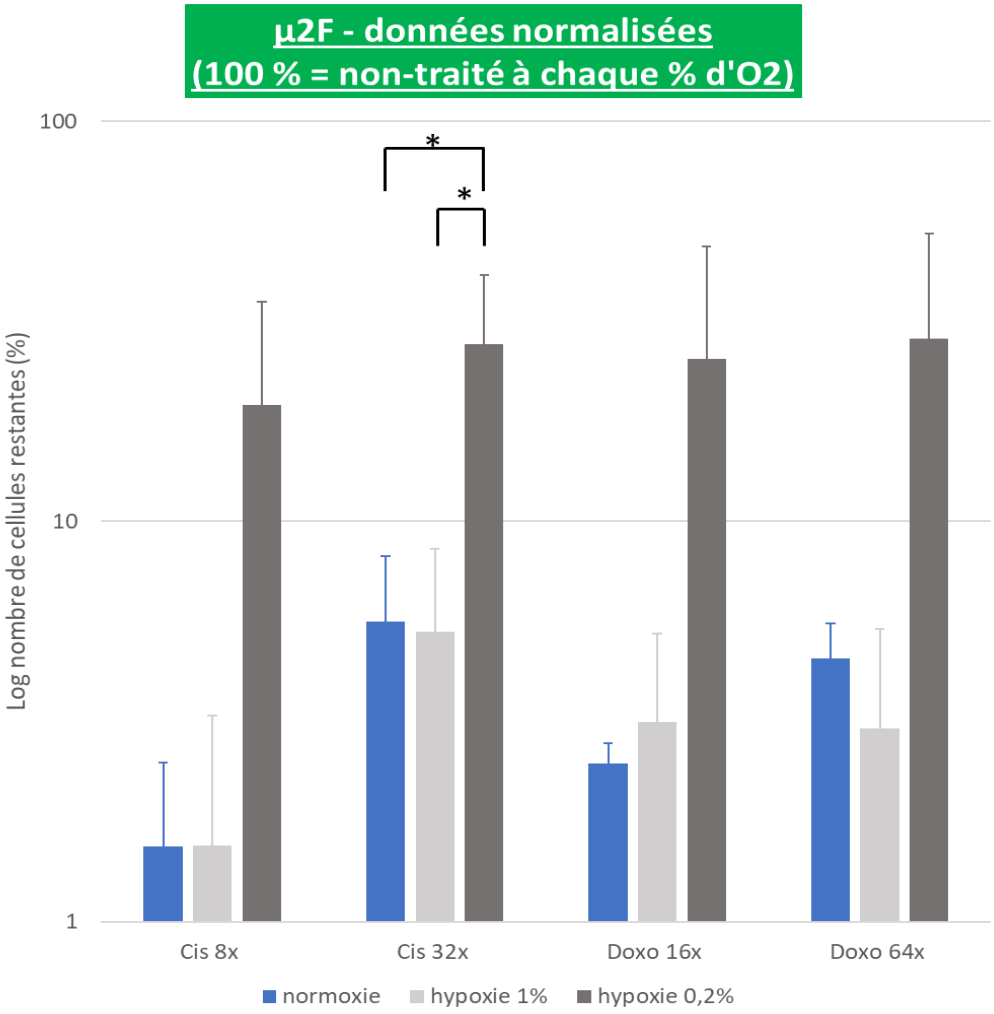



*Figure 78 : Pourcentage du nombre de cellules (µ2F) par rapport au contrôle (100 %) à chaque taux d'oxygène, en fonction de la chimiothérapie.*

Sur la lignée µ2F, on note une différence significative entre les niveaux d'oxygénation pour le traitement avec le cisplatine à 31 µg/ml. Pour le traitement avec le cisplatine à 125 µg/ml, on note une tendance de nombre de cellules différent entre la normoxie et l'hypoxie à 0,2 % (p=0,11) et entre l'hypoxie 1 % et 0,2 % $O_2$ (p=0,11). Il existe aussi une tendance pour la doxorubicine à 15 µg/ml entre la normoxie et l'hypoxie sévère (p=0,15) et les deux niveaux d'hypoxie (p=0,13). Pour les hypoxies modérées, avec le cisplatine, on note quasiment le même nombre de cellules qu'en normoxie. Avec la doxorubicine, le nombre est plus important entre ces 2 conditions (normoxie et hypoxie modérée) à la concentration de 62,5 µg/ml, et plus faible à la concentration la plus diluée (15 µg/ml).

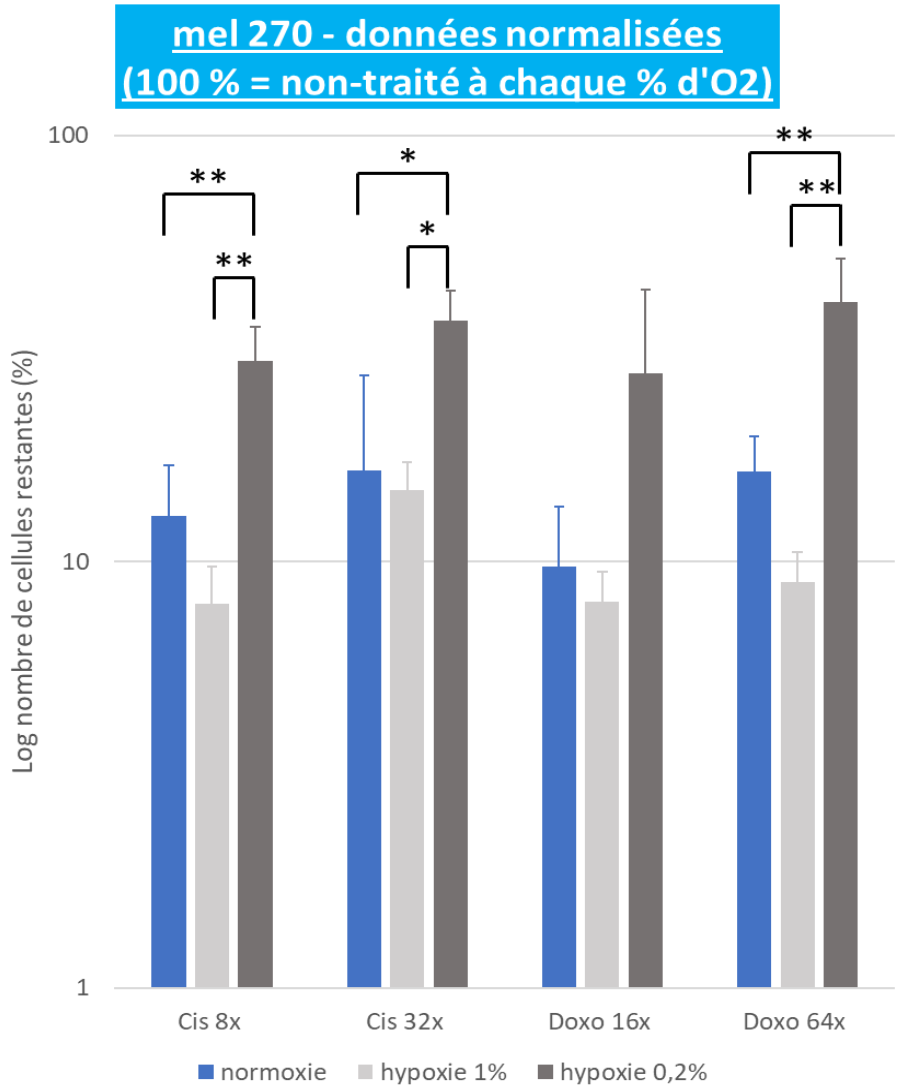



*Figure 79 : Pourcentage du nombre de cellules (mel 270) par rapport au contrôle (100 %) à chaque taux d'oxygène, en fonction de la chimiothérapie.*

Pour la lignée mel 270, on observe des différences significatives entre les conditions d'oxygénation (normoxie versus hypoxie sévère et hypoxie modérée et hypoxie sévère) pour tous les traitements en dehors de la doxorubicine à 62 µg/ml pour laquelle on note une tendance entre la normoxie et l'hypoxie à 0,2 % $O_2$ (p= 0,13) et les deux niveaux d'hypoxie (p=0,09). Le nombre de cellules tend à être moins important quelle que soit la chimiothérapie et sa concentration en hypoxie modérée par rapport à la normoxie.

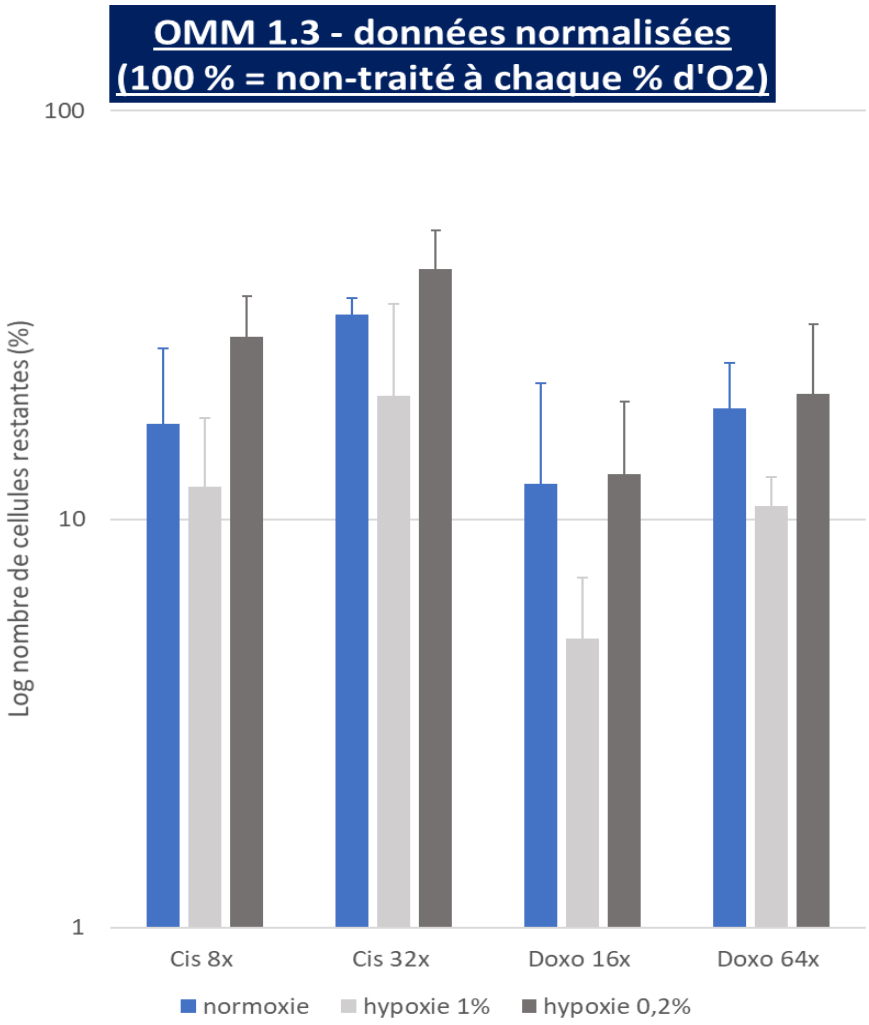



*Figure 80 : Pourcentage du nombre de cellules (OMM 1.3) par rapport au contrôle (100 %) à chaque taux d'oxygène, en fonction de la chimiothérapie.*

Pour la lignée OMM 1.3, on ne note pas de différence significative entre les conditions d'oxygénation pour les 2 concentrations de doxorubicine. En revanche, pour le traitement au cisplatine, on observe une tendance entre les 2 conditions d'oxygénation : p=0,08 pour le cisplatine à 125 µg/ml et p=0,09 pour 31 µg/ml. Ici aussi on note que le nombre de cellules tend à être moins important quel que soit la chimiothérapie et sa concentration en hypoxie modérée par rapport à la normoxie.

Si l'on regroupe les traitements de cisplatine et de doxorubicine quelle que soit la concentration, on observe des effets significatifs entre la normoxie et l'hypoxie 0,2 % $O_2$ ainsi

qu'entre les deux niveaux d'hypoxie pour µ2F (p= 0,002 et p=0,002 pour le cisplatine / p=0,011 et p=0,01 pour la doxorubicine) et mel 270 (p=0,0005 et p=0,0002 pour le cisplatine / p=0,002 et p=0,0004 pour la doxorubicine). Pour µ2, l'effet est significatif pour le cisplatine toujours entre la normoxie et hypoxie 0,2 % $O_2$ (p=0,031) et les 2 niveaux d'hypoxie (p=0,022). Pour les OMM 1.3, l'effet est significatif pour le cisplatine mais uniquement entre les deux niveaux d'hypoxie. Pour la doxorubicine, sur les OMM 1.3, on note une tendance entre les deux niveaux d'hypoxie (p=0,10).

On n'observe jamais de différence significative entre les conditions de normoxie et d'hypoxie modérée. Néanmoins, en dehors de µ2F avec la doxorubicine diluée 16X, on observe toujours un nombre de cellules plus faible.

Pour toutes les lignées, l'hypoxie sévère (0.2 % $O_2$) induit une chimiorésistance (nombre de cellules plus important que les conditions en normoxie) de façon significative en fonction des conditions.

## X. CONCLUSION ET DISCUSSION de l'étude 6

Nous avons simulé *in vitro* l'hypoxie pouvant être induite en théorie par l'embolisation en utilisant 2 niveaux différents d'oxygénation (0,2 et 1 % d'$O_2$). Les résultats obtenus dans cette partie de mes travaux de thèse suggèrent qu'une hypoxie modérée (1 % $O_2$) réalisée seule, favorise la prolifération cellulaire des cellules de mélanomes de l'uvée. L'effet est significatif sur les lignées humaines.

Si l'on analyse l'effet de l'hypoxie sur l'efficacité des chimiothérapies, on observe une chimiorésistance en cas d'hypoxie sévère (0,2 % $O_2$) et ce de façon significative pour les µ2F et les mel 270, quel que soit la chimiothérapie utilisée. En revanche sur les lignées µ2 et OMM 1.3, l'effet est plus significatif avec le cisplatine que la doxorubicine.

Ces résultats sont à analyser avec prudence, néanmoins si l'on veut extrapoler aux traitements artériels que sont l'embolisation seule ou la chimioembolisation, nous pourrions établir plusieurs hypothèses :

- L'embolisation réalisée seule, qui entraine une hypoxie modérée, pourrait favoriser la prolifération cellulaire des cellules tumorales ;

- L'embolisation réalisée seule, qui entraine une hypoxie sévère, pourrait avoir un effet cytotoxique sur les cellules tumorales, mais très modérée et variable en fonction des lignées cellulaires ;
- L'effet cytotoxique de la chimiothérapie seule est nettement plus important qu'un potentiel effet cytotoxique de l'hypoxie sévère (donc de l'embolisation agressive seule)
- En cas de combinaison chimiothérapie et embolisation, il faudrait être prudent et ne pas réaliser d'embolisation agressive (qui entrainerait une hypoxie sévère), puisque cela pourrait entrainer une chimiorésistance ;
- En cas de combinaison chimiothérapie et embolisation, il pourrait être pertinent de réaliser une embolisation qui entraine une hypoxie modérée afin de favoriser l'effet cytotoxique de la chimiothérapie.

L'hypoxie est un facteur de régulation clé dans la croissance tumorale (Harris 2002). Le facteur de transcription HIF-1 (*Hypoxia-inducible factor-1*) est le « sensor » moléculaire majeur de par l'hypoxie (Harris 2002). Il est composé de 2 sous-unités, la sous-unité HIF-1α qui est la sous-unité régulée par l'hypoxie et la sous-unité HIF-1β (figure 82). En normoxie, HIF-1α est continuellement dégradée par les protéasomes. En hypoxie, HIF-1α est stabilisée et transloquée dans le noyau où il dimérise avec HIF-1β et induit l'expression de nombreux gènes qui contrôlent l'angiogenèse, le métabolisme du glucose, la survie, la croissance et l'invasion tumorale dont le VEGF (*vascular endothelial growth factor*), l'EPO (érythropoïétine), GLUT-1 (transporteur du glucose), CA9 (*Carbonic anhydrase 9*) …

Les résultats obtenus *in vitro* dans le cadre de cette thèse soulignent l'intérêt de poursuivre cette étude sur des modèles animaux ou chez les patients atteint de métastases hépatiques et d'étudier le niveau d'hypoxie de ces métastases ainsi que l'expression du facteur HIF et de ses gènes cibles par des approches moléculaires et d'imagerie.

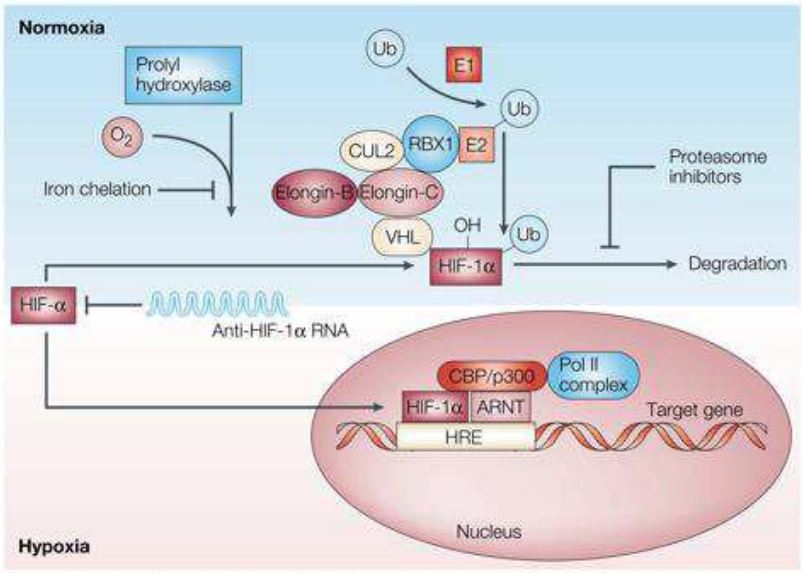



Figure 1 | **HIF-1 pathway.** In the presence of oxygen ($O_2$), prolyl hydroxylase post-translationally modifies hypoxia-inducible transcription factor (HIF)-1α, allowing it to interact with the von Hippel–Lindau (VHL) complex. Prolyl hydroxylase contains an iron moiety, so iron chelation inhibits this activity. VHL is part of a larger complex that includes elongin-B, elongin-C, CUL2 (REF. 16), RBX1 and a ubiquitin-conjugating enzyme (E2). This complex, together with a ubiquitin-activating enzyme (E1), mediates the ubiquitylation (Ub) of HIF-1α[95,96]. The Ub modification targets HIF-1α for degradation, which can be blocked by proteasome inhibitors. In the absence of oxygen, prolyl hydroxylase cannot modify HIF-1α, and the protein remains stable. Stabilized HIF-1α is translocated to the nucleus, where it interacts with cofactors such as aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator (ARNT), CBP/p300 and the DNA polymerase II (Pol II) complex to bind to hypoxia-responsive element (HREs) and activate transcription of target genes[97]. ARNT2 (REF. 98) and MOP3 (REF. 99) are other proteins that have been shown to heterodimerize with HIF-1α (not shown). A natural HIF-1α antisense mRNA has been found in renal cancer[100].

*Figure 81 : Voie de HIF (Harris et al. 2002).*

Depuis la fin des années 90 et le début des années 2000, des travaux ont été réalisés sur les relations hypoxie – CHC et notamment l'effet des traitements d'embolisation et de chimioembolisation sur les marqueurs de l'hypoxie à travers des modèles de tumeurs hypervasculaires (VX2) ou de tumeurs explantées ou biopsiées (Rhee et al. 2007; Wu, Xie, and Chen 2007; Virmani et al. 2008; Liang et al. 2010; Q. Li et al. 2014)

Le CHC est une tumeur au sein de laquelle des facteurs angiogéniques sont fortement exprimés comme le VEGF et l'*insulin-like growth factor* II (IGF-II) (Kim Kyu-Won 1998; Yamaguchi et al. 1998). Ces facteurs angiogéniques jouent un rôle important dans le développement de la néovascularisation tumorale. Le CHC est une tumeur hautement vascularisée mais également à haut pouvoir prolifératif ayant pour conséquence une cellularité importante. Les cellules tumorales peuvent par conséquent se trouver à distance du réseau vasculaire et se trouver en zone hypoxique. Or l'hypoxie favorise l'angiogenèse et par conséquent la progression tumorale du CHC (K.-R. Kim, Moon, and Kim 2002).

En traitant les tumeurs de CHC par embolisation le but est de créer une ischémie et donc une nécrose tumorale. Kim et al. (2001) ont montré par analyses immunohistochimiques sur des CHC opérés de patients qui avaient été traités par TACE une augmentation de la prolifération des cellules endothéliales et tumorales autour de la zone de nécrose tumorale par rapport au groupe contrôle non chimioembolisé (Y. B. Kim, Park, and Park 2001).

Virmani et al. (2008) ont montré que l'hypoxie créée par l'embolisation sur le modèle de tumeur hépatique hypervasculaire (VX2) activait HIF-1. Pour les auteurs, cette sur-expression pourrait être la cause d'échec thérapeutique en rapport avec l'activation de l'angiogenèse (Virmani et al. 2008). Liang et al. (2010) ont réalisé une étude similaire sur le même modèle (VX2). Ils concluent que HIF-1α est sur-exprimée après embolisation, traduisant une hypoxie générée par l'intervention, responsable d'une activation de l'angiogenèse dans le résidu viable de la tumeur (Liang et al. 2010).

Liu et al. (2016) rappellent au travers d'une revue, que plusieurs études ont montré que les taux sériques et tissulaires de HIF-1α et de VEGF étaient augmentés après embolisation également en pratique clinique (K. Liu et al. 2016). Les auteurs soulignent l'importance d'étudier ces changements d'expression d'HIF-1α après une TACE pour déterminer notamment son rôle dans le processus de récidive et le processus métastatique du CHC (K. Liu et al. 2016).

Il est donc établi que l'embolisation créé des zones d'hypoxie avec augmentation de HIF-1α, qui lui-même pourrait ainsi favoriser l'angiogenèse et l'adaptation de la cellule cancéreuse à l'hypoxie.

En clinique, une étude réalisée au sein de l'unité par le Pr Mouriaux a montré une corrélation entre l'expression de HIF-1α et les marqueurs de prolifération (MIB-1), vasculaire (CD31 and VEGF-A) ou de nécrose sans corrélation toutefois avec la survie des patients atteints de mélanome de l'uvée (Mouriaux et al. 2014).

Pour revenir à notre étude, il serait notamment intéressant de corréler le degré d'hypoxie (sévère-modérée) à l'agressivité d'une embolisation ainsi qu'à la taille de particules utilisée.

Pour Virmani et al. (2008), le point d'arrêt (end-point) angiographique de l'embolisation était défini par une absence de blush tumoral et un flux artériel antégrade à l'extrémité du cathéter en utilisant comme particules des microsphères de tris-acryl Embosphères de 40-120µm. Pour Liang et al. (2010), le point d'arrêt angiographique était une stase complète

correspondant à une interruption complète flux artériel avec utilisation de particules de PVA de 150 à 250 µm.

D'autre part, nous avons choisi de soumettre les cellules d'UM à deux degrés d'hypoxie qui étaient de 1 % et 0 ,2 % d'$O_2$. Song et al. (2006) qui ont montré une résistance au cisplatine et à la doxorubicine induite par l'hypoxie sur des cellules de cancer pulmonaire non à petites cellules, ont montré une chimiorésistance lorsque les cellules étaient cultivées à 0,5 % d'$O_2$, chimiorésistance induite par la voie de HIF-1α (X. Song et al. 2006). Il est à noter également que l'incubation en hypoxie était de 16 heures. Dans notre étude, les cellules étaient replacées après l'exposition aux chimiothérapies pour 72 h en condition d'hypoxie. Or l'hypoxie générée par l'embolisation est-elle durable dans le temps et si oui pour quelle durée ? Ainsi, outre d'autres pourcentages d'$O_2$, il serait donc aussi intéressant de tester l'efficacité des chimiothérapies avec d'autres durées d'hypoxie.

Dans notre étude, la réponse à la chimiothérapie variait en fonction de la sévérité de l'hypoxie. Il faudrait ainsi pouvoir corréler les taux d'hypoxie créés *in vitro* (1 % et 0,2%) et l'hypoxie tissulaire secondaire à une embolisation. L'hypoxie tissulaire devrait varier en fonction de l'agressivité de l'embolisation, elle-même liée au type d'agent d'embolisation utilisée, à leur taille, à leur quantité (point d'arrêt d'embolisation) ainsi qu'à la sélectivité (niveau d'occlusion sur les artères hépatiques par rapport à la localisation des lésions). Les recommandations issues d'opinions d'experts publiées en 2016 pour la technique de TACE lipiodolée (Thierry de Baere, Arai, et al. 2016) suggèrent l'utilisation soit de gélatine mais coupée en particules de 1-1,5 mm, soit l'utilisation de particules de 100-300 µm. Un cathétérisme super-sélectif permettant d'approcher au plus près la vascularisation tumorale est recommandé. En cas d'utilisation de gélatine, le point de d'arrêt angiographique doit être une stase complète en cas d'hypersélectivité alors c'est l'aspect d'arbre mort (near stasis ou presque stase) qui est recherché en cas de traitement moins sélectif.

Il serait donc opportun de pouvoir analyser l'hypoxie tissulaire après embolisation ou chimio-embolisation, en fonction des paramètres cités ci-dessus. Les tissus en normoxie ont des taux d'oxygène entre 40 et 60 mmHg. En hypoxie, le taux est abaissé en-dessous de 5 mm de Hg. Des mesures directes de pression d'$O_2$ des tissus peuvent être réalisées par sonde. Ce

type d'étude serait donc envisageable sur un modèle animal. D'autre part, l'imagerie permet également d'évaluer l'hypoxie tumorale. Pour cela, les techniques de TEP utilisant des traceurs de la famille des nitroimidazoles (18F-fluoromisonidazole , 18F-FAZA, …) sont utilisées pour mesurer quantitativement l'hypoxie (Mees et al. 2009; Huchet et al. 2009). De même l'imagerie IRM permet une approche de l'oxygénation tissulaire (O'Connor et al. 2016; O'Connor, Robinson, and Waterton 2019). L'évaluation par IRM de l'hypoxie post-embolisation pourrait se faire en clinique, grâce à l'expertise de ces techniques d'imagerie au sein de l'équipe CERVOxy. Une corrélation avec le suivi des patients pourrait permettre d'évaluer l'impact pronostique de l'hypoxie. Le microenvironnement impacté par les techniques de TACE peut aussi être évalué par l'IRM et/ou TEP (Savic et al. 2019).

Nous tenons à rappeler ici que le Prix Nobel de Médecine 2019 a été attribué aux découvreurs des mécanismes d'adaptation des cellules à l'hypoxie : William G. Kaelin Jr ; Sir Peter J. Ratcliffe et Gregg L. Semenza (Kaelin, Ratcliffe, and Semenza 2016).

# C. LES METASTASES HEPATIQUES DU CANCER COLO-RECTAL

## I. INTRODUCTION de l'étude 7 « Screening in vitro d'agents cytotoxiques sur différentes lignées cellulaires de cancer colorectal »

### 1. Epidémiologie des métastases hépatiques des cancers colorectaux

Que ce soit en France ou dans le monde, le cancer colorectal se situe au 3ème rang de tous les cancers (Jemal et al. 2011; Bray et al. 2015; J Ferlay et al. 2015). Les estimations nationales publiées en 2019 rapportent les informations suivantes (Bouvier et al. 2019) : « Le nombre de nouveaux cas de cancer colorectaux en France en 2018 est estimé à 43 336, dont 54 % chez l'homme. Le cancer colorectal est le troisième cancer le plus fréquent chez l'homme et le deuxième cancer le plus fréquent chez la femme. Les taux d'incidence standardisés Monde (TSM) sont de 34,0 cas pour 100 000 personnes-années chez l'homme et de 23,9 cas pour 100 000 personnes-années chez la femme (rapport hommes/femmes égal à 1,4). Avec 17 117 décès estimés en 2018 dont 54 % chez l'homme, le cancer colorectal se situe au deuxième rang des décès par cancer chez l'homme et au troisième rang chez la femme. Les taux de mortalité standardisés (TSM) sont respectivement de 11,5 et 6,9 (rapport hommes/femmes égal à 1,7) ». Le tableau 22 et la figure 82 résument les principaux indicateurs publiés en 2019.

| | Taux brut | Taux Standardisé Europe | Taux standardisé monde | Nombre de cas |
|---|---|---|---|---|
| **INCIDENCE** | | | | |
| **Homme** | 73,7 [71,0 ; 76,5] | 50,9 [49,1 ; 52,8] | 34,0 [32,7 ; 35,3] | 23 216 [22 381 ; 24 083] |
| **Femme** | 60,0 [58,1 ; 62,0] | 35,0 [33,8 ; 36,2] | 23,9 [23,1 ; 24,8] | 20 120 [19 463 ; 20 794] |
| **MORTALITÉ** | | | | |
| **Homme** | 29,2 [28,7 ; 29,7] | 18,4 [18,0 ; 18,7] | 11,5 [11,3 ; 11,7] | 9 209 [9 053 ; 9 369] |
| **Femme** | 23,6 [23,2 ; 24,0] | 10,8 [10,6 ; 11,1] | 6,9 [6,7 ; 7,0] | 7 908 [7 769 ; 8 054] |

*Tableau 22 : Principaux indicateurs en 2018 pour le cancer colorectal avec intervalles de confiance à 95% (Bouvier et al. 2019).*

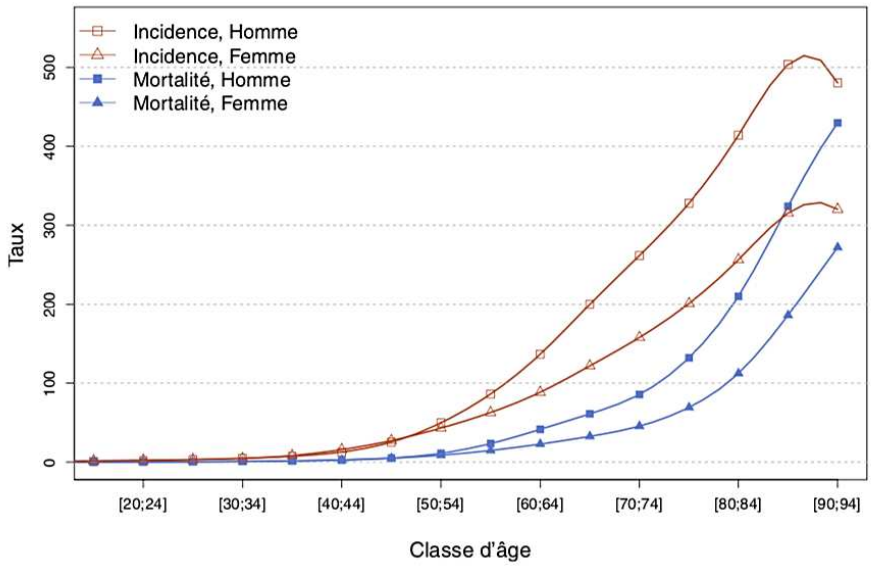



*Figure 82 : Taux d'incidence et de mortalité selon la classe d'âge en France en 2018 pour le cancer colorectal (Bouvier et al. 2019).*

Le foie est le site métastatique le plus fréquent. Les métastases hépatiques synchrones concernent jusqu'à 50% des patients (Bhutiani, Akinwande, and Martin 2016). La mortalité est principalement liée aux métastases hépatiques(Siegel et al. 2017). Le principal facteur de survie est la résécabilité des lésions hépatiques. Or, moins de 25% des patients sont éligibles à un traitement chirurgical avec résection complète (R0). La médiane de survie est de 28 à 46 mois et la survie à 5 ans de 24 à 40 %(J Ferlay et al. 2015).

## 2. Anatomopathologie et stades des cancers colorectaux

L'adénocarcinome est le type histologique le plus fréquent (95 % des cas). L'adénocarcinome de type lieberkühnien représente environ 80% et l'adénocarcinome mucineux ou colloïde muqueux 10%. Les autres types histologiques sont les carcinomes médullaires, les adénocarcinomes à cellules en bague à chaton, les carcinomes épidermoïdes, adénosquameux, à petites cellules ou tumeur maligne indifférenciée.

D'un point de vue génétique, il existe 2 types de cancers colorectaux :

- les cancers avec instabilité chromosomique (85 %) ;
- les cancers avec instabilité des microsatellites (15 %) , dénommés cancers MSI +

Les instabilités des microsatellites sont liées à une défaillance du système de réparation des mésappariements de l'ADN appelé système MMR (*MisMatchRepair*). Ce système est composé de 4 gènes appelés *MLH1, MSH2, MSH6* et *PMS2*. Les protéines codées par ces gènes peuvent identifier et réparer des erreurs commises lors de la réplication de l'ADN. Les microsatellites sont des séquences d'ADN réparties sur l'ensemble du génome dont la structure est répétitive. C'est cette structure répétitive qui les rend sujets aux erreurs de réplication en cas de défaillance du système MMR.

Les cancers MSI+ peuvent être sporadiques (15 à 20 % des cancers) ou familiaux (la quasi-totalité des cancers colorectaux survenant dans le contexte du syndrome de Lynch).

D'un point de vue clinique les cancers MSI+ ont un meilleur pronostic mais une moindre sensibilité à la chimiothérapie par 5-FU (Buecher et al. 2011) En pratique, la recherche d'une instabilité des microsatellites est indiquée pour les cancers coliques opérés à visée curative (stade II), pour tous les patients de moins de 60 ans et les cancers colorectaux suspects de survenir dans le contexte d'un syndrome de Lynch. Cette recherche peut soit être pratiquée par immunohistochimie (mise en évidence d'une perte d'expression d'une protéine MMR, principalement MLH1 ou MSH2) dans les cellules tumorales soit par PCR à partir de l'ADN tumoral.

D'autres critères doivent être analysés pour décider d'une chimiothérapie adjuvante post opératoire. D'après l'INCa (Institut National du Cancer, 2011), l'examen anatomopathologique doit obligatoirement préciser :

- le type histologique selon la classification OMS en vigueur avec son grade de différenciation ;
- les éléments nécessaires pour définir le stade pTN de la tumeur :
    - pour la tumeur : degré d'infiltration de la paroi colorectale ou du mésorectum et des organes adjacents / présence d'une perforation en zone tumorale / présence de dépôts tumoraux dans le méso (lame porte vaisseaux)
    - pour les ganglions : nombre de ganglions envahis par rapport au nombre de ganglions prélevés / présence d'un engainement périnerveux ou d'emboles vasculaires
    - qualité de l'exérèse ( limites proximale et distale saines ou non ; en cas de cancer du rectum : marge circonférentielle).

La recherche d'une mutation du gène KRAS, prédictif de résistance aux anti-EGFR peut être réalisée sur l'ADN tumoral.

La classification des cancers colorectaux proposée par l'AJCC (*American Joint Committee on Cancer*) et l'UICC (*Union for International Cancer Control*) est celle recommandée par le thésaurus national de cancérologie digestive (TNCD). La classification TNM (*Tumor Nodes Metastasis*) a été mise à jour en 2017 (TNM 8ème édition) (Keung and Gershenwald 2018). L'infiltration tumorale en profondeur dans la paroi peut également être classée selon une ancienne classification qui est encore souvent utilisée. Il s'agit de la Classification de Dukes (1932) modifiée par Astler Coller (1954).

La présence de métastases hépatiques fait classer les patients en M1 du TNM et au stade IV de l'UICC.

## 3. Traitements intra-artériels des métastases hépatiques de cancer colorectaux (hors SIRT)

Dans sa mise à jour de janvier 2019, le TNCD rappelle que « malgré le progrès des chimiothérapies et des thérapies ciblées, seule la résection ou la destruction des lésions par un traitement local peut permettre la rémission complète et parfois la guérison ».

### a. La chimioembolisation aux billes chargées (DEB-TACE)

Les premiers articles portant sur les traitements par chimioembolisation artérielle de métastases hépatiques de cancer colorectal datent du début des années 2000. Une étude préliminaire de 2006 ayant porté sur 10 patients, a évalué la faisabilité et la sécurité du traitement (C Aliberti et al. 2006). Les auteurs ont mis en évidence une réduction de 50 % de l'ACE (antigène carcino-embryonnaire) à 1 mois et une réduction de la prise de contraste des lésions en imagerie. La technique de TACE utilisée est basée sur l'utilisation de billes chargées en irinotecan (Camillo Aliberti et al. 2006). L'étude de phase 2 de la même équipe, sur 20 patients, a conclu à une bonne tolérance, une amélioration de la qualité de vie pour 18 patients, un taux de réponse selon les critères RECIST (*Response Evaluation Criteria in Solid Tumor*) de 80 % (Fiorentini et al. 2007). Puis en 2011, 82 patients étaient inclus après échec du traitement par chimiothérapie systémique, pour un total de 185 séances de TACE (Camillo

Aliberti et al. 2011). Le taux de réponse à 3 mois était de 78 %, la survie médiane à 25 mois et la survie sans progression de 8 mois. Une autre équipe a publié en 2009 les données d'un registre sur 30 patients, simple bras, TACE après échec de chimiothérapie, avec pour résultats : une réponse en RECIST 1.1 (de 75 % à 3 mois et 66 % à 6 mois (R. C. G. Martin et al. 2009). En 2012, une étude de phase 3 comparait un traitement par DEBIRI ( Billes chargées en Irinotecan) versus FOLFIRI en intra veineux (Fiorentini et al. 2012). Sur 74 patients randomisés, la survie à 50 mois était supérieure dans le groupe DEBIRI. La médiane de survie globale, la survie sans progression et la progression extra hépatique étaient respectivement de 22 mois, 7 mois et 13 mois pour le groupe DEBIRI versus 15, 4 et 9 mois pour le groupe FOLFIRI. Néanmoins, les données sur la TACE dans le traitement des métastases colorectales manquent de preuve de niveau élevé (D. M. Liu et al. 2015). Une voie de recherche semble s'orienter vers une association avec les thérapies ciblées (bevacizumab, aflibercept, regorafenib) (Fiorentini et al. 2014).

A l'heure actuelle, il n'existe pas de données d'étude randomisée en situation néo-adjuvante ou adjuvante de la résection de métastases hépatiques mais uniquement des séries de cas (Jones et al. 2016). Un essai de phase II monobras a testé la combinaison DEBIRI plus FOLFOX en 1ère ligne de traitement mais les résultats de cette étude ne sont pas disponibles (essai FFCD 1201).

Il n'y a pas d'autre drogue que l'irinotecan évaluée pour traiter les lésions hépatiques de cancer colorectal par DEB-TACE.

La SNFGE recommande (grade B) l'utilisation de la chimioembolisation aux billes chargées à l'irinotecan en situation palliative en cas de maladie résistante à la chimiothérapie systémique.

### b. La chimioembolisation lipiodolée (cTACE)

En parallèle de la TACE aux billes chargées par Irinotecan, la chimioembolisation lipiodolée a été testée. Une première expérience a été publiée en 1993 par Lang et al.(Lang and Brown 1993). L'agent cytotoxique utilisé était la doxorubicine. Les auteurs concluaient que les résultats excellents (amélioration de la survie moyenne, augmentation du temps sans progression) devaient faire recommander l'utilisation de cette technique, bien tolérée, chez les patients avec métastases hépatiques disséminées(Lang and Brown 1993). Très peu

d'études ont été finalement publiées sur la c-TACE dans cette indication (Martinelli et al. 1994; Sanz-Altamira et al. 1997; Tellez et al. 1998; Vogl et al. 2009; Gadaleta and Ranieri 2011). L'étude rapportant le plus grand nombre de patients était celle de Vogl et al. en 2009 (463 patients) (Vogl et al. 2009). La cTACE était réalisée pour des mCCR non résécables n'ayant montré aucune réponse, une progression ou une toxicité après chimiothérapie systémique. Trois schémas de chimiothérapie ont été utilisés : Mitomycine C seule, Mitomycine C plus gemcitabine, Mitomycine C plus irinotecan. Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les 3 groupes (Vogl et al. 2009). La survie à 1 an était de 62 % et de 28 % à 2 ans.

Le TNCD ne donne aucune recommandation sur l'utilisation de la c-TACE pour le traitement des métastases hépatiques de cancer colorectal.

### c. La chimiothérapie intra artérielle hépatique (CIAH)

La floxuridine (FUDR) a été largement évaluée en CIAH de par son fort taux d'extraction hépatique (Buroker et al. 1976; Yehuda Z. Patt et al. 1980; Ridge, Sigurdson, and Daly 1987; J. K. Martin et al. 1990; Rougier et al. 1992; Allen-Mersh et al. 1994). Entre 1987 et 2003, une dizaine d'études randomisées ont comparé les taux de réponse et la survie médiane entre CIAH de floxuridine et la chimiothérapie intra veineuse (5-FU ou FUDR) pour le traitement des métastases hépatiques non résécables (Mocellin et al. 2007; Mocellin, Pasquali, and Nitti 2009; Pwint, Midgley, and Kerr 2010). Toutes ces études ont rapporté un taux de réponse globale très élevé pour les groupes CIAH, en revanche aucune différence significative en termes de survie globale par rapport aux traitements systémiques n'a été observée (Mocellin et al. 2007; Mocellin, Pasquali, and Nitti 2009; Pwint, Midgley, and Kerr 2010). À la vue de ces résultats, l'utilisation du FUDR seule en CIAH n'a pas été soutenue. On peut toutefois souligner le fait que les pompes étaient implantées chirurgicalement avec de nombreux problèmes techniques qui ont sans doute grevé le pronostic.

La chimiothérapie systémique a évolué avec l'apparition de nouvelles drogues telles que irinotecan et oxaliplatine. La CIAH a ainsi pu être évaluée en association avec ces drogues administrées par voie systémique et notamment pour évaluer l'efficacité en traitement néoadjuvant (Kemeny et al. 2005). Bien que l'irinotecan et l'oxaliplatine n'aient pas montré autant de bénéfice pharmacologique que le FUDR en intra-artériel sur des modèles

expérimentaux ou humains(Johanna M G H van Riel et al. 2002; Dzodic et al. 2004), ces drogues ont été administrées en CIAH avec de meilleurs résultats pour l'oxaliplatine (Ducreux et al. 2005; Boige et al. 2008). Les modèles mathématiques mettant en évidence l'avantage ($R_d$) de l'infusion intra-artériel vs intra-veineux ont été formulés et sont exprimés par l'équation suivante (H. S. Chen and Gross 1980; Collins 1984) :

$$Rd = \frac{1 + Cl_{TB}}{Q\ (1 - E)}$$

$Cl_{TB}$ correspond à la clearance totale (total body clearance), Q correspond au flux artériel à l'organe cible et E le taux d'extraction de la drogue par l'organe cible. On comprend ainsi que les chimiothérapies les meilleures pour ces traitements sont celles ayant une clearance totale élevée, une demi-vie courte et un taux d'extraction hépatique élevé.

La CIAH a aussi été évaluée comme traitement adjuvant après chirurgie hépatique (Pwint, Midgley, and Kerr 2010). Les auteurs de cette revue concluent que la CIAH seule ne permet pas de contrôler la progression extra-hépatique et que l'association avec un traitement systémique est nécessaire, bien que le bénéfice n'ait pu être démontré que dans des études non randomisées à faible effectif (Pwint, Midgley, and Kerr 2010). En 2016, un essai (OPTILIV) évaluait la CIAH avec irinotecan, oxaliplatine et 5-FU combinée au bevacizumab comme traitement de down-staging (diminution du stade tumoral) pré-opératoire (Lévi et al. 2016). La littérature de la CIAH reste complexe et parfois confuse du fait de l'absence d'études publiées de phase III notamment en comparaison des protocoles actuels de chimiothérapie.
Deux essais cliniques sont en cours :

- PACHA 01 : CIAH adjuvante chez les patients à risque élevé de récidive hépatique après résection de métastases hépatiques d'origine colorectale ;
- OSCAR : Oxaliplatine systémique ou en CIAH combiné au LV5FU2 et une thérapie ciblée en première ligne de traitement des cancers colorectaux métastatiques limités au foie. Phase III randomisée multicentrique.

Le TNCD recommande la CIAH :

- En post-opératoire associée à une chimiothérapie systémique en cas de probable missing métastases ou à haut risque de récidive (grade C) ;
- En pré-opératoire associée à une chimiothérapie systémique si la chimiothérapie systémique seule n'a pas permis un down staging suffisant ou ne permettra pas un down staging suffisant (grade C) ;
- En situation palliative en cas de maladie résistante à la chimiothérapie systémique (grade C).

Dans le TNCD les auteurs insistent sur le fait que la CIAH est une technique complexe, réalisée dans peu de centres.

Les recommandations concernant l'utilisation des traitements intra-artériels (i.a.) pour les métastases de cancer colorectal ne sont pas de grade élevé (grade B pour la DEB-TACE à l'irinotecan et grade C pour la CIAH). De plus, parmi l'arsenal thérapeutique déjà abondant, il faut réfléchir à la place des traitements i.a. soit en intensification de traitement après une réponse insuffisante aux protocoles classiques (association de 3 drogues ± thérapie ciblée), soit en rattrapage, lorsque les chimiothérapies classiques ne sont plus efficaces (notamment chez les RAS mutés) ou encore en palliatif pour les mCCR non résécables.

Des études randomisées comparant ces techniques aux traitement systémiques (ou en association) manquent. Des études comparant ces techniques entre elles manquent également. Le choix de la chimiothérapie que ce soit pour la CIAH ou pour la TACE est basé sur des études émanant d'évaluations intra-veineuses. Or les temps de contact tumeur-drogue entre une injection intra-artérielle et une injection intra-veineuse sont complètement différents. Varella et al. (2007) ont montré que le temps maximal de contact entre les tumeurs et les drogues injectées en intra-artériel ne dépassait pas 40 minutes (Varela et al. 2007). Or la totalité des évaluations même *in vitro* des chimiothérapies se fait avec des temps de contact de 14 à 96 heures.

Même si l'injection intra-artérielle donne quelques avantages à l'oxaliplatine, la pharmacocinétique de l'oxaliplatine et de l'irinotecan n'est pas optimale en injection intra-artérielle (Johanna M G H van Riel et al. 2002; Dzodic et al. 2004). C'est pourtant l'oxaliplatine qui est utilisée dans les 2 essais cliniques de phase III en cours (PACHA 01 et OSCAR). En revanche la pharmacocinétique de l'irinotecan chargée sur billes semblerait plus favorable sur

un modèle de tumeur hépatique animal ( VX2) (Rao et al. 2012). On rappelle ici que l'irinotecan n'est qu'une pro-drogue et que son métabolite actif est le SN38.

Concernant la TACE, très peu d'études sont disponibles à ce jour, avec une hétérogénéité des drogues utilisées ainsi que des techniques d'embolisation, comme pour le CHC. Les travaux les plus récents portent sur la TACE lipiodolée à base d'oxaliplatine (Frederic Deschamps et al. 2018).

La CIAH n'est pas une technique très répandue et réservée aux centres experts, avec de nombreux problèmes techniques que ce soit à la pose ou en entretien. Ceci en limite sa diffusion en pratique courante. Il ne faut pas non plus omettre les effets secondaires et complications de ces traitements, notamment liés à la toxicité hépatique de l'oxaliplatine (Allard et al. 2015; Xing et al. 2014). En revanche, la TACE est largement répandue et de mise en œuvre moins complexe. Trouver une drogue efficace et peu toxique pour la TACE dans le traitement des mCCR a tout son sens. Cette drogue n'est pas nécessairement la même que celle utilisée pour la CIAH ni pour les traitements systémiques.

Bien entendu, les traitements intra-artériels ne sont envisageables qu'avec une fonction hépatique conservée (bilirubinémie < 2N)(Xing et al. 2014).

Bien qu'il soit établi que les tumeurs hépatiques de plus de 5 mm sont vascularisées par le système artériel hépatique et non pas par le réseau porte, on ne peut occulter le fait que sur un scanner hépatique injecté au temps artériel, les métastases de cancer colorectal ne sont pas aussi bien hypervascularisées que les CHC, les métastases de tumeurs neuroendocrines ou encore les métastases de mélanomes. Ainsi, on peut se demander si la dévascularisation (embolisation) prend une part prépondérante dans la réponse tumorale. Contrairement aux CHC pour lequel la part de l'embolisation dans l'efficacité de la TACE reste encore en discussion, on peut a priori penser qu'elle ne serait pas prépondérante pour les mCCR.

## II. OBJECTIFS de l'étude 7

L'objectif de cette étude est de trouver in vitro le ou les meilleur (s) agent(s) cytotoxiques sur des lignées cellulaires de CCR, dans des conditions d'exposition similaires aux traitements intra-artériels c'est-à-dire avec des temps d'exposition court (30 minutes).

# III. MATERIELS ET METHODES de l'étude 7

## 1. Les lignées cellulaires

Le choix des lignées de cancer colorectal utilisées pour cette étude est basé sur la représentativité des différentes anomalies génétiques du cancer colorectal, à savoir les mutations BRAF, KRAF, p53 ainsi que les instabilités chromosomiques ou des microsatellites. En dehors des lignées de cancer primitif, le travail porte également sur des lignées métastatiques de CCR. Une présélection à partir des lignées disponibles à l'American Type Culture Collection (ATCC) a été faite.

Cette étude est réalisée en collaboration avec l'équipe INSERM U1194 de Montpellier, qui travaille depuis de nombreuses années sur le CCR et notamment avec des approches in vitro sur les lignées cellulaires de CCR.

La corrélation entre nos critères de sélection de lignées et les lignées disponibles via l'unité INSERM, a permis un choix final consensuel de 6 lignées cellulaires (HT 29, HCT 116, CaCO2, SW 48, SW 480, SW 620), toutes issues de l'ATCC.

Toutes les caractéristiques des 6 lignées sont résumées dans le tableau 23.

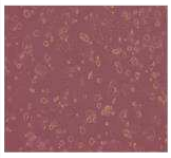
| Nom des lignées cellulaires de CCR | HT-29 | SW480 | SW620 | SW48 | Caco-2 | HCT116 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| (Numéro ATCC) | (HTB-38) | (CCL-228) | (CCL-227) | (CCL-231) | (HTB-37) | (CCL-247) |
| Image en MO (J1; X20) | | | | |  | |
| Maladie | Adénocarcinome colorectal | Adénocarcinome colorectal | Adénocarcinome colorectal | Adénocarcinome colorectal | Adénocarcinome colorectal | Adénocarcinome colorectal |
| Type de Dukes | na | B | C | C | na | na |
| Grade | na | na | na | IV | na | na |
| Site métastatique | | | x | | | |
| Age (ans) | 44 | 50 | 51 | 82 | 72 | na |
| Genre | female | male | male | female | male | male |
| Ethnie | caucasien | caucasian | caucasian | caucasian | caucasian | na |
| Gènes exprimés | CEA | EGF | CEA | CEA | EGF | CEA |
| Mutation p53 | x | x | x | | x | |
| K-ras muté | x | x | x | | | x |
| B-raf muté | x | | x | | | |
| CIN | x | x | | | | |
| MSS/MSI | MSS | MSS | MSS | MSI | MSS | MSI |

*Tableau 23 : Résumé des caractéristiques des lignées cellulaires de CCR utilisées dans l'étude de screening.*

Toutes les lignées cellulaires ont été cultivées selon les recommandations du laboratoire, à savoir en RPMI (Roswell Park Memorial Institute) 1640 supplémenté en sérum de veau fœtal (SVF) décomplémenté à 10 %, excepté pour la lignée cellulaire $CaCo_2$ supplémentée à 20 % de SVF, avec de la L-glutamine (2 mM) et pénicilline-streptomycine (1 %). Les cellules étaient maintenues dans un incubateur à 37 °C dans une atmosphère humide contenant 95 % d'$O_2$ et 5 % de $CO_2$ en dehors des temps de manipulation. Les lignées ont été testées afin d'exclure une contamination en mycoplasme.

## 2. Les chimiothérapies

Les chimiothérapies choisies étaient celles utilisées couramment pour le traitement systémique des cancers colorectaux en 1ère ligne : l'oxaliplatine, le 5-FU, l'irinotecan, le raltitrexed utilisé en cas de contre-indications aux fluoropyrimidine ainsi que le paclitaxel.
Les chimiothérapies utilisées en chimioembolisation artérielle hépatique ou en infusion intra-artérielle hépatique : la doxorubicine, la gemcitabine, la mitomycine C, le cisplatine, l'idarubicine, l'épirubicine et la streptozocine ont également été évaluées.

Parmi les anticorps monoclonaux indiqués dans le traitement de 1ère ligne du mCCR, seul le bevacizumab est sous forme perfusable (liquide). Il a été logique de l'inclure dans notre étude. Le vecteur et agent de contraste utilisé en cTACE (lipiodol) a également été testé.
Au total 14 molécules ont été retenues pour être évaluées.

Les doses choisies pour les concentrations maximales étaient les concentrations les plus élevées disponibles pour les agents en solution et les plus élevées après reconstitution pour les poudres selon les recommandations des fabricants.

Toutes les molécules ont été préparées de façon stérile par l'Unité de Préparation des Cytostatiques du CHU de CAEN, grâce à la collaboration des Dr Chedru-Legros et Breuil, en dehors du raltitrexed, non disponible à la pharmacie de notre hôpital. Celui-ci a donc été acheté au distributeur Sigma-Aldrich sous forme de poudre et reconstitué dans notre laboratoire, sous PSM, selon les recommandations du fabricant.

Le tableau 24 résume les différentes molécules testées, en fonction de leur appartenance aux familles pharmaceutiques, sous catégories, dénomination commune internationale (DCI) et nom de marque.

| Famille pharmaceutique | Sous-catégorie | DCI | Nom de marque® | C max utilisée pour l'étude | Concentration commerciale | forme | | Laboratoire |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Modificateur de l'ADN | Anthracyclines | Idarubicine | ZAVEDOS ® | 1 mg/ml | 10mg/10ml | solution | pharmaceutique | PFIZER France |
| | | Doxorubicine | DOXORUBICINE | 2 mg/ml | 200mg/100ml | solution | pharmaceutique | TEVA SANTE France |
| | | Epirubicine | EPIRUBICINE | 2 mg/ml | 50mg/25ml | solution | pharmaceutique | MYLAN SAS |
| | Inhibiteur de l'ADN topoisomérase | Irinotecan | IRINOTECAN | 20mg/ml | 500mg/25ml | solution | pharmaceutique | HOSPIRA France SAS |
| Agent alkylant | Antibiotique alkylant | Mitomycine C | AMETYCINE® | 1mg/ml | 10mg | poudre | pharmaceutique | KYOWA KIRIN PHARMA France |
| | Dérivés du platine | Oxaliplatine | OXALIPLATINE | 5mg/ml | 200mg/40ml | solution | pharmaceutique | ACCORD HEALTHCARE SAS |
| | | Cisplatine | CISPLATINE | 1 mg/ml | 100mg/100ml | solution | pharmaceutique | ACCORD HEALTHCARE SAS |
| | Antibiotique antitumoral | Streptozotocine | ZANOZAR® | 200 mg/ml | 1g | poudre | pharmaceutique | Laboratoire KEOCYT |
| Antimétabolite | | 5 FU | FLUOROURACILE | 50mg/ml | 5g/100ml | solution | pharmaceutique | ACCORD HEALTHCARE SAS |
| | | Gemcitabine | GEMCITABINE | 38mg/ml | 38mg/ml | solution | pharmaceutique | HOSPIRA France SAS |
| | | Raltitrexed | RALTITREXED | 0,5mg/ml | 2 mg | poudre | chimique pure | SIGMA-ALDRICH |
| Poison du fuseau | Taxane | Paclitaxel | PACLITAXEL | 6 mg/ml | 300mg/50ml | solution | pharmaceutique | HOSPIRA France SAS |
| Anticorps monoclonal | Anticorps Anti VEGF | Bevacizumab | AVASTIN® | 25mg/ml | 400mg/16ml | solution | pharmaceutique | ROCHE France |
| Produit de contraste iodé | | Lipiodol | LIPIODOL Ultra-Fluide® | 480 mg I /ml | 480mg Iode / ml | solution | pharmaceutique | GUERBET France |

*Tableau 24 : Tableau récapitulatif des molécules utilisées pour le screening des lignées cellulaires de cancer colo-rectal.*

En dehors du raltitrexed, les molécules étaient préparées le matin même du jour du test par l'UPC. Elles étaient récupérées sous forme de seringue de 10 ml, stériles, dans des pochettes protectrices, opaques, 4 par 4. Elles étaient conservées à 4 °C. Trente minutes avant la réalisation du test, elles étaient transvasées sous hotte stérile dans des aliquots puis mises au bain marie à 37 °C pour ne pas créer de choc thermique sur les cellules lors de la mise en contact.

## 3. La méthode de screening

Comme pour le screening des mélanomes de l'uvée, des plaques 96 puits ont été utilisées. Une plaque correspond à une lignée cellulaire et 2 drogues sont testées sur une même plaque. Chaque puits contient le même nombre de cellules, ce nombre ayant également été définie par une expérimentation préliminaire. La densité d'ensemencement choisie a été de 10 000 cellules par puits pour toutes les lignées. La méthode de décollement des cellules est identique à celle précédemment décrite. Une partie des cellules étaient remises en culture et l'autre partie servait pour la mise en plaques.

Pour chaque J0 des tests, les plaques sont ainsi préparées afin de pouvoir tester 4 chimiothérapies par séance. Les plaques sont ensuite remises en culture dans l'incubateur pour 24 heures.

A J1, les chimiothérapies sont préparées après avoir été récupérées à l'UPC du CHU (voir le chapitre sur le screening des lignées cellulaires d'UM). Dans le même temps, les cellules en puits sont passées à un milieu de culture appauvri en SVF (0,5%) pour ne pas interférer avec les drogues. La dépose des chimiothérapies dans les différents puits est identique à celle précédemment décrite mais les dilutions successives sont au tiers. Pour chaque condition, 4 répliquât (n=4) sont réalisés.

Les drogues sont laissées en contact avec les cellules 30 minutes à 37 °C (dans l'incubateur), avant d'être rincées 2 ou 3 fois en cas de viscosité élevée avec du RPMI à 0,5 % de SVF. Les plaques sont ensuite replacées dans l'incubateur pour 72 heures en RPMI 0,5 %. L'expérience a été répétées 3 ou 4 fois (N=3 ou N=4). La période totale pour la réalisation des tests a été de 4 mois.

## 4. Evaluation de la viabilité cellulaire

Le même réactif (WST-1) que pour les mélanomes de l'uvée a été utilisé pour ce screening. Les densités optiques (DO) obtenues sont ordonnées par lignée et par chimiothérapie.

Afin de vérifier l'absence d'effet sur la viabilité cellulaire du RPMI 0,5 % versus le RPMI 10 % ou 20 % SVF, un test préliminaire a été réalisé. Sur une plaque 96 puits, chaque lignée cellulaire a été ensemencée sur une ligne complète à J0. A J1, le milieu a été changé pour 30 minutes en RPMI 0,5% puis rincé. La moitié des colonnes a ensuite été repassée en RPMI 0,5 % pour 72 heures et l'autre moitié en RPMI 10% sauf pour les CacO2 passées en RPMI 20 %. A J4, le WST1 a été déposé dans chaque puits (10 µl /puits). Après 2 heures d'incubation, les DO ont été relevées puis analysées.

L'analyse n'a permis d'objectiver aucune différence entre les DO en RPMI0,5% et celles en RPMI 10 ou 20% SVF.

## 5. Analyse et représentation des résultats sur la viabilité cellulaire

Aucun effet bord n'a été observé dans cette étude. Nous avons donc gardé les DO obtenus dans la totalité des puits.

Toutes les DO ont été normalisées par rapport au contrôle. Pour chaque répétition d'expérience (N), la moyenne des 4 répliquât a été calculée. Ensuite la moyenne obtenue pour chaque « N » a été calculée ainsi que l'écart type. Ces moyennes et ET des DO ont été représentées sur des graphiques de viabilité cellulaire, en fonction de chaque molécule (14). Les ET sont représentés uniquement par leurs valeurs positives. Les 6 lignées y sont à chaque fois représentées. Une ligne rouge horizontale passant par 10 % de viabilité cellulaire (90 % de mort cellulaire) est représentée. Nous avons également représenté la viabilité cellulaire par lignée, en fonction des différentes chimiothérapies. Sur l'axe des abscisses sont représentées les dilutions et non pas les valeurs exactes de concentration de chimiothérapie.

L'analyse spectrophotométrique est une analyse indirecte de la viabilité cellulaire. Parmi les chimiothérapies utilisées, certaines étaient colorées. De plus le RPMI est de couleur rouge. Nous avons donc calculé les DO des drogues pour chaque concentration (C Max et les dilutions avec le RPMI), ainsi que les DO du RPMI seul pour les contrôles, afin d'évaluer le bruit de fond

et permettre le calcul suivant. Seules les DO pour la C Max de la doxorubicine et les 2 premières dilutions ont été modifiées ainsi que les DO pour la C Max du Paclitaxel. La DO du RPMI seul était de 0,009. Ces expériences ont été réalisées 3 à 4 fois (N=3-4).

Les données dose-réponse ont été représentées selon un modèle de régression non linéaire à 4 paramètres, adapté selon l'équation de Hill (Hill 1910).

$$\frac{DO(c) - DO_{baseline}(c)}{DO(0)} = \alpha + \frac{1-\beta}{1+\frac{c^{\delta}}{\gamma}}$$

Dans cette équation c correspond à la concentration de la drogue, DO $(c)$ à la densité optique (DO) à la concentration de la drogue $(c)$ ; $DO_{baseline}(c)$ correspond à la DO du RPMI et de la drogue seule et $(\alpha, \beta, \gamma, \delta)$ aux 4 paramètres estimés. La courbe dose-réponse du raltitrexed présentant une courbe à double plateau, les données du raltitrexed ont été analysées selon une courbe dose-réponse biphasique correspondant à la somme de 2 fonctions de Hill. Le logiciel de traitement de données, Matlab (MathWorks® ; R2018b ; Natick ; Etats-Unis) a permis de réaliser les courbes fitées et d'extraire les $IC_{50}$ et $IC_{90}$ qui correspondent à la concentration de drogue nécessaire pour obtenir 50 et 90% de mort cellulaire respectivement. Ensuite, dans le but de pouvoir comparer les drogues entre elles, nous avons, comme pour les UM, calculé les index de cytotoxicité des drogues pour les IC90, selon la définition de Boulin et al.(Mathieu Boulin et al. 2011). Pour chaque lignée cellulaire, la moyenne des $CyI_{90}$ était testée avec une ANOVA à un facteur. Dans le cas de variance significative, un test de comparaisons multiples (post-hoc) était réalisé (HSD Tukey). Une valeur de $p<0,05$ était considérée comme significative. Les résultats ont été représentés pour chaque lignée (6) sous forme d'histogramme. En cas significativité un astérisque * était positionné entre les conditions concernées. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel Statistica (TIBCO® Software ; 13.4.0.14; Palo Alto ; Etats-Unis). Les lignées ont également été regroupées pour la même analyse afin d'obtenir éventuellement la meilleure drogue quelle que soit la lignée.

# IV. RESULTATS de l'étude 7

On rappelle ici que les dilutions des drogues sont basées sur une dilution au tiers.

Sont représentées ci-dessous les courbes de viabilité cellulaire pour le lipiodol et le bevacizumab (figures 83 et 84).

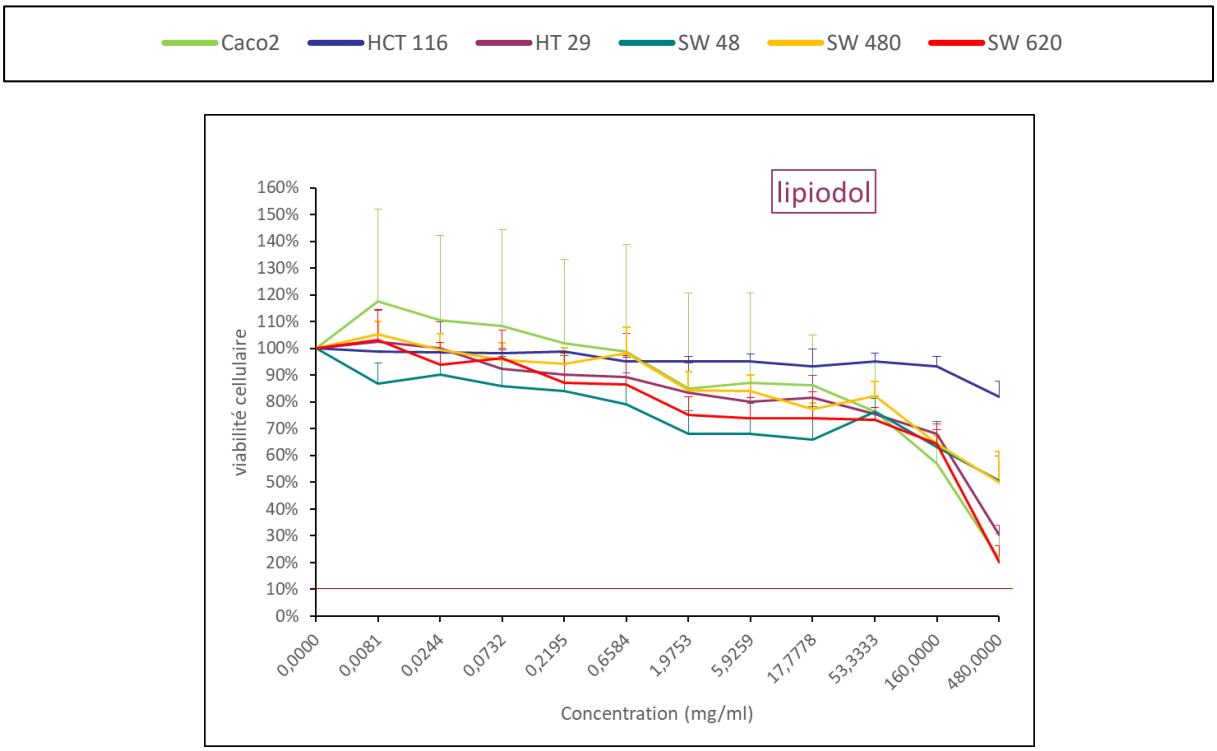



*Figure 83 : Courbe de viabilité des 6 lignées cellulaires de CCR, mises en contact 30 minutes à J1 avec le lipiodol. Analyse de la viabilité à J4.*

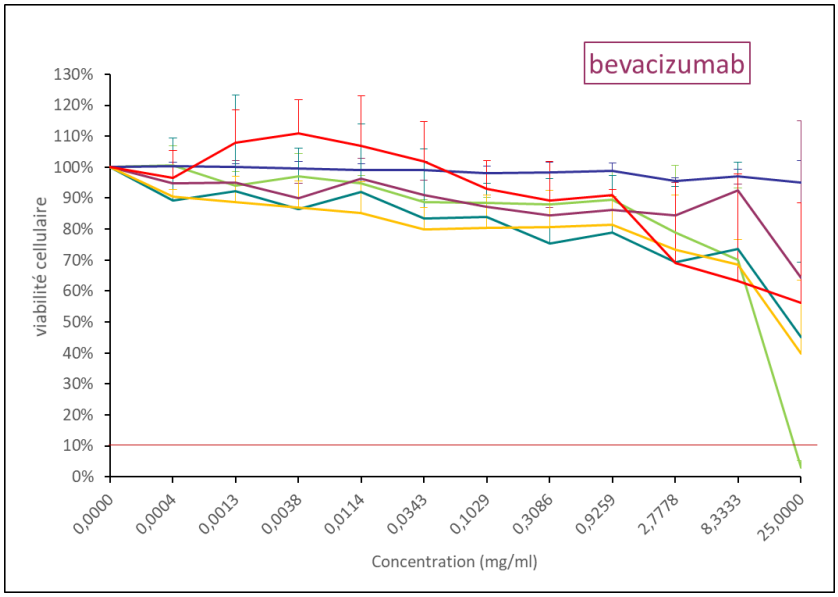



*Figure 84 : Courbe de viabilité des 6 lignées cellulaires de CCR, mises en contact 30 minutes à J1 avec le bevacizumab. Analyse de la viabilité à J4*

On observe ici, même aux concentrations les plus élevées, une toxicité quasi nulle en dehors du bevacizumab sur $CaCO_2$ à la concentration maximale. L'effet plateau est précoce. Il n'existe pas d'effet dose.

Ci-dessous, sont représentées les courbes de viabilité cellulaire pour les drogues les plus utilisées dans le traitement systémique du CCR et notamment dans le protocole FOLFOX 4 soit le 5-FU et l'oxaliplatine (figures 85 et 86).

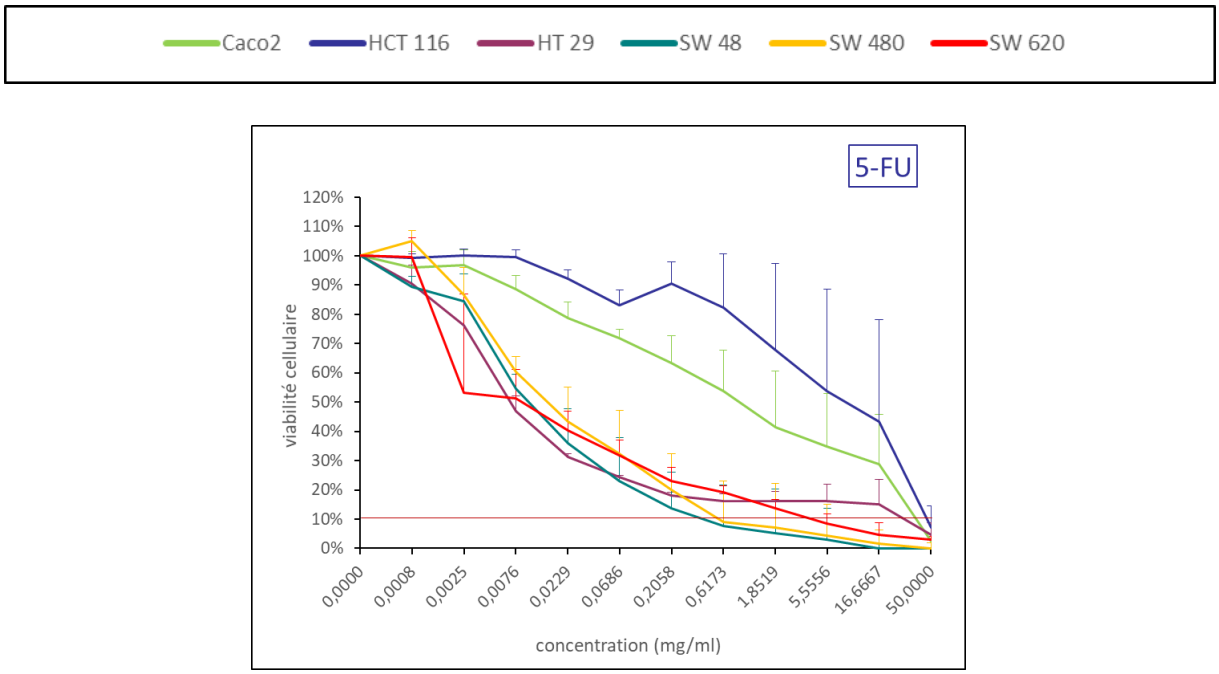



*Figure 85 : Courbe de viabilité des 6 lignées cellulaires de CCR, mises en contact 30 minutes à J1 avec le 5-FU. Analyse de la viabilité à J4.*

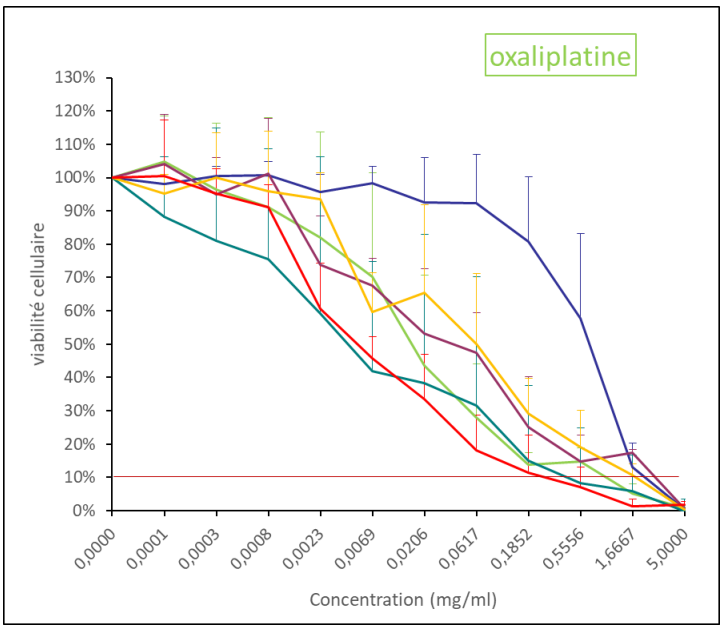



*Figure 86 : Courbe de viabilité des 6 lignées cellulaires de CCR, mises en contact 30 minutes à J1 avec l'oxaliplatine. Analyse de la viabilité à J4*

Les lignées HCT 116 et $CaCO_2$ sont rapidement résistantes au 5-FU et à l'oxaliplatine avec un effet dose. La lignée HCT 116 est rapidement résistante à l'oxaliplatine. Pour les autres lignées, on note un effet cytotoxique maintenu sur les 4 premières concentrations avec le 5-FU alors qu'avec l'oxaliplatine, on note un effet dose après les 2 premières dilutions.

L'irinotecan, drogue utilisée pour le traitement par TACE aux billes chargées est présenté ci-dessous (figure 87). L'irinotecan est également la chimiothérapie associée au 5-FU dans le protocole systémique FOLFIRI.

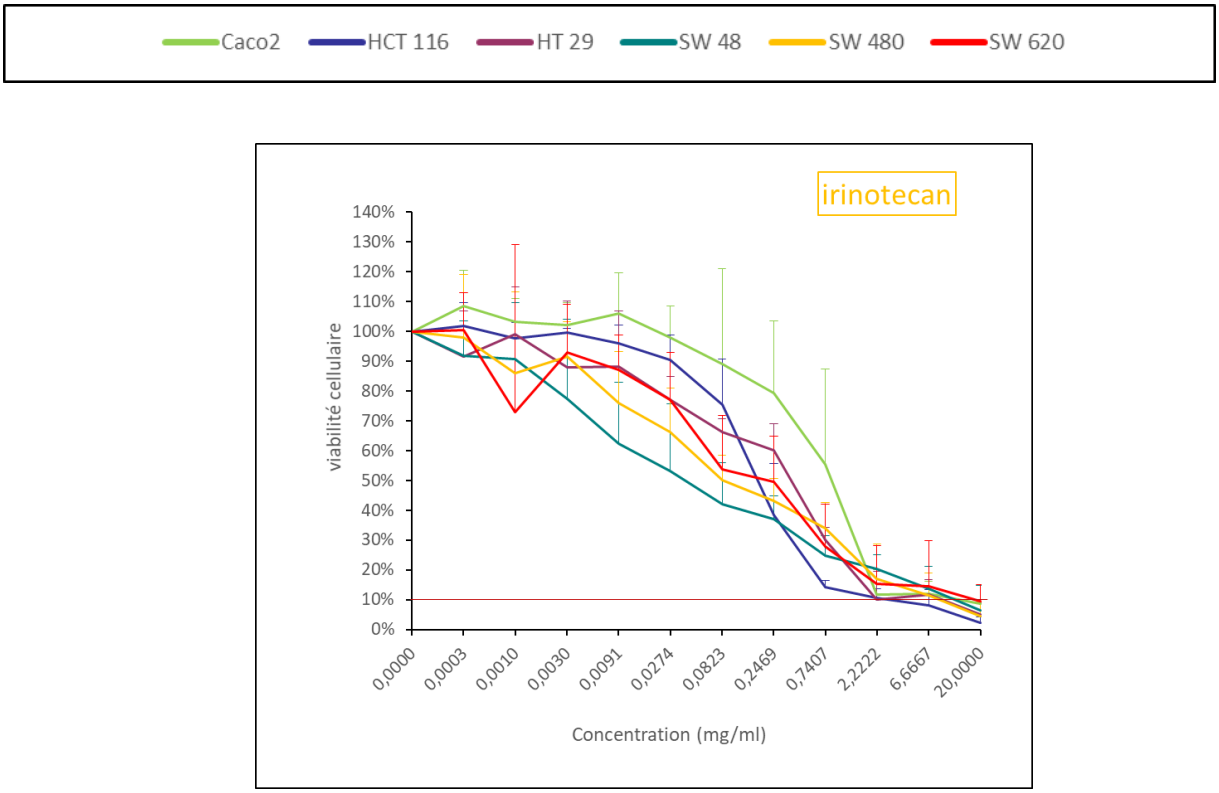



*Figure 87 : Courbe de viabilité des 6 lignées cellulaires de CCR, mises en contact 30 minutes à J1 avec l'irinotecan. Analyse de la viabilité à J4*

Pour l'irinotecan, on note un effet dose marqué après 2 dilutions et ce pour toutes les lignées. La lignée Ca $CO_2$ est toujours la plus résistante.

L'idarubicine (figure 88) était la chimiothérapie la plus cytotoxique sur les tests *in-vitro* sur lignées cellulaires de CHC, avec un temps de contact identique (30 minutes).

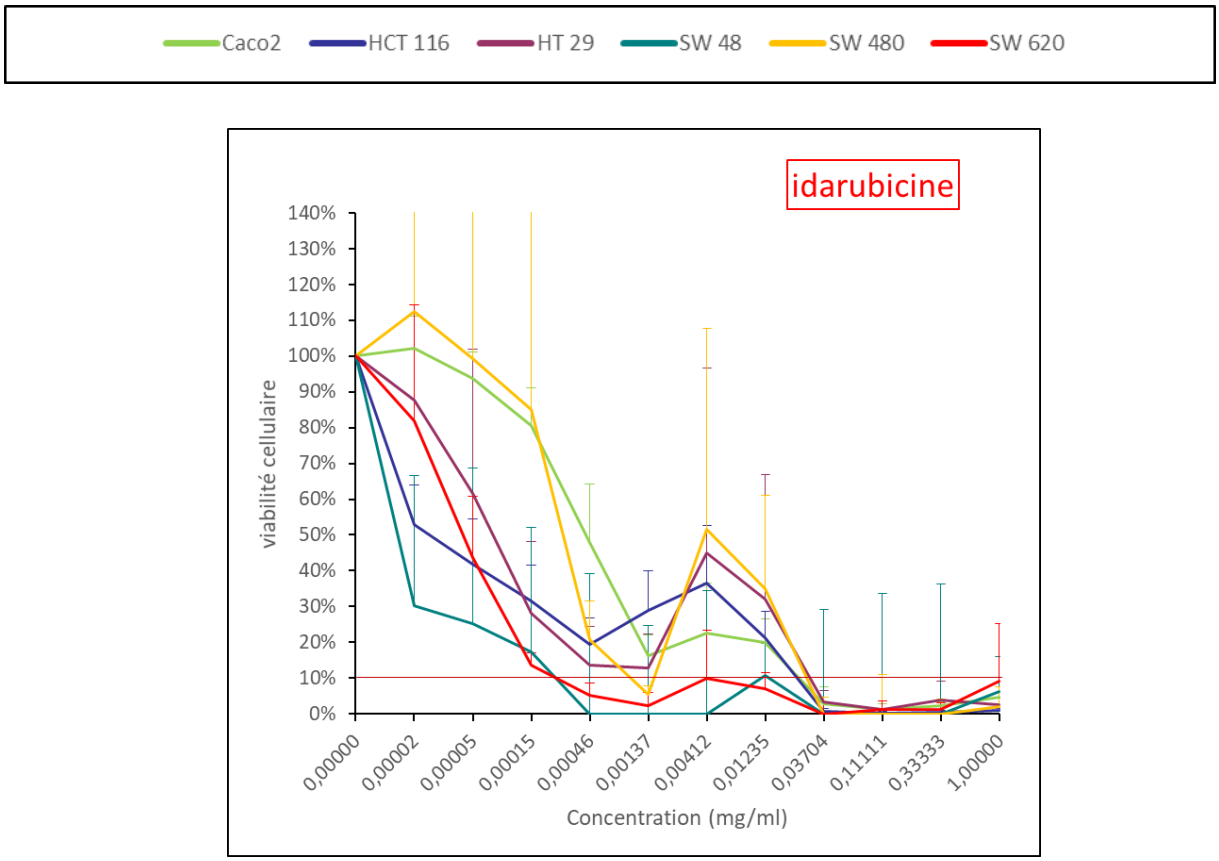



*Figure 88 : Courbe de viabilité des 6 lignées cellulaires de CCR, mises en contact 30 minutes à J1 avec l'idarubicine. Analyse de la viabilité à J4.*

On observe une particulière sensibilité des lignées SW48 et SW620 à l'idarubicine. On note 90 % de mort cellulaire encore après 7 dilutions de la chimiothérapie sur ces 2 lignées. Il est important de noter que la survie de toutes les lignées est quasiment nulle pour les 4 premières concentrations. Deux effets doses sont observés, le premier après la 3 ème dilution avec néanmoins une prolifération cellulaire qui ne dépasse pas 50 %, suivie d'un effet cytotoxique sur les 2 concentrations suivantes. Puis le 2 ème effet dose cette fois plus évident avec une prolifération cellulaire nette notamment sur 2 lignées ($CaCO_2$ et SW480). On souligne ici l'effet de chimiorésistance modérée suivi d'un nouvel effet cytotoxique, que l'on va nommer « effet rebond »

Intéressons-nous maintenant à la chimiothérapie la plus utilisée dans le monde pour la TACE, la doxorubicine (figure 89).

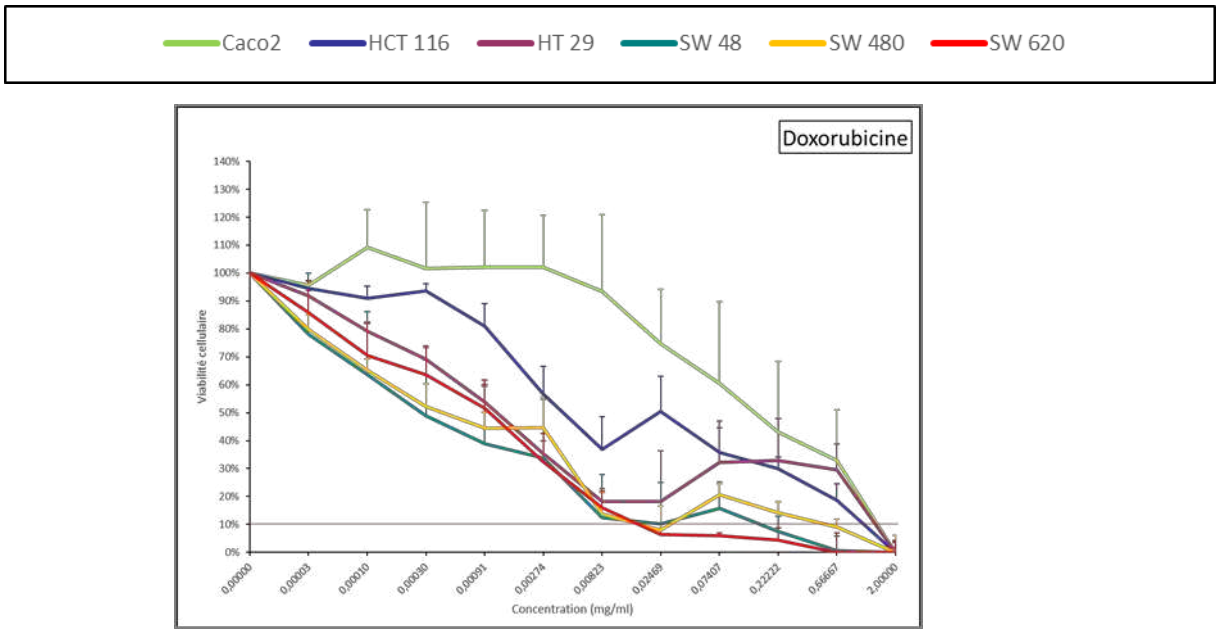



*Figure 89 : Courbe de viabilité des 6 lignées cellulaires de CCR, mises en contact 30 minutes à J1 avec la doxorubicine. Analyse de la viabilité à J4.*

Là encore, les lignées $CaCO_2$ et HCT 116 ont des profils rapidement résistants à la doxorubicine. Un effet dose est observé pour la quasi-totalité des lignées à partir de la 4ème dilution. Entre la 4ème dilution et la C Max, les courbes sont très différentes en fonction des lignées, avec déjà 3 lignées ($CaCO_2$, HT29 et HCT116) pour lesquelles on observe moins de 90 % de mort cellulaire à la 1ère dilution.

Pour l'épirubicine (figure 90), le profil de réponse est assez proche de celui de la doxorubicine (figure 89).

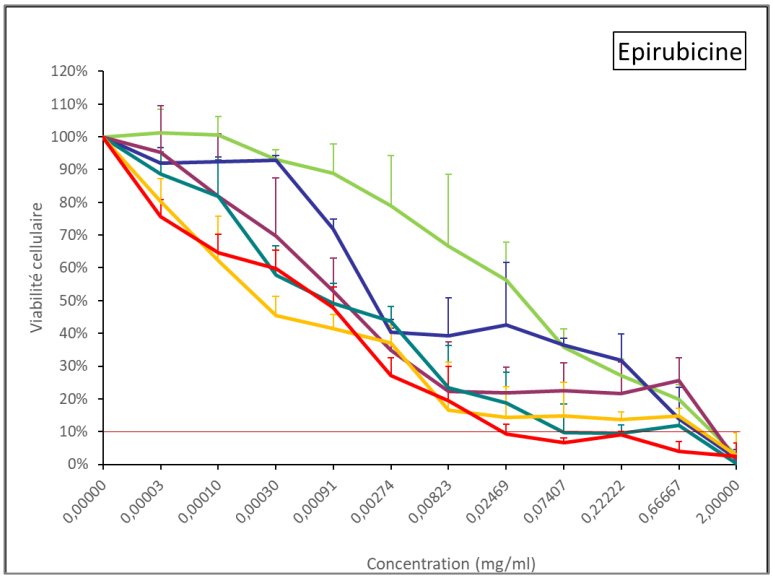



*Figure 90 : Courbe de viabilité des 6 lignées cellulaires de CCR, mises en contact 30 minutes à J1 avec l'épirubicine. Analyse de la viabilité à J4.*

La Mitomycine C (figure 91), elle aussi, est superposable à la doxorubicine et à l'épirubicine, toujours avec les lignées $CaCO_2$ et HCT 116 les plus résistantes et un effet dose à partir de la 3ème dilution.

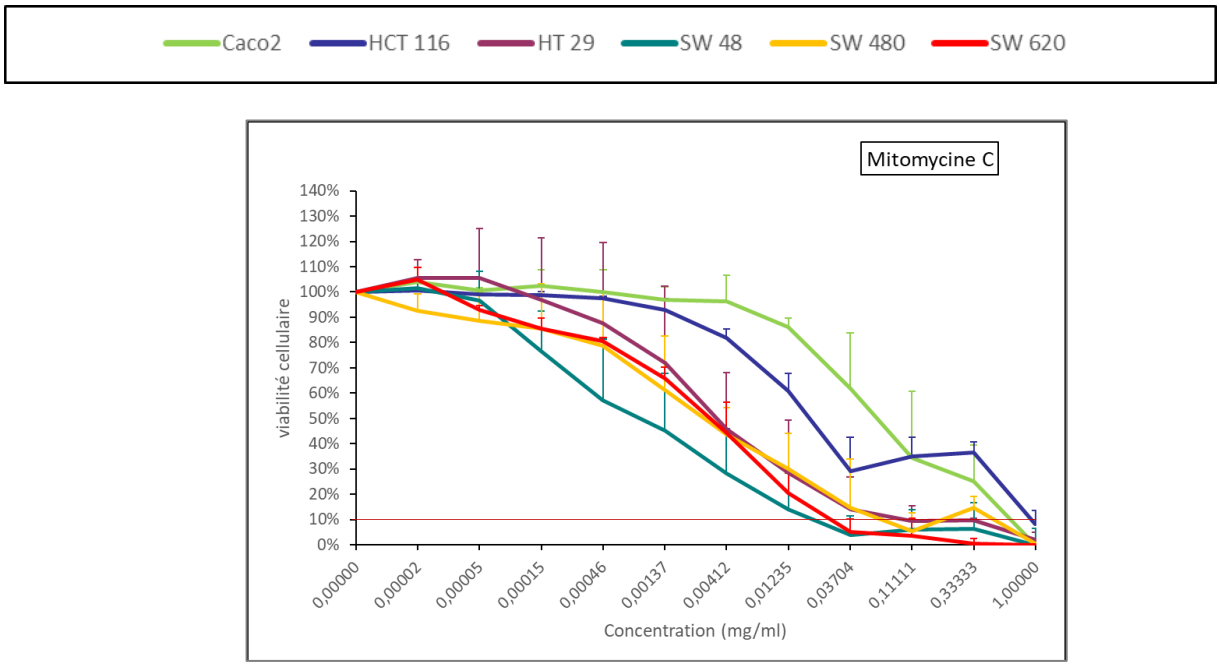



*Figure 91 : Courbe de viabilité des 6 lignées cellulaires de CC, mises en contact 30 minutes à J1 avec la mitomycine C. Analyse de la viabilité à J4.*

Voyons maintenant l'effet de la gemcitabine (figure 92) et du raltitrexed (figure 93).

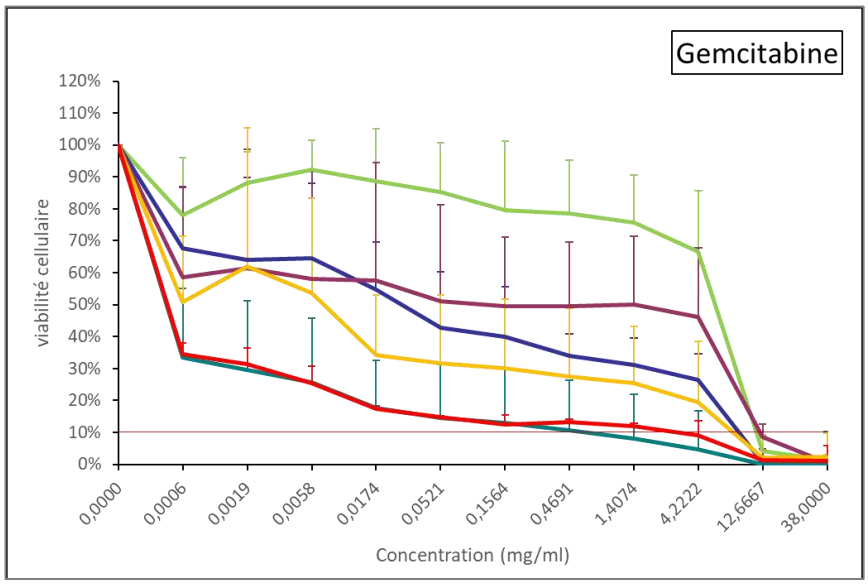



*Figure 92 : Courbe de viabilité des 6 lignées cellulaires de CCR, mises en contact 30 minutes à J1 avec la gemcitabine. Analyse de la viabilité à J4.*

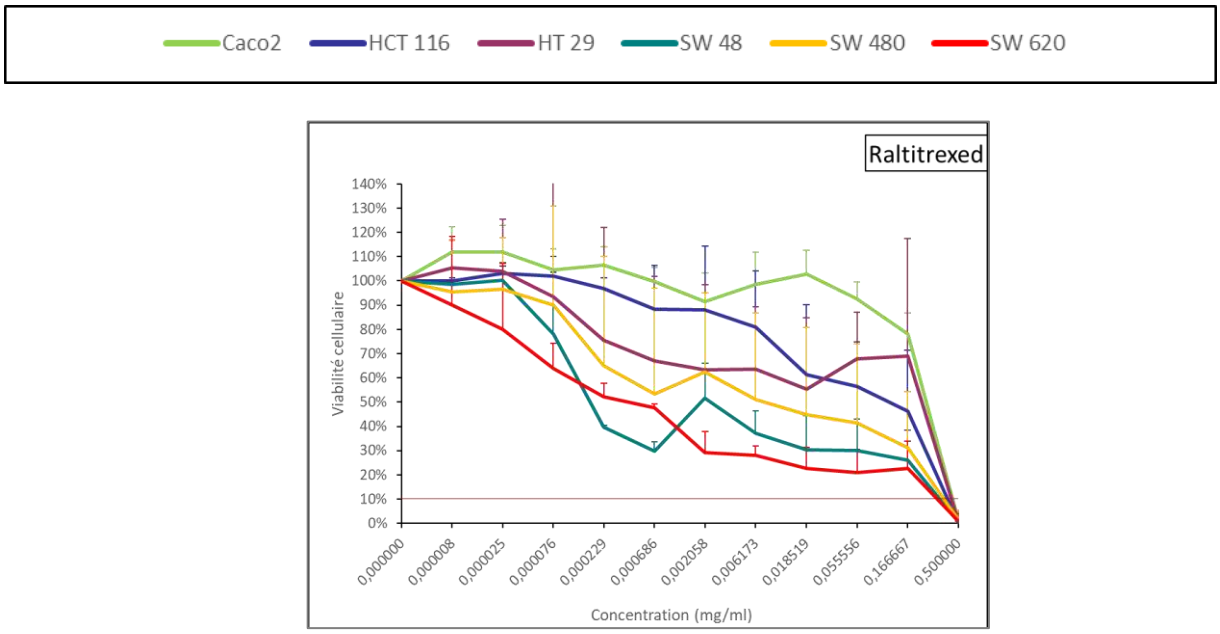



*Figure 93 : Courbe de viabilité des 6 lignées cellulaires de CCR, mises en contact 30 minutes à J1 avec le raltitrexed. Analyse de la viabilité à J4*

Pour ces 2 chimiothérapies, les courbes sont très dissociées en fonction du type cellulaire. Les sensibilités sont différentes en fonction des lignées. L'effet plateau est étendu sur la quasi-totalité des dilutions. On notera un effet intéressant de la gemcitabine sur SW 620 et SW 48 sur les 5 concentrations les plus élevées. En revanche, après une dilution, on note un effet dose avec le raltitrexed suivi d'une phase de plateau, quelle que soit la lignée.

Le cisplatine, également relativement fréquemment utilisé en TACE, est présenté ci-après (figure 94).

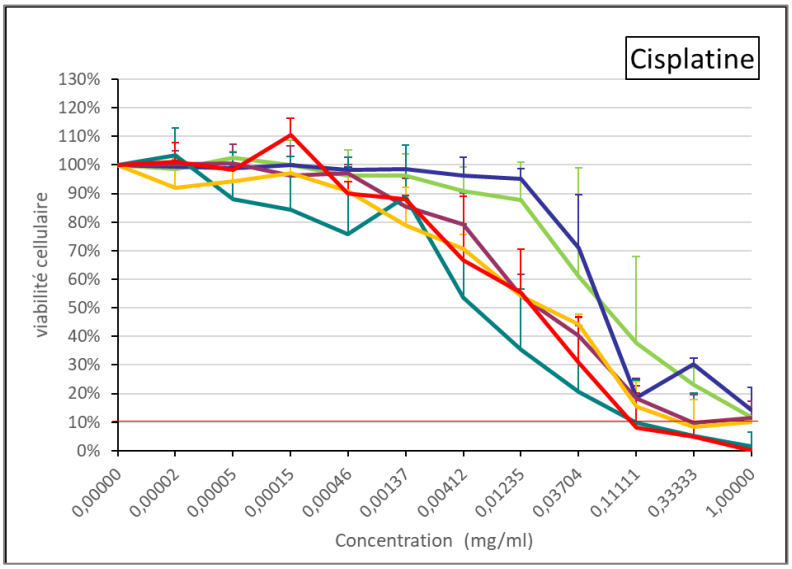



*Figure 94 : Courbe de viabilité des 6 lignées de CCR, mises en contact 30 minutes à J1 avec le cisplatine. Analyse de la viabilité à J4.*

Un effet dose marqué (figure 94) est observé à partir de la 2ème dilution. Les lignées HCT 116 et $CaCO_2$ sont les plus résistantes au cisplatine. Après l'effet-dose, le plateau est rapidement atteint avec un effet cytotoxique modéré (moins de 50 % de mort cellulaire) dès la 4ème dilution. Mêmes aux plus fortes concentrations, le seuil de 90 % de mort cellulaire n'est pas atteint sur $CaCO_2$, HCT 116, HT29 et SW 480.

Pour la streptozocine (figure 95), une drogue de référence dans les TNE, l'effet est important (mort cellulaire à plus de 90 %) sur la C Max et la 1ère dilution. En revanche après la 1ère dilution, on note un effet dose très important donnant lieu à un plateau rapidement atteint.

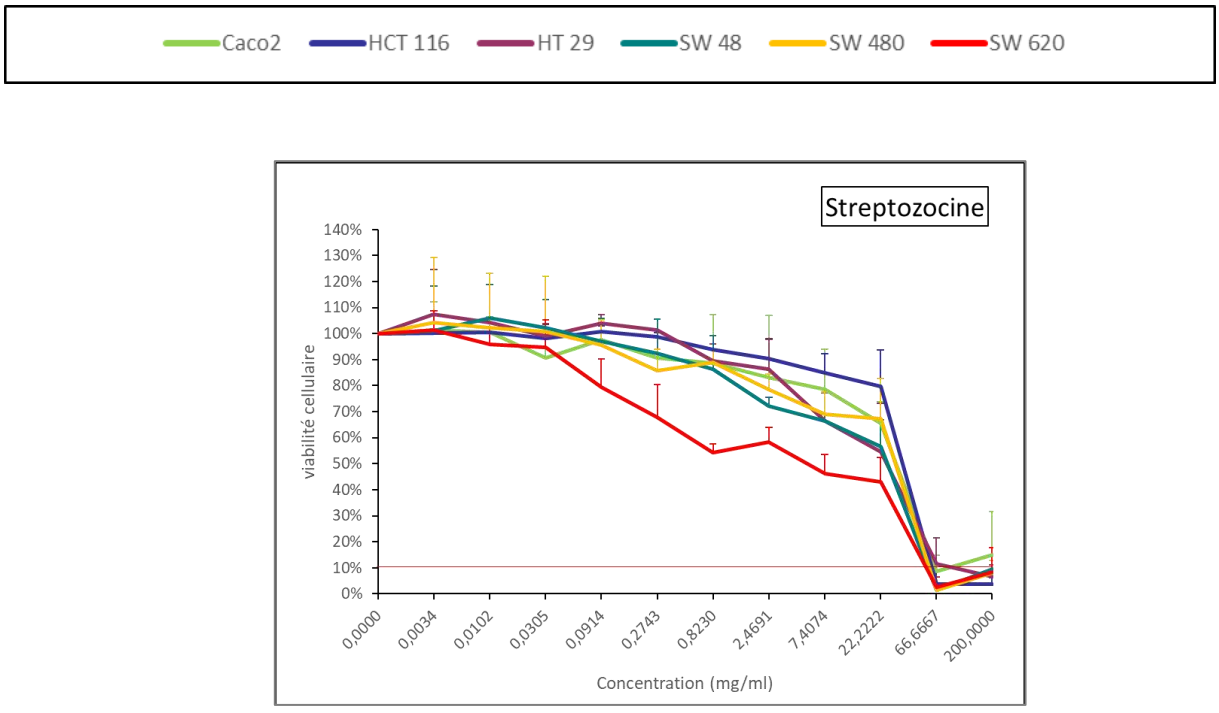



*Figure 95 : Courbe de viabilité des 6 lignées cellulaires de CCR, mises en contact 30 minutes à J1 avec la streptozocine. Analyse de la viabilité à J4.*

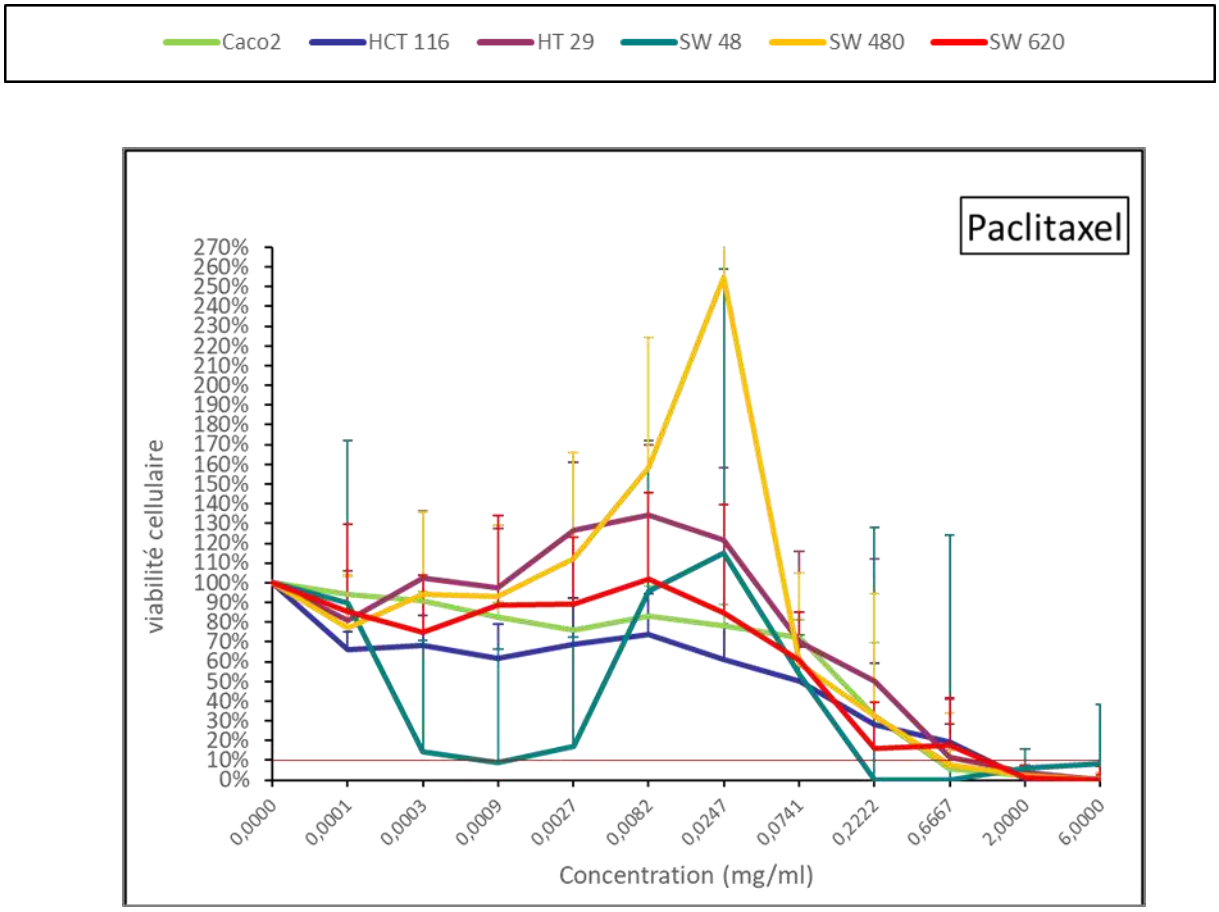



*Figure 96 : Courbe de viabilité des 6 lignées cellulaires de CCR, mises en contact 30 minutes à J1 avec le paclitaxel. Analyse de la viabilité à J4.*

Les courbes de survie cellulaire pour le paclitaxel sont très intéressantes sur les 2 premières concentrations avec une mort cellulaire majeure (plus de 90 %) sur toutes les lignées sauf HCT 116 et SW 620.

En revanche, on observe un effet-dose à partir de la 4ème concentration, avec un pic de viabilité cellulaire pour SW480 (figure 96). Un peu comme pour l'idarubicine, on observe un effet rebond, net sur SW480, avec une hyperprolifération cellulaire (+250 %) et sur SW 48. Pour SW48, on note un effet cytotoxique majeur après 6 dilutions, maintenu pendant 3 dilutions, puis un nouvel effet dose. On notera que pour toutes les lignées (en dehors de SW48, au profil très différent), on observe plus de 50 % de viabilité cellulaire après 3 dilutions.

Nous allons maintenant présenter les courbes de viabilité cellulaire par lignée cellulaire (figures 97 à 102). Par soucis de clarté, nous avons retiré le lipiodol et le bevacizumab, qui ne présentaient pas de courbes de toxicité très intéressantes.

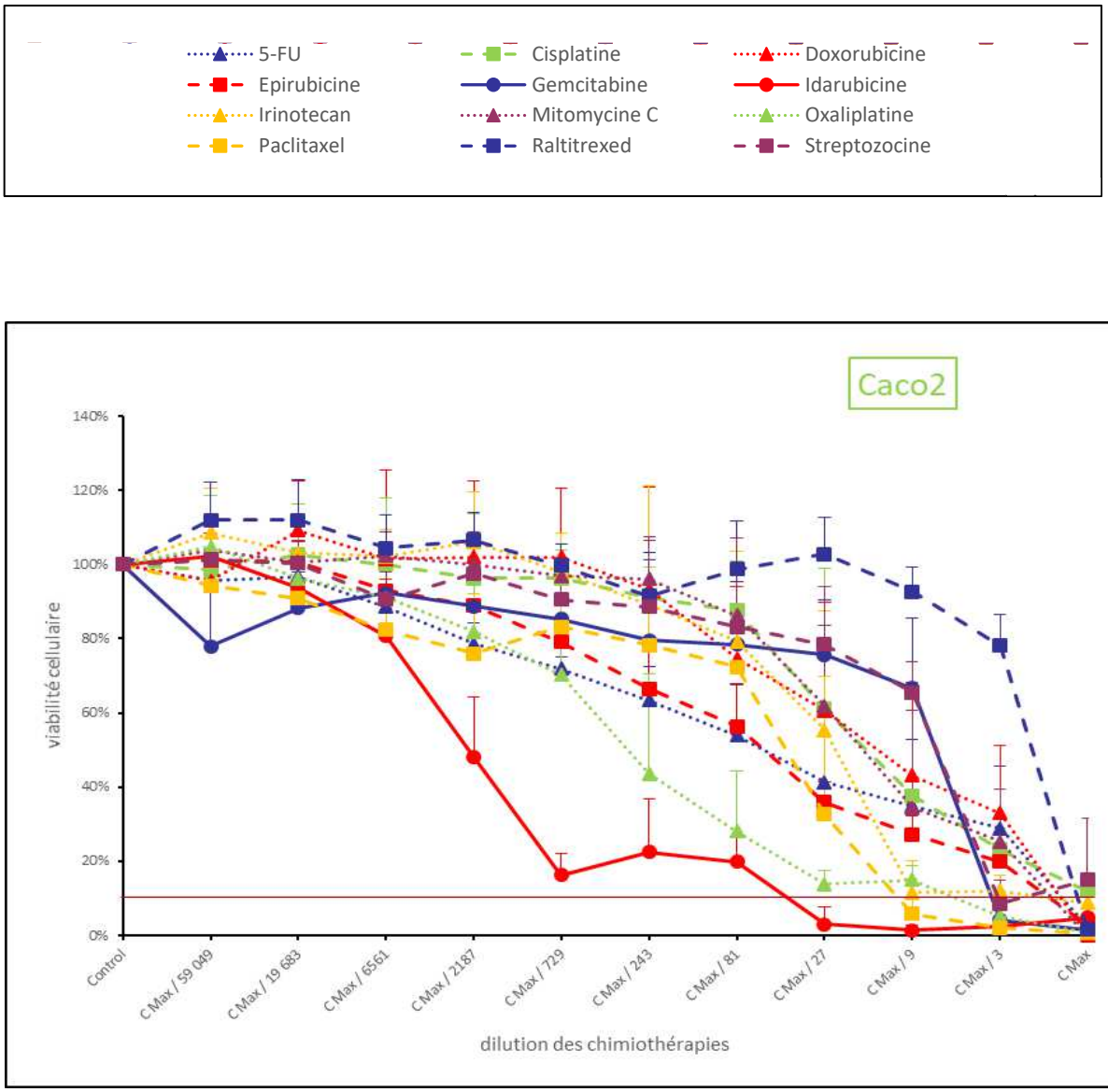



*Figure 97 : Courbe de viabilité cellulaire de CaCO2 en fonction des 12 chimiothérapies testées.*

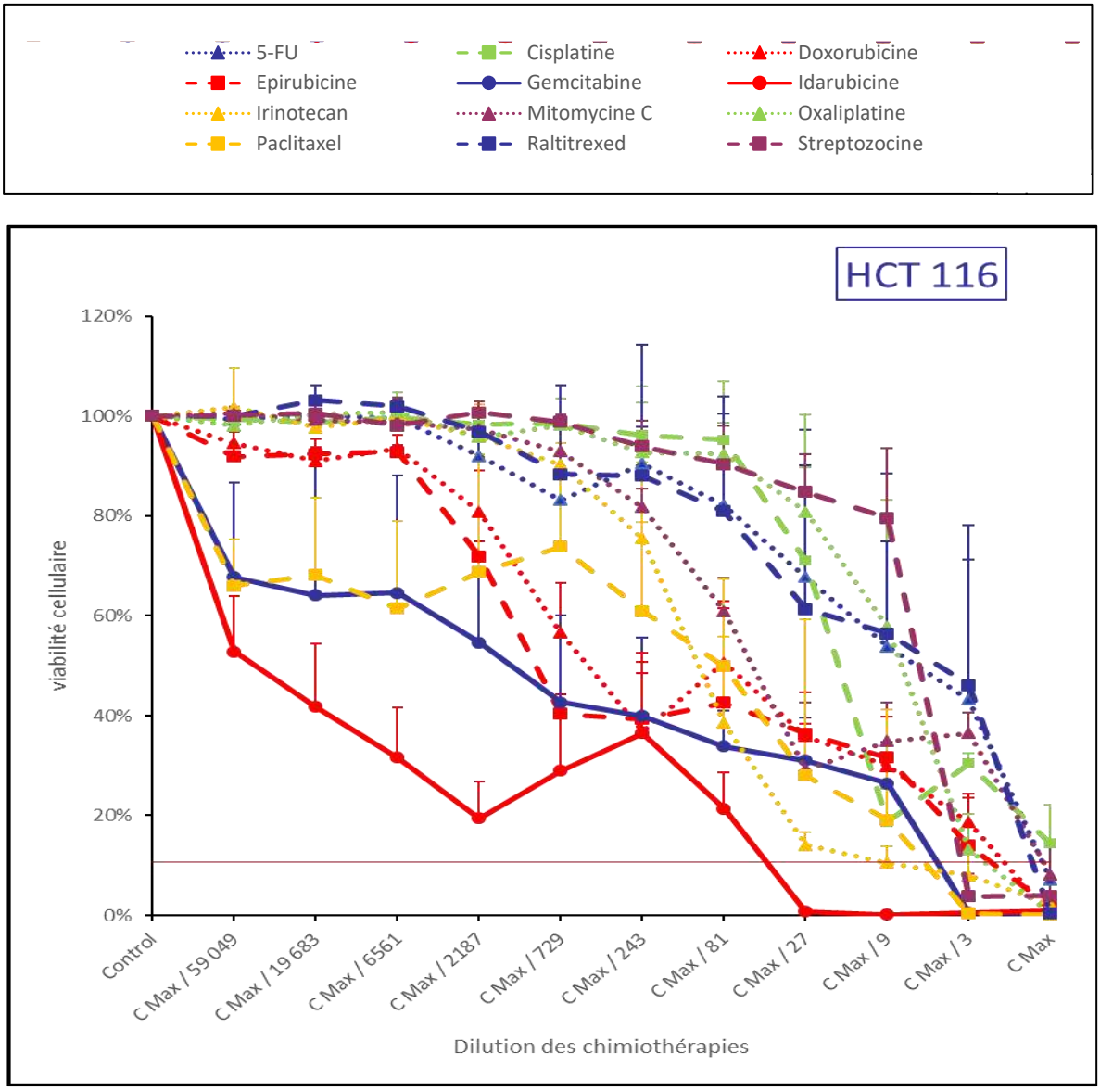



*Figure 98 : Courbe de viabilité cellulaire de HCT 116 en fonction des 12 chimiothérapies testées.*

Les 2 lignées qui apparaissent le plus souvent résistantes sur l'analyse précédente (CaCO2 et HCT 116) sont très sensibles à l'idarubicine (courbe rouge continue) comme on peut le voir sur les graphiques 97 et 98.

Parmi les lignées les plus utilisées pour la recherche sur le cancer colo-rectal, HT29 est largement représentée. La chimiothérapie la plus efficace est l'idarubicine. Néanmoins l'effet rebond précédemment décrit est retrouvé pour cette lignée, pour les concentrations de la 3ème à la 5ème dilution. On précise toutefois que même avec cette viabilité cellulaire accrue, la viabilité ne dépasse pas les 50 %. Le 5-FU est situé juste au-dessus de l'idarubicine, si l'on fait abstraction de cet effet rebond. Ici également on retrouve l'effet de viabilité cellulaire accrue avec le Paclitaxel sur le milieu du graphique. La gemcitabine, le raltitrexed et la streptozocine présentent une effet-dose marqué très rapidement.

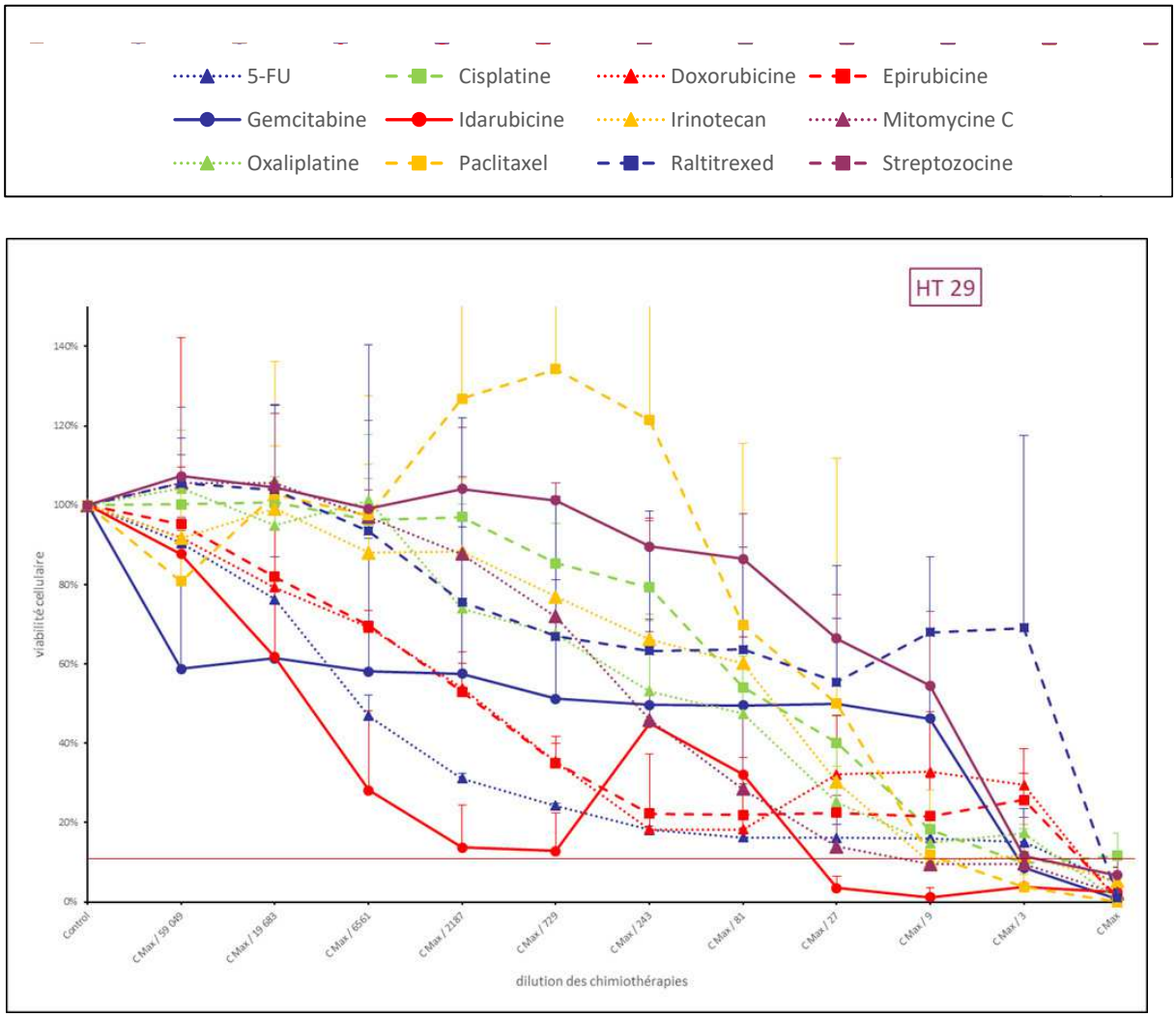



*Figure 99 : Courbe de viabilité cellulaire de HT 29 en fonction des 12 chimiothérapies testées.*

Comme HCT 116, SW48 représente une lignée avec MSI (instabilité microsatellite).

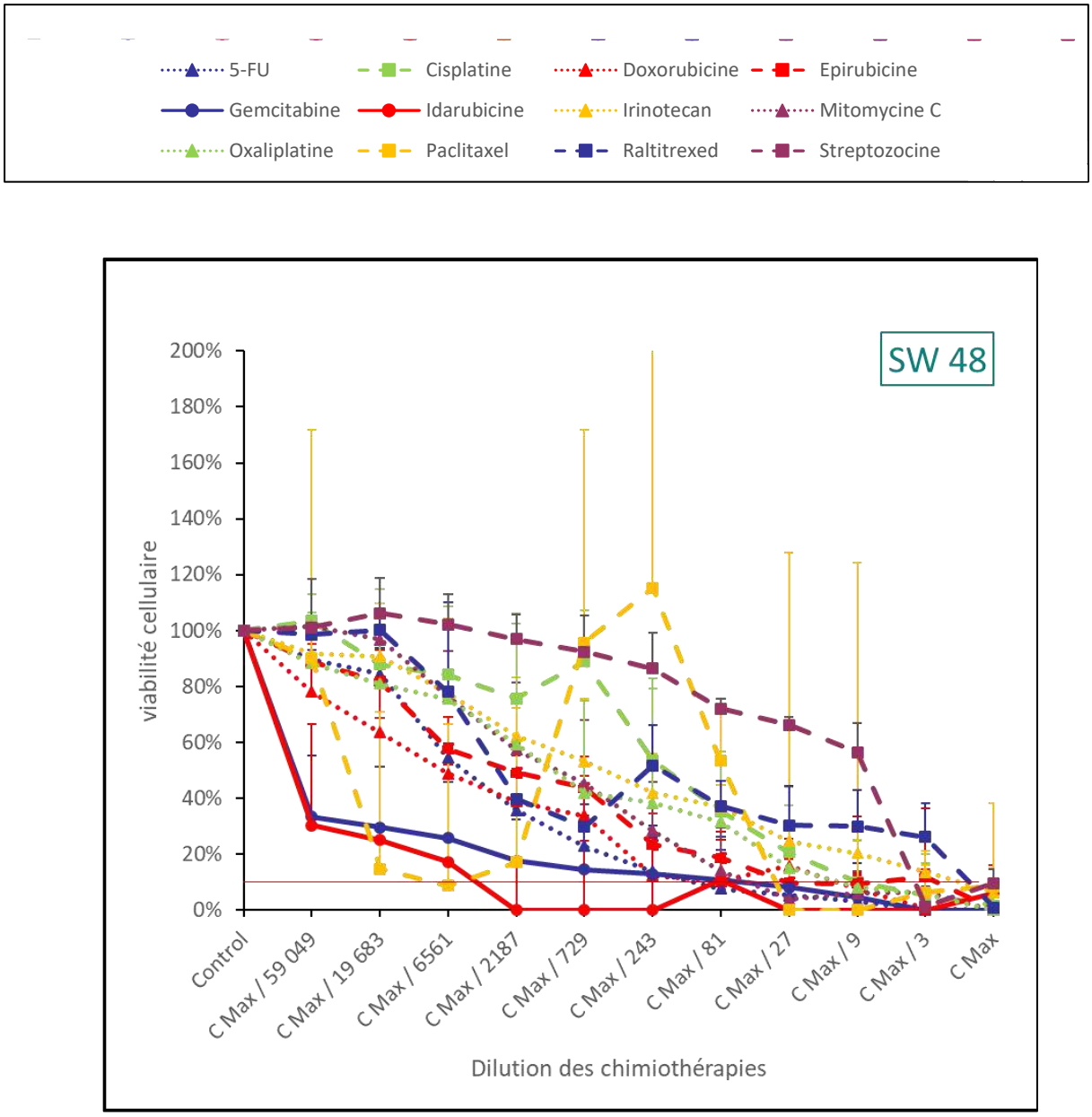
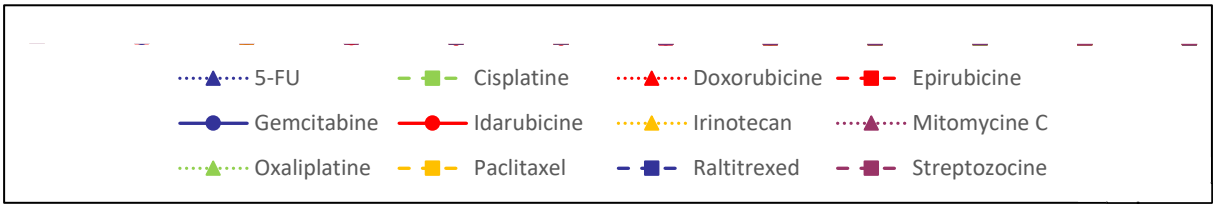



*Figure 100 : Courbe de viabilité cellulaire de SW 48 en fonction des 12 chimiothérapies testées.*

L'idarubicine, le 5-FU et la gemcitabine sont les plus toxiques, avec une courbe de viabilité plus basse (donc plus efficace) pour l'idarubicine. L'effet rebond du paclitaxel est présent.

Sont représentées, ci-après, SW 480 (figure 101) et sa métastase SW 620 (figure 102). Ces lignées sont Kras muté.



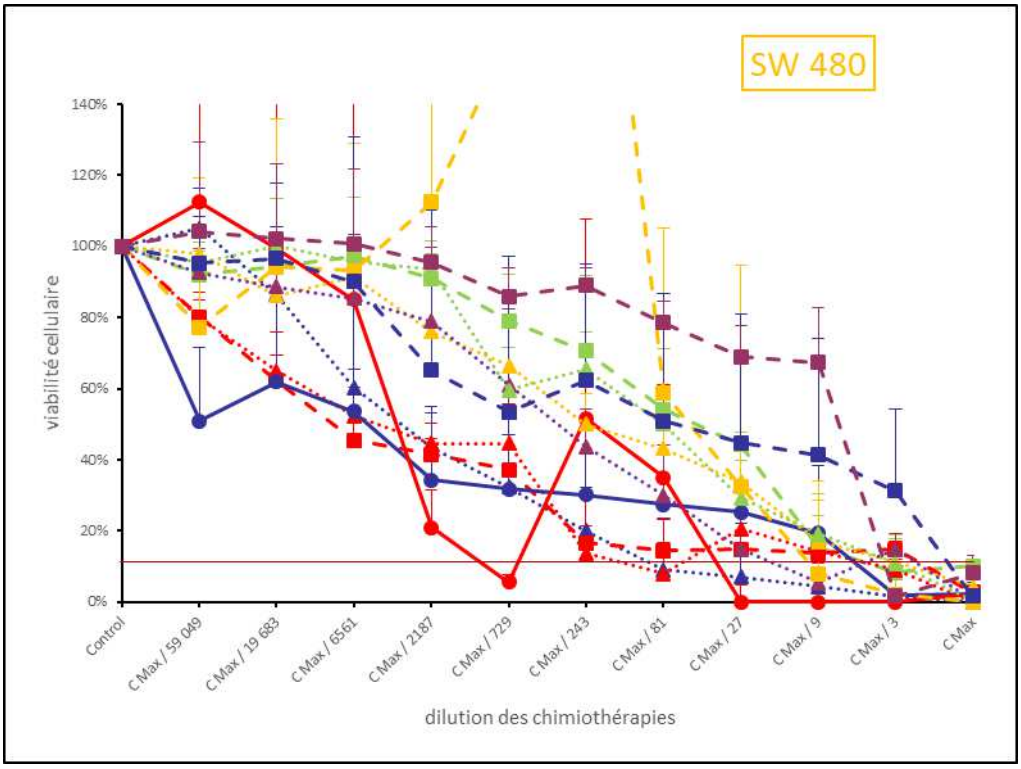




*Figure 101 : Courbe de viabilité cellulaire de SW 480 en fonction des 12 chimiothérapies testées.*

Le paclitaxel a un effet rebond sur SW480, dont la courbe complète n'a pu être intégrée sur ce graphique pour des raisons de lisibilité. L'efficacité de l'idarubicine est variable présentant également un effet rebond. Elle est la drogue la moins active sur les très faibles doses. En revanche elle reste plus active à faible concentration sur la lignée métastatique (figure 102).

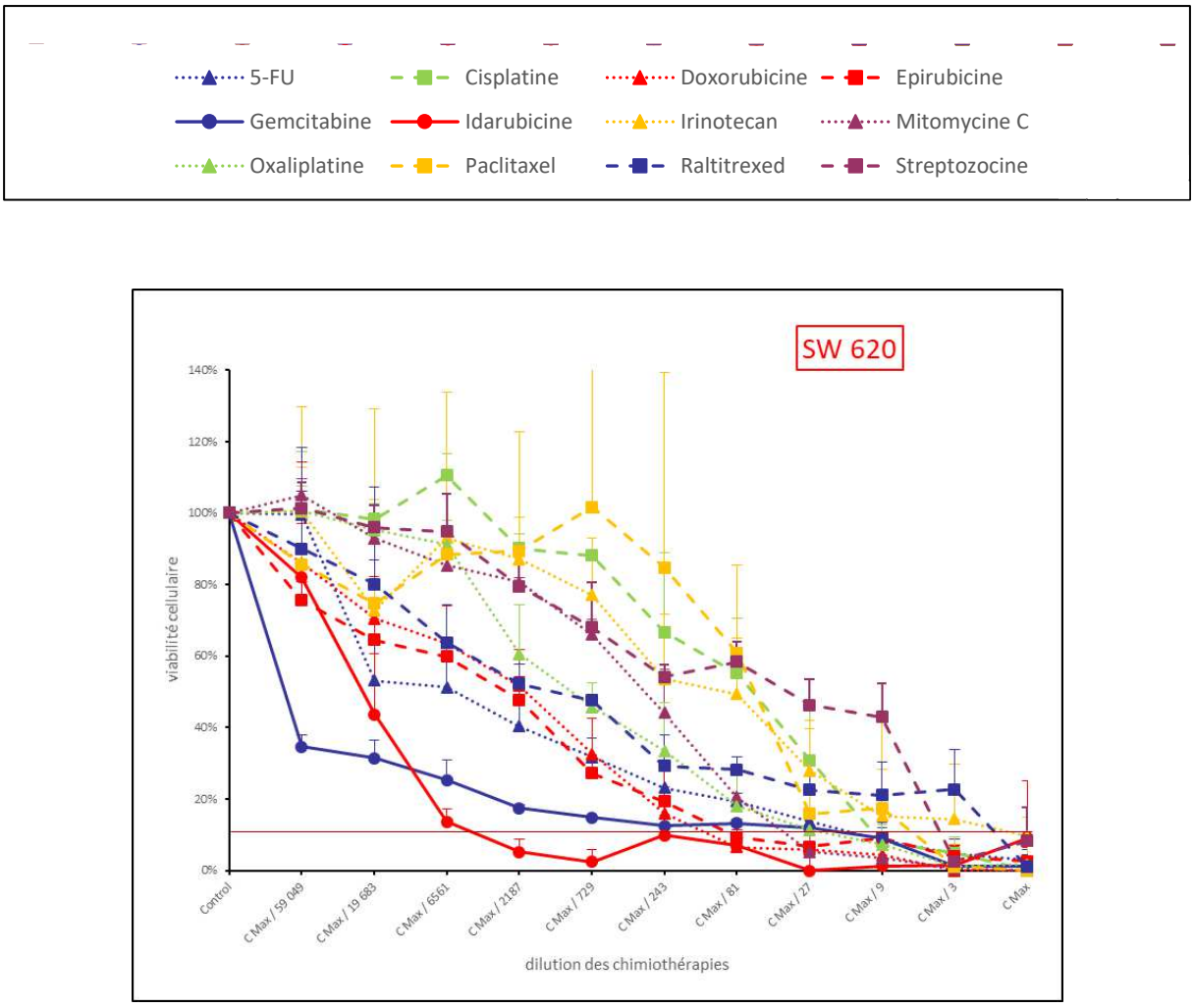



*Figure 102 : Courbe de viabilité cellulaire de SW620 en fonction des 12 chimiothérapies testées.*

Sont représentés ci-après les tableaux (tableaux 25,26 et 27) des IC 50, des IC 90 et des $Cyl_{90}$ (moyenne ± écart type).

| | CaCO2 | | | HCT116 | | | HT29 | | | SW48 | | | SW 480 | | | SW620 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5-FU | 0,47968 | ± | 0,08959 | 213,75822 | ± | 345,11742 | 0,00779 | ± | 0,00153 | 0,01383 | ± | 0,00547 | 0,02550 | ± | 0,01759 | 0,01923 | ± | 0,00931 |
| Cisplatine | 0,09583 | ± | 0,10884 | 0,14796 | ± | 0,03593 | 0,01792 | ± | 0,00539 | 0,01099 | ± | 0,01446 | 0,01559 | ± | 0,00332 | 0,01577 | ± | 0,00705 |
| Doxorubicine | 0,22064 | ± | 0,28216 | 0,01811 | ± | 0,01210 | 0,00170 | ± | 0,00159 | 0,00075 | ± | 0,00065 | 0,00061 | ± | 0,00038 | 0,00084 | ± | 0,00076 |
| Epirubicine | 0,03662 | ± | 0,02537 | 0,01059 | ± | 0,01028 | 0,00130 | ± | 0,00122 | 0,00079 | ± | 0,00011 | 0,00038 | ± | 0,00021 | 0,00054 | ± | 0,00028 |
| Gemcitabine | 3,03644 | ± | 2,21107 | 0,09224 | ± | 0,15310 | 0,79347 | ± | 1,36649 | 0,00046 | ± | 0,00062 | 0,05453 | ± | 0,09000 | 0,00013 | ± | 0,00005 |
| Idarubicine | **0,00040** | **±** | 0,00013 | **0,00005** | **±** | 0,00006 | **0,00003** | **±** | 0,00002 | **0,00002** | **±** | 0,00001 | **0,00007** | **±** | 0,00009 | **0,00003** | **±** | 0,00002 |
| Irinotecan | 0,95363 | ± | 0,83658 | 0,20742 | ± | 0,13911 | 0,20213 | ± | 0,05743 | 0,07736 | ± | 0,09211 | 0,12727 | ± | 0,10646 | 0,18608 | ± | 0,10856 |
| Mitomycine C | 0,08921 | ± | 0,08504 | 0,02813 | ± | 0,01030 | 0,00576 | ± | 0,00738 | 0,00150 | ± | 0,00087 | 0,00438 | ± | 0,00545 | 0,00289 | ± | 0,00077 |
| Oxaliplatine | 0,02126 | ± | 0,01875 | 0,61971 | ± | 0,39888 | 0,04090 | ± | 0,04101 | 0,04108 | ± | 0,06400 | 0,07308 | ± | 0,06159 | 0,00844 | ± | 0,00573 |
| Paclitaxel | 0,10875 | ± | 0,03802 | 0,05505 | ± | 0,09462 | 0,25437 | ± | 0,19363 | 0,00067 | ± | 0,00091 | 0,16054 | ± | 0,22537 | 0,05238 | ± | 0,05313 |
| Raltitrexed | 0,25519 | ± | 0,07121 | 0,08298 | ± | 0,08417 | 0,12849 | ± | 0,22102 | 0,10419 | ± | 0,17987 | 0,05165 | ± | 0,08910 | 0,00025 | ± | 0,00020 |
| Streptozocine | 22,93648 | ± | 10,86238 | 24,58764 | ± | 1,33959 | 19,31879 | ± | 10,15648 | 13,88211 | ± | 3,21415 | 18,09202 | ± | 4,77900 | 2,65129 | ± | 1,12750 |

*Tableau 26 : Valeurs des IC50 pour chaque chimiothérapie et chaque lignée cellulaire de CCR (moyenne +- ET). Les valeurs les plus basses au sein de chaque lignée sont en gras.*

| | CaCO2 | | | HCT116 | | | HT29 | | | SW48 | | | SW480 | | | SW620 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5-FU | 138,28040 | ± | 193,78039 | 82843,17451 | ± | 103130,24931 | 1,31858 | ± | na | 2,97140 | ± | 4,74668 | 1,92030 | ± | 2,75081 | 1,77456 | ± | 0,27800 |
| Cisplatine | 2,81070 | ± | 2,47197 | 2,53496 | ± | 2,03592 | 3,34570 | ± | 4,26288 | 0,50396 | ± | 0,79050 | 0,87502 | ± | 0,68733 | 0,20439 | ± | 0,11429 |
| Doxorubicine | 2,68027 | ± | 2,02002 | 5,40391 | ± | 4,77842 | 1,47530 | ± | 1,47657 | 0,07323 | ± | 0,10021 | 0,13875 | ± | 0,08918 | 0,02279 | ± | 0,00915 |
| Epirubicine | 1,55453 | ± | 0,93829 | 4,16307 | ± | 4,07732 | na | ± | na | 0,10373 | ± | 0,02351 | 0,43330 | ± | 0,36954 | 0,04738 | ± | 0,03973 |
| Gemcitabine | 202,35692 | ± | 284,00298 | 55,87980 | ± | 37,11802 | 9832,87750 | ± | 13788,96534 | 3,87859 | ± | 4,36079 | 77,70086 | ± | 110,10083 | 0,74160 | ± | 0,40086 |
| Idarubicine | **0,00969** | ± | 0,00708 | **0,04512** | ± | 0,04359 | **0,00056** | ± | 0,00033 | **0,00253** | ± | 0,00130 | **0,00268** | ± | 0,00182 | **0,00037** | ± | 0,00014 |
| Irinotecan | 8,91192 | ± | 7,10780 | 2,39874 | ± | 0,86370 | 13,64614 | ± | 10,02803 | 15,34892 | ± | 11,25609 | 11,28336 | ± | 5,57101 | 19,77687 | ± | 27,26904 |
| Mitomycine C | 0,80964 | ± | 0,76009 | 0,45935 | ± | na | 0,08363 | ± | 0,08026 | 0,04834 | ± | 0,05480 | 0,13721 | ± | 0,14501 | 0,04066 | ± | 0,03127 |
| Oxaliplatine | 0,40955 | ± | 0,23448 | 5,57706 | ± | 3,59003 | 2,24029 | ± | 1,64981 | 0,83627 | ± | 1,20793 | 1,34886 | ± | 0,79799 | 0,26132 | ± | 0,26332 |
| Paclitaxel | 1,99154 | ± | 1,72995 | 3,02698 | ± | 2,60950 | 1,73670 | ± | 1,79752 | 585,43515 | ± | 1011,63273 | 1,56710 | ± | 1,98883 | 41,65321 | ± | 50,47535 |
| Raltitrexed | 2,70812 | ± | 0,54425 | 0,88776 | ± | 0,57928 | 2,03557 | ± | 1,35179 | 1,31634 | ± | 1,33757 | 0,66756 | ± | 0,64363 | 0,20751 | ± | 0,15305 |
| Streptozocine | 260,88124 | ± | 36,32987 | 221,28929 | ± | 12,01925 | 173,89092 | ± | 91,41978 | 181,32662 | ± | 20,44208 | 202,82065 | ± | 8,82056 | 538,65807 | ± | 437,50097 |

*Tableau 25 : Valeurs des IC90 pour chaque chimiothérapie et chaque lignée cellulaire de CCR (moyenne +- ET). Les valeurs les plus basses au sein de chaque lignée sont en gras.*

| | CaCO2 | | | HCT116 | | | HT29 | | | SW48 | | | SW480 | | | SW620 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5-FU | 1,37 | ± | 1,14 | 0,94 | ± | 1,26 | 37,92 | ± | na | 276,55 | ± | 368,76 | 191,74 | ± | 250,78 | 28,53 | ± | 4,47 |
| Cisplatine | 0,62 | ± | 0,50 | 0,56 | ± | 0,31 | 1,59 | ± | 2,02 | 15,46 | ± | 14,33 | 1,59 | ± | 0,86 | 6,45 | ± | 4,15 |
| Doxorubicine | 1,13 | ± | 0,84 | 0,76 | ± | 0,79 | 2,72 | ± | 2,72 | 359,57 | ± | 556,29 | 25,30 | ± | 25,53 | 96,25 | ± | 31,85 |
| Epirubicine | 1,58 | ± | 0,74 | 0,92 | ± | 0,90 | na | ± | na | 19,90 | ± | 4,08 | 7,25 | ± | 6,19 | 61,78 | ± | 35,10 |
| Gemcitabine | 0,70 | ± | 0,56 | 0,86 | ± | 0,42 | 0,23 | ± | 0,32 | **18126,37** | ± | 31381,13 | 252,01 | ± | 435,20 | 71,45 | ± | 56,09 |
| Idarubicine | **156,97** | ± | 114,03 | **83,32** | ± | 99,27 | **2170,84** | ± | 993,71 | 468,19 | ± | 223,29 | **479,79** | ± | 235,56 | **3168,35** | ± | 1567,32 |
| Irinotecan | 3,60 | ± | 2,84 | 9,12 | ± | 3,31 | 2,83 | ± | 2,98 | 1,78 | ± | 1,31 | 2,15 | ± | 1,20 | 3,68 | ± | 3,18 |
| Mitomycine C | 2,00 | ± | 1,24 | 2,18 | ± | na | 19,86 | ± | 12,45 | 125,52 | ± | 203,90 | 13,60 | ± | 9,02 | 34,54 | ± | 20,12 |
| Oxaliplatine | 14,78 | ± | 6,91 | 1,30 | ± | 1,00 | 4,36 | ± | 4,62 | 658,91 | ± | 1124,13 | 5,67 | ± | 5,01 | 45,61 | ± | 47,78 |
| Paclitaxel | 5,12 | ± | 3,54 | 5,77 | ± | 7,37 | 6,76 | ± | 5,18 | 7,68 | ± | 11,24 | 30,66 | ± | 48,10 | 3,84 | ± | 4,66 |
| Raltitrexed | 0,19 | ± | 0,04 | 0,72 | ± | 0,37 | 0,36 | ± | 0,27 | 1,01 | ± | 1,14 | 1,31 | ± | 0,93 | 4,45 | ± | 4,48 |
| Streptozocine | 0,77 | ± | 0,11 | 0,91 | ± | 0,05 | 1,49 | ± | 1,00 | 1,11 | ± | 0,13 | 0,99 | ± | 0,04 | 0,55 | ± | 0,45 |

*Tableau 27 : Valeurs des CyI90 pour chaque chimiothérapie et chaque lignée cellulaire (moyenne +- ET). Les valeurs les plus élevées au sein de chaque lignée sont en gras.*

L'analyse lignée par lignée des $CyI_{90}$ a permis de mettre en évidence une différence statistiquement significative au sein de 4 lignées cellulaires : CaCO2, HT 29, SW 480 et SW 620. Pour ces 4 lignées, l'idarubicine a un $CyI_{90}$ significativement différent des autres chimiothérapies. Les résultats sont représentés sur les graphiques suivants (figures 103 à 108).

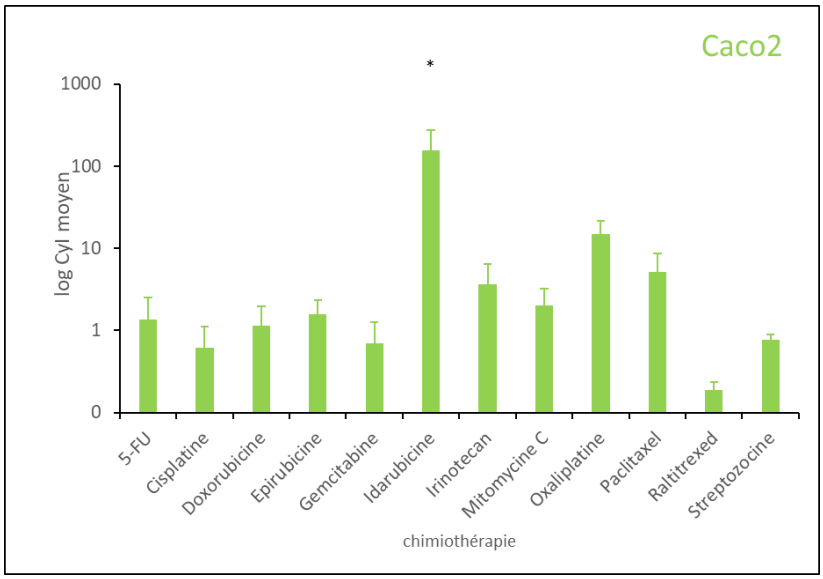



*Figure 103 : CyI90 moyen pour CaCO2, en fonction des 12 chimiothérapies.*

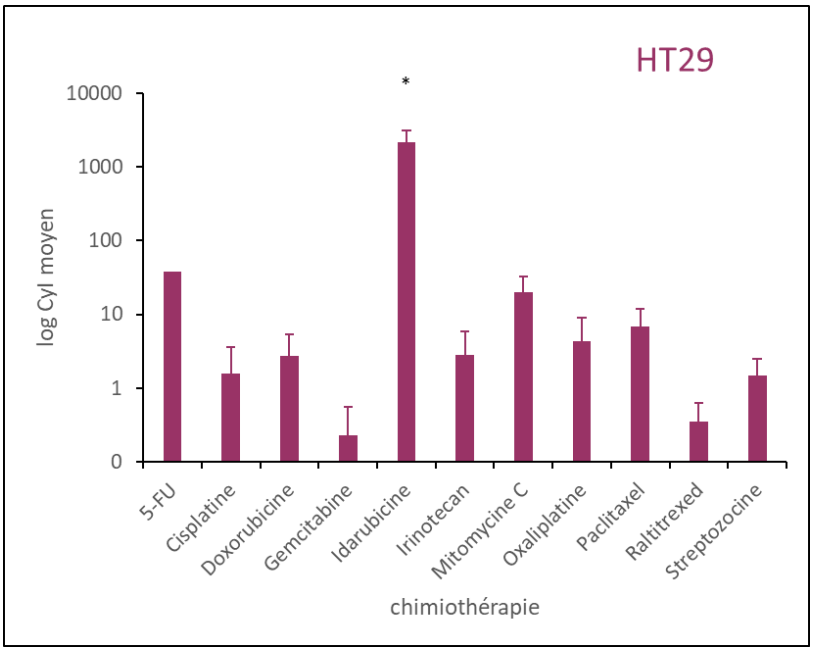



*Figure 104 : CyI90 moyen pour HT29, en fonction des 12 chimiothérapies.*

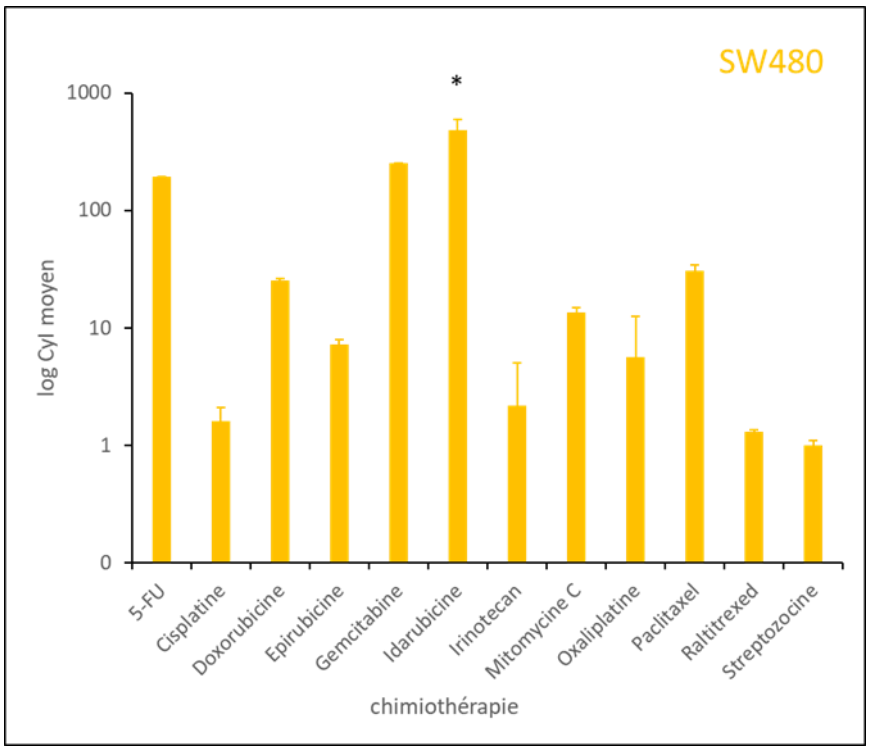



*Figure 105 : CyI90 moyen pour SW480, en fonction des 12 chimiothérapies.*

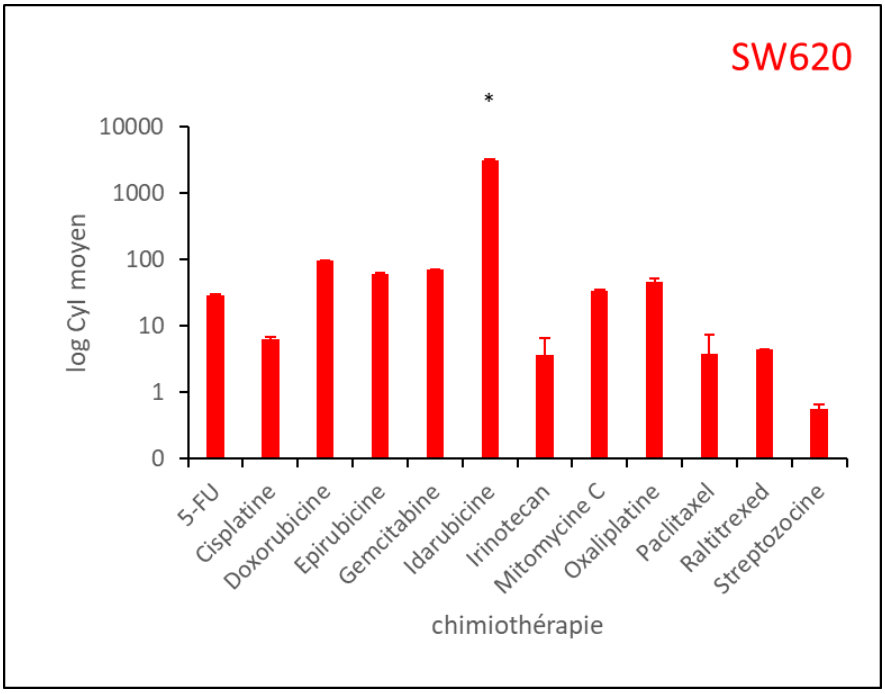



*Figure 106 : CyI90 moyen pour SW620, en fonction des 12 chimiothérapies.*

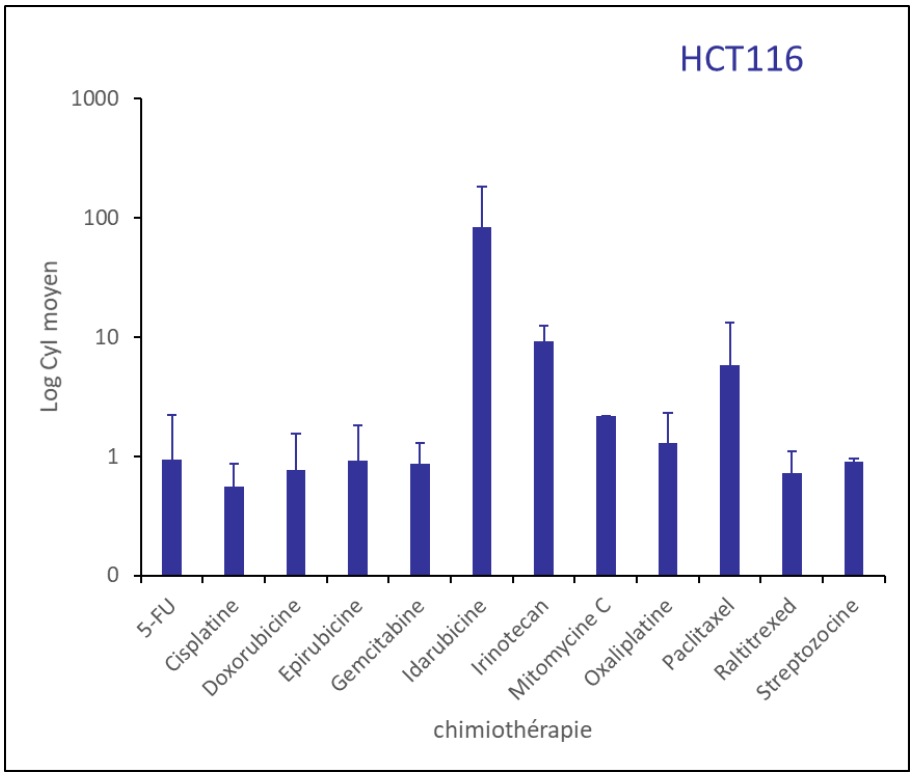



*Figure 107 : CyI90 moyen pour HCT116, en fonction des 12 chimiothérapies.*

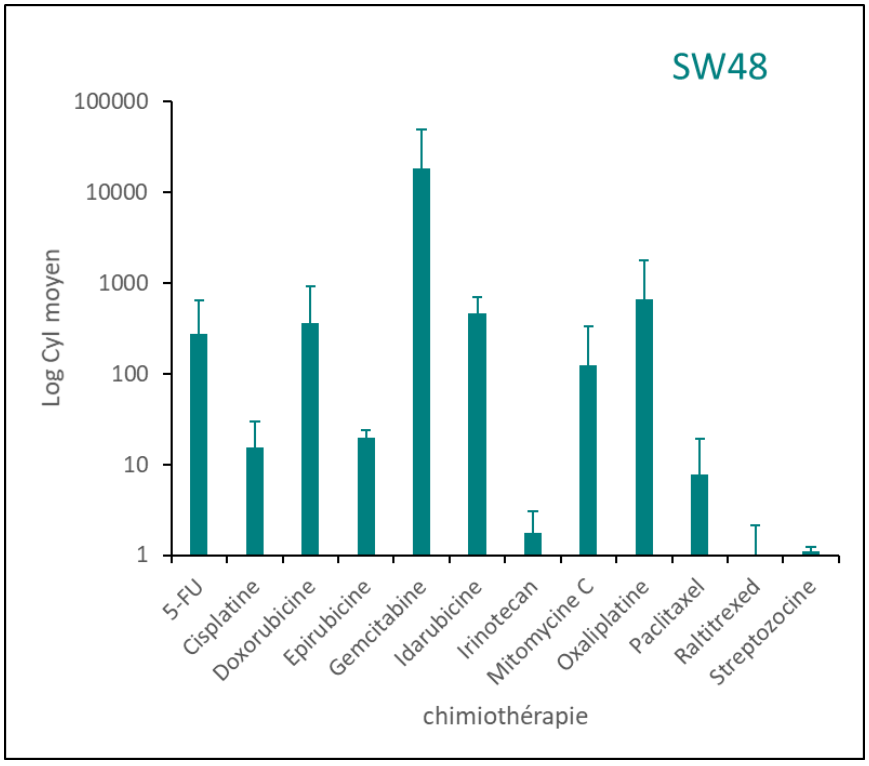



*Figure 108 : CyI90 moyen pour SW48, en fonction des 12 chimiothérapies.*

L'idarubicine s'avère être la chimiothérapie significativement la plus efficace sur les lignées $CaC0_2$, SW 480, SW 620 et HT 29. Ces 4 lignées ont en commun l'existence de la mutation de la protéine p53 et l'absence d'instabilité microsatellites (MSS). Deux présentent une instabilité chromosomique (CIN) : SW480 et HT29 et 3 sont KRAS muté (HT 29, SW480 et SW620)

Pour HCT 116 (KRas muté), même si l'idarubicine n'est pas significativement différente des autres chimiothérapies, on peut constater sur la courbe de viabilité cellulaire qu'elle correspond à la courbe la plus basse. L'absence de significativité est vraisemblablement liée à une variabilité importante entre les expériences.

Pour SW48, c'est la gemcitabine qui est significativement la plus efficace. Cette lignée est MSI, de meilleur pronostique sous chimiothérapie et Ras wild type (souche sauvage).

## XI. CONCLUSION ET DISCUSSION de l'étude 7

L'intérêt des traitements intra-artériels pour le traitement des métastases hépatiques du CCR déjà mis en avant depuis longtemps (Ensminger et al. 1978; Garnick, Ensminger, and Israel 1979; Niederhuber et al. 1984; Munck et al. 1993) est sans cesse réaffirmé (Bouchahda et al. 2011; Xing et al. 2014; Thierry de Baere, Tselikas, et al. 2016). Le choix de la chimiothérapie pour les infusions intra-artérielles a suivi les évolutions des traitements systémiques avec l'introduction de l'oxaliplatine et de l'irinotecan. La pharmacocinétique de ces 2 chimiothérapies ont été comparées entre la voie intra-artérielle (i.a.) et la voie intra-veineuse (i.v.) (Johanna M G H van Riel et al. 2002; Dzodic et al. 2004). Les bénéfices pharmacocinétiques i.a. vs i.v. de ces 2 chimiothérapies sont moins évidents que pour le 5-FU et le FUDR (Ensminger et al. 1978). Toutefois, de nombreux essais de phase III comparant 5FU ou FUDR en i.a. vs i.v. n'ayant pas permis de mettre en évidence de bénéfice en termes de survie, leur utilisation a été délaissée en faveur de l'oxaliplatine que ce soit en traitement néoadjuvant ou adjuvant d'une résection chirurgicale (Ducreux et al. 2005; Boige et al. 2008; Goéré et al. 2013). Les 2 essais randomisés actuellement en cours (Oscar et Pacha) sont basés sur l'utilisation de l'oxaliplatine en i.a. En ce qui concerne l'utilisation de la TACE, le choix de la chimiothérapie est très hétérogène pour la TACE lipiodolée sans rationnel clair. Pour la DEB-TACE, le choix de l'irinotécan comme chimiothérapie est basé sur les études pharmacocinétiques de phase I et II en infusion intra-artérielle et réaffirmé par une étude sur

un modèle animal (tumeur hépatique VX2 du lapin) (Johanna M G H van Riel et al. 2002; Fiorentini et al. 2003; J. M.G.H. van Riel et al. 2004; Rao et al. 2012).

A notre connaissance, le choix de la chimiothérapie n'a jamais été basé sur des études de screening recréant les conditions des traitements intra-artériels c'est-à-dire avec des temps de contact courts. Or, il se produit un wash-out (lavage) de la drogue dans les sinusoïdes et les veines centro-lobulaires avec un passage systémique rapide. Ainsi, plus la drogue choisie pour les traitements loco-régionaux pénètre rapidement dans les cellules, plus elle agit rapidement, plus elle a de chance d'être efficace sur ces modèles loco-régionaux.

Après un screening évaluant 12 chimiothérapies, le bévacizumab ainsi que le lipiodol, sur 6 lignées cellulaires de CCR, l'effet sur la viabilité cellulaire après un temps de contact court (30 minutes), est plus important avec l'idarubicine. Sur les 4 lignées Kras muté étudiées, l'idarubicine est significativement la plus efficace pour 3 lignées (HT29, SW480 et SW620) et tend à être la meilleure pour HCT 116. L'effet est notamment significativement plus marqué (meilleur Index de cytotoxicité) pour les braf muté (HT29 et SW620). L'idarubicine est significativement la meilleure sur toutes les lignées MSS. En revanche pour SW48, non mutée Kras ni Braf ni p53, MSI, la gemcitabine était la chimiothérapie la plus efficace. L'idarubicine était significativement efficace sur la lignée métastatique (SW620). Nos résultats montrent une moindre efficacité sur la viabilité cellulaire des chimiothérapies classiquement utilisées en i.a. comme le 5-FU, l'oxaliplatine et l'irinotecan. Nos résultats suggèrent l'absence d'effet cytotoxique (sauf à très haute concentration sur certaines lignées) du lipiodol et du bevacizumab.

Nous avons utilisé une méthodologie quasiment similaire à celle de Boulin et al. (2011), en dehors du fait que nous avons répétés les tests 3 fois dans le temps(Mathieu Boulin et al. 2011). Ces répétitions entrainent des écarts-types plus larges que pour des répliquât d'une même manipulation mais les résultats sont robustes (reproductibilité entre les manipulations). D'autre part, l'évaluation de la viabilité cellulaire n'a pas été effectuée avec les mêmes réactifs. Ainsi, il est difficile de comparer exactement les IC obtenus tout comme les CyI. Dans notre étude, l'idarubicine avait des CyI qui étaient compris entre 83 et 3 168 en fonction des lignées étudiées de cancer colorectal. Pour Boulin et al. (2011), les CyI sur les lignées de CHC allaient de 101 à 80 900 (Mathieu Boulin et al. 2011).

L'évaluation de certaines drogues *in vitro* (oxaliplatine, irinotecan et gemcitabine), basée sur les traitements loco-régionaux a été réalisée dans le but de vérifier que les IC50 étaient compatibles avec des infusions intra-artérielles (Hofmann et al. 2005; Kornmann, Fakler, et al. 2000; Kornmann, Butzer, et al. 2000).

Seul Hoffman (2005) a évalué l'efficacité de l'irinotecan sur des lignées de CCR (HT29, NMG 64/84 et COLO-357) avec un temps de contact identique au notre c'est-à-dire 30 minutes (Hofmann et al. 2005). L'évaluation de la cytotoxicité a été réalisée avec le test HTCA (Human Tumor colony-forming assay). Le résultat obtenu sur la lignée cellulaire HT29 en termes d'IC50 était de 200 µg/ml, ce qui est identique à notre résultat : 202 ± 57 µg/ml. Sur la base de ces résultats, les auteurs concluent que l'irinotecan possède des IC 50 tout à fait atteignables par infusion i.a. (Hofmann et al. 2005). Néanmoins, on rappelle que l'irinotécan est une prodrogue, métabolisée dans la plupart des tissus en SN38, son métabolite actif. L'activité cytotoxique basée sur l'inhibition de l'ADN topoisomérase I connue pour être fonction du temps de contact avec les cellules est spécifique de la phase S. En injection i.v., la dose recommandée est de 350 mg/m$^2$, diminuée à 180 en cas d'association avec le 5-FU. Toutes les données pharmacocinétiques des chimiothérapies sont issues de la base de données publique des médicaments ("Accueil - Base de Données Publique Des Médicaments" n.d.)

Kornmann (2000) a étudié l'effet in vitro de l'oxaliplatine avec des temps de contact de 2 h, 4 h et 24 h sur des lignées cellulaires de CCR HT29, NMG64/84 colon et COLO 357 ainsi que sur des cultures de métastases hépatiques (fresh liver metastases) (Kornmann, Fakler, et al. 2000). L'IC50 pour l'oxaliplatine était < 10µg/ml après 2 h de contact sur la plupart des lignées (Kornmann, Fakler, et al. 2000). Dans notre étude l'IC50 après 30 minutes de contact était de 40,9 ± 41 µg/ml. Nous retrouvons donc bien ici un effet temps dépendant. L'oxaliplatine par voie i.v. peut être injectée à la dose de 85 mg/m$^2$ toutes les 2 semaines. Sa clairance systémique est majeure dans les 48 heures après son injection i.v. Après une perfusion de 2 heures, 15 % de la dose est retrouvée dans la circulation systémique et les 85 % restant sont distribués rapidement dans les tissus ou éliminés dans les urines. Elle a donc quelques avantages pharmacocinétiques pour les injections i.a. mais moindre que le 5-FU. En effet, celui-ci a une demi-vie extrêmement courte (6 minutes) et un taux d'extraction hépatique élevé. Le 5-FU peut être injecté en i.v. à 400-600 mg/m$^2$/jour (diminué à 300 - 600mg/m$^2$/j en cas d'association).

Nous rappelons les caractéristiques idéales pour une chimiothérapie injectée en i.a. : le produit doit présenter un coefficient d'extraction hépatique (EH) élevé et une forte clairance hépatique, ce qui augmente l'exposition et diminue la toxicité générale (augmentation de l'index thérapeutique). Les coefficients d'extraction hépatiques (EH) varient d'une chimiothérapie à l'autre. Ils ne sont pas connus pour toutes les chimiothérapies. Le tableau ci-dessous (tableau 28) issu de l'article de Dizon et al. résume les connaissances à ce sujet (Dizon, Schwartz, and Kemeny 2008).

| Drug | Half-life (minutes) | $E_H$ (%) | Estimated increased exposure by HAI |
|---|---|---|---|
| 5-Fluoro-2-deoxyuridine | <10 | 94%–99% | 100–400-fold |
| 5-Fluorouracil | 10 | 19%–55% | 5–10-fold |
| Doxorubicin | 60 | 50%–0% | 2-fold |
| Bischloroethylnitrosourea | <5 | — | 6–7-fold |
| Mitomycin C | ≤10 | — | 6–8-fold |
| Cisplatin | 20–30 | — | 4–7-fold |
| Dichloromethotrexate | — | 40%–70% | 6–8-fold |
| Oxaliplatin | 15–19 hours | — | 4–5-fold |

*Tableau 28 : Tableau des avantages pharmacocinétiques pour l'infusion intra artérielle hépatique (Dizon et al. 2008). EH (%) : taux d'extraction hépatique.*

Kornmann et al. (2000) avait également étudié la gemcitabine sur les lignées HT29, NMG64/84 et des cultures de métastases hépatiques avec les mêmes temps de contact (2 h, 4 h et 24 h)(Kornmann, Butzer, et al. 2000). L'IC 50 après 2 h de contact était de 100 µg/ml pour HT29 et 2,5 µg/ml pour NMG64/84. Dans notre étude l'IC50 après 30 minutes d'exposition, était de 793 µg/ml sur HT29. Ici encore, l'efficacité temps dépendant est mise en évidence, ce qui est connu *in vitro*, pour la gemcitabine ainsi que la concentration - dépendance (Matsumoto et al. 2008). La clairance systémique de la gemcitabine varie de 29,2 l/h/$m^2$ à 92,2l/h/$m^2$ et ceci en fonction de l'âge et du sexe. La gemcitabine peut être injectée à 1000 mg/$m^2$ en i.v.

Aucune étude *in vitro* sur les IC90 de chimiothérapies sur lignées cellulaires de CCR n'a été retrouvée dans la littérature. Si l'on compare nos résultats de screening à temps court, les IC50 de l'idarubicine étaient vraiment très bas. En effet, l'IC 50 le plus élevé pour l'idarubicine dans notre étude était de 0,4 µg/ml sur $CaCO_2$ ce qui en fait une drogue à haut pouvoir

cytotoxique à très faible concentration. Cette propriété est celle qui est particulièrement recherchée pour la TACE.

Comme pour le CHC, le screening avec des temps de contact courts sur les lignées de CCR fait apparaitre l'idarubicine comme l'une des drogues les plus efficaces. L'idarubicine est une anthracycline, elle interagit avec l'ADN en s'intercalant entre 2 bases adjacentes, interagit avec la topoisomérase II et inhibe la synthèse des acides nucléiques. Son principal métabolite est l'idarubicinol qui a une activité anti-tumorale. La modification sur la position 4 du noyau de l'anthracycline confère à l'idarubicine une forte lipophilie qui entraine une forte pénétration intra-cellulaire, meilleure que celle de la doxorubicine et de la daunorubicine, autres anthracyclines (Broggini et al. 1984). En pharmacodynamie, d'après une étude sur des cellules sanguines et médullaires nucléées de patients leucémiques, les concentrations cellulaires atteignent leur maximum quelques minutes après leur injection. La clairance plasmatique est élevée (0.7 à 0.9 l/ min), l'élimination est lente et la distribution dans les tissus importante ce qui suggère un métabolisme extra-hépatique important. La demi-vie d'élimination est de 11-25 h. Elle peut être injectée en i.v. à 12 mg/m$^2$/j. Les données pharmacocinétiques de l'idarubicine en émulsion au lipiodol, ont été étudiées *in vitro* et *in vivo* (M. Boulin et al. 2016). La phase *in vitro* a permis de montrer que l'émulsion la plus stable était celle donnée par le mélange : 1 volume d'idarubicine pour 2 volumes de lipiodol. Cette préparation est celle qui a été utilisée *in vivo* sur 8 patients. La dose d'idarubicine était de 10 mg, choix basé sur les données pharmacocinétiques de l'étude IDASPHERE I (M Boulin et al. 2014). La clearance totale moyenne était de 162 l/h. La concentration plasmatique d'idarubicinol atteint un premier pic 5 minutes après la fin de l'injection puis diminue pour réaugmenter et atteindre un plateau (M. Boulin et al. 2016). Les auteurs expliquent ce pic par une extraction ultra-rapide de l'idarubicine par les hépatocytes suivie de son métabolisme immédiat (M. Boulin et al. 2016).

Une autre drogue lipophile évaluée par screening dans ce travail était le paclitaxel. Le seul caractère lipophile et par conséquent la forte pénétration cellulaire potentielle, ne semble pas expliquer à lui seul ces résultats. Le paclitaxel injecté en i.v. par perfusion de 3 et 24 heures aux doses de 135 et 175 mg/m$^2$, donnait des demi-vie moyenne de 3 à 52,7 h, avec une clairance corporelle totale de 11,6 à 24 l/h/m$^2$.

Les adénocarcinomes colorectaux sont connus pour être résistants aux anthracyclines et autres inhibiteurs de topoisomérase II. La résistance des $CaCO_2$ a été étudiée et a été reliée

à 2 mécanismes : le système MDR (Multi Drug Resistance) et une résistance qui apparaît lorsque les cellules sont à confluence (Garrido et al. 1995). L'irinotecan (CPT 11) ainsi que son métabolite le SN38 ne sont pas reconnus par la P glycoprotéine MDR et exercent des effets cytotoxiques sur des lignées résistantes à la doxorubicine. L'idarubicine possède la capacité à surmonter les phénomènes de MDR dans les cellules de myélomes multiples(Roovers et al. 1999).

L'analyse de la viabilité cellulaire a été réalisée au WST1, qui est un marqueur métabolique moins sensible que le cristal violet (marqueur cellulaire) qui a été utilisé pour le screening sur les lignées de CHC (Mathieu Boulin et al. 2011). Nous n'avons pas étudié le type de mort cellulaire, en fonction des drogues testées. Le choix des lignées cellulaires était basé sur la variabilité des mutations Braf et Kras mais non pas sur la différenciation cellulaire. Or depuis ces dernières années, des travaux ont porté sur la classification de lignées cellulaires de CCR. Les lignées que nous avons choisies sont peu différentiées au vu de ces récentes publications (Ahmed et al. 2013; Berg et al. 2017; Phelip 2018). De plus, les lignées cellulaires sont des lignées primitives de CCR en dehors de SW620 qui est une métastase ganglionnaire. Or, la génétique des tissus métastatiques peut être différente des sites primitifs et par conséquent le profil de réponse également.

L'oxaliplatine a prouvé son action synergique avec le 5-FU *in vivo* et *in vitro*. Nous n'avons pas cependant pas étudié cette association dans notre étude.

Dans le cadre d'une collaboration au sein de l'équipe de recherche, l'idarubicine pourrait être évaluée sur des lignées cellulaires de CCR plus différenciées, qui vont faire l'objet d'études sur la voie RASSSF-/hippo (Dr C. Bazille, CHU Caen). Une autre collaboration pourrait permettre d'évaluer l'idarubicine sur des cultures primaires de métastases hépatiques de CCR, créées à partir de biopsies hépatiques, comme cela a été fait pour la gemcitabine, l'irinotecan et l'oxaliplatine (Kornmann, Butzer, et al. 2000; Kornmann, Fakler, et al. 2000; Hofmann et al. 2005). Alors que les associations de chimiothérapies paraissent présenter un intérêt (Khouri et al. 2010), l'association idarubicine et gemcitabine pourrait être évaluée sur la base de nos résultats.

D'autre part, parmi les traitements intra-artériels (cTACE, DEB-TACE ou CIAH) il est intéressant de connaitre les différences de pharmacocinétique d'une chimiothérapie. Pour

l'irinotecan, l'évaluation du meilleur traitement i.a. a été réalisée sur un modèle de tumeur hépatique (VX2)(Rao et al. 2012). La concentration d'irinotecan par 200 mg de tissu hépatique 24h après injection était respectivement de 2,7 ng, 18,3 ng et 174,4 ng pour l'injection i.v., infusion intra-hépatique et les DEBIRI (Rao et al. 2012). Cette étude est en faveur de l'utilisation de la DEB-TACE pour l'irinotecan. On rappelle que l'irinotecan est une prodrogue qui doit être métabolisée en SN38, son métabolite actif. L'oxaliplatine a été comparée au cisplatine également sur ce même modèle de tumeur (VX2), avec une pharmacocinétique plus avantageuse pour l'oxaliplatine (Dzodic et al. 2004). Le VX2 est un modèle de tumeur hépatique qui correspond en fait à un carcinome de lapin. Celui-ci présenterait des caractéristiques identiques au CHC en termes de vascularisation (Geschwind et al. 2000). Cependant, un test de screening comparant 11 chimiothérapies sur des lignes cellulaires de ce modèle tumoral et des lignées de CHC (HepG2) a montré des différences de réponse entre ces 2 lignées (Pascale et al. 2015). On peut donc se poser la question de l'intérêt d'étude de la chimio-embolisation sur ce modèle animal.

Pour l'idarubicine, plusieurs évaluations pharmacocinétiques sur des billes chargées ont déjà été réalisées par Guiu et al. (Guiu et al. 2015b; Guiu, Hincapie, et al. 2019). Une étude de phase II pour la DEB-TACE à l'idarubicine a été publiée en 2019 (Guiu, Chevallier, et al. 2019). Concernant l'utilisation de l'idarubicine en cTACE, la pharmacocinétique de l'émulsion drogue-lipiodol a été évaluée comme nous l'avons vu précédemment (Mathieu Boulin et al. 2016a). Au vu des résultats de cette étude, l'utilisation de l'idarubicine en émulsion au lipiodol sans embolisation est en cours d'évaluation dans le CHC (Guiu et al. 2018a; Pistre et al. 2019). Cette approche pourrait également être intéressante pour les mCCR, au vu également des résultats sur l'hypoxie dans le mélanome.

Comme pour le CHC, étant donné les résultats de screening et des études cliniques, il semble nécessaire d'envisager une nouvelle phase I pour évaluer l'idarubicine et la gemcitabine afin d'en connaitre la toxicité et de déterminer les doses à administrer en i.a. sur des foies non cirrhotiques. L'indication initiale pourrait concerner les patients en dernière ligne après échec des chimiothérapies i.v. Devra sans suivre une étude de phase II, pour évaluer l'efficacité de la TACE à l'idarubicine. Seule ou en association à la gemcitabine. Une analyse de sous-groupe pourrait être réalisée en fonction des statuts mutés ou non de p53, Braf, Kras et des statuts MSI/MSS. Par la suite, en fonction du statut Kras des tumeurs, une association avec des thérapies ciblées en i.v. pourrait être évaluée.

Il nous faut préciser que ce travail de screening est en phase d'analyse des résultats sur des lignées cellulaires de CCR résistantes à l'oxaliplatine et au SN38.

L'efficacité de l'idarubicine en condition d'hypoxie pourrait être analysée, sur le même modèle utilisé pour les lignées de mélanomes de l'uvée. Pour les patients atteints de cancer colorectal, Cao et al. (2009) ont montré que l'augmentation de l'expression de HIF-1α et du VEGF était significativement associée au stade tumoral, à l'extension métastatique et à la survie. Les auteurs concluent que l'inhibition de HIF-1α pourrait être une cible thérapeutique prometteuse. En 2015, Buon et al. publient une revue sur HIF-1α dans le cancer colorectal (Ioannou et al. 2015). Les auteurs identifient 21 articles qui ont montré une relation entre HIF-1α et le pronostic des CCR. Nous n'avons pas trouvé dans la littérature d'étude similaire sur les métastases hépatiques de CCR. Il n'en reste pas moins que l'embolisation ou la chimioembolisation créent une hypoxie des tumeurs et que l'effet de cette hypoxie seule, à différent taux et associé aux traitements loco-régionaux de chimiothérapies pourrait apporter des données intéressantes comme pour les mélanomes de l'uvée.

L'analyse du microenvironnement tumoral (foie) reste un pan entier à évaluer. Ceci pourrait être évalué dans une étude de phase I conduite sur des biopsies.

# DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES

La RI est une discipline encore jeune dans l'histoire de la médecine. Des progrès significatifs ont été observés ces dix dernières années en termes de technologie et de miniaturisation. Ceci a notamment permis, comme nous l'avons rapporté, de disposer de pinces à biopsies miniatures que l'on peut introduire dans un introducteur de calibre raisonnable pour être positionné dans les voies biliaires, sans augmenter le risque de complications sur la voie d'abord. L'étude sur les biopsies endo-biliaires a pu améliorer la prise en charge des patients dans notre pratique quotidienne. Nous espérons que cette technique sera diffusée auprès des autres équipes de radiologie pour optimiser la prise en charge thérapeutique des sténoses biliaires.

Chaque nouveau dispositif, nouveau matériel doit être évalué et comparé à l'existant. Des recommandations claires sont attendues pour leur préparation et leur utilisation. La formation des plus jeunes ne doit pas se faire sur le patient mais sur des modèles expérimentaux. L'expérimentation animale doit pouvoir aider à l'évaluation *in vivo* mais aussi à la formation des jeunes praticiens. Nous espérons pouvoir entamer des travaux sur les agents liquides collants, qui prolongeront les évaluations *in vitro*, sur des modèles animaux.

Pour le traitement des tumeurs, les traitements loco-régionaux apparaissent très séduisants. Ils permettent de focaliser les traitements sur une cible précise en diminuant les effets secondaires. Ils permettent aussi des temps d'hospitalisation plus courts car ils sont moins invasifs que les traitements conventionnels comme les résections chirurgicales. Les traitements percutanés se sont rapidement positionnés comme des alternatives validées à la chirurgie dans les recommandations de prise en charge en oncologie. Comme nous l'avons rappelé dans la mini-revue (annexe 1) sur le traitement du CHC (Delicque et al. 2016), le traitement percutané des tumeurs consistait historiquement en l'injection d'éthanol *in situ.* Les systèmes d'ablation thermique sont désormais plus perfectionnés permettant par exemple des volumes d'ablation de plus en plus prévisibles, reproductibles et larges. Néanmoins, l'innovation technologique reste couteuse si bien que les techniques les plus perfectionnées ne sont pas toujours disponibles dans tous les centres, comme nous l'avons

observé dans notre enquête sur les pratiques. Ces nouvelles techniques doivent démontrer leur intérêt en termes de sécurité et d'efficacité et doivent surtout pouvoir être comparées aux traitements de référence existants. L'objectif est d'obtenir le remboursement de ces dispositifs par l'assurance maladie pour pouvoir diffuser largement ces techniques et les proposer au plus grand nombre de patients. On peut donc regretter qu'il n'existe que peu d'études randomisées comparatives entre les différentes techniques disponibles en RI.

C'est d'ailleurs bien le cas en traitement intra-artériel hépatique. Certes la chimioembolisation artérielle hépatique est bien établie pour le traitement du CHC, avec notamment une cotation par la CCAM qui a été revue à la hausse ces dernières années. On constate néanmoins qu'il existe plusieurs stratégies techniques pour pratiquer une même intervention dans la prise en charge d'une pathologie donnée. Notre enquête sur la TACE en France a confirmé cette hétérogénéité des pratiques à toutes les étapes du traitement : indication, choix de l'agent anti-cancéreux, choix du vecteur et choix de l'agent d'embolisation. Le même type d'enquête, plus concise (18 questions) , inspirée par la nôtre, mais élargie aux membres des 5 plus importantes sociétés de RI dans le monde a été publiée en septembre 2019 (Craig, Young, and Golzarian 2019). Cette enquête retrouve également des pratiques très hétérogènes entre les différentes zones géographiques sur les 62 pays représentés (Craig, Young, and Golzarian 2019).

Concernant la problématique du choix de l'agent cytotoxique, la doxorubicine reste l'agent le plus représenté mais une dizaine de chimiothérapies différentes sont utilisées au travers le monde, sans rationnel clair. La doxorubicine avait été choisie à l'origine en raison de son fort taux d'extraction hépatique mais pas en fonction de son potentiel effet cytotoxique dans des conditions de traitement intra-artériel. Les travaux de Boulin et al. (2011) sur le screening d'agent anti-cancéreux sur 3 lignées cellulaires de CHC ont permis de montrer que les agents les plus utilisés en pratique clinique n'étaient pas les plus efficaces *in vitro*. L'idarubicine, non utilisée jusqu'alors en TACE, s'est avérée être la plus cytotoxique. Dans l'étude de screening sur les lignées cellulaires de CCR, nous avons également pu identifier l'idarubicine comme drogue la plus efficace sur la viabilité cellulaire. Or, en chimioembolisation hépatique des mCCR cette chimiothérapie n'a jamais été utilisée. Elle ne l'a jamais été non plus en infusion intra-artérielle.

Pour les lignées cellulaires de mélanome de l'uvée, étude réalisée avant celle sur les lignées de CCR, nous n'avons pas testé l'idarubicine. Nous avions en effet basé notre choix sur les chimiothérapies déjà utilisées en TACE ou CIAH et avions comme objectif de les comparer. Mais nous n'avions pas imaginé que l'idarubicine, drogue utilisée dans la prise en charge du CHC puisse avoir une quelconque efficacité sur les lignées de mélanome de l'uvée. Notre étude a mis en évidence une efficacité un peu plus marquée pour le paclitaxel et pour la doxorubicine mais nous pensons qu'il sera nécessaire de tester à l'avenir l'idarubicine sur ces lignées de mélanome de l'uvée.

Concernant la technique de chimioembolisation artérielle hépatique, le choix du vecteur se porte soit sur le lipiodol soit sur les billes chargées. Dans la littérature, les billes chargées ont démontré un gain en tolérance mais pas en termes de survie globale. Au vu des résultats de notre enquête de pratique, le choix des billes chargées semble initialement résulter plus d'un effet de mode que d'un choix basé sur des arguments cliniques, oncologiques ou pharmacologiques. Il n'en reste pas moins qu'il existe des différences entre ces 2 techniques de chimioembolisation. Les billes chargées en chimiothérapie permettent un relargage progressif et prolongé des agents cytotoxiques. La thèse de Julien Namur (2009) a porté sur l'étude de la libération *in vivo* par microspectroscopie optique des microsphères d'embolisation pour la vectorisation de principes actifs (Namur 2009). Une analyse des concentrations et de la distribution de doxorubicine sur des foies explantés a été réalisée (figure 109 et 110). Les avantages théoriques des billes chargées avancées par Namur et al. sont un contrôle possible de la distribution des billes dans le réseau artériel (en fonction de leur diamètre par exemple), un relargage local de la drogue au contact de la tumeur, un relargage progressif, prolongé et à des niveaux de dose cytotoxiques et une nécrose tissulaire plus ciblée.

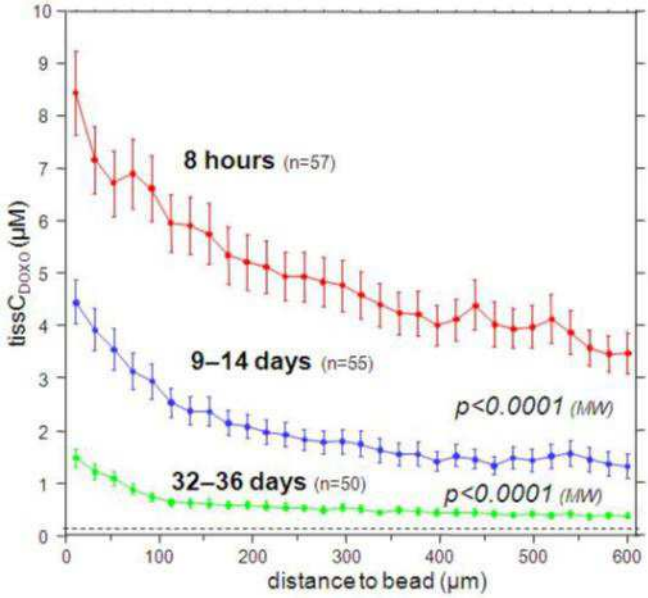



*Figure 109: Profil de concentration de la doxorubicine dans les tissus autour des billes à 8h, 9=14 jours et 32-36 jours après embolisation aux billes chargées à la doxorubicine (moyenne et écart type) (Namur J. 2009).*

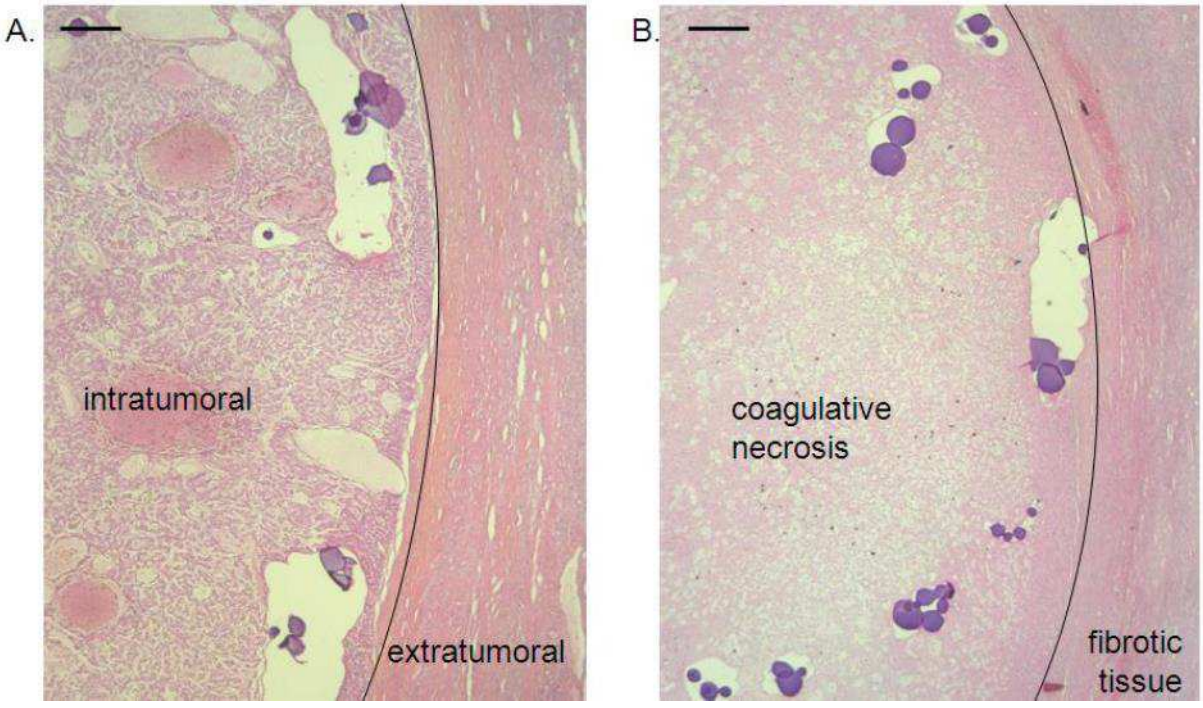



*Figure 110 : Billes chargées à la doxorubicine dans un nodule tumoral à 8 heures (A), dans la nécrose de coagulation à 32 heures (B). Coloration HES (Hématoxyline Eosine Safran) (Namur J, 2009). Echelle : barre = 300 µm*

Le lipiodol est lui un agent de contraste huileux iodé qui possède des propriétés intéressantes en oncologie hépatique. En effet, il se fixe spécifiquement et de façon durable sur le tissu tumoral (Nakakuma et al. 1983; Yumoto et al. 1985). Les cellules de Küpffer du foie sain dégradent le lipiodol alors que les tumeurs ont perdu cette capacité de dégradation. Il a donc été proposé d'utiliser le lipiodol comme vecteur de chimiothérapie. Le problème principal est l'instabilité de l'émulsion drogue-lipiodol. Les travaux de Nakamura et al. (1989) et de de Baere et al. (1995) ont permis d'optimiser le mélange drogue-lipiodol par la technique des émulsions « eau dans l'huile » ou « wio » pour « water-in-oil » (Nakamura et al. 1989; T de Baere et al. 1995). En effet, ce mélange wio permet de créer des gouttelettes d'environ 30 à 120 µm (figure 111) qui s'accumulent dans le tissu tumoral, alors que les émulsions inverses huile dans l'eau (oiw pour oil in water) produisent des gouttelettes de plus petites tailles (10-40µm) qui traversent la tumeur avec une diffusion systémique plus importante.

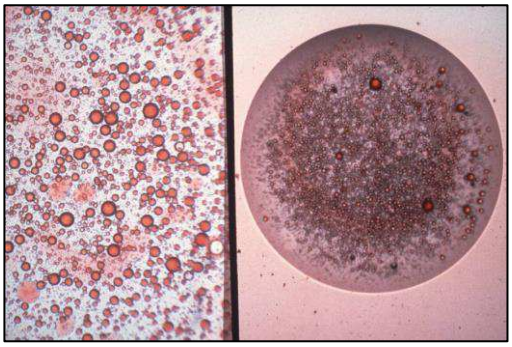


*Figure 111: Photographies d'une émulsion « eau dans huile » (Nakamura et al. 1989).*

L'utilisation du lipiodol comme vecteur de chimiothérapie a fait l'objet d'une revue systématique en 2016 (Lencioni et al. 2016).

Pour l'idarubicine, les travaux réalisés *in vitro* par Boulin et al. (2016) ont permis de montrer que l'émulsion idarubicine-lipiodol était plus stable que celle obtenue avec la doxorubicine et notamment pour un ratio drogue-lipiodol de 1 pour 2 (Mathieu Boulin et al. 2016b). D'autres part, Guiu et al. (2019) ont étudié les différences pharmacocinétiques *in vitro* entre plusieurs billes chargeables par l'idarubicine (Guiu, Hincapie, et al. 2019). Il serait utile

de pouvoir comparer les deux techniques de TACE à savoir la TACE lipiodolée à l'idarubicine et la DEB-TACE à l'idarubicine en situation clinique.

Comme nous l'avons suggéré plus haut il semble souhaitable à la vue de la toxicité de l'idarubicine sur les lignées cellulaires de CHC et de colorectal sur un temps de contact court, d'évaluer l'idarubicine sur les lignées de mélanomes de l'uvée. En fonction des résultats avec l'idarubicine, si le paclitaxel restait quand même la drogue la plus efficace sur les lignées d'UM, celle-ci devra être étudiée comme l'idarubicine (stabilité de l'émulsion avec le lipiodol et pharmacocinétique de chargement et relargage sur billes).

La standardisation de la TACE passe également par la problématique de l'embolisation. Comme nous l'avons vu dans notre enquête sur les pratiques de TACE, les agents d'embolisation utilisés sont très variables. Certains utilisent de la gélatine, préparée de façon différente (bouillie, petits fragments, …) et d'autres des particules (de composition et taille variées). De plus le point d'arrêt angiographique peut varier selon la technique utilisée. On rappelle que le but de l'embolisation lors des cTACE est d'augmenter la rétention de lipiodol et de chimiothérapie au sein de la tumeur pour entrainer une nécrose tumorale. L'effet de la TACE au lipiodol est différent de l'effet de celui de l'embolisation seule sur la microcirculation hépatique. Cette différence a été décrite par Kan et al. (2008) (figure 112) (Kan and Madoff 2008).

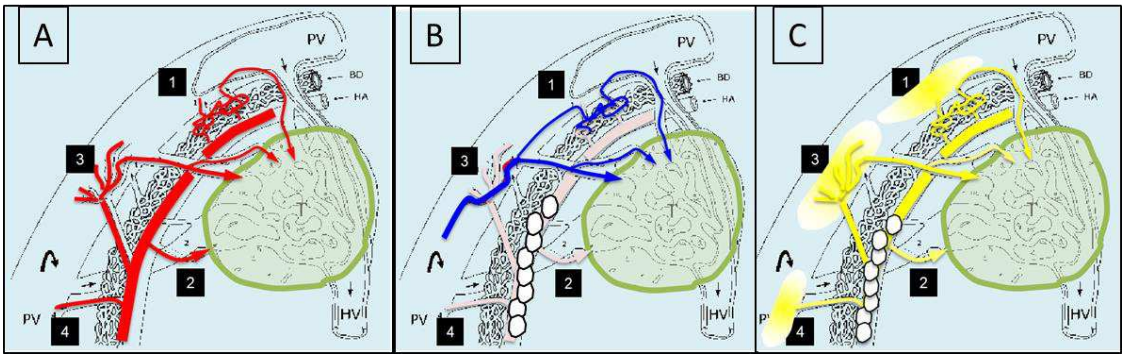



*Figure 112: Modification de la microcirculation intra-tumorale (A) après embolisation seule (B) et après chimioembolisation au lipiodol complétée par une embolisation aux particules (C) (Kan et al. 2008, modifié par K Osuga).*

L'embolisation seule interrompt la vascularisation artérielle à la tumeur mais la vascularisation issue du système porte peut augmenter. Le lipiodol en revanche peut pénétrer

et occlure la vascularisation tumorale même au niveau des anastomoses entre l'artère hépatique et le réseau porte. L'embolisation aux particules permet d'augmenter l'effet ischémique et de diminuer le lavage du lipiodol.

Ces travaux ont porté sur le CHC sur des foies de cirrhose. Pour compléter nos travaux de screening sur les métastases de mélanomes de l'uvée ou de cancer colorectal il serait nécessaire de pouvoir également étudier la microvascularisation tumorale des métastases (en fonction de leur origine) afin de comparer l'effet du lipiodol et les billes chargées sur l'angioarchitecture tumorale au sein d'un foie non cirrhotique.

Il faudrait également pouvoir comparer les différentes techniques intra-artérielles (TACE vs CIAH) afin de savoir quelle technique apporterait le plus de bénéficie en termes de réponse tumorale. Entre TACE et CIAH, c'est la composante d'embolisation qui fait la différence. Alors que certains pensent que l'embolisation seule constitue le traitement le plus efficace du CHC, d'autres mettent en avant l'effet des chimiothérapies. Nous avons d'ailleurs montré dans notre étude sur l'hypoxie, que l'effet de l'hypoxie seule était moins efficace que l'effet de la chimiothérapie seule. Guiu et al. ont débuté un essai (LIDAB) sur un traitement par chimio-lipiodol sans embolisation. Encore une fois, nous ne pouvons pas transposer de facto ces recherches sur les métastases tant que les différences histologiques et de microenvironnement n'auront pas été précisément étudiées.

Quoi qu'il en soit l'embolisation entraine une hypoxie sur les tumeurs traitées. D'après nos résultats, même en condition de contact court (30 minutes), l'hypoxie *in vitro* peut créer soit une résistance soit une sensibilisation au cisplatine et à la doxorubicine selon le degré d'hypoxie testé (1% $O_2$ à 0,2% $O_2$). Il faudrait vérifier ces effets avec l'idarubicine (et éventuellement le paclitaxel et la gemcitabine).

Tous ces travaux sur les traitements intra-artériels utilisant la chimiothérapie et l'embolisation ne doivent pas faire oublier les autres traitements de RI disponibles et notamment la SIRT. Une étude sur la potentielle place de la SIRT en première ligne pour le traitement des métastases hépatiques des mélanomes de l'uvée vient d'être publiée (Ponti et al. 2019). La SIRT a fait ses preuves dans le traitement des métastases hépatique du CCR, puisqu'elle a été récemment inscrite dans les actes de la CCAM des métastases hépatiques de CRC réfractaires à la chimiothérapie systémique.

Nous avons vu plus haut l'intérêt potentiel de l'immuno-embolisation pour le mélanome. L'immuno-oncologie devrait créer des opportunités d'association entre oncologues et radiologues interventionnels (Hickey et al. 2017; Erinjeri et al. 2019).

Le micro-environnement tumoral (vascularisation et hypoxie) sont aussi des cibles qui pourraient améliorer les traitements loco-régionaux. Plusieurs auteurs suggèrent des associations entre TACE et inhibiteur de l'angiogenèse (Gadaleta and Ranieri 2011; Petrillo et al. 2018). HIF-1 pourrait également être une cible thérapeutique à associer aux TACE (C. S. Chen et al. 2015; Q. Liu et al. 2018).

L'oxygénation des tumeurs pourrait aussi aider à surmonter la chimiorésistance induite par l'hypoxie intra-tumorale (D. Song et al. 2019). Cette approche pourrait aussi être intéressante pour les traitements intra-artériels de chimiothérapies.

# CONCLUSION GENERALE

Les traitements de RI nécessitent encore un travail de standardisation et tout particulièrement en oncologie. Leur efficacité doit permettre de les intégrer dans les algorithmes de prise en charge. Pour le traitement des métastases hépatiques, ils devraient pouvoir être proposés en première ligne après optimisation de leur utilisation. La RI personnalisée, adaptée aux mutations génétiques a du sens.

Néanmoins, il faut garder à l'esprit que les techniques de RI peuvent entrainer un effet stimulant sur les tumeurs (Nahm et al. 2017). L'embolisation des tumeurs est donc à double tranchant du fait de l'hypoxie qu'elle entraine qui doit être mieux contrôlée et étudiée. Peut-être faudra-t-il à terme préférer les traitements intra-artériels de chimiothérapie sans embolisation en combinaison avec d'autres thérapies telles qu'anti-angiogéniques, anti-HIF-1 ou immunothérapie.

L'optimisation des traitements en RI doit se faire conjointement avec les progrès de l'imagerie de la réponse tumorale pour sélectionner les patients potentiellement répondeurs, prédire les effets protumoraux et évaluer rapidement et de façon fiable et reproductible la réponse tumorale.

# Bibliographie

"Accueil - Base de Données Publique Des Médicaments." n.d. Accessed November 10, 2019. http://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/.

Ackerman, N B. 1974. "The Blood Supply of Experimental Liver Metastases. IV. Changes in Vascularity with Increasing Tumor Growth." *Surgery* 75 (4): 589–96. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4840805.

Aghayev, Ayaz, and Servet Tatli. 2014. "The Use of Cryoablation in Treating Liver Tumors." *Expert Review of Medical Devices* 11 (1): 41–52. https://doi.org/10.1586/17434440.2014.864551.

Ahmed, D., P. W. Eide, I. A. Eilertsen, S. A. Danielsen, M. Eknæs, M. Hektoen, G. E. Lind, and R. A. Lothe. 2013. "Epigenetic and Genetic Features of 24 Colon Cancer Cell Lines." *Oncogenesis* 2 (0424). https://doi.org/10.1038/oncsis.2013.35.

Algazi, Alain P., Katy K. Tsai, Alexander N. Shoushtari, Rodrigo R. Munhoz, Zeynep Eroglu, Josep M. Piulats, Patrick A. Ott, et al. 2016. "Clinical Outcomes in Metastatic Uveal Melanoma Treated with PD-1 and PD-L1 Antibodies." *Cancer* 122 (21): 3344–53. https://doi.org/10.1002/cncr.30258.

Aliberti, C, M Tilli, G Benea, and G Fiorentini. 2006. "Trans-Arterial Chemoembolization (TACE) of Liver Metastases from Colorectal Cancer Using Irinotecan-Eluting Beads: Preliminary Results." *Anticancer Research* 26 (5B): 3793–95. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17094403.

Aliberti, Camillo, Giammaria Fiorentini, Pier Carlo Muzzio, Fabio Pomerri, Massimo Tilli, Sergio Dallara, and Giorgio Benea. 2011. "Trans-Arterial Chemoembolization of Metastatic Colorectal Carcinoma to the Liver Adopting DC Bead®, Drug-Eluting Bead Loaded with Irinotecan: Results of a Phase II Clinical Study." *Anticancer Research* 31 (12): 4581–87. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22199334.

Aliberti, Camillo, M. Tilli, G. Benea, and G. Fiorentini. 2006. "Trans-Arterial Chemoembolization (TACE) of Liver Metastases from Colorectal Cancer Using Irinotecan-Eluting Beads: Preliminary Results." *Anticancer Research* 26 (5 B): 3793–95.

Allard, Marc Antoine, Mylène Sebagh, Gaëlle Baillie, Antoinette Lemoine, Peggy Dartigues, François Faitot, Matthieu Faron, et al. 2015. "Comparison of Complete Pathologic Response and Hepatic Injuries between Hepatic Arterial Infusion and Systemic Administration of Oxaliplatin in Patients with Colorectal Liver Metastases." *Annals of Surgical Oncology* 22 (6): 1925–32. https://doi.org/10.1245/s10434-014-4272-7.

Allen-Mersh, T G, S Earlam, C Fordy, K Abrams, and J Houghton. 1994. "Quality of Life and Survival with Continuous Hepatic-Artery Floxuridine Infusion for Colorectal Liver Metastases." *Lancet (London, England)* 344 (8932): 1255–60. https://doi.org/10.1016/s0140-6736(94)90750-1.

Amirouchene-Angelozzi, Nabil, Estelle Frisch-Dit-Leitz, Guillaume Carita, Ahmed Dahmani, Chloé Raymondie, Géraldine Liot, David Gentien, et al. 2016. "The MTOR Inhibitor Everolimus Synergizes with the PI3K Inhibitor GDC0941 to Enhance Anti-Tumor Efficacy in Uveal Melanoma." *Oncotarget* 7 (17): 23633–46. https://doi.org/10.18632/oncotarget.8054.

Ammori, John B., and Nancy E. Kemeny. 2010. "Regional Hepatic Chemotherapies in Treatment of Colorectal Cancer Metastases to the Liver." *Seminars in Oncology* 37 (2): 139–48. https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2010.03.003.

An, Tianzhi, Shasha Zhang, Min Xu, Shi Zhou, and Weiping Wang. 2015. “Transcatheter Embolization of Peripheral Renal Artery for Hemorrhagic Urological Emergencies Using FuAiLe Medical Glue.” *Scientific Reports* 5: 9106. https://doi.org/10.1038/srep09106.

Arrivé, Lionel, Marianne Hodoul, Antoune Arbache, Lucie Slavikova-Boucher, Yves Menu, and Sanaâ El Mouhadi. 2015. “Magnetic Resonance Cholangiography: Current and Future Perspectives.” *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology* 39 (6): 659–64. https://doi.org/10.1016/j.clinre.2015.07.005.

Baère, T de, A Denys, R Briquet, P Chevallier, J Dufaux, and A Roche. n.d. “Modification of Arterial and Portal Hemodynamics after Injection of Iodized Oils and Different Emulsions of Iodized Oils in the Hepatic Artery: An Experimental Study.” *Journal of Vascular and Interventional Radiology : JVIR* 9 (2): 305–10. Accessed February 5, 2017. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9540915.

Baere, T de, J Dufaux, A Roche, J L Counnord, M F Berthault, A Denys, and P Pappas. 1995. “Circulatory Alterations Induced by Intra-Arterial Injection of Iodized Oil and Emulsions of Iodized Oil and Doxorubicin: Experimental Study.” *Radiology* 194 (1): 165–70. https://doi.org/10.1148/radiology.194.1.7997545.

Baere, T de, X Zhang, B Aubert, G Harry, C Lagrange, J Ropers, J Dufaux, et al. 1996a. “Quantification of Tumor Uptake of Iodized Oils and Emulsions of Iodized Oils: Experimental Study.” *Radiology* 201 (3): 731–35. https://doi.org/10.1148/radiology.201.3.8939223.

Baere, Thierry de, Yasuaki Arai, Riccardo Lencioni, Jean-Francois Geschwind, William Rilling, Riad Salem, Osamu Matsui, and Michael C Soulen. 2016. “Treatment of Liver Tumors with Lipiodol TACE: Technical Recommendations from Experts Opinion.” *Cardiovascular and Interventional Radiology* 39 (3): 334–43. https://doi.org/10.1007/s00270-015-1208-y.

Baère, Thierry De, Alban Denys, Renè Briquet, Patrick Chevallier, Jacques Dufaux, and Alain Roche. 1998. “Modification of Arterial and Portal Hemodynamics after Injection of Iodized Oils and Different Emulsions of Iodized Oils in the Hepatic Artery: An Experimental Study.” *Journal of Vascular and Interventional Radiology* 9 (2): 305–10. https://doi.org/10.1016/S1051-0443(98)70273-8.

Baere, Thierry de, Lambros Tselikas, Valérie Boige, Michel Ducreux, David Malka, Diane Goéré, Eléonore Benahim, and Frédéric Deschamps. 2016. “Intra-Arterial Therapies for Colorectal Cancer Liver Metastases (Radioembolization Excluded).” *Bulletin Du Cancer*, December. https://doi.org/10.1016/j.bulcan.2016.10.025.

Baere, Thierry de, Lambros Tselikas, Steven Yevich, Valérie Boige, Frederic Deschamps, Michel Ducreux, Diane Goere, France Nguyen, and David Malka. 2017. “The Role of Image-Guided Therapy in the Management of Colorectal Cancer Metastatic Disease.” *European Journal of Cancer* 75 (April): 231–42. https://doi.org/10.1016/j.ejca.2017.01.010.

Bank, William O, Andrew B Stemer, Rocco A Armonda, and Randy S Bell. 2013. “Intermittent Balloon Occlusion to Favor Nidal Penetration during Embolization of Arteriovenous Malformations: A Technique Modification.” *BMJ Case Reports* 2013 (January). https://doi.org/10.1136/bcr-2012-010637.

Barat, Maxime, Audrey Fohlen, Christophe Cassinotto, Anne Sophie Jannot, Raphael Dautry, Jean-Pierre Pelage, Mourad Boudiaf, et al. 2017. “One-Month Apparent Diffusion Coefficient Correlates with Response to Radiofrequency Ablation of Hepatocellular Carcinoma.” *Journal of Magnetic Resonance Imaging : JMRI* 45 (6): 1648–58.

https://doi.org/10.1002/jmri.25521.

Barral, Matthias, Olivier Pellerin, Vi Thuy Tran, Benoît Gallix, Louis-Martin Boucher, David Valenti, Marc Sapoval, Philippe Soyer, and Anthony Dohan. 2019. "Predictors of Mortality from Spontaneous Soft-Tissue Hematomas in a Large Multicenter Cohort Who Underwent Percutaneous Transarterial Embolization." *Radiology* 291 (1): 250–58. https://doi.org/10.1148/radiol.2018181187.

Bartoli, Jean-Michel, and Jean Paul Beregi. 2011. "EMBOLISATION_EN_FRANCE_enqueteSFICV2011." www.sficv.com.

Bauer, Andrew M, Mark D Bain, and Peter A Rasmussen. 2015. "Onyx Resorbtion with AVM Recanalization after Complete AVM Obliteration." *Interventional Neuroradiology* 21 (3): 351–56. https://doi.org/10.1177/1591019915581985.

Becker, J C, P Terheyden, E Kämpgen, S Wagner, C Neumann, D Schadendorf, A Steinmann, G Wittenberg, W Lieb, and E-B Bröcker. 2002. "Treatment of Disseminated Ocular Melanoma with Sequential Fotemustine, Interferon α, and Interleukin 2." *British Journal of Cancer* 87 (8): 840–45. https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6600521.

Bedikian, A Y, S S Legha, G Mavligit, C H Carrasco, S Khorana, C Plager, N Papadopoulos, and R S Benjamin. 1995. "Treatment of Uveal Melanoma Metastatic to the Liver: A Review of the M. D. Anderson Cancer Center Experience and Prognostic Factors." *Cancer* 76 (9): 1665–70. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8635073.

Bedikian, Agop Y., Sewa S. Legha, Giora Mavligit, Cesar H. Carrasco, Sunil Khorana, Carl Plager, Nicholas Papadopoulos, and Robert S. Benjamin. 1995. "Treatment of Uveal Melanoma Metastatic to the Liver. A Review of the M. D. Anderson Cancer Center Experience and Prognostic Factors." *Cancer* 76 (9): 1665–70. https://doi.org/10.1002/1097-0142(19951101)76:9<1665::AID-CNCR2820760925>3.0.CO;2-J.

Bedikian, Agop Y, Nicholas Papadopoulos, Carl Plager, Omar Eton, and Sigrid Ring. 2003. "Phase II Evaluation of Temozolomide in Metastatic Choroidal Melanoma." *Melanoma Research* 13 (3): 303–6. https://doi.org/10.1097/01.cmr.0000056231.78713.e2.

Bellis, Mario de, Stuart Sherman, Evan L. Fogel, Harvey Cramer, John Chappo, Lee McHenry, James L. Watkins, and Glen A. Lehman. 2002. "Tissue Sampling at ERCP in Suspected Malignant Biliary Strictures (Part 1)." *Gastrointestinal Endoscopy* 56 (4): a128132. https://doi.org/10.1067/mge.2002.128132.

Bender, Carolin, Alexander Enk, Ralf Gutzmer, and Jessica C Hassel. 2017. "Anti-PD-1 Antibodies in Metastatic Uveal Melanoma: A Treatment Option?" *Cancer Medicine* 6 (7): 1581–86. https://doi.org/10.1002/cam4.887.

Berg, Kaja C.G., Peter W. Eide, Ina A. Eilertsen, Bjarne Johannessen, Jarle Bruun, Stine A. Danielsen, Merete Bjørnslett, et al. 2017. "Multi-Omics of 34 Colorectal Cancer Cell Lines - a Resource for Biomedical Studies." *Molecular Cancer* 16 (1): 1–16. https://doi.org/10.1186/s12943-017-0691-y.

Bernaudin, Myriam, and Frank R. Sharp. 2004. "Methods to Detect Hypoxia-Induced Ischemic Tolerance in the Brain." *Methods in Enzymology* 381: 399–416. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(04)81027-9.

Bhatia, Shailender, James Moon, Kim A. Margolin, Jeffrey S. Weber, Christopher D. Lao, Megan Othus, Ana M. Aparicio, Antoni Ribas, and Vernon K. Sondak. 2012. "Phase II Trial of Sorafenib in Combination with Carboplatin and Paclitaxel in Patients with Metastatic Uveal Melanoma: SWOG S0512." Edited by Salomon M. Stemmer. *PLoS ONE* 7 (11): e48787. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048787.

Bhutiani, Neal, Olaguoke Akinwande, and Robert C. G. Martin. 2016. “Efficacy and Toxicity of Hepatic Intra-Arterial Drug-Eluting (Irinotecan) Bead (DEBIRI) Therapy in Irinotecan-Refractory Unresectable Colorectal Liver Metastases.” *World Journal of Surgery* 40 (5): 1178–90. https://doi.org/10.1007/s00268-015-3386-9.

Binder-foucard, Florence, Aurélien Belot, Patricia Delafosse, Laurent Remontet, Anne-Sophie Woronoff, and Nadine Bossard. 2019. “Estimation Nationale de l ’ Incidence et de La Mortalité Par Cancer En France: Synthese 2018.” *Institut de Veille Sanitaire*.

Boige, Valérie, David Malka, Dominique Elias, Marine Castaing, Thierry De Baere, Diane Goere, Clarisse Dromain, Marc Pocard, and Michel Ducreux. 2008. “Hepatic Arterial Infusion of Oxaliplatin and Intravenous LV5FU2 in Unresectable Liver Metastases from Colorectal Cancer after Systemic Chemotherapy Failure.” *Annals of Surgical Oncology* 15 (1): 219–26. https://doi.org/10.1245/s10434-007-9581-7.

Bordji, Karim, Alexandra Grandval, Leilane Cuhna-Alves, Emmanuèle Lechapt-Zalcman, and Myriam Bernaudin. 2014. “Hypoxia-Inducible Factor-2α (HIF-2α), but Not HIF-1α, Is Essential for Hypoxic Induction of Class III β-Tubulin Expression in Human Glioblastoma Cells.” *FEBS Journal* 281 (23): 5220–36. https://doi.org/10.1111/febs.13062.

Bouchahda, M., F. Lévi, R. Adam, and P. Rougier. 2011. “Modern Insights into Hepatic Arterial Infusion for Liver Metastases from Colorectal Cancer.” *European Journal of Cancer* 47 (18): 2681–90. https://doi.org/10.1016/j.ejca.2011.06.037.

Boulin, M., E. Delhom, M.-A. Pierredon-Foulongne, J.-P. Cercueil, and B. Guiu. 2015. “Transarterial Chemoembolization for Hepatocellular Carcinoma: An Old Method, Now Flavor of the Day.” *Diagnostic and Interventional Imaging* 96 (6): 607–15. https://doi.org/10.1016/j.diii.2015.04.005.

Boulin, M., A. Schmitt, E. Delhom, J.-P. Cercueil, M. Wendremaire, D.-C. Imbs, A. Fohlen, et al. 2016. “Improved Stability of Lipiodol–drug Emulsion for Transarterial Chemoembolisation of Hepatocellular Carcinoma Results in Improved Pharmacokinetic Profile: Proof of Concept Using Idarubicin.” *European Radiology* 26 (2). https://doi.org/10.1007/s00330-015-3855-4.

Boulin, M, P Hillon, J P Cercueil, F Bonnetain, S Dabakuyo, A Minello, J L Jouve, et al. 2014. “Idarubicin-Loaded Beads for Chemoembolisation of Hepatocellular Carcinoma: Results of the IDASPHERE Phase I Trial.” *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 39 (11): 1301–13. https://doi.org/10.1111/apt.12746.

Boulin, Mathieu, Séverine Guiu, Bruno Chauffert, Serge Aho, Jean-Pierre Cercueil, François Ghiringhelli, Denis Krause, et al. 2011. “Screening of Anticancer Drugs for Chemoembolization of Hepatocellular Carcinoma.” *Anti-Cancer Drugs* 22 (8): 741–48. https://doi.org/10.1097/CAD.0b013e328346a0c5.

Boulin, Mathieu, Antonin Schmitt, Elisabeth Delhom, Jean-Pierre Cercueil, Maëva Wendremaire, Diane-Charlotte Imbs, Audrey Fohlen, et al. 2015. “Improved Stability of Lipiodol-Drug Emulsion for Transarterial Chemoembolisation of Hepatocellular Carcinoma Results in Improved Pharmacokinetic Profile: Proof of Concept Using Idarubicin.” *European Radiology*, June. https://doi.org/10.1007/s00330-015-3855-4.

Bracard, S, JM Macho-Fernandez, X Wang, R Anxionnat, and L Picard. 1998. “Influence of Temperature on Embolisation with Cyanoacrylate.” *Interventional Neuroradiology* 4: 301–5. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20673426.

Brault, B, C Marsault, J D Moulin, R Salmon, and J J Merland. 1976. “[Arterial Embolization in the Treatment of Metrorrhagia of Tumoral Origin].” *La Nouvelle Presse Medicale* 5 (16): 1043–46. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1272772.

Bray, F., J. Ferlay, M. Laversanne, D. H. Brewster, C. Gombe Mbalawa, B. Kohler, M. Piñeros, et al. 2015. “Cancer Incidence in Five Continents: Inclusion Criteria, Highlights from Volume X and the Global Status of Cancer Registration.” *International Journal of Cancer* 137 (9): 2060–71. https://doi.org/10.1002/ijc.29670.

Breedis, C, and G Young. 1954. “The Blood Supply of Neoplasms in the Liver.” *The American Journal of Pathology* 30 (5): 969–77. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1942491&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

Broggini, M, C Italia, T Colombo, L Marmonti, and M G Donelli. 1984. “Activity and Distribution of Iv and Oral 4-Demethoxydaunorubicin in Murine Experimental Tumors.” *Cancer Treatment Reports* 68 (5): 739–47. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6586294.

Brothers, M F, J C Kaufmann, A J Fox, and J P Deveikis. 1989. “N-Butyl 2-Cyanoacrylate--Substitute for IBCA in Interventional Neuroradiology: Histopathologic and Polymerization Time Studies.” *AJNR. American Journal of Neuroradiology* 10 (4): 777–86. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2505505.

Brown, Karen T. 2004. “Fatal Pulmonary Complications after Arterial Embolization with 40-120- Micro m Tris-Acryl Gelatin Microspheres.” *Journal of Vascular and Interventional Radiology : JVIR* 15 (2 Pt 1): 197–200. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14963189.

Bruix, J, M Sherman, J M Llovet, M Beaugrand, R Lencioni, A K Burroughs, E Christensen, et al. 2001. “Clinical Management of Hepatocellular Carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL Conference. European Association for the Study of the Liver.” *Journal of Hepatology* 35 (3): 421–30. https://doi.org/10.1016/s0168-8278(01)00130-1.

Bruix, Jordi, and Morris Sherman. 2011. “Management of Hepatocellular Carcinoma: An Update.” *Hepatology (Baltimore, Md.)* 53 (3): 1020–22. https://doi.org/10.1002/hep.24199.

Buecher, Bruno, Pauw, Antoine de, Paul Freneaux, and Etienne Rouleau. 2011. “Instabilité Des Microsatellites et Cancers Colorectaux.” *Cancéro Digest* 3 (3): 200–203. https://doi.org/10.4267/2042/45132.

Buroker, T, M Samson, J Correa, R Fraile, and V K Vaitkevicius. 1976. “Hepatic Artery Infusion of 5-FUDR after Prior Systemic 5-Fluorouracil.” *Cancer Treatment Reports* 60 (9): 1277–79. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/138480.

Calipel, Armelle, Solange Landreville, Arnaud De La Fouchardière, Frédéric Mascarelli, Michel Rivoire, Nicolas Penel, and Frédéric Mouriaux. 2014. “Mechanisms of Resistance to Imatinib Mesylate in KIT-Positive Metastatic Uveal Melanoma.” *Clinical and Experimental Metastasis* 31 (5): 553–64. https://doi.org/10.1007/s10585-014-9649-2.

Calipel, Armelle, Solange Landreville, Michel Rivoire, and Nicolas Penel. 2014. “Mechanisms of Resistance to Imatinib Mesylate in KIT-Positive Metastatic Uveal Melanoma.” *Clinical Exp Metastasis*. https://doi.org/10.1007/s10585-014-9649-2.

Calipel, Armelle, Anne-laure Lux, Sylvain Guérin, Jean-Louis Lefaix, Carine Laurent, Myriam Bernaudin, and Frédéric Mouriaux. 2015. “Differential Radiosensitivity of Uveal Melanoma Cell Lines After X-Rays or Carbon Ions Radiation.” *Investigative Opthalmology & Visual Science* 56 (5): 3085. https://doi.org/10.1167/iovs.14-15930.

Cammà, Calogero, Filippo Schepis, Ambrogio Orlando, Maddalena Albanese, Lillian Shahied, Franco Trevisani, Pietro Andreone, Antonio Craxì, and Mario Cottone. 2002. “Transarterial Chemoembolization for Unresectable Hepatocellular Carcinoma: Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials.” *Radiology* 224 (1): 47–54.

https://doi.org/10.1148/radiol.2241011262.

Cantore, M, G Fiorentini, E Aitini, B Davitti, G Cavazzini, C Rabbi, A Lusenti, M Bertani, C Morandi, and V Benedini. 1994. “Intra-Arterial Hepatic Carboplatin-Based Chemotherapy for Ocular Melanoma Metastatic to the Liver. Report of a Phase II Study.” *Tumori* 80 (1): 37–39. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8191596.

Carling, Ulrik, Eric J Dorenberg, Sven-Petter Haugvik, Nils Andreas Eide, Dag Tallak Berntzen, Bjørn Edwin, Svein Dueland, and Bård Røsok. 2015. “Transarterial Chemoembolization of Liver Metastases from Uveal Melanoma Using Irinotecan-Loaded Beads: Treatment Response and Complications.” *Cardiovascular and Interventional Radiology*, April. https://doi.org/10.1007/s00270-015-1093-4.

Carnevale, Francisco C., Joaquim M. da Motta-Leal-Filho, Alberto A. Antunes, Ronaldo H. Baroni, Geraldo C. Freire, Luciana M. O. Cerri, Antonio S. Z. Marcelino, Giovanni G. Cerri, and Miguel Srougi. 2011. “Midterm Follow-Up After Prostate Embolization in Two Patients with Benign Prostatic Hyperplasia.” *CardioVascular and Interventional Radiology* 34 (6): 1330–33. https://doi.org/10.1007/s00270-011-0136-8.

Carvajal, Richard D., Sophie Piperno-Neumann, Ellen Kapiteijn, Paul B. Chapman, Stephen Frank, Anthony M. Joshua, Josep M. Piulats, et al. 2018. “Selumetinib in Combination With Dacarbazine in Patients With Metastatic Uveal Melanoma: A Phase III, Multicenter, Randomized Trial (SUMIT).” *Journal of Clinical Oncology* 36 (12): 1232–39. https://doi.org/10.1200/JCO.2017.74.1090.

Carvajal, Richard D, Jeffrey A Sosman, Jorge Fernando Quevedo, Mohammed M Milhem, Anthony M Joshua, Ragini R Kudchadkar, Gerald P Linette, et al. 2014. “Effect of Selumetinib vs Chemotherapy on Progression-Free Survival in Uveal Melanoma: A Randomized Clinical Trial.” *JAMA* 311 (23): 2397–2405. https://doi.org/10.1001/jama.2014.6096.

Cazzato, Roberto Luigi, Julien Garnon, Jean Caudrelier, Pramod Prabhakar Rao, Guillaume Koch, and Afshin Gangi. 2018. “Percutaneous Radiofrequency Ablation of Painful Spinal Metastasis: A Systematic Literature Assessment of Analgesia and Safety.” *International Journal of Hyperthermia*. Taylor and Francis Ltd. https://doi.org/10.1080/02656736.2018.1425918.

Challapalli, Amarnath, Laurence Carroll, and Eric O. Aboagye. 2017. “Molecular Mechanisms of Hypoxia in Cancer.” *Clinical and Translational Imaging* 5 (3): 225–53. https://doi.org/10.1007/s40336-017-0231-1.

Charpentier, Kevin P, Farrah Wolf, Lelia Noble, Brody Winn, Murray Resnick, and Damian E Dupuy. 2011. “Irreversible Electroporation of the Liver and Liver Hilum in Swine.” *HPB : The Official Journal of the International Hepato Pancreato Biliary Association* 13 (3): 168–73. https://doi.org/10.1111/j.1477-2574.2010.00261.x.

Chen, Cheng Shi, Qing Zhao, Sheng Qian, Hai Liang Li, Chen Yang Guo, Wei Zhang, Zhi Ping Yan, Rong Liu, and Jian Hua Wang. 2015. “Ultrasound-Guided RNA Interference Targeting HIF-1 Alpha Improves the Effects of Transarterial Chemoembolization in Rat Liver Tumors.” *OncoTargets and Therapy* 8 (November): 3539–48. https://doi.org/10.2147/OTT.S94800.

Chen, H S, and J F Gross. 1980. “Intra-Arterial Infusion of Anticancer Drugs: Theoretic Aspects of Drug Delivery and Review of Responses.” *Cancer Treatment Reports* 64 (1): 31–40. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6155210.

Chuang, V P, and S Wallace. 1981. “Arterial Infusion and Occlusion in Cancer Patients.” *Seminars in Roentgenology* 16 (1): 13–25.

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6941478.

Chuang, Vincent P, and Sidney Wallace. 1981. “Hepatic Artery Embolization in the Treatment of Hepatic Neoplasms.” *Radiology* 140: 51_58.

Chung, J W, J H Park, J K Han, B I Choi, M C Han, H S Lee, and C Y Kim. 1996. “Hepatic Tumors: Predisposing Factors for Complications of Transcatheter Oily Chemoembolization.” *Radiology* 198 (1): 33–40. https://doi.org/10.1148/radiology.198.1.8539401.

Coldwell, D M, K R Stokes, and W F Yakes. 1994. “Embolotherapy: Agents, Clinical Applications, and Techniques.” *Radiographics : A Review Publication of the Radiological Society of North America, Inc* 14 (3): 623-43; quiz 645-6. https://doi.org/10.1148/radiographics.14.3.8066276.

Collins, J. M. 1984. “Pharmacologic Rationale for Regional Drug Delivery.” *Journal of Clinical Oncology* 2 (5): 498–504. https://doi.org/10.1200/JCO.1984.2.5.498.

Corroyer-Dulmont, Aurélien, Ararat Chakhoyan, Solène Collet, Lucile Durand, Eric T. MacKenzie, Edwige Petit, Myriam Bernaudin, Omar Touzani, and Samuel Valable. 2015. “Imaging Modalities to Assess Oxygen Status in Glioblastoma.” *Frontiers in Medicine*. Frontiers Media S.A. https://doi.org/10.3389/fmed.2015.00057.

Craig, Paul, Shamar Young, and Jafar Golzarian. 2019. “Current Trends in the Treatment of Hepatocellular Carcinoma with Transarterial Embolization: Variability in Technical Aspects.” *Cardiovascular and Interventional Radiology* 42 (9): 1322–28. https://doi.org/10.1007/s00270-019-02232-7.

Cromwell, L. D., and C. W. Kerber. 1979. “Modification of Cyanoacrylate for Therapeutic Embolization: Preliminary Experience.” *American Journal of Roentgenology* 132 (May): 799–801.

Cromwell, L D, and A B Harris. 1980. “Treatment of Cerebral Arteriovenous Malformations: A Combined Neurosurgical and Neuroradiological Approach.” *Journal of Neurosurgery* 52 (5): 705–8. https://doi.org/10.3171/jns.1980.52.5.0705.

D’Hermies, F. 2007. “Aspects Macroscopiques et Histopronostiques Du Mélanome Malin Choroïdien.” *Journal Francais d’Ophtalmologie* 30 (1): 99–107.

Danielli, Riccardo, Ruggero Ridolfi, Vanna Chiarion-Sileni, Paola Queirolo, Alessandro Testori, Ruth Plummer, Monica Boitano, et al. 2012. “Ipilimumab in Pretreated Patients with Metastatic Uveal Melanoma: Safety and Clinical Efficacy.” *Cancer Immunology, Immunotherapy : CII* 61 (1): 41–48. https://doi.org/10.1007/s00262-011-1089-0.

Dasgupta, Roshni, and Steven J. Fishman. 2014. “ISSVA Classification.” *Seminars in Pediatric Surgery* 23 (4): 158–61. https://doi.org/10.1053/j.sempedsurg.2014.06.016.

Davidson, Kevin, and Samira Shojaee. 2019. “Managing Massive Hemoptysis.” *Chest*, July. https://doi.org/10.1016/j.chest.2019.07.012.

Debrun, G, F Vinuela, A Fox, and C G Drake. 1982. “Embolization of Cerebral Arteriovenous Malformations with Bucrylate.” *Journal of Neurosurgery* 56 (5): 615–27. https://doi.org/10.3171/jns.1982.56.5.0615.

Deipolyi, Amy R., Rahmi Oklu, Shehab Al-Ansari, Andrew X. Zhu, Lipika Goyal, and Suvranu Ganguli. 2015. “Safety and Efficacy of 70–150 Mm and 100–300 Mm Drug-Eluting Bead Transarterial Chemoembolization for Hepatocellular Carcinoma.” *Journal of Vascular and Interventional Radiology* 26 (4): 516–22. https://doi.org/10.1016/j.jvir.2014.12.020.

Delicque, Julien, Mathieu Boulin, Boris Guiu, Jean-Pierre Pelage, Laure Escal, Valentina Schembri, Eric Assenat, and Audrey Fohlen. 2016. “Interventional Oncology for Hepatocellular Carcinoma.” *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*,

April. https://doi.org/10.1016/j.clinre.2016.01.007.
Deschamps, F., D. Elias, D. Goere, D. Malka, M. Ducreux, V. Boige, A. Auperin, and T. de Baere. 2011. "Intra-Arterial Hepatic Chemotherapy: A Comparison of Percutaneous Versus Surgical Implantation of Port-Catheters." *CardioVascular and Interventional Radiology* 34 (5): 973–79. https://doi.org/10.1007/s00270-010-9996-6.
Deschamps, Frederic, Kathleen R. Harris, Laurence Moine, Weiguo Li, Lambros Tselikas, Thomas Isoardo, Robert J. Lewandowski, et al. 2018. "Pickering-Emulsion for Liver Trans-Arterial Chemo-Embolization with Oxaliplatin." *CardioVascular and Interventional Radiology* 41 (5): 781–88. https://doi.org/10.1007/s00270-018-1899-y.
Deschamps, Frederic, Pramod Rao, Christophe Teriitehau, Antoine Hakime, David Malka, Valerie Boige, Michel Ducreux, Dominique Elias, Diane Goere, and Thierry de Baere. 2010. "Percutaneous Femoral Implantation of an Arterial Port Catheter for Intraarterial Chemotherapy: Feasibility and Predictive Factors of Long-Term Functionality." *Journal of Vascular and Interventional Radiology : JVIR* 21 (11): 1681–88. https://doi.org/10.1016/j.jvir.2010.08.003.
Dizon, Don S, Joanna Schwartz, and Nancy Kemeny. 2008. "Regional Chemotherapy: A Focus on Hepatic Artery Infusion for Colorectal Cancer Liver Metastases." *Surgical Oncology Clinics of North America* 17 (4): 759–71, viii. https://doi.org/10.1016/j.soc.2008.04.009.
Dohan, A., L. Darnige, M. Sapoval, and O. Pellerin. 2015. "Spontaneous Soft Tissue Hematomas." *Diagnostic and Interventional Imaging* 96 (7–8): 789–96. https://doi.org/10.1016/j.diii.2015.03.014.
Dotter, C. T., Martin L Goldman, and Josef Rösch. 1975. "Instant Selective Arterial Occlusion with Isobutyl 2-Cyanoacrylate." *Radiology* 114: 227–30.
Doyon, D, A Mouzon, A M Jourde, C Regensberg, and C Frileux. 1974. "[Hepatic, Arterial Embolization in Patients with Malignant Liver Tumours (Author's Transl)]." *Annales de Radiologie* 17 (6): 593–603. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4142843.
Ducreux, Michel, Marc Ychou, Agnès Laplanche, Erick Gamelin, Philippe Lasser, Fares Husseini, François Quenet, et al. 2005. "Hepatic Arterial Oxaliplatin Infusion plus Intravenous Chemotherapy in Colorectal Cancer with Inoperable Hepatic Metastases: A Trial of the Gastrointestinal Group of the Federation Nationale Des Centres de Lutte Contre Le Cancer." *Journal of Clinical Oncology : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 23 (22): 4881–87. https://doi.org/10.1200/JCO.2005.05.120.
Dzodic, Radan, Gonzalo Gomez-Abuin, Philippe Rougier, Marc Bonnay, Patrice Ardouin, Alain Gouyette, Olivier Rixe, Michel Ducreux, and Jean-Nicolas Munck. 2004. "Pharmacokinetic Advantage of Intra-Arterial Hepatic Oxaliplatin Administration: Comparative Results with Cisplatin Using a Rabbit VX2 Tumor Model." *Anti-Cancer Drugs* 15 (6): 647–50. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15205611.
"EASL-EORTC Clinical Practice Guidelines: Management of Hepatocellular Carcinoma." 2012. *Journal of Hepatology* 56 (4): 908–43. https://doi.org/10.1016/j.jhep.2011.12.001.
Edelhauser, Gundula, Nikolaus Schicher, Dominik Berzaczy, Dietrich Beitzke, Christoph Höeller, Johannes Lammer, and Martin Funovics. 2012. "Fotemustine Chemoembolization of Hepatic Metastases from Uveal Melanoma: A Retrospective Single-Center Analysis." *AJR. American Journal of Roentgenology* 199 (6): 1387–92. https://doi.org/10.2214/AJR.11.7748.
Elyaderani, MK, and OF Gabriele. 1980. "Brush and Forceps Biopsy of Biliary Ducts via Percutaneous Transhepatic Catheterization." *Radiology* 135: 777–78.
Ensminger, W D, A Rosowsky, V Raso, D C Levin, M Glode, S Come, G Steele, and E Frei. 1978.

"A Clinical-Pharmacological Evaluation of Hepatic Arterial Infusions of 5-Fluoro-2'-Deoxyuridine and 5-Fluorouracil." *Cancer Research* 38 (11 Pt 1): 3784–92. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/151583.

Erinjeri, Joseph P, Gabriel C Fine, Gosse J Adema, Muneeb Ahmed, Julius Chapiro, Martijn den Brok, Rafael Duran, et al. 2019. "Immunotherapy and the Interventional Oncologist: Challenges and Opportunities-A Society of Interventional Oncology White Paper." *Radiology* 292 (1): 25–34. https://doi.org/10.1148/radiol.2019182326.

Eschelman, David J, Carin F Gonsalves, and Takami Sato. 2013. "Transhepatic Therapies for Metastatic Uveal Melanoma." *Seminars in Interventional Radiology* 30 (1): 39–48. https://doi.org/10.1055/s-0033-1333652.

Facciorusso, Antonio, Francesco Bellanti, Rosanna Villani, Veronica Salvatore, Nicola Muscatiello, Fabio Piscaglia, Gianluigi Vendemiale, and Gaetano Serviddio. 2017. "Transarterial Chemoembolization vs Bland Embolization in Hepatocellular Carcinoma: A Meta-Analysis of Randomized Trials." *United European Gastroenterology Journal* 5 (4): 511–18. https://doi.org/10.1177/2050640616673516.

Falchook, Gerald S, Karl D Lewis, Jeffrey R Infante, Michael S Gordon, Nicholas J Vogelzang, Douglas J DeMarini, Peng Sun, et al. 2012. "Activity of the Oral MEK Inhibitor Trametinib in Patients with Advanced Melanoma: A Phase 1 Dose-Escalation Trial." *The Lancet. Oncology* 13 (8): 782–89. https://doi.org/10.1016/S1470-2045(12)70269-3.

Farolfi, A, L Ridolfi, M Guidoboni, C Milandri, F Calzolari, E Scarpi, D Amadori, and R Ridolfi. 2011. "Liver Metastases from Melanoma: Hepatic Intra-Arterial Chemotherapy. A Retrospective Study." *Journal of Chemotherapy (Florence, Italy)* 23 (5): 300–305. https://doi.org/10.1179/joc.2011.23.5.300.

Favelier, Sylvain, Mathieu Boulin, Samia Hamza, Jean-Pierre Cercueil, Violaine Cherblanc, Côme Lepage, Patrick Hillon, Bruno Chauffert, Denis Krausé, and Boris Guiu. 2013. "Lipiodol Trans-Arterial Chemoembolization of Hepatocellular Carcinoma with Idarubicin: First Experience." *Cardiovascular and Interventional Radiology* 36 (4): 1039–46. https://doi.org/10.1007/s00270-012-0532-8.

Ferlay, J, I Soerjomataram I, R Dikshit, S Eser, C Mathers, M Rebelo, D M Parkin, D Forman D, and F Bray. 2015. "Cancer Incidence and Mortality Worldwide: Sources, Methods and Major Patterns in GLOBOCAN 2012." *International Journal of Cancer. Journal International Du Cancer* 136 (5): E359-86. https://doi.org/10.1002/ijc.29210.

Ferlay, Jacques, Isabelle Soerjomataram, Rajesh Dikshit, Sultan Eser, Colin Mathers, Marise Rebelo, Donald Maxwell Parkin, David Forman, and Freddie Bray. 2015. "Cancer Incidence and Mortality Worldwide: Sources, Methods and Major Patterns in GLOBOCAN 2012." *International Journal of Cancer* 136 (5): E359–86. https://doi.org/10.1002/ijc.29210.

Fiorentini, Giammaria, Camillo Aliberti, Alessandro Del Conte, Massimo Tilli, Susanna Rossi, Pierluigi Ballardini, Gina Turrisi, and Giorgio Benea. 2009. "Intra-Arterial Hepatic Chemoembolization (TACE) of Liver Metastases from Ocular Melanoma with Slow-Release Irinotecan-Eluting Beads. Early Results of a Phase II Clinical Study." *In Vivo (Athens, Greece)* 23 (1): 131–37. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19368137.

Fiorentini, Giammaria, Camillo Aliberti, Luca Mulazzani, Paolo Coschiera, Vincenzo Catalano, David Rossi, Paolo Giordani, and Stefano Ricci. 2014. "Chemoembolization in Colorectal Liver Metastases: The Rebirth." *Anticancer Research* 34 (2): 575–84. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24510986.

Fiorentini, Giammaria, Camillo Aliberti, Massimo Tilli, Luca Mulazzani, Francesco Graziano,

Paolo Giordani, Andrea Mambrini, et al. 2012. “Intra-Arterial Infusion of Irinotecan-Loaded Drug-Eluting Beads (DEBIRI) versus Intravenous Therapy (FOLFIRI) for Hepatic Metastases from Colorectal Cancer: Final Results of a Phase III Study.” *Anticancer Research* 32 (4): 1387–95. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22493375.

Fiorentini, Giammaria, Camillo Aliberti, Gina Turrisi, Alessandro Del Conte, Susanna Rossi, Giorgio Benea, and Petros Giovanis. 2007. “Intraarterial Hepatic Chemoembolization of Liver Metastases from Colorectal Cancer Adopting Irinotecan-Eluting Beads: Results of a Phase II Clinical Study.” *In Vivo (Athens, Greece)* 21 (6): 1085–91. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18210761.

Fiorentini, Giammaria, Susanna Rossi, Patrizia Dentico, Paolo Bernardeschi, Alessandra Calcinai, Francesco Bonechi, Maurizio Cantore, Stefano Guadagni, and Michele De Simone. 2003. “Irinotecan Hepatic Arterial Infusion Chemotherapy for Hepatic Metastases from Colorectal Cancer: A Phase II Clinical Study.” *Tumori* 89 (4): 382–84. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14606639.

Fohlen, A., J. Namur, H. Ghegediban, A. Laurent, M. Wassef, and J.-P. Pelage. 2017. “Peripheral Embolization Using Hydrogel-Coated Coils Versus Fibered Coils: Short-Term Results in an Animal Model.” *CardioVascular and Interventional Radiology*. https://doi.org/10.1007/s00270-017-1834-7.

Fohlen, Audrey, Julien Namur, Homayra Ghegediban, Alexandre Laurent, Michel Wassef, and Jean-Pierre Pelage. 2019. “Midterm Recanalization after Arterial Embolization Using Hydrogel-Coated Coils versus Fibered Coils in an Animal Model.” *Journal of Vascular and Interventional Radiology* 30 (6): 940–48. https://doi.org/10.1016/j.jvir.2018.05.005.

Fukushima, S, S Kishimoto, Y Hayashi, M Nakano, J Shibata, S Fujiyama, and T Sato. 1989. “[Intra-Arterial Injection of Cisplatin Suspension in Lipiodol (LPS) in the Treatment of Hepatocellular Carcinoma].” *Gan to Kagaku Ryoho. Cancer & Chemotherapy* 16 (8 Pt 2): 3062–65. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2551247.

Gadaleta, C. Damiano, and Girolamo Ranieri. 2011. “Trans-Arterial Chemoembolization as a Therapy for Liver Tumours: New Clinical Developments and Suggestions for Combination with Angiogenesis Inhibitors.” *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 80 (1): 40–53. https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2010.10.005.

Galle, Peter R., Alejandro Forner, Josep M. Llovet, Vincenzo Mazzaferro, Fabio Piscaglia, Jean Luc Raoul, Peter Schirmacher, and Valérie Vilgrain. 2018. “EASL Clinical Practice Guidelines: Management of Hepatocellular Carcinoma.” *Journal of Hepatology* 69 (1): 182–236. https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.03.019.

Garin, E., L. Lenoir, J. Edeline, S. Laffont, H. Mesbah, P. Porée, L. Sulpice, et al. 2013. “Boosted Selective Internal Radiation Therapy with 90Y-Loaded Glass Microspheres (B-SIRT) for Hepatocellular Carcinoma Patients: A New Personalized Promising Concept.” *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 40 (7): 1057–68. https://doi.org/10.1007/s00259-013-2395-x.

Garnick, Marc B., William D. Ensminger, and Mervyn Israel. 1979. “A Clinical-Pharmacological Evaluation of Hepatic Arterial Infusion of Adriamycin.” *Cancer Research* 39 (10): 4105–10.

Garrido, C, B Chauffert, D Pinard, F Tibaut, P Genne, M Assem, and M T Dimanche-Boitrel. 1995. “Circumvention of Confluence-Dependent Resistance in a Human Multi-Drug-Resistant Colon-Cancer Cell Line.” *International Journal of Cancer* 61 (6): 873–79. https://doi.org/10.1002/ijc.2910610621.

Geschwind, Jean Francois H., Dimitri Artemov, Susan Abraham, David Omdal, Michael S.

Huncharek, Carolyn McGee, Aravind Arepally, Drew Lambert, Anthony C. Venbrux, and Gunnar B. Lund. 2000. “Chemoembolization of Liver Tumor in a Rabbit Model: Assessment of Tumor Cell Death with Diffusion-Weighted MR Imaging and Histologic Analysis 1.” *Journal of Vascular and Interventional Radiology* 11 (10): 1245–55. https://doi.org/10.1016/S1051-0443(07)61299-8.

Goéré, Diane, Léonor Benhaim, Stéphane Bonnet, David Malka, Matthieu Faron, Dominique Elias, Jérémie H Lefèvre, et al. 2013. “Adjuvant Chemotherapy after Resection of Colorectal Liver Metastases in Patients at High Risk of Hepatic Recurrence: A Comparative Study between Hepatic Arterial Infusion of Oxaliplatin and Modern Systemic Chemotherapy.” *Annals of Surgery* 257 (1): 114–20. https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e31827b9005.

Golfieri, R, E Giampalma, M Renzulli, R Cioni, I Bargellini, C Bartolozzi, A D Breatta, et al. 2014. “Randomised Controlled Trial of Doxorubicin-Eluting Beads vs Conventional Chemoembolisation for Hepatocellular Carcinoma.” *British Journal of Cancer* 111 (2): 255–64. https://doi.org/10.1038/bjc.2014.199.

Gonsalves, Carin F, David J Eschelman, Bartley Thornburg, Andrea Frangos, and Takami Sato. 2015. “Uveal Melanoma Metastatic to the Liver: Chemoembolization With 1,3-Bis-(2-Chloroethyl)-1-Nitrosourea.” *AJR. American Journal of Roentgenology*, April, 1–5. https://doi.org/10.2214/AJR.14.14001.

Griewank, Klaus, Xiaoxing Yu, Jahan Khalili, M.Mert Sozen, Katherine Stempke-Hale, Chantale Bernatchez, Seth Wardell, Boris C Bastien, and Scott E Woodman. 2012. “Genetic and Molecular Characterization of Uveal Melanoma Cell Lines.” *Pigment Cell Melanoma Res* 25 (2): 182–87. https://doi.org/10.1111/j.1755-148X.2012.00971.x.Genetic.

Grimaldi, Antonio M, Ester Simeone, Lucia Festino, Vito Vanella, Martina Strudel, and Paolo A Ascierto. 2017. “MEK Inhibitors in the Treatment of Metastatic Melanoma and Solid Tumors.” *American Journal of Clinical Dermatology* 18 (6): 745–54. https://doi.org/10.1007/s40257-017-0292-y.

Guiu, Boris, Pierre Bize, Daniel Gunthern, Nicolas Demartines, Nermin Halkic, and Alban Denys. 2013. “Portal Vein Embolization before Right Hepatectomy: Improved Results Using n-Butyl-Cyanoacrylate Compared to Microparticles plus Coils.” *Cardiovascular and Interventional Radiology* 36 (5): 1306–12. https://doi.org/10.1007/s00270-013-0565-7.

Guiu, Boris, Patrick Chevallier, Eric Assenat, Emilie Barbier, Philippe Merle, Antoine Bouvier, Jérôme Dumortier, et al. 2019. “Idarubicin-Loaded Beads for Chemoembolization of Hepatocellular Carcinoma: The IDASPHERE II Single-Arm Phase II Trial.” *Radiology* 291 (3): 801–8. https://doi.org/10.1148/radiol.2019182399.

Guiu, Boris, Frédéric Deschamps, Serge Aho, Flore Munck, Clarisse Dromain, Valérie Boige, David Malka, et al. 2012. “Liver/Biliary Injuries Following Chemoembolisation of Endocrine Tumours and Hepatocellular Carcinoma: Lipiodol vs. Drug-Eluting Beads.” *Journal of Hepatology* 56 (3): 609–17. https://doi.org/10.1016/j.jhep.2011.09.012.

Guiu, Boris, Gloria Hincapie, Luis Thompson, Yue Wu, Mathieu Boulin, Christophe Cassinotto, and Gregory M Cruise. 2019. “An In Vitro Evaluation of Four Types of Drug-Eluting Embolics Loaded with Idarubicin.” *Journal of Vascular and Interventional Radiology : JVIR* 30 (8): 1303–9. https://doi.org/10.1016/j.jvir.2018.12.022.

Guiu, Boris, Jean-Louis Jouve, Antonin Schmitt, Anne Minello, Franck Bonnetain, Christophe Cassinotto, Lauranne Piron, et al. 2018a. “Intra-Arterial Idarubicin_lipiodol without

Embolisation in Hepatocellular Carcinoma: The LIDA-B Phase I Trial." *Journal of Hepatology* 68 (6): 1163–71. https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.01.022.

Guiu, Boris, Antonin Schmitt, Sven Reinhardt, Audrey Fohlen, Theresa Pohl, Maëva Wendremaire, Alban Denys, Jacques Blümmel, and Mathieu Boulin. 2015a. "Idarubicin-Loaded ONCOZENE Drug-Eluting Embolic Agents for Chemoembolization of Hepatocellular Carcinoma: In Vitro Loading and Release and in Vivo Pharmacokinetics." *Journal of Vascular and Interventional Radiology : JVIR* 26 (2): 262–70. https://doi.org/10.1016/j.jvir.2014.08.021.

Guiu, Colombat, Piron, Hermida, Allimant, Pierredon-Foulongne, Belgour, Escal, Cassinotto, and Boulin. 2019. "Transarterial Chemoembolization of Hepatocellular Carcinoma with Idarubicin-Loaded Tandem Drug-Eluting Embolics." *Cancers* 11 (7): 987. https://doi.org/10.3390/cancers11070987.

Harris, Adrian L. 2002. "Hypoxia - A Key Regulatory Factor in Tumour Growth." *Nature Reviews Cancer* 2 (1): 38–47. https://doi.org/10.1038/nrc704.

Hersh, E M, M Del Vecchio, M P Brown, R Kefford, C Loquai, A Testori, S Bhatia, et al. 2015. "A Randomized, Controlled Phase III Trial of Nab-Paclitaxel versus Dacarbazine in Chemotherapy-Naïve Patients with Metastatic Melanoma." *Annals of Oncology : Official Journal of the European Society for Medical Oncology* 26 (11): 2267–74. https://doi.org/10.1093/annonc/mdv324.

Hersh, Evan M, Steven J O'Day, Antoni Ribas, Wolfram E Samlowski, Michael S Gordon, Deganit E Shechter, Alicia A Clawson, and Rene Gonzalez. 2010. "A Phase 2 Clinical Trial of Nab-Paclitaxel in Previously Treated and Chemotherapy-Naive Patients with Metastatic Melanoma." *Cancer* 116 (1): 155–63. https://doi.org/10.1002/cncr.24720.

Heusner, T-A, G Antoch, A Wittkowski-Sterczewski, S C Ladd, M Forsting, R Verhagen, and M Scheulen. 2011. "Transarterial Hepatic Chemoperfusion of Uveal Melanoma Metastases: Survival and Response to Treatment." *RöFo : Fortschritte Auf Dem Gebiete Der Röntgenstrahlen Und Der Nuklearmedizin* 183 (12): 1151–60. https://doi.org/10.1055/s-0031-1281743.

Hickey, Ryan M, Laura M Kulik, Halla Nimeiri, Aparna Kalyan, Sheetal Kircher, Kush Desai, Ahsun Riaz, Robert J Lewandowski, and Riad Salem. 2017. "Immuno-Oncology and Its Opportunities for Interventional Radiologists: Immune Checkpoint Inhibition and Potential Synergies with Interventional Oncology Procedures." *Journal of Vascular and Interventional Radiology : JVIR* 28 (11): 1487–94. https://doi.org/10.1016/j.jvir.2017.07.018.

Hill, A. V. 1910. "A New Mathematical Treatment of Changes of Ionic Concentration in Muscle and Nerve under the Action of Electric Currents, with a Theory as to Their Mode of Excitation." *The Journal of Physiology* 40 (3): 190–224. https://doi.org/10.1113/jphysiol.1910.sp001366.

Hofmann, Carmen, Klaus Buttenschoen, Joern Straeter, Doris Henne-Bruns, and Marko Kornmann. 2005. "Pre-Clinical Evaluation of the Activity of Irinotecan as a Basis for Regional Chemotherapy." *Anticancer Research* 25 (2A): 795–804. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15868911.

Homsi, Jade, Agop Y. Bedikian, Nicholas E. Papadopoulos, Kevin B. Kim, Wen-Jen Hwu, Sandy L. Mahoney, and Patrick Hwu. 2010a. "Phase 2 Open-Label Study of Weekly Docosahexaenoic Acid–paclitaxel in Patients with Metastatic Uveal Melanoma." *Melanoma Research* 20 (6): 507–10. https://doi.org/10.1097/CMR.0b013e3283403ce9.

Homsi, Jade, Agop Y Bedikian, Nicholas E Papadopoulos, Kevin B Kim, Wen-Jen Hwu, Sandy L

Mahoney, and Patrick Hwu. 2010b. “Phase 2 Open-Label Study of Weekly Docosahexaenoic Acid-Paclitaxel in Patients with Metastatic Uveal Melanoma.” *Melanoma Research* 20 (6): 507–10. https://doi.org/10.1097/CMR.0b013e3283403ce9.

Hu, Ke-Qin. 2014. “Advances in Clinical Application of Cryoablation Therapy for Hepatocellular Carcinoma and Metastatic Liver Tumor.” *Journal of Clinical Gastroenterology* 48 (10): 830–36. https://doi.org/10.1097/MCG.0000000000000201.

Huchet, A., P. Fernandez, M. Allard, Y. Belkacémi, J. P. Maire, R. Trouette, S. Eimer, T. Tourdias, and H. Loiseau. 2009. “Molecular Imaging of Tumour Hypoxia.” *Cancer/Radiotherapie*. Elsevier Masson SAS. https://doi.org/10.1016/j.canrad.2009.07.038.

Hwang, Jin Ho, Sang Woo Park, Ki Hyun Kim, Seoung Joon Lee, Kyung-Soo Oh, Seok Won Chung, and Sung Gyu Moon. 2018. “Early Results of Transcatheter Arterial Embolization for Relief of Chronic Shoulder or Elbow Pain Associated with Tendinopathy Refractory to Conservative Treatment.” *Journal of Vascular and Interventional Radiology* 29 (4): 510–17. https://doi.org/10.1016/j.jvir.2017.11.013.

I.M., Gralnek, Dumonceau J.-M., Kuipers E.J., Lanas A., Sanders D.S., Kurien M., Rotondano G., et al. 2015. “Diagnosis and Management of Nonvariceal Upper Gastrointestinal Hemorrhage: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline.” *Endoscopy* 47 (10): a1–46. http://www.thieme-connect.com/ejournals/toc/endoscopy%5Cnhttp://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed13&NEWS=N&AN=2015415017.

Idée, Jean-Marc, and Boris Guiu. 2013. “Use of Lipiodol as a Drug-Delivery System for Transcatheter Arterial Chemoembolization of Hepatocellular Carcinoma: A Review.” *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 88 (3): 530–49. https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2013.07.003.

Interventionnelle, Fédération de Radiologie. 2010. “LA RADIOLOGIE INTERVENTIONNELLE EN FRANCE.” http://www.sfrnet.org/rc/org/sfrnet/htm/Article/2011/htm-20110201-160438-609/src/htm_fullText/fr/Présentation RI en france en 2010 V2.pdf.

Ioannou, Maria, Efrosyni Paraskeva, Korina Baxevanidou, George Simos, Roidoula Papamichali, Constantina Papacharalambous, Maria Samara, and George Koukoulis. 2015. “HIF-1α in Colorectal Carcinoma: Review of the Literature.” *Journal of B.U.ON.* 20 (3): 680–89. www.jbuon.com.

Izaaryene, J., M. Saeed Kilani, P. H. Rolland, J. Y. Gaubert, A. Jacquier, J. M. Bartoli, and V. Vidal. 2016. “Preclinical Study on an Animal Model of a New Non-Adhesive Cyanoacrylate (Purefill®) for Arterial Embolization.” *Diagnostic and Interventional Imaging* 97 (11): 1109–16. https://doi.org/10.1016/j.diii.2016.05.013.

Jahan, R, Y Murayama, Y P Gobin, G R Duckwiler, H V Vinters, and F Viñuela. 2001. “Embolization of Arteriovenous Malformations with Onyx: Clinicopathological Experience in 23 Patients.” *Neurosurgery* 48 (5): 984-95; discussion 995-7. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11334300.

Jemal, Ahmedin, Freddie Bray, Melissa M Center, Jacques Ferlay, Elizabeth Ward, and David Forman. 2011. “Global Cancer Statistics.” *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 61 (2): 69–90. https://doi.org/10.3322/caac.20107.

Joffre, F. 2002. “DISCOURS DU PRÉSIDENT Les Enfants de Charles Dotter.” *Journal Des Maladies Vasculaires* 27 (3): 120–24. https://www.em-consulte.com/showarticlefile/124680/pdf_41338.pdf.

Jones, R P, H Z Malik, S W Fenwick, M Terlizzo, E O’Grady, S Stremitzer, T Gruenberger, et al.

2016. “PARAGON II - A Single Arm Multicentre Phase II Study of Neoadjuvant Therapy Using Irinotecan Bead in Patients with Resectable Liver Metastases from Colorectal Cancer.” *European Journal of Surgical Oncology : The Journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology* 42 (12): 1866–72. https://doi.org/10.1016/j.ejso.2016.07.142.

Jung, Gyoo-Sik, Jin-Do Huh, Sang Uk Lee, Byung Hoon Han, Hee-kyung Chang, and Young Duk Cho. 2002. “Bile Duct : Analysis of Percutaneous Transluminal Forceps Biopsy in 130 Patients.” *Radiology*, no. 7: 725–30.

Kaelin, William G., Peter J. Ratcliffe, and Gregg L. Semenza. 2016. “Pathways for Oxygen Regulation and Homeostasis: The 2016 Albert Lasker Basic Medical Research Award.” *JAMA - Journal of the American Medical Association*. American Medical Association. https://doi.org/10.1001/jama.2016.12386.

Kahn, V., A. Fohlen, and J.-P. Pelage. 2011. “Role of Embolization in the Management of Uterine Fibroids.” *Journal de Gynecologie Obstetrique et Biologie de La Reproduction* 40 (8). https://doi.org/10.1016/j.jgyn.2011.09.030.

Kan, Zuxing, and David C. Madoff. 2008. “Liver Anatomy: Microcirculation of the Liver.” *Seminars in Interventional Radiology* 25 (2): 77–85. https://doi.org/10.1055/s-2008-1076685.

Katabathina, Venkata S., Anil K. Dasyam, Navya Dasyam, and Keyanoosh Hosseinzadeh. 2014. “Adult Bile Duct Strictures: Role of MR Imaging and MR Cholangiopancreatography in Characterization.” *RadioGraphics* 34 (3): 565–86. https://doi.org/10.1148/rg.343125211.

Katsumori, Tetsuya, and Toshiyuki Kasahara. 2006. “The Size of Gelatin Sponge Particles: Differences with Preparation Method.” *Cardiovascular and Interventional Radiology* 29 (6): 1077–83. https://doi.org/10.1007/s00270-006-0059-y.

Kemeny, Nancy, William Jarnagin, Philip Paty, Mithat Gönen, Lawrence Schwartz, Meroë Morse, Gregory Leonard, et al. 2005. “Phase I Trial of Systemic Oxaliplatin Combination Chemotherapy With Hepatic Arterial Infusion in Patients With Unresectable Liver Metastases From Colorectal Cancer.” *Journal of Clinical Oncology* 23 (22): 4888–96. https://doi.org/10.1200/JCO.2005.07.100.

Kerber, C. 1975. “Experimental Arteriovenous Fistula. Creation and Percutaneous Catheter Obstruction with Cyanoacrylate.” *Investigative Radiology* 10 (1): 10–17. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1112645.

Keung, Emily Z., and Jeffrey E. Gershenwald. 2018. “The Eighth Edition American Joint Committee on Cancer (AJCC) Melanoma Staging System: Implications for Melanoma Treatment and Care.” *Expert Review of Anticancer Therapy* 18 (8): 775–84. https://doi.org/10.1080/14737140.2018.1489246.

Khattak, Muhammad Adnan, Rosalie Fisher, Peta Hughes, Martin Gore, and James Larkin. 2013. “Ipilimumab Activity in Advanced Uveal Melanoma.” *Melanoma Research* 23 (1): 79–81. https://doi.org/10.1097/CMR.0b013e32835b554f.

Khouri, Cedric, Boris Guiu, Jean Pierre Cercueil, Bruno Chauffert, Sylvain Ladoire, and Francois Ghiringhelli. 2010. “Raltitrexed and Oxaliplatin Hepatic Arterial Infusion for Advanced Colorectal Cancer: A Retrospective Study.” *Anti-Cancer Drugs* 21 (6): 656–61. https://doi.org/10.1097/CAD.0b013e328337d469.

Kim, Kwang-Rok, Hyo-Eun Moon, and Kyu-Won Kim. 2002. “Hypoxia-Induced Angiogenesis in Human Hepatocellular Carcinoma.” *Journal of Molecular Medicine (Berlin, Germany)* 80 (11): 703–14. https://doi.org/10.1007/s00109-002-0380-0.

Kim Kyu-Won. 1998. “Insulin-like Growth Factor II Induced by Hypoxia May Contribute to Angiogenesis of Human Hepatocellular Carcinoma.” *Cancer Research* 58: 348–51.

Kim, Y. B., Y. N. Park, and C. Park. 2001. “Increased Proliferation Activities of Vascular Endothelial Cells and Tumour Cells in Residual Hepatocellular Carcinoma Following Transcatheter Arterial Embolization.” *Histopathology* 38 (2): 160–66. https://doi.org/10.1046/j.1365-2559.2001.01064.x.

Kivelä, T, S Suciu, J Hansson, W H J Kruit, M-S Vuoristo, O Kloke, M Gore, et al. 2003. “Bleomycin, Vincristine, Lomustine and Dacarbazine (BOLD) in Combination with Recombinant Interferon Alpha-2b for Metastatic Uveal Melanoma.” *European Journal of Cancer (Oxford, England : 1990)* 39 (8): 1115–20. https://doi.org/10.1016/s0959-8049(03)00132-1.

Koch, Guillaume, Roberto Luigi Cazzato, Andrew Gilkison, Jean Caudrelier, Julien Garnon, and Afshin Gangi. 2018. “Percutaneous Treatments of Benign Bone Tumors.” *Seminars in Interventional Radiology* 35 (4): 324–32. https://doi.org/10.1055/s-0038-1673640.

Konno, T, H Maeda, K Iwai, S Tashiro, S Maki, T Morinaga, M Mochinaga, T Hiraoka, and I Yokoyama. 1983a. “Effect of Arterial Administration of High-Molecular-Weight Anticancer Agent SMANCS with Lipid Lymphographic Agent on Hepatoma: A Preliminary Report.” *European Journal of Cancer & Clinical Oncology* 19 (8): 1053–65. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6311559.

Kornmann, M, U Butzer, J Blatter, H G Beger, and K H Link. 2000. “Pre-Clinical Evaluation of the Activity of Gemcitabine as a Basis for Regional Chemotherapy of Pancreatic and Colorectal Cancer.” *European Journal of Surgical Oncology : The Journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology* 26 (6): 583–87. https://doi.org/10.1053/ejso.2000.0951.

Kornmann, M, H Fakler, U Butzer, H G Beger, and K H Link. 2000. “Oxaliplatin Exerts Potent in Vitro Cytotoxicity in Colorectal and Pancreatic Cancer Cell Lines and Liver Metastases.” *Anticancer Research* 20 (5A): 3259–64. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11062751.

Krantz, Benjamin A, Nikita Dave, Kimberly M Komatsubara, Brian P Marr, and Richard D Carvajal. 2017. “Uveal Melanoma : Epidemiology , Etiology , and Treatment of Primary Disease.” *Clinical Ophtalmology* 11: 279–89.

Lammer, Johannes, Katarina Malagari, Thomas Vogl, Frank Pilleul, Alban Denys, Anthony Watkinson, Michael Pitton, et al. 2010. “Prospective Randomized Study of Doxorubicin-Eluting-Bead Embolization in the Treatment of Hepatocellular Carcinoma: Results of the PRECISION V Study.” *Cardiovascular and Interventional Radiology* 33 (1): 41–52. https://doi.org/10.1007/s00270-009-9711-7.

Lang, Erich K, and Charles L Brown. 1993. “Colorectal Metastases to the Liver: Selective Chemoembolization.” *Radiology* 189 (2): 417–22. https://doi.org/10.1148/radiology.189.2.8210369.

Laurent, A. 2006. “Agents d ’embolisation.” In *EMC - Radiodiagnostic - Principes et Techniques d’imagerie*, 1–10.

Laurent Alexandre, and Moine Laurence. 2017. “Les Nouveaux Biomatériaux de l’embolisation,” 2017. https://www.medecinesciences.org/en/articles/medsci/pdf/2017/01/medsci20173301p25.pdf.

Laurent, Alexandre, Michel Wassef, Jean Pierre Saint Maurice, Julien Namur, Jean Pierre Pelage, Aymeric Seron, René Chapot, and Jean Jacques Merland. 2006. “Arterial

Distribution of Calibrated Tris-Acryl Gelatin and Polyvinyl Alcohol Microspheres in a Sheep Kidney Model." *Investigative Radiology* 41 (1): 8–14. https://doi.org/10.1097/01.rli.0000188027.34400.f3.

Laval-Jeantet, M, H Tristant, M Guerbet, J L Lamarque, F Ginestie, A M Laval-Jeantet, and J Senac. 1972. "[A New Method of Lipiodol Hepatography Using an Intraarterial Approach]." *Journal de Radiologie, d'electrologie, et de Medecine Nucleaire* 53 (1): 29–34. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4338908.

Lee, Edward W, Susan Thai, and Stephen T Kee. 2010. "Irreversible Electroporation: A Novel Image-Guided Cancer Therapy." *Gut and Liver* 4 Suppl 1 (September): S99–104. https://doi.org/10.5009/gnl.2010.4.S1.S99.

Lencioni, Riccardo, Thierry de Baere, Michael C. Soulen, William S. Rilling, and Jean-Francois H. Geschwind. 2016. "Lipiodol Transarterial Chemoembolization for Hepatocellular Carcinoma: A Systematic Review of Efficacy and Safety Data." *Hepatology* 64 (1): 106–16. https://doi.org/10.1002/hep.28453.

Lencioni, Riccardo, Pasquale Petruzzi, and Laura Crocetti. 2013. "Chemoembolization of Hepatocellular Carcinoma." *Seminars in Interventional Radiology* 30 (1): 3–11. https://doi.org/10.1055/s-0033-1333648.

Lencioni, Riccardo, @bullet Thierry De Baere, Marta Burrel, James G Caridi, Johannes Lammer, Katerina Malagari, Robert C G Martin, et al. 2012. "Transcatheter Treatment of Hepatocellular Carcinoma with Doxorubicin-Loaded DC Bead (DEBDOX): Technical Recommendations." *Cardiovasc Intervent Radiol* 35: 980–85. https://doi.org/10.1007/s00270-011-0287-7.

Lévi, F. A., V. Boige, M. Hebbar, D. Smith, C. Lepère, C. Focan, A. Karaboué, et al. 2016. "Conversion to Resection of Liver Metastases from Colorectal Cancer with Hepatic Artery Infusion of Combined Chemotherapy and Systemic Cetuximab in Multicenter Trial OPTILIV." *Annals of Oncology* 27 (2): 267–74. https://doi.org/10.1093/annonc/mdv548.

Levillain, Hugo, Ivan Duran Derijckere, Lieveke Ameye, Thomas Guiot, Arthur Braat, Carsten Meyer, Bruno Vanderlinden, et al. 2019. "Personalised Radioembolization Improves Outcomes in Refractory Intra-Hepatic Cholangiocarcinoma: A Multicenter Study." *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 46 (11): 2270–79. https://doi.org/10.1007/s00259-019-04427-z.

Levrier, O, C Mekkaoui, P H Rolland, K Murphy, P Cabrol, G Moulin, J M Bartoli, et al. 2003. "Efficacy and Low Vascular Toxicity of Embolization with Radical versus Anionic Polymerization of N-Butyl-2-Cyanoacrylate (NBCA). An Experimental Study in the Swine." *Journal of Neuroradiology. Journal de Neuroradiologie* 30 (2): 95–102. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12717295.

Leyon, Joe J., Tracey Littlehales, Balaji Rangarajan, Edward T. Hoey, and Arul Ganeshan. 2014. "Endovascular Embolization: Review of Currently Available Embolization Agents." *Current Problems in Diagnostic Radiology* 43 (1): 35–53. https://doi.org/10.1067/j.cpradiol.2013.10.003.

Leyvraz, S, S Piperno-Neumann, S Suciu, J F Baurain, M Zdzienicki, A Testori, E Marshall, et al. 2014. "Hepatic Intra-Arterial versus Intravenous Fotemustine in Patients with Liver Metastases from Uveal Melanoma (EORTC 18021): A Multicentric Randomized Trial." *Annals of Oncology : Official Journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* 25 (3): 742–46. https://doi.org/10.1093/annonc/mdt585.

Li, Qiang, Lin-Zhong Zhu, Ren-Jie Yang, and Xu Zhu. 2014. "Cytotoxic Activity of Anticancer

Drugs on Hepatocellular Carcinoma Cells in Hypoxic-Hyponutritional Culture." *Int Surg* 99: 745–52. https://doi.org/10.9738/INTSURG-D-14-00073.1.

Li, Y. J., D. Barthès-Biesel, and A. V. Salsac. 2017a. "Polymerization Kinetics of N-Butyl Cyanoacrylate Glues Used for Vascular Embolization." *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 69 (January): 307–17. https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2017.01.003.

Li, Y.J., D. Barthès-Biesel, and A.-V. Salsac. 2017b. "Polymerization Kinetics of a Mixture of Lipiodol and Glubran 2 Cyanoacrylate Glue upon Contact with a Proteinaceous Solution." *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 74 (October): 84–92. https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2017.05.023.

Liang, Bin, Chuan-Sheng Zheng, Gan-Sheng Feng, Han-Ping Wu, Yong Wang, Hui Zhao, Jun Qian, and Hui-Min Liang. 2010. "Correlation of Hypoxia-Inducible Factor 1alpha with Angiogenesis in Liver Tumors after Transcatheter Arterial Embolization in an Animal Model." *Cardiovascular and Interventional Radiology* 33 (4): 806–12. https://doi.org/10.1007/s00270-009-9762-9.

Lin, Michael, Clark D Hair, Linda K Green, Stacie A Vela, Kalpesh K Patel, Waqar A Qureshi, Yasser H Shaib, Endoscopy International Open, and Yasser H Shaib. 2014. "Endoscopic Ultrasound-Guided Fine-Needle Aspiration with on-Site Cytopathology versus Core Biopsy : A Comparison of Both Techniques Performed at the Same Endoscopic Session." *Endoscopy International Open* 2 (4): 220–23.

Liu, David M, Avnesh Thakor, Mark Baerlocher, Mohammed T Alshammari, Howard Lim, Sebastian Kos, Andrew S Kennedy, and Harpreet Wasan. 2015. "A Review of Conventional and Drug-Eluting Chemoembolization in the Treatment of Colorectal Liver Metastases: Principles and Proof." *Future Oncology* 11 (9): 1–8. https://doi.org/10.2217/fon.15.3.

Liu, Kang, Xu-Li Min, Juan Peng, Ke Yang, Lin Yang, and Xiao-Ming Zhang. 2016. "The Changes of HIF-1α and VEGF Expression After TACE in Patients With Hepatocellular Carcinoma." *J Clin Med Res* 8 (4): 297–302. https://doi.org/10.14740/jocmr2496w.

Liu, Quan, Dahua Fan, Dickson Adah, Zhengzhi Wu, Renyan Liu, Qiao Ting Yan, Yue Zhang, et al. 2018. "CRISPR/Cas9-Mediated Hypoxia Inducible Factor-1a Knockout Enhances the Antitumor Effect of Transarterial Embolization in Hepatocellular Carcinoma." *Oncology Reports* 40 (5): 2547–57. https://doi.org/10.3892/or.2018.6667.

Llovet, Josep M, and Jordi Bruix. 2003. "Systematic Review of Randomized Trials for Unresectable Hepatocellular Carcinoma: Chemoembolization Improves Survival." *Hepatology (Baltimore, Md.)* 37 (2): 429–42. https://doi.org/10.1053/jhep.2003.50047.

Llovet, Josep M, Maria Isabel Real, Xavier Montaña, Ramon Planas, Susana Coll, John Aponte, Carmen Ayuso, et al. 2002. "Arterial Embolisation or Chemoembolisation versus Symptomatic Treatment in Patients with Unresectable Hepatocellular Carcinoma: A Randomised Controlled Trial." *Lancet* 359 (9319): 1734–39. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)08649-X.

Lo, Chung-Mau, Henry Ngan, Wai-Kuen Tso, Chi-Leung Liu, Chi-Ming Lam, Ronnie Tung-Ping Poon, Sheung-Tat Fan, and John Wong. 2002. "Randomized Controlled Trial of Transarterial Lipiodol Chemoembolization for Unresectable Hepatocellular Carcinoma." *Hepatology (Baltimore, Md.)* 35 (5): 1164–71. https://doi.org/10.1053/jhep.2002.33156.

Loffroy, Romaric. 2017. "N-Butyl Cyanoacrylate Glue: The Best Hemostatic Embolic Agent for Patients with Acute Arterial Bleeding." *CardioVascular and Interventional Radiology* 40

(8): 1290–91. https://doi.org/10.1007/s00270-017-1683-4.

Mahnken, Andreas, Alexander König, and Jens Figiel. 2018. "Current Technique and Application of Percutaneous Cryotherapy." *RöFo - Fortschritte Auf Dem Gebiet Der Röntgenstrahlen Und Der Bildgebenden Verfahren* 190 (09): 836–46. https://doi.org/10.1055/a-0598-5134.

Maio, M., R. Danielli, V. Chiarion-Sileni, J. Pigozzo, G. Parmiani, R. Ridolfi, F. De Rosa, et al. 2013. "Efficacy and Safety of Ipilimumab in Patients with Pre-Treated, Uveal Melanoma." *Annals of Oncology* 24 (11): 2911–15. https://doi.org/10.1093/annonc/mdt376.

Malagari, Katerina, Maria Pomoni, Hippokratis Moschouris, Alexios Kelekis, Angelos Charokopakis, Evanthia Bouma, Themistoklis Spyridopoulos, et al. 2014. "Chemoembolization of Hepatocellular Carcinoma with Hepasphere 30–60 Mm. Safety and Efficacy Study." *CardioVascular and Interventional Radiology* 37 (1): 165–75. https://doi.org/10.1007/s00270-013-0777-x.

Marelli, Laura, Rosa Stigliano, Christos Triantos, Marco Senzolo, Evangelos Cholongitas, Neil Davies, Jonathan Tibballs, Tim Meyer, David W Patch, and Andrew K Burroughs. 2007. "Transarterial Therapy for Hepatocellular Carcinoma: Which Technique Is More Effective? A Systematic Review of Cohort and Randomized Studies." *Cardiovascular and Interventional Radiology* 30 (1): 6–25. https://doi.org/10.1007/s00270-006-0062-3.

Martin, J. Kirk, M J O'Connell, H S Wieand, R J Fitzgibbons, J A Mailliard, J Rubin, D M Nagorney, L K Tschetter, and J E Krook. 1990. "Intra-Arterial Floxuridine vs Systemic Fluorouracil for Hepatic Metastases From Colorectal Cancer." *Archives of Surgery* 125 (8): 1022. https://doi.org/10.1001/archsurg.1990.01410200086013.

Martin, Robert C G, Jonathan Joshi, Ken Robbins, Dana Tomalty, Ryan O'Hara, and Cliff Tatum. 2009. "Transarterial Chemoembolization of Metastatic Colorectal Carcinoma with Drug-Eluting Beads, Irinotecan (DEBIRI): Multi-Institutional Registry." *Journal of Oncology* 2009 (January): 539795. https://doi.org/10.1155/2009/539795.

Martinelli, D J, S Wadler, C W Bakal, J Cynamon, A Rozenblit, H Haynes, R Kaleya, and P H Wiernik. 1994. "Utility of Embolization or Chemoembolization as Second-Line Treatment in Patients with Advanced or Recurrent Colorectal Carcinoma." *Cancer* 74 (6): 1706–12. https://doi.org/10.1002/1097-0142(19940915)74:6<1706::aid-cncr2820740611>3.0.co;2-j.

Mathis, Thibaud, Nathalie Cassoux, Magali Tardy, Sophie Piperno, Lauris Gastaud, Rémi Dendale, Celia Maschi, et al. 2018. "[Management of Uveal Melanomas, Guidelines for Oncologists]." *Bulletin Du Cancer* 105 (10): 967–80. https://doi.org/10.1016/j.bulcan.2018.07.011.

Matsumoto, Kazuya, Takakazu Nagahara, Jun-Ichi Okano, and Yoshikazu Murawaki. 2008. "The Growth Inhibition of Hepatocellular and Cholangiocellular Carcinoma Cells by Gemcitabine and the Roles of Extracellular Signal-Regulated and Checkpoint Kinases." *Oncology Reports* 20 (4): 863–72. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18813828.

Mavligit, G M, C Charnsangavej, C H Carrasco, Y Z Patt, R S Benjamin, and S Wallace. 1988. "Regression of Ocular Melanoma Metastatic to the Liver after Hepatic Arterial Chemoembolization with Cisplatin and Polyvinyl Sponge." *JAMA* 260 (7): 974–76. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3398202.

Mees, Gilles, Rudi Dierckx, Christel Vangestel, and Christophe Van De Wiele. 2009. "Molecular Imaging of Hypoxia with Radiolabelled Agents." *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. https://doi.org/10.1007/s00259-009-1195-9.

Meijerink, Martijn R., Hester J. Scheffer, Remco De Bree, and Robert Jan Sedee. 2015. "Percutaneous Irreversible Electroporation for Recurrent Thyroid Cancer - A Case Report." *Journal of Vascular and Interventional Radiology* 26 (8): 1180–82. https://doi.org/10.1016/j.jvir.2015.05.004.

Mocellin, Simone, Sandro Pasquali, and Donato Nitti. 2009. "Fluoropyrimidine-HAI (Hepatic Arterial Infusion) versus Systemic Chemotherapy (SCT) for Unresectable Liver Metastases from Colorectal Cancer." *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, no. 3 (July): CD007823. https://doi.org/10.1002/14651858.CD007823.pub2.

Mocellin, Simone, Pierluigi Pilati, Mario Lise, and Donato Nitti. 2007. "Meta-Analysis of Hepatic Arterial Infusion for Unresectable Liver Metastases from Colorectal Cancer: The End of an Era?" *Journal of Clinical Oncology : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 25 (35): 5649–54. https://doi.org/10.1200/JCO.2007.12.1764.

Moore, Carolyn, Kieran Murphy, and Philippe Gailloud. 2006. "Improved Distal Distribution of N-Butyl Cyanoacrylate Glue by Simultaneous Injection of Dextrose 5% through the Guiding Catheter: Technical Note." *Neuroradiology* 48 (5): 327–32. https://doi.org/10.1007/s00234-006-0059-2.

MORI, KATSUTAKA, ATSUNOBU MISUMI, MICHIO SUGIYAMA, MASATO OKABE, TAKAYUKI MATSUOKA, JUN ISHII, and MASANOBU AKAGI. 1977. "Percutaneous Transhepatic Bile Drainage." *Annals of Surgery* 185 (1): 111–15. https://doi.org/10.1097/00000658-197701000-00018.

Moris, Dimitrios, Nikolaos Machairas, Diamantis I Tsilimigras, Anastasia Prodromidou, Aslam Ejaz, Matthew Weiss, Natasha Hasemaki, Evangelos Felekouras, and Timothy M Pawlik. 2019. "Systematic Review of Surgical and Percutaneous Irreversible Electroporation in the Treatment of Locally Advanced Pancreatic Cancer." *Annals of Surgical Oncology* 26 (6): 1657–68. https://doi.org/10.1245/s10434-019-07261-7.

Mouriaux, Frédéric, François Sanschagrin, Caroline Diorio, Solange Landreville, François Comoz, Edwige Petit, Myriam Bernaudin, Alain P Rousseau, Dan Bergeron, and Mohib Morcos. 2014. "Increased HIF-1α Expression Correlates with Cell Proliferation and Vascular Markers CD31 and VEGF-A in Uveal Melanoma." *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 55 (3): 1277–83. https://doi.org/10.1167/iovs.13-13345.

Munck, J N, M Riggi, P Rougier, G G Chabot, L H Ramirez, Z Zhao, C Bognel, P Ardouin, P Herait, and A Gouyette. 1993. "Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Advantages of Pirarubicin over Adriamycin after Intraarterial Hepatic Administration in the Rabbit VX2 Tumor Model." *Cancer Research* 53 (7): 1550–54. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8453622.

Nahm, Ji Hae, Hyungjin Rhee, Haeryoung Kim, Jeong Eun Yoo, Jee San Lee, Youngsic Jeon, Gi Hong Choi, and Young Nyun Park. 2017. "Increased Expression of Stemness Markers and Altered Tumor Stroma in Hepatocellular Carcinoma under TACE-Induced Hypoxia: A Biopsy and Resection Matched Study." *Oncotarget* 8 (59): 99359–71. https://doi.org/10.18632/oncotarget.22078.

Nakakuma, K, S Tashiro, T Hiraoka, K Uemura, T Konno, Y Miyauchi, and I Yokoyama. 1983. "Studies on Anticancer Treatment with an Oily Anticancer Drug Injected into the Ligated Feeding Hepatic Artery for Liver Cancer." *Cancer* 52 (12): 2193–2200. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6196102.

Nakamura, H, T Hashimoto, H Oi, and S Sawada. 1989. "Transcatheter Oily Chemoembolization of Hepatocellular Carcinoma." *Radiology* 170 (3): 783–86. https://doi.org/10.1148/radiology.170.3.2536946.

Nakayama, T, A Ikeda, and K Okuda. 1978. “Percutaneous Transhepatic Drainage of the Biliary Tract: Technique and Results in 104 Cases.” *Gastroenterology* 74 (3): 554–59. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/415929.

Namur, Julien. 2009. “Microsphères d ’ Embolisation Pour La Vectorisation de Principes Actifs : Etude de La Libération in Vivo Par Microspectroscopies Optiques.”

Niederhuber, John E., William Ensminger, John Gyves, James Thrall, Suzette Walker, and Edith Cozzi. 1984. “Regional Chemotherapy of Colorectal Cancer Metastatic to the Liver.” *Cancer* 53 (6): 1336–43. https://doi.org/10.1002/1097-0142(19840315)53:6<1336::AID-CNCR2820530620>3.0.CO;2-O.

Nouri-Neuville, Maud, Mohamed Ben Ammar, and François H Cornelis. 2019. “Percutaneous Image-Guided Renal Ablations: Current Evidences for Long-Term Oncologic Efficacy.” *La Presse Médicale* 48 (7–8): e233–43. https://doi.org/10.1016/j.lpm.2019.07.015.

O’Connor, James P.B., Jessica K.R. Boult, Yann Jamin, Muhammad Babur, Katherine G. Finegan, Kaye J. Williams, Ross A. Little, et al. 2016. “Oxygen-Enhanced MRI Accurately Identifies, Quantifies, and Maps Tumor Hypoxia in Preclinical Cancer Models.” *Cancer Research* 76 (4): 787–95. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-15-2062.

O’Connor, James P.B., Simon P. Robinson, and John C. Waterton. 2019. “Imaging Tumour Hypoxia with Oxygen-Enhanced MRI and BOLD MRI.” *British Journal of Radiology* 92 (1096). https://doi.org/10.1259/bjr.20180642.

O’Neill, Penny A., Mohammad Butt, Chinnamani V. Eswar, Pat Gillis, and Ernest Marshall. 2006. “A Prospective Single Arm Phase II Study of Dacarbazine and Treosulfan as First-Line Therapy in Metastatic Uveal Melanoma.” *Melanoma Research* 16 (3): 245–48. https://doi.org/10.1097/01.cmr.0000205017.38859.07.

Ohishi, H, H Uchida, H Yoshimura, S Ohue, J Ueda, M Katsuragi, N Matsuo, and Y Hosogi. 1985a. “Hepatocellular Carcinoma Detected by Iodized Oil. Use of Anticancer Agents.” *Radiology* 154 (1): 25–29. https://doi.org/10.1148/radiology.154.1.2981114.

Okada, K, I Tada, K Suzuki, Y I Kim, and M Kobayashi. 1988. “[Accumulation of Lipiodol in Hepatocellular Carcinoma after Transarterial Chemoembolization with 5 FU-Lipiodol-Emulsion].” *Gan to Kagaku Ryoho. Cancer & Chemotherapy* 15 (8 Pt 2): 2557–61. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2843123.

Okamura, J, S Horikawa, T Fujiyama, M Monden, J Kambayashi, O Sikujara, M Sakurai, C Kuroda, H Nakamura, and G Kosaki. 1982. “An Appraisal of Transcatheter Arterial Embolization Combined with Transcatheter Arterial Infusion of Chemotherapeutic Agent for Hepatic Malignancies.” *World Journal of Surgery* 6 (3): 352–57. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7113240.

Orczyk, Clement, Arnauld Villers, Henry Rusinek, Vincent Lepennec, Céline Bazille, Francesco Giganti, Artem Mikheev, et al. 2019. “Prostate Cancer Heterogeneity: Texture Analysis Score Based on Multiple Magnetic Resonance Imaging Sequences for Detection, Stratification and Selection of Lesions at Time of Biopsy.” *BJU International* 124 (1): 76–86. https://doi.org/10.1111/bju.14603.

Palussière, Jean, Vittorio Catena, Jean-Yves Gaubert, Xavier Buy, and Thierry de Baere. 2017. “[Percutaneous Lung Thermo-Ablation].” *Bulletin Du Cancer* 104 (5): 417–22. https://doi.org/10.1016/j.bulcan.2017.03.010.

Park, Hee Chul, Jeong Il Yu, Jason Chia-Hsien Cheng, Zhao Chong Zeng, Ji Hong Hong, Michael Lian Chek Wang, Mi Sook Kim, et al. 2016. “Consensus for Radiotherapy in Hepatocellular Carcinoma from The 5th Asia-Pacific Primary Liver Cancer Expert Meeting (APPLE 2014): Current Practice and Future Clinical Trials.” *Liver Cancer* 5 (3):

162–74. https://doi.org/10.1159/000367766.

Pascale, Florentina, Laurent Bedouet, Mintham Baylatry, Julien Namur, and Alexandre Laurent. 2015. “Comparative Chemosensitivity of VX2 and HCC Cell Lines to Drugs Used in TACE.” *Anticancer Research* 35 (12): 6497–6503. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26637862.

Patt, Y Z, V P Chuang, S Wallace, R S Benjamin, R Fuqua, and G M Mavligit. 1983. “Hepatic Arterial Chemotherapy and Occlusion for Palliation of Primary Hepatocellular and Unknown Primary Neoplasms in the Liver.” *Cancer* 51 (8): 1359–63. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6186357.

Patt, Yehuda Z., Giora M. Mavligit, Vincent P. Chuang, Sidney Wallace, Susan Johnston, Robert S. Benjamin, Manuel Valdivieso, and Evan M. Hersh. 1980. “Percutaneous Hepatic Arterial Infusion (HAI) of Mitomycin C and Floxuridine (FUDR): An Effective Treatment for Metastatic Colorectal Carcinoma in the Liver.” *Cancer* 46 (2): 261–65. https://doi.org/10.1002/1097-0142(19800715)46:2<261::AID-CNCR2820460207>3.0.CO;2-0.

Payne, M M. 2001. “Charles Theodore Dotter. The Father of Intervention.” *Texas Heart Institute Journal / from the Texas Heart Institute of St. Luke’s Episcopal Hospital, Texas Children’s Hospital* 28 (1): 28–38. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=101126&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

Pelage, J-P, A Fohlen, and V Le Pennec. 2014. “[Role of Arterial Embolization in the Management of Postpartum Hemorrhage.].” *Journal de Gynecologie, Obstetrique et Biologie de La Reproduction* 43 (10): 1063–82. https://doi.org/10.1016/j.jgyn.2014.10.002.

Pelage, J.-P., D. Jacob, O. Le Dref, a. Fauconnier, O. Limot, a. Fazel, M. Rossignol, et al. 2006. “Embolisation Utérine : Technique, Indications et Résultats.” *EMC - Radiologie et Imagerie Médicale - Génito-Urinaire - Gynéco-Obstétricale - Mammaire* 1 (1): 1–27. https://doi.org/10.1016/S1879-8543(06)73979-9.

Pelage, J. P., A. Laurent, M. Bonneau, M. Wassef, R. Rymer, and J. J. Merland. 2001. “Arterial Blood Supply to the Uterus in Nonpregnant Sheep: A Pertinent Model for Clinical Practice?” *Investigative Radiology* 36 (12): 721–25. https://doi.org/10.1097/00004424-200112000-00007.

Pelage, Jean-Pierre, Audrey Fohlen, Emmanuel Mitry, Christine Lagrange, Alain Beauchet, and Philippe Rougier. 2017. “Chemoembolization of Neuroendocrine Liver Metastases Using Streptozocin and Tris-Acryl Microspheres: Embozar (EMBOsphere + ZAnosaR) Study.” *Cardiovascular and Interventional Radiology* 40 (3): 394–400. https://doi.org/10.1007/s00270-016-1535-7.

Pelz, D M, A J Fox, F Viñuela, C C Drake, and G G Ferguson. 1988. “Preoperative Embolization of Brain AVMs with Isobutyl-2 Cyanoacrylate.” *AJNR. American Journal of Neuroradiology* 9 (4): 757–64. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3135720.

Peters, S, V Voelter, L Zografos, S Pampallona, R Popescu, M Gillet, W Bosshard, et al. 2006. “Intra-Arterial Hepatic Fotemustine for the Treatment of Liver Metastases from Uveal Melanoma: Experience in 101 Patients.” *Annals of Oncology : Official Journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* 17 (4): 578–83. https://doi.org/10.1093/annonc/mdl009.

Petitguillaume, A., M. Bernardini, L. Hadid, C. de Labriolle-Vaylet, D. Franck, and A. Desbree. 2014. “Three-Dimensional Personalized Monte Carlo Dosimetry in 90Y Resin

Microspheres Therapy of Hepatic Metastases: Nontumoral Liver and Lungs Radiation Protection Considerations and Treatment Planning Optimization." *Journal of Nuclear Medicine* 55 (3): 405–13. https://doi.org/10.2967/jnumed.113.120444.

Petraccia, L, P Onori, R Sferra, M C Lucchetta, G Liberati, M Grassi, and E Gaudio. 2003. "[MDR (Multidrug Resistance) in Hepatocarcinoma Clinical-Therapeutic Implications]." *La Clinica Terapeutica* 154 (5): 325–35. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14994922.

Petrillo, Mario, Francesca Patella, Filippo Pesapane, Matteo B. Suter, Anna M. Ierardi, Salvatore A. Angileri, Chiara Floridi, Massimo De Filippo, and Gianpaolo Carrafiello. 2018. "Hypoxia and Tumor Angiogenesis in the Era of Hepatocellular Carcinoma Transarterial Loco-Regional Treatments." *Future Oncology*. Future Medicine Ltd. https://doi.org/10.2217/fon-2017-0739.

Phelip, Jean-marc. 2018. "Cancer Du Côlon : Classification Moléculaire et Anatomique Nécessaire à La Décision Thérapeutique," 53–60.

Piñeiro Fernández, Julián, Kimberly A Luddy, Cathal Harmon, and Cliona O'Farrelly. 2019. "Hepatic Tumor Microenvironments and Effects on NK Cell Phenotype and Function." *International Journal of Molecular Sciences* 20 (17). https://doi.org/10.3390/ijms20174131.

Pisco, João M., Luis C. Pinheiro, Tiago Bilhim, Marisa Duarte, Jorge R. Mendes, and Antonio G. Oliveira. 2011. "Prostatic Arterial Embolization to Treat Benign Prostatic Hyperplasia." *Journal of Vascular and Interventional Radiology* 22 (1): 11–19. https://doi.org/10.1016/j.jvir.2010.09.030.

Pistre, Pauline, Boris Guiu, Sophie Gehin, and Mathieu Boulin. 2019. "Intra-Arterial Idarubicin_lipiodol without Embolization Can Provide Prolonged Complete Response in Hepatocellular Carcinoma: A Case Report." *Journal of Oncology Pharmacy Practice : Official Publication of the International Society of Oncology Pharmacy Practitioners*, July, 1078155219861422. https://doi.org/10.1177/1078155219861422.

Pollak, J S, and R I White. 2001. "The Use of Cyanoacrylate Adhesives in Peripheral Embolization." *Journal of Vascular and Interventional Radiology : JVIR* 12 (8): 907–13. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11487670.

Ponti, Alexandre, Alban Denys, Antonia Digklia, Niklaus Schaefer, Arnaud Hocquelet, Jean-François Knebel, Olivier Michielin, Clarisse Dromain, and Rafael Duran. 2019. "First-Line Selective Internal Radiation Therapy in Patient with Uveal Melanoma Liver Metastases." *Journal of Nuclear Medicine*, September, jnumed.119.230870. https://doi.org/10.2967/jnumed.119.230870.

Probst, P., W. Castaneda-Zuniga, and K. Amplatz. 1978. "Percutaneous Transhepatic Drainage Catheter: A Valuable Therapeutic Aid in Obstructive Jaundice." *RöFo - Fortschritte Auf Dem Gebiet Der Röntgenstrahlen Und Der Bildgebenden Verfahren* 128 (04): 443–45. https://doi.org/10.1055/s-0029-1230878.

Putzer, Daniel, Peter Schullian, and Reto Bale. 2019. "Locoregional Ablative Treatment of Melanoma Metastases." *International Journal of Hyperthermia* 36 (2): 59–63. https://doi.org/10.1080/02656736.2019.1647353.

Pwint, Thinn P., Rachel Midgley, and David J. Kerr. 2010. "Regional Hepatic Chemotherapies in the Treatment of Colorectal Cancer Metastases to the Liver." *Seminars in Oncology* 37 (2): 149–59. https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2010.03.005.

Raamsdonk, Catherine D Van, Klaus G Griewank, Michelle B Crosby, Maria C Garrido, Swapna Vemula, Thomas Wiesner, Anna C Obenauf, et al. 2010. "Mutations in GNA11 in Uveal

Melanoma." *The New England Journal of Medicine* 363 (23): 2191–99. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1000584.

Rao, Pramod P., Florentina Pascale, Atman Seck, Anne Auperin, Laurence Drouard-Troalen, Frederic Deschamps, Christophe Teriitheau, et al. 2012. "Irinotecan Loaded in Eluting Beads: Preclinical Assessment in a Rabbit VX2 Liver Tumor Model." *CardioVascular and Interventional Radiology* 35 (6): 1448–59. https://doi.org/10.1007/s00270-012-0343-y.

Raoul, J L, D Heresbach, J F Bretagne, D B Ferrer, R Duvauferrier, P Bourguet, M Messner, and M Gosselin. 1992. "Chemoembolization of Hepatocellular Carcinomas. A Study of the Biodistribution and Pharmacokinetics of Doxorubicin." *Cancer* 70 (3): 585–90. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1320447.

Rhee, Thomas K, Joseph Y Young, Andrew C Larson, G Kenneth Haines, Kent T Sato, Riad Salem, Mary F Mulcahy, et al. 2007. "Effect of Transcatheter Arterial Embolization on Levels of Hypoxia-Inducible Factor-1alpha in Rabbit VX2 Liver Tumors." *Journal of Vascular and Interventional Radiology : JVIR* 18 (5): 639–45. https://doi.org/10.1016/j.jvir.2007.02.031.

Ridge, J A, E R Sigurdson, and J M Daly. 1987. "Distribution of Fluorodeoxyuridine Uptake in the Liver and Colorectal Hepatic Metastases of Human Beings after Arterial Infusion." *Surgery, Gynecology & Obstetrics* 164 (4): 319–23. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2951882.

Ridouani, Fourat, and Govindarajan Srimathveeravalli. 2019. "Percutaneous Image-Guided Ablation: From Techniques to Treatments." *La Presse Médicale* 48 (7–8): e219–31. https://doi.org/10.1016/j.lpm.2019.06.005.

Riel, J. M.G.H. van, C. J. van Groeningen, J. de Greve, G. Gruia, H. M. Pinedo, and G. Giaccone. 2004. "Continuous Infusion of Hepatic Arterial Irinotecan in Pretreated Patients with Colorectal Cancer Metastatic to the Liver." *Annals of Oncology* 15 (1): 59–63. https://doi.org/10.1093/annonc/mdh022.

Riel, Johanna M G H van, Cees J van Groeningen, Mark A Kedde, Helen Gall, Johanna M A Leisink, Gabriella Gruia, Herbert M Pinedo, Wim J F van der Vijgh, and Giuseppe Giaccone. 2002. "Continuous Administration of Irinotecan by Hepatic Arterial Infusion: A Phase I and Pharmacokinetic Study." *Clinical Cancer Research : An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 8 (2): 405–12. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11839656.

Roovers, D J, M van Vliet, A C Bloem, and H M Lokhorst. 1999. "Idarubicin Overcomes P-Glycoprotein-Related Multidrug Resistance: Comparison with Doxorubicin and Daunorubicin in Human Multiple Myeloma Cell Lines." *Leukemia Research* 23 (6): 539–48. https://doi.org/10.1016/s0145-2126(99)00041-7.

Rösch, J, C T Dotter, and M J Brown. 1972. "Selective Arterial Embolization. A New Method for Control of Acute Gastrointestinal Bleeding." *Radiology* 102 (2): 303–6. https://doi.org/10.1148/102.2.303.

Rougier, P, A Laplanche, M Huguier, J M Hay, J M Ollivier, J Escat, R Salmon, M Julien, J C Roullet Audy, and D Gallot. 1992. "Hepatic Arterial Infusion of Floxuridine in Patients with Liver Metastases from Colorectal Carcinoma: Long-Term Results of a Prospective Randomized Trial." *Journal of Clinical Oncology* 10 (7): 1112–18. https://doi.org/10.1200/JCO.1992.10.7.1112.

Sandulache, M.-C. 2011. "Caractérisation in Vitro de La Technique Endovasculaire d ' Embolisation Par Colle Chirurgicale."

Santos, J C dos. 1971. "In Memoriam Reynaldo Dos Santos: Profile of a Scientist." *The Journal*

*of Cardiovascular Surgery* 12 (1): 78–81. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4933328.

Sanz-Altamira, P M, L D Spence, M S Huberman, M R Posner, G Steele, L J Perry, and K E Stuart. 1997. "Selective Chemoembolization in the Management of Hepatic Metastases in Refractory Colorectal Carcinoma: A Phase II Trial." *Diseases of the Colon and Rectum* 40 (7): 770–75. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9221850.

Sasaki, Y, S Imaoka, S Nakamori, O Ishikawa, H Ohigashi, H Koyama, K Taniguchi, T Iwanaga, M Fujita, and S Kawamoto. 1985. "[Effect of Intra-Arterial Injection of a Lipiodol-Adriamycin Suspension Combined with Arterial Embolization on Hepatocellular Carcinoma]." *Nihon Gan Chiryo Gakkai Shi* 20 (7): 1357–65. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3001204.

Sato, Takami, David J Eschelman, Carin F Gonsalves, Mizue Terai, Inna Chervoneva, Peter A McCue, Jerry A Shields, et al. 2008. "Immunoembolization of Malignant Liver Tumors, Including Uveal Melanoma, Using Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor." *Journal of Clinical Oncology : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 26 (33): 5436–42. https://doi.org/10.1200/JCO.2008.16.0705.

Savic, Lynn Jeanette, Isabel Schobert, Dana Peters, John J Walsh, Fabian Max Laage Gaupp, Charlie Alexander Hamm, Nina Tritz, et al. 2019. "Molecular Imaging of Extracellular Tumor PH to Reveal Effects of Loco-Regional Therapy on Liver Cancer Microenvironment." *Clinical Cancer Research*, October, clincanres.1702.2019. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-19-1702.

Savoia, Paola, Paolo Fava, Filippo Casoni, and Ottavio Cremona. 2019. "Targeting the ERK Signaling Pathway in Melanoma." *International Journal of Molecular Sciences* 20 (6). https://doi.org/10.3390/ijms20061483.

Schmidt-Hieber, Martin, Alexander Schmittel, Eckhard Thiel, and Ulrich Keilholz. 2004. "A Phase II Study of Bendamustine Chemotherapy as Second-Line Treatment in Metastatic Uveal Melanoma." *Melanoma Research* 14 (6): 439–42. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15577312.

Schmittel, Alexander, Max E Scheulen, Nikolaos E Bechrakis, Dirk Strumberg, Joachim Baumgart, Norbert Bornfeld, Michael H Foerster, Eckhard Thiel, and Ulrich Keilholz. 2005. "Phase II Trial of Cisplatin, Gemcitabine and Treosulfan in Patients with Metastatic Uveal Melanoma." *Melanoma Research* 15 (3): 205–7. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15917703.

Seldinger, Sven Ivar. 1953. "Catheter Replacement of the Needle in Percutaneous Arteriography: A New Technique." *Acta Radiologica* 39 (5): 368–76. https://doi.org/10.3109/00016925309136722.

Sharma, Karun V, Jennifer E Gould, J William Harbour, Gerald P Linette, Thomas K Pilgram, Pouya N Dayani, and Daniel B Brown. 2008. "Hepatic Arterial Chemoembolization for Management of Metastatic Melanoma." *AJR. American Journal of Roentgenology* 190 (1): 99–104. https://doi.org/10.2214/AJR.07.2675.

Shibayama, Yoshitsugu, Kenjiro Namikawa, Miyuki Sone, Akira Takahashi, Arata Tsutsumida, Shunsuke Sugawara, Yasuaki Arai, et al. 2017. "Efficacy and Toxicity of Transarterial Chemoembolization Therapy Using Cisplatin and Gelatin Sponge in Patients with Liver Metastases from Uveal Melanoma in an Asian Population." *International Journal of Clinical Oncology* 22 (3): 577–84. https://doi.org/10.1007/s10147-017-1095-0.

Siegel, Rebecca L, Kimberly D Miller, Stacey A Fedewa, Dennis J Ahnen, Reinier G S Meester, Afsaneh Barzi, and Ahmedin Jemal. 2017. "Colorectal Cancer Statistics, 2017." *CA: A*

*Cancer Journal for Clinicians* 67 (3): 177–93. https://doi.org/10.3322/caac.21395.

Singh, a., a. Gelrud, and B. Agarwal. 2014. "Biliary Strictures: Diagnostic Considerations and Approach." *Gastroenterology Report* 3 (1): 22–31. https://doi.org/10.1093/gastro/gou072.

Song, Donghui, André O'Reilly Beringhs, Zhenwu Zhuang, Gaurav Joshi, Thanh Huyen Tran, Kevin P Claffey, Hong Yuan, and Xiuling Lu. 2019. "Overcoming Hypoxia-Induced Chemoresistance to Cisplatin through Tumor Oxygenation Monitored by Optical Imaging." *Nanotheranostics* 3 (2): 223–35. https://doi.org/10.7150/ntno.35935.

Song, Xianrang, Xianxi Liu, Weiling Chi, Yonglei Liu, Ling Wei, Xingwu Wang, and Jinming Yu. 2006. "Hypoxia-Induced Resistance to Cisplatin and Doxorubicin in Non-Small Cell Lung Cancer Is Inhibited by Silencing of HIF-1alpha Gene." *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 58 (6): 776–84. https://doi.org/10.1007/s00280-006-0224-7.

Soyer, P., A. Fohlen, and A. Dohan. 2017. "Acute Gastrointestinal Bleeding: A Slowly Changing Paradigm." *Diagnostic and Interventional Imaging* 98 (6). https://doi.org/10.1016/j.diii.2017.02.005.

Spagnolo, Francesco, Graziano Caltabiano, and Paola Queirolo. 2012. "Uveal Melanoma." *Cancer Treatment Reviews* 38 (5): 549–53. https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2012.01.002.

Spiegel, S M, F Viñuela, J M Goldwasser, A J Fox, and D M Pelz. 1986. "Adjusting the Polymerization Time of Isobutyl-2 Cyanoacrylate." *AJNR. American Journal of Neuroradiology* 7 (1): 109–12. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3082125.

Stoesslein, F, G Ditscherlein, and P A Romaniuk. 1982. "Experimental Studies on New Liquid Embolization Mixtures (Histoacryl-Lipodol, Histoacryl-Panthopaque)." *Cvir*, 264–67.

Sutter, Olivier, Joyce Calvo, Gisèle N'Kontchou, Jean-Charles Nault, Raffik Ourabia, Pierre Nahon, Nathalie Ganne-Carrié, et al. 2017. "Safety and Efficacy of Irreversible Electroporation for the Treatment of Hepatocellular Carcinoma Not Amenable to Thermal Ablation Techniques: A Retrospective Single-Center Case Series." *Radiology* 284 (3): 877–86. https://doi.org/10.1148/radiol.2017161413.

Tabibian, James H, Kavel H Visrodia, Michael J Levy, and Christopher J Gostout. 2015. "Advanced Endoscopic Imaging of Indeterminate Biliary Strictures." *World Journal of Gastrointestinal Endoscopy* 7 (18): 1268–78. https://doi.org/10.4253/wjge.v7.i18.1268.

Takasawa, Chiaki, Kazumasa Seiji, Kenichi Matsunaga, Toshio Matsuhashi, Makoto Ohta, Shuya Shida, Kei Takase, and Shoki Takahashi. 2012. "Properties of N-Butyl Cyanoacrylate-Iodized Oil Mixtures for Arterial Embolization: In Vitro and in Vivo Experiments." *Journal of Vascular and Interventional Radiology : JVIR* 23 (9): 1215–1221.e1. https://doi.org/10.1016/j.jvir.2012.06.022.

Takayasu, K, Y Shima, Y Muramatsu, N Moriyama, T Yamada, M Makuuchi, H Hasegawa, and S Hirohashi. 1987. "Hepatocellular Carcinoma: Treatment with Intraarterial Iodized Oil with and without Chemotherapeutic Agents." *Radiology* 163 (2): 345–51. https://doi.org/10.1148/radiology.163.2.3031724.

Takayasu, Kenichi, Shigeki Arii, Iwao Ikai, Masatoshi Kudo, Yutaka Matsuyama, Masamichi Kojiro, and Masatoshi Makuuchi. 2010. "Overall Survival After Transarterial Lipiodol Infusion Chemotherapy With or Without Embolization for Unresectable Hepatocellular Carcinoma: Propensity Score Analysis." *American Journal of Roentgenology* 194 (3): 830–37. https://doi.org/10.2214/AJR.09.3308.

Talan-Hranilović, J, T Rumboldt, M Vucic, Z Rumboldt, V Beros, V Tonković, and V Lupret. 2003. "Permanent Inflammatory Effect of N-Butylcyanoacrylate on Vascular Wall Immunohistochemical Analysis." *Interventional Neuroradiology : Journal of*

*Peritherapeutic Neuroradiology, Surgical Procedures and Related Neurosciences* 9 (1): 3–6. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3547405&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

Tellez, C, A B Benson, M T Lyster, M Talamonti, J Shaw, M A Braun, A A Nemcek, and R L Vogelzang. 1998. "Phase II Trial of Chemoembolization for the Treatment of Metastatic Colorectal Carcinoma to the Liver and Review of the Literature." *Cancer* 82 (7): 1250–59. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9529016.

Terayama, Noboru, Osamu Matsui, Toshifumi Gabata, Satoshi Kobayashi, Junichiro Sanada, Kazuhiko Ueda, Masumi Kadoya, and Yasuhiro Kawamori. 2001. "Accumulation of Iodized Oil Within the Non-Neoplastic Liver Adjacent to Hepatocellular Carcinoma via the Drainage Routes of the Tumor After Transcatheter Arterial Embolization." *CardioVascular and Interventional Radiology* 24 (6): 383–87. https://doi.org/10.1007/s00270-001-0070-2.

Tringali, Andrea, Arnaud Lemmers, Volker Meves, Grischa Terheggen, Jürgen Pohl, Guido Manfredi, Michael Häfner, et al. 2015. "Intraductal Biliopancreatic Imaging: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Technology Review." *Endoscopy* 47 (08): 739–53. https://doi.org/10.1055/s-0034-1392584.

Tsimberidou, Apostolia M, Katherine Letourneau, Siqing Fu, David Hong, Aung Naing, Jennifer Wheler, Cynthia Uehara, Stephen E Mcrae, Sijin Wen, and Razelle Kurzrock. 2011. "Phase I Clinical Trial of Hepatic Arterial Infusion of Paclitaxel in Patients with Advanced Cancer and Dominant Liver Involvement NIH Public Access." *Cancer Chemother Pharmacol* 68 (1): 247–53. https://doi.org/10.1007/s00280-010-1482-y.

Tsimberidou, Apostolia M, Yang Ye, Jennifer Wheler, Aung Naing, David Hong, Uchechi Nwosu, Kenneth R Hess, Robert A Wolff, and Apostolia-Maria Tsimberidou. 2013. "A Phase I Study of Hepatic Arterial Infusion of Nab-Paclitaxel in Combination with Intravenous Gemcitabine and Bevacizumab for Patients with Advanced Cancers and Predominant Liver Metastases." *Cancer Chemother Pharmacol* 71 (4): 955–63. https://doi.org/10.1007/s00280-013-2088-y.

Uchida, H, H Ohishi, N Matsuo, K Nishimine, S Ohue, Y Nishimura, M Maeda, and T Yoshioka. 1990. "Transcatheter Hepatic Segmental Arterial Embolization Using Lipiodol Mixed with an Anticancer Drug and Gelfoam Particles for Hepatocellular Carcinoma." *Cardiovascular and Interventional Radiology* 13 (3): 140–45. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2171772.

Valable, Samuel, Aurélien Corroyer-Dulmont, Ararat Chakhoyan, Lucile Durand, Jérôme Toutain, Didier Divoux, Louisa Barré, et al. 2017. "Imaging of Brain Oxygenation with Magnetic Resonance Imaging: A Validation with Positron Emission Tomography in the Healthy and Tumoural Brain." *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 37 (7): 2584–97. https://doi.org/10.1177/0271678X16671965.

Valpione, Sara, Camillo Aliberti, Raffaele Parrozzani, Marco Bazzi, Jacopo Pigozzo, Edoardo Midena, PierLuigi Pilati, Luca G Campana, and Vanna Chiarion-Sileni. 2015. "A Retrospective Analysis of 141 Patients with Liver Metastases from Uveal Melanoma: A Two-Cohort Study Comparing Transarterial Chemoembolization with CPT-11 Charged Microbeads and Historical Treatments." *Melanoma Research* 25 (2): 164–68. https://doi.org/10.1097/CMR.0000000000000129.

Valsecchi, Matias E, Mizue Terai, David J Escehman, Carin F Gonsalves, Inna Chervoneva, Jerry A Shields, Carol L Shields, et al. 2015. "Double-Blinded, Randomized Phase II Study

Using Embolization or without Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor in Uveal Melanoma with Hepatic Metastases." *JVIR* 26 (4): 523–32. https://doi.org/10.1016/j.jvir.2014.11.037.Double-Blinded.

Varela, María, María Isabel Real, Marta Burrel, Alejandro Forner, Margarita Sala, Mercé Brunet, Carmen Ayuso, et al. 2007. "Chemoembolization of Hepatocellular Carcinoma with Drug Eluting Beads: Efficacy and Doxorubicin Pharmacokinetics." *Journal of Hepatology* 46 (3): 474–81. https://doi.org/10.1016/j.jhep.2006.10.020.

Vaupel, Peter, Debra K. Kelleher, and Michael Höckel. 2001. "Oxygenation Status of Malignant Tumors: Pathogenesis of Hypoxia and Significance for Tumor Therapy." *Seminars in Oncology* 28 (2 SUPPL. 8): 29–35. https://doi.org/10.1053/sonc.2001.25398.

Vera-Aguilera, Jesus, Agop Y. Bedikian, Roland L. Bassett, Wen-Jen Hwu, Kevin B. Kim, Yong Qin, Suzanne Cain, et al. 2018. "Phase I/II Study of Hepatic Arterial Infusion of Nab-Paclitaxel in Patients With Metastatic Melanoma to the Liver." *American Journal of Clinical Oncology*, March, 1. https://doi.org/10.1097/COC.0000000000000436.

Vidal, V., M. Sapoval, Y. Sielezneff, V. De Parades, F. Tradi, G. Louis, J. M. Bartoli, and O. Pellerin. 2015. "Emborrhoid: A New Concept for the Treatment of Hemorrhoids with Arterial Embolization: The First 14 Cases." *CardioVascular and Interventional Radiology* 38 (1): 72–78. https://doi.org/10.1007/s00270-014-1017-8.

Vidal, V, G Louis, J M Bartoli, and I Sielezneff. 2014. "Embolization of the Hemorrhoidal Arteries (the Emborrhoid Technique): A New Concept and Challenge for Interventional Radiology." *Diagnostic and Interventional Imaging* 95 (3): 307–15. https://doi.org/10.1016/j.diii.2014.01.016.

Vinters, H V, K A Galil, M J Lundie, and J C Kaufmann. 1985a. "The Histotoxicity of Cyanoacrylates A Selective Review." *Neuroradiology* 27 (4): 279–91. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3900798.

Virmani, Sumeet, Thomas K. Rhee, Robert K. Ryu, Kent T. Sato, Robert J. Lewandowski, Mary F. Mulcahy, Laura M. Kulik, et al. 2008. "Comparison of Hypoxia-Inducible Factor-1α Expression before and after Transcatheter Arterial Embolization in Rabbit VX2 Liver Tumors." *Journal of Vascular and Interventional Radiology* 19 (10): 1483–89. https://doi.org/10.1016/j.jvir.2008.06.017.

Voelter, Verena, Ann Schalenbourg, Sandro Pampallona, Solange Peters, Nermin Halkic, Alban Denys, Gudrun Goitein, Leonidas Zografos, and Serge Leyvraz. 2008. "Adjuvant Intra-Arterial Hepatic Fotemustine for High-Risk Uveal Melanoma Patients." *Melanoma Research* 18 (3): 220–24. https://doi.org/10.1097/CMR.0b013e32830317de.

Vogl, Thomas J., Tatjana Gruber, Jörn O. Balzer, Katrin Eichler, Renate Hammerstingl, and Stefan Zangos. 2009. "Repeated Transarterial Chemoembolization in the Treatment of Liver Metastases of Colorectal Cancer: Prospective Study." *Radiology* 250 (1): 281–89. https://doi.org/10.1148/radiol.2501080295.

Weilert, Frank, Yasser M. Bhat, Kenneth F. Binmoeller, Steve Kane, Ian M. Jaffee, Richard E. Shaw, Rees Cameron, Yusuke Hashimoto, and Janak N. Shah. 2014. "EUS-FNA Is Superior to ERCP-Based Tissue Sampling in Suspected Malignant Biliary Obstruction: Results of a Prospective, Single-Blind, Comparative Study." *Gastrointestinal Endoscopy* 80 (1): 97–104. https://doi.org/10.1016/j.gie.2013.12.031.

White, Robert I, John V Strandberg, Gary S Gross, and Klemens H Barth. 1977. "Therapeutic Embolization with Long-Term Occluding Agents and Their Effects on Embolized Tissues 1." *Radiology* 125: 677–87.

White, V A, J D Chambers, P D Courtright, W Y Chang, and D E Horsman. 1998. “Correlation of Cytogenetic Abnormalities with the Outcome of Patients with Uveal Melanoma.” *Cancer* 83 (2): 354–59. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9669819.

Whittle, I R, I H Johnston, M Besser, T S Lamond, and M de Silva. 1983. “Experience with Bucrylate (Isobutyl-2-Cyanoacrylate) Embolization of Cerebral Arteriovenous Malformations during Surgery.” *Surgical Neurology* 19 (5): 442–49. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6845158.

Wu, Xiong Zhi, Guang Ru Xie, and Dan Chen. 2007. “Hypoxia and Hepatocellular Carcinoma: The Therapeutic Target for Hepatocellular Carcinoma.” *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)* 22 (8): 1178–82. https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2007.04997.x.

Xing, Minzhi, David A Kooby, Bassel F El-Rayes, Nima Kokabi, Juan C Camacho, and Hyun S Kim. 2014. “Locoregional Therapies for Metastatic Colorectal Carcinoma to the Liver-an Evidence-Based Review.” *Journal of Surgical Oncology* 110 (2): 182–96. https://doi.org/10.1002/jso.23619.

Yamada, R, M Sato, M Kawabata, H Nakatsuka, K Nakamura, and S Takashima. 1983a. “Hepatic Artery Embolization in 120 Patients with Unresectable Hepatoma.” *Radiology* 148 (2): 397–401. https://doi.org/10.1148/radiology.148.2.6306721.

Yamaguchi, Rin, Hirohisa Yano, Akihiro Iemura, Sachiko Ogasawara, Makoto Haramaki, and Masamichi Kojiro. 1998. “Expression of Vascular Endothelial Growth Factor in Human Hepatocellular Carcinoma.” *Hepatology* 28 (1): 68–77. https://doi.org/10.1002/hep.510280111.

Yamamoto, Akira, Inna Chervoneva, Kevin L Sullivan, David J Eschelman, Carin F Gonsalves, Michael J Mastrangelo, David Berd, et al. 2009. “High-Dose Immunoembolization: Survival Benefit in Patients with Hepatic Metastases from Uveal Melanoma.” *Radiology* 252 (1): 290–98. https://doi.org/10.1148/radiol.2521081252.

Yata, Shinsaku, Takashi Ihaya, Toshio Kaminou, Masayuki Hashimoto, Yasufumi Ohuchi, Yoshihisa Umekita, and Toshihide Ogawa. 2013. “Transcatheter Arterial Embolization of Acute Arterial Bleeding in the Upper and Lower Gastrointestinal Tract with N-Butyl-2-Cyanoacrylate.” *Journal of Vascular and Interventional Radiology : JVIR* 24 (3): 422–31. https://doi.org/10.1016/j.jvir.2012.11.024.

Yumoto, Y, K Jinno, K Tokuyama, Y Araki, T Ishimitsu, H Maeda, T Konno, S Iwamoto, K Ohnishi, and K Okuda. 1985. “Hepatocellular Carcinoma Detected by Iodized Oil.” *Radiology* 154 (1): 19–24. https://doi.org/10.1148/radiology.154.1.2981112.

Zubiri, Leyre, José I Bilbao, Javier Rodríguez, and Bruno Sangro. 2018. “Selective Internal Radiation Therapy: An Effective Treatment for Hormonal Syndromes in Pancreatic Neuroendocrine Tumors.” *Hepatic Oncology* 5 (2): HEP09. https://doi.org/10.2217/hep-2017-0025.

# ANNEXE 1

Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology (2016) 40, 530—537

Available online at
ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com/en

MINI REVIEW

# Interventional oncology for hepatocellular carcinoma

**Julien Delicque[a], Mathieu Boulin[b], Boris Guiu[a,*], Jean-Pierre Pelage[a], Laure Escal[a], Valentina Schembri[a], Eric Assenat[c], Audrey Fohlen[d]**

[a] *St-Eloi University Hospital, Department of Radiology, 34000 Montpellier, France*
[b] *Dijon University Hospital, Department of Pharmacy, 21000 Dijon, France*
[c] *St-Eloi University Hospital, Department of Oncology, 34000 Montpellier, France*
[d] *University and Medical Center of Caen, 14033 Caen cedex, France*

Available online 4 April 2016

**Summary** Hepatocellular carcinoma (HCC) is the most common type of primary liver cancer and is increasing in incidence. The overall prognosis of patients with liver cancer is poor. The Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC) classification in 5 stages is endorsed by European Association for the Study of the Liver (EASL) and American Association for the Study of Liver Disease (AASLD). This classification is recommended for treatment allocation. Because a small proportion of patients are suitable for curative surgical treatment, various locoregional therapies are widely used to manage patients with HCC. The image-guided therapies, also called interventional radiology or interventional oncology (IO) techniques consisted in percutaneous or endovascular approach. This article reviews the different IO treatments available in HCC patients and the strength of the data.
© 2016 Published by Elsevier Masson SAS.

## Introduction

Hepatocellular carcinoma (HCC) is the most common type of primary liver cancer (PLC), accounting for between 85% and 90% of these malignancies [1]. Most HCCs arise in the background of chronic liver disease (hepatitis B virus, hepatitis C virus, chronic excessive alcohol intake, non-alcoholic fatty liver disease) [1]. Liver cancer is the second most frequent cause of cancer death in men in the world [2]. Well-identified prognostic factors for HCC are performance status, liver function and tumor stage. The Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC) staging system (Table 1) stratifies patients in 5 stages (0, A, B, C and D) [3]. The BCLC system is endorsed by European Association for the Study of the Liver (EASL) and American Association for the Study of

* Corresponding author.
*E-mail addresses:* b-guiu@chu-montpellier.fr (B. Guiu), fohlen@cyceron.fr (A. Fohlen).

http://dx.doi.org/10.1016/j.clinre.2016.01.007
2210-7401/© 2016 Published by Elsevier Masson SAS.

**Table 1** Updated BCLC staging system, 2011.

| Stage | | PS | Tumor | Hepatic function |
|---|---|---|---|---|
| Very early stage | 0 | 0 | Single, < 2 cm | Child-Pugh A |
| Early stage | A1 | 0 | Single, < 5 cm | No portal HTN, normal bilirubin |
| | A2 | 0 | Single, < 5 cm | Portal HTN, normal bilirubin |
| | A3 | 0 | Single, < 5 cm | Portal HTN, elevated bilirubin |
| | A4 | 0 | 3 nodules, < 3 cm | Child-Pugh A—B |
| Intermediate stage | B | 0 | Multinodular | Child-Pugh A—B |
| Advanced stage | C | 1—2 | Portal invasion | Child-Pugh A—B |
| Terminal stage | D | 3—4 | Indifferent | Child-Pugh C |

HTN: hypertension.

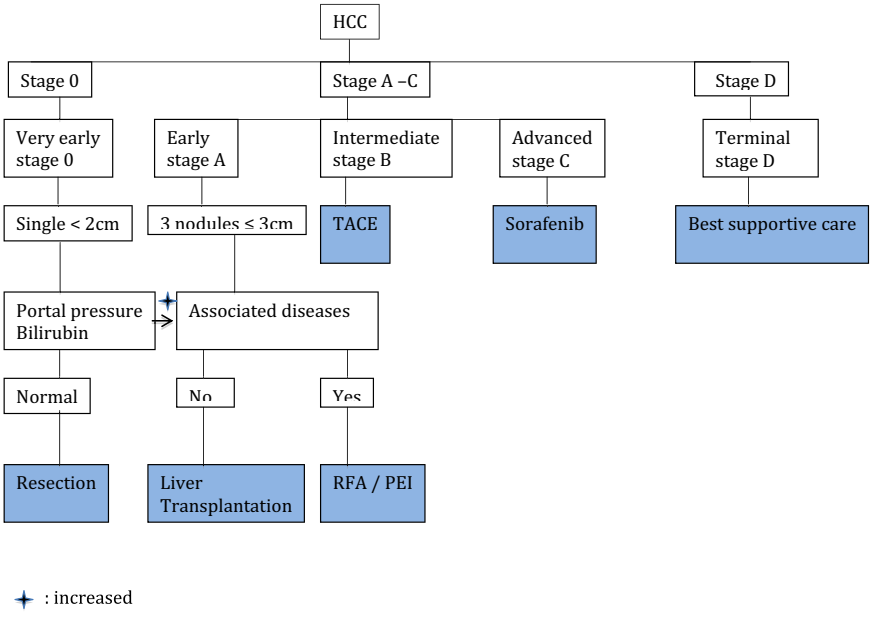



**Figure 1** Allocation system for HCC treatment, updated in 2011 (Bruix et al. [7]).

**Table 2** Levels of evidence according to National Cancer Institute.

| Strength of evidence according to study design | Strength of evidence according to end-points |
|---|---|
| Level 1: randomized controlled clinical trials or meta-analyses of randomized studies<br>Double-blinded<br>Non-blinded treatment delivery | A: total mortality (or overall survival from a defined time) |
| Level 2: non-randomized controlled clinical trials | B: cause-specific mortality (or cause-specific mortality from a defined time) |
| Level 3: case series<br>Population-based, consecutive series<br>Consecutive cases (not population-based)<br>Non-consecutive cases | C: carefully assessed quality of life |
| | D: indirect surrogates<br>Event-free survival<br>Disease-free survival<br>Progression-free survival<br>Tumor response rate |

Liver Disease (AASLD). It is recommended for prognosis and treatment allocation [4]. The all-stage 5-years overall survival rate (OSR) is around 8.6% but is near 80% for very early stage [5]. Interventional radiology, also called interventional oncology (IO) when applied to oncology, is involved in the palliative and curative stages of treatment [6]. IO techniques combining imaging guidance (US, CT or fluoroscopic) and a minimally invasive approach are associated with a low rate of morbidity and an increase in overall survival of treated patients. Radiofrequency ablation, percutaneous ethanol injection and transarterial chemoembolisation are involved in the BCLC allocation system, updated in 2011 [7] (Fig. 1). Guidelines from the European Association for the Study of the Liver—European Organization for Research and Treatment of Cancer (EASL-EORTC) have been updated in 2012 [8]. Nevertheless, other IO techniques are available to treat HCC and will be discussed in this review article. The strength of the data are based on the classification of evidence, adapted from National Cancer Institute [9] (Table 2).

## Image-guided tumor ablation

Local ablation is defined as the direct application of chemical substances or sources of energy to a focal tumor in an attempt to achieve eradication or substantial tumor destruction [10]. Over the past 25 years, several methods have been developed and clinically tested. The advantages of these techniques are a favorable cost-effectiveness ratio, their ability to preserve surrounding liver parenchyma and thus liver function, a low morbidity/mortality rate and a reduced hospitalization time [7,11]. These treatments can be applied using a percutaneous approach under US and/or CT guidance.

### Chemical destruction

The percutaneous ethanol injection (PEI) was the first procedure used for the minimally invasive treatment of liver tumors [12]. The PEI was widely used to treat relatively early HCC since the end of the 1980s [13]. No major complications were reported [13,14]. A long-term study confirmed efficacy of this treatment with a high percentage of necrosis, up to 90%—100%, a mean 5-year survival rate in patients with HCC 5 cm or smaller of 48% [14]. However, this technique needed several sessions to treat HCC nodules > 2 cm and a high local recurrence rate (up to 43% in HCC > 3 cm) was reported [15]. This explained why other percutaneous treatments were developed. Whether PEI appears in the BCLC allocation system for very early and early stage not suitable for surgery (evidence 2A) [8], ablative therapies have gained widespread acceptance and have progressively replaced PEI.

### Thermal ablative therapies

Thermal ablative therapies (laser ablation and radiofrequency ablation) were first evaluated in the middle of the 1990s. Hyperthermic treatments include laser ablation (LA), radiofrequency ablation (RFA), microwave ablation (MWA) and high-intensity focused ultrasound (HIFU). Hypothermic treatment is represented by cryoablation (CA).

Laser ablation (LA) studies originate mainly from Italy, Germany and the UK. The principle of LA refers to thermal tissue destruction by conversion of absorbed light (usually infrared) into heat. In the most recent review article, the authors emphasize that this technique is safe (less than 2% of major complications in different published studies) and effective [16]. Nevertheless, randomized trials are missing to establish long-term survival rates. Laser ablation is currently not recommended according to BCLC.

Radiofrequency ablation has been widely evaluated. In 2005, a randomized controlled trial compared percutaneous radiofrequency ablation (RFA), percutaneous ethanol injection (PEI) and percutaneous acetic acid injection (PAI) to treat HCC of 3 cm or less [17]. The authors concluded that RFA was superior to PEI ($P = 0.031$) and PAI ($P = 0.038$) in terms of overall survival at 1, 3 and 5 years [17], although RFA was associated with more major complications (4.8% in RFA group vs none in other groups; $P = 0.035$) [17]. A meta-analysis, published in 2009, confirmed the superiority of RFA compared to PEI in the treatment of small HCC with a significantly smaller risk of local recurrence [18]. In a recent study a 5-year survival rate of 67.9% was demonstrated for RFA as a first-line treatment of early-stage HCC, with a cumulative incidence of local progression of 14.5% at 5 years [19]. A Japanese cohort based on nationwide survey identified 5548 patients (60% Child-Pugh A) with RFA treatment of HCC and reported a 3- and 5-year OS rates of 81.0% and 61.1% respectively [20]. Morbidity/mortality after RFA are rare events. In most studies, major complications rate was very low (1.9 to 5.7%) [21—23]. The most frequent complications were represented by peritoneal hemorrhage, intrahepatic abscesses, tumor seeding, and intestinal perforation [21]. It should be mentioned that the last two complications were technical iatrogenic errors that do not occur nowadays in experienced centers. According to recent publications, effectiveness of RFA was comparable to hepatic resection for small HCC [24—26]. These publications emphasized the advantages of RFA compared to surgery in terms of morbidity and cost. Limitations associated with RFA have strongly diminished over time. For tumors close to vessels, the blood inflow may reduce the heating of the tumor cells close to the vessels (i.e. heat sink effect) and could lead to positive margins (heat sink effect). Radiologists have the ability to use balloon-occlusion techniques to prevent from heat sink. Using aero-dissection or hydro-dissection to protect the gastrointestinal tract from the ablation zone can prevent the risk of intestinal perforation. Patients with a bilio-enteric anastomosis should not be treated due to the high risk of liver abscess [23]. Central tumors located near the bile ducts are also one contraindication to most ablative techniques. In a recent study, the only significant predictive factor for recurrence was the tumor size [19]. Most RFA clinical trials concentrated on ablation of smaller hepatic lesions (< 3 cm) [24]. Recent technical developments (cluster electrode, more powerful generator, multipolar RFA, combination technique) may lead to better outcome of RFA for HCC > 3 cm.

RFA and PEI are well-validated HCC treatments for very early (0) and early (A) stages not suitable for surgery with a level 2A evidence [8]. RFA is currently established as the standard ablative modality in tumors less than 5 cm, with a level 1iD evidence [8]. PEI is currently recommended if RFA is not technically feasible [8].

To overcome RFA current limitations, other ablation techniques have being developed. Microwave ablation (MWA) has theoretical advantages over radiofrequency: more uniform coagulation, better performance near blood vessels, shorter ablation time, and greater ablation volume. But so far, none of these advantages have been proven in clinical studies. Current reporting standards in microwave ablation of hepatic malignancies are suboptimal and lack standardization for comparison across institutions [27]. Finally, substantial differences exist between MWA systems making difficult to confirm the results of one system to the others. High-intensity focused ultrasound (HIFU) is the latest developed local thermal ablation technique. Initials results are promising. Cryoablation consist in ultra-low temperature ablation. Cryoablation allows for real-time visualization of an ''iceball'' to precisely evaluate the ablated zone. Cryoablation seems to be safe to treat HCC in cirrhotic patients [28]. In a meta-analysis published in 2013, RFA was found to be superior in terms of local recurrence rate [29]. But in a more recent randomized controlled trial, cryoablation was found to be superior as RFA for local recurrence [30]. Thus, cryoablation, MWA and HIFU cannot be currently recommended and are still under investigation.

### Irreversible electroporation (IRE)

This new technic delivers pulses of electrical current up to 3 kV to tumor cells, producing an electrical field that creates nanopores in cell membranes. Bile ducts, portal veins and hepatic arteries appear to be more resistant to the effects of IRE [31]. A potential benefit for central liver lesion is expected. Hepatocyte necrosis occurs immediately adjacent to large central veins without evidence of heat sink [31]. The disadvantages of this technique are the necessary use of muscle relaxants, the potentially induced cardiac arrhythmias and the number of needle required [32]. The use of IRE in the management of HCC is still under investigation.

## Intra-arterial therapies

In contrast to dual portal and arterial vascularisation of the liver parenchyma, HCC is mostly dependent on the hepatic artery for its blood supply [33]. This feature provided the rationale for the development of intra-arterial therapies in HCC.

### Transarterial chemoembolisation (TACE)

This interventional radiology procedure consists in injecting a chemotherapeutic agent emulsified with lipiodol into the hepatic artery followed by administration of embolic agents (conventional TACE or cTACE). This treatment is subject to large heterogeneity across centers and radiologists [34]. The most frequent chemotherapy agent used is doxorubicin [34]. Embolization is usually performed with gelatin sponge or calibrated particles used as secondary embolization agents.

In 2002—2003, two randomized trials and two meta-analyses showed statistically significant survival gains of cTACE compared with supportive care or systemic chemotherapy in patients with unresectable HCC [35—38]. On the basis of these positive studies, TACE is now the first-line treatment in patients with intermediate B-stage HCC, defined as preserved liver function (Child-Pugh A or B7) with a large or multifocal tumor without vascular invasion or extra-hepatic spread and a performance status 0 (level 1A evidence) [6—8]. In 2011, a Cochrane meta-analysis did not demonstrate any survival benefit of TACE or bland embolization in patients with unresectable HCC but the selected studies included in the meta-analysis have been criticized since its publication [39].

It is well-known that patients with intermediate B-stage HCC represent a heterogeneous population in terms of tumor burden, liver function and disease etiology and there is now evidence that some patients with intermediate B-stage may not get any clinical benefit from TACE. For this reason, a sub classification of the BCLC B category by tumor burden and liver function has been proposed to facilitate treatment decisions [40]. Thus, the best candidates for TACE are patients with a solitary or limited multifocal HCC nodules without vascular invasion or extra-hepatic spread nor cancer-related symptom and with Child-Pugh class $\leq$ B7 [40—43]. In these patients, TACE leads to a median survival exceeding 2 years. To help clinicians with treatments decision, a panel of HCC experts has also defined a series of absolute and relative contraindications to TACE [5]. Absolute contraindications include decompensated cirrhosis (Child-Pugh class $\geq$ B8), impaired portal vein blood flow, extensive tumor involving the entirety of liver lobes, tumorous portal vein thrombosis and renal dysfunction [5].

In terms of toxicity, median TACE-related mortality defined as death within 3 weeks of the treatment was estimated at 2.4% (range 0—9.5%) in 37 trials of 2858 patients [34]. The causes of death were acute liver failure (the most frequent), tumor rupture (large HCC), upper gastrointestinal bleeding or sepsis. However when the appropriate patients are properly selected, cTACE is a highly safe procedure [44]. Post-embolization syndrome, consisting of transient nausea, abdominal pain and fever, occurs in > 40% of patients [44]. This syndrome, which is frequently associated with an elevation of transaminases, rarely persists for longer than 72 hours. The severe side effects of TACE are mainly due to procedure-induced ischemia of the non-tumoral liver that causes or exacerbates liver failure in cirrhotic patients; they include encephalopathy, ascites, a decrease in prothrombin time and an increase in serum bilirubin and deterioration in the Child-Pugh status. The frequency of TACE-related liver failure is difficult to evaluate because of the heterogeneity in the definitions used in the studies, but it is commonly < 10%. Ischemic complications of TACE lead to hepatic abscess, acute cholecystitis, and necrosis or stenosis of the biliary tract and other rare but severe side effects include bile duct injuries, gastrointestinal bleeding and renal dysfunction. Both hematological and cardiac TACE-related toxicities are usually mild as the chemotherapeutic doses are lower than those injected intravenously in oncology.

Even if TACE is widely used for decades [45], survival rates vary between studies, remaining low (< 3 years) and the optimal treatment regimen has to be determined.

First, doxorubicin is the most commonly used chemotherapeutic agent for TACE of HCC but no rigorous preclinical data have ever supported its use in preference to another cytotoxic agent [46].

Second, drug-eluting embolics (DEEs) or DEB (drug-eluting beads) have demonstrated a pharmacokinetic advantage over lipiodol for TACE of HCC [47] but no incremental survival benefit has been associated with their use [42]. Moreover, it has been shown that DEE-TACE caused more liver/biliary injuries than cTACE [48]. In addition, it is finally not certain that these devices contribute to the standardization of the procedure as various types, sizes and beads quantities are now available for the interventional radiologists [49].

Third, no solid data suggest that on-demand TACE sessions (decided after radiological assessment using EASL/mRECIST criteria) led to better survival than scheduled TACE sessions at fixed intervals (6—8 weeks).

Fourth, the decision criteria to discontinue TACE and potentially consider second-line treatments have to be defined. For that, the assessment for re-treatment with TACE (ART) score has been developed to determine which patients will benefit from a second or a third session [50] and a recent algorithm including the concept of untreatable progression has been proposed [51]. However, this needs to be prospectively validated.

Fifth, further studies need to assess combinations therapies such as TACE plus ablatives therapies.

Finally, regarding TACE indications, some centers perform TACE to bridge patients to transplantation but robust evidence to support this practice is still lacking [52].

Chemoembolization with lipiodol is recommended for patients with BCLC intermediate stage (B), level 1iiA [8]. The use of drug-eluting beads has shown similar response rates than gelfoam-lipiodol particles associated with less systemic adverse events, level 1D evidence [8,53].

## Selective internal radiation therapy (SIRT)

Radioembolization consists in arterial injection of microspheres with attached (SIR sphere, resin) or incorporated (TheraSphere, glass) $^{90}$Y isotope. No arterial ischemia is expected explaining that the term ''radioembolization'' is inappropriate. Ytrium 90 generates a β-emission with high energy, low penetration tissue (2,5 mm to 11 mm) and short half-life (2.67 days). Sphere average size is 32,5 μm (SIR-Spheres) and 25 μm (TheraSphere). Procedure consists in 2 steps. The first step, the so-called work-up procedure is performed by injecting intra-arterially in tumor feeders technetium-99 m labeled macroaggregated albumin ($^{99m}$Tc-MAA), after checking for anatomical variants and non-hepatic arteries to prevent from non-target SIRT. Planar or SPECT gamma-camera imaging is then performed:

- to measure hepato-pulmonary shunting of $^{99m}$Tc-MAA;
- to check for hepatic-only distribution of $^{99m}$Tc-MAA and;
- to calculate the radiation activity to deliver.

About 1—2 weeks after, the manufacturer supplies the calculated $^{90}$Y dose and a new interventional procedure is performed to inject $^{90}$Y at the same position as that determined during the work-up phase. No isolation of the patient is required because of the shortness of β tissue penetration [54]. Iñarrairaegui et al. relates that SIRT is safe in patients with portal vein thrombosis, in relation with the minimally embolization effect [55]. Portal vein thrombosis seems to be a promising indication for SIRT [56,57].

Complications have been reported with SIRT. Non-targeted embolization should be avoided by careful identification and/or embolization of non-hepatic arteries during the work-up procedure (cholecystis, gastrointestinal ulceration, pneumonitis) [58—60]. The Radioembolization Induced Liver Disease (REILD) has been described by Sangro et al. in 2008 [61]. It can occur in up to 20% of patients, within 4 to 8 weeks after treatment, and consists in life-threatening liver damage, characterized by jaundice and ascites and potential veno-occlusive disease (VOD) at pathology [61]. Based on literature, medications such as the defibrotide, steroids or low dose heparin infusion may potentially be helpful to treat or prevent the VOD [62—64]. Additional investigations are required to improve predictive $^{90}$Y activity distribution before SIRT and decrease complications due to an excessive irradiation of non-tumoral liver. In parallel, a new concept for dose calculation based on MAA SPECT/CT is promising [65]. In this study, the threshold tumor dose (TD) was 205 Gy [65].

Although several large phase III trials have terminated their inclusions, at this moment, no RCT for SIRT has been published. Therefore the evidence supporting the use of radioembolization is based on cohort studies only. To date, no significant difference in efficacy between SIRT and TACE is reported [54]. TheraSphere® is approved by the US Food and Drug Administration under a Humanitarian Device Exemption, based on safety and probable clinical benefit, since 1999, for unresectable HCC. A level 2A evidence is available for radioembolization in patients with HCC [66], but this treatment cannot be recommended as a standard therapy [8].

## Combination therapies

Data are lacking to recommend the combination of TACE and RFA in intermediate B-stage HCC patients [42]. Nevertheless, a study about 487 patients, provide evidence for the rationale for using combined RFA and TACE, with a 78.7% 5-year OSR [67].

Available results concerning adjuvant or concomitant sorafenib with TACE are relatively disappointing [68,69]. Randomized controlled trials are ongoing.

Combination of SIRT and systemic treatment should be considered. Some phases III trial for unresectable HCC are also ongoing. Combination of sorafenib and SIRT is promising.

The role of combination therapies needs to be confirmed by further investigations.

## Conclusion

Because many HCC patients are poor surgical candidates, interventional oncology (IO) has currently various applications in the management of HCC. According to the disease stage, RFA and TACE have the strongest evidence for HCC treatment. Nevertheless, strongest evidence and technical improvements to reduce local recurrence are warranted in ablatives therapies. For TACE, standardized therapeutic protocols are missing but recent introduction of new device and

new drugs are currently under investigation. Other indications for TACE should be more clearly defined (recurrence after RFA or surgery, as a bridge to transplantation...).

SIRT publications demonstrated a good safety profile, even in case of portal vein invasion, with favorable outcomes for patients with unresectable, intermediate stage BCLC B. More proofs are needed to better select patients suitable for TACE or SIRT. Results of pivotal RCTs are expected for 2020, including combination therapies.

## Disclosure of interest

The authors declare that they have no competing interest.

## References


[1] Lafaro KJ, Demirjian AN, Pawlik TM. Epidemiology of hepatocellular carcinoma. Surg Oncol Clin N Am 2015;24:1—17, http://dx.doi.org/10.1016/j.soc.2014.09.001.

[2] Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin 2011;61:69—90, http://dx.doi.org/10.3322/caac.20107.

[3] Forner A, Reig ME, de Lope CR, Bruix J. Current strategy for staging and treatment: the BCLC update and future prospects. Semin Liver Dis 2010;30:61—74, http://dx.doi.org/10.1055/s-0030-1247133.

[4] Llovet JM, Bruix J. Novel advancements in the management of hepatocellular carcinoma in 2008. J Hepatol 2008;48(Suppl 1):S20—37, http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2008.01.022.

[5] Raoul J-L, Sangro B, Forner A, Mazzaferro V, Piscaglia F, Bolondi L, 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, http://dx.doi.org/10.1016/j.ctrv.2010.07.006.

[6] Forner A, Llovet JM, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. Lancet 2012;379:1245—55, http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(11)61347-0.

[7] Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma: an update. Hepatology 2011;53:1020—2, http://dx.doi.org/10.1002/hep.24199.

[8] EASL-EORTC clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma. J Hepatol 2012;56:908—43, http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2011.12.001.

[9] Levels of evidence: adult and pediatric treatment studies — National Cancer Institute n.d. http://www.cancer.gov/publications/pdq/levels-evidence/treatment#section/_30 (accessed August 3, 2015).

[10] Lencioni R, Crocetti L. Image-guided ablation for hepatocellular carcinoma. Recent Results Cancer Res 2013;190:181—94, http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-16037-0_12.

[11] Llovet JM, Mas X, Aponte JJ, Fuster J, Navasa M, Christensen E, et al. Cost effectiveness of adjuvant therapy for hepatocellular carcinoma during the waiting list for liver transplantation. Gut 2002;50:123—8.

[12] Livraghi T. [Physical and chemical locoregional therapy in liver metastasis]. Ann Ital Chir 1996;67:799—804.

[13] Livraghi T, Vettori C. Percutaneous ethanol injection therapy of hepatoma. Cardiovasc Intervent Radiol 1990;13:146—52.

[14] Livraghi T, Giorgio A, Marin G, Salmi A, de Sio I, Bolondi L, et al. Hepatocellular carcinoma and cirrhosis in 746 patients: long-term results of percutaneous ethanol injection. Radiology 1995;197:101—8, http://dx.doi.org/10.1148/radiology.197.1.7568806.

[15] Khan KN, Yatsuhashi H, Yamasaki K, Yamasaki M, Inoue O, Koga M, et al. Prospective analysis of risk factors for early intrahepatic recurrence of hepatocellular carcinoma following ethanol injection. J Hepatol 2000;32:269—78.

[16] Gough-Palmer AL, Gedroyc WMW. Laser ablation of hepatocellular carcinoma — a review. World J Gastroenterol 2008;14:7170—4.

[17] Lin S-M, Lin C-J, Lin C-C, Hsu C-W, Chen Y-C. Randomised controlled trial comparing percutaneous radiofrequency thermal ablation, percutaneous ethanol injection, and percutaneous acetic acid injection to treat hepatocellular carcinoma of 3 cm or less. Gut 2005;54:1151—6, http://dx.doi.org/10.1136/gut.2004.045203.

[18] 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—24, http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2008.80.

[19] Lee DH, Lee JM, Lee JY, Kim SH, Yoon JH, Kim YJ, et al. Radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma as first-line treatment: long-term results and prognostic factors in 162 patients with cirrhosis. Radiology 2014;270:900—9, http://dx.doi.org/10.1148/radiol.13130940.

[20] Hasegawa K, Kokudo N, Makuuchi M, Izumi N, Ichida T, Kudo M, et al. Comparison of resection and ablation for hepatocellular carcinoma: a cohort study based on a Japanese nationwide survey. J Hepatol 2013;58:724—9, http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2012.11.009.

[21] Livraghi T, Solbiati L, Meloni MF, Gazelle GS, Halpern EF, Goldberg SN. Treatment of focal liver tumors with percutaneous radio-frequency ablation: complications encountered in a multicenter study. Radiology 2003;226:441—51, http://dx.doi.org/10.1148/radiol.2262012198.

[22] Tateishi R, Shiina S, Teratani T, Obi S, Sato S, Koike Y, et al. Percutaneous radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma. An analysis of 1000 cases. Cancer 2005;103:1201—9, http://dx.doi.org/10.1002/cncr.20892.

[23] de Baère T, Risse O, Kuoch V, Dromain C, Sengel C, Smayra T, et al. Adverse events during radiofrequency treatment of 582 hepatic tumors. AJR Am J Roentgenol 2003;181:695—700, http://dx.doi.org/10.2214/ajr.181.3.1810695.

[24] Wang Y, Luo Q, Li Y, Deng S, Wei S, Li X. Radiofrequency ablation versus hepatic resection for small hepatocellular carcinomas: a meta-analysis of randomized and nonrandomized controlled trials. PLoS One 2014;9:e84484, http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0084484.

[25] Livraghi T, Meloni F, Di Stasi M, Rolle E, Solbiati L, Tinelli C, 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;47:82—9, http://dx.doi.org/10.1002/hep.21933.

[26] Livraghi T. Radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma. Surg Oncol Clin N Am 2011;20:281—99, http://dx.doi.org/10.1016/j.soc.2010.11.010.

[27] North DA, Groeschl RT, Sindram D, Martinie JB, Iannitti DA, Bloomston M, et al. Microwave ablation for hepatic malignancies: a call for standard reporting and outcomes. Am J Surg 2014;208:284—94, http://dx.doi.org/10.1016/j.amjsurg.2014.02.002.

[28] Dunne RM, Shyn PB, Sung JC, Tatli S, Morrison PR, Catalano PJ, et al. Percutaneous treatment of hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis: a comparison of the safety of cryoablation and radiofrequency ablation. Eur J Radiol 2014;83:632—8, http://dx.doi.org/10.1016/j.ejrad.2014.01.007.

[29] Huang Y-Z, Zhou S-C, Zhou H, Tong M. Radiofrequency ablation versus cryosurgery ablation for hepatocellular carcinoma:

a meta-analysis. Hepatogastroenterology 2013;60:1131—5, http://dx.doi.org/10.5754/hge121142.
[30] Hyun MH, Chung SM. Randomized, controlled trial of percutaneous cryoablation versus radiofrequency ablation in hepatocellular carcinoma. Hepatology 2015;62:980, http://dx.doi.org/10.1002/hep.27714.
[31] Charpentier KP, Wolf F, Noble L, Winn B, Resnick M, Dupuy DE. Irreversible electroporation of the liver and liver hilum in swine. HPB (Oxford) 2011;13:168—73, http://dx.doi.org/10.1111/j.1477-2574.2010.00261.x.
[32] Lee EW, Thai S, Kee ST. Irreversible electroporation: a novel image-guided cancer therapy. Gut Liver 2010;4(Suppl 1):S99—104, http://dx.doi.org/10.5009/gnl.2010.4.S1.S99.
[33] Breedis C, Young G. The blood supply of neoplasms in the liver. Am J Pathol 1954;30:969—77.
[34] 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, http://dx.doi.org/10.1007/s00270-006-0062-3.
[35] Lo C-M, Ngan H, Tso W-K, Liu C-L, Lam C-M, Poon RT-P, et al. Randomized controlled trial of transarterial lipiodol chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma. Hepatology 2002;35:1164—71, http://dx.doi.org/10.1053/jhep.2002.33156.
[36] Llovet JM, Real MI, Montaña X, Planas R, Coll S, Aponte J, et al. Arterial embolisation or chemoembolisation versus symptomatic treatment in patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised controlled trial. Lancet 2002;359:1734—9, http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(02)08649-X.
[37] Cammà C, Schepis F, Orlando A, Albanese M, Shahied L, Trevisani F, et al. Transarterial chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma: meta-analysis of randomized controlled trials. Radiology 2002;224:47—54, http://dx.doi.org/10.1148/radiol.2241011262.
[38] Llovet JM, Bruix J. Systematic review of randomized trials for unresectable hepatocellular carcinoma: chemoembolization improves survival. Hepatology 2003;37:429—42, http://dx.doi.org/10.1053/jhep.2003.50047.
[39] Oliveri RS, Wetterslev J, Gluud C. Transarterial (chemo)embolisation for unresectable hepatocellular carcinoma. Cochrane Database Syst Rev 2011;16:CD004787, http://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD004787.pub2.
[40] Bolondi L, Burroughs A, Dufour J-F, Galle PR, Mazzaferro V, Piscaglia F, et al. Heterogeneity of patients with intermediate (BCLC B) hepatocellular carcinoma: proposal for a subclassification to facilitate treatment decisions. Semin Liver Dis 2012;32:348—59, http://dx.doi.org/10.1055/s-0032-1329906.
[41] Bruix J, Gores GJ, Mazzaferro V. Hepatocellular carcinoma: clinical frontiers and perspectives. Gut 2014;63:844—55, http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2013-306627.
[42] Forner A, Gilabert M, Bruix J, Raoul J-L. Treatment of intermediate-stage hepatocellular carcinoma. Nat Rev Clin Oncol 2014;11:525—35, http://dx.doi.org/10.1038/nrclinonc.2014.122.
[43] Sangro B, Salem R. Transarterial chemoembolization and radioembolization. Semin Liver Dis 2014;34:435—43, http://dx.doi.org/10.1055/s-0034-1394142.
[44] Sangro B. Chemoembolization and radioembolization. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2014;28:909—19, http://dx.doi.org/10.1016/j.bpg.2014.08.009.
[45] Konno T, Maeda H, Iwai K, Tashiro S, Maki S, Morinaga T, 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—65.
[46] Boulin M, Hillon P, Cercueil JP, Bonnetain F, Dabakuyo S, Minello A, et al. Idarubicin-loaded beads for chemoembolisation of hepatocellular carcinoma: results of the IDASPHERE phase I trial. Aliment Pharmacol Ther 2014;39:1301—13, http://dx.doi.org/10.1111/apt.12746.
[47] 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—81, http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2006.10.020.
[48] Guiu B, Deschamps F, Aho S, Munck F, Dromain C, Boige V, et al. Liver/biliary injuries following chemoembolisation of endocrine tumours and hepatocellular carcinoma: lipiodol vs. drug-eluting beads. J Hepatol 2012;56:609—17, http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2011.09.012.
[49] Guiu B, Schmitt A, Reinhardt S, Fohlen A, Pohl T, Wendremaire M, et al. Idarubicin-loaded ONCOZENE drug-eluting embolic agents for chemoembolization of hepatocellular carcinoma: in vitro loading and release and in vivo pharmacokinetics. J Vasc Interv Radiol 2015;26:262—70, http://dx.doi.org/10.1016/j.jvir.2014.08.021.
[50] Sieghart W, Hucke F, Pinter M, Graziadei I, Vogel W, Müller C, et al. The ART of decision making: retreatment with transarterial chemoembolization in patients with hepatocellular carcinoma. Hepatology 2013;57:2261—73, http://dx.doi.org/10.1002/hep.26256.
[51] Clavien P-A, Lesurtel M, Bossuyt P, Gores G, Langer B, Perrier A. Recommendations for liver transplantation for hepatocellular carcinoma: an international consensus conference report. Lancet Oncol 2012;13:1—21, http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045(11)70175-9 [Recommendations].
[52] Tsochatzis E, Garcovich M, Marelli L, Papastergiou V, Fatourou E, Rodriguez-Peralvarez ML, et al. Transarterial embolization as neo-adjuvant therapy pretransplantation in patients with hepatocellular carcinoma. Liver Int 2013;33:944—9, http://dx.doi.org/10.1111/liv.12144.
[53] 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 Intervent Radiol 2010;33:41—52, http://dx.doi.org/10.1007/s00270-009-9711-7.
[54] Moreno-Luna LE, Yang JD, Sanchez W, Paz-Fumagalli R, Harnois DM, Mettler TA, et al. Efficacy and safety of transarterial radioembolization versus chemoembolization in patients with hepatocellular carcinoma. Cardiovasc Intervent Radiol 2013;36:714—23, http://dx.doi.org/10.1007/s00270-012-0481-2.
[55] Iñarrairaegui M, Thurston KG, Bilbao JI, D'Avola D, Rodriguez M, Arbizu J, et al. Radioembolization with use of yttrium-90 resin microspheres in patients with hepatocellular carcinoma and portal vein thrombosis. J Vasc Interv Radiol 2010;21:1205—12, http://dx.doi.org/10.1016/j.jvir.2010.04.012.
[56] Lau W-Y, Sangro B, Chen P-J, Cheng S-Q, Chow P, Lee R-C, et al. Treatment for hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombosis: the emerging role for radioembolization using yttrium-90. Oncology 2013;84:311—8, http://dx.doi.org/10.1159/000348325.
[57] El Fouly A, Ertle J, El Dorry A, Shaker MK, Dechêne A, Abdella H, et al. In intermediate stage hepatocellular carcinoma: radioembolization with yttrium 90 or chemoembolization? Liver Int 2015;35:627—35, http://dx.doi.org/10.1111/liv.12637.
[58] Carretero C, Munoz-Navas M, Betes M, Angos R, Subtil JC, Fernandez-Urien I, et al. Gastroduodenal injury after radioembolization of hepatic tumors. Am J Gastroenterol 2007;102:1216—20, http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2007.01172.x.

[59] Salem R, Parikh P, Atassi B, Lewandowski RJ, Ryu RK, Sato KT, et al. Incidence of radiation pneumonitis after hepatic intra-arterial radiotherapy with yttrium-90 microspheres assuming uniform lung distribution. Am J Clin Oncol 2008;31:431—8, http://dx.doi.org/10.1097/COC.0b013e318168ef65.

[60] Rodríguez-Lago I, Carretero C, Herráiz M, Subtil JC, Betés M, Rodríguez-Fraile M, et al. Long-term follow-up study of gastroduodenal lesions after radioembolization of hepatic tumors. World J Gastroenterol 2013;19:2935—40, http://dx.doi.org/10.3748/wjg.v19.i19.2935.

[61] Sangro B, Gil-Alzugaray B, Rodriguez J, Sola I, Martinez-Cuesta A, Viudez A, et al. Liver disease induced by radioembolization of liver tumors: description and possible risk factors. Cancer 2008;112:1538—46, http://dx.doi.org/10.1002/cncr.23339.

[62] Kalayoglu-Besisik S, Yenerel MN, Caliskan Y, Ozturk S, Besisik F, Sargin D. Time-related changes in the incidence, severity, and clinical outcome of hepatic veno-occlusive disease in hematopoietic stem cell transplantation patients during the past 10 years. Transplant Proc 2005;37:2285—9, http://dx.doi.org/10.1016/j.transproceed.2005.03.025.

[63] Kornblum N, Ayyanar K, Benimetskaya L, Richardson P, Iacobelli M, Stein CA. Defibrotide, a polydisperse mixture of single-stranded phosphodiester oligonucleotides with lifesaving activity in severe hepatic veno-occlusive disease: clinical outcomes and potential mechanisms of action. Oligonucleotides 2006;16:105—14, http://dx.doi.org/10.1089/oli.2006.16.105.

[64] Bayraktar U-D, Seren S, Bayraktar Y. Hepatic venous outflow obstruction: three similar syndromes. World J Gastroenterol 2007;13:1912—27.

[65] Garin E, Lenoir L, Edeline J, Laffont S, Mesbah H, Porée P, et al. Boosted selective internal radiation therapy with 90Y-loaded glass microspheres (B-SIRT) for hepatocellular carcinoma patients: a new personalized promising concept. Eur J Nucl Med Mol Imaging 2013;40:1057—68, http://dx.doi.org/10.1007/s00259-013-2395-x.

[66] Hilgard P, Hamami M, El Fouly A, Scherag A, Müller S, Ertle J, et al. Radioembolization with yttrium-90 glass microspheres in hepatocellular carcinoma: European experience on safety and long-term survival. Hepatology 2010;52:1741—9, http://dx.doi.org/10.1002/hep.23944.

[67] Xie H, Wang H, An W, Ma W, Qi R, Yang B, et al. The efficacy of radiofrequency ablation combined with transcatheter arterial chemoembolization for primary hepatocellular carcinoma in a cohort of 487 patients. PLoS One 2014;9:e89081, http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0089081.

[68] Chao Y, Chung Y-H, Han G, Yoon J-H, Yang J, Wang J, et al. The combination of transcatheter arterial chemoembolization and sorafenib is well tolerated and effective in Asian patients with hepatocellular carcinoma: final results of the START trial. Int J Cancer 2015;136:1458—67, http://dx.doi.org/10.1002/ijc.29126.

[69] Liu L, Chen H, Wang M, Zhao Y, Cai G, Qi X, et al. Combination therapy of sorafenib and TACE for unresectable HCC: a systematic review and meta-analysis. PLoS One 2014;9:e91124, http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0091124.

# ANNEXE 2

# One-Month Apparent Diffusion Coefficient Correlates With Response to Radiofrequency Ablation of Hepatocellular Carcinoma

Maxime Barat, MD,[1]* Audrey Fohlen, MD, BSc,[2,3,4,5,6] Christophe Cassinotto, MD,[7,8] Anne Sophie Jannot, MD, PhD,[9,10,11] Raphael Dautry, MD, BSc,[1] Jean-Pierre Pelage, MD, PhD,[2,3,4,5,6] Mourad Boudiaf, MD,[1] Marc Pocard, MD, PhD,[12,13,14] Clarisse Eveno, MD,[12,13,14] Bachir Taouli, MD,[15] Philippe Soyer, MD, PhD,[1,12,13] and Anthony Dohan, MD, BSc[1,12,13,16]

**Purpose:** To assess whether apparent diffusion coefficient (ADC) values at 1 and 3 months after radiofrequency ablation (RFA) may be associated with a favorable response to therapy for hepatocellular carcinoma (HCC) and liver metastases.
**Materials and Methods:** Fifty-nine patients with HCC ($n = 35$) or liver metastases ($n = 24$) who underwent 1.5T diffusion-weighted magnetic resonance imaging (DWMRI) at 1 and 3 months post-RFA were included. ADC values of patients with local tumor recurrence were compared to those without local recurrence. A subgroup analysis was performed for HCC and metastases.
**Results:** Thirty-eight HCC and 27 metastases were evaluated. The ADC value of HCC at 1 month after RFA was lower in recurrent tumors ($0.957 \pm 0.229$ [SD] $\times 10^{-3}$mm$^2$) compared to tumors with complete response ($1.414 \pm 0.322$ [SD] $\times 10^{-3}$ mm$^2$/s, $P = 0.006$). At multivariate analysis, ADC at 1 month was the single independent variable associated with recurrence for HCC (area under the receiver operating characteristic curve = 0.860). No significant association was observed for liver metastases ($P = 0.089$).
**Conclusion:** A low ADC value at 1 month after RFA is associated with an early local recurrence of HCC. This study does not confirm that such association exists for hepatic metastases.
**Level of Evidence:** 3
**Technical Efficacy:** Stage 2

J. MAGN. RESON. IMAGING 2017;45:1648–1658

Primary liver cancer represents the 5th most common cancer in men and the 9th in women, with 800,000 new cases per year worldwide.[1] Secondary liver cancers are 40 times more frequent than primary ones. The most frequent primary sites for these metastases are colorectal carcinomas (CRC), breast cancers, melanomas, and less frequently lymphomas and sarcomas.[2]

The current standard treatment for primary and secondary liver cancers remains surgical resection and liver transplantation for HCC with cirrhosis.[3] However, surgery

View this article online at wileyonlinelibrary.com. DOI: 10.1002/jmri.25521

Received Jul 21, 2016, Accepted for publication Oct 5, 2016.

*Address reprint requests to: M.B., Department of Body and Interventional Imaging, Hôpital Lariboisière, AP-HP, 2 rue Ambroise Paré, 75010 Paris, France. E-mail: maxime.barat89@gmail.com

From the [1]Department of Body and Interventional Imaging, Hôpital Lariboisière, Paris, France; [2]CNRS, UMR 6301-ISTCT, CERVOxy, GIP CYCERON, Caen, France; [3]CEA, DSV/I2BM, UMR6301-ISTCT, Caen, France; [4]Normandie Université, France; [5]UNICAEN, UMR6301-ISTCT, Caen, France; [6]CHU de CAEN, Service d'Imagerie Diagnostique et de Radiologie Thérapeutique, Caen, France; [7]Department of Diagnostic and Interventional Imaging, Hôpital Haut-Lévêque, Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux, Pessac, France; [8]INSERM U1053, Université Bordeaux, Bordeaux, France; [9]INSERM-UMRS 1138 Team 22, Cordeliers Research Center, Paris, France; [10]Paris Descartes University, Paris, France; [11]Department of Medical Informatics and Public Health, European George Pompidou Hospital, Paris, France; [12]Université Paris-Diderot, Sorbonne-Paris Cité, Paris, France; [13]UMR CART - INSERM 965, Hôpital Lariboisière, Paris, France; [14]Department of Digestive Surgery, Hôpital Lariboisière, Paris, France; [15]Department of Radiology and Translational and Molecular Imaging Institute, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, New York, USA; and [16]McGill University Health Center, Department of Radiology, McGill University Health Center, Montreal, QC, Canada

Additional supporting information may be found in the online version of this article

 © 2016 International Society for Magnetic Resonance in Medicine

**TABLE 1. Characteristics of 59 Patients Who Had Radiofrequency Ablation of 65 Malignant Liver Tumors**

| | |
|---|---|
| Patients ($n = 59$) | |
| Age (years) | 66.1 ± 10.1 (SD) [34.5–87.4] |
| Sex ratio (M/F) | 25/34 |
| Tumors ($n = 65$) | |
| Tumors per patient | 1.1 ± 0.2 (SD) [1–2] |
| Tumor location (RL/LL) | 50/15 |
| Tumor type | |
| Hepatocellular carcinoma | 38 (38/65; 58.5%) |
| Liver metastasis Colorectal cancer metastasis | 27 (27/65; 41.5%)<br>19 (19/65; 29.2%) |
| Metastasis of other origins | 8 (8/65; 12.3%) |

SD = standard deviation; RL/LL = right liver/left liver. Numbers in brackets are ranges.

is not always feasible because of bilateral or diffuse involvement, or impaired clinical status of the patient. For these reasons, only 5–15% of patients with HCC are ultimately actual candidates for surgery.[3]

The use of radiofrequency ablation (RFA) for the treatment of malignant hepatic tumors was first reported in 1990.[4,5] RFA is a percutaneous treatment that results in less morbidity than surgery.[6,7] In addition, the overall survival rate after RFA is equivalent to that of surgery for patients with liver metastases from CRC.[8,9] This is not necessarily true for HCC.[10] Limitations to the use of RFA are tumor size and specific locations that make the procedure ineffective or associated with higher morbidity.[5]

Magnetic resonance imaging (MRI) is an effective technique for the detection and characterization of focal liver lesions.[11–13] Diffusion-weighted imaging (DWI) has shown promising results with regard to tissue characterization in various organs.[14–16] Recent studies found a correlation between the histological types of HCC and the apparent diffusion coefficient (ADC) value on DWI.[17] It has been also demonstrated that baseline ADC value of HCC before treatment is strongly associated with the risk of local recurrence and survival after RFA.[18] Other studies have also suggested that the ADC value can be used to monitor treatment response of liver metastases.[19–21] Another study investigated the variations in ADC values of malignant hepatic tumors that have a favorable response to RFA.[22] In brain tumors, the ADC value of tumors after radiotherapy has been investigated as an early biomarker of response treatment.[23]

It is assumed that treatment-induced necrosis would increase membranes permeability and free diffusion of water molecules, resulting in an increased ADC value.[24,25] Early monitoring following RFA with MRI morphological criteria may be challenging because of possible residual peripheral enhancement of the RFA zone and increased signal on $T_1$-weighted images secondary to coagulation necrosis.[22] However, nodular enhancement and hyperintensity on $T_2$-weighted images are known to be related to active tumor.[22] In this regard, one study found than signal alteration on an ADC map using DWI may discriminate between local tumor recurrence and nontumor tissue changes 1 month after RFA.[26]

The goal of this study was to assess whether the ADC value at 1 and 3 months after RFA may be associated with a favorable response to therapy of HCC and liver metastases.

## Materials and Methods

### *Patients*

The Institutional Review Board approved our study protocol and informed consent was waived. This retrospective study was conducted from January 2007 to July 2014 in two centers performing RFA with the same technique and the same follow-up protocol. Decisions for RFA were made during multidisciplinary meetings. Patients were eligible for inclusion into the study when they met the following inclusion criteria: 1) patient was older than 18-years-old; 2) patient had HCC or liver metastases treated with RFA with the largest dimension between 10 and 55 mm; 3) follow-up data were available for outcome classification; 4) MRI examination including DWI was performed during the follow-up at 1 and 3 months after RFA; 5) no radiological recurrence was observed at 1 and 3 months after RFA on MRI, as assessed by the study coordinator (A.D.). When the study coordinator suspected an unsuccessful treatment or an early recurrence at 1 or 3 months posttreatment, the patient was not included. This was considered when there was a nodular peripheral lesion or a part of the lesion with the initial tumor signal characteristics such as hyperintensity on $T_2$-weighted images or enhancement after intravenous administration of a gadolinium chelate; when the RFA zone diameter was less than the initial lesion; and when the RFA zone was outside the lesion. The study coordinator had access to all follow-up imaging examinations and the entire medical records and was not involved in image analysis. The minimal follow-up available for inclusion was 12 months. When available, pre-RFA MRI of patients with HCC was analyzed and the ADC value of HCC was measured. Child-Pugh scores were collected for patients with HCC. Pathological examination with estimation of tumor differentiation was only available in 15 patients and not included in the analysis. Patient who had clear recurrence, visible on morphological sequences at 1 or 3 months were not included because the aim of our study was to evaluate the added value of DWI (Supplemental Fig. 1).

Patient characteristics are reported in Table 1. Sixty-nine patients were treated. Ten patients were excluded: five had no MRI at 1 or 3 months available, two had DWI examinations considered not suitable for ADC measurement because of artifacts and were excluded, and three patients were lost to follow-up before 1 year

follow up (Supplemental Fig. 1). A total of 59 patients with a total of 65 malignant liver tumors were ultimately included. There were 25 men and 34 women with a mean age of 66 ± 8 (standard deviation [SD]) years (range: 34–87 years).

### RFA Procedure

All RFA procedures were performed under general anesthesia using ultrasonographic guidance by a panel of four interventional radiologists with more than 5 years of experience each in percutaneous RFA. RFA was achieved with a generator delivering an output frequency of 460 kHz (RF3000; Boston Scientific, Natick, MA) using the LeVeen Superslim 16-G electrode (Boston Scientific), which is a monopolar array needle electrode. The LeVeen needle electrode contained 10 individual hook-shaped electrode arms that were deployed within the target after optimal placement into the center of the tumor. Optimal placement allowed complete destruction of tumor and at least a 10-mm zone of normal adjacent hepatic parenchyma. RFA was performed following a protocol published previously.[27]

### MRI Protocol

In both institutions, follow-up MRI was systematically scheduled at 1 month, 3 months, and 6 months after the RFA and then every 6 months. All MR examinations in the two centers were performed with the same protocol using the same 1.5T clinical MR system (Magnetom Avanto, Siemens Healthcare, Erlangen, Germany) with 18 receiver channels, using one anterior torso phased-array coil with 6 channels and two posterior spine clusters with 3 channels each. The gradient strength of the magnet was 45 mT/m with a maximal gradient slope of 200 mT/m.

In the two centers, all patients had DWI of the abdomen using 3 b values (b = 50, 600, and 1000 s/mm$^2$), fat-suppressed $T_2$-weighted turbo spin echo sequences and 3D volumetric interpolated breath-hold (3D VIBE) gradient-echo MR images before and 25, 60, 120 seconds and 3 minutes after intravenous administration of 0.2 mL/kg of a gadolinium chelate (Gadoterate meglumine, Dotarem, Guerbet, Bloomington, IN).

DWI was performed for all patients using a respiratory-triggered, fat-suppressed, single-shot echo-planar sequence in the transverse plane. Parallel imaging with generalized autocalibrating partially parallel acquisition (GRAPPA) was used with an acceleration factor of 2 and 16 calibration lines. Fat suppression was obtained with a frequency-selective fat saturation to reduce chemical shift artifacts. The other parameters were as follows: repetition time (TR) / echo time (TE), one respiratory cycle/91 msec; echo spacing, 0.83 msec; reconstruction matrix size, 144 × 192; section thickness, 5 mm; intersection gap, 0.5 mm; voxel size, 2.1 × 2.0 × 5.0 mm$^3$; field of view 340–400 mm; number of signal averages, four; echo planar factor, 182; receiver bandwidth, 1302 Hz/pixel; 35 axial partitions acquired. The acquisition time depended on the patient respiratory cycle duration and was ∼4 minutes 20 seconds.

### Image Analysis

For this retrospective study, each set of MR images of individual patients of the two centers including DWI and ADC maps were reviewed, in a random manner using a picture archiving and communication system (PACS) workstation (DirectView, v. 11.3, Carestream Health, Rochester, NY) by two abdominal radiologists (Ma. B., Mo. B.) (with 2 and 15 years of experience in body MRI). The two observers selected index treated lesions in consensus and evaluated the quality of DWI examinations to exclude examinations not suitable for ADC measurement because of artifacts. Then they independently measured mean ADC values using an elliptical region of interest (ROI) in index lesions at baseline and RFA zone during follow-up. The DWI sequence was analyzed independently from the other sequences by the two observers blinded to tumor status. When scar tissue was not clearly visible on DWI, images were superimposed with dynamic contrast-enhanced $T_1$-weighted and ROIs were copied and pasted on the ADC map. Tumors were categorized as being located in the left or right hepatic lobes. RFA scars were identified using follow-up MR images, tumor locations in pretreatment MRI and per-procedure images (ultrasound or computed tomography [CT]). For each ablation zone, ROIs were manually drawn on an individual area on a single slice that showed the largest ablation zone dimension on the b = 50 image and automatically copied and pasted into the coregistered ADC map. The ADC values of each zone were calculated using a monoexponential fitting algorithm using the 3 b-values (0, 600, and 1000 s/mm$^2$) (Siemens, Leonardo BV15 software version, Siemens Healthcare). An ROI as large as possible was drawn manually by each observer, excluding the edges of the area, to minimize the influence of the peripheral normal parenchyma on ADC measurement. The mean ADC of the nonaffected liver parenchyma was also measured using ROIs with a size similar to that of the corresponding tumor, in the right hepatic lobe, away from large vessels. A total of two ROIs were drawn for each lesion on each MRI examination (total of six per patient): one in the treated tumor or the scar and one in the nonaffected liver parenchyma (Supplemental Fig. 1). Mean ADC ($\times 10^{-3}$ mm$^2$/s), SD ADC and area of ROI (in mm$^2$) were recorded. Sizes of initials lesions and scars at different times were measured.

### Patient Classification

The 65 tumors were classified into two groups. Group 1 corresponded to tumors that showed local recurrence at 1 year and Group 2, tumors that showed persistent complete response at 1-year follow-up. Local recurrence was proven histopathologically or, when pathological proof was not available, assessed by the main investigator (A.D., radiologist with 8 years of experience in body MR) using classical morphological criteria as the growth of treated tumors on two successive MRI examinations or internal changes in the treated tumor (ie, hyperintensity on $T_2$-weighted images and/or presence of nodular enhancement inside the RFA zone).[28] Recurrence was confirmed either histopathologically after percutaneous biopsy (nine tumors) or by follow-up examinations when biopsy was not performed (six tumors). The absence of recurrence was determined by the main investigator of the study who had access to all medical records, and the whole follow-up data. It was defined as the lack of tumor growth, persistent complete tumor necrosis, persistence of fibrosis in the RFA zone, and no new sign suggestive of recurrence on the last follow-up (at least 1 year). Patients with suspected incomplete treatment and clear persisting tumor on the first follow-up examination were not included in this study by the main investigator.

**TABLE 2. Interobserver Agreement for ADC Measurement Between Two Independent Readers**

| | Mean difference | 95% limits of agreement | ICC (95% CI) |
|---|---|---|---|
| ADC value ($x10^{-3}$ $mm^2/s$) Baseline lesion ADC | $0.006 \pm 0.094$ | $-0.178$ to 0.190 | 0.870 (0.776–0.926) |
| 1 month post-RFA ADC | $-0.013 \pm 0.072$ | $-0.154$ to 0.129 | 0.950 (0.916–0.971) |
| 3 months post-RFA ADC | $-0.013 \pm 0.059$ | $-0.129$ to 0.103 | 0.932 (0.887–0.959) |

ADC = apparent diffusion coefficient; RFA = radiofrequency ablation; ICC = intraclass correlation coefficient (ICC = 1.0–0.81 indicates excellent agreement; 0.80–0.61 good; 0.60–0.41 moderate; 0.40–0.21 fair and 0.20–0.00 poor agreement). ADC is expressed in $\times 10^{-3}$ $mm^2/s$.

### *Statistical Analysis*

Statistical analysis was performed using the SPSS software v. 20.0.02 (IBM, Armonk, NY) and GraphPad Prism 5.03 (GraphPad Software, La Jolla, CA). Analyses were done on a per-lesion basis. For interobserver agreement, the mean difference, 95% limits of agreement, and the intraclass correlation coefficient (ICC) using the two-way random single measures method were calculated. Bland–Altman plots were used to determine whether the difference was influenced by the magnitude of the measurements.[29] Except for interobserver agreement, all statistics were performed on the results of the most experienced radiologist. Quantitative variables were compared with nonparametric Mann–Whitney test and qualitative variables with Fisher's exact test. The main variable was ADC values at 1 and 3 months after RFA in patients with local recurrence (Group 1) and those obtained in patients without local recurrence (Group 2). A receiver operating characteristics (ROC) curve was built and a cutoff value was calculated to discriminate between tumors with local recurrence and those without local recurrence. The areas under curves (AUCs) were calculated. Sensitivity and specificity obtained with this cutoff ADC value were calculated. At 1 month and 3 months, the cutoff values were calculated to maximize the sum sensitivity + specificity and for keeping a high specificity. A subgroup analysis was further performed for HCC, all liver metastases, and liver metastases from CRC using ROC curves.

To identify factors associated with recurrence in HCC, the relationships between each variable and patient outcome were tested using univariate analysis. Univariate logistic regression analysis was performed to calculate the odds ratios (ORs) and corresponding 95% confidence intervals. Variables with $P < 0.20$ at univariate analysis were entered into multivariate binary logistic regression analysis to search for independent factors predictive of outcomes. A stepwise procedure was used for model selection with entry and retention levels of 0.05 significance.

## Results

The malignant hepatic tumors were HCC (38 tumors in 35 patients) and metastases (27 metastases in 24 patients). HCC occurred in 22 patients with liver cirrhosis and in 13 patients without liver cirrhosis who were infected with chronic hepatitis B. Liver metastases originated from CRC (19 metastases in 18 patients), breast cancer (one metastasis in one patient), gastrointestinal neuroendocrine tumor (three metastases in two patients), leiomyosarcoma (three metastases in two patients), and endometrial carcinoma (one metastasis in one patient). Pretreatment MRI including DWI was available for 20/59 patients (34%).

Pretreatment tumor diameter was $22 \pm 7$ (SD) mm (range: 10–52 mm), $22 \pm 9$ (SD) mm (range: 10–52 mm) for HCC and $22 \pm 5$ (SD) mm (range: 10–32 mm) for metastases ($P = 0.34$). Fifty tumors (77%) were located in the right hepatic lobe and 15 (23%) in the left hepatic lobe. Fifteen tumors in 15 patients showed local recurrence after RFA. ROI sizes were similar in the two groups ($236 \pm 142$ [SD] vs. $215 \pm 113$ [SD] $mm^2$; $P = 0.25$). Local recurrence was histopathologically confirmed in 9/15 tumors (60%) or by tumor growth on follow-up imaging examinations in 6/15 tumors (40%). In the group with local recurrence, the mean time to progression was 11.6 months $\pm$ 2.7 (SD) (range: 6.9–16.3 months). The mean follow-up time was 23.4 months $\pm$ 9.4 (SD) (range: 12.1–152.3 months). The mean time to progression was 15.9 months $\pm$ 4.3 (SD) (range: 7.6–25.5 months). Eight patients died during the follow-up.

RFA scar was well-defined on the ADC map in 13/15 patients (87%) in Group 1 and in 40/44 (91%) in Group 2. For the remaining patients ROIs were superimposed with dynamic contrast-enhanced $T_1$-weighted images and manually adjusted according to all sequences available including pretreatment MRI.

ADC measurements demonstrated excellent interobserver reproducibility (Table 2). The ICC for baseline, 1 month, and 3 months ADC value measurement was excellent (range: 0.972–0.998). Bland–Altman plots showed narrow 95% limits of agreement and almost all differences situated around 0 (Supplemental Fig. 2).

No differences between the two groups of patients (local recurrence vs. no local recurrence) were found for age ($P = 0.59$), number of tumors per patient ($P = 0.50$), tumor location ($P = 0.95$), and nature of tumors (HCC vs. metastases) ($P = 0.93$). The mean follow-up duration was 26.2 months $\pm$ 7.1 (SD) (range: 12–48.5 months) in Group 1 and 21.8 months $\pm$ 9.7 (SD) (range: 12–60.9 months) in

**TABLE 3. Characteristics of 65 Malignant Liver Tumors on MRI**

| | Recurrence ($n = 15$) | No recurrence ($n = 50$) | $P$ |
|---|---|---|---|
| Gender (M/F) | 8/7 | 17/33 | 0.030[b] |
| Age (years) | 65 ± 9 (SD) [50-87] | 66 ± 8 (SD) [34-87.0] | 0.590[a] |
| Number of tumors | 15 | 50 | |
| Tumor location | | | |
| Right liver | 11 (73%) | 39 (78%) | 0.950[b] |
| Left liver | 4(27%) | 11 (22%) | |
| Tumor type | | | |
| HCC | 8 (53%) | 30 (60%) | 0.930[b] |
| CRC | 5 (33%) | 14 (28%) | |
| Other metastasis | 2 (14%) | 6 (12%) | |
| Child-Pugh score (HCC) | 5.3 ± 0.9 (SD) [5-10] | 5.9 ± 1.5 (SD) [5-10] | 0.042* |
| Follow-up (month) | 26.2 ± 7.1 (SD) [12-48.5] | 21.8 ± 9.7 (SD) [12-60.9] | 0.003[a] |
| MRI at 1 month | | | |
| ROI ($mm^2$) | 205 ± 52 (SD) [52-309] | 250 ± 85 (SD) [72-625] | 0.250[a] |
| ADC normal liver | 0.958 ± 0.216 (SD) [0.538-1.320] | 1.071 ± 0.277 (SD) [0.256-0.625] | 0.180[a] |
| SNR | 11.5 ± 7.8 (SD) [3.1- 4.6] | 17.0 ± 11.6 (SD) [5.3-71.2] | 0.080[a] |
| MRI at 3 months | | | |
| ROI ($mm^2$) | 205 ± 52 (SD) [94-405] | 250 ± 85 (SD) [72-625] | 0.250[a] |
| ADC normal liver | 1.075 ± 0.271 (SD) [0.533-1.890] | 1.096 ± 0.246 (SD) [0.105-1.890] | 0.390* |
| SNR | 16.9 ± 14.8 (SD) [3.4-98.2] | 18.9 ± 11.1 (SD) [1.5-54.2] | 0.120* |

SNR = signal-to-noise ratio; HCC = hepatocellular carcinoma; ADC = apparent diffusion coefficient; ROI = region of interest. ADC is expressed in $10^{-3}mm^2/s$. Numbers in brackets are ranges.
[a]Mann-Whitney $U$ test.
[b]Khi-2 test.

Group 2 ($P = 0.003$) (Table 3). ADC values of liver tumors at 1 month post-RFA were significantly lower in Group 1 ($1.061 \pm 0.270$ [SD] $\times 10^{-3}mm^2/s$; range: 0.486–1.638 $\times 10^{-3}mm^2/s$) than in Group 2 ($1.357 \pm 0.273$ [SD] $\times 10^{-3}mm^2/s$; range: 0.739–2.373 $\times 10^{-3}$ $mm^2/s$) ($P = 0.010$). ADC values of liver tumors at 3 months post-RFA were significantly lower in Group 1 ($1.122 \pm 0.204 \times 10^{-3}$ $mm^2/s$; range: 0.682–1.571 $\times 10^{-3}$ $mm^2/s$) than in Group 2 ($1.376 \pm 0.266 \times 10^{-3}mm^2/s$; range: 0.656–2.412 $\times 10^{-3}mm^2/s$) ($P = 0.005$) (Table 4).

Table 4 shows the results of subgroup analysis regarding tumor type. For HCC, the ADC value at 1 and 3 months after RFA was significantly lower in Group 1 than in Group 2 ($P = 0.006$ and $P = 0.008$, respectively) (Supplemental Fig. 3). For all metastases including CRC and non-CRC metastases, no differences in the ADC value between Group 1 and Group 2 were found at 1 and 3 months after RFA ($P = 0.393$ and $P = 0.089$, respectively) (Figs. (1 and 2)). Considering CRC metastases, no differences in ADC value between Group 1 and Group 2 were found at 1 and 3 months after RFA ($P = 0.850$ and $P = 0.660$, respectively).

The ROC curve constructed for HCC at 1 month after RFA showed an AUC of 0.860. A cutoff ADC value of $1.145 \times 10^{-3}mm^2/s$ yielded a sensitivity of 83.3% and a specificity of 82.1% for the prediction of local recurrent disease. The ROC curve constructed for HCC at 3 months after RFA had an AUC of 0.820. A cutoff ADC value of $1.195 \times 10^{-3}mm^2/s$ yielded a sensitivity of 75.0% and a specificity of 82.6% for the diagnosis of local recurrent disease (Fig. 3). For this cutoff, the value of the false-positive rate for detection of recurrence was 0.18.

Regarding HCC, among the 51 tumors treated, 30/51 (58%) had pre-RFA MRI available: 5 in Group 1 and 25 in Group 2. No differences were found between the ADC in the two groups ($1.340 \pm 0.177$ [SD] $\times 10^{-3}mm^2/s$ in Group 1 vs. $1.155 \pm 0.216$ [SD] $\times 10^{-3}mm^2/s$ in Group 2) ($P = 0.104$). The results of the univariate analysis for comparison of the predictive variables (age, gender, lesion size, Child–Pugh score, ADC values at 1 and 3 months)

**TABLE 4. ADC Values of Liver Tumors After Radiofrequency Ablation and Subgroup Analysis for HCC and CRC in Patient With or Without Recurrence at 1 and 3 Months**

| | Group 1 (recurrence) | Group 2 (no recurrence) | *P* |
|---|---|---|---|
| Liver tumors: | $n = 15$ | $n = 50$ | |
| M1 | | | |
| Mean ± SD | 1.061 ± 0.270 | 1.357 ± 0.273 | **0.010**[a] |
| Range | 0.486-1.638 | 0.739 -2.373 | |
| Q1-Q3 | 0.831 – 1.300 | 1.167 – 1.608 | |
| Median | 1.093 | 1.290 | |
| M3 | | | |
| Mean ± SD | 1.122 ± 0.204 | 1.376 ± 0.266 | **0.005**[a] |
| Range | 0.682 - 1.571 | 0.656 -2.412 | |
| Q1-Q3 | 0.970 - 1.269 | 1.161 – 1.610 | |
| Median | 1.093 | 1.319 | |
| HCC: | $n = 8$ | $n = 30$ | |
| M1 | | | |
| Mean ± SD | 0.957 ± 0.229 | 1.414 ± 0.322 | **0.006*** |
| Range | 0.486-1.475 | 0.980-2.373 | |
| Q1-Q3 | 0.745 – 1.208 | 1.182 – 1.608 | |
| Median | 0.918 | 1.356 | |
| M3 | | | |
| Mean ± SD | 1.148 ± 0.269 | 1.438 ± 0.226 | **0.008*** |
| Range | 0.746 -1.371 | 1.029 - 1871 | |
| Q1-Q3 | 0.966 - 1.402 | 1.233 – 1.613 | |
| Median | 1.096 | 1.485 | |
| CRC: | $n = 5$ | $n = 14$ | |
| M1 | | | |
| Mean ± SD | 1.318 ± 0.128 | 1.323 ± 0.280 | 0.850* |
| Range | 1.161-1.638 | 0.739-1.795 | |
| Q1-Q3 | 1.186-1.305 | 1.176-1.790 | |
| Median | 1.300 | 1.639 | |
| M3 | | | |
| Mean ± SD | 1.161 ± 0.157 | 1.370 ± 0.349 | 0.660* |
| Range | 1.018-1.556 | 0.813-2.412 | |
| Q1-Q3 | 1.033- 1.364 | 1.132 – 1.596 | |
| Median | 1.093 | 1.165 | |
| All metastases: | $n = 7$ | $n = 20$ | |
| M1 | | | |
| Mean ± SD | 1.150 ± 0.239 | 1.268 ± 0.317 | 0.393* |
| Range | 0.645-1.638 | 0.739-1.795 | |

**TABLE 4: Continued**

| | Group 1 (recurrence) | Group 2 (no recurrence) | *P* |
|---|---|---|---|
| Q1-Q3 | 0.989-1.302 | 0.897- 1.665 | |
| Median | 1.186 | 1.208 | |
| M3 | | | |
| Mean ± SD | 1.056 ± 0.168 | 1.303 ± 0.318 | 0.089* |
| Range | 0.682-1.556 | 0.656-2.412 | |
| Q1-Q3 | 0.962- 1.101 | 1.090 – 1.550 | |
| Median | 1.033 | 1.205 | |

HCC = hepatocellular carcinoma; CRC = colorectal cancer. ADC values are expressed in $10^{-3}mm^2/s$.
[a]Nonparametric Mann-Whitney *U* test; M1: one month, M3: three months.

with recurrence status are reported in Table 5. On univariate analysis with binary logistic regression, Child–Pugh score >5, lesion size >26 mm, ADC at 1 month $<1.145 \times 10^{-3}mm^2$ and ADC at 3 months $<1.195 \times 10^{-3}mm^2$ were predictors of recurrence (Table 5). Multivariate analysis showed that 1 month ADC (OR, 29.9; 95% Wald confidence interval, 1.3–680.7) was the single independent predictor of HCC recurrence ($P = 0.005$).

## Discussion

In our study we found that ADC value of HCC at 1 and 3 months after RFA is lower in patients who will develop subsequent local recurrence by comparison with patients who will not develop local recurrent disease during the first year following RFA. The results of our study suggest that ADC values might be used as an early predictor of local recurrence in patients with HCC treated with RFA. However, we

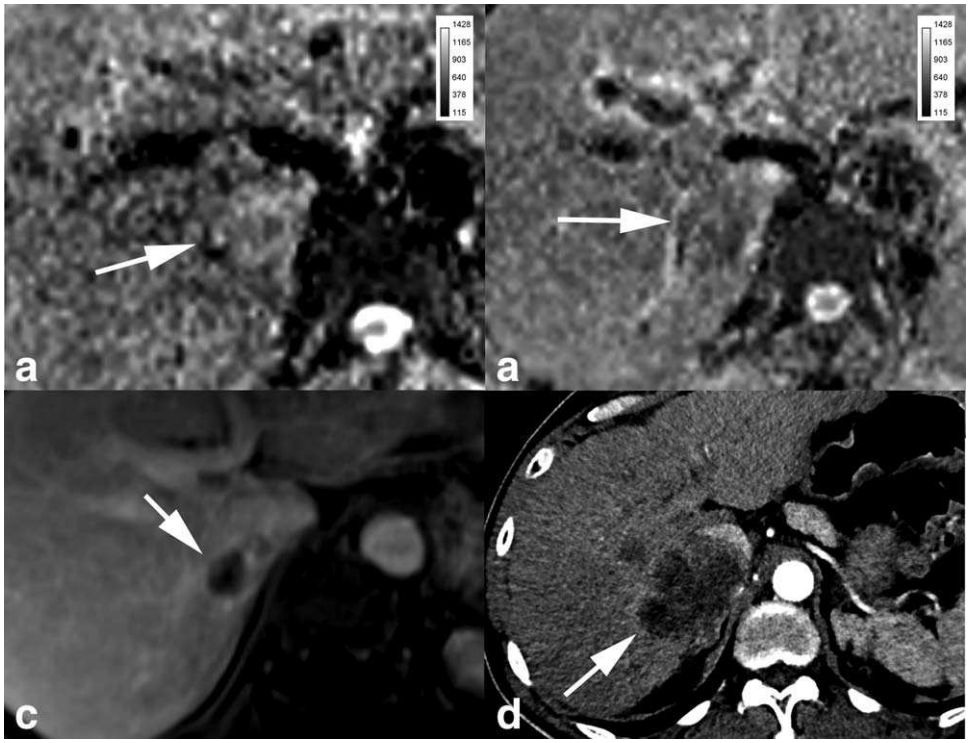



**FIGURE 1: A 62-year-old man with hepatocellular carcinoma of segment VII treated by RFA and local recurrence of the disease diagnosed 18 months after RFA. A: ADC map obtained 1 month after RFA shows mean ADC value of 0.960 × $10^{-3}$ $mm^2/s$ (arrow). B: ADC map 3 months after RFA shows a mean ADC value of 0.740 × $10^{-3}$ $mm^2/s$ (arrow). C: Dynamic $T_1$-weighted MR image in the transverse plane obtained during the portal venous phase following intravenous administration of a gadolinium chelate 3 months after RFA shows no evidence for recurrence in the scar tissue (arrow). D: Eighteen months after RFA, computed tomography image in the transverse plane obtained during the arterial dominant phase following intravenous administration of iodinated contrast material shows tumor enlargement with heterogeneous enhancement (arrow). Local recurrence was histopathologically confirmed.**

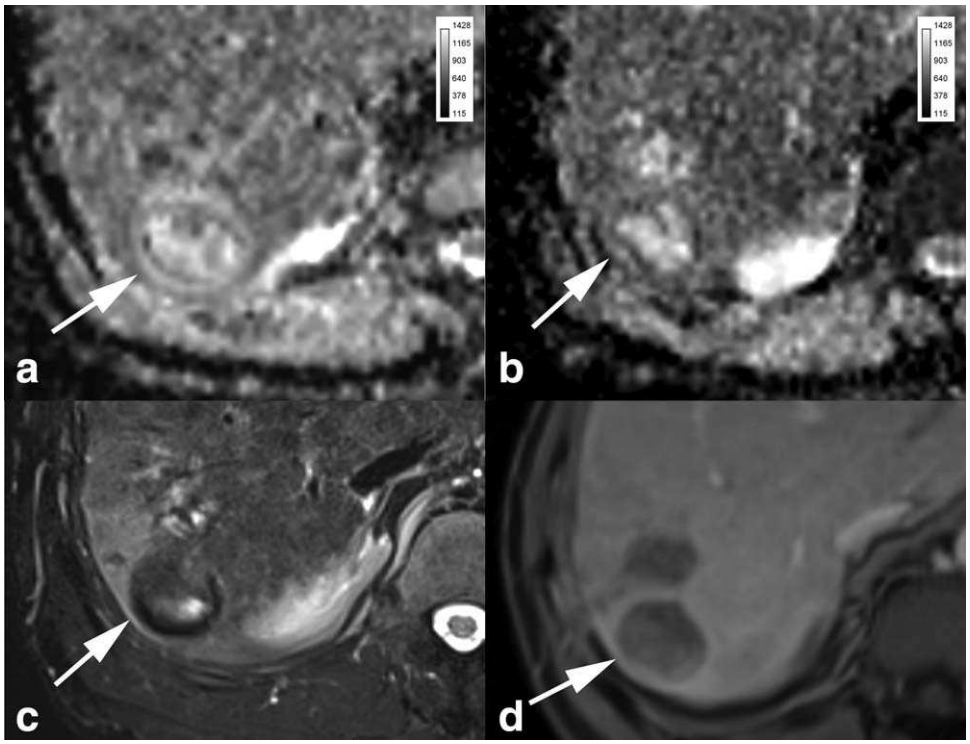



**FIGURE 2: A 57-year-old man with two lesions of HCC that were treated using RFA. The patient did not develop local recurrent disease during a follow-up period of 3 years. A: ADC map obtained 1 month after RFA shows mean ADC value of 1.367 × $10^{-3}$ $mm^2/s$ (arrow). B: ADC map obtained 3 months after RFA shows mean ADC value of 1.358 × $10^{-3}$ $mm^2/s$ (arrow). C: Twelve months after RFA, $T_2$-weighted MR image in the transverse plane shows no change in tumor size (arrow). D: Twelve months after RFA, dynamic $T_1$-weighted MR image in the transverse plane obtained during the arterial dominant phase following intravenous administration of a gadolinium chelate shows no change in tumor size and no visible enhancement (arrow).**

found that such prediction with ADC value cannot be made for hepatic metastases.

Considering these preliminary results, our study suggests that patients with a mean ADC value $<1.145 \times 10^{-3}mm^2$ on MRI at 1 month after RFA for HCC should have close clinical, biological, and MRI follow-up. Biopsies and retreatment should be proposed early to these patients with a high risk of early local recurrence. In the future, low ADC will most likely become an additional argument for close follow-up and repeat biopsy and retreatment if imaging features change.[30]

The evolution of the signal intensity of hepatic tumors after RFA is related to the presence of coagulation necrosis and hemorrhage, which is responsible for increased signal intensity on $T_1$- and $T_2$-weighted images up to 12 weeks after RFA.[31] Consequently, the post-RFA scar has no specific presentation on morphologic MR images with regard to the presence or absence of persistent or local recurring disease.

It is well understood that the majority of local recurrences of malignant hepatic tumors more likely appears during the first year following RFA.[32] Therefore, the search of local recurrence should be made as soon as possible. Unfortunately, the detection of local hepatic tumor recurrence remains challenging. In this regard, the washout pattern, which is traditionally used to detect local recurrence of HCC after RFA is present in only 12% of treated lesions 4 months after RFA without being a predictive variable of local recurrence.[33] Moreover, no significant differences exist in terms of degree of contrast enhancement on dynamic MR images obtained after intravenous administration of gadolinium chelate between tumors with local recurrence and those without local recurrence, which is surprising.[33] Finally, the presence of post-RFA inflammatory granulomatous changes may mimic local recurrence, thus generating false-positive findings during the post-RFA follow-up.[34] For all these reasons, accurate depiction of tumor local recurrence after RFA remains challenging. Consequently, there is a need for developing new tools that bring more specific findings or that would suggest local recurrence before it becomes visible. Of note, in our study, all included patients had no visible local recurrence on standard MR sequences, including morphological and dynamic sequences.

Contrast-enhanced ultrasound has also been investigated in the early detection of residual tumors after bipolar RFA for primary or secondary liver malignant tumors, with 87% sensitivity for the detection of incomplete treatment.[35] Positron emission tomography magnetic resonance imaging (PET-MRI) is still under evaluation to detect progressive disease after RFA, with encouraging results.[36] However, this technique is not yet routinely available.

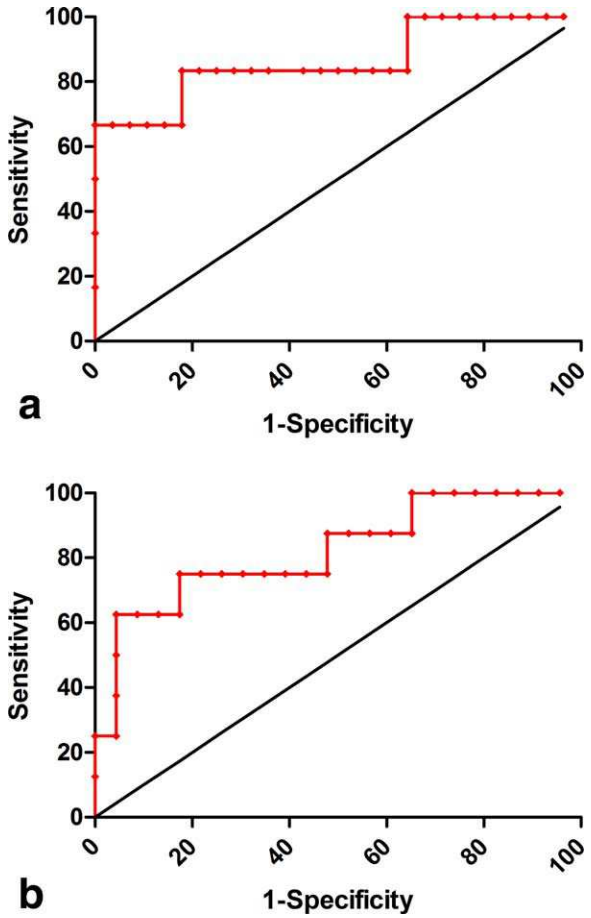



**FIGURE 3: A: Graph shows ROC curves for ADC values of malignant hepatic tumors 1 month after radiofrequency ablation in differentiating between patients with local recurrent disease and those without local recurrence. The area under the curve is 0.860. ADC value of 1.145 × $10^{-3}$ $mm^2$/s yielded a sensitivity of 83.3% and a specificity of 82.1% for the diagnosis of local recurrent disease. B: Graph shows ROC curves for ADC values of malignant hepatic tumors 3 months after RFA in differentiating between patients with local recurrent disease and those without local recurrence. The area under the curve is 0.820. ADC value of 1.195 × $10^{-3}$ $mm^2$/s yielded a sensitivity of 75.0% and a specificity of 82.6% for the diagnosis of local recurrent disease.**

The use of ADC has been investigated and has shown promising results in the early management of malignant liver diseases. Lu et al found that ADC values after RFA of hepatic malignant tumors that are successfully treated have a uniform pattern of variations during the first year following RFA.[22] Deckers et al found that absolute and normalized ADC values after systemic chemotherapy were greater in hepatic tumors that responded favorably than in those that did not 2 and 4 weeks after initiating the treatment.[19] Similar results were found in cervical cancer and nasopharyngeal carcinoma.[37,38]

In our study ADC values of hepatic tumors were calculated with ROIs encompassing the whole tumor, including necrosis areas according to Lu et al.[23] ADC differences between responding and nonresponding tumors may be related to the quality of RFA procedure itself and the intensity of hemorrhage in the treated area, which may increase the ADC value of the area.[39] Studies about glioblastomas treated by chemoradiation therapy have demonstrated that the early evolution of the ADC is significantly different in patients with local recurrence by comparison with those without local recurrence, because of marked differences in extracellular water content and a different reorganization of the tumor structure after therapy.[23]

In our study we observed that the 1-month ADC value is associated with local recurrence of HCC in patients treated with RFA. However, we found that such prediction cannot be made for hepatic metastases. One possible reason is that the sample size of the group of patients with hepatic CRC metastases was too small to show a difference. Another possible reason is that patients with metastases had various primary tumors, so that this heterogeneity in terms of nature would have generated confounding factors. Interestingly, Lu et al found that metastases ADC may show an "up-and-down" evolution after RFA ablation that could disturb the analysis, and optimal time for follow-up may be different than HCC.[22] Further studies with more case materials should be undertaken to individualize histological subgroups of hepatic metastases for which ADC could be used as an early predictor of local recurrence.

Mori et al have shown that baseline ADC value correlates with effectiveness of RFA for HCC.[18] Consistent results were reported by Hoffmann et al.[40] However, we did not find any difference in baseline ADC in HCC that had recurrence and those that did not. This result suggests that post-RFA ADC is not only correlated to baseline ADC, and that it is not only HCC with the lowest baseline HCC and the most aggressiveness which had recurrence. Moreover, the multivariate analysis included the Child–Pugh score, which is known to be a bad prognosis factor in HCC, and we

**TABLE 5. Results of Univariate Analysis With a Binary Logistic Regression Model for HCC**

| Variable | OR (95% CI) | *P* |
|---|---|---|
| Age > 65 years old | 1.59 [0.35-7.15] | 0.53 |
| Gender = male | 0.69 [0.16-2.92] | 0.59 |
| Lesion size > 26 mm | 5.71 [1.09-30.07] | **0.040** |
| Child Pugh score > 5 | 4.43 [1.00-19.58] | **0.025** |
| ADC value < 1.15 × $10^{-3}$$mm^2$/s at 1 month | 27.60 [2.69-282.95] | **0.003** |
| ADC value < 1.20 × $10^{-3}$$mm^2$/s at 3 months | 11.40 [1.74-75.65] | **0.008** |

AUC = area under the curve; CI = confidence interval; OR = odds ratio.

showed that 1-month post-RFA ADC was independently associated with recurrence with high OR. Hoffmann et al also found that DWI immediately after RFA showed a hyperintense rim in the periphery of the RFA zone with lower ADC.[40] Periphery of the ablation is critical in the follow-up of these lesions; early recurrence related to incomplete treatment occurs there.[26] However, our results suggest that global ADC may be related to delayed recurrence, which may happen even in well-targeted lesions, if the lesion is very aggressive, and tumor tissue remains alive within the scar. Schraml et al found significant differences in ADC if evaluating the peripheral ablation zone to predict early tumor recurrence. However, in their study they included 19 treated HCC in 16 patients and their results have to be confirmed. We did not analyze the periphery of the lesions on ADC map. We agree that periphery diffusion-weighted images may be useful, but quantitative evaluation of ADC os a small area requires small ROIs, and we assumed that reproducibility of such a measure would not be sufficient. That is why we decided to measure the whole lesion ADC with large ROIs and showed a good interobserver reproducibility of this measure in RFA scar.

Hoffmann et al also found that DWI immediately after RFA showed a hyperintense rim at the periphery of the ablation zone with lower ADC values.[7] Periphery of the ablation zone is critical in the follow-up of these lesions because early recurrence related to incomplete treatment occurs there.[3] However, our results suggest that the global ADC value may be related to delayed recurrence, which may happen even in well-targeted lesions, when the tumor is very aggressive, and tumor tissue remains active within the scar. Schraml et al found significant differences in ADC when evaluating the peripheral ablation zone to predict early tumor recurrence. However, in their study they included 19 treated HCC in 16 patients and their results have to be confirmed. We did not analyze the periphery of the lesions on an ADC map. Quantitative evaluation of ADC of a small area requires small ROIs and we assumed that reproducibility of such a measure would not be sufficient. That is why we decided to measure ADC in the whole lesion with large ROIs and we found a good interobserver reproducibility of this measure in RFA scar

Bonekamp et al found similar results for the follow-up of HCC treated by transarterial chemoembolization with DWI.[41] They found that patients with progression at 6 months according to RECIST criteria had a lower mean ADC value at 1 month than patients with response. They also reported a significant increase in ADC value compared to the pretreatment value in patients who had a good response to treatment.

Several limitations may be raised with respect to our study. First, the pathological differentiation of HCC was not available in enough patients to be integrated in the multivariate analysis. The diagnosis of typical HCC is done on imaging criteria most of the time, and it was also the case in our patients. Second, in our study ADC values were calculated with a monoexponential model, so that our results need to be confirmed with other fitting algorithms. Third, our study carries inherent limitations due to a retrospective nature, thus generating inclusion and follow-up bias. Fourth, we did not include patients who had clear recurrence at 1 or 3 months, which also may induce bias. But we assume that these patients have incomplete treatment rather than recurrence and the aim of this study was to evaluate the added value of DWI. Fifth, no comparison between responders and nonresponders to RFA was performed, but only a comparison of local tumor control and recurrence. Finally, we did not perform histogram analysis and only evaluated mean ADC. We assume that further studies are needed to evaluate the added value of histogram analysis and evaluate if heterogeneity, entropy, skewness, or kurtosis might also be used as a predictive factor of recurrence.

In conclusion, ADC obtained at 1 month after RFA for HCC is independently associated with subsequent local tumor recurrence. Our results suggest that the use of ADC measurement should be integrated in the routine assessment of HCC following RFA to help with the diagnosis local recurrence and plan early retreatment in at-risk patients. However, our results should be validated by prospective studies. Additionally, our results did not find such an association for hepatic metastases.

## References


1. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. CA Cancer J Clin 2015;65:87–108.
2. Disibio G, French SW. Metastatic patterns of cancers: results from a large autopsy study. Arch Pathol Lab Med 2008;132:931–939.
3. Manfredi S, Lepage C, Hatem C, Coatmeur O, Faivre J, Bouvier AM. Epidemiology and management of liver metastases from colorectal cancer. Ann Surg 2006;244:254–259.
4. de Baere T, Deschamps F. New tumor ablation techniques for cancer treatment (microwave, electroporation). Diagn Interv Imaging 2014; 95:677–682.
5. McGahan JP, Browning PD, Brock JM, Tesluk H. Hepatic ablation using radiofrequency electrocautery. Invest Radiol 1990;25:267–270.
6. de Baere T, Tselikas L, Pearson E, et al. Interventional oncology for liver and lung metastases from colorectal cancer: The current state of the art. Diagn Interv Imaging 2015;96:647–654.
7. Fu C, Liu N, Deng Q, Li X, Ma K, Bie P. Radiofrequency ablation vs. surgical resection on the treatment of patients with small hepatocellular carcinoma: a system review and meta-analysis of five randomized controlled trials. Hepatogastroenterology 2014;61:1722–1729.
8. de Baere T, Deschamps F. Treatment of hepatic and pulmonary metastases with radiofrequency. Diagn Interv Imaging 2014;95: 683–688.
9. Shady W, Petre EN, Gonen M, et al. Percutaneous radiofrequency ablation of colorectal cancer liver metastases: factors affecting outcomes: a 10-year experience at a single center. Radiology 2016;278: 601–611.

10. Kim GA, Shim JH, Kim MJ, et al. Radiofrequency ablation as an alternative to hepatic resection for single small hepatocellular carcinomas. Br J Surg 2016;103:126–135.
11. Dohan A, Soyer P, Guerrache Y, et al. Focal nodular hyperplasia of the liver: diffusion-weighted magnetic resonance imaging characteristics using high b values. J Comput Assist Tomogr 2014;38:96–104.
12. Lewis S, Dyvorne H, Cui Y, Taouli B. Diffusion-weighted imaging of the liver: techniques and applications. Magn Reson Imaging Clin N Am 2014;22:373–395.
13. Soyer P, Boudiaf M, Place V, et al. Preoperative detection of hepatic metastases: comparison of diffusion-weighted, T2-weighted fast spin echo and gadolinium-enhanced MR imaging using surgical and histopathologic findings as standard of reference. Eur J Radiol 2011;80: 245–252.
14. Bruegel M, Holzapfel K, Gaa J, et al. Characterization of focal liver lesions by ADC measurements using a respiratory triggered diffusion-weighted single-shot echo-planar MR imaging technique. Eur Radiol 2008;18:477–485.
15. Dohan A, Eveno C, Oprea R, et al. Diffusion-weighted MR imaging for the diagnosis of abscess complicating fistula-in-ano: preliminary experience. Eur Radiol 2014;24:2906–2915.
16. Wu LM, Hu J, Gu HY, Hua J, Xu JR. Can diffusion-weighted magnetic resonance imaging (DW-MRI) alone be used as a reliable sequence for the preoperative detection and characterisation of hepatic metastases?. A meta-analysis. Eur J Cancer 2013;49:572–584.
17. Nakanishi M, Chuma M, Hige S, et al. Relationship between diffusion-weighted magnetic resonance imaging and histological tumor grading of hepatocellular carcinoma. Ann Surg Oncol 2012;19:1302–1309.
18. Mori Y, Tamai H, Shingaki N, et al. Signal intensity of small hepatocellular carcinoma on apparent diffusion coefficient mapping and outcome after radiofrequency ablation. Hepatol Res 2015;45:75–87.
19. Deckers F, De Foer B, Van Mieghem F, et al. Apparent diffusion coefficient measurements as very early predictive markers of response to chemotherapy in hepatic metastasis: a preliminary investigation of reproducibility and diagnostic value. J Magn Reson Imaging 2014;40:448–456.
20. Joo I, Lee JM, Han JK, Choi BI. Intravoxel incoherent motion diffusion-weighted MR imaging for monitoring the therapeutic efficacy of the vascular disrupting agent CKD-516 in rabbit VX2 liver tumors. Radiology 2014;272:417–426.
21. Tam HH, Collins DJ, Brown G, et al. The role of pre-treatment diffusion-weighted MRI in predicting long-term outcome of colorectal liver metastasis. Br J Radiol 2013;86:20130281.
22. Lu TL, Becce F, Bize P, Denys A, Meuli R, Schmidt S. Assessment of liver tumor response by high-field (3 T) MRI after radiofrequency ablation: short- and mid-term evolution of diffusion parameters within the ablation zone. Eur J Radiol 2012;81:e944–950.
23. Moffat BA, Chenevert TL, Lawrence TS, et al. Functional diffusion map: a noninvasive MRI biomarker for early stratification of clinical brain tumor response. Proc Natl Acad Sci U S A 2005;102:5524–5529.
24. Kamel IR, Liapi E, Reyes DK, Zahurak M, Bluemke DA, Geschwind JF. Unresectable hepatocellular carcinoma: serial early vascular and cellular changes after transarterial chemoembolization as detected with MR imaging. Radiology 2009;250:466–473.
25. Padhani AR, Miles KA. Multiparametric imaging of tumor response to therapy. Radiology 2010;256:348–364.
26. Schraml C, Schwenzer NF, Clasen S, et al. Navigator respiratory-triggered diffusion-weighted imaging in the follow-up after hepatic radiofrequency ablation-initial results. J Magn Reson Imaging 2009; 29:1308–1316.
27. Minami Y, Nishida N, Kudo M. Therapeutic response assessment of RFA for HCC: contrast-enhanced US, CT and MRI. World J Gastroenterol 2014;20:4160–4166.
28. Curley SA, Izzo F, Delrio P, et al. Radiofrequency ablation of unresectable primary and metastatic hepatic malignancies: results in 123 patients. Ann Surg 1999;230:1–8.
29. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. Lancet 1986;1: 307–310.
30. Bouda D, Lagadec M, Alba CG, et al. Imaging review of hepatocellular carcinoma after thermal ablation: The good, the bad, and the ugly. J Magn Reson Imaging 2016 [Epub ahead of print].
31. Tsuda M, Rikimaru H, Majima K, et al. Time-related changes of radiofrequency ablation lesion in the normal rabbit liver: findings of magnetic resonance imaging and histopathology. Invest Radiol 2003;38: 525–531.
32. Boas FE, Do B, Louie JD, et al. Optimal imaging surveillance schedules after liver-directed therapy for hepatocellular carcinoma. J Vasc Interv Radiol 2015;26:69–73.
33. Kierans AS, Elazzazi M, Braga L, et al. Thermoablative treatments for malignant liver lesions: 10-year experience of MRI appearances of treatment response. AJR Am J Roentgenol 2010;194:523–529.
34. Takahashi S, Chung H, Kitai S, et al. Foreign body granuloma mimicking disseminated tumour recurrence after radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma. Liver Int 2008;28:414–415.
35. Bo XW, Xu HX, Sun LP, et al. Bipolar radiofrequency ablation for liver tumors: comparison of contrast-enhanced ultrasound with contrast-enhanced MRI/CT in the posttreatment imaging evaluation. Int J Clin Exp Pathol 2014;7:6108–6116.
36. Nielsen K, Scheffer HJ, Pieters IC, et al. The use of PET-MRI in the follow-up after radiofrequency- and microwave ablation of colorectal liver metastases. BMC Med Imaging 2014;14:27.
37. Chen Y, Liu X, Zheng D, et al. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging for early response assessment of chemoradiotherapy in patients with nasopharyngeal carcinoma. Magn Reson Imaging 2014; 32:630–637.
38. Fu ZZ, Peng Y, Cao LY, Chen YS, Li K, Fu BH. Value of apparent diffusion coefficient (ADC) in assessing radiotherapy and chemotherapy success in cervical cancer. Magn Reson Imaging 2015;33:516–524.
39. Rosenkrantz AB, Kopec M, Kong X, et al. Prostate cancer vs. post-biopsy hemorrhage: diagnosis with T2- and diffusion-weighted imaging. J Magn Reson Imaging 2010;31:1387–1394.
40. Hoffmann R, Rempp H, Schraml C, et al. Diffusion-weighted imaging during MR-guided radiofrequency ablation of hepatic malignancies: analysis of immediate pre- and post-ablative diffusion characteristics. Acta Radiol 2015;56:908–916.
41. Bonekamp S, Jolepalem P, Lazo M, Gulsun MA, Kiraly AP, Kamel IR. Hepatocellular carcinoma: response to TACE assessed with semiautomated volumetric and functional analysis of diffusion-weighted and contrast-enhanced MR imaging data. Radiology 2011;260:752–761.

# ANNEXE 3

# CV – AUDREY FOHLEN – OCTOBRE 2019

## Présentation personnelle


**NOM :** FOHLEN
**Prénom :** Audrey, Michèle, Andrée
**Date et lieu de naissance :** 24 Octobre 1977, Woippy, Moselle
**Situation de famille :** Vie maritale, 1 enfant
**Adresse personnelle :** 10 avenue du Canada, 14 000 CAEN
**Téléphone personnel :** 06 16 70 24 14
**E-mail personnel :** audrey.fohlen.2410@gmail.com
**E-mail professionnel :** fohlen-a@chu-caen.fr (clinique) et fohlen@cyceron.fr **(recherche)**


**Les points en lien avec ma thèse de science apparaissent surlignés en jaune**

## Situation professionnelle

-Docteur en médecine DES Spécialité Radiodiagnostic et Imagerie Médicale, Praticien Hospitalier, Responsable du Secteur Uro-digestif et Radiologie Interventionnelle (UDRI) CHU de Caen
- 2014-2019 : Doctorante dans l'équipe CERVOxy ISTCT UMR 6030, CNRS, CEA, Université de Caen-Normandie « Optimisation des stratégies thérapeutiques en Radiologie Interventionnelle : application en embolisation et en oncologie », Direction : M. Bernaudin et B. Giui

## Titres et diplômes universitaires

**1995** Baccalauréat, Série S, Mention Bien
**2002** Certificat de Synthèse Clinique et Thérapeutique, Faculté de Médecine de Nancy, Meurthe et Moselle
**2003** Nomination au Concours de l'Internat de Médecine, Spécialités Médicales, Subdivision Caen
**2006** Maîtrise de Sciences Biologiques et Médicales d'Anatomie, Université de Caen
**2008** DIU de radiologie interventionnelle cancérologique, Paris 12
Diplôme d'Etat de Docteur en Médecine, Faculté de Médecine de Caen, Basse Normandie
Thèse « Anatomie et radioanatomie vasculaire. DVD pédagogique » soutenue publiquement le 31 octobre 2008. Mention : « Très honorable avec félicitations du jury proposé pour le prix de thèse »
Diplôme d'Etudes Spécialisées en Radiodiagnostic et Imagerie Médicale, Faculté de Médecine de Caen, Basse Normandie
Nomination en qualité d'Assistante Hospitalo-Universitaire, service anatomie-radiologie, Université de Caen
**2009** Master 2 - Signaux et Images en Médecine, Université Paris XII, Créteil
**2016** **Diplôme d'université « Expérimentation Animale appliquée à la Recherche Biomédicale » Université de Caen Normandie.**
**2018** DESC I (Diplôme Etudes Spécialisées Complémentaire) cancérologie, option imagerie en cancérologie

## Prix

Prix de la société Française de Radiologie. **Fohlen A**, Le Pennec V, Villedieu F, Pelage JP. Comment développer une activité de Picc Line en pédiatrie. JFR 2013, Paris, poster médaillé.
Bourse AGFA 2008 (prise en charge pour le congrès ECR 2008)
Bourse COOK 2009 (Grant) : prise en charge pour le congrès GEST 2009
Bourse COOK 2010 (Grant) : prise en charge pour le congrès GEST 2010

# Titres hospitaliers

**01/10/1998 au 30/10/2002** : Etudiante Hospitalière : CHU de Nancy
**02 /11/2003 au 30/ 04/2008** : Interne de Spécialité filière Médecine, Caen, CHU de Caen
**01/05/2008 au 31/10/2008** : Inter-CHU à l'hôpital Ambroise Paré, Boulogne Billancourt (92), Radiologie orientation radiologie interventionnelle, Hôpital Ambroise, Pr Lacombe (inter-CHU)
**02/11/2008 au 31/10/2011** : Assistante Hospitalo-Universitaire, Service d'anatomie-radiologie, Université de Caen
**02/11/2011 (en cours)** : Praticien Hospitalier, Secteur imagerie uro-digestive et radiologie interventionnelle, CHU de Caen

# Recherche

**Master 2 : Signaux et Images en Médecine, Université Paris XII, Créteil**

Stage : CR2i, INRA, Jouy en Josas. Directeur de stage : Jean-Pierre Pelage
Sujet : « Comparaison *in-vivo* des coils fibrés et des hydrocoils sur un modèle animal (brebis) »
Publication en lien avec mon Master 2 :

1. **Fohlen A**, Namur J, Ghegediban H, Laurent A, Wassef M, Pelage JP. Peripheral Embolization Using Hydrogel-Coated Coils Versus Fibered Coils: Short-Term Results in an Animal Model. CVIR 2018; 41:305-312.
2. **Fohlen A,** Namur J, Ghegediban H, Laurent A, Wassef M, Pelage JP. Midterm Recanalization after Arterial Embolization Using Hydrogel-Coated Coils versus Fibered Coils in an Animal Model. J Vasc Interv Radiol. 2019; 30:940-948

**Thèse de Science : Ecole Doctorale EDNBise, Equipe CERVOxy, ISTCT, UMR 6030, CNRS, CEA, Université de Normandie**

Sujet : « Optimisation des stratégies thérapeutiques en radiologie interventionnelle : application en embolisation et en oncologie » Directeurs de thèse : Myriam Bernaudin, Boris Guiu.
Publication dans le cadre de ma thèse de science :

1. Delicque J, Boulin M, Guiu B, Pelage JP, Escal L, Schembri V, Assenat E, **Fohlen A**. Interventional oncology for hepatocellular carcinoma. Clin Res Hepatol Gastroenterol. 2016; 40 : 530-7.
2. **Fohlen A,** Tasu JP, Kobeiter H, Bartoli JM, Pelage JP, Guiu B. Transarterial chemoembolization (TACE) in the management of hepatocellular carcinoma: Results of a French national survey on current practices. Diagn Interv Imaging. 2018; 99:527-35.
3. **Fohlen A,** Bazille C, Menahem B, Jegonday MA, Dupont B, Le Pennec V, Lubrano J, Guiu B, Pelage JP. Transhepatic forceps biopsy combined with biliary drainage in obstructive jaundice: safety and accuracy. Eur Radiol. 2019; 29:2426-35.

Articles en cours dans le cadre de mes travaux de thèse de science

1. **Fohlen A**, Bordji K, Gongora C, Naveau M, Breuil C, Peres E, Bernaudin M, Guiu B. Anticancer drugs for intra-artreial treatment of colorectal cancer liver metastasis: *in-vitro* screening

## Subventions obtenues pour des projets de recherche

Bourse SFR 2016 (montant : 15 000 euros)
APRI : Appel à projet de recherche interne (pour le protocole KTFIXPICC) somme : 29 800 euros (co-financement industriel de 10 000 euros)
Fonds FEDER et financement région Normandie (pour le projet em.sim, simulation en radioprotection) somme : 150 000 euros

## Encadrement de masters, de doctorants, autres

Melle Inès Makhloufi (étudiante ingénieur biomédical, 1ère année), M1, master imagerie médicale, Université de Caen, mai- juin 2015 « Radiologie Interventionnelle : techniques et optimisation ».

Melle Lise Morgado (étudiante en 3ème année de médecine), M1, master imagerie médicale, Université de Caen, mai-juin 2015 « Radiologie Interventionnelle : techniques et optimisation ».

Melle Léa De Neef (étudiante en pharmacie), M1 master neurosciences, mai-septembre 2016 « Evaluation de la cytotoxicité d'agent anti-cancéreux ».

Melle Alicia Ozenne (étudiante en pharmacie), M1 master neurosciences, janvier-mai 2017 « Evaluation in vitro de l'impact de l'hypoxie sur l'efficacité des chimiothérapies intra artérielles ».

Mr Louis Paul Paty (étudiant en pharmacie), M1 master neurosciences, mai-septembre 2017 (co-encadrement avec Samuel Valable) « Evaluation de la sulfasalazine marquée au carbone-11 comme marqueur TEP des transporteurs du glutathion, responsable de la radioresistance des gliomes ».

Mr Valentin Bansse (étudiant en Licence Pro ATC Webmestre), Université de Caen, mai-août 2016, Réalisation d'un site web d'anatomie vasculaire.

### Direction de thèses de Doctorat en Médecine et mémoire de DES imagerie médicale

Thèse de médecine de Melle Emmanuelle Cauderlier (interne de radiologie), Faculté de Médecine de Caen, 2014 « Embolisation portale avant hépatectomies larges. Une étude monocentrique rétrospective de 63 patients consécutifs ».

Thèse de médecine de Mr Mourad Abassi (interne de radiologie), Faculté de Médecine, Caen, 2016 « Impact des critères de Vittel sur l'exploration du traumatisme grave par scanner corps entier ».

Thèse de médecine de Mme Claire Buia-Chavatte (interne de radiologie), Faculté de Médecine, Caen, juillet 2017 « Evaluation de mesures anthropométriques scannographiques chez les patients cirrhotiques atteints de carcinome hépatocellulaire ».

Thèse de médecine de M Frédéric Seita (interne de radiologie), Faculté de Médecine, Caen, mai 2018 « Rôle de la sarcopénie pré-opératoire dans la morbi-mortalité post-opératoire après une exérèse pour cancer du rectum (106 patients) ».

Mémoire de DES Mr Axel Gerard-Brisou (interne de radiologie), Amiens, Octobre 2016 « Peritoneal recurrence after percutaneous transhepatic biliary drainage: single center experience ».

*En cours : Impact de la répartition de la graisse sur la morbi-mortalité post-opératoire après une exérèse pour cancer du rectum. Benoit Pacquelet, interne de radiologie*

*En cours : définition des paramètres de graisse abdominale et de sarcopénie dans une population « saine ». Jocelyn Domagne, interne de radiologie.*

*En cours : étude prospective randomisée sur la RI (confidentiel). Régis Audoual, interne de radiologie.*

## Publications

### Publications scientifiques originales dans des revues internationales à comité de lecture

1. Kahn V, **Fohlen A**, Pelage JP. Role of embolization in the management of uterine fibroids. J Gynecol Obstet Biol Reprod. 2010; 40 : 918-27.
2. Lacout A, Thariat J, **Fohlen A**, Marcy PY. Tomosynthesis : a new chest imaging technique. Diagn Interv Imaging. 2012; 93 : 72-4.
3. Pelage JP, **Fohlen A**, Le Pennec V. Role of arterial embolization in the management of postpartum hemorrhage. J Gynecol Obstet Biol Reprod 2014; 43 : 1063-82.
4. Guiu B, Schmitt A, Reinhardt S, **Fohlen A**, Pohl T, Wendremaire M, Denys A, Blümmel J, Boulin M. Idarubicin-Loaded ONCOZENE drug-eluting embolic agents for Chemoembolization of Hepatocellular Carcinoma : In Vitro Loading and Release, and In Vivo Pharmacokinetics. JVIR. 2015 ; 26 : 262-70.
5. Cercueil JP, Petit JM, Nougaret S, Soyer P, **Fohlen A**, Pierredon-Foulongne MA, Schembri V, Delhom E, Schmidt S, Denys A, Aho S, Guiu B. Intravoxel incoherent motion diffusion-weighted imaging in the liver: comparison of mono-,bi- and tri-exponential modelling at 3.0-T. Eur Radiol. 2015; 25 : 1541-50.

6. Boulin M, Schmitt A, Delhom E, Cercueil JP, Wendremaire M, Imbs DC, **Fohlen A**, Panaro F, Herrero A, Denys A, Guiu B. Improved stability of lipiodol-drug emulsion for transarterial chemoembolisation of hepatocellular carcinoma results in improved pharmacokinetic profile: Proof of concept using idarubicin. Eur Radiol 2016; 26 : 601-9.
7. Perronne L, Dohan A, Bazeries P, Guerrache Y, **Fohlen A**, Rousset P, Aubé C, Laurent V, Morel O, Boudiaf M, Hoeffel C, Soyer C. Hepatic involvement in HELLP syndrome:an update with emphasis on imaging features. Abdom Imaging 2015; 40 : 2839-49.
8. Menahem B, Mulliri A, **Fohlen A**, Guittet L, Alves A, Lubrano J.Delayed laparoscopic cholecystectomy increases the total hospital stay compared to an early laparoscopic cholecystectomy after acute cholecystitis: an updated meta-analysis of randomized controlled trials. HPB(Oxford) 2015; 17 : 857-62.
9. Zeitoun J, Menahem B, **Fohlen A**, Lebreton G, Lubrano J, Alves A.Emergency surgery for epidural abcess secondary to sacral fistula after laparoscopic proctectomy. J Surg Case Rep 2016; 7 : 1-3.
10. **Fohlen A**, Tager P, Lognoné T, Pelage JP. Acute chest pain with elevated troponin due to rupture of previously stented saphenous vein graft aneurysm. Diagn Interv Imaging 2016; 97 : 1183-85.
11. Lubrano J, **Fohlen A**, Delabrousse E. The northern exposure sign. Abdom Radiol 2017; 42 : 971-2.
12. Barat M, **Fohlen A**, Cassinotto C, Jannot AS, Dautry R, Pelage JP, Boudiaf M, Pocard M, Eveno C, Taouli B, Soyer P, Dohan A One-month apparent diffusion coefficient correlates with response to radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma.. J Magn Reson Imaging 2017 ; 45 : 1648-58.
13. Delicque J, Boulin M, Guiu B, Pelage JP, Escal L, Schembri V, Assenat E, **Fohlen A**. Interventional oncology for hepatocellular carcinoma. Clin Res Hepatol Gastroenterol 2016; 40 : 530-7.
14. Pelage JP, **Fohlen A**, Mitry E, Lagrange C, Beauchet A, Rougier P. Chemoembolization of Neuroendocrine Liver Metastases Using Streptozocin and Tris-acryl Microspheres : Embozar (EMBOsphere + ZAnosaR) Study. CVIR 2017; 40 : 394-400.
15. Pelage JP, **Fohlen A**, Mitry E, Lagrange C, Beauchet A, Rougier P. Erratum to: Chemoembolization of Neuroendocrine Liver Metastases Using Streptozocin and Tris-acryl Microspheres : Embozar (EMBOsphere + ZAnosaR) Study. CVIR 2017 ; 40 : 394-400.
16. Soyer P, **Fohlen A**, Dohan A. Acute gastrointestinal bleeding : A slowly changing paradigm. Diagn Interv Imaging. 2017; 98 : 451-453.
17. Leleup G, **Fohlen A**, Dohan A, Bryan-Rest L, Le Pennec V, Limot O, Le Dref O, Soyer P, Pelage JP Value of Round Ligament Artery Embolization in the Management of Postpartum Hemorrhage. JVIR 2017; 28 : 696-701.
18. Al Mahjoub A, Menahem B, **Fohlen A**, Dupont B, Alves A, Launoy G, Lubrano J. Preoperative Biliary Drainage in Patients with Resectable Perihilar Cholangiocarcinoma: Is Percutaneous Transhepatic Biliary Drainage Safer and More Effective than Endoscopic Biliary Drainage? A Meta-Analysis. JVIR 2017; 28 : 576-82.
19. Meunier H, Menahem B, Mulliri A, **Fohlen A**, Contival N, Le Roux Y, Desgue J, Lubrano J, Alves A Esophagopericardial fistula: an unexpected dreaded complication of treatment of leak following revisional sleeve gastrectomye by endoscopic internal drainage. J Surg Case Rep 2017; 3 : 1-3.
20. Bendrihem R, Vacher C, **Fohlen A**, Pelage JP Anatomic basis of Le Fort 1 impaction osteotomy: a radiological study. Surg Radiol Anat 2017;39 : 1209-14.
21. **Fohlen A**, Namur J, Ghegediban H, Laurent A, Wassef M, Pelage JP. Peripheral Embolization Using Hydrogel-Coated Coils Versus Fibered Coils: Short-Term Results in an Animal Model. CVIR 2018; 41 : 305-12.
22. **Fohlen A,** Tasu JP, Kobeiter H, Bartoli JM, Pelage JP, Guiu B. Transarterial chemoembolization (TACE) in the management of hepatocellular carcinoma: Results of a French national survey on current practices. Diagn Interv Imaging 2018; 99 : 527-35.

23. Faraoun SA, Guerrache Y, Dautry R, Boudiaf M, Dohan A, Barral M, Hoeffel C, Rousset P, **Fohlen A**, Soyer P. Computed Tomographic Features of Primary Small Cell Neuroendocrine Tumors of the Gallbladder. J Comput Assist Tomogr 2018; 42 : 707-13.
24. **Fohlen A,** Namur J, Ghegediban H, Laurent A, Wassef M, Pelage JP. Midterm Recanalization after Arterial Embolization Using Hydrogel-Coated Coils versus Fibered Coils in an Animal Model. J Vasc Interv Radiol 2019; 30 : 940-48.
25. Orczyk C, Villers A, Rusinek H, Lepennec V, Bazille C, Giganti F, Mikheev A, Bernaudin M, Emberton M, **Fohlen A,** Valable S. Prostate cancer heterogeneity: texture analysis score based on multiple magnetic resonance imaging sequences for detection, stratification and selection of lesions at time of biopsy. BJU Int 2019; 12 : 76-86.
26. **Fohlen A,** Bazille C, Menahem B, Jegonday MA, Dupont B, Le Pennec V, Lubrano J, Guiu B, Pelage JP. Transhepatic forceps biopsy combined with biliary drainage in obstructive jeundice: safety and accuracy. Eur Radiol 2019; 29 : 2426-35.
27. Al Mahjoub A, Bouvier V, Menahem B, Bazille C, **Fohlen A**, Alves A, Mulliri A, Launoy G, Lubrano J. Epidemiology of intraheoatic, perihilar, and distal cholangiocarcinoma in the French population. Eur J Gastroenterol Hepatol 2019; 31: 678-84.
28. Eid Y, Menahem B, Bouvier V, Lebreton G, Thobie A, Bazille C, Finochi M, **Fohlen A**, Galais MP, Dupont B, Lubrano J, Dejardin O, Morello R, Alves A. Has adherence to treatment guidelines for mid/low rectal cancer affected the management of patients? A monocentric study of 604 consecutive patients. J Visc Surg 2019; 156 : 281-90.

### Publications dans des revues de langue française avec ou sans comité de lecture

1. Goupil J, **Fohlen A**, Linard M, Vinatier L, Cuillier F, Collignon B, Storey J. Pseudoanévrysme rompu de l'artère utérine traité par embolisation pour hémorragie du post-partum : à propos de deux cas. J Gynecol Obstet Biol Reprod 2010; 39 : 325-30
2. Kahn V, **Fohlen A**, Pelage JP. Rôle de l'embolisation des fibromes utérins (Recommandations pour la Pratique Clinique). J Gynecol Obstet Biol Reprod 2011; 40 : 918-27.
3. Pelage JP, **Fohlen A**, Le Pennec V. Rôle de l'embolisation dans la prise en charge des hémorragies du post-partum. J Gynecol Obstet Biol Reprod 2014; 43 : 1063-82.
4. Perrot L, **Fohlen A**, Alves A, Lubrano J. Prise en charge du volvulus du colon en 2016. J Visc Surg 2016; 153 : 183-92.
5. Lequet J, Menahem B, Alves A, **Fohlen A**, Mulliri A. Diverticule de Meckel de l'adulte. J Visc Surg 2017; 154 : 253-59.

## Communications orales

1. **Fohlen A,** Le Pennec V, Agostini D, Salame E**.** Eléments d'anatomie et de radioanatomie vasculaire : un outil pédagogique original. 91e Congrès de l'Association des Morphologistes, Bruxelles, 21- 23 mai 2009
2. Le Pennec V, Soulez G, Giroux MF, **Fohlen A**, Lacombe P, Pelage JP. Prise en charge d'une urgence hémorragique. Journées Françaises de Radiologie JFR, Paris, 22-26 octobre 2009
3. Lacombe P, Le Pennec V, **Fohlen A**, Pelage JP. Urgences hémorragiques thoraciques. Journées Françaises de Radiologie JFR, Paris, 22-26 octobre 2009
4. Soulez G, Giroux MF, Le Pennec V, **Fohlen A,** Pelage JP. Urgences hémorragiques abdomino-pelviennes. Journées Françaises de Radiologie JFR, Paris, 22-26 octobre 2009
5. **Fohlen A**, Namur J, Wassef M, Ghegediban H, Laurent A, Pelage JP. Angiographic and pathological comparison of hydrogel-coated coils and fibered coils in a sheep model : short term results. ECR, Vienne, Autriche, 1-5 Mars 2012.
6. Pelage JP, **Fohlen A**, Ghegediban H, Namur J, Laurent A, Wassef M. Mid-term recanalisation after embolisation using hydrocoils vs fibered coils in an animal model. ECR, Vienne, Autriche, 1-5 Mars 2012

7. **Fohlen A**, Ghegediban H, Namur J, Laurent A, Wassef M, Pelage JP. Hydrogel-coated coils versus fibered coils in an animal model of peripheral embolization : mechanism of occlusion in a short term study. CIRSE meeting , Lisbonne, 15 -18 Septembre 2012.
8. **Fohlen A,** Namur J, Wassef M, Ghegediban H, Laurent A, Pelage JP. Comparaison angiographique et anatomopathologique entre hydrocoils et coils fibrés sur modèle animal. JFR 2012, Paris, 19-23 Octobre 2012.
9. **Fohlen A,** Vallois C, Tancray Y, Pelage JP. Apport des protections plombées collectives en radiologie interventionnelle, nouveautées. JFR 2013, Paris, 18-22 Octobre 2013.
10. **Fohlen A,** Vallois C, Le Pennec V, Pelage JP. Apport d'écrans radio-atténuateurs RAD PAD pour réduire l'exposition des opérateurs en radiologie interventionnelle. JFR 2013, Paris, 18-22 Octobre 2013.
11. **Fohlen A,** Villedieu F, Le Pennec V, Pelage JP. Pose et suivi de Picc Lines en pédiatrie, à propos de 92 cas. JFR 2013, Paris, 18-22 Octobre 2013.
12. **Fohlen A**, Vallois C, Jegonday M.A, Tancray Y, Le Pennec V, Pelage J.P. Percutaneous Transhepatic Biliary Drainage : evaluation of a sterile, lead-free, radiation-protection shield for reduction occupational exposure to scatter radiation. CIRSE meeting, Barcelone, 11-14 septembre 2016.
13. Lee Bion A, Menahem B, Mulliri A, **Fohlen A**, Alves A. Peut-on réduire la morbimortalité du cirrhotique nécessitant une chirurgie colorectale ? Apport du TIPS pré opératoire. Journées Françaises d'Hépato-gastro-entérologie et d'Oncologie Digestive 2016, Paris, 17-20 mars 2016.
14. **Fohlen A**, Bazille C, Menahem B, Jegonday M.A, Dupont B, Lubrano J, Pelage J.P. Percutaneous transluminal forceps biopsy combined with percutaneous transhepatic biliary drainage in the management of patients with obstructive jaundice. JFR, Paris, 14-17 octobre 2016.
15. **Fohlen A**, Tasu J.P, Kobeiter H, Bartoli J.M, Pelage J.P, Guiu B. Chemoembolization for HCC: results of a national survey conducted in 2015 on practices in France. JFR, Paris, 14-17 octobre 2016.
16. **Fohlen A,** Dencausse A, Valable S, Robic C, Pelage J.P, Bernaudin M. In-vitro comparison between three types of acrylic glue at two different ratio: what is relevant for clinical application? Congrès GEST Asia, Tokyo, Japon, 16-17 décembre 2016.
17. Godey C, Le Pennec V, Lamy B, Jegonday MA, **Fohlen A**, Pelage JP**.** Varices pelviennes, luxe ou nécessité ? Journées de printemps de la SFICV, Deauville, 22-24 juin 2017.
18. Gerard-Brisou A, Menahem B, Lubrano J, Pelage JP, **Fohlen A.** Peritoneal recurrence after percutaneous transhepatic biliary drainage : single center experience. JFR 2017, Paris, 13-16 Octobre 2017.
19. Abassi M, Desmonts C, Pelage JP, **Fohlen A**. Impact des critères de Vittel sur l'exploration du traumatisé grave par scanner corps entier. JFR 2017, Paris, 13-16 Octobre 2017.

## Communications affichées

1. Le Pennec V, **Fohlen A**, Guedin P. Traitement des corps étrangers endovasculaires et des problèmes de points de ponction. Journées Françaises de Radiologie, Paris, 20-24 octobre 2007 (abstract J Radiol 2007; 88: 1295)
2. Tillaux M, Le Pennec V, **Fohlen A**, Dede S, Chiche L, Salame E. Syndrome du ligament arqué et variantes des artères splanchniques: étude radio-anatomique. Journées Françaises de Radiologie, Paris, 20-24 octobre 2007 (abstract J Radiol 2007; 88: 1349)
3. **Fohlen A**, Le Pennec V, Florescu L, Vielpeau C. Complications vasculaires fémorales de la chirurgie de hanche. Journées Françaises de Radiologie, Paris, 20-24 octobre 2007 (abstract J Radiol 2007; 88: 1527)
4. Wambre-Nicolas A, **Fohlen A**, Le Pennec V, Tillaux M, Boutet C, Hamon-Kérautret M. Prévalence des anomalies extracardiaques de découverte fortuite en coroscanner : le rôle majeur du radiologue. Journées Françaises de Radiologie, Paris, 20-24 octobre 2007 (abstract J Radiol 2007; 88: 1519)

5. Goupil J, **Fohlen A**, Le Pennec V, Lepage O, Hamon M, Hamon-Kerautret M. Apport de l'imagerie cardiaque non invasive (coroscanner et IRM) dans l'évaluation préthérapeutique des occlusions coronaires chroniques. Journées Françaises de Radiologie, Paris, 20-24 octobre 2007 (abstract J Radiol 2007; 88: 1520)
6. Goupil J, **Fohlen A**, Linard M, Boutet C, Lepage O, Hamon-Kerautret M. Apport du scanner cardiaque pour le chirurgien: revue iconographique. Journées Françaises de Radiologie, Paris, 20-24 octobre 2007 (abstract J Radiol 2007; 88: 1523)
7. Grignon B, Walter F, Batch T, **Fohlen A**, Blum A, Roland J. Variations anatomiques des artères des members inférieurs : organogénèse, anatomie et imagerie. Journées Françaises de Radiologie, Paris, 24-28 octobre 2008 (abstract J Radiol 2008; 89: 1254)
8. Constans JM, Bansard JY, Hossu G, Rioult F, Mkhitarian K, Rioult F, **Fohlen A**, De Certaines JD, Courthéoux P, Kauffmann F. Etude de reproductibilité normale individuelle et régionale en SRM 1H cérébrale court TE. Journées Françaises de Radiologie, Paris, 20-24 octobre 2007 (abstract J Radiol 2007; 88: 1602)
9. Namur M, **Fohlen A**, Noel C, Goupil J, Le Pennec V. Radioanatomie et variants des artères des members inférieurs au scanner multidétecteurs. Journées Françaises de Radiologie, Paris, 24-28 octobre 2008 (abstract J Radiol 2008; 89: 1254)
10. Namur M, Lamy B, **Fohlen A**, Bourret Cassaigne C, Linard M, Noel C, Le Pennec V. Prise en charge diagnostique et thérapeutique des douleurs pelviennes chroniques d'origine veineuse. Journées Françaises de Radiologie, Paris, 22-26 octobre 2009 (abstract J Radiol 2009; 90: 1198)
11. Pelage JP, **Fohlen A**, Binsse S, Mitry E, Rougier P, Lacombe P. Chemoembolization of neuroendocrine liver metastases using streptozocin and tris-acryl microspheres: Embozar study. Congress of the Society of Interventional Radiology SIR, San Diego, Etats-Unis, 7-12 mars 2009 (abstract JVIR 2009; 20 : S59)
12. **Fohlen A,** Le Pennec V, Goupil J, Pelage JP. Entretien des voies veineuses centrales et gestion des complications. JFR 2011, Paris, 21-25 octobre 2011.
13. **Fohlen A,** Le Pennec V, Pelage JP, Agostini D, Salame E, Agostini C, Grignon B, Gerard JL. DVD pédagogique d'anatomie et de radio-anatomie vasculaire des membres et du pelvis. JFR 2011, Paris, 21-25 octobre 2011.
14. **Fohlen A**, Namur J, Wassef M, Ghegediban H, Laurent A, Pelage JP. Angiographic and Pathological comparison of hydrogel-coated coils and fibered coils in a sheep model : short term results. Scientific Poster , RSNA, Chicago, Etats-Unis, 27 novembre-2 décembre 2011.
15. Pelage JP, **Fohlen A,** Ghegediban H, Namur J, Laurent A, Wassef M. Mid-term follow-up after embolization using hydrocoils vs fibered coils in an animal model: angiographic and pathologic evaluation. JVIR 2012; 23 : S64. SIR, San Francisco, Etats-Unis, 24-29 mars 2012.
16. Pelage JP, Ghegediban H, **Fohlen A**, Namur J, Laurent A, Wassef M. Mid-term recanalization after embolization using hydrogel-coated vs fibered coils in an animal model (**Abstract primé**). CIRSE, Lisbonne, 15-19 septembre 2012.
17. **Fohlen A,** Namur J, Wassef M, Ghegediban H, Laurent A, Pelage JP. Comparaison angiographique et anatomopathologique entre hydrocoils et coils fibres sur modèle animal. JFR, Paris, 19-23 octobre 2012.
18. **Fohlen A,** Le Pennec V, Villedieu F, Pelage JP. Comment développer une activité de Picc Line en pédiatrie. JFR 2013, Paris, 18-22 octobre 2013 (**poster médaillé)**.
19. **Fohlen A,** Dargère S, Borgey F, Le Pennec V, Pelage JP. Protocole d'entretien d'un PICC. JFR 2013, Paris, 18-22 octobre 2013.
20. **Fohlen A,** Le Pennec V, Limot O, Labauge P, Fauconnier A, Pelage JP. Role of Interventional Radiology in Management of Post Partum Hemorrhage. RSNA 2013, Chicago, Etats-Unis, 1-6 décembre 2013.
21. Cochard L, **Fohlen A**, Castel C, Meunier F, Chapirot C. Nouveau système de fixation des PICC KTFIXPLUS : évaluation de la satisfaction des infirmiers. 77ème journée de l'APHO 5association de Pharmacie Hospitalière de l'Ouest, Rennes, 28 novembre 2014**.**

22. Orczyk C, Taneja SS, Valable S, **Fohlen A**, Bensadoun H, Rosenkrantz AB,Mikheev A, Villers A, Rusinek H. MRI-TRUS fusion of standard end firing 2D US to pre interventional MRI for prostate biopsy: initial results of a novel coregistration approach. Société Internationale d'Urologie 2014, Glasgow, Ecosse, 12-15 octobre 2014.
23. Jegonday MA, **Fohlen A**, Le Pennec V, Bouhier-Leporrier K, Ollivier-Hourmand I, Parienti JJ, Pelage JP. Tumoural response assessment after chemoembolisation of hypervascular liver lesions. ECR 2015, Vienne, Autriche, 4-8 Mars 2015.
24. Pelage JP, Letellier A, Le Pennec V, Jegonday MA, **Fohlen A**. Embolisation of pulmonary arterio-venous malformations using hydrogel-coated coils : mid-term results. ECR 2016, Vienne, Autriche, 4-8 mars 2016.
25. **Fohlen A**, Bazille C, Menahem B, Jegonday M.A, Dupont B, Lubrano J, Pelage J.P. Percutaneous transluminal forceps biopsy combined with percutaneous transhepatic biliary drainage in the management of patients with obstructive jaundice. CIRSE 2016, Barcelone, 10-14 septembre 2016.
26. **Fohlen A**, Villedieu F, Parienti JJ, Pelage JP. Petipherally inserted central catheter in paediatric population. CIRSE 2016, Barcelone, 10-14 septembre 2016.
27. **Fohlen A**, Tasu J.P, Kobeiter H, Bartoli J.M, Pelage J.P, Guiu B. Chemoembolization for HCC: results of French survey on current practices. CIRSE 2016, Barcelone, 10-14 septembre 2016.
28. **Fohlen A**, Chalaye J, Tannoury J, Mule S, Sobhani I, Itti E, Luciani A. Apport de la TEP IRM dans la prise en charge des TNE d'origine digestive. JFR 2019, Paris, 11-14 septembre 2019.
29. Seita F, Eid Y, Pelage JP, Lebreton G, Menahem B, Alves A, Morello R, **Fohlen A**. Impact de la sarcopénie diagnostiquée en imagerie sur la morbi-mortalité des patients opérés d'un cancer du rectum. JFR 2019, Paris, 11-14 septembre 2019.

## Communications sur invitation

1. **Fohlen A**, Goupil J, Le Pennec V, Pelage JP. Place de l'embolisation dans la prise en charge des hémorragies du post partum. Xèmes journées algéro-françaises d'Imagerie médicale, SARIM, Alger, 4-5 juin 2010.
2. **Fohlen A**, Goupil J, Le Pennec V, Pelage JP. Nouveautés en embolisation. Xèmes journées algéro-françaises d'Imagerire médicale, SARIM, Alger, 4-5 juin 2010
3. **Fohlen A,** Barbey A. Embolisation pelvienne. Journées des manipulateurs en électroradiologie 2011, Caen.
4. **Fohlen A,** Pelage JP. Detachable coils. Practical discussion. Global Embolization symposium GEST, Paris, 27-30 avril 2011.
5. **Fohlen A.** Mythes et réalités en imagerie médicale aux urgences. Journée de la Médecine d'urgence, Cabourg, 23 mars 2012.
6. **Fohlen A.** Pédagogie des Nouvelles Techniques Interventionnelles "avis des enseignés" en radiologie interventionnelle. 1er Congrès de Pédagogie des Nouvelles Techniques Interventionnelles, Clermont-Ferrand, 28-30 mars 2012.
7. **Fohlen A.** Démographie en imagerie : Le point de vue des jeunes radiologues – Impact de la Radiologie Interventionnelle. JFR 2012, Paris, 19-23 octobre 2012.
8. **Fohlen A,** Pelage JP. What's new on transcatheter embolization. AIMS (Asan International Medical Symposium), Seoul, Corée, 21-22 juin 2013.
9. **Fohlen A.** L'expérience d'une jeune radiologue interventionnelle. Session Le Radiologue soignant. JFR 2013, Paris, 18-22 octobre 2013.
10. **Fohlen A.** Nouvelles prises en charge des métastases hépatiques du cancer colorectal. Imagerie et radiologie interventionnelle : techniques de soins et techniques d'évaluation. EPU Caen, Bayer, avril 2014.
11. **Fohlen A.** Optimisation des moyens de radioprotection en radiologie interventionnelle. 55èmes journées scientifiques des manipulateurs en électroradiologie médicale 2014, Deauville, 15-17 mai 2014

12. **Fohlen A.** Optimisation de la radioprotection en Radiologie interventionnelle, utilisation d'écrans radio-atténuateurs. 23ème Séminaire du réseau régional du Grand Ouest des PCR et acteurs de la radioprotection 2014, Caen
13. **Fohlen A.** Case-Based Discussion VIII : Bronchial artery embolization. GEST 2014, San Francisco, Etats-Unis, 1-4 Mai 2014.
14. **Fohlen A**. Complex microcatheterisation techniques : cas-based discussion. CIRSE meeting, Lisbonne, 26-30 septembre 2015.
15. **Fohlen A.** Complex microcatheterisation techniques: case-based discussion. CIRSE meeting, Lisbonne 26-30 septembre 2015.
16. **Fohlen A,** Bazille C. Présentation du cas n°4. XIV ème confrontations radiologie-pathologie de l'Hôpital Beaujon. Clichy, Juin 2016.
17. **Fohlen A.** Actualités sur les traitements endo-vasculaires du CHC. 1ères rencontres du G5 (organisées par Bayer) 2016, Forges-les-Eaux
18. **Fohlen A,** Bazille C. Présentation d'un cas clinique d'héaptocholangiocarcinome. XIVème confrontations radiologie-pathologie de l'Hôpital Beaujon 2016, Clichy, Juin 2016
19. **Fohlen A.** Quelle place pour la radiologie interventionnelle devant un saignement digestif ? Journées de Printemps de la SIAD. Paris, Mars 2017.
20. **Fohlen A.** Présentation du projet em.sim : logiciel de formation à la radioprotection. Les Rencontres de la simulation numérique en santé, SimforHealth, Caen, avril 2017.
21. **Fohlen A.** Je me protège, je protège mes patients. La radioprotection en 2017. JFICV, Deauville, 22-24 juin 2017.
22. **Fohlen A.** RI market, Colles adhésives : des études in vitro à la clinique. Partie : études in vitro. JFICV, Deauville, 22-24 juin 2017.
23. **Fohlen A.** Chimioembolisation : enquête sur les pratiques. Interbreizh (rencontres des RI de l'Ouest, JF Heautot). Dinard, Septembre 2017.
24. **Fohlen A.** Les urgences hémorragiques. JBIUA 2017 (Journées Bisontines Imagerie Urgences Abdominales, Pr Delabrousse), Besançon, septembre 2017
25. **Fohlen A.** Pour ou contre la radioembolisation. Réunion du G5 sur le CHC, Amiens, Novembre 2017.
26. **Fohlen A.** Le juste traitement. La grande conférence des JFR sur l'Imagerie Juste. JFR 2018, Paris, 11-15 octobre 2018.
27. **Fohlen A.** Optimisation de la chimioembolisation. Réunion du G5 sur le CHC, Caen Novembre 2018.

## Publications didactiques

1. **Fohlen A,** Pelage JP. Particulate agents: permanent. In Kessel D, Ray C, eds. Transcatheter embolization and therapy. Springer, Guildford, 2009.
2. Kahn V, **Fohlen A**, Pelage JP. Role of embolization in the management of uterine fibroids. J Gynecol Obstet Biol Reprod. 2010 ; 40 : 918-27.
3. Pelage JP, **Fohlen A**, Le Pennec V. Role of arterial embolization in the management of postpartum hemorrhage. J Gynecol Obstet Biol Reprod. 2014 ; 43 : 1063-82.
4. Lecomte JC, Rouabah K, **Fohlen A**, Loffroy R. Mémo de Radiologie pour l'interne, chapitre radiologie interventionnelle. Edité en octobre 2016, JFR, Paris.

## Responsabilités éditoriales

Veille scientifique pour la FIU (2013-2016)
Veille scientifique pour la FRI (2013-2016)

## Organisation de congrès

Organisation du Village de la Radiologie Interventionnelle VRI aux JFR depuis 2012
Co-organisation de la journée pour les congressistes juniors JFICV 2017 (Dr Le Pennec, Pr Pelage)

## Appartenance à des comités de lecture / comité de rédaction

### Revues nationales et internationales

Reviewer invité Journal de Radiologie
Reviewer invité DIII
reviewer invitée JVIR
reviewer invitée European Radiology
reviewer invité pour les abstracts scientifiques du CIRSE, depuis 2016

## Enseignement

### Enseignement 1er, 2ème, 3 ème cycle études médicales

Enseignement d'anatomie
Enseignement de radiologie
Radiologie interventionnelle pédiatrique, Journées de DES, Amiens, Décembre 2015
Embolisation des fibromes utérins, Ecole de l'Embolisation, Marseille, Mars 2016
Embolisation du post-partum, Ecole de l'Embolisation, Marseille, Mars 2016
Co-rédactrice du chapitre sur la RI dans le livret de l'interne (2016)
DIU Interventionnelle Oncologique (T De Baere), Drainage et biopsies biliaires, mars 2018

### Master

Enseignement au Master 2 UE IMAB 9, imagerie pelvienne, 3 heures depuis 2012
Enseignement au Master 1, imagerie abdomino-pelvienne, 2 heures en 2014 et 2015

### IFMEM (Institut de Fromation des Manipulateurs en Electro radiologie Médicale)

Enseignement de radiologie diagnostique abdomino-pelvienne

### Ecole de sage-femme

Enseignement d'anatomie

### Infirmières

Enseignement sur l'entretien des PICCs aux infirmières du CHU de Caen, dans le cadre du DPC, de 2013 à 2016.

### Autres

DESC de médecine d'urgence
Logiciel type serious game pour la formation en radioprotection en radiologie interventionnelle : em.sims
Proctoring pour la société COOK sur l'entretien et la pose du PICC , depuis 2011
Cours aux JFR
Cours DIU RIO (Radiologie Interventionnele Oncologique)
Cours pour les gastroentérologues

## Expérience reconnaissance

Organisation de session au VRI (JFR) depuis 2012
Modération de session aux JFR

- Les gestes interventionnels quotidiens au scanner. Krause Denis, Fohlen A. VST 409-VRI- JFR 2016, Paris
- Agents d'embolisation. Fohlen A, Foussier C. SST208-VRI, JFR 2016, Paris.
- Le polytraumatisé qui saigne. Fohlen A, Pelage JP, Le Pennec V. VRI – JFR 2015, Paris
- Le polytraumatisé qui saigne. Fohlen A, Pelage JP, Le Pennec V. VRI – JFR 2016, Paris

- Communications en radiologie interventionnelle digestive. Seror O, Fohlen A. JFR 2016, Paris.
- Mauvaise nouvelle en imagerie : place de la simulation d'annonce. Fohlen A, Ollivier-Leclere Liliane. JFR 2016, Paris.
- Le polytraumatisé qui saigne. Fohlen A, Pelage JP, Le Pennec V. VRI – JFR 2017, Paris
- Session SIAD au VRI. Fohlen A, Foussier C. VRI, JFR 2017.
- Journée sur la destruction tumorale percutanée. T. De Baere, A Fohlen. Campus de la RI. JFR 2019

Modération de session à l'ECR

- Hepatocellular cancer: characterisation, response and recurrence. M.A. Bali, A. Fohlen. SS 216a-Oncologic Imaging. ECR, Vienne, Autriche, 2016.
- Imaging and predicting treatment response and outcome in oncology. SS-216- Oncologic Imaging. ECR, Vienne, Autriche, 2017.

Animation de workshop

- Coils and Plugs. Hands-on workshop. GEST Séville, Espagne, Juin 2015.
- Particles and gelfoam. Hands-on workshop. GEST Séville, Espagne, Juin 2015.

# Responsabilités collectives

## Au sein de l'Union Nationale des Internes de Radiologie UNIR

Représentante des internes de radiologie de Caen pour l'UNIR (Union Nationale des Internes en Radiologie), 2007-2008
Représentante des chefs de clinique de radiologie pour l'UNIR, 2008-2009
Trésorière de l'UNIR, 2009-2010
Présidente de l'UNIR, 2010-2011

## Au sein de l'hôpital

Responsable du secteur Uro-Digestif (depuis novembre 2016)
Membre du COPIL Radioprotection (depuis 2012)
Membre du COPIL Radiologie Interventionnelle (depuis 2014)
Membre du COPIL Qualité (depuis 2015)
Nommée Expert HAS pour la certification du CHU en Radiologie Interventionnelle (mars 2017)
Membre du conseil pédagogique et scientifique de NORSIMS (Normandie Simulation Santé) (depuis 2015)
Membre du COPIL reconstruction du CHU (activités d'interventionnelle et tertiaire) (depuis 2015)

## Au sein des sociétés savantes

FRI, depuis 2011
FIU, depuis 2013
Membre de la SFICV, depuis 2009
Membre de la SIAD, depuis 2015
Secrétaire Scientifique de la société basse normande de radiologie, 2015

## Au sein des agences sanitaires

Expert HAS pour la visite de certification du CHU en mars 2017

## Contribution à la reconnaissance et à la pérennité de la discipline au niveau local et national

Ancienne secrétaire de l'association des internes du CHU de Caen.
Secrétaire de l'association des internes du CHU de Caen, 19 mai – 10 novembre 2005
Elue au CA du SRH (Syndicat des Radiologue Hospitaliers), octobre 2012
1ère Vice Présidente de l'Union Nationale des Internes de Radiologie UNIR, 2011-2012
Représentante du SRH au G4 régional de Basse Normandie, octobre 2013
Responsable pour la Radiologie Interventionnelle publique au G4 régional, depuis 2014
Participation au Quotidien du Médecin, numéro spécial sur la radiologie. Octobre 2014.
Interview dans le Figaro : Boom de la radiologie interventionnelle. Figaro, 8 décembre 2014.

Rédaction du chapitre « le parcours de soin », dans le Livret Blanc de la Radiologie, 2016.
Oratrice au congrès Avenir Hospitalier, 15/03/2017
Réalisation d'un film pour la SFR-FRI sur la RI oncologique (2017, disponible sur you tube).

# Collaborations

## Recherche

Avec le service de Pharmacie du CHU de CAEN. Co-directrice du mémoire de DU en Pharmacie Clinique Oncologique de Melle Camille Castel (étudiante en pharmacie), Paris Descartes : Etat des lieux de la chimioembolisation par microsphères chargées à la Doxorubicine dans la prise en charge du CHC au Chu de Caen : étude coût-efficacité (juin 2014)
Membre du Conseil Scientifique de la société ESPRIMED, recherche pour l'optimisation de la radioprotection, depuis 2014
Avec l'UTC de Compiègne, Dr Anne Virginie Salsac : étude in-vitro de la polymérisation des colles
Avec le Pr Boris Guiu CHU de Montpellier : optimisation des traitements endo-vasculaires des tumeurs hépatiques
Avec les services de radiologie, de médecine nucléaire et d'hépato-gastro-entérologie de l'hôpital Henri Mondor
Avec la CardioVascular and Interventional Radiological Society of Europe CIRSE : Investrigatrice du registre européen sur la radioembolisation, depuis 2017
Avec les laboratoires Guerbet, Aulnay-sous-Bois

## Autres

Société Ingénierie
Elaboration d'un site Web d'anatomie et de pathologie vasculaires en collaboration avec la société Oréka (mai-septembre 2016)
Consortium Public-Privé
Elaboration d'un Logiciel de simulation à la formation en radioprotection, en collaboration avec la société ESPRIMED, la société OREKA, le CEA, l'ISTCN, Nucléopolis et le CHU de CAEN (EmSIMS Basics), financement européen.

## Optimisation des stratégies thérapeutiques en radiologie interventionnelle : application en embolisation et en oncologie

La radiologie interventionnelle (RI) présente des avantages indéniables. Grâce aux techniques d'embolisation, les patients présentant des hémorragies pouvant engager le pronostic vital, peuvent être traités. Les agents liquides collants peuvent être utilisés or, leur technique d'utilisation reste très empirique. Les complications des embolisations à la colle peuvent être gravissimes. Leur maniabilité peut être appréhendée. Dans la 1ère partie de ce travail nous avons étudié *in vitro* les caractéristiques de plusieurs colles et notamment les dernières mises sur le marché (Glubran 2 et Purefill, par rapport à l'Histoacryl), en fonction de leur préparation (température, ratio du mélange avec le lipiodol). Nous avons également étudié les temps caractéristiques de ces 3 colles. La 2ème partie de ce travail a porté sur la RI appliquée à l'oncologie. Elle est scindée en plusieurs travaux ayant comme objectif commun l'optimisation des techniques de RI en hépato-biliaire. Une étude clinique a porté sur l'intérêt et la sécurité des biopsies endobiliaires. Une étude a consisté en la réalisation d'une enquête de pratiques en chimio-embolisation artérielle (TACE) du carcinome hépato-cellulaire en France. Deux études ont porté sur la recherche *in vitro* du ou des meilleurs agents cytotoxiques sur des lignées cellulaires (mélanomes de l'uvée murines µ2 et µ2F et humaines mel 270 et OMM 1.3 et de cancer colo-rectal HT29, SW 48, SW 480, SW 620, HCT116, CaCo2) en condition de temps d'exposition court (30 minutes) pour imiter les conditions de TACE. L'objectif final était de pouvoir trouver le ou les agents cytotoxiques les plus efficaces pour optimiser les traitements par TACE des métastases hépatiques de ces 2 origines. Pour les mélanomes de l'uvée, il est apparu que le paclitaxel était significativement le meilleur agent parmi ceux testés. Pour les cellules de CRC, l'idarubicine était le meilleur agent cytotoxique, suivi par la gemcitabine Un dernier travail a été réalisé pour appréhender *in vitro* la partie embolisation de la TACE. L'embolisation a été assimilée à une hypoxie. Nous avons ainsi pu évaluer l'effet de l'hypoxie à 2 niveaux (1 % et 0.2 %) sur la viabilité cellulaire, après que celles-ci aient été mises en contact (30 minutes) avec de la chimiothérapie. Une hypoxie sévère entraine une chimiorésistance dans ces conditions d'évaluation. Ces travaux doivent amener à des études sur modèle animal ainsi qu'à la mise en place d'essais cliniques.

## Optimization of therapeutic strategies in interventional radiology : application in embolization and oncology

Interventional radiology (IR) has undeniable advantages. With embolization techniques, patients with potentially life-threatening haemorrhage can be treated. Glue can be used but, their technique of use remains very empirical. The complications of glue embolization can be very serious. Their maneuverability can be apprehended. In the first part of this work we studied in vitro the characteristics of several glues and in particular the latest releases on the market (Glubran 2 and Purefill, compared to Histoacryl), according to their preparation (temperature, mixing ratio with lipiodol). We also studied the characteristic times of these 3 glues. The second part of this work focused on the RI applied to oncology. It is divided into several works with the common objective of optimizing the RI techniques in hepatobiliary. A clinical study focused on the interest and safety of endobiliary biopsies. A study consisted in the realization of a survey of practices in arterial chemo-embolization (TACE) of hepatocellular carcinoma in France. Two studies focused on in vitro research of the best cytotoxic agent (s) on cell lines (uveal melanoma murine u2 and µ2F and human mel 270 and OMM 1.3 and colorectal cancer HT29, SW 48, SW 480, SW 620, HCT116, CaCo2) under short exposure time (30 min) to mimic TACE conditions. For uveal melanomas, it was found that paclitaxel was significantly the best agent among those tested. For CRC cells, idarubicin was the best cytotoxic agent, followed by gemcitabine. The ultimate goal was to find the most effective cytotoxic agent (s) to optimize the TACE treatment of liver metastases from these 2 origins. A final work was done to apprehend in vitro the embolization part of the TACE. Embolization has been equated with hypoxia. We were able to evaluate the effect of 2-level hypoxia (1% and 0.2%) on cell viability after they were exposed (30 minutes) with chemotherapy. Severe hypoxia leads to chemoresistance under these conditions of evaluation. This work should lead to studies on animal models as well as the establishment of clinical trials.

Mots clés : oncologie, mélanome de l'uvée, cancer colorectal, embolisation, hypoxie, radiologie interventionnelle
Discipline : recherche clinique, innovation technologique, sante publique
Adresse du laboratoire : ISTCT, UMR 6030 – CNRS, CEA, Université de Caen-Normandie
GIP Cyceron,
Boulevard Henri Becquerel,
14000 Caen, France