

THESE

PRESENTEE ET PUBLIQUEMENT SOUTENUE DEVANT LA
FACULTE DE PHARMACIE DE MARSEILLE

LE 23 OCTOBRE 2020

PAR

Mme Rosy APINIAN

Née le 18 JUIN 1994 à MARSEILLE (FRANCE)

EN VUE D'OBTENIR

LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN
PHARMACIE

TITRE :

**Utilisation de la technique de chimioembolisation transartérielle
lipiodolée pour le traitement des carcinomes hépatocellulaires :
application au GNS561**

JURY :

Président :

Pr Alain NICOLAY

Directeur de Thèse :

Dr Véronique ANDRIEU

Membres du Jury :

Dr Cindy SERDJEBI
Mr Cyrille DROUOT
Dr Madani RACHID

27 Boulevard Jean Moulin – 13385 MARSEILLE Cedex 05
Tel. : 04 91 83 55 00 – Fax : 04 91 80 26 12

ADMINISTRATION :

Doyen : Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
Vice-Doyens : M. Jean-Paul BORG, M. François DEVRED, M. Pascal RATHELOT
Chargés de Mission : Mme Pascale BARBIER, M. David BERGE-LEFRANC, Mme Manon CARRE, Mme Caroline DUCROS, Mme Frédérique GRIMALDI, M. Guillaume HACHE
Conseiller du Doyen : M. Patrice VANELLE
Doyens honoraires : M. Patrice VANELLE, M. Pierre TIMON-DAVID,
Professeurs émérites : M. José SAMPOL, M. Athanassios ILIADIS, M. Henri PORTUGAL, M. Philippe CHARPIOT
Professeurs honoraires : M. Guy BALANSARD, M. Yves BARRA, Mme Claudette BRIAND, M. Jacques CATALIN, Mme Andrée CREMIEUX, M. Aimé CREVAT, M. Gérard DUMENIL, M. Alain DURAND, Mme Danielle GARÇON, M. Maurice JALFRE, M. Joseph JOACHIM, M. Maurice LANZA, M. José MALDONADO, M. Patrick REGLI, M. Jean-Claude SARI
Chef des Services Administratifs : Mme Florence GAUREL
Chef de Cabinet : Mme Aurélie BELENGUER
Responsable de la Scolarité : Mme Nathalie BESNARD

DEPARTEMENT BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE
Responsable : Professeur Philippe PICCERELLE

PROFESSEURS

BIOPHYSIQUE	M. Vincent PEYROT M. Hervé KOVACIC
GENIE GENETIQUE ET BIOINGENIERIE	M. Christophe DUBOIS
PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE, BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE	M. Philippe PICCERELLE

MAITRES DE CONFERENCES

BIOPHYSIQUE	M. Robert GILLI Mme Odile RIMET-GASPARINI Mme Pascale BARBIER M. François DEVRED Mme Manon CARRE M. Gilles BREUZARD Mme Alessandra PAGANO
GENIE GENETIQUE ET BIOTECHNOLOGIE	M. Eric SEREE-PACHA Mme Véronique REY-BOURGAREL
PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE, BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE	M. Pascal PRINDERRE M. Emmanuel CAUTURE Mme Véronique ANDRIEU Mme Marie-Pierre SAVELLI
BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE ET BIOTHERAPIES PHARMACO ECONOMIE, E-SANTE	M. Jérémy MAGALON Mme Carole SIANI

ENSEIGNANTS CONTRACTUELS

ANGLAIS	Mme Angélique GOODWIN
---------	-----------------------

DEPARTEMENT BIOLOGIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Françoise DIGNAT-GEORGE

PROFESSEURS

BIOLOGIE CELLULAIRE	M. Jean-Paul BORG
HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Françoise DIGNAT-GEORGE Mme Laurence CAMOIN-JAU Mme Florence SABATIER-MALATERRE Mme Nathalie BARDIN
MICROBIOLOGIE	M. Jean-Marc ROLAIN M. Philippe COLSON
PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE	Mme Nadine AZAS-KREDER

- 2 -

MAITRES DE CONFERENCES

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE	M. Thierry AUGIER M. Edouard LAMY Mme Alexandrine BERTAUD Mme Claire CERINI Mme Edwige TELLIER M. Stéphane POITEVIN
HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Aurélie LEROYER M. Romaric LACROIX Mme Sylvie COINTE
MICROBIOLOGIE	Mme Michèle LAGET Mme Anne DAVIN-REGLI Mme Véronique ROUX M. Fadi BITTAR Mme Isabelle PAGNIER Mme Sophie EDOUARD M. Seydina Mouhamadou DIENE
PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE	Mme Carole DI GIORGIO M. Aurélien DUMETRE Mme Magali CASANOVA Mme Anita COHEN
BIOLOGIE CELLULAIRE	Mme Anne-Catherine LOUHMEAU

ATER

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE	Mme Anne-Claire DUCHEZ
BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE	Mme Alexandra WALTON

A.H.U.

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Mélanie VELIER
----------------------------	--------------------

DEPARTEMENT CHIMIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Patrice VANELLE

PROFESSEURS

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine BADENS
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. David BERGE-LEFRANC
CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE – CHIMIE THERAPEUTIQUE	M. Pascal RATHELOT M. Maxime CROZET
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE	M. Patrice VANELLE M. Thierry TERME
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOGNOSIE	Mme Evelyne OLLIVIER

- 3 -

MAITRES DE CONFERENCES

BOTANIQUE ET CRYPTO GAMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE	Mme Anne FAVEL Mme Joëlle MOULIN-TRAFFORT
CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine DEFOORT M. Alain NICOLAY Mme Estelle WOLFF Mme Elise LOMBARD Mme Camille DESGROUAS M. Charles DESMARCHELIER
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Pierre REBOUILLON
CHIMIE THERAPEUTIQUE	Mme Sandrine ALIBERT Mme Caroline DUCROS M. Marc MONTANA Mme Manon ROCHE Mme Fanny MATHIAS
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE HYDROLOGIE	M. Armand GELLIS M. Christophe CURTI Mme Julie BROGGI M. Nicolas PRIMAS M. Cédric SPITZ M. Sébastien REDON
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE	M. Riad ELIAS Mme Valérie MAHIOU-LEDDET Mme Sok Siya BUN Mme Béatrice BAGHDIKIAN

MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Anne-Marie PENET-LOREC
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Cyril PUJOL
DROIT ET ECONOMIE DE LA PHARMACIE	M. Marc LAMBERT
GESTION PHARMACEUTIQUE, PHARMACOECONOMIE ET ETHIQUE PHARMACEUTIQUE OFFICINALE, DROIT ET COMMUNICATION PHARMACEUTIQUES A L’OFFICINE ET GESTION DE LA PHARMAFAC	Mme Félicia FERRERA

A.H.U.

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	M. Mathieu CERINO
--	-------------------

ATER

CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Dujé BURIC
---	---------------

- 4 -

DEPARTEMENT MEDICAMENT ET SECURITE SANITAIRE

Responsable : Professeur Benjamin GUILLET

PROFESSEURS

PHARMACIE CLINIQUE	M. Stéphane HONORÉ
PHARMACODYNAMIE	M. Benjamin GUILLET
TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	M. Bruno LACARELLE Mme Frédérique GRIMALDI M. Joseph CICCOLINI

MAITRES DE CONFERENCES

PHARMACODYNAMIE	M. Guillaume HACHE Mme Ahlem BOUHLEL M. Philippe GARRIGUE
PHYSIOLOGIE	Mme Sylviane LORTET Mme Emmanuelle MANOS-SAMPOL
TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	Mme Raphaëlle FANCIULLINO Mme Florence GATTACECCA
TOXICOLOGIE GENERALE ET PHARMACIE CLINIQUE	M. Pierre-Henri VILLARD Mme Caroline SOLAS-CHESNEAU Mme Marie-Anne ESTEVE

A.H.U.

PHYSIOLOGIE / PHARMACOLOGIE	Mme Anaïs MOYON
PHARMACIE CLINIQUE	M. Florian CORREARD

ATER.

TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	Mme Anne RODALLEC
----------------------------------	-------------------

- 5 -

CHARGES D'ENSEIGNEMENT A LA FACULTE
--

Mme Valérie AMIRAT-COMBRALIER, Pharmacien-Praticien hospitalier
M. Pierre BERTAULT-PERES, Pharmacien-Praticien hospitalier
Mme Marie-Hélène BERTOCCHIO, Pharmacien-Praticien hospitalier
Mme Martine BUES-CHARBIT, Pharmacien-Praticien hospitalier
M. Nicolas COSTE, Pharmacien-Praticien hospitalier
Mme Sophie GENSOLLEN, Pharmacien-Praticien hospitalier
M. Sylvain GONNET, Pharmacien titulaire
Mme Florence LEANDRO, Pharmacien adjoint
M. Stéphane PICHON, Pharmacien titulaire
M. Patrick REGGIO, Pharmacien conseil, DRSM de l'Assurance Maladie
Mme Clémence TABELLE, Pharmacien-Praticien attaché
Mme TONNEAU-PFUG, Pharmacien adjoint
M. Badr Eddine TEHHANI, Pharmacien – Praticien hospitalier
M. Joël VELLOZZI, Expert-Comptable

Mise à jour le 23 janvier 2020

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence de mes maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

- ❖ D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- ❖ D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- ❖ De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.*
- ❖ En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.*

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre, méprisé de mes confrères, si j'y manque.

« L'UNIVERSITE N'ENTEND DONNER AUCUNE
APPROBATION, NI IMPROBATION AUX
OPINIONS EMISES DANS LES THESES. CES
OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES
COMME PROPRES A LEURS AUTEURS »

REMERCIEMENTS

Au Professeur Alain NICOLAY, qui me faites l'honneur de présider le jury. Je vous remercie pour votre encadrement et pour vos enseignements tout au long de mes années d'études, et pour l'intérêt que vous avez porté à mon travail. Soyez assuré de ma profonde reconnaissance.

Au Docteur Véronique ANDRIEU, qui me faites l'honneur d'être mon Directeur de thèse. Je vous remercie pour votre disponibilité et votre bienveillance, et pour la qualité des enseignements que vous m'avez délivré pendant ces années.

A Monsieur Cyrille DROUOT, qui m'a dirigée vers ce sujet de thèse. Je vous remercie tout particulièrement pour m'avoir aidée à rédiger cette thèse, pour la lecture de mon travail, pour votre disponibilité et pour vos précieux conseils. Veuillez trouver dans ce travail, l'expression de mon respect et de ma gratitude.

Au Docteur Cindy SERDJEBI, qui a accepté avec un grand intérêt de juger ce travail. Je te remercie de m'avoir si bien accompagnée lors de mon stage. Ton dynamisme, ton sens du travail et ton éthique resteront un exemple pour moi.

Au Docteur Madani RACHID, un grand merci d'avoir accepté de participer à ce jury de thèse. Sois assuré de l'honneur que tu me fais. Je te remercie pour le partage de tes connaissances lors de mon stage.

A toute l'équipe de Genoscience Pharma, merci pour votre accueil. Je garderai toujours en souvenir nos pauses déjeuners animées par les mots fléchés, mais aussi l'implication de chacun pour faire avancer les projets malgré les difficultés.

REMERCIEMENTS

A ma maman, à mon papa,

Les mots me manquent pour exprimer toute la gratitude que je ressens. Merci pour votre soutien, pour m'avoir encouragée sans cesse et pour avoir toujours cru en moi. Un immense merci pour votre amour, vous êtes mes modèles.

A ma sœur, ma meilleure amie, Anna,

Je n'aurai sûrement jamais pu traverser toutes ses longues années d'étude sans toi. Merci d'être la sœur que tu es, aimante, drôle, compréhensive. Tu es mon soutien sans faille et je remercie toujours le Ciel de t'avoir dans ma vie.

A mes grands-parents,

Vous avez toujours cru en moi, même dans mes plus grands moments de doute. Vous m'avez soutenu dans tous mes projets, je vous aime de tout mon cœur.

A mes tantes, mes oncles, mes cousins, mes cousines,

J'ai tellement de chance de vous avoir. Merci d'avoir suivi avec intérêt mon parcours pendant toutes ces années. Je pourrais enfin vous dire que oui, j'ai fini mes études !

A ma belle-famille,

Merci pour votre accueil si chaleureux dans la famille. Vous m'avez beaucoup aidé pour cette dernière année d'étude à Paris.

A mon binôme depuis la maternelle, Marion

Tu es dans tous les meilleurs souvenirs que je garde de ces études, mais aussi de mon enfance. Je suis la plus heureuse de t'avoir à mes côtés depuis mon plus jeune âge. A nos ravalements de façade, à nos commérages, à nos chamailleries en TP pour la couleur du soulignage ...

Enfin, à mon fiancé, mon M,

Merci pour l'amour que tu me donnes, et merci de faire de moi ta priorité. Tu n'as jamais cessé de me soutenir et de m'épauler. Merci de me pousser toujours vers le haut et de toujours croire en moi. Merci pour le bonheur que tu m'apportes. A notre futur !

Avec tout mon amour, ta R.

SOMMAIRE

LISTE DES ILLUSTRATIONS	16
LISTE DES ABBREVIATIONS	18
PARTIE I LE CARCINOME HEPATOCELLULAIRE	19
1. Introduction	20
2. Physiopathologie	20
2.1 Hépatocarcinogénèse : généralités	21
2.2 Altérations physiopathologiques	22
2.3 Cirrhose et prédisposition au développement d'un CHC	23
2.4 Progression du CHC	23
3. Etiologie – facteurs de risques	24
3.1 Cirrhose	24
3.2 Virus de l'hépatite B (VHB)	24
3.3 Virus de l'hépatite C (VHC)	25
3.4 Consommation d'alcool chronique	25
3.5 Syndrome métabolique et stéatohépatite non alcoolique (NASH)	25
3.6 Aflatoxine B1	26
4. Prévention	26
5. Surveillance	27
6. Diagnostic	29
6.1 Diagnostic chez les différentes populations	29
6.2 Examens pour le diagnostic	33
6.3 Imagerie	34
6.4 Ponction biopsie du foie tumoral	35
6.5 Critères de diagnostic	35
6.6 Bilan d'extension tumorale	37
7. Classification et stratégie thérapeutique	38

7.1	Choix du traitement	40
8.	Evaluation pronostique	44
9.	Traitement	44
9.1	Traitements à visée curative	44
9.2	Traitements palliatifs	48
10.	Surveillance post-traitement	51

PARTIE 2 LA CHIMIOEMBOLISATION TRANS-HEPATIQUE (TACE) 53

1.	Anatomie du foie et principe de la TACE	54
1.1	Anatomie du foie	54
1.2	Principe de la TACE	55
1.3	Avantages de la TACE	55
2.	Sélection des patients	56
3.	Techniques de chimioembolisation	57
3.1	La TACE	57
3.2	La DEB-TACE	57
3.3	Comparaison de la TACE et de la DEB-TACE	58
4.	Agent vecteur : le lipiodol	58
4.1	Propriétés pharmacodynamiques	58
4.2	Propriétés pharmacocinétiques	59
4.3	Données de sécurité préclinique	59
4.4	Contre-indications	60
4.5	Précautions d'emploi dans le cadre de la TACE	60
4.6	Conservation	61
4.7	Lipiodol et assimilation par les cellules tumorales	62
5.	Agent d'embolisation	63
5.1	Agents d'embolisation conventionnels	63
5.2	Agents d'embolisation sphériques	64
6.	La TACE en pratique	64
6.1	Préparation de l'émulsion et administration	64
6.2	Réalisation de la TACE	66
7.	Standardisation du traitement	67

7.1	Sélection des patients	68
7.2	Imagerie avant traitement	68
7.3	Préparation des patients	68
7.4	Préparation de l'injection	68
7.5	Fréquence de traitement	70
8.	Effets secondaires	70
9.	Contre-indications	71
PARTIE 3 FORMULATION : ESSAI AVEC LE GNS561		72
1.	GNS561 – besoin	73
2.	Pré-formulation	74
3.	Tests de solubilité – compatibilité du GNS561 avec le Lipiodol	76
3.1	Au sein du laboratoire de Genoscience Pharma	76
3.2	Chez le laboratoire partenaire	77
4	Solubilité du GNS 561 dans un mélange Lipiodol/Ethanol	78
4.1	Chez Genoscience Pharma	78
4.2	Chez le laboratoire partenaire	80
5	Résultats de stabilité pour les solutions et suspensions de GNS561	81
5.1	Chez Genoscience Pharma	81
5.2	Chez le laboratoire partenaire	84
5.3	Conclusion	87
6	Perspectives techniques	88
6.1	Perspectives concernant la fabrication chimique et le contrôle	88
6.2	Validation in vivo	90
CONCLUSION ET PERSPECTIVES CLINIQUES		91
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES		92

LISTE DES ILLUSTRATIONS

LISTE DES FIGURES

Figure 1 Hépatocarcinogénèse multi-étapes	22
Figure 2 Etapes de diagnostic du CHC	32
Figure 3 Choix du traitement en fonction du stade de CHC	43
Figure 4 Circulation du sang et de la bile dans le foie	54
Figure 5 Préparation d'une émulsion pour chimioembolisation lipiodolée	65
Figure 6 Observations au microscope optique des suspensions de GNS561 dans du lipiodol à 10 mg/mL	86
Figure 7 Observations au microscope optique de suspension de GNS561/Lipiodol à 20 mg/mL	86
Figure 8 Superposition chromatogrammes (Diluent, Echantillon dégradé et Echantillon non dégradé)	89

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 Echelle de statut de performance - ECOG	38
Tableau 2 Score de Child-Pugh	39
Tableau 3 Classification BCLC	42
Tableau 4 Version simplifiée du score AFP	46
Tableau 5 Recommandations pour la surveillance post-traitement du CHC (issu des recommandations du groupe de travail pluridisciplinaire de professionnels des réseaux régionaux de cancérologie de Lorraine, d'Alsace et de Franche-Comté	52
Tableau 6 Contreindications absolues et relatives de la TACE chez les patients CHC (adapté de Raoul et al)	71
Tableau 7 Comparaison du lipiodol avec des huiles végétales	74
Tableau 8 Préparation de GNS561 dans l'huile d'œillette	75
Tableau 9 Observation de la solubilité du GNS561 dans le lipiodol	76
Tableau 10 Solubilité du GNS561 dans le Lipidol - détermination par HPLC	77

Tableau 11 Concentration en GNS561 dans le surnageant après 3 jours - détermination par HPLC	77
Tableau 12 Solubilité du GNS561 dans l'éthanol	79
Tableau 13 Solubilité du GNS561 dans des mélanges Lipiodol/éthanol.....	79
Tableau 14 Solubilité du GNS561 dans un mélange lipiodol/éthanol - détermination par HPLC.....	80
Tableau 15 Données de stabilité des mélanges GNS561/Lipiodol.....	81
Tableau 16 Données de stabilité des mélanges GNS561/Ethanol et GNS561/Lipiodol/Ethanol.....	82
Tableau 17 Données de stabilité des solutions de GNS561/Lipiodol.....	84
Tableau 18 Données de stabilité des suspensions de GNS561 dans du lipiodol	85
Tableau 19 Résultats de stabilité sur échantillon non dégradé et dégradé (3h à 160°C) ...	88

LISTE DES ABBREVIATIONS

AFP : Alpha-foetoprotéine

BCLC : Barcelona Clinic Liver Cancer

CHC : Carcinome hépatocellulaire

CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer

CT-Scan : Computerized-tomography Scan

EASL : European Association for the Study of the Liver

FDG-PET : tomographie par émission de positrons au F-fluorodésoxyglucose

IRM : Imagerie par résonnance magnétique

LI-RADS : Liver Imaging Reporting and Data System

NASH : Stéatohépatite non alcoolique

PAV : Particules d'alcool polyvinylique

RCP : Réunion de concertation pluridisciplinaire

TACE : Chimioembolisation transartérielle

TEP : tomographie par émission de positrons

TDM : Tomodensitométrie

VHB : Virus de l'hépatite B

VHC : Virus de l'hépatite C

PARTIE I

LE CARCINOME HEPATOCELLULAIRE

1. Introduction

Selon la base de données Globocan 2018 publiée par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC), le nombre de nouveau cas de cancer du foie en 2018 est estimé à 841 000 (1).

Le carcinome hépatocellulaire (CHC) représente plus de 85% des cancers primitifs du foie (2). Il s'agit dans la plupart des cas d'une complication de maladies chroniques du foie, en particulier celles liées au virus de l'hépatite B (VHB) et au virus de l'hépatite C (VHC).

La répartition géographique est hétérogène, avec des zones de très haute incidence en Asie du Sud-Est et en Afrique noire et une incidence plus faible en Europe du Nord. Néanmoins, la mortalité par CHC dans l'Union Européenne a été estimée à environ 60 000 décès en Europe et 18 000 aux États-Unis en 2008 et tant à une augmentation de ces cas selon des estimations faites pour 2020 (3).

En France, l'incidence annuelle en 2012 était de 12,1/100000 chez l'homme et de 2,4/100000 chez la femme.

2. Physiopathologie

Le CHC est une pathologie dont la survenue est liée à des facteurs environnementaux, alimentaires et de mode de vie. Le CHC se développe le plus souvent sur un foie qui n'est pas sain, notamment dans un contexte de cirrhose (75 à 80% des cas), de pathologie hépatique chronique, ou en association avec des maladies héréditaires telles que l'hémochromatose, la maladie de Wilson ou une déficience en α -1-antitrypsine (4). 15 à 20% des cas surviennent néanmoins sur un foie qui n'est pas fibrosé.

Le CHC est une tumeur épithéliale maligne, dont la différenciation est hépatocytaire.

Les deux principaux types de CHC sont :

- Le carcinome hépatocellulaire fibrolamellaire qui concerne les sujets jeunes et qui survient le plus souvent sur un foie non cirrhotique

- L'hépato-cholangiocarcinome, une tumeur hépatique mixte rare qui présente des caractéristiques du CHC et du cholangiocarcinome (cancer des voies biliaires)

2.1 Hépatocarcinogénèse : généralités

L'hépatocarcinogénèse est le processus de formation du CHC. C'est un processus complexe caractérisé par une dédifférenciation cellulaire et moléculaire progressive des hépatocytes. Les hépatocytes néoplasiques peuvent éventuellement développer un phénotype malin. Ces cellules malignes ont la capacité d'envahir les vaisseaux et de se développer en métastases.

Plusieurs CHC peuvent se développer de manière indépendante dans différentes parties du foie. On parle alors de CHC multinodulaire.

D'un point de vue moléculaire, l'hépatocarcinogénèse se distingue toujours en plusieurs phases. Les altérations peuvent être génétiques ou épigénétiques :

- Les altérations génétiques sont des mutations dans les séquences d'ADN : elles ont pour conséquence des changements de structure et de fonction des protéines
- Les altérations épigénétiques sont des modifications de l'ADN telles que la méthylation, qui modifient l'activation des gènes mais qui ne changent pas la séquence en elle-même. Elles ont pour conséquence des protéines plus ou moins exprimées.

D'un point de vue histologique, l'hépatocarcinogénèse peut se distinguer en plusieurs étapes ou être de novo :

- L'hépatocarcinogénèse en plusieurs étapes fait référence à l'émergence de nodules plus agressifs et histologiquement caractérisables au sein de nodules précurseurs. Au fil du temps, les nodules ainsi développés deviennent plus agressifs et remplacent les nodules précurseurs. Les tumeurs sont initialement

bénignes d'un point de vue histologique. Des nodules néoplasiques émergent progressivement, jusqu'à avoir un phénotype malin (voir Figure 1).

- L'hépatocarcinogénèse de novo fait référence à l'émergence de CHC sans lésions précurseurs caractérisables.

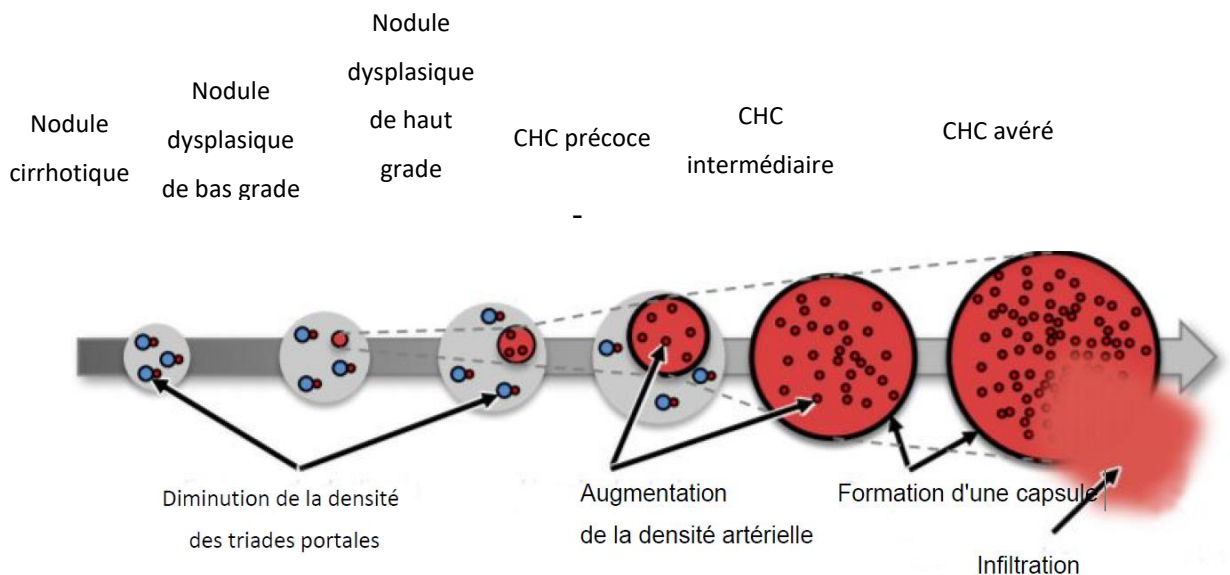


Figure 1 Hépatocarcinogénèse multi-étapes

2.2 Altérations physiopathologiques

Des altérations physiopathologiques caractéristiques ont lieu lors de l'hépatocarcinogénèse multi-étapes, qui incluent :

- Une croissance nodulaire
- La réduction progressive des triades portales du foie (les triades portales sont les espaces portaux qui regroupent un petit canal biliaire, une artériole et une veinule) à cause de l'invasion stromale qui entraîne leur destruction
- Une diminution du nombre de transporteurs d'anions organiques (OAT)
- D'abord une réduction du flux artériel suivie de son augmentation
- L'accumulation de fer dans les premières étapes de l'hépatocarcinogénèse, suivi par une diminution de ce taux de fer ou une résistance au fer

2.3 Cirrhose et prédisposition au développement d'un CHC

La cirrhose est fortement associée au CHC. La cirrhose et l'hépatocarcinogénèse sont des processus qui se développent sur plusieurs années, en parallèle, à partir d'une cause commune : l'inflammation chronique(5).

Cette inflammation chronique a un rôle essentiel dans le développement du CHC car elle crée des cycles répétés d'atteinte cellulaire, de nécrose et de régénération. Ce cycle provoque des altérations épigénétiques et des mutations. Les hépatocytes prolifèrent en réponse à ces altérations, et provoquent la prolifération monoclonale de ces anomalies moléculaires.

Ces altérations moléculaires débutent lors d'une phase pré-néoplasique, bien avant la cirrhose.

Lorsque l'hépatopathie progresse et que le diagnostic de cirrhose est posé, les altérations génétiques et épigénétiques progressent dans une phase néoplasique caractérisée par des changements importants du génome, qui incluent des délétions chromosomiales et des réarrangements, l'amplification de l'expression de certains gènes et d'autres mutation. L'ensemble de ces altérations résultent en cellules capables de se développer de manière autonome, d'envahir les vaisseaux et de métastaser.

2.4 Progression du CHC

Quelle que soit l'origine du CHC, il peut progresser de différentes manières :

- Envahissement des parenchymes qui l'entoure
- Invasion des sinusoides et des vaisseaux avec une éventuelle dissémination au parenchyme adjacent (nodule satellite), au parenchyme non adjacent (métastases intrahépatiques), aux organes
- Invasion lymphatique

3. Etiologie – facteurs de risques

Environ 90% des CHC sont associés à une pathologie hépatique chronique sous-jacente, généralement au stade de cirrhose. La cirrhose est l'évolution d'une hépatopathie qui peut être :

- D'origine virale (hépatite B, hépatite C)
- Liée à une consommation chronique d'alcool
- D'origine génétique (hémochromatose, troubles métaboliques)
- Liée à une exposition à l'aflatoxine a1.

En Afrique et en Asie de l'Est, 60% des cas sont liés à une hépatite B chronique. Dans les pays occidentaux, seulement 20% des cas sont liés à une hépatite B virale : le facteur de risque majeur est plutôt l'hépatite C chronique.

A l'échelle mondiale, environ 54% des cas sont liés à une infection virale à l'hépatite B chronique et 31% des cas à une infection virale à hépatite C chronique. Environ 15% des cas seraient donc liés à d'autres causes(6).

En France, c'est la consommation excessive chronique d'alcool est qui est responsable de la majorité des cas de CHC.

3.1 Cirrhose

La cirrhose est le facteur de risque majeur de CHC.

Au sein des patients cirrhotiques, l'âge supérieur à 50 ans représente un risque plus important de développer un CHC. De plus, plus la cirrhose est sévère (score de Child-Pugh élevé et hypertension portale), plus le risque est important, notamment si la cirrhose est associée à une infection virale : l'association de cofacteurs augmente d'autant plus ce risque(7).

3.2 Virus de l'hépatite B (VHB)

Le VHB participe à la carcinogenèse hépatique par la survenue de la cirrhose et par le processus de mutagenèse insertionnelle. Le CHC lié au VHB peut ainsi se développer sur

un foie non cirrhotique. L'existence d'une charge virale élevée est un facteur de risque important de survenue du CHC.

3.3 Virus de l'hépatite C (VHC)

Une charge virale détectable persistante est associée à un risque de développer un CHC : l'éradication du virus réduit ce risque.

Si le patient souffre d'une cirrhose, la suppression de la charge virale ne supprime pas le risque de développer un CHC.

Il est à noter cependant que le pouvoir oncogénique du VHC est plus limité que celui du VHB(8).

3.4 Consommation d'alcool chronique

C'est une des causes majeures de cirrhose puis de CHC dans les pays industrialisés.

L'effet de l'alcool est lié à des mécanismes directs (effet génotoxiques) ou à des mécanismes indirects liés à la stéatohépatite et à la cirrhose.

Après un an d'arrêt de consommation d'alcool, le risque de CHC diminue de 6 à 7%, mais il faudrait un sevrage de plus de 20 ans pour que l'incidence chez ces patients soit la même que pour des patients qui ne consomment pas d'alcool. (9)

3.5 Syndrome métabolique et stéatohépatite non alcoolique (NASH)

Le syndrome métabolique désigne une association d'anomalies (au moins 3 des anomalies listées ci-dessous) liées à un excès de graisse viscérale :

- Tour de taille élevé
- Hyperglycémie
- Hypertriglycéridémie
- Hypertension artérielle
- Taux de HDL bas

La stéatose non alcoolique est la conséquence hépatique du syndrome métabolique. Sa forme la plus sévère est la stéatohépatite non alcoolique (NASH). 8 à 26% des patients

atteints de la NASH évolueront vers la cirrhose. Selon une étude récente, le risque de développer un CHC chez des patients ayant une cirrhose secondaire à une NASH est proche du risque de développer un CHC chez les patients ayant une cirrhose liée à une hépatite virale C(10).

L'obésité et le diabète sont également des facteurs de risque de CHC.

3.6 Aflatoxine B1

Un cofacteur au développement du CHC est l'exposition alimentaire à l'aflatoxine B1, notamment en Afrique et en Asie. L'aflatoxine B1 est en effet l'un des plus puissants cancérogènes génotoxiques naturels dont l'organe cible est le foie. L'exposition à l'aflatoxine B1 provient essentiellement des noix, des graines et de leurs produits dérivés contaminés.

4. Prévention

La prévention primaire consiste en la réduction à l'exposition aux facteurs de risques d'apparition de pathologies hépatiques chroniques :

- Hépatites virales :
 - La vaccination est la principale mesure de prévention du VHB en améliorant par exemple la stratégie de vaccination pour le VHB (au niveau mondial) ; elle permettrait de réduire à terme le nombre de porteurs.
 - Il n'existe pas de vaccin pour le VHC. Des campagnes d'information insistant sur la transmission du VHC pourraient être diffusées à grande échelle. L'éradication de l'infection par un traitement antiviral pourrait également diminuer fortement le risque.
- Alcoolisme chronique : informer sur les dangers de l'abus d'alcool, si un sevrage total semble trop difficile, préconiser de limiter la consommation journalière
- NASH : préconiser une alimentation saine et équilibrée, ainsi qu'une activité physique adaptée

- Aflatoxines : améliorer les conditions de stockage des aliments pour éviter l'exposition aux aflatoxines et la contamination des récoltes

L'objectif de la prévention secondaire est de réduire le risque de développer un CHC chez les patients atteints de cirrhose.

5. Surveillance

La surveillance consiste à réaliser des tests diagnostiques de manière périodique sur des patients à risque de développer une maladie. L'objectif de la surveillance des patients est la diminution de la mortalité liée à la maladie, en diagnostiquant la maladie à un stade précoce, rendant le patient éligible aux thérapies disponibles.

Un essai randomisé a étudié la surveillance des CHC par échographie. La mortalité liée au CHC a été diminuée de 37% dans le bras sous surveillance car le traitement par résection était applicable dans les cas détectés (11).

L'Association Européenne pour l'Étude du Foie (AESL) recommande dans sa guideline que la surveillance soit réalisée pour certaines catégories de patients qui sont à haut risque de développer un CHC :

- Les patients cirrhotiques, avec un score Child-Pugh A ou B
- Les patients cirrhotiques, avec un score Child Pugh C en attente de transplantation hépatique
- Les patients non-cirrhotiques, atteints du VHB, avec un risque intermédiaire ou élevé de CHC
- Les patients non cirrhotiques F3, quelle que soit l'étiologie, selon une évaluation du risque pour chaque patient

La méthode de choix pour la surveillance du CHC est l'échographie, avec une sensibilité pouvant aller jusqu'à 89% et une spécificité supérieure à 90% (12). Il s'agit de plus d'une méthode non-invasive, sans risque et facilement acceptée par les patients. Un autre avantage est que l'échographie permet également de détecter d'autres complications de la cirrhose à un stade précoce, telles que les ascites subcliniques ou les thromboses de la veine portale.

Une méta-analyse incluant 19 essais cliniques (13) a démontré que la surveillance par échographie permet de détecter la majorité des CHC avant leur expression clinique, avec une sensibilité de 94%. Les stades précoces de CHC étaient cependant moins bien détectés, avec une sensibilité de seulement 63%.

La détection du CHC par échographie reste cependant compliquée sur un foie cirrhotique, et nécessite une formation spéciale car la détection dépend beaucoup de l'expertise de l'opérateur et de la qualité des équipements.

Le biomarqueur le plus testé pour le CHC est l'alpha-fetoprotéine (AFP). En effet, un taux élevé d'AFP de manière persistante peut être un facteur de risque de développer un CHC, et peut permettre de définir les populations à haut risque. Cependant, la sensibilité de 60% et la spécificité de 80% limitent son interprétation(14), et le dosage sanguin de l'AFP n'est pas non plus retenu comme un outil de dépistage de CHC car le dosage et les seuils sont très variables.

La surveillance devrait être réalisée tous les 6 mois : des études de rapport coût/efficacité ont démontré qu'une surveillance basée sur l'échographie tous les 6 mois permet d'améliorer l'espérance de vie en terme d'année de vie pondérée par la qualité à un coût relativement raisonnable(15).

Les recommandations européennes préconisent donc un dépistage tous les 6 mois, par échographie abdominale. Le rapport coût-efficacité étant faible pour le scanner abdominal ou l'imagerie par résonance magnétique (IRM) ne sont plus retenus comme

étant un outil systématique de dépistage. Ils restent cependant utiles pour les patients pour lesquels l'échographie est difficile (obésité, malformation de la colonne vertébrale...).

6. Diagnostic

6.1 Diagnostic chez les différentes populations

On peut distinguer deux circonstances de diagnostic d'un CHC :

- La découverte d'un nodule chez un patient sans hépatopathie chronique sous-jacente connue
- La découverte d'un nodule chez un patient ayant une hépatopathie chronique sous-jacente connue, lors d'une échographie de surveillance. L'objectif ici est de différencier le CHC d'autres lésions bénignes ou malignes

6.1.1 Chez les patients non cirrhotiques

Le CHC est souvent déjà à un stade avancé, avec un volume tumoral et des caractéristiques à l'imagerie permettant d'évoquer ce diagnostic. Toute suspicion de CHC doit cependant aussi être confirmée par une biopsie de la lésion.

6.1.2 Chez les patients cirrhotiques

Le diagnostic de CHC est souvent envisagé lorsqu'un nodule est découvert à l'échographie, ou en cas de symptômes si la tumeur est évoluée.

Les critères de diagnostic et d'évaluation des tumeurs du foie ont été actualisés par la société française de gastro-entérologie : le diagnostic de cirrhose doit être considéré comme certain mais la preuve histologique n'est plus nécessaire. Le plus souvent, le

diagnostic de cirrhose est établi sur des critères non invasifs cliniques, biologiques et des critères d'imagerie.

La preuve histologique de cirrhose, qui reste théoriquement le gold standard n'est plus exigible pour l'évaluation des tumeurs du foie.

Ces critères renouvellent la règle selon laquelle les critères non invasifs ne sont plus la référence pour le diagnostic positif du CHC. Bien que les critères de diagnostic non invasifs soient essentiels dans le diagnostic du CHC, le recours systématique à leur utilisation seule peut exposer à un risque d'erreur diagnostique, notamment si le nodule est de diamètre inférieur à 3 cm : en effet, la caractérisation de petites lésions est délicate(16). Le diagnostic des petits nodules est difficile car la sensibilité des critères non invasifs est faible pour les tumeurs de moins de 10 millimètres. Le diagnostic de CHC ne peut être affirmé que dans environ un tiers des cas.

L'utilisation exclusive des critères non invasifs est possible si le patient souffre d'une cirrhose sous-jacente, que ces critères non invasifs sont accompagnés d'exams d'imagerie et après discussion en réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP) spécialisée. Si ces conditions ne sont pas remplies, la biopsie reste nécessaire.

Entre 2000 et 2010, il y a eu un engouement particulier pour un diagnostic non invasif de CHC, c'est-à-dire un diagnostic qui était fait sur des critères d'imagerie et biologique avec le dosage d'AFP.

Le dosage de l'AFP n'a plus sa place dans les recommandations de la société savante de gastroentérologie et les critères d'imagerie doivent être considérés comme une option mais ne sont plus la référence.

Si on a recours aux critères d'imagerie, il faut savoir que deux exams font référence : soit l'angioscanner soit l'IRM hépatique. L'échographie n'est pas un examen de référence. Pour pouvoir formuler qu'il est vraisemblable qu'il existe un CHC, il faut une lésion typique hépatocytaire (hypervascularisée au temps artériel, appelé un wash-out c'est-à-dire une chute brutale de contraste aux 2 temps veineux que sont le temps portal et le

temps veineux tardif). Toute lésion qui répond à ce critère d'imagerie peut être considéré raisonnablement, comme un CHC.

Pour les lésions de moins d'un centimètre de diamètre, la caractérisation des lésions est en général impossible et une surveillance par imagerie est recommandée. La biopsie a là encore très peu de place car les nodules de moins d'un centimètre sont en général très difficile à accéder en biopsie.

La biopsie est donc la référence. Elle a à la fois une valeur diagnostique pour formuler le diagnostic de CHC et une valeur pronostique car elle permet de déterminer le grade de la tumeur.

Enfin, toute biopsie négative ne fait pas éliminer le diagnostic de CHC et doit commander une surveillance en général par une imagerie type scanner ou IRM à 3 mois puis à 6 mois.

La Figure 2 schématise ces étapes de diagnostic.

Découverte d'un nodule à l'échographie

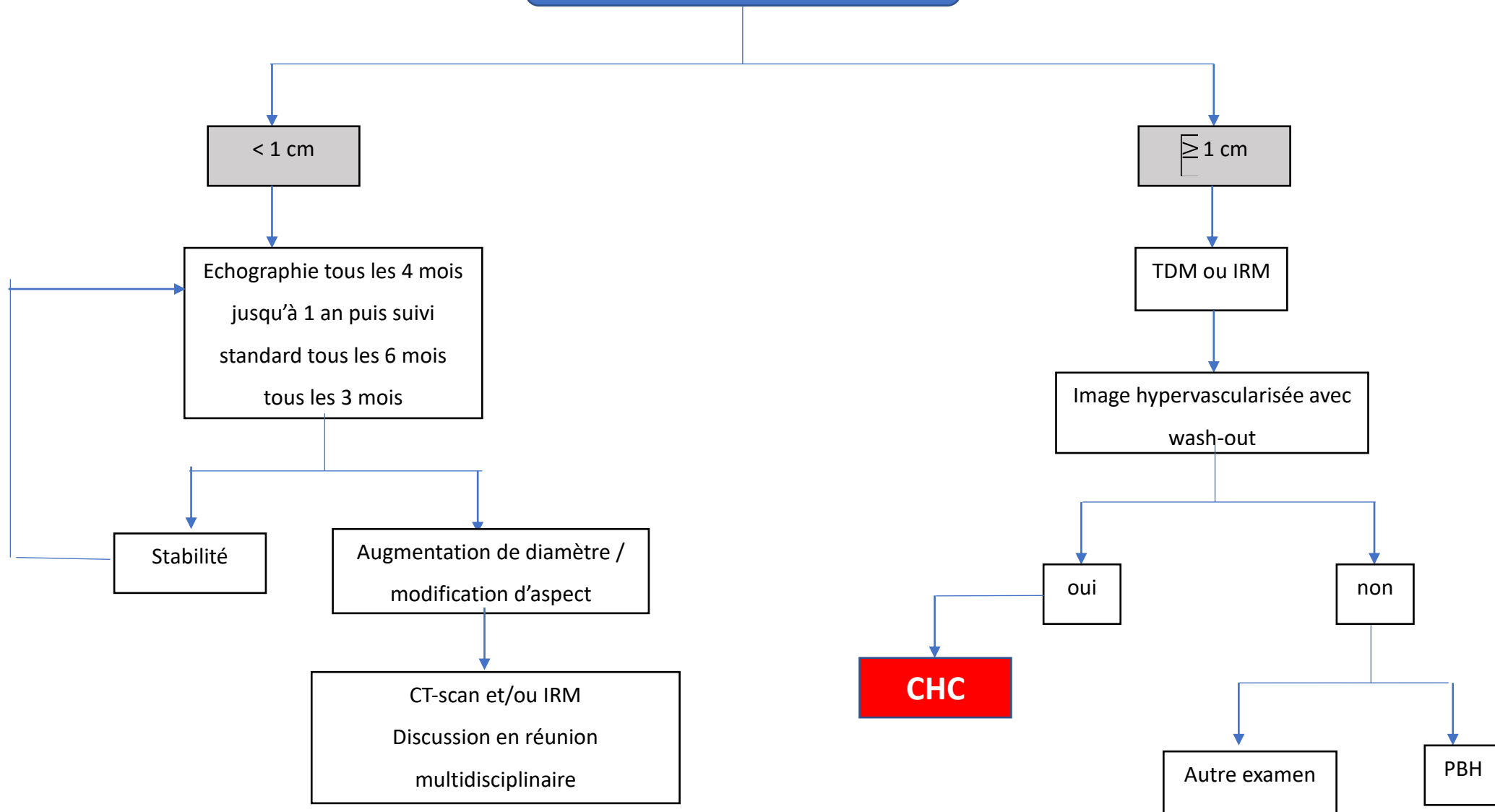


Figure 2 Etapes de diagnostic du CHC

Le diagnostic du CHC se fait le plus souvent à un stade évolué, lorsque des douleurs ou un sentiment de pesanteur sont ressentis par le patient au niveau de l'hypocondre droit, et qui au développement de la masse tumorale. D'autres signes évocateurs sont aussi une altération de l'état général et la décompensation de la cirrhose (ictère, ascite).

A ce stade évolué, le diagnostic se fait soit par imagerie dans un contexte de cirrhose, soit par biopsie du foie non tumoral. En effet, en l'absence de cirrhose et d'arguments cliniques, radiologiques ou biologiques qui permettent de l'évoquer, le diagnostic repose sur une preuve histologique.

Certaines anomalies sont évocatrices de cirrhose :

- Anomalies cliniques : angiomes stellaires, splénomégalie
- Anomalies biologiques : thrombopénie, diminution du taux de prothrombine
- Anomalies endoscopiques : varices œsophagiennes
- Anomalies visibles en imagerie : dysmorphie hépatique, signes d'hypertension portale

6.2 Examens pour le diagnostic

Le diagnostic repose sur l'étude de la vascularisation par scanner et IRM afin de caractériser le nodule.

Un diagnostic positif de CHC sans histologie peut être posé en cas d'hypervascularisation artérielle suivie d'un lavage de la lésion aux phases portale et/ou tardive chez un patient cirrhotique, pour des nodules de plus d'un centimètre.

Dans les autres cas, le diagnostic ne peut être affirmé qu'après réalisation d'une ponction-biopsie nodulaire et extra-nodulaire.

Dans 30 à 60% des cas, un diagnostic précoce du CHC est possible dans les pays développés, et permet l'administration de traitements à visée curative. Les tumeurs de moins de 2 cm de diamètre représentaient moins de 5% des cas dans le début des années

90 en Europe, mais ce pourcentage tend à augmenter, parallèlement à l'implémentation des programmes de surveillances des patients (17).

6.3 Imagerie

L'imagerie est une partie essentielle du diagnostic de CHC. Elle se base sur l'examen d'anomalies de la vascularisation hépatique qui surviennent suite à la carcinogénèse hépatique. L'objectif est de caractériser les nodules en examinant leur vascularisation.

Le système LI-RADS (Liver Imaging Reporting and Data System) est un système d'imagerie standardisé (d'un point de vue technique et d'interprétation) qui permet de définir radiologiquement plusieurs catégories de nodules (du nodule bénin au CHC). Il a été créé afin de standardiser les examens d'imagerie en termes de technique et d'interprétation.

Il prend en compte :

- Le rehaussement à la phase artérielle
- La taille de la tumeur
- Le lavage
- La croissance (examens successifs).

Les examens de référence sont le **scanner hélicoïdal** et l'**IRM** avec triple acquisition artérielle, portale et tardive.

L'IRM est l'examen le plus performant pour détecter et caractériser les nodules de la cirrhose. Il permet de distinguer les nodules de régénération des nodules cancéreux (18).

L'échographie de contraste permet de caractériser la vascularisation du nodule. Elle peut être appliquée à la recherche de l'apparition de nouveaux nodules, ou de la modification de l'aspect de nodules connus. Dans les dernières recommandations européennes, l'échographie de contraste n'est pas reconnue comme élément de diagnostic non invasif de CHC.

La **tomographie par émission de positions** (TEP) n'est pas utilisée pour le diagnostic du CHC. En effet, la captation du FDG-PET (isotope le plus souvent utilisé en tant que traceur) peut être observée dans moins de 40% des cas et la plupart des CHC différenciés sont négatifs(19).

6.4 Ponction biopsie du foie tumoral

En l'absence de biopsie, certains patients sont transplantés dans le cadre d'un « très probable CHC de moins de 2 cm » alors qu'aucune tumeur n'est retrouvée lorsque l'explant hépatique est analysé(20).

Il arrive aussi qu'après examen histologique, on s'aperçoive que les nodules sont des nodules hépatocytaires bénins, des lésions non hépatocytaires ou des formes mixtes.

La biopsie permet de caractériser les tumeurs dans un but thérapeutique.

Les CHC sont des tumeurs très hétérogènes d'un point de vue anatomo-pathologique et moléculaire. La biopsie est également utile pour l'évaluation pronostique car le grade de différenciation tumorale est un facteur pronostic du CHC.

A noter qu'une biopsie négative n'élimine pas le diagnostic de CHC. Si une biopsie d'un nodule suspect est négative, il est recommandé de suivre les patients par échographie et/ou scanner ou IRM tous les 3 à 6 mois jusqu'à ce que le nodule change d'aspect (disparition, augmentation de taille ...). Une nouvelle biopsie est recommandée si le nodule augmente de taille et est atypique.

6.5 Critères de diagnostic

Les recommandations préconisent l'analyse histologique d'un fragment tumoral prélevé par ponction dirigée sous échographie ou scanner. Cette preuve histologique tumorale doit être comparée lorsque c'est possible à un fragment de foie non tumoral prélevé simultanément.

Chez le patient cirrhotique où l'on observe un nodule, il est aussi possible d'utiliser des critères non invasifs. Pour que ces critères soient valides, il faut également prendre en compte les éléments suivants :

- Les recommandations techniques concernant la réalisation des examens d'imagerie doivent être respectées
- Le diagnostic doit être discuté et validé par une RCP spécialisée (avec les compétences en hépato-gastroentérologie/hépatologie, radiologie diagnostique et interventionnelle, chirurgie hépatique et transplantation, oncologie médicale et oncologie radiothérapie)

Si ces conditions sont respectées et dans le cadre d'un nodule de diamètre supérieur à 1 cm, le diagnostic de CHC peut être posé si un aspect typique de CHC est observé lors de l'examen d'imagerie par scanner ou IRM (nodule hypervascularisé à la phase artérielle, avec un wash-out à la phase portale ou à la phase tardive).

Lorsque l'aspect n'est pas typique, on peut soit explorer le nodule avec l'autre technique d'imagerie, soit réaliser une biopsie.

D'autres arguments peuvent être en faveur du diagnostic de CHC :

- La présence de facteurs de risque de CHC :
 - Age > 55 ans
 - Sexe masculin
 - Cirrhose à un stade avancé
- L'augmentation de la taille du nodule ou du taux d'AFP (en l'absence d'élévation importante des transaminases) lors d'un contrôle
- La présence d'une obstruction portale qui possède les mêmes caractéristiques qu'une obstruction vasculaire tumorale (hypervascularisation et élargissement de la veine)

Une élévation de l'alpha-foetoprotéine (AFP), même supérieure à 400 ng/ml n'est pas suffisante pour poser le diagnostic de CHC, celle-ci pouvant être liée à des tumeurs germinales ou d'autres tumeurs digestives.

Il n'y a pas de classification pronostique consensuelle contrairement aux autres tumeurs solides qui utilisent la classification TNM. La prise en charge du patient doit être réfléchie en RCP en prenant en compte l'extension tumorale, l'état du foie sous-jacent et l'état général du patient.

6.6 Bilan d'extension tumorale

Le bilan d'extension tumorale permet de :

- Déterminer les caractéristiques de la tumeur (nombre et taille des lésions, localisation, capsule ou non ...)
- Préciser la vascularisation portale et sus-hépatique
- Etudier l'existence de métastases
- Etudier l'impact sur les voies biliaires

Il est composé d'un examen clinique, de l'évaluation du taux d'AFP, d'un IRM abdominal et d'un scanner thoracique ou thoraco-abdominal.

Des études sont en cours pour adapter l'utilisation du TEP-Scan. Actuellement, le TEP-scan n'a pas de place dans le bilan de routine d'extension du CHC.

L'état général doit également être évalué :

- Recherche de comorbidités, en particulier en cas de cirrhose alcoolique et/ou de tabagisme associé, et surtout si une transplantation est envisagée :
 - *Exemple* : insuffisance cardiaque, insuffisance respiratoire, autres cancers
- Recherche d'un syndrome dysmétabolique (hypertension artérielle, diabète, dyslipidémie) et de ses complications (coronaropathies notamment)
 - Ces éléments sont souvent associés au CHC et ils peuvent être des sources de difficultés pour la prise en charge en raison des traitements associés

En conclusion, le bilan final doit comporter :

- L'évaluation de l'état du foie non tumoral
- La certitude ou une forte probabilité du diagnostic de CHC
- L'évaluation de l'extension tumorale

- La recherche des signes de mauvais pronostic (extension vasculaire, caractère infiltrant de la tumeur, AFP > 1000 µg/L, évolution rapide en imagerie ...)
- L'évaluation de l'état général

7. Classification et stratégie thérapeutique

Une fois le diagnostic établi, la classification du stade de CHC est essentielle pour le suivi du patient. Le pronostic peut ainsi être établi et le traitement adéquat attribué. Cette classification est cependant difficile car contrairement aux tumeurs solides, il y a souvent des pathologies sous-jacentes comme la cirrhose(21) citée précédemment.

Les facteurs du pronostic clinique les plus importants sont :

- La charge tumorale : le nombre et la taille des nodules, la présence ou non d'une invasion vasculaire, une atteinte extrahépatique
- La fonction hépatique : elle est définie par la classification de Child-Pugh, la bilirubinémie, l'albuminémie, hypertension portale, ascites
- L'évaluation de l'état de santé général du patient, chiffré par le score de performance ECOG

Score	Description
0	Patient entièrement actif, capable d'effectuer les mêmes activités pré-morbides sans restriction
1	Patient restreint dans ses activités physiques, mais ambulatoires et capables d'effectuer des activités légères ou sédentaires, par ex. : travaux ménagers légers ou tâches administratives
2	Patient ambulatoire et capable de s'occuper de lui, mais incapable d'effectuer des activités. Debout > 50% de la journée
3	Patient capable de soins limités, alité ou au fauteuil > 50% de la journée
4	Patient complètement handicapé, ne pouvant s'occuper de lui. Totalement alité ou confiné au fauteuil

Tableau 1 Echelle de statut de performance - ECOG

Il existe plusieurs systèmes de classification. Le score BCLC (voir Tableau 3) est un système de classification qui fait le lien entre le stade de la maladie et la stratégie thérapeutique. C'est ce système qui a été validé et qui est recommandé par l'EASL pour le pronostic des patients et le choix du traitement.

La fonction hépatique est donc étudiée à travers le score de Child-Pugh. C'est un score reconnu, facile à utiliser et validé, mais qui présente certaines limitations. En effet, l'évaluation de l'ascite et du stade de l'encéphalopathie restent subjectifs. D'autres facteurs peuvent induire des variations, telle que la prise de diurétiques qui a un impact sur la quantité d'ascite par exemple.

	1 point	2 points	3 points
Ascite	Absente	Modérée	Permanente (tendue ou réfractaire aux diurétiques)
Bilirubine totale (μmol/L)	< 35	35-50	>50
Albumine (g/L)	>35	28-35	< 28
INR	< 1,7	1,7 – 2,2	>2,2
TP	>50%	40-50%	>40%
Encéphalopathie	Absente	Légère à modérée (stade 1-2)	Sévère et invalidante (stade 3-4)

Tableau 2 Score de Child-Pugh

Le pronostic est établi en fonction du score total des points :

- Child-Pugh A (5-6 points) : survie à 1 an de 100%
- Child-Pugh B (7-9 points) : survie à 1 an de 80%
- Child-Pugh B (10-15 points) : survie à 1 an de 45%

7.1 Choix du traitement

Les recommandations de l'EASL préconisent l'utilisation du système BCLC (Barcelona-Clinic Liver Cancer). Les patients sont classés en 5 stades (Tableau 3) :

- Très précoce (0)
- Précoce (A)
- Intermédiaire (B)
- Avancé (C)
- Terminal (D)

Des traitements sont préconisés en fonction du stade de la maladie (Figure 3).

7.1.1 Stade de CHC très précoce : BCLC stade 0

Ce stade est défini par la présence d'une tumeur unique, de diamètre inférieur à 2 cm sans invasion vasculaire, sans nodule satellite chez des patients ayant un bon état de santé général (ECOG – 0) et avec une fonction hépatique préservée (Child-Pugh A).

5 à 10% des patients des pays occidentaux sont diagnostiqués à ce stade. Ce sont des patients éligibles à un traitement curatif (résection chirurgicale ou ablation par radiofréquence°. L'ablation par radiofréquence permet d'avoir une nécrose tumorale complète dans la majorité des cas, ses résultats serait donc similaire à la résection.

Des données montrent une survie à 5 ans chez 80 à 90% des patients avec un CHC avec un nodule inférieur à 2 cm par résection.

7.1.2 Stade de CHC précoce : BCLC stade A

Il est défini par la présence d'une seule tumeur de diamètre supérieur à 2 centimètres ou de 3 nodules de diamètres inférieurs à 3 centimètres, un score ECOG-0 et une fonction hépatique conservée (score Child-Pugh A). Ce sont des patients éligibles à un traitement curatif (transplantation hépatique, chirurgie, ablation par radiofréquence). Le choix du traitement dépend de la localisation des lésions et des comorbidités.

La médiane de survie de ces patients atteint 50 à 70% 5 ans après la résection, la transplantation hépatique ou l'ablation locale.

7.1.3 Stade de CHC intermédiaire : BCLC stade B

La définition actuelle de ce stade intermédiaire inclut une population hétérogène de patients, en fonction de la charge tumorale et la fonction hépatique. La fonction hépatique est conservée, il n'y pas d'invasion vasculaire ni d'envahissement extrahépatique mais la tumeur est multinodulaire et non résécable.

Ce sont des tumeurs qui ne sont pas éligibles à la transplantation mais pour lesquels il est préconisé un traitement loco-régional (type chimioembolisation). La TACE est le traitement de première ligne.

La médiane de survie pour des patients non traités à un stade intermédiaire de la maladie est de 16 mois, ou 49% à 2 ans.

7.1.4 Stade de CHC avancé : BCLC stade C

Il s'agit de patients ayant des symptômes liés au cancer (tumeur symptomatique, ECOG 1-2), une invasion vasculaire macroscopique ou un envahissement extrahépatique et qui ont un mauvais pronostic, avec une médiane de survie entre 6 et 8 mois, ou à 25% sur un an. Le sorafenib est le traitement de référence, et depuis peu, le regorafenib est recommandé en traitement de deuxième ligne.

7.1.5 Stade de CHC terminal : BCLC stade D

Ces patients sont caractérisés par un score de performance très faible (ECOG 3-4). La médiane de survie est de 3 à 4 mois ou 11% sur un an. Ils bénéficient d'une prise en charge symptomatique, avec des soins palliatifs.

Stade BCLC	Indice de performance OMS	Morphologie tumorale	Fonction hépatique	Traitement habituellement proposé
0	0	Unique < 2cm, pas d'invasion vasculaire, pas de nodule satellite	Child-Pugh A	Résection chirurgicale, ablation
A	0	Unique > 2 cm ou jusqu'à 3 nodules de moins de 3 cm	Child-Pugh A-B	Résection chirurgicale, ablation
B	0	Multinodulaire sans invasion vasculaire	Child-Pugh A-B	Chimioembolisation, radioembolisation
C	1-2	Invasion macrovasculaire, envahissement ganglionnaire ou métastases	Child-Pugh A- (B)	Sorafénib
D	3-4	Indifférent	Child-Pugh C	Soins de support

Tableau 3 Classification BCLC

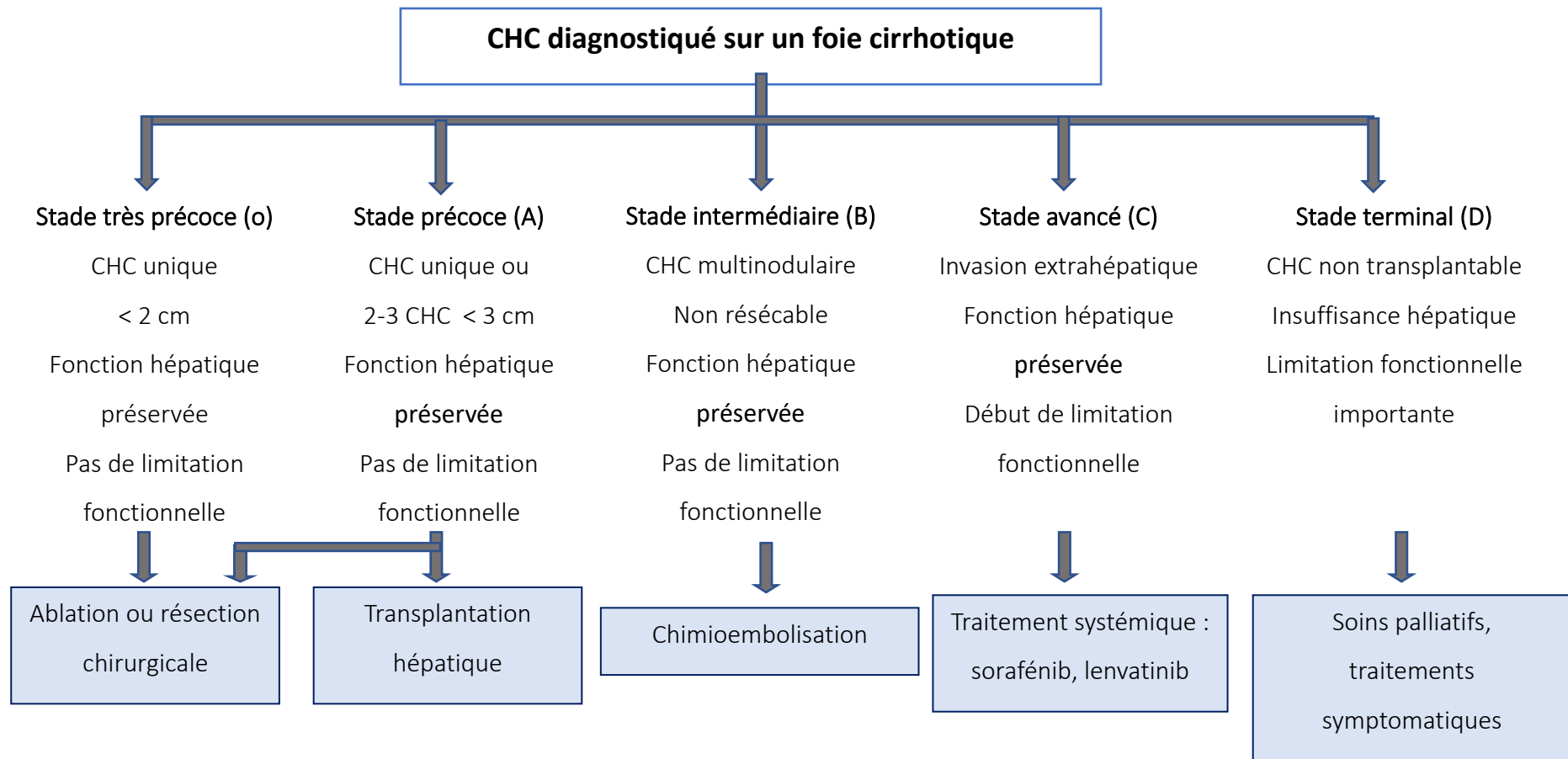


Figure 3 Choix du traitement en fonction du stade de CHC

8. Evaluation pronostique

Le pronostic peut être évalué en étudiant certaines questions :

- Qui est le patient ?
 - L'âge du patient est important, comme le fait d'avoir une maladie décompensée, de connaître l'étiologie de la maladie, les comorbidités existantes
 - Le facteur de risque « alcool » est également impactant pour la survie
- Quel est le type de CHC ?
 - Combien y a-t-il de nodules, et de quelles tailles sont-ils ?
 - Quel est le taux du marqueur AFP ? Un taux élevé de ce marqueur est de mauvaise augure car il est corrélé à la différenciation tumorale et à l'invasion vasculaire macroscopique et microscopique
 - Y a-t-il une Invasion vasculaire tumorale ? Si oui, le pronostic est alors moins bon
- Quelle est l'offre thérapeutique ?

9. Traitement

9.1 Traitements à visée curative

En se basant sur la classification de Barcelone, les traitements à visée curative sont adaptés à des patients classés en stade très précoce ou précoce, avec des petites tumeurs, en nombre limité et qui ont une fonction hépatique conservée, avec un bon état général. On évoque 3 lignes de traitement : la transplantation hépatique, la chirurgie et l'ablation percutanée.

1/3 des patients serait éligibles à un traitement curatif, car les stades précoces et très précoces représentent 20 à 25% des patients.

9.1.1 Transplantation hépatique

9.1.1.1 Indications et contre-indications

La transplantation hépatique consiste en une hépatectomie totale qui est indiquée seulement chez les patients cirrhotiques atteints de CHC. C'est la seule option qui permet de traiter à la fois la tumeur et l'hépatopathie sous-jacente, contrairement aux autres traitements à visée curative.

Il existe cependant certaines limites : le risque de récurrence tumorale après la greffe (conduisant au décès dans plus de 90% des cas) et la faible disponibilité des greffons hépatiques. Ce manque de greffons disponibles impose des contraintes en termes d'indications et de résultats pour éviter les transplantations dans un contexte de risque de récurrence et de décès trop élevé. Les nombreuses contre-indications (âge, comorbidités, alcoolisme actif...) limitent également ces indications.

Le risque de la transplantation hépatique pour CHC est lié à l'attente du greffon, qui dure souvent plusieurs mois. La maladie peut progresser pendant cette attente, et sortir des critères de transplantation.

Un score pronostique a été développé. Il intègre la taille et le nombre de lésions tumorales et le taux d'AFP. Ces éléments associés permettent de définir les malades à faible risque de récurrence pour un score AFP inférieur ou égal à 2, et des malades à fort risque de récurrence pour un score supérieur à 2.

Concernant l'indication de la transplantation hépatique en France, les CHC dont la lésion unique a un diamètre inférieur ou égal à 2 centimètres ne sont pas éligibles au traitement.

Pour les autres CHC, il faut calculer le score AFP :

- Si le score AFP est ≤ 2 , les patients peuvent être inscrits sur la liste d'attente nationale. Le score AFP est alors réévalué tous les 3 mois, et si le score progresse et devient supérieur à 2 lors de cette période d'attente, le patient est sorti de la liste

- Si le score est > 2 , la transplantation hépatique est contre-indiquée sauf si le patient et l'équipe de transplantation acceptent un greffon marginal ; ou sauf si le score AFP devient inférieur ou égal à 2 suite à un traitement du CHC, et le reste pendant 3 mois. L'inscription sur la liste d'attente nationale peut alors être envisagée.

Paramètres	Classe	Score
Diamètre de la lésion tumorale	≤ 3 cm	0
	3-6 cm	1
	>6 cm	4
Nombre de nodules	≤ 3	0
	>4	2
AFP level (ng/ml)	≤ 100	0
	]100-1000]	2
	>1000	3

Tableau 4 Version simplifiée du score AFP (22)

Le score est calculé en faisant la somme des points de chaque variable du score, et définit ainsi :

- Les malades à faible risque de récurrence quand le score AFP est ≤ 2
- Les malades à fort risque de récurrence quand le score est > 2

9.1.2 Résection

La résection chirurgicale ou hépatectomie consiste en l'ablation de la partie du foie touchée par la tumeur, et emporte au moins 2 cm de marge de foie « sain ».

Le volume du foie restant après l'intervention doit correspondre à au moins 40% du volume hépatique total.

C'est le traitement recommandé chez les patients avec un CHC débutant sur un foie non cirrhotique. Ces patients doivent donc avoir un bon fonctionnement cardiaque et

respiratoire sans signe d'hypertension portale, et un fonctionnement hépatique quasi-normal (Child-Pugh A) (23). Les indications sont aussi restreintes la plupart du temps aux tumeurs uniques car la survie est diminuée et la fréquence de récurrence élevée pour les tumeurs multifocales. En raison de ces indications limitées, seuls 5 à 10% des patients pourront bénéficier d'une résection.

9.1.3 Destruction tumorale percutanée par voie radiologique

Il s'agit de la radiofréquence, qui détruit la tumeur par la chaleur. Le principe de base est l'application d'un courant alternatif délivré par un générateur de radiofréquence connecté à une aiguille-électrode. Un circuit électrique est présent entre cette électrode placée dans la tumeur et les plaques de dispersion placées sur le patient (19).

Un traitement par radiofréquence est envisageable si la tumeur mesure moins de 3 cm : il est donc indiqué pour les patients ayant un petit CHC. Pour les nodules de moins de 2 cm, une nécrose complète peut être obtenue dans presque 100% des cas.

C'est une méthode habituellement bien tolérée, qui présente l'avantage de préserver le parenchyme non tumoral.

A noter que pour la radiofréquence et la chirurgie présentent des résultats équivalents pour les nodules de moins de 3 cm. Le choix du traitement dépend donc de la taille et de la localisation de la tumeur, de l'hépatopathie sous-jacente et des techniques thérapeutiques envisagées.

9.2 Traitements palliatifs

9.2.1 Traitements médicamenteux

9.2.1.1 Traitement de première ligne : sorafénib

Le **sorafénib** (Nexavar®) est un inhibiteur de la tyrosine kinases administré par voie orale qui a un double mécanisme d'action : il inhibe l'angiogenèse et la prolifération des cellules tumorales.

Deux essais cliniques de phase III ont étudié le sorafénib dans le traitement du carcinome hépatocellulaire contre placebo :

- L'essai international SHARP (Sorafenib HCC Assessment Randomized Protocol) :
 - Mené sur 602 patients occidentaux randomisés en 2 groupes traités par sorafénib 400 mg ou par placebo 2 fois par jour,
 - L'étude a montré un allongement significatif de la survie globale (10.7 mois VS 7.9 mois) des patients dans le bras sorafénib
 - L'étude a montré un allongement significatif de la survie sans progression (5.5 mois VS 2.8 mois) des patients dans le bras sorafénib.
 - Le traitement n'était pas associé à une réponse tumorale, et les effets secondaires (asthénie, diarrhée, hypertension artérielle, syndrome main-pied) n'ont pas causés de diminution de la qualité de vie (24).
- L'essai Asian-Pacific
 - Mené sur 271 patients asiatiques ayant une fonction hépatique préservée (CHILD A), et randomisés en 2 groupes traités par sorafénib 400 mg ou par placebo 2 fois par jour (25).
 - L'étude a montré un allongement significatif de la survie globale (6.5 mois VS 4.2 mois) des patients dans le bras sorafénib
 - L'étude a montré un allongement significatif de la survie sans progression (2.8 mois VS 1.4 mois) des patients dans le bras sorafénib.

A la suite de ces essais, le sorafénib a bénéficié d'une extension d'AMM en 2008, avec l'indication «traitement du carcinome hépatocellulaire » (26).

Le sorafénib est indiqué chez les patients souffrant d'un CHC et ayant un bon pronostic (cirrhose hépatique de stade Child-Pugh A, OMS entre 0 et 2), non éligibles en première intention à un traitement chirurgical ou locorégional.

9.2.1.2 Traitement de première ligne : lenvatinib

Le **lenvatinib** (un inhibiteur de tyrosine-kinase à effet angiogénique) est un inhibiteur des récepteurs 1 à 3 du VEGF, des récepteurs 1 à 4 du FGF, du récepteur α du PDGF, de RET et de KIT).

L'essai REFLECT(27), essai international de phase III de non-infériorité a étudié le lenvatinib dans le CHC versus sorafénib chez 954 patients atteints d'un CHC non éligible à un traitement curateur.

C'est une étude importante car pendant 10 ans, le sorafénib a été la seule molécule utilisable en traitement médicamenteux de première ligne.

Le critère principal de non-infériorité pour la survie globale a été atteint (13.6 mois avec le lenvatinib et 12.3 mois avec le sorafénib). La survie sans progression était significativement augmentée dans le bras lenvatinib (7.4 vs 3.7 mois), ainsi que le temps à progression (8.9 vs 3.7 mois).

Les profils de tolérance de ces deux molécules sont assez similaires, avec quelques différences concernant les effets indésirables. Les effets indésirables les plus courants pour le lenvatinib sont l'hypertension artérielle, la diarrhée et la diminution de l'appétit, et qui peuvent être traités par des traitements symptomatiques. Le sorafénib entraîne lui plus de toxicité cutanée qui peut être plus invalidante.

En 2018, le lenvatinib a obtenu une extension d'AMM Européenne.

En pratique, au vu de la plus grande fréquence des hypertensions artérielles sévères sous lenvatinib, un terrain cardio-vasculaire fragile pourrait amener à privilégier le sorafénib.

9.2.1.3 Traitements de seconde ligne

Le **régorafénib** est le traitement de seconde ligne chez des patients ayant une fonction hépatique préservée et après échec du sorafénib. C'est un inhibiteur multi-cible de tyrosine kinase, de spectre plus large que le sorafénib.

Le régoragénib la première molécule approuvée et remboursée en France dans le traitement du CHC après échec du sorafénib, à la suite de l'étude RESORCE (28).

Les patients étudiés avaient une fonction hépatique préservée et étaient en échec de traitement par sorafénib. L'étude placebo vs régorafénib 160 mg/j 3 semaines sur 4 a démontré une augmentation significative de la survie globale (10.6 mois vs 7.8 mois). Les effets indésirables étaient similaires à ceux du sorafénib.

Le **cabozantinib** est un inhibiteur des récepteurs 1 à 3 du VEGF. Il a été comparé au placebo dans l'essai de phase III CELESTIAL (29) chez des patients atteints de CHC et donc la fonction hépatique était préservée, qui avaient au moins été traité par sorafénib antérieurement.

Un gain de la survie globale a été observée, avec une augmentation de 2,2 mois (10.2 vs 8 mois). La survie sans progression a été aussi significativement allongée (5.2 vs 1.9 mois).

En novembre 2018, le cabozantinib a reçu une AMM Européenne.

9.2.2 Chimioembolisation artérielle

La chimioembolisation est le traitement recommandé chez les patients avec CHC non éligible à un traitement curateur, c'est le traitement le plus utilisé dans le monde. Elle consiste à injecter un traitement médicamenteux dans les artères nourricières de la tumeur à l'aide d'un vecteur, et elle est associée à une occlusion artérielle.

Il existe plusieurs scores permettant de définir les candidats pour lesquels la chimioembolisation serait la plus adaptée. Il a ainsi été montré que les tumeurs volumineuses (>7-8 cm), multifocales (avec plus de 7-8 tumeurs) et bi-lobaires ne sont pas les cas les plus adaptés pour un traitement par chimioembolisation. Une maladie qui serait à risque important d'évolution rapide (par exemple en cas de AFP élevé) pourrait justifier

l'administration d'un traitement systémique en priorité. Il faut également être attentif à ne pas dégrader la fonction hépatique.

10. Surveillance post-traitement

L'IRM est la méthode de choix pour la surveillance hépatique post-traitement. Les critères de jugement sont les critères RECIST modifiés :

- La réponse est complète si les lésions cibles ont disparues
- La réponse est partielle s'il y a une diminution d'au moins 30% de la somme des diamètres des tumeurs viables
- Il y a une progression en cas d'apparition d'une nouvelle lésion viable ou s'il y a une augmentation d'au moins 20% de la somme des diamètres des tumeurs viables
- On parle de stabilisation dans les autres cas

Les recommandations nationales présentées dans le Tableau 5 préconisent :

Traitement	Recommandations
Transplantation hépatique	Surveillance étroite du patient durant les 2 premières années (taux de récurrence le plus élevé)
Résection chirurgicale	Surveillance étroite clinique et biologique (suivi hépatique, AFP) tous les 3 mois la première année puis tous les 6 mois ; scanner thoracique tous les 6 mois pendant 2 ans ; imagerie hépatique en deux périodes : - Surveillance post-thérapeutique : échographie hépatique tous les 3 mois pendant 2 ans - Après surveillance, détection de potentiels nouveaux CHC avec IRM ou échographie hépatique tous les 6 mois à vie
Destruction percutané	IRM 3 mois après la fin du traitement, puis tous les 3 mois pendant 1 an
	Contrôle 6 semaines après le traitement, TDM sans injection (si chimioembolisation lipiodolée, inutile si chimioembolisation par microbilles chargées) couplée à une IRM

TACE	avec injection à 1 mois (critères mRecist). L'utilisation de nouveaux scores d'évaluation de la réponse à la chimioembolisation (score ART, score ABCR) peut constituer une aide à la décision de poursuivre ou d'interrompre le traitement (avis RCP).
Sorafénib ou régorafénib	Surveillance clinique et biologique (suivi hépatique et AFP) mensuelle. Examen d'imagerie tous les 2 à 3 mois (scanner thoraco-abdomino-pelvien ou IRM hépatique et TDM thoracique).
Traitement symptomatique	Surveillance clinique et biologique à la demande. Poursuite du traitement selon tolérance et évolution.

Tableau 5 Recommandations pour la surveillance post-traitement du CHC (issu des recommandations du groupe de travail pluridisciplinaire de professionnels des réseaux régionaux de cancérologie de Lorraine, d'Alsace et de Franche-Comté(30)

PARTIE 2

LA CHIMIO-EMBOLISATION TRANS-HEPATIQUE (TACE)

1. Anatomie du foie et principe de la TACE

1.1 Anatomie du foie

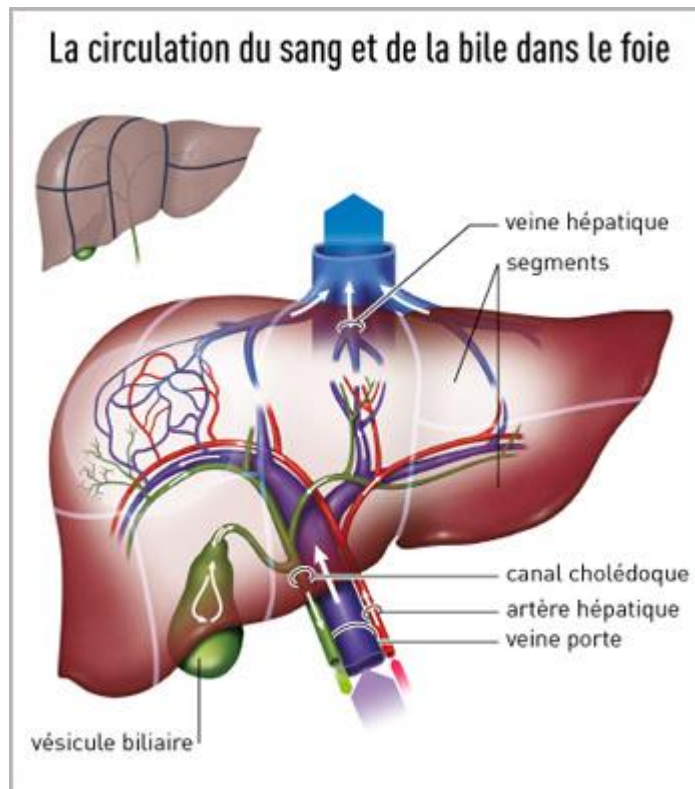


Figure 4 Circulation du sang et de la bile dans le foie(31)

Le foie est irrigué par deux gros vaisseaux sanguins : la veine porte et l'artère hépatique. L'apport sanguin est réalisé principalement par la veine porte. Ce sang est riche en nutriments et pauvre en oxygène et provient en grande partie du système digestif (intestin grêle, colon, rate, pancréas, estomac).

Le reste de l'apport sanguin (sang riche en oxygène) est réalisé par l'artère hépatique. Elle apporte du sang oxygéné à partir du cœur.

Ainsi, ce double apport suit l'équilibre suivant : le sang provient pour environ 25% de l'artère hépatique et pour 75% de la veine porte. (1)

Cet équilibre est rendu défaillant lorsqu'une tumeur se développe au niveau du foie.

Cette double vascularisation est importante en termes de thérapie : les tumeurs hépatiques primaires ou secondaires sont presque exclusivement irriguées par l'artère hépatique (33)

alors que le parenchyme hépatique sain reçoit son apport sanguin par la veine porte. Ainsi, il est possible d'occlure l'artère hépatique en préservant le tissu sain et en évitant une nécrose complainte car cette partie reste irriguée par le système veineux.

Le CHC est un cancer à haut potentiel angiogénique. La micro-vascularisation du CHC est moins dense qu'une vascularisation hépatique normale. Les micro-vaisseaux tumoraux ont un flux sanguin anormaux et ont tendance à « fuir », pouvant potentiellement conduire à une hypoxie et/ou une nécrose(34).

1.2 Principe de la TACE

La TACE est une technique de radiologie interventionnelle loco-régionale qui consiste en l'injection intra-artérielle d'un agent cancéreux à l'aide d'un vecteur, suivie de l'occlusion des artères vascularisant la tumeur grâce des agents d'embolisation, tout en épargnant le foie non tumoral. Ainsi, il y a une cathétérisation sélective des branches de l'artère hépatique qui irriguent les cellules tumorales.

L'action combinée de la chimiothérapie administrée de façon sélective et de l'ischémie qui a lieu à la suite de l'embolisation a pour objectif de ralentir ou d'arrêter l'afflux artériel sanguin vers la tumeur en obstruant les branches de l'artère hépatique qui irriguent la tumeur (35). Ainsi, la tumeur n'est plus alimentée en nutriments, ce qui aboutit à une nécrose.

1.3 Avantages de la TACE

L'avantage de la TACE par rapport à l'administration intra-veineuse de chimiothérapie serait :

- De permettre d'augmenter la concentration locale en agent de chimiothérapie, ainsi que le temps de contact entre l'agent anticancéreux et le tissu tumoral
- De diminuer la toxicité systémique car la diffusion de l'agent anticancéreux est limitée

De plus, l'injection intra-artérielle hépatique d'agent de chimiothérapie présente un bénéfice par rapport à une administration systémique car on observe un fort taux d'extraction hépatique lors du premier passage dans le cas d'une injection systémique : les concentrations d'anti-cancéreux sont plus importantes lors de l'injection intra-artérielle, et le temps de contact de l'agent anti-cancéreux avec les cellules tumorales est prolongé.

De plus, l'embolisation des artères irriguant la tumeur entraîne une défaillance des pompes transmembranaires, et donc une ischémie tumorale.

2. Sélection des patients

Le choix de la TACE devrait prendre en compte : la charge tumorale, l'existence d'une pathologie hépatique sous-jacente et le score ECOG de performance.

Le bénéfice thérapeutique de la TACE est faible pour les patients ayant un score de performance faible (ECOG supérieur ou égal à 2) ou une décompensation hépatique sévère (Child-Pugh C ou B). En effet, les risques de décompensation hépatique sont augmentés chez des patients ayant une fonction hépatique altérée (bilirubinémie totale > 20 mg/L, charge tumorale supérieure à 50% du volume hépatique total). L'extension extra-hépatique ou vasculaire est une contre-indication de la TACE.

Les recommandations européennes pour la TACE sont les patients (36):

- BCLC stade B intermédiaires
- Child-Pugh A
- Ayant une tumeur unique de plus de 5 cm ou 2 à 3 tumeurs de plus de 3 cm chacune ou plus de 3 tumeurs ou une tumeur infiltrante
- Asymptomatique
- Avec un état général conservé
- Sans invasion vasculaire ou atteinte extrahépatique.

3. Techniques de chimioembolisation

Les deux techniques principales de chimioembolisation sont la chimioembolisation transartérielle conventionnelle ou lipiodolée (TACE) et la chimioembolisation transartérielle par microsphères chargées (DEB-TACE). Ce qui différencie ces deux méthodes sont le vecteur utilisé et l'agent d'embolisation.

3.1 La TACE

Dans le cas de la TACE, l'agent de chimiothérapie est émulsionné avec du lipiodol qui est un produit de contraste faisant office de vecteur. Elle est ensuite administrée par un cathéter placé au niveau des branches de l'artère hépatique qui irriguent la tumeur. Les vaisseaux nourriciers de la tumeur sont ensuite embolisés par un agent d'embolisation résorbable (gélatine de synthèse) ou non résorbable (microsphères calibrées).

3.2 La DEB-TACE

Elle consiste en l'injection de microparticules sphériques emboligènes chargées d'un agent cytotoxique, après cathétérisme sélectif des branches de l'artère hépatique alimentant la lésion tumorale. Ces microsphères sont à la fois l'agent vecteur et l'agent d'embolisation. Elles ont un calibre d'environ 100 à 200 μm^3 . Cette substance est relarguée progressivement par les microsphères au sein de la tumeur sur une semaine. L'objectif est d'augmenter la cytotoxicité intra-tumorale et de diminuer la toxicité systémique (37).

L'avantage de cette technique est que l'agent de chimiothérapie est relargué de manière plus progressive qu'avec la TACE, et que le passage systémique est moins important. C'est également une technique plus reproductible.

Les microsphères d'embolisation chargées permettent une occlusion ciblée et sont :

- Hydrophiles : afin de transiter à travers le cathéter et éviter qu'elles ne s'agglutinent dans le réseau vasculaire
- Calibrées : pour que l'occlusion soit contrôlée et qu'elles puissent se répartir dans le réseau vasculaire

- Déformables : pour arriver à occlure un vaisseau distal dont la section serait inférieure au diamètre de la bille
- Biocompatibles
- Non résorbables

3.3 Comparaison de la TACE et de la DEB-TACE

Une seule étude a comparé la TACE avec la DEB-TACE : il s'agit de l'étude PRECISION V, qui est une étude comparative multicentrique (23 centres) randomisée contrôlée qui compare la TACE avec de la doxorubicine et la DEB-TACE avec des microsphères (DC Beads) chargées de doxorubicine.

Le taux de réponse tumorale à 6 mois n'était pas statistiquement supérieur avec les billes. De même, 30 jours après l'intervention, les effets secondaires du traitement sont similaires pour les deux groupes.

Cette étude n'a pas démontré de bénéfice en termes de taux de réponse ni de survie d'une méthode par rapport à l'autre.

Néanmoins, la technique avec des billes chargées est mieux tolérée, et la toxicité spécifique de la doxorubicine était significativement inférieure dans le groupe traité avec les billes chargées.

4. Agent vecteur : le lipiodol

4.1 Propriétés pharmacodynamiques

Le Lipiodol Ultra Fluide est un agent de contraste iodé composé d'un mélange d'esters éthyliques d'acides gras à longues chaînes de l'huile d'œillette. Le Lipiodol contient 98% d'acides gras insaturés, l'acide linoléique étant l'acide gras présent de façon majoritaire (70%). C'est une huile jaune pâle à ambre, qui contient 380 mg d'iode par gramme.

Le Lipiodol est une solution pour injection, conditionnée dans une ampoule autocassante en verre de 10 mL et fabriquée par le laboratoire Guerbet. (38).

Le Lipiodol a plusieurs intérêts dans la TACE :

- Lorsqu'il est injecté dans l'artère hépatique, le lipiodol reste en contact avec le tissu tumoral et le tissu hépatique autour de la tumeur pendant plusieurs semaines voire mois, alors qu'il est évacué d'un foie sain dans les 7 jours après l'injection
- Le marquage à l'iode 131 du lipiodol (39) a permis d'étudier la biodistribution du lipiodol chez des patients atteints de CHC et de métastases hépatiques. L'étude a permis de démontrer que la rétention du produit se faisait principalement dans le foie et dans les poumons, avec une prédominance pour le foie, où plus de 80% de la substance injectée restait de manière sélective dans la tumeur hépatique pour un temps long.

Grace à sa nature huileuse, le Lipiodol permet l'embolisation transitoire artérielle et portale du CHC, contrairement aux microsphères qui bloquent seulement les artéριοles hépatiques.

4.2 Propriétés pharmacocinétiques

Après injection intra-artérielle sélective, l'iode est principalement éliminé dans les urines.

Le lipiodol injecté de manière sélective dans l'artère hépatique est significativement plus concentré dans la tumeur que dans le tissu hépatique sain environnant(40).

4.3 Données de sécurité préclinique

Les données non cliniques issues des études conventionnelles de toxicologie en administration unique, en génotoxicité et des fonctions de reproduction et de développement n'ont pas révélé de risque particulier pour l'homme(40).

Les études chez l'animal ont montré un passage transplacentaire et une excrétion importante d'iode dans le lait maternel.

Chez des rats sains, après une injection lente de lipiodol dans l'artère hépatique, le Lipiodol apparaît rapidement dans les veinules portales, à travers le plexus péri-biliaire.

En cas de surdosage, le lipiodol pourrait apparaître dans la circulation systémique, et serait associé à un risque d'embolisation systémique.

Chez les rats, la circulation artérielle revient à la normale assez rapidement après l'injection de lipiodol. L'huile disparaît de la veine portale en 2 à 3 jours et des sinusoides en 7 jours. Au bout du 15^{ème} jour après l'injection, aucune trace de lipiodol n'était détectée dans les veinules portales(41).

La clairance du lipiodol semble liée à la phagocytose par les cellules de Kupffer activées. En effet, la présence de gouttelettes d'huile a été montré dans des cellules de Kupffer par microscopie électrons (42).

4.4 Contre-indications

Les contre-indications de l'utilisation du lipiodol sont les suivantes(40) :

- Hypersensibilité au lipiodol (esters éthyliques d'acides gras iodés de l'huile d'œillette)
- Femme enceinte
- Hyperthyroïdie avérée
- Lésions traumatiques, hémorragies ou saignements récents (risque d'extravasation ou d'embolie)
- Bronchographie (le produit inonderait rapidement les bronchioles et les alvéoles)

4.5 Précautions d'emploi dans le cadre de la TACE

Les produits de contraste iodés peuvent provoquer une altération transitoire de la fonction rénale ou aggraver une insuffisance rénale préexistante. Les mesures préventives exposées dans les Résumés des Caractéristiques du Produit (RCP) du lipiodol sont les suivantes(40) :

- Identifier les patients à risque : patients déshydratés ou insuffisants rénaux, diabétiques, insuffisants cardiaques sévères, atteintes d'une gammapathie

monoclonale, patients ayant des antécédents d'insuffisance rénale après administration de produits de contraste iodés, enfants de moins d'un an, sujets âgés athéromateux

- Hydrater avant et après l'administration
- Eviter d'associer des médicaments néphrotoxiques et si l'association est nécessaire, renforcer la surveillance biologique rénale
- Respecter un intervalle d'au moins 48 heures entre deux interventions/examens qui nécessitent une injection de produits de contraste iodés, ou différer toute nouvelle intervention ou tout nouvel examen jusqu'à la restauration de la fonction rénale initiale
- Prévenir une acidose lactique chez le diabétique traité par metformine en se basant sur la créatininémie :
 - Si la Fonction rénale est normale : interrompre le traitement par metformine avant l'injection du lipiodol pour une période d'au moins 48 heures ou jusqu'au retour d'une fonction rénale normale
 - Si la fonction rénale est altérée : la metformine est contre-indiquée
- Les facteurs de risque cardiovasculaire et/ou pulmonaires doivent être évalués avant d'initier une procédure de TACE

4.6 Conservation

Le lipiodol se conserve mal dans les matières plastiques : en l'absence d'études de compatibilités précises, les récipients et les seringues en plastique sont donc à éviter. Le lipiodol doit être administré via une seringue en verre.

Le lipiodol se conserve 3 ans, entre 15°C et 25°C à l'abri de la lumière(40).

4.7 Lipiodol et assimilation par les cellules tumorales

Le rationnel pour traiter de manière locale la tumeur est d'arriver à une concentration élevée et sélective d'agent cytotoxique associé à une ischémie induite par l'embolisation.

- L'émulsion : la plupart des molécules cytotoxiques sont plus solubles dans l'eau que dans le lipiodol, c'est pourquoi ce sont les émulsions qui sont en général utilisées. Cependant, en fonction de la balance hydrophile/lipophile (BHL), les molécules cytotoxiques peuvent avoir différents ratios de distribution dans les phases aqueuses ou huileuses. Il y a une importante hétérogénéité des caractéristiques physicochimiques de l'émulsion qui peut être observée quand les émulsions sont utilisées pour la TACE, comme le type d'émulsion (eau dans huile ou huile dans eau) ou la taille des gouttelettes d'émulsion.
- Type d'émulsions : De Baere (43) a comparé les stabilités de 4 types d'émulsions doxorubicine/lipiodol :
 - Petites gouttelettes eau dans huile
 - Large gouttelette eau dans huile
 - Petites gouttelettes huile dans eau
 - Large gouttelettes huile dans eau

La stabilité de toutes les émulsions était bonne : il n'y avait pas de changement dans l'apparence de l'émulsion, aussi bien in vitro que in vivo. L'effet embolique le plus faible a été observé avec les petites gouttelettes huile dans eau. Comme attendu, les émulsions eau dans huile ont un effet embolique élevé, proche du lipiodol pur.

Le type d'émulsion est le paramètre principal qui détermine la viscosité. La viscosité des émulsions eau dans huile est supérieure à celle du lipiodol seule, qui est supérieure à celle des émulsions huile dans eau.

Les émulsions eau dans huile sont plus efficaces pour la libération du médicament comparé aux émulsions huile dans eau. Leur temps de contact est aussi supérieur à celui des émulsions huile dans eau après injection sélective de différents types d'émulsion lipiodol/doxorubicine.

5. Agent d'embolisation

Une fois que la chimiothérapie lipiodolée est administrée, les vaisseaux qui nourrissent la tumeur sont embolisés, le plus souvent par des éponges de gélatine ou par des particules d'alcool polyvinylique. Estimer l'occlusion par ces agents d'embolisation reste cependant difficile car les particules ont des formes irrégulières et sont de tailles variables.

Pour y pallier, des agents d'embolisation sphériques ont été développés. Ces microsphères sont calibrées en termes de taille, et ont une surface homogène et hydrophile. Elles permettraient alors de pouvoir occlure les vaisseaux à des points plus précis, en choisissant le diamètre de la particule.

5.1 Agents d'embolisation conventionnels

5.1.1 Particules d'alcool polyvinylique (PAV) non sphériques

Elles font partie des agents d'embolisation les plus fréquemment utilisés. Leur diamètre varie de 50 à 1200 μm de diamètre. Ces PAV s'agrègent facilement grâce à leurs irrégularités en termes de forme et de taille. Elles ont tendance à entraîner des occlusions à un niveau proximal. D'un point de vue histologique, ces PAV adhèrent à la paroi vasculaire et créent un réseau vasculaire en laissant des espaces entre les particules. L'occlusion vasculaire arrive après l'agrégation plaquettaire et la formation d'un thrombus au niveau des particules. La circulation est ensuite rétablie lorsque les capillaires prolifèrent au niveau du thrombus, même si on considère que les PAV sont un agent d'embolisation permanent(44).

5.1.2 Eponges de gélatine

Elles font également partie des agents d'embolisation les plus fréquemment utilisés. Elles sont commercialisées soit sous forme de plaques découpées de façon extemporanée soit sous forme de poudre sèche ou de particules en suspension. Le diamètre des particules peut varier de 500 à 2000 μm . Leur forme est également irrégulière, et elles ont tendance à

s'agglomérer. Après leur injection, on observe une occlusion mécanique partielle de la lumière vasculaire et une activation de la coagulation qui engendre une occlusion biologique. La réaction inflammatoire aboutit à la dégradation de la particule en quelques jours ou semaines, et la recanalisation est partielle en moins d'un mois. Les éponges de gélatine sont donc des agents d'embolisation temporaires et absorbables(44).

5.2 Agents d'embolisation sphériques

5.2.1 Embosphères

Ces microsphères de gélatine tris-acryl sont disponibles en 6 gammes de taille, ce qui permet une embolisation ciblée. Ce sont des microsphères non-résorbables qui n'agrègent pas dans la lumière du cathéter et dans les vaisseaux grâce à leur surface hydrophile et à leur forme sphérique régulière. Elles offrent une occlusion mécanique complète et durable(44).

5.2.2 Particules d'alcool polyvinylique sphériques

Elles existent également en gammes de tailles différentes. Elles permettent une occlusion plus distale qu'avec les embosphères car elles ont moins de résistance à la compression(44).

6. La TACE en pratique

6.1 Préparation de l'émulsion et administration

Les instructions pour la préparation du mélange de lipiodol avec un médicament anticancéreux sont les suivantes :

- Deux seringues permettant de contenir le volume total du mélange sont préparées : la première contient la solution de médicament anticancéreux, la seconde contient le lipiodol

- Ces deux seringues sont connectées à un robinet trois voies
- Environ 15 à 20 mouvements d'allers-retours entre les deux seringues sont réalisés, jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène. Il est recommandé de commencer par pousser la seringue contenant le médicament anticancéreux dans le lipiodol (on parle de *pumpin method*) (45)
- Le mélange est préparé de manière extemporanée et doit être utilisé immédiatement après la préparation (dans les 3 heures)
- Lorsque le mélange adéquat est obtenu, une seringue de 1 à 3 mL est utilisée pour injection dans le micro-cathéter

Il existe certaines recommandations pour la préparation du mélange. Il est préconisé que le médicament anticancéreux soit poussé vers la seringue contenant le lipiodol. Le volume du médicament anticancéreux devrait aussi être inférieur au volume de lipiodol (idéalement un volume de médicament pour deux volumes de lipiodol). Enfin, le mélange via le bouchon à trois voies doit être vigoureux. (43)

L'injection de cette émulsion doit avoir lieu rapidement pour favoriser le passage dans les artères fémorales. Elle est réalisée de manière sélective dans la branche gauche ou droite de l'artère hépatique, de manière à irriguer la majorité de la masse tumorale.

Cette injection est complétée par l'injection d'un agent d'embolisation.



Figure 5 Préparation d'une émulsion pour chimioembolisation lipiodolée(46)

L'administration se fait par cathétérisme sélectif intra-artériel de l'artère hépatique. Elle est réalisée dans une salle de radiologie interventionnelle avec un équipement approprié. La dose dépend de l'étendue de la lésion, mais ne doit généralement pas dépasser un volume de 15 mL chez l'adulte.

En général, le patient est hospitalisé la veille de l'intervention dans le service d'hépatogastroentérologie et la TACE est réalisée le lendemain.

6.2 Réalisation de la TACE

La TACE est réalisée dans une salle de radiologie interventionnelle. Un cathéter artériel est inséré par l'artère fémorale de manière sélective sous anesthésie locale, et acheminé à l'intérieur du foie en remontant le réseau artériel. Dans l'idéal, les spécificités anatomiques et les artères qui nourrissent la tumeur sont observées lors d'examens d'imagerie non invasive avant l'intervention.

La chimiothérapie est alors mélangée au Lipiodol. C'est le radiologue qui prépare la solution ou l'émulsion de l'agent de chimiothérapie et du Lipiodol, de manière extemporanée. Cette étape est donc dépendante de l'opérateur. L'injection de l'émulsion doit être réalisée rapidement pour favoriser le passage dans les artères nourricières de la tumeur.

Ce mélange est ensuite lentement injecté manuellement par le cathéter. Le Lipiodol permet à la fois de suivre le trajet de la chimiothérapie locale et d'en ralentir la diffusion par sa viscosité. Une fois la dose administrée, l'embolisation se fait soit par injection d'un gel-mousse soit par injection de particules d'embolisation. L'objectif est d'obtenir un flux lent, et non une occlusion totale de l'artère principale.

L'injection terminée, des images radiologiques sont prises pour confirmer le traitement de la tumeur. A la fin de l'intervention, le cathéter est retiré et une compression au niveau du

point de ponction est exercée pour empêcher tout saignement. Puis, un pansement compressif est mis en place.

La chimioembolisation peut être répétée si on observe une réponse partielle ou une stabilisation de la maladie sur les imageries de contrôle, habituellement réalisées quatre à six semaines après la procédure.

Suite à l'intervention, le patient est placé sous surveillance environ 48 à 72 heures après l'intervention :

- Repos strict au lit en décubitus dorsal sans plier la jambe du côté ponctionné
- Surveillance du pansement : retrait environ 24 heures après l'intervention
- Surveillance des pouls distaux, de la coloration, de la sensibilité, de la chaleur du membre en comparant avec l'autre membre
- Surveillance hémodynamique (pouls, pression artérielle, conscience, faciès)
- Surveillance de l'état d'hydratation
- Surveillance de l'élimination urinaire du produit de contraste
- Jeun pendant 4 heures
- Surveillance de la douleur : antalgique sur prescription médicale
- Surveillance des nausées : anti émétique sur prescription médicale
- Surveillance de la température : antibiotique sur prescription médicale

7. Standardisation du traitement

Il n'a pas de consensus permettant une standardisation de la TACE, en termes d'agents anticancéreux utilisés, de l'agent embolique et des détails techniques par exemple.

Des recommandations ont été cependant publiées pour standardiser les techniques de traitement (43).

7.1Sélection des patients

La sélection des patients pour la TACE doit se baser sur l'étude de caractéristiques biologiques et cliniques et doit prendre en compte le score de performance et l'éventualité d'une pathologie hépatique sous-jacente.

Les patients ayant un score de performance faible (ECOG supérieur ou égal à 2) ou une décompensation hépatique sévère (Child-Pugh C) ne font pas partie de la population cible : en effet chez ces patients, le risque de décompensation hépatique est augmenté après une TACE.

7.2Imagerie avant traitement

Un scanner ou une IRM doivent être réalisés avant le traitement, au maximum 8 semaines avant le traitement et de préférence dans les 4 semaines avant la procédure notamment pour permettre d'évaluer la réponse au traitement. La localisation de la tumeur doit être identifiée pour qu'elle puisse être ciblée.

7.3Préparation des patients

Les patients doivent être à jeun. Un traitement antiémétique peut être prescrit en prophylaxie. Chez les patients à risque, un traitement antibiotique peut également être prescrit en prophylaxie pour diminuer le risque d'abcès hépatique. Une hydratation intraveineuse est également recommandée pour éviter le risque d'insuffisance rénale aigue. Les varices œsophagiennes doivent être surveillées car le risque de rupture est augmenté en raison de l'hypertension portale transitoire.

7.4Préparation de l'injection

Les médicaments sont mélangés au lipiodol pour former une émulsion. Les émulsions eau dans huile (la phase aqueuse contenant le médicament est dispersée dans la phase huileuse de lipiodol) sont mieux retenues par les tumeurs que les alternatives huile dans eau. (47)

Pour aller dans ce sens, le volume de l'agent de chimiothérapie devrait être inférieur au volume du lipiodol, avec idéalement un ration d'un volume d'agent de chimiothérapie pour deux volumes de lipiodol (48).

L'émulsion est préparée grâce à un bouchon à trois voies. Il est recommandé que le contenu de la seringue avec l'agent de chimiothérapie soit injecté vers la seringue contenant le lipiodol pour favoriser l'émulsion eau dans huile.

Mélanger vigoureusement la solution aqueuse d'agent de chimiothérapie génère une énergie suffisante pour diminuer la taille des gouttes de la phase interne huileuse. Au moins 20 mouvements de va-et-vient sont nécessaires pour que les gouttelettes de la phase interne aient un diamètre de entre 70 et 100 microns(49).

Le mélange doit être préparé au moment de l'administration et doit être utilisé rapidement après la préparation. Si nécessaire, le mélange peut être re-homogénéisé.

Le volume de lipiodol injecté est directement lié à la taille de la tumeur à traiter ; la plupart des études cliniques relaient un volume maximum de 10 ml de lipiodol. Il est recommandé d'utiliser un volume de lipiodol inférieur ou égal à 15 ml pour un adulte et par session. L'utilisation d'un volume supérieur à 20 ml présente un haut risque d'effets indésirables potentiellement mortels, tels qu'une insuffisance hépatique ou une toxicité pulmonaire.

Un groupe d'étude japonais travaillant sur le cancer hépatique a démontré une augmentation de la survie globale lorsqu'un agent particulaire est utilisé après l'injection de la chimiothérapie lipiodolée (sur une étude incluant 11030 patients) (50). En effet, l'utilisation d'un agent particulaire comme agent d'embolisation pour la TACE après injection du mélange médicament/lipiodol augmente le taux de nécrose de la tumeur principale de 13 à 83% et le taux de nécrose des nodules satellites de 6 à 53%(51).

7.5 Fréquence de traitement

Dans la majorité des cas, la procédure est réalisée deux fois. Dans le cas d'une tumeur unique localisée, la deuxième session visera la même localisation. Dans le cas d'une tumeur qui atteint les deux lobes, les lobes hépatiques sont traités séparément lors de sessions différentes.

Deux sessions de traitement devraient être réalisées avant de juger de l'efficacité ou non de la TACE.

Ces sessions sont réalisées avec un intervalle de 2 à 9 semaines, en fonction de la tolérance du traitement et de son efficacité, jusqu'à l'obtention d'une réponse complète.

8. Effets secondaires

La chimioembolisation peut être suivie de complications locales. En effet, un hématome peut survenir au niveau du point de ponction, mais il se résorbe en moyenne dans les deux à trois semaines après l'intervention.

Dans les jours suivants l'intervention, un syndrome de post-embolisation peut également très fréquemment survenir. Ce syndrome est caractérisé par des nausées voire des vomissements, des douleurs abdominales ainsi qu'une hyperthermie.(52) (53)

Les complications peuvent être liées au terrain, à la technique ou à la toxicité de l'agent anticancéreux administré. La mortalité liée à la TACE est relativement faible, et a été rapportée à 4 % dans l'étude PRECISION V [11]. Elle est le plus souvent liée à une décompensation de la cirrhose avec dysfonction hépatique, mais peut aussi être liée à une complication de la cirrhose (hémorragie digestive par rupture de varices œsophagiennes), à la rupture de la tumeur ou à une infection. C'est cette défaillance hépatique qui est la complication la plus grave.

Dans de rares cas, des complications hémorragiques (ulcérations duodénales ou gastriques) et infectieuses peuvent survenir. Des cas de leucopénies ont également été observés.

La toxicité spécifique de l'agent anticancéreux est moins importante que lors de l'administration systémique, mais peut néanmoins survenir. Par exemple, certains patients traités par TACE avec doxorubicine peuvent présenter une toxicité hématologique, une alopecie, une mucite ou une décoloration cutanée.

Plus rarement, des erreurs techniques comme les injections extrahépatiques peuvent engendrer des complications.

9. Contre-indications

Les contre-indications absolues et relatives de la TACE sont présentées dans le Tableau 6.

Contre-indications absolues	Cirrhose décompensée (Score Child-Pugh B8 ou plus), incluant : - Jaunisse - Encéphalopathie clinique - Ascite réfractaire - Syndrome hépatorénal
	Dissémination tumorale extrahépatique
	Flux de la veine portal sévèrement diminué
	Contre-indications techniques du traitement hépatique intra-artériel
	Insuffisance rénale (créatinine ≥ 20 mg/mL ou clairance de la créatinine ≤ 30 mL/min)
Contre-indications relatives	Taille de la tumeur ≥ 10 cm
	Comorbidités incluant une dysfonction d'organe : - Maladie cardiovasculaire active - Maladie pulmonaire active
	Varices non traitées, à haut risque de saignement

Tableau 6 Contreindications absolues et relatives de la TACE chez les patients CHC (adapté de Raoul et al(54))

PARTIE 3

FORMULATION : ESSAIS AVEC LE GNS561

1. GNS561 – besoin

Le GNS561 est un composé lipophile et basique, peu soluble dans l'eau et soluble dans le diméthylsulfoxyde (DMSO).

Les études préliminaires de polymorphisme ont montré que la forme base du GNS561 ne présente pas de polymorphisme au contraire des sels testés. Cette forme base a donc été sélectionnée.

Le GNS561 est actuellement administré par voie orale. Genoscience Pharma cherche à exploiter une formulation alternative, adaptée à la chimioembolisation vue précédemment. L'objectif est de potentialiser le tropisme hépatique en diminuant la concentration systémique pour diminuer les effets secondaires liés à la voie orale.

La forme galénique à envisager est une solution ou une suspension, la suspension étant plus adaptée à GNS561 car c'est une molécule hydrophobe.

Une étude a été réalisée pour déterminer la compatibilité du GNS561 avec le Lipiodol, afin de développer une nouvelle formulation pour l'administration par TACE.

Des solutions et des suspensions de GNS561 dans du Lipiodol ont été préparées, et leurs stabilités étudiées pour déterminer la formulation la plus adaptée à l'application à la TACE.

Pour la TACE, le volume d'injection est en général de 10 à 15 mL, et le médicament dosé à environ 100 mg(55). L'objectif est donc d'avoir une solubilité à 10 mg/mL pour le GNS561.

2. Pré-formulation

Dans l'attente de la mise à disposition du lipiodol par le laboratoire Guerbet, Genoscience Pharma a souhaité réaliser des tests préliminaires avec une huile de substitution.

Une comparaison a été réalisée entre le lipiodol et une sélection d'huiles végétales les plus proches possible : huile d'œillette, l'huile naturelle de carthame et l'huile naturelle de lin.

Cette comparaison (présentée dans le Tableau 7) prend en compte la densité à 15°C, la viscosité des huiles à 15°C, la viscosité à 37°C/40°C et la longueur des acides gras.

	Lipiodol	Huile d'œillette	Huile naturelle de carthame	Huile naturelle de lin
Densité (15°C)	1,28	0,924	0,924	0,931
Viscosité (15°C)	54,68 mm ² /s	.	.	.
Viscosité (37-40°C)	19,53 mm ² /s	29,02 mm ² /s	.	25,46 mm ² /s
Longueur des acides gras	70% de C18 :2 20% de C18 :1	70% de C18 :2 20% de C18 :1	70% de C18 :2 15% de C18 :1	50% DE C18 :3 15% de C18 :2 20% de C18 :1

Tableau 7 Comparaison du lipiodol avec des huiles végétales

Le Lipiodol est constitué d'esters éthyliques d'acides gras iodés de l'huile d'œillette.

C'est donc cette huile d'œillette qui a été choisie pour les études de pré-formulation : sa composition en acides gras est identique à celle du lipiodol, la seule différence réside dans le fait que les acides gras du Lipiodol sont iodés.

Etudier la solubilité de GNS561 (sous forme de poudre) dans l'huile d'œillette devrait ainsi permettre d'orienter la stratégie de formulation.

Pour déterminer la solubilité du GNS561 dans l'huile d'œillette, des solutions à concentrations différentes ont été préparées :

- Une solution à 1 mg/ml de GNS551
- Une solution à 3 mg/ml de GNS551
- Une solution à 6 mg/ml de GNS551
- Une solution à 9 mg/ml de GNS551

Le mélange a été réalisé par trois techniques différentes : par agitation manuelle, par agitation par vortex et par sonication (bain à ultrasons). Les résultats sont présentés dans le Tableau 8.

Dans l'huile d'oeillette	Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3	Echantillon 4
Concentration de GNS561	1 mg/ml	3 mg/ml	6 mg/ml	9 mg/ml
Volume (mL)	5	3	3	3
Agitation :				
Manuelle	Insuffisant	Insuffisant	Insuffisant	Insuffisant
Vortex	Insuffisant	Insuffisant	Insuffisant	Insuffisant
Sonication (15 minutes)	Insuffisant	Insuffisant	Insuffisant	Insuffisant
Sonication (1 heure)	Insuffisant	Insuffisant	Insuffisant	Insuffisant

Tableau 8 Préparation de GNS561 dans l'huile d'oeillette

Le mélange du GNS561 avec l'huile d'oeillette a été difficile à réaliser : en effet, même avec des faibles concentration de GNS561 quelle que soit la méthode d'agitation testée, des particules de tailles importantes persistent.

Les résultats de ces essais de solubilité suggèrent donc que la préparation d'une suspension est à privilégier.

3. Tests de solubilité – compatibilité du GNS561 avec le Lipiodol

3.1 Au sein du laboratoire de Genoscience Pharma

Des mesures de la solubilité du GNS561 dans le lipiodol ont été réalisées. Différentes concentrations (3, 5, 10 et 15 mg/mL) et différentes techniques d'agitation ont été testées.

La solubilité a été évaluée visuellement, avec les résultats suivants (Tableau 9) :

Lipiodol	L1	L2	L3	L4
GNS561 concentration	3 mg/mL	5 mg/mL	10 mg/mL	15 mg/mL
Volume	3 mL	3 mL	3 mL	3 mL
Méthode d'agitation				
Manuel	Suspension	Suspension	Suspension	Suspension
Vortex	Suspension	Suspension	Suspension	Suspension
Sonication (15 mn)	Suspension	Suspension	Suspension	Suspension
Sonication (1h)	Solution	Solution	Suspension	Suspension

Tableau 9 Observation de la solubilité du GNS561 dans le lipiodol

Dans chaque test, 3 mL de Lipiodol ont été utilisés. L'agitation manuelle et par vortex ne semblent pas efficaces. Des solutions stables sont néanmoins obtenues à 3 mg/mL et à 5 mg/mL après 1 heure de sonication.

A des concentrations plus élevées (10 mg/mL et 15 mg/mL), on n'obtient pas de solutions mais des suspensions après 1h de sonication.

On suppose donc une solubilité du GNS561 dans le lipiodol entre 5 mg/mL et 10 mg/mL. Cette observation est confirmée par la mesure de la solubilité par HPLC par le laboratoire partenaire, ce qui est en dessous de la solubilité cible à 10 mg/ml pour une formulation pour la TACE.

3.2 Chez le laboratoire partenaire

La solubilité du GNS561 dans le Lipiodol a été étudiée chez le laboratoire partenaire à saturation, lors de 2 tests indépendants. Le GNS561 a été progressivement introduit dans le Lipiodol (de 5 à 10 mg/mL), et la suspension a été agitée magnétiquement pendant plus de 24 heures à 20°C et à l'abri de la lumière.

Le surnageant a ensuite été isolé par centrifugation et filtration, et le test réalisé par une analyse HPLC.

Les résultats sont présentés dans le Tableau 10 :

Test	Solubilité du GNS561 dans le Lipiodol à l'équilibre, après 24 heures et à 20°C
Numéro 1	7.9 mg/mL
Numéro 2	7.9 mg/mL

Tableau 10 Solubilité du GNS561 dans le Lipiodol - détermination par HPLC

Le surnageant a ensuite été réanalysé après 3 jours de stockage à 20°C. Aucune dégradation n'a été observée (pas de diminution significative du contenu en GNS561, pas de formation d'impureté).

Les résultats sont présentés dans le Tableau 11 :

Echantillon	Concentration en GNS561 dans le surnageant suite à la mesure de solubilité
T0	7.9 mg/mL
T 3jours	7.9 mg/mL

Tableau 11 Concentration en GNS561 dans le surnageant après 3 jours - détermination par HPLC

Les résultats observés visuellement chez Genoscience Pharma, qui avaient permis de conclure que la solubilité du GNS561 dans le Lipiodol se situait entre 5 et 10 mg/mL ont donc été confirmés par les tests HPLC réalisés chez le laboratoire partenaire. La solubilité mesurée à saturation est de 7.9 mg/mL, et la solution correspondante est stable après 3 jours.

Suite à ces tests de solubilité, une solution et deux suspensions de GNS561 dans le Lipiodol ont été préparées pour étudier leur stabilité :

- Une solution à 7.9 mg/mL, préparée par agitation magnétique à 20°C pendant 24 heures
- Une suspension à 10 mg/mL, préparée en ajoutant du Lipiodol à du GNS561, agitée manuellement pendant 30 secondes puis par vortex pendant 30 secondes
- Une suspension à 20 mg/mL, préparée en ajoutant du Lipiodol à du GNS561, agitée manuellement pendant 1 minute puis par vortex pendant 1 minute

4 Solubilité du GNS 561 dans un mélange Lipiodol/Ethanol

4.1 Chez Genoscience Pharma

De nombreuses publications (56) (57) (58) recommandent d'utiliser de l'éthanol avec le Lipiodol dans les protocoles de TACE ; la solubilité du GNS561 dans un mélange Lipiodol/Ethanol a donc été étudiée.

Dans un premier temps, c'est la solubilité du GNS561 dans l'éthanol seul qui a été évalué. Les concentrations testées variaient de 6.67 mg/mL à 20 mg/mL et différentes méthodes d'agitations ont été utilisées.

La solubilité dans l'éthanol atteint un seuil proche de celui observé dans le Lipiodol : à 6.67 et 10 mg/mL, des solutions étaient obtenues tandis qu'on obtient des solutions à 15 et 20 mg/mL. L'éthanol permet même une meilleure solubilisation comparée au Lipiodol : à 6.67 mg/mL, la sonication n'est pas nécessaire pour solubiliser l'API et l'agitation par vortex est suffisante. A 10 mg/mL, la sonication pendant 15 mn suffit à solubiliser le composé.

A 15 et 20 mg/mL, même la sonication pendant 1h ne permet pas d'obtenir des solutions.

Dans l'éthanol	E6	E10	E15	E20
Concentration en GNS561	6.67 mg/mL	10 mg/mL	15 mg/mL	20 mg/mL
Volume	3 mL	3 mL	3 mL	3 mL
Méthode d'agitation				
Manuelle	Suspension	Suspension	Suspension	Suspension
Vortex	Solution	Suspension	Suspension	Suspension
Sonication (15 min)		Solution	Suspension	Suspension
Sonication (1h)			Suspension	Suspension

Tableau 12 Solubilité du GNS561 dans l'éthanol

Sachant que l'éthanol améliore la solubilisation de GNS561, la solubilité a aussi été mesurée dans différents mélanges lipiodol/éthanol, avec un ratio allant de 50/50 à 95/5 et avec des concentrations allant de 10 à 20 mg/mL (voir résultats Tableau 13).

Mélange Lipiodol/Ethanol	LE 10	LE 15	L8E2 15	L8E2 20	L9E1 15	LE5% 15
Concentration en GNS561	10 mg/ml	15 mg/ml	15 mg/ml	20 mg/ml	15 mg/ml	15 mg/ml
Ratio Lipiodol/Ethanol	50/50	50/50	80/20	80/20	90/10	95/5
Volume	3 mL	3 mL	3 mL	3 mL	3 mL	3 mL
Méthode d'agitation :						
Manual	Suspension	Suspension	Suspension	Suspension	Suspension	Suspension
Vortex	Solution	Solution	Suspension	Suspension	Suspension	Suspension
Sonication (15 min)			Solution	Solution	Suspension	Suspension
Sonication (1 h)					Solution	Suspension

Tableau 13 Solubilité du GNS561 dans des mélanges Lipiodol/éthanol

Comme attendu, la présence d'éthanol améliore la solubilisation du GNS561. Alors qu'on obtenait des suspensions à 10 et 15 mg/ml dans le lipiodol seul après 1 heure de sonication, on observe maintenant des solutions après agitation au vortex avec un ratio 50/50 de lipiodol/éthanol.

Ce phénomène est confirmé lorsque le pourcentage d'éthanol est diminué. A 15 mg/mL et avec un ratio 80/20 de Lipiodol/éthanol, la solubilisation du GNS561 est réalisée seulement après une sonication de 15 minutes. Le même résultat est observé à 20 mg/mL. La solubilisation est encore plus mauvaise en utilisant 10 et 5% d'éthanol, avec l'obtention d'une solution après 1 heure de sonication dans le premier cas, et une suspension dans le deuxième.

Tous les échantillons ont été conservés à température ambiante, et protégés de la lumière pour les études de stabilité.

4.2 Chez le laboratoire partenaire

La solubilité du GNS561 dans un mélange Lipiodol/Ethanol a aussi été étudiée chez le laboratoire partenaire, avec un ratio 95/5. Le même protocole de dissolution que celui de Genoscience Pharma a été utilisé pour pouvoir comparer les observations.

Le GNS561 a été introduit progressivement dans le Lipiodol, et la suspension a été agitée magnétiquement pendant 24h à 20°C et à l'abri de la lumière. Le surnageant a été isolé par centrifugation et filtration, et a été analysé par HPLC.

Les résultats sont dans le Tableau 14 :

Essai	Solubilité du GNS561 dans un mélange Lipiodol/éthanol après 24h à 20°C
1	15.9 mg/ml
2	15.9 mg/mL

Tableau 14 Solubilité du GNS561 dans un mélange lipiodol/éthanol - détermination par HPLC

Comparé à la solubilité du GNS561 dans le Lipiodol qui était à 7,9 mg/mL, l'ajout de 5% d'éthanol au mélange a permis de quasiment doubler la solubilité. Les résultats obtenus sont aussi meilleurs que ceux obtenus à Genoscience Pharma.

Avec une solubilité à 15.9 mg/mL, la solution de GNS561 dans un mélange 95/5 de Lipiodol/Ethanol pourrait constituer une formulation efficace pour la TACE.

5 Résultats de stabilité pour les solutions et suspensions de GNS561

5.1 Chez Genoscience Pharma

Tous les échantillons testés ont été conservés à température ambiante et à l'abri de la lumière. Les résultats des observations sont présentés dans les Tableaux 15 et 16 :

GNS561	Véhicule	T0	T1semaine	T2semaines	T1mois	T2mois	T3mois
3 mg/ml	Lipiodol	Solution	Stable	Stable	Stable	Jaune + précipitation	Jaune + précipitation
5 mg/ml	Lipiodol	Solution	Stable	Stable	Stable	Jaune + précipitation	Jaune + précipitation
10 mg/ml	Lipiodol	Suspension	Stable	Stable	Sédimentation	Jaune + précipitation	Jaune + sédimentation
15 mg/ml	Lipiodol	Suspension	Stable	Sédimentation	Sédimentation	Jaune + précipitation	Jaune + sédimentation

Tableau 15 Données de stabilité des mélanges GNS561/Lipiodol

A 3 mg/mL et 5 mg/mL, les solutions restent stables jusqu'à 1 mois puis jaunissent et précipitent.

Les suspensions à 10 et 15 mg/mL sont stables respectivement pendant 2 semaines et 1 semaine. Une sédimentation réversible par une agitation manuelle apparaît au-delà. Cependant, à 2 et 3 mois, les deux échantillons se colorent en jaune et sédimentent.

Les échantillons avec de l'éthanol ont aussi été régulièrement vérifiés pour savoir si l'ajout d'éthanol au mélange GNS561/Lipiodol permettrait d'améliorer la solubilité sans impacter la stabilité (Tableau 16) :

GNS561	Véhicule	T0	T1semaine	T2semaines	T1mois	T2mois	T3mois
-	Lipiodol/Ethanol 50/50	Limpide	Stable	Jaune	Orange	Orange foncé	Orange très foncé
-	Lipiodol/Ethanol 80/20	Limpide	Stable	Jaune	Jaune	Jaune foncé	Jaune foncé
-	Lipiodol/huile d'œillette 50/50	Limpide	Stable	Stable	Stable	Stable	Stable
6,67 mg/ml	Ethanol	Solution	Stable	Stable	Stable	Stable	Stable
10 mg/ml	Ethanol	Solution	Stable	Stable	Stable	Stable	Stable
15 mg/ml	Ethanol	Suspension	Sédimentation	Sédimentation	Sédimentation	Sédimentation	Sédimentation
20 mg/ml	Ethanol	Suspension	Amorphe	Amorphe	Amorphe	Amorphe	Amorphe
10 mg/ml	Lipiodol/Ethanol 50/50	Solution	Stable	Stable	Précipitation	Précipitation	Précipitation
15 mg/ml	Lipiodol/Ethanol 50/50	Solution	Stable	Stable	Précipitation	Précipitation	Précipitation
15 mg/ml	Lipiodol/Ethanol 80/20	Solution	Stable	Précipitation	Précipitation	Précipitation	Précipitation
20 mg/ml	Lipiodol/Ethanol 80/20	Solution	Stable	Précipitation	Précipitation	Précipitation	Précipitation
15 mg/ml	Lipiodol/Ethanol 90/10	Solution	Stable	Précipitation	Précipitation	Précipitation	Précipitation
15 mg/ml	Lipiodol/Ethanol 95/5	Suspension	Stable	Sédimentation	Sédimentation	Sédimentation	Sédimentation

Tableau 16 Données de stabilité des mélanges GNS561/Ethanol et GNS561/Lipiodol/Ethanol

Les échantillons C1, C2 et C3 ont été préparé sans GNS561 pour déterminer la miscibilité du lipiodol et de l'éthanol, et du lipiodol et de l'huile d'œillette. Les 2 solvants sont bien miscibles.

Le mélange Lipiodol/Huile d'œillette est resté stable pendant 3 mois. Cependant, le mélange Lipiodol/Ethanol a commencé à jaunir au bout de 2 semaines. Au plus la concentration en éthanol était élevé, au plus la solution était foncée.

La stabilité de la solution de GNS561 dans de l'éthanol pur a été étudiée à 6.67, 10, 15 et 20 mg/ml. A 6.67 et 10 mg/ml, les deux solutions sont restées stables pendant 3 mois. Pour la suspension de 15 mg/mL, une sédimentation progressive a été observée pendant l'étude de stabilité. Cette sédimentation est facilement réversible par agitation manuelle.

Pour la suspension à 20 mg/mL, un mélange amorphe se forme après 1 semaine, qui ressemble à un colloïde ou un gel. Ce mélange GNS561/Ethanol reste sous cette forme pendant 3 mois.

Après avoir testé la stabilité dans du lipiodol et de l'éthanol, des solutions et des suspensions de GNS561 dans des mélanges lipiodol/éthanol ont été testés. A un ratio 50/50 de lipiodol/éthanol, les solutions à 10 mg/mL et 15 mg/mL sont stables jusqu'à 2 semaines. Après 1 mois, on observe une précipitation dans les 2 échantillons.

Ce phénomène de précipitation se développe plus rapidement quand le pourcentage en éthanol diminue. Avec un ratio de 80/20 en lipiodol/éthanol, la précipitation a lieu au bout de deux semaines à 15 mg/mL et 20 mg/mL. On observe la même chose à 15 mg/mL avec un ratio de 90/10 en lipiodol/éthanol.

Dans le cas de la suspension de GNS561 dans un mélange lipiodol/éthanol avec un ratio de 95/5 à 15 mg/mL, la suspension reste stable après une semaine mais on observe une sédimentation au bout de 2 semaines et jusqu'à 3 mois. Une agitation manuelle suffit à retrouver une suspension.

5.2 Chez le laboratoire partenaire

Des tests de stabilité ont été réalisés sur deux solutions et deux suspensions de GNS561.

Les deux solutions à 7 mg/mL dans le Lipiodol, et 15 mg/mL dans le mélange Lipiodol/Ethanol 95/5 ont été monitorés pendant 2 mois à 4°C et 20°C

Les résultats et observations sont présentées dans le Tableau 17 :

Solutions	Température	Temps	Observation macroscopique	Concentration à GNS561 (mg/mL)
7 mg/mL dans du Lipiodol	-	T0	Limpide	6.89
	4°C	2 jours	Limpide	6.86
		7 jours	Très légèrement trouble	6.87
		3 semaines	Trouble	6.75 (échantillon filtré)
		2 mois	Très trouble et jaunâtre	6.73 (échantillon filtré)
	20°C	2 jours	Légèrement trouble	6.82
		7 jours	Trouble (pas de solidification)	6.69 (échantillon filtré)
		3 semaines	Trouble (solidification)	6.83
		2 mois	Forte coloration jaune (solidification)	6.35 (échantillon filtré)
		2 mois		5.78 (échantillon filtré)
15 mg/mL dans un mélange Lipiodol/Ethanol 95/5	-	T0	Limpide	14.98
	4°C	2 jours	Limpide (légère solidification)	14.92 (échantillon filtré)
		7 jours	Légèrement trouble (solidification)	15.02 (échantillon filtré)
		3 semaines	Légèrement trouble (solidification)	14.88 (échantillon filtré)
		2 mois	Jaunâtre (solidification)	15.17 (échantillon filtré)
	20°C	2 jours	Trouble (solidification)	14.86 (échantillon filtré)
		7 jours	Trouble (solidification)	14.83 (échantillon filtré)
		3 semaines	Trouble (solidification)	14.35 (échantillon filtré)
		2 mois	Trouble (solidification importante)	13.20 (échantillon filtré)
		2 mois		

Tableau 17 Données de stabilité des solutions de GNS561/Lipiodol

A 7 mg/mL et à 4°C, la solution est stable pendant 2 jours, avec une concentration en GNS561 constante.

De 7 jours à 2 mois, la solution devient progressivement plus trouble et la concentration en GNS561 diminue, jusqu'à arriver après 2 mois à une solution très trouble et jaunâtre contenant 6.73 mg/mL de GNS561.

A 20°C, l'évolution est plus rapide et le mélange est trouble après 7 jours, avec la formation d'un solide après 3 semaines. Après 2 mois, une coloration jaune marquée est visible, et la concentration en GNS561 est de seulement 5.78 mg/mL.

Pour la solution de 15mg/mL dans le mélange Lipiodol/Ethanol 95/5, les mêmes types de résultats sont observés. A 4°C, un solide est observé après seulement 2 jours et le mélange devient trouble après 7 jours. A 2 mois, on observe une coloration jaune même si la concentration en GNS561 reste constante durant la durée de l'étude, allant de 14.88 à 15.17 mg/mL.

Les deux suspensions à 10 mg/ml et 20 mg/mL dans le Lipiodol ont été observées pendant respectivement 3 mois et 6 semaines à 20°C.

Les résultats sont présentés dans le tableau 18 :

Suspensions	Température	Temps	Distribution de taille des particules			Couleur	Concentration en GNS561 (mg/mL)
			d50	d90	dmax		
10 mg/mL dans le Lipiodol	-	T0	15 µm	44 µm	279 µm	Non	10.0
	20°C	3 semaines	16 µm	52 µm	189 µm	Non	-
		6 semaines	11 µm	36 µm	179 µm	Jaune pâle	9.8
		3 mois	13 µm	63 µm	264 µm	Jaune	9.8
20 mg/mL dans le Lipiodol	-	T0	15 µm	41 µm	267 µm	Non	20.1
	20°C	3 semaines	16 µm	44 µm	243 µm	Non	-
		6 semaines	19 µm	50 µm	256 µm	Jaune pâle	20.4

Tableau 18 Données de stabilité des suspensions de GNS561 dans du lipiodol

A 10 et 20 mg/mL, les deux suspensions restent homogènes et le contenu en GNS561 est constant autour des valeurs cibles. La taille des particules (étudiée par l'analyse de la densité spectrale de puissance) reste aussi proche des valeurs de bases, donc il n'y a pas de modification importante de la granulométrie du solide dans les deux cas. Cette observation est confirmée par la microscopie optique et la lumière normale et polarisée (Figures 6 et 7).

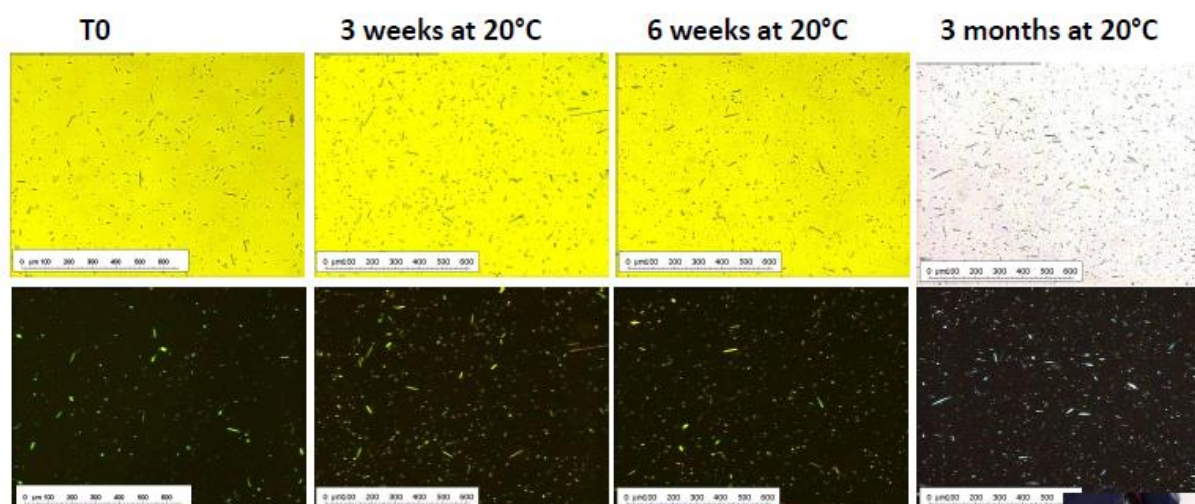


Figure 6 Observations au microscope optique des suspensions de GNS561 dans du lipiodol à 10 mg/mL

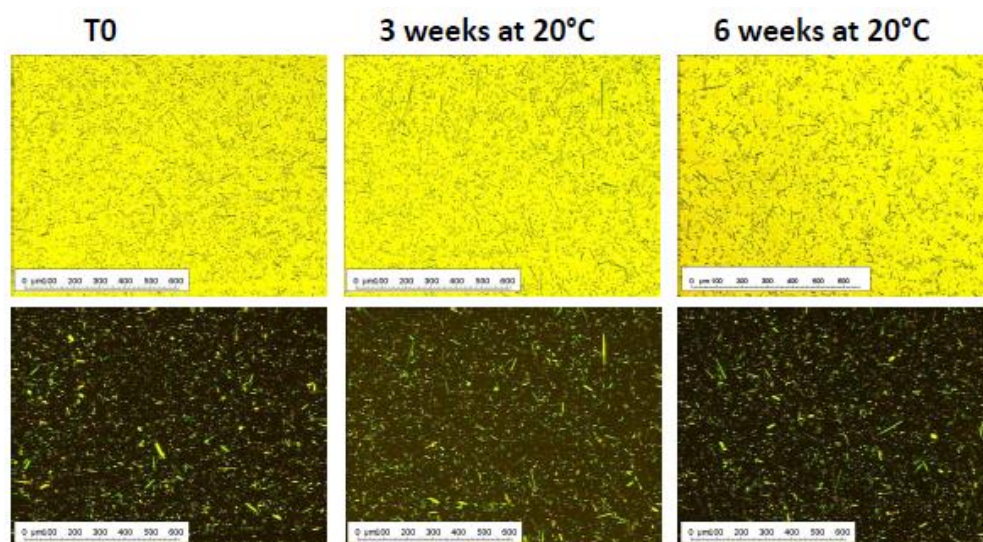


Figure 7 Observations au microscope optique de suspension de GNS561/Lipiodol à 20 mg/mL

Une coloration jaune est observée à 3 mois. Cette coloration est attendue car le lipiodol est décrit comme étant une solution jaune pâle, protégée dans un flacon en verre hermétique. La coloration jaune est liée à la libération d'iode libre, qui pourrait être accélérée par le GNS561. A ce stade du projet, des investigations plus poussées n'ont pas été réalisées pour caractériser ce phénomène. En effet, la préparation extemporanée de suspension d'anticancéreux dans le lipiodol est une pratique classique des cliniciens, et est plus simple à réaliser que la préparation d'émulsion.

5.3 Conclusion

La solubilité et la stabilité du GNS561 dans le lipiodol ont été testées par le laboratoire de Genoscience Pharma et par le laboratoire partenaire, dans le but d'obtenir une formulation stable et adaptée à une utilisation en TACE.

Les résultats et les observations indiquent une solubilité maximale de 7,9 mg/mL dans le lipiodol, ce qui est inférieur à la concentration cible.

Malgré que des problématiques liées à la solubilité ont été rencontrées par Genoscience Pharma et le laboratoire partenaire, les suspensions de GNS561 ont des stabilités à court-terme qui sont acceptables. Les suspensions à 10 mg/mL et à 20 mg/mL sont stables jusqu'à 3 semaines, sans changement de taille des particules et de couleur et avec une teneur en GNS561 constante.

En prenant en considération les requis pour la TACE en termes de concentration, de volume d'injection et de préparation des échantillons, la formulation la plus adaptée est la suspension à 20 mg/mL de GNS561 dans du lipiodol, avec une préparation extemporanée.

6 Perspectives techniques

6.1 Perspectives concernant la fabrication chimique et le contrôle

Suite à ces essais, il a été convenu que c'est l'option de suspension en préparation extemporanée qui est choisie.

Pour une préparation injectable, une étape de stérilisation doit être implémentée sur le flacon de poudre du GNS561.

La faisabilité de cette étape a d'abord été réalisée : un flacon d'API a été mis en enceinte à une température de 160°C pendant 3 heures pour vérifier la stabilité chimique du GNS561, puis analysé.

Les résultats suivants ont été obtenus (Tableau 19) :

	Dosage (% LC)	Pureté (%aire)
Echantillon non dégradé	102,4	< LD
Echantillon dégradé	100,7	RRT 1,20 < LQ

Tableau 19 Résultats de stabilité sur échantillon non dégradé et dégradé (3h à 160°C)

LD : limite de détection

LQ : limite de quantification

Une superposition de chromatogrammes présentée dans la Figure 8 (diluent, échantillon dégradé et échantillon non dégradé permet également de conclure que l'API résiste à 160°C pendant 3 heures).

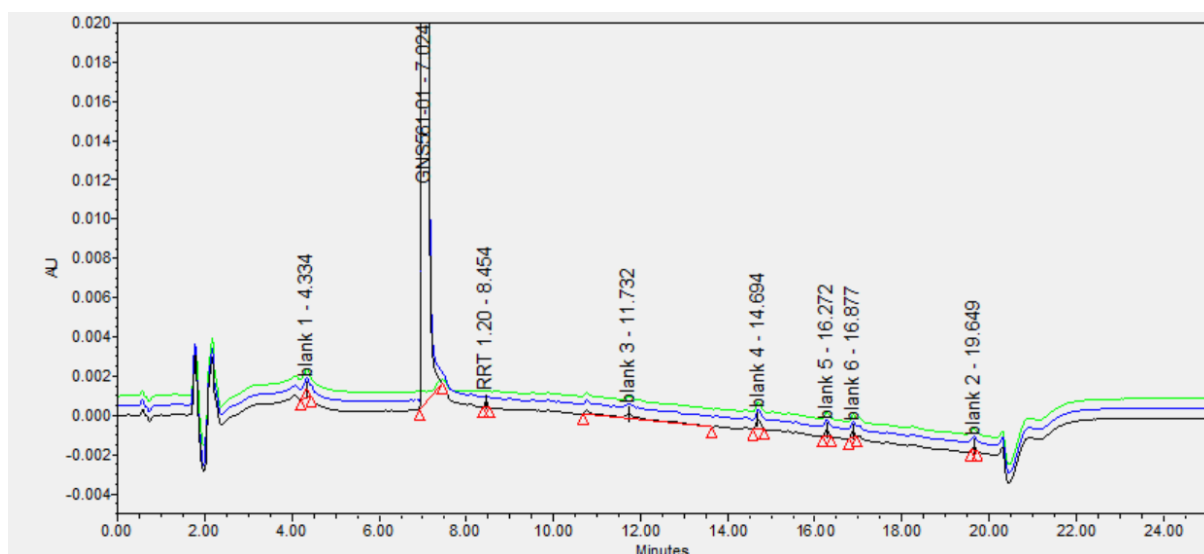


Figure 8 Superposition chromatogrammes (Diluent, Echantillon dégradé et Echantillon non dégradé)

- Non dégradé
- Dégradé 3 heures à 160°C
- Blanc

Genoscience Pharma est dans l'attente des résultats de microbiologie (contrôle de la biocharge et analyse des endotoxines bactériennes avant stérilisation). L'essai de contrôle de la biocharge consiste à prélever un lot d'API GMP pour contrôler la contamination microbienne avant stérilisation. Ces essais permettent d'avoir les données d'entrée.

Ces essais de stérilité doivent être validés. La validation de la stérilisation pourra être allégée car les conditions de chaleur sèche pour la stérilisation sont précisées dans la Pharmacopée Européenne. Il faudra cependant valider la méthode microbiologique associée.

Il reste encore à sélectionner le flacon de l'opercule. Enfin, il faudra fabriquer un lot pour l'étude de stabilité.

6.2 Validation in vivo

L'étape suivante de développement est l'étude sur des modèles animaux (études in vivo).

Les études animales peuvent s'engager de deux manières :

- Option 1 : réalisation d'une étape de validation du modèle rat-HCC avant de poursuivre sur une étude PK/PD classique
- Option 2 : proposition d'une étude PK/PD sur un modèle de lapin (VX2), très bien décrit dans la littérature pour la TACE et pour le CHC.

Si l'efficacité est mise en évidence dans le modèle rongeur (rat-HCC ou VX2), Genoscience Pharma poursuivra le développement par des études de toxicologie réglementaires sur un modèle sain rongeur et/ou non rongeur (chien ou cochon), en fonction des expositions plasmatiques et hépatiques.

Si ces premières études indiquent une trop grande toxicité, ou une trop faible efficacité, le projet sera suspendu, dans l'attente d'une amélioration.

Les résultats indiquent une limite de solubilité à 7,9 mg/mL dans le lipiodol et à 15,9 mg/mL dans le mélange lipiodol/éthanol.

Malheureusement, les stabilités sont décevantes, et les mélanges deviennent troubles après seulement 2 jours à 20°C. La fabrication industrielle d'une solution prête à l'emploi pour la TACE n'est donc pas envisageable, et impose de se tourner vers une préparation extemporanée.

Les stabilités à court-terme sont acceptables : les suspensions à 10 et 20 mg/mL sont stables jusque à 3 semaines, sans modification de la taille des particules de distribution, de la couleur et avec des taux de GNS561 constants.

La formulation la plus adaptée est celle d'une suspension de GNS561 dans du Lipiodol, à 20 mg/mL.

Cette formulation sera testée sur des lapins VX2 pour évaluer le potentiel du GNS561 dans le Lipiodol pour la TACE.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES CLINIQUES

Le carcinome hépatocellulaire est un problème de santé majeur à échelle mondiale. Actuellement, seul un tiers des patients sont éligibles aux traitements curatifs existants. Chez les patients pour lesquels ces traitements ne sont pas indiqués, une des options palliatives est la chimioembolisation transartérielle. Cette technique consiste à réaliser une injection intra-artérielle hépatique sélective d'un mélange de lipiodol et d'un médicament anticancéreux. Une standardisation de la méthode semble nécessaire car les pratiques restent des hétérogènes.

La solubilité et la stabilité du GNS561 dans le lipiodol ont été testés par le laboratoire de Genoscience Pharma et par le laboratoire partenaire, dans le but d'obtenir une formulation stable et adaptée à une utilisation en TACE.

En prenant en considération les requis pour la TACE en termes de concentration, de volume d'injection et de préparation des échantillons, la formulation la plus adaptée est la suspension à 20 mg/mL de GNS561 dans du lipiodol, avec une préparation extemporanée.

Nous pourrions espérer pour Genoscience Pharma la fabrication d'un lot clinique, et la réalisation d'un essai monocentrique en TACE sur 30 patients. Cela implique la création d'un Investigational Medicinal Product Dossier (IMPD) dédié.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394-424.
2. Fattovich G, Stroffolini T, Zagni I, Donato F. Hepatocellular carcinoma in cirrhosis: incidence and risk factors. *Gastroenterology.* nov 2004;127(5 Suppl 1):S35-50.
3. Bertuccio P, Turati F, Carioli G, Rodriguez T, La Vecchia C, Malvezzi M, et al. Global trends and predictions in hepatocellular carcinoma mortality. *J Hepatol.* 2017;67(2):302-9.
4. Anzola M. Hepatocellular carcinoma: role of hepatitis B and hepatitis C viruses proteins in hepatocarcinogenesis. *J Viral Hepat.* sept 2004;11(5):383-93.
5. Thorgeirsson SS, Grisham JW. Molecular pathogenesis of human hepatocellular carcinoma. *Nat Genet.* août 2002;31(4):339-46.
6. The Burden of Primary Liver Cancer and Underlying Etiologies From 1990 to 2015 at the Global, Regional, and National Level: Results From the Global... - PubMed - NCBI [Internet]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28983565>
7. Flemming JA, Yang JD, Vittinghoff E, Kim WR, Terrault NA. Risk prediction of hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis: The ADRESS-HCC risk model: The ADRESS-HCC Risk Model. *Cancer.* 15 nov 2014;120(22):3485-93.
8. Moro A, Jiang J, Gigou M, Féray C. Carcinogénèse hépatique et virus de l'hépatite C. *médecine/sciences.* mars 2002;18(3):335-42.
9. Heckley GA, Jarl J, Asamoah BO, G-Gerdtham U. How the risk of liver cancer changes after alcohol cessation: a review and meta-analysis of the current literature. *BMC Cancer.* 13 oct 2011;11:446.
10. Desbois-Mouthon C. De la stéatohépatite non alcoolique au carcinome hépatocellulaire : mécanismes physiopathologiques. *Médecine Mal Métaboliques.* févr 2011;5(1):38-44.
11. Zhang B-H, Yang B-H, Tang Z-Y. Randomized controlled trial of screening for hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol.* juill 2004;130(7):417-22.
12. Bolondi L. Screening for hepatocellular carcinoma in cirrhosis. *J Hepatol.* 1 déc 2003;39(6):1076-84.
13. Singal A, Volk ML, Waljee A, Salgia R, Higgins P, Rogers M a. M, et al. Meta-analysis: surveillance with ultrasound for early-stage hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther.* juill 2009;30(1):37-47.

14. Marrero JA, Feng Z, Wang Y, Nguyen MH, Befeler AS, Roberts LR, et al. α -Fetoprotein, Des- γ Carboxyprothrombin, and Lectin-Bound α -Fetoprotein in Early Hepatocellular Carcinoma. *Gastroenterology*. juill 2009;137(1):110-8.
15. Andersson KL, Salomon JA, Goldie SJ, Chung RT. Cost Effectiveness of Alternative Surveillance Strategies for Hepatocellular Carcinoma in Patients With Cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. déc 2008;6(12):1418-24.
16. Global Burden of Disease Liver Cancer Collaboration, Akinyemiju T, Abera S, Ahmed M, Alam N, Alemayohu MA, et al. The Burden of Primary Liver Cancer and Underlying Etiologies From 1990 to 2015 at the Global, Regional, and National Level: Results From the Global Burden of Disease Study 2015. *JAMA Oncol*. 1 déc 2017;3(12):1683.
17. Novel advancements in the management of hepatocellular carcinoma in 2008. - PubMed-NCBI[Internet]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18304676>
18. Colli A, Fraquelli M, Casazza G, Massironi S, Colucci A, Conte D, et al. Accuracy of Ultrasonography, Spiral CT, Magnetic Resonance, and Alpha-Fetoprotein in Diagnosing Hepatocellular Carcinoma: A Systematic Review. *CME. Am J Gastroenterol*. mars 2006;101(3):513-23.
19. Place de la radiofréquence dans la destruction des tumeurs du foie [Internet]. FMC-HGE. 2006. Disponible sur: <https://www.fmcgastro.org/postu-main/archives/postu-2006-paris/place-de-la-radiofrequence-dans-la-destruction-des-tumeurs-du-foie/>
20. Compagnon P, Grandadam S, Lorho R, Turlin B, Camus C, Jianrong Y, et al. Liver Transplantation for Hepatocellular Carcinoma Without Preoperative Tumor Biopsy: Transplantation. oct 2008;86(8):1068-76.
21. D'Amico G, Garcia-Tsao G, Pagliaro L. Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: A systematic review of 118 studies. *J Hepatol*. janv 2006;44(1):217-31.
22. Duvoux C, Roudot-Thoraval F, Decaens T, Pessione F, Badran H, Piardi T, et al. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: a model including α -fetoprotein improves the performance of Milan criteria. *Gastroenterology*. oct 2012;143(4):986-994.e3; quiz e14-15.
23. Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma: An update. *Hepatology*. mars 2011;53(3):1020-2.
24. Rimassa L, Santoro A. Sorafenib therapy in advanced hepatocellular carcinoma: the SHARP trial. *Expert Rev Anticancer Ther*. juin 2009;9(6):739-45.
25. Cheng A-L, Kang Y-K, Chen Z, Tsao C-J, Qin S, Kim JS, et al. Efficacy and safety of sorafenib in patients in the Asia-Pacific region with advanced hepatocellular carcinoma: a phase III randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Oncol*. janv 2009;10(1):25-34.

26. ct-5225_nexavar_.pdf [Internet]. [cité 24 juill 2019]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/ct-5225_nexavar_.pdf
27. Kudo M, Finn RS, Qin S, Han K-H, Ikeda K, Piscaglia F, et al. Lenvatinib versus sorafenib in first-line treatment of patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised phase 3 non-inferiority trial. *The Lancet*. mars 2018;391(10126):1163-73.
28. Bruix J, Qin S, Merle P, Granito A, Huang Y-H, Bodoky G, et al. Regorafenib for patients with hepatocellular carcinoma who progressed on sorafenib treatment (RESORCE): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Lond Engl*. 07 2017;389(10064):56-66.
29. Abou-Alfa GK, Meyer T, Cheng A-L, El-Khoueiry AB, Rimassa L, Ryoo B-Y, et al. Cabozantinib in Patients with Advanced and Progressing Hepatocellular Carcinoma. *N Engl J Med*. 5 juill 2018;379(1):54-63.
30. Référentiel «Carcinome hépatocellulaire (CHC)» [Internet]. Disponible sur: <http://oncologik.fr/referentiels/interregion/carcinome-hepatocellulaire-chc>
31. Anatomie du foie - Cancer du foie [Internet]. Disponible sur: <https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-foie/Anatomie-du-foie>
32. Vilgrain V, Vullierme M, Djabbari M, Sibert A, Menu Y. Foie et anomalies de perfusion en imagerie. 2020;12.
33. Cazejust J, Bessoud B, Colignon N, Garcia-Alba C, Planché O, Menu Y. Hepatocellular carcinoma vascularization: From the most common to the lesser known arteries. *Diagn Interv Imaging*. janv 2014;95(1):27-36.
34. Zhu AX, Duda DG, Sahani DV, Jain RK. HCC and angiogenesis: possible targets and future directions. *Nat Rev Clin Oncol*. mai 2011;8(5):292-301.
35. CT-14331_LIPIODOL_ULTRA_FLUIDE_PIC_EI_AvisPostObs_CT14331.pdf. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/evamed/CT-14331_LIPIODOL_ULTRA_FLUIDE_PIC_EI_AvisPostObs_CT14331.pdf
36. Piscaglia F, Ogasawara S. Patient Selection for Transarterial Chemoembolization in Hepatocellular Carcinoma: Importance of Benefit/Risk Assessment. *Liver Cancer*. 2018;7(1):104-19.
37. Traitement des tumeurs malignes du foie par radiologie interventionnelle : techniques intra-artérielles - Revue Médicale Suisse [Internet]. Disponible sur: <https://www.revmed.ch/RMS/2014/RMS-N-431/Traitement-des-tumeurs-malignes-du-foie-par-radiologie-interventionnelle-techniques-intra-artérielles>
38. Wolff J. Physiology and pharmacology of iodized oil in goiter prophylaxis. *Medicine (Baltimore)*. janv 2001;80(1):20-36.
39. Raoul JL, Bourguet P, Bretagne JF, Duvauferrier R, Coornaert S, Darnault P, et al. Hepatic artery injection of I-131-labeled lipiodol. Part I. Biodistribution study results in

patients with hepatocellular carcinoma and liver metastases. *Radiology*. août 1988;168(2):541-5.

40. Résumé des caractéristiques du produit - LIPIODOL ULTRA-FLUIDE 480 mg/ml, solution injectable - Base de données publique des médicaments [Internet]. Disponible sur: <http://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=65000980&typedoc=R>
41. Gaba RC, Schwind RM, Ballet S. Mechanism of Action, Pharmacokinetics, Efficacy, and Safety of Transarterial Therapies Using Ethiodized Oil: Preclinical Review in Liver Cancer Models. *J Vasc Interv Radiol JVIR*. 2018;29(3):413-24.
42. Kan Z, McCuskey PA, Wright KC, Wallace S. Role of Kupffer cells in iodized oil embolization. *Invest Radiol*. nov 1994;29(11):990-3.
43. 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*. mars 2016;39(3):334-43.
44. Sheth RA, Sabir S, Krishnamurthy S, Avery RK, Zhang YS, Khademhosseini A, et al. Endovascular Embolization by Transcatheter Delivery of Particles: Past, Present, and Future. *J Funct Biomater*. 3 avr 2017;8(2):12.
45. Boulin M, Delhom E, Pierredon-Foulongne M-A, Cercueil J-P, Guieu B. Chimioembolisation des carcinomes hépatocellulaires : une vieille méthode au goût du jour. *J Radiol Diagn Interv*. juin 2015;96(2):162-71.
46. Boulin M, Delhom E, Pierredon-Foulongne M-A, Cercueil J-P, Guieu B. Chimioembolisation des carcinomes hépatocellulaires : une vieille méthode au goût du jour. /data/revues/22115706/v96i2/S2211570615000636/ [Internet]. 11 juin 2015; Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/en/article/983572>
47. de Baere T, Zhang X, Aubert B, Harry G, Lagrange C, Ropers J, et al. Quantification of tumor uptake of iodized oils and emulsions of iodized oils: experimental study. *Radiology*. déc 1996;201(3):731-5.
48. Nakamura H, Hashimoto T, Oi H, Sawada S. Transcatheter oily chemoembolization of hepatocellular carcinoma. *Radiology*. mars 1989;170(3 Pt 1):783-6.
49. de Baere T, Dufaux J, Roche A, Counnord JL, Berthault MF, Denys A, et al. Circulatory alterations induced by intra-arterial injection of iodized oil and emulsions of iodized oil and doxorubicin: experimental study. *Radiology*. janv 1995;194(1):165-70.
50. Takayasu K, Arai S, Ikai I, Kudo M, Matsuyama Y, Kojiro M, et al. Overall survival after transarterial lipiodol infusion chemotherapy with or without embolization for unresectable hepatocellular carcinoma: propensity score analysis. *AJR Am J Roentgenol*. mars 2010;194(3):830-7.

51. Takayasu K, Shima Y, Muramatsu Y, Moriyama N, Yamada T, Makuuchi M, et al. Hepatocellular carcinoma: treatment with intraarterial iodized oil with and without chemotherapeutic agents. *Radiology*. mai 1987;163(2):345-51.
52. Lo C. Randomized controlled trial of transarterial lipiodol chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. mai 2002;35(5):1164-71.
53. A Comparison of Lipiodol Chemoembolization and Conservative Treatment for Unresectable Hepatocellular Carcinoma. *N Engl J Med*. 11 mai 1995;332(19):1256-61.
54. 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*. mai 2011;37(3):212-20.
55. Idée J-M, Guieu B. Use of Lipiodol as a drug-delivery system for transcatheter arterial chemoembolization of hepatocellular carcinoma: A review. *Crit Rev Oncol Hematol*. déc 2013;88(3):530-49.
56. Somma F, D'Angelo R, Serra N, Gatta G, Grassi R, Fiore F. Use of Ethanol in the Trans-Arterial Lipiodol Embolization (TAELE) of Intermediated-Stage HCC: Is This Safer than Conventional Trans-Arterial Chemo-Embolization (c-TACE)? *PloS One*. 2015;10(6):e0129573.
57. Mohné F, Meyer C, Kuhl CK, Pieper CC, Schild HH. Transarterial Alcohol-Lipiodol Therapy in Patients with Hepatocellular Carcinoma Using Low Alcohol Concentrations. *ROFO Fortschr Geb Rontgenstr Nuklearmed*. juill 2016;188(7):676-83.
58. Yu SCH, Hui JWY, Hui EP, Mo F, Lee PSF, Wong J, et al. Embolization efficacy and treatment effectiveness of transarterial therapy for unresectable hepatocellular carcinoma: a case-controlled comparison of transarterial ethanol ablation with lipiodol-ethanol mixture versus transcatheter arterial chemoembolization. *J Vasc Interv Radiol JVIR*. mars 2009;20(3):352-9.