



**HAL**  
open science

# Évaluation des facteurs pronostiques de réussite de biopsie avant thérapie ciblée pour cancer métastatique en progression sous chimiothérapie

Emilie Desportes

► **To cite this version:**

Emilie Desportes. Évaluation des facteurs pronostiques de réussite de biopsie avant thérapie ciblée pour cancer métastatique en progression sous chimiothérapie. Sciences du Vivant [q-bio]. 2016. dumas-01600517

**HAL Id: dumas-01600517**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01600517>**

Submitted on 6 Nov 2017

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# AVERTISSEMENT

Cette thèse d'exercice est le fruit d'un travail approuvé par le jury de soutenance et réalisé dans le but d'obtenir le diplôme d'Etat de docteur en médecine. Ce document est mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt toute poursuite pénale.

*Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 122.4*

*Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 335.2-L 335.10*

UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES  
Faculté de Médecine PARIS DESCARTES

Année 2016

N° 91

THÈSE  
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT  
DE  
DOCTEUR EN MÉDECINE

Évaluation des facteurs pronostiques de réussite de biopsie  
avant thérapie ciblée pour cancer métastatique en  
progression sous chimiothérapie

Présentée et soutenue publiquement  
le 24 juin 2016

Par

***Émilie DESPORTES***

Née le 19 décembre 1986 à Clichy-la-Garenne (92)

Dirigée par M. Le Docteur Vincent SERVOIS, Praticien spécialiste des CLCC

Jury :

M. Le Professeur Jean-Yves Pierga, PU-PH ..... Président

M. Le Professeur Eric de Kerviler, PU-PH

M. Le Professeur Antoine Khalil, PU-PH

Mme Le Docteur Mathilde Wagner, PH



Except where otherwise noted, this work is licensed under  
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/>

## **REMERCIEMENTS**

### **A Monsieur le Professeur Jean-Yves PIERGA**

Merci de me faire l'honneur de présider ce jury de thèse, en dépit de son contenu orienté radiologie. J'attends avec impatience votre point de vue clinique.

### **A Monsieur le Docteur Vincent SERVOIS**

Merci de m'avoir proposé ce sujet et de me faire l'honneur de diriger cette thèse. Merci de ton encadrement et ton implication dans la réalisation ce travail, de ta grande disponibilité, ta relecture et tes conseils avisés.

### **A Monsieur le Professeur Eric DE KERVILER**

Merci de me faire l'honneur de participer à ce jury, d'avoir accepté de juger ce travail et d'y apporter l'expérience propre de l'hôpital Saint-Louis.

### **A Monsieur le Professeur Antoine KHALIL**

Merci de me faire l'honneur de participer à ce jury et d'examiner ce travail.

### **A Madame le Docteur Mathilde WAGNER**

Merci de ton implication, ton aide et ta patience infinie concernant ce projet, ce fut un réel plaisir de travailler avec toi.

A mes grands-parents et Caroline,

À mes parents, mon frère et ma sœur pour votre amour sans faille ; je vous remercie particulièrement pour cette thèse, mon père pour tes corrections extrêmement précieuses, ma mère pour ton soutien indéfectible... Et surtout, Antoine pour tes deux schémas d'une qualité inégalée et Marie tes commentaires d'une pertinence rare,

À Jean ma plus belle rencontre,

À Carole pour ton amitié et tes conseils toujours avisés,

À Serge pour ta bonne humeur permanente,

À Amandine, à mes tantes et oncles, cousines et cousins, petite nièce Lucie et petits neveux,

À mes amis de toujours, ma pétillante Manue et Tutu, Camille,

À tous mes amis de la fac avec qui j'ai passé ces concours et sans lesquels je n'aurais peut-être pas eu le bonheur de faire ces études de radiologie, Claire, Anthony, Antoine, Laure, Will,

À mes co-internes passés et actuels, en particulier à Pauline pour ton amitié sans faille et Florence, Shek et Pierre-Adrien,

À toutes ces merveilleuses rencontres que j'ai faites grâce à ces études, et à toutes ces équipes de radiologie qui m'ont transmis l'amour de cette spécialité, formée et donné l'envie de continuer.

## **Abréviations utilisées dans le texte :**

ADN : Acide DésoxyriboNucléique  
CGH : Comparative Genomic Hybridization  
EGF : Epidermal Growth Factor  
EGFR : Epidermal Growth Factor Receptor  
FISH : Fluorescence In Situ Hybridization  
FITC : Fluorescein Isothiocyanate  
GIST : Gastro-Intestinal Stromal Tumor  
HER2 : Human Epidermal Growth Factor Receptor-2  
HIF : Hypoxia Inducible Factor  
HTS : High-throughput sequencing  
IMC : Indice de Masse Corporelle  
IRM : Imagerie par Résonance Magnétique  
KRAS : V-Ki-ras2 Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog  
MAP-kinase : Mitogen-Activated-Protein kinase  
NGS : Next-Generation Sequencing  
ORL : Oto-Rhyno-Laryngé  
PACS : Picture Archiving and Communication System  
ROI : Region Of Interest  
TEP : Tomographie par Emission de Positrons  
TGF : Transforming Growth Factor  
TNF : Transforming Growth Factor  
UH : Unité Hounsfield

## Table des matières

<b>REMERCIEMENTS</b>	<b>2</b>
<b>INTRODUCTION</b>	<b>8</b>
<b>PREMIERE PARTIE : THERAPIES CIBLEES, ETUDES GENOMIQUES ET BIOPSIES</b>	<b>9</b>
I. INTRODUCTION AUX THERAPIES CIBLEES	9
A. Généralités	9
B. Oncogenèse	10
C. Mode d'action	11
1. Thérapies ciblées anti-EGFR	11
A. EGFR	11
B. Thérapies ciblées et EGFR	12
Les anticorps monoclonaux	13
Les inhibiteurs de protéine tyrosine kinase	13
2. Thérapies ciblées anti-VEGF/VEGFR	13
A. Angiogénèse	13
B. Thérapies ciblées et VEGF	14
Les anticorps monoclonaux anti-VEGF	15
Les inhibiteurs de protéine tyrosine kinase	16
II. NOTION DE PROFIL MOLECULAIRE	17
A. Exemples de réussites des thérapies ciblées	17
B. Rappels de cytogénétique	18
1. FISH (ou hybridation in situ fluorescente)	18
2. CGH-array	20
3. Séquençage haut débit	23
C. Profil moléculaire	24
D. Notion de cellularité tumorale	25
1. Résultats expérimentaux issus de l'institut Curie	25
2. Résultats issus de la littérature	26
III. BIOPSIES	28
A. Les biopsies chirurgicales	28
B. Les biopsies en palpable	28
C. Les biopsies sous endoscopie	28
D. Les biopsies radio-guidées	29
1. Généralités	29
2. Biopsies radio-guidées et thérapies ciblées	30
IV. OBJECTIF	32
<b>DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES</b>	<b>33</b>
I. POPULATION	33
II. BIOPSIES : PROCEDURES	33
<i>Biopsies scano-guidées</i>	34
III. ANALYSE ANATOMOPATHOLOGIQUE	34
A. Prélèvements	34
B. Analyses	34
IV. RELEVÉ DES DONNEES CLINIQUES ET RADIOLOGIQUES	35
A. Données cliniques	35
B. Données radiologiques	35
V. ANALYSES STATISTIQUES	36

<b>TROISIEME PARTIE : RESULTATS</b>	<b>37</b>
I. POPULATION ET TUMEURS	37
II. BIOPSIES	40
1. <i>Complications des biopsies</i>	40
a. Biopsies en palpable	40
b. Biopsies sous endoscopie	40
c. Biopsies sous guidage scanographique	40
d. Biopsies chirurgicales	41
2. <i>Facteurs pronostiques de cellularité tumorale et réussite de l'ensemble des biopsies</i>	41
3. <i>Facteurs pronostiques de cellularité tumorale et réussite des biopsies scano-guidées</i>	44
III. ETIOLOGIE DES ECHECS	48
<b>QUATRIEME PARTIE : DISCUSSION</b>	<b>52</b>
<b>CONCLUSION</b>	<b>58</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>59</b>

## Tableaux et figures

<b>Tableau 1:</b> Caractéristiques des patients biopsiés et des lésions .....	38
<b>Tableau 2:</b> Facteurs pronostiques de cellularité.....	42
<b>Tableau 3:</b> Facteurs pronostiques de réussite de la biopsie .....	43
<b>Tableau 4:</b> Etiologie des échecs.....	51
<b>Figure 1:</b> Les mécanismes de l'oncogenèse et leur ciblage potentiel par thérapie ciblée .....	11
<b>Figure 2:</b> Mécanisme d'action du bevacizumab .....	16
<b>Figure 3:</b> Exemple de réarrangement chromosomique BCR/ABL .....	20
<b>Figure 4:</b> Principe de l'hybridation génomique comparative .....	21
<b>Figure 5:</b> Principe de l'hybridation génomique comparative sur réseau d'ADN.....	23
<b>Figure 6:</b> Exemple de profils de CGH-array d'un médulloblastome .....	26
<b>Figure 7:</b> Flow-Chart de l'étude .....	37
<b>Figure 8:</b> Courbe ROC .....	45
<b>Figure 9:</b> Exemple de réussite de biopsie scano-guidée de lésion secondaire hépatique .....	46
<b>Figure 10:</b> Exemple d'échec de biopsie scano-guidée de lésion secondaire hépatique .....	47
<b>Figure 11:</b> Echec de biopsie de lésion primitive pulmonaire.....	49
<b>Figure 12:</b> Echec de biopsie de lésion secondaire hépatique d'une tumeur primitive pulmonaire.....	49
<b>Figure 13:</b> Biopsie d'une lésion primitive pulmonaire à l'aide d'une aiguille 18-gauge .....	50
<b>Figure 14:</b> Echec de biopsie de lésion primitive pulmonaire à l'aide d'une aiguille 18-gauge.....	50

## INTRODUCTION

Les traitements anti-cancéreux sont habituellement choisis selon un faisceau d'arguments qui comprend la localisation et le type histologique de la tumeur primitive, la dissémination métastatique ganglionnaire, viscérale et osseuse, ainsi que des facteurs liés aux patients tels que son âge, ses comorbidités et son état général (Performance status).

Les résistances des lésions tumorales aux traitements dits conventionnels (chimiothérapie, radiothérapie, chirurgie) ainsi que les effets secondaires de ces traitements parfois importants ont amené les chercheurs à se tourner vers d'autres perspectives. L'ère de la médecine personnalisée est née ces dernières années avec l'avènement des thérapies ciblées, dont le principe consiste à étudier le profil moléculaire de chaque lésion tumorale afin d'identifier la présence de marqueurs tumoraux spécifiques pour administrer au patient un produit qui cible cette ou ces anomalies moléculaires. Cette stratégie vise à améliorer l'efficacité des agents anti-tumoraux en augmentant la spécificité de leur action, tout en réduisant les effets secondaires. Elle est donc fondée sur l'analyse précise et complète du génome de la tumeur et requiert pour ce faire des échantillons tumoraux riches en cellules.

Si un grand nombre d'essais cliniques est mené afin d'étudier l'efficacité de ces molécules, en particulier dans le cancer du poumon, du sein, du côlon, du rein et les lymphomes, il n'existe que peu d'études qui décrivent les facteurs de réussite de la réalisation des prélèvements tissulaires nécessaires à l'instauration de ces thérapies.

Ce travail traite dans une première partie des thérapies ciblées et des différentes méthodes de biopsies en oncologie puis nous étudierons la méthodologie et les résultats d'une étude rétrospective d'évaluation des facteurs pronostiques de réussite des biopsies (sous scanner, chirurgie, endoscopie ou en palpable) réalisées pour analyse du profil moléculaire des tumeurs chez des patients traités à l'Institut Curie entre 2012 et 2014 pour un cancer métastatique en progression malgré les traitements habituels, dans le cadre de l'étude prospective randomisée de phase II SHIVA (1).

# PREMIERE PARTIE : Thérapies ciblées, cytogénétique et biopsies

## I. INTRODUCTION AUX THERAPIES CIBLEES

### A. Généralités

Les chimiothérapies conventionnelles agissent sur les mécanismes de division cellulaire, donc de manière non sélective sur l'ensemble des cellules de l'organisme. L'effet anti-tumoral attendu découle de la sensibilité accrue des cellules tumorales aux chimiothérapies en raison de leur fort taux de prolifération et de leur faible pouvoir de réparation par rapport aux cellules saines de l'organisme. Mais il est bien connu que ce manque de spécificité est à l'origine d'un grand nombre d'effets indésirables. De plus, dans un nombre variable mais non négligeable de cas une résistance tumorale apparaît.

Les recherches en biologie moléculaire ont permis de mieux comprendre les voies de signalisation cellulaire ainsi que les altérations caractéristiques des cellules tumorales, donnant naissance à une nouvelle génération pharmacologique qui cible spécifiquement certains mécanismes de la division et la croissance cellulaire, ainsi que l'angiogenèse (2–5). Ce gain en spécificité par rapport aux produits de chimiothérapies conventionnelles laisse espérer une meilleure efficacité et une toxicité moindre.

Ces thérapies ciblées regroupent de multiples molécules. Toute molécule lipidique, nucléique ou protéique qui entre dans la constitution d'une cellule tumorale peut être considérée comme une cible. Il faut cependant qu'elle soit à la fois fortement exprimée par les cellules tumorales et peu utile aux cellules saines pour allier sensibilité et spécificité de la molécule agissant sur elle.

Nous avons choisi de décrire de manière non exhaustive les deux types les plus étudiés, les **anticorps monoclonaux** et les **inhibiteurs de protéine tyrosine kinase**. Leurs deux principales cibles sont les suivantes :

- **l'EGFR** (Epidermal Growth Factor Receptor) à l'origine des phénomènes de prolifération, différenciation cellulaire, apoptose et dissémination métastatique
- **le VEGFR** (Vascular Endothelial Growth Factor Receptor), impliqué dans l'angiogénèse tumorale.

## B. Oncogenèse

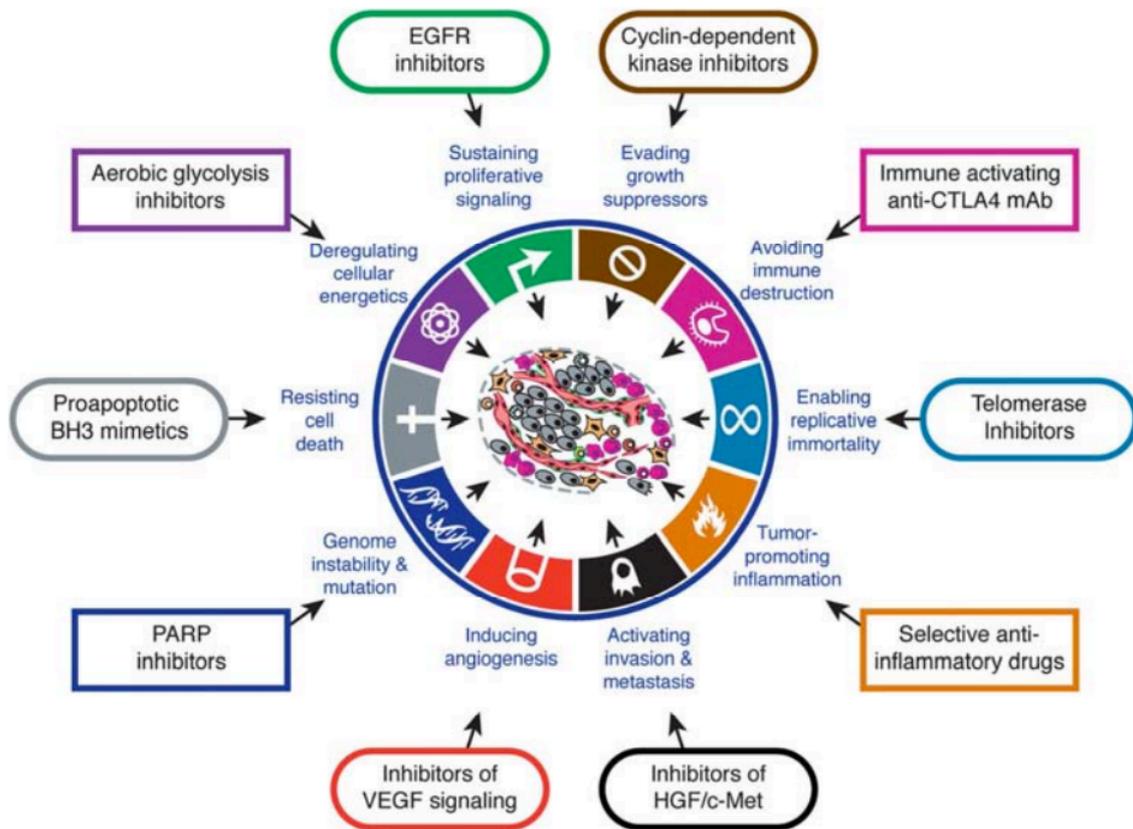
L'oncogenèse correspond à la conversion d'une cellule saine en cellule tumorale. Les différentes populations cellulaires reçoivent de façon permanente différents signaux sous forme d'hormones ou facteurs de croissance qui les informent des besoins de l'organisme et les font réagir selon plusieurs voies possibles : quiescence, prolifération, apoptose, différenciation. Les cellules tumorales présentent les caractéristiques de perdre la réceptivité à ces différents signaux extérieurs et d'acquérir une autonomie que n'ont pas les cellules saines.

Il existe trois types de gènes impliqués dans l'oncogenèse :

- Les oncogènes : il s'agit de gènes altérés, dont la transcription est à l'origine d'oncoprotéines stimulant la division et la prolifération désordonnée par l'inhibition du phénomène d'apoptose. Plus d'une centaine ont été identifiés ; on peut citer parmi les plus connus les gènes HA-RAS, MYC ou ABL.
- Les gènes suppresseurs de tumeurs : il s'agit de régulateurs négatifs de la prolifération cellulaire. Leur inactivation conduit à une perte de fonction de la protéine correspondante impliquée dans la transformation en cellule tumorale.
- Les gènes réparateurs de l'ADN : également inactivés dans les cellules tumorales.

Hanahan et Weinberg ont décrit en 2011 dix mécanismes fondamentaux de l'oncogenèse, pouvant chacun être une cible potentielle des thérapies ciblées (figure 1) (6)

- Indépendance vis-à-vis des signaux de prolifération,
- Perte du contrôle du cycle cellulaire,
- Perte des capacités d'apoptose,
- Acquisition du phénotype d'immortalité des lignées cellulaires,
- Développement des capacités d'invasion et de métastase,
- Mise en place d'une angiogenèse spécifique à la tumeur,
- Dérégulation du métabolisme énergétique de la cellule,
- Contournement du système immunitaire,
- Instabilité et mutations du génome,
- Inflammation.



**Figure 1:** Les mécanismes de l'oncogénèse et leur ciblage potentiel par thérapie ciblée (Hanahan et al. Mars 2011)

## C. Mode d'action

Il existe plusieurs types de cibles : on citera ceux liés à l'activité tyrosine kinase, liées à l'apoptose, les cibles du stroma ou liées à la réplication, l'expression et la stabilité du génome.

### 1. Thérapies ciblées anti-EGFR

#### A. EGFR

Le récepteur de facteur de croissance épidermique EGFR (ou REGF, HER1, Erb1) fait partie de la famille des récepteurs à activité tyrosine kinase, impliqués dans les mécanismes de multiplication, migration, survie et différenciation cellulaire. La liaison des différents ligands

au domaine extra-cellulaire de l'EGFR entraîne l'initiation de cascades de signaux médiées par les voies des MAP-kinases. L'activation de la tyrosine kinase entraîne, elle, une induction de prolifération cellulaire (avec adhésion et invasion), une inhibition de l'apoptose et le développement de l'angiogenèse.

L'activation anormale de l'EGFR a donc un rôle primordial dans la cancérogénèse. On retrouve plusieurs mécanismes à l'origine de son activation augmentée : surexpression des récepteurs à la surface de la cellule, mutation génétique des récepteurs déclenchant son activation permanente (c'est-à-dire même en l'absence de ligands), surproduction autocrine des ligands activateurs du récepteur (EGF ou TGF-alpha).

Les effets de l'EGFR dans le cadre de l'oncogénèse sont les suivants :

- **Inhibition de l'apoptose et prolifération cellulaire,**
- **Inhibition du phénomène de différenciation,**
- **Augmentation de la mobilité cellulaire** : l'activation de l'EGFR est un élément primordial dans cette mobilité. L'EGF et le TGF-alpha stimulent la mobilité cellulaire et augmentent le pouvoir d'invasion des cellules tumorales,
- **Augmentation de l'angiogenèse** : élément indispensable à la survie des cellules tumorales, fortes consommatrices de nutriments et oxygène, l'EGF et le TGF-alpha induisent l'expression du VEGF responsable de l'angiogenèse via l'activation de l'EGFR.

## B. Thérapies ciblées et EGFR

Ses nombreux rôles dans les mécanismes de la carcinogénèse font de l'EGFR une cible thérapeutique potentielle. Les molécules les plus développées sont les suivantes :

- **les anticorps monoclonaux anti-EGFR** (se liant au domaine extra-cellulaire du récepteur à l'EGF et empêchant la fixation du ligand et la transduction),
- **les inhibiteurs de la tyrosine kinase** (se liant au domaine intra-cellulaire du récepteur à l'EGFR et bloquant la transduction du signal).

### *Les anticorps monoclonaux*

Les anticorps monoclonaux se lient au domaine extra-cellulaire de l'EGFR, empêchant la fixation du ligand et l'activation du récepteur, avec une affinité supérieure ou égale à celle de l'EGF ou du TGF- $\alpha$ . Ils sont administrés par voie parentérale et n'ont qu'une cible.

On citera parmi les plus répandus :

- **Cetuximab** (Erbix®), **panitumumab** (Vectibix®), essentiellement dans le cancer colo-rectal,
- **Trastuzumab** (Herceptin®), **lapatinib** (Tyverb®) dans le cancer du sein.

### *Les inhibiteurs de protéine tyrosine kinase*

Les inhibiteurs de protéine tyrosine kinase se lient à la poche ATP du domaine intra-cellulaire de l'EGFR. Ils bloquent ainsi l'activation de phosphorylation et inhibent les voies de signalisation intra-cellulaire. Ils sont administrés par voie orale et agissent sur une à plusieurs cibles intra-cellulaires.

Exemples : **Everolimus** (Afinitor®) dans le cancer du sein, **erlotinib** (Tarceva®) et **gefitinib** (Iressa®) dans le cancer du poumon.

## **2. Thérapies ciblées anti-VEGF/VEGFR**

### **A. Angiogénèse**

L'angiogénèse correspond à la formation de nouveaux vaisseaux capillaires à partir de cellules endothéliales de vaisseaux préexistants. Lorsqu'un déséquilibre apparaît (hypoxie tissulaire, hypoglycémie, réaction inflammatoire, altération de la membrane basale...), l'expression des facteurs pro-angiogéniques est stimulée avec notamment la fixation du VEGF, médiateur principal, sur les récepteurs de surface VEGFR de la cellule endothéliale. La production de facteurs anti-angiogéniques est inhibée, entraînant l'activation d'un signal qui amène à la formation d'un nouveau vaisseau sanguin.

A l'état physiologique, l'angiogenèse est très régulée, ponctuelle et limitée dans le temps. Elle se termine par une phase de stabilisation du nouveau capillaire car elle s'autorégule par l'action de molécules anti-angiogéniques.

La bascule de l'équilibre en faveur des facteurs pro-angiogéniques est appelée « switch angiogénique ».

Au cours du processus tumoral, l'angiogenèse est induite par les mêmes mécanismes que ceux de l'angiogenèse physiologique avec certains phénomènes spécifiques à la tumeur. Lorsque la tumeur est de petite taille, c'est à dire inférieure à 2 mm, elle est en phase dite *dormante* et est alimentée par diffusion passive. Au cours de son développement, les cellules situées au centre du foyer tumoral se retrouvent isolées des nutriments et de l'oxygène, en hypoxie. Le « switch angiogénique » est une étape fondamentale permettant à la tumeur de passer à la phase *vasculaire* ; la présence du VEGF est indispensable à cette étape. L'hypoxie et l'hypoglycémie vont induire la synthèse de nombreux facteurs pro-angiogéniques comme le VEGF-A, ainsi que sa fixation sur les récepteurs VEGFR-1 et VEGFR-2. Cela active les voies de signalisation intra-cellulaire et entraîne la formation d'un nouveau réseau vasculaire immature et anarchique (7).

L'expression du VEGF-A au sein de la tumeur a un rôle déterminant dans sa capacité métastasiante. Les vaisseaux immatures, friables et perméables favorisent ainsi la dissémination métastatique en permettant aux cellules tumorales d'envahir les vaisseaux sanguins sains.

## B. Thérapies ciblées et VEGF

Le VEGF apparaît comme le médiateur clé de l'angiogenèse tumorale et son inhibition entraîne une asphyxie tumorale et sa déprivation en nutriments essentiels. L'inhibition de son activité peut être obtenue en liant soit le ligand VEGF, soit son récepteur VEGFR.

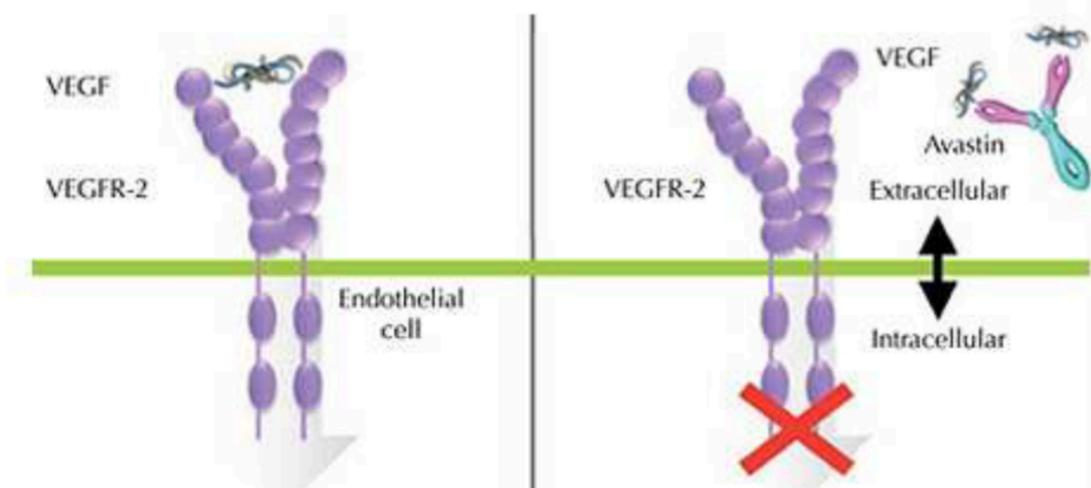
Deux classes de molécules sont particulièrement développées : les anticorps monoclonaux anti-VEGF, qui empêchent sa fixation aux récepteurs VEGFR-1 et 2, et les inhibiteurs de tyrosine kinase, qui se lient au domaine intra-cellulaire du récepteur au VEGF, bloquant sa transduction.

## Les anticorps monoclonaux anti-VEGF

Les anticorps monoclonaux sont des immunoglobulines de type IgG, découverts en 1975 par Kohler et Milstein. Ils se lient au VEGF et empêchent ainsi sa fixation sur les récepteurs VEGFR-1 et 2. Le signal de transduction n'est pas enclenché, ce qui bloque la néo-vascularisation et la croissance tumorale. Leur activité en tant que médicament anticancéreux va au-delà du ciblage d'une seule protéine ayant un rôle clé dans l'oncogenèse, car l'anticorps va aussi permettre la mobilisation d'effecteurs solubles du système immunitaire comme le complément ou de nature cellulaire comme les cellules NK (Natural Killer).

Les modèles animaux mais également humains ont démontré que l'inhibition du VEGF entraîne une apoptose des cellules endothéliales, réduit le diamètre, la densité et la perméabilité des vaisseaux (8–10).

La molécule la plus connue est le **bevacizumab** (Avastin®), utilisé dans le traitement du cancer du côlon métastatique (2004), du poumon non à petites cellules (2006), du rein (2007) et du sein HER2- (2008).



**Figure 2:** Mécanisme d'action du bevacizumab. En se fixant au VEGF, il empêche sa fixation sur son récepteur, bloquant ainsi l'angiogenèse (Document Avastin®)

### *Les inhibiteurs de protéine tyrosine kinase*

Ils permettent d'inhiber l'activité tyrosine kinase intra-cellulaire, inhibant les cascades de signalisation intra-cellulaires déclenchées par l'activation de VEGFR-1 et VEGFR-2.

Le **sunitinib** (Sutent®) est un inhibiteur multikinase qui inhibe plusieurs types de récepteurs membranaires à activité tyrosine-kinase. Il est utilisé dans les cancers du rein, les tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST) et les cancers du pancréas.

Le **sorafenib** (Nexavar®) est également un inhibiteur multikinase, utilisé dans le cancer du rein et les carcinomes hépato-cellulaires.

## II. NOTION DE PROFIL MOLECULAIRE

### A. Exemples de réussites des thérapies ciblées

La littérature rapporte l'efficacité incontestable de certaines molécules qui sont entrées dans les pratiques cliniques courantes au cours des dix dernières années.

L'imatinib (Glivec®) est un des chefs de file des thérapies ciblées. Il a permis un changement radical dans la prise en charge des patients suivis pour une leucémie myéloïde chronique par l'identification de la translocation BCR-ABL ciblée spécifiquement par cet inhibiteur de tyrosine-kinase. La survie globale à 5 ans de ces patients est maintenant évaluée à 82%, contre 20% avant l'arrivée de l'imatinib (11–13).

Il est également largement utilisé chez les patients suivis pour GIST non résecable ou avec des lésions secondaires (14).

L'avènement des anti-angiogéniques a considérablement amélioré la prise en charge des patients avec un carcinome rénal métastatique, permettant une augmentation de la survie sans récurrence (bevacizumab (15), sunitinib (16), sorafenib (17), temsirolimus (18) et bientôt everolimus (19)).

Certaines molécules sont aussi entrées dans les pratiques cliniques courantes du traitement du cancer colo-rectal. En effet, des études ont démontré l'efficacité du bevacizumab en association avec une chimiothérapie à base de fluoropyrimidine (20,21) ainsi que celle du cetuximab dans le traitement des patients atteints d'un cancer colo-rectal métastatique (22–24). De plus, il a été démontré que le statut du gène KRAS était un élément incontournable dans cette prise en charge en raison d'une réponse nettement supérieure au cetuximab lors de la présence d'un gène KRAS de type sauvage par rapport à ceux présentant un type muté (25,26).

Dans le cadre du cancer du sein, les analyses génomiques trouvent une surexpression du facteur de croissance épidermique humain HER2 chez environ 15% des patientes traitées. Le trastuzumab, qui cible le récepteur Erb2 du facteur HER2, a permis à une augmentation significative de la survie sans récurrence avec un taux de réponse d'environ 50% chez ces patientes en échec de traitement (27).

Ces résultats ont amélioré de façon considérable la prise en charge de certains cancers et encouragent la poursuite des recherches.

## **B. Rappels de cytogénétique**

En outre, on assiste ces dernières années à des évolutions technologiques majeures qui conduisent au développement d'outils d'analyse de l'ADN de plus en plus performants. Les techniques de biologie moléculaire couramment utilisées dans ces essais visent à rechercher des mutations, délétions, amplifications ou translocations de cibles génomiques et font appel au séquençage haut débit : NGS (Next Generation Sequencing) et/ou CGH-array (Comparative Genomic Hybridization Array). Il devient possible d'obtenir un profil de plus en plus complet de chaque tumeur, appelé profil moléculaire, pour un coût raisonnable et un délai acceptable compatibles avec la pratique clinique.

Il existe différentes techniques de cytogénétique moléculaire. Nous avons choisi d'en rappeler trois principales : l'hybridation *in situ* fluorescente (FISH), l'hybridation génomique comparative (CGH) et le séquençage haut débit (NGS).

### ***1. FISH (ou hybridation in situ fluorescente)***

Comme l'essentiel des techniques de biologie moléculaire, la FISH repose sur les propriétés de dénaturation et de renaturation de molécules d'ADN double brin dans certaines conditions de température, de pH ou de salinité. De courts segments d'ADN appelés « sondes » sont marqués en y incorporant des nucléotides couplés à des molécules détectables, historiquement radioactives à présent remplacées par des fluorochromes. Ces sondes vont s'hybrider sur leurs séquences cibles complémentaires (David Ward, 1981) (28).

Il s'agit d'une technique d'étude génétique ciblée qui permet de détecter des anomalies chromosomiques telles que des amplifications, délétions, duplications et translocations. Elle nécessite d'avoir une idée préalable des loci chromosomiques impliqués.

Il existe trois étapes essentielles, qui sont les suivantes :

#### **1. Préparation de la sonde**

Il s'agit de fragments d'ADN simple brin marqués par fluorescence qui peuvent être de plusieurs types :

- **Locus spécifique** : il s'agit de nucléotides allant de 10 à 200 Kb (kilobases, milliers de paires de bases). Ces sondes sont utilisées pour la détection d'anomalies génétiques

fines/focales et l'évaluation du nombre de copies (délétions, gains, amplifications...) de loci spécifiques tout le long des chromosomes d'intérêt. Elles peuvent être utilisées sur des chromosomes métaphasiques ou sur des noyaux interphasiques.

- **Peinture chromosomique** : ces sondes sont spécifiques d'un chromosome entier, et sont utilisées pour la réalisation de caryotypes spectraux.
- **Sondes de fission ou de fusion** : elles sont utilisées pour mettre en évidence des remaniements chromosomiques structuraux tels que les translocations. Elles sont généralement composées de deux sondes colorées avec des fluorochromes distincts. Leur co-localisation indique une fusion (rapprochement de deux loci indépendants) et leur éloignement qui entraîne un signal composite indique une fission ("break apart").

Plusieurs techniques sont utilisées pour la création des sondes. La technique principale est la Nick Translation qui consiste à utiliser la désoxyribonucléase à l'origine de « nicks » (cassures) puis une ADN polymérase et des nucléotides couplés à un fluorochrome.

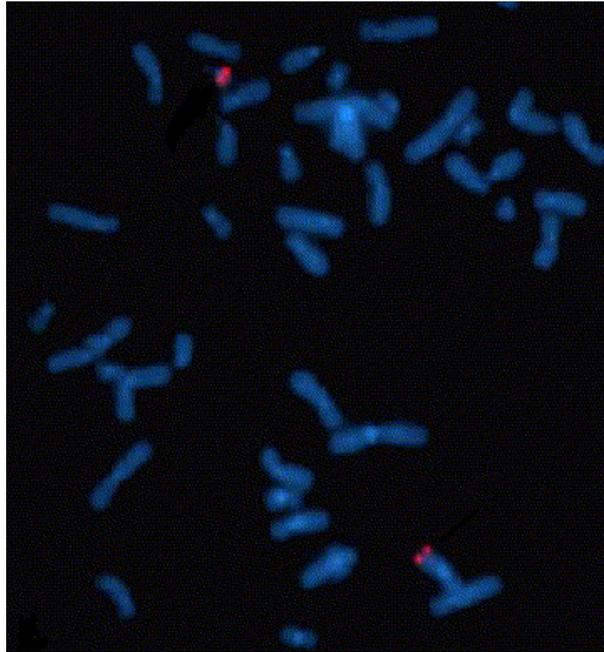
## 2. Hybridation in situ

Les prélèvements recelant l'ADN à analyser sont fixés, puis différentes méthodes comme la digestion enzymatique permettent la perméabilisation des cellules avant l'introduction des sondes. Les noyaux cellulaires sont placés sur une lame préalablement traitée, puis les brins d'ADN sont dénaturés. On procède ensuite à l'hybridation des sondes re-suspendues dans un tampon d'hybridation en les déposant sur la lame à une température optimale. Une température trop basse entraîne des hybridations non spécifiques et une température trop élevée une absence d'hybridation. On procède ensuite au lavage stringent, qui élimine certaines sondes non ou mal hybridées.

## 3. Observation des résultats

Les cellules traitées par FISH sont ensuite analysées par microscopie à fluorescence. Il existe deux types de filtres dans le microscope : des filtres qui permettent d'exciter le fluorochrome incorporé dans l'ADN de la sonde et des filtres qui éliminent certaines longueurs d'ondes émises par le fluorochrome en réponse à l'excitation. Le résultat observé est généralement traité par un ordinateur pour plus de clarté (figure 3).

Il s'agit d'une technique d'étude génétique ciblée dont une des limites est la nécessité d'avoir une idée préalable des chromosomes impliqués.



**Figure 3:** Exemple de réarrangement chromosomique BCR/ABL caractéristique de la leucémie myéloïde chronique vue en FISH. L'étiquette bleue et rouge (en bas à droite) désigne le chromosome où l'arrangement pathogène est présent (Haigh et al, *Cancer Genetics and Cytogenetics*)

## 2. CGH-array

L'hybridation génomique comparative (CGH), également appelée caryotype moléculaire, a été mise au point par l'équipe de Dan Pinkel en 1992.

Le principe est de comparer à quantité équivalente les variations du nombre de copies d'ADN de deux prélèvements différents. L'ADN génomique d'intérêt (ici tumoral) et un ADN de témoin (ici normal) sont chacun marqués par un fluorochrome différent, puis hybridés sur un support sur lequel ont été fixés des chromosomes « cibles ». Les principales étapes sont les suivantes (figure 4) :

### 1. Marquage des sondes (ici CGH chromosomique)

L'ADN du patient est extrait puis digéré par une enzyme de restriction afin de produire des fragments de 0,6 à 3 Kb et enfin marqué par un fluorochrome. L'ADN tumoral est marqué

de façon conventionnelle en vert par la fluorescéine (sous forme de dUTP-FITC). L'ADN extrait de tissu sain, issu le plus souvent de lymphocytes, est marqué en rouge par la rhodamine (dUTP-TR).

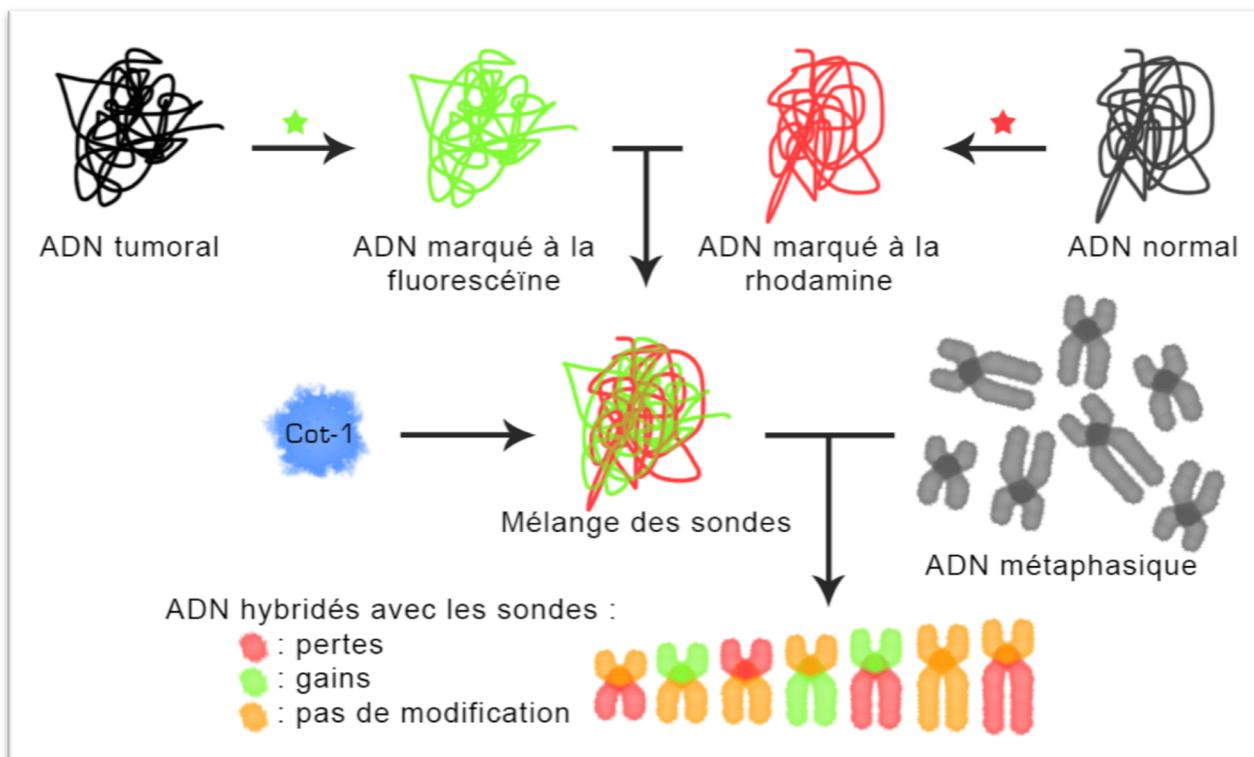
Les sondes sont ensuite mélangées avec de l'ADN Cot-1, qui permet de supprimer les séquences répétitives d'ADN de la sonde et de la cible.

## 2. Hybridation

L'ADN marqué re-suspendu dans un tampon d'hybridation est déposé sur la lame présentant des chromosomes en métaphase, avec lesquels il va s'hybrider de façon compétitive.

## 3. Détection

Les signaux générés par deux fluorochromes sont détectés par un microscope à épifluorescence et numérisés. Un rapport de leur intensité respective est établi au niveau des bandes de chacune des paires chromosomiques.



**Figure 4:** Principe de l'hybridation génomique comparative

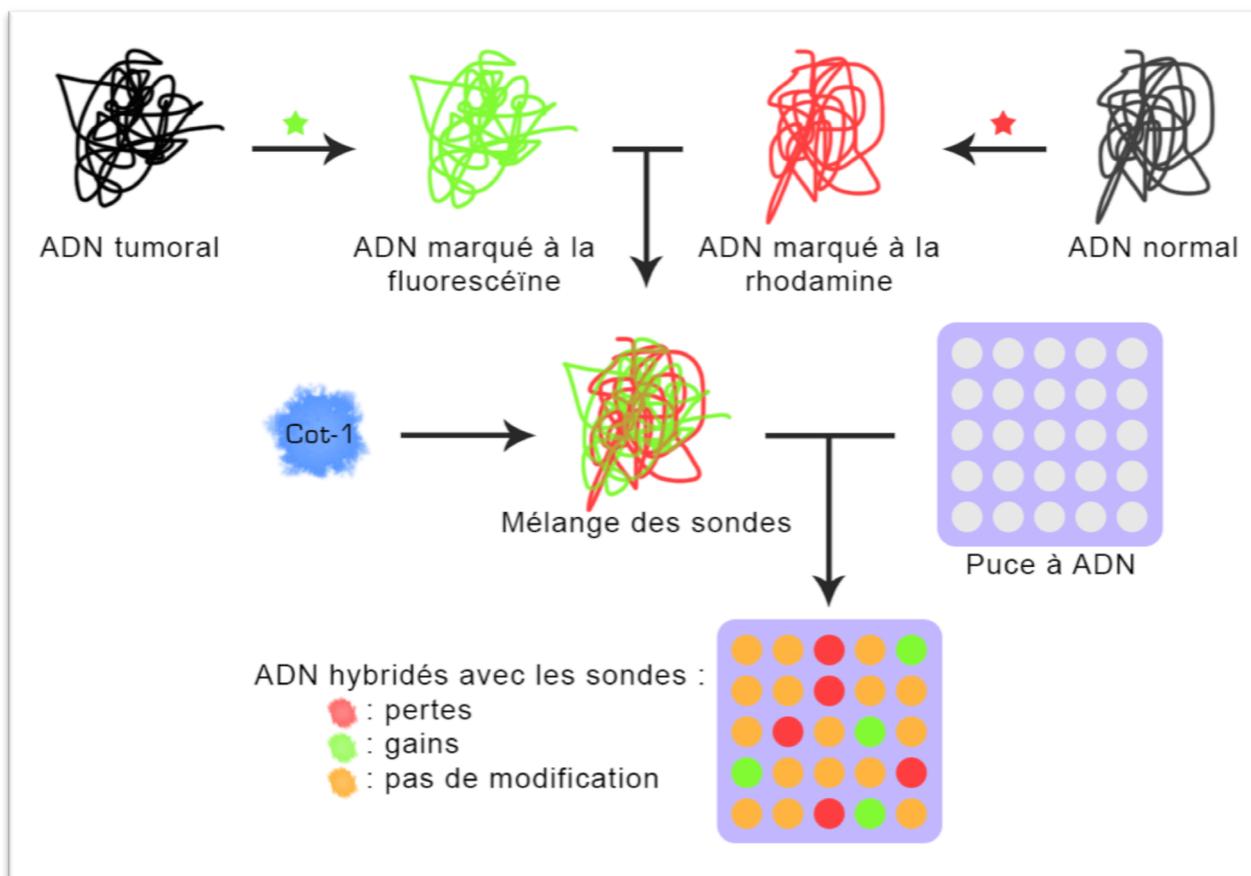
Il existe alors trois cas de figure :

1. Le nombre de copies n'est pas modifié : les deux sondes (tumorale et normale) bien qu'en compétition pour les mêmes séquences complémentaires s'hybrident en quantité équivalente. Le segment de chromosome apparaît **jaune**.
2. Le nombre de copies est augmenté dans la tumeur : l'équilibre est déplacé en faveur de l'ADN tumoral et la quantité relative d'ADN tumorale hybridée sur la séquence cible est plus importante (gain, amplification) que la quantité d'ADN normal. Le segment de chromosome apparaît **vert**.
3. Le nombre de copies est diminué : l'ADN tumoral est sous représenté, l'absence de signal vert (perte ou délétion dans la tumeur) permet de mieux révéler l'ADN normal. Le segment de chromosome apparaît **rouge**.

Cette technique ne permet de détecter que les modifications chromosomiques non équilibrées ; par exemple des aberrations chromosomiques structurales telles que les translocations réciproques ou les inversions ne sont pas détectées. Elle est limitée en sensibilité par la résolution des bandes chromosomiques observées, s'élevant à environ 10 Mb (mégabases, millions de paires de bases).

Vers la fin des années 1990, Solinas Toldo (29) et Pinkel (30) proposent une autre technique de CGH : la puce à ADN, appelée CGH sur réseau d'ADN ou encore CGH-array. Ici, les chromosomes en métaphase sont remplacés par de grands fragments d'ADN (80 à 250 Kb) fixés sur une puce (lame de verre) (Figure 5). Ces fragments BACs (Bacterial Artificial Chromosomes) sont produits par clonage sur bactérie ; il est ainsi possible de déposer plusieurs milliers de sondes sur une puce, chaque sonde représentant un locus connu.

Cette technique permet d'augmenter la sensibilité, le nombre et position des segments analysables, le débit des analyses et la détection des micro-délétions ou pour des segments d'ADN à partir de 5 à 10 Kb. Cette analyse pangénomique ne nécessite plus d'avoir une idée préalable des chromosomes impliqués et est largement utilisée dans le cadre des thérapies ciblées.



**Figure 5:** Principe de l'hybridation génomique comparative sur réseau d'ADN

### 3. Séquençage haut débit

On désigne par séquençage haut débit (HTS pour high-throughput sequencing ou NGS pour Next-Generation Sequencing) un ensemble de méthodes apparues à partir de 2005 qui ont révolutionné les méthodes de séquençage de l'ADN. Trois technologies sont apparues de façon quasi simultanée : le pyroséquençage, le séquençage avec des terminateurs réversibles et le séquençage par ligation. Les technologies des appareils de séquençage à haut débit sont assez proches et fonctionnent en plusieurs étapes. L'ADN génomique est d'abord fragmenté en petits morceaux aux extrémités desquels sont liées des séquences adaptatrices. Les bibliothèques ainsi préparées sont ensuite fixées sur un support solide et chaque fragment est amplifié des milliers de fois pour former des « clusters » clonaux qui seront séquencés en parallèle. À chaque cycle, l'ajout d'un nucléotide se traduit par un signal fluorescent signant un des quatre

nucléotides de l'ADN. Enfin la dernière étape comprend la lecture de la séquence proprement dite.

Ces techniques produisent des millions de séquences en un « *run* », à faible coût. Elles se caractérisent par l'utilisation d'approches massivement parallèles et permettent de séquencer à partir de molécules uniques d'ADN des centaines de milliers de fragments simultanément. Il s'agit d'un outil incontournable dans cette approche thérapeutique.

### **C. Profil moléculaire**

L'efficacité de certaines thérapies ciblées et les grandes avancées technologiques font de cette approche thérapeutique l'objet d'un grand nombre d'essais novateurs, guidés par l'analyse du profil moléculaire des tumeurs avec l'émergence du concept de « médecine personnalisée » encore appelée « médecine de précision ». Elle est définie par l'institut National du Cancer comme « une forme de médecine qui utilise les informations au sujet des gènes, des protéines et de l'environnement d'une personne pour prévenir, diagnostiquer et traiter la maladie ».

Ce concept se fonde sur l'hypothèse fondamentale selon laquelle le cancer est une maladie génomique qui résulte d'altérations consécutives des voies de signalisation moléculaire.

L'étude SHIVA (1) illustre ce concept de médecine personnalisée. Il s'agit d'un essai de phase II incluant des patients présentant un cancer métastatique réfractaire aux thérapies usuelles, où le choix thérapeutique (comportant 11 anticorps monoclonaux et inhibiteurs de tyrosine kinase) reposait entièrement sur le profil moléculaire du matériel tumoral recueilli sans tenir compte de la localisation ou du type histologique du cancer primitif.

On peut également citer l'étude SAFIR01 (31) où le choix du traitement reposait également sur le profil moléculaire de la tumeur chez des patientes présentant un cancer du sein résistant aux chimiothérapies habituelles.

Plusieurs difficultés sont retrouvées. Si certains cancers comme la leucémie myéloïde chronique présentent une anomalie clonale unique (BCR/ABL) dont le ciblage implique une réponse clinique significative, la plupart des proliférations tumorales malignes solides

présentent une multiplicité d'anomalies moléculaires. A contrario, on ne retrouve des anomalies moléculaires actuellement ciblables que dans un faible nombre de tumeurs solides ; c'est pourquoi il est difficile de tester des molécules dans ces sous-groupes de patients (32).

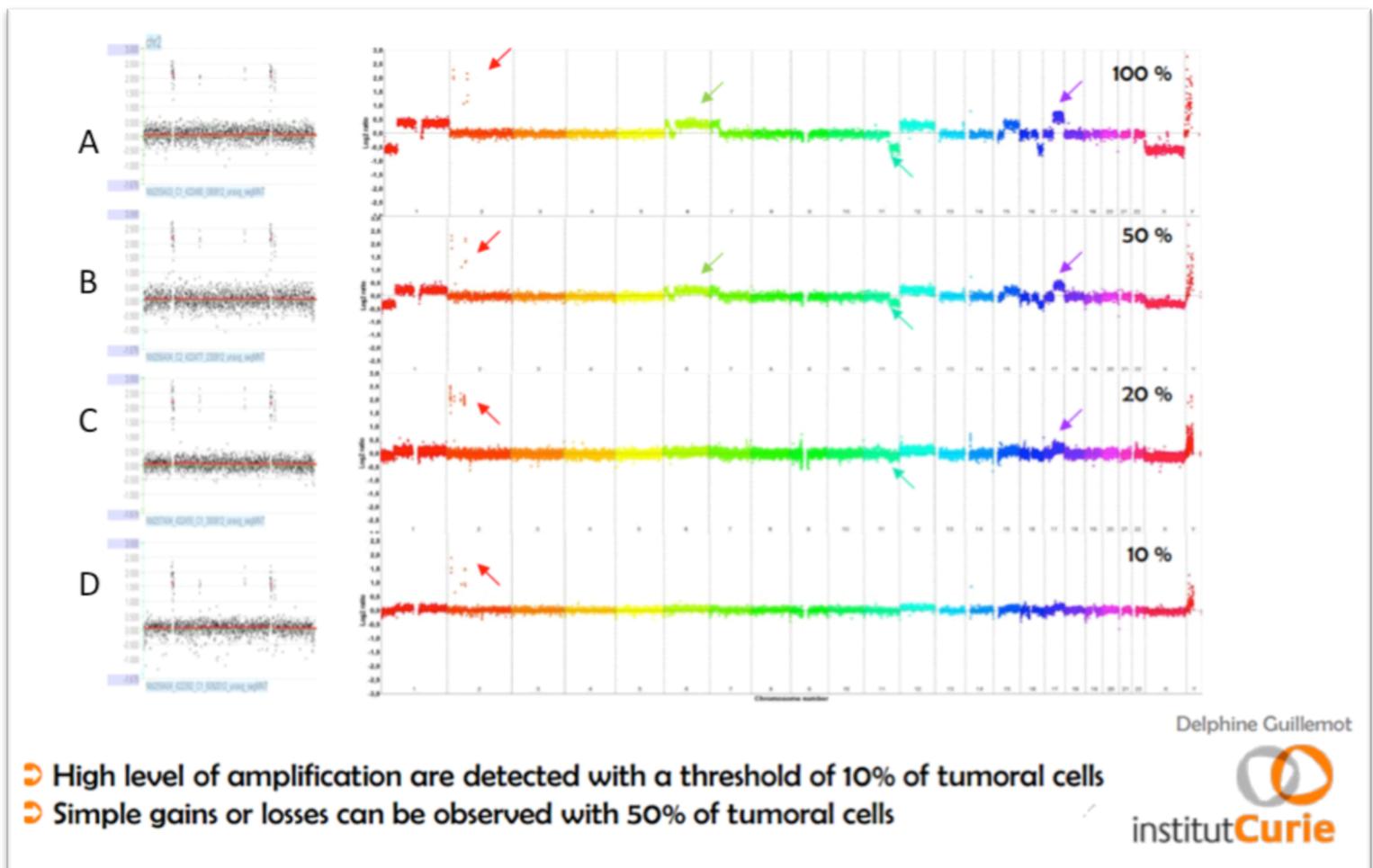
## **D. Notion de cellularité tumorale**

L'ensemble de ces études repose donc sur l'établissement préalable d'un véritable profil moléculaire de la tumeur après étude de l'ADN tumoral. Ces analyses génomiques requièrent une certaine quantité de matériel tumoral de bonne qualité, plus importante que pour un diagnostic histologique classique, mais le seuil de cellularité tumorale des prélèvements biopsiques nécessaire n'est pas consensuel. Il dépend des équipes et des techniques utilisées.

### ***1. Résultats expérimentaux issus de l'institut Curie***

Afin d'illustrer ces seuils, voici un exemple de 4 profils de CGH-array obtenus à partir d'un prélèvement tissulaire de neuroblastome (figure 6). L'ADN tumoral extrait d'un échantillon contenant 100% de cellules tumorales (lignée cellulaire clonale) a été analysé pur. Il a ensuite été analysé après dilution dans une lignée sans altération génomique afin de diminuer artificiellement la quantité de cellules tumorales. Les profils génomiques obtenus sont les suivants :

- **Profil A** : obtenu à partir d'un échantillon contenant 100% de cellules tumorales. Les gains (*flèches vertes et violettes*) et pertes (*flèches turquoises*) sont très bien visualisés. Les hauts niveaux d'amplification (*flèches rouges*) sont également bien visualisés.
- **Profil B** : obtenu après dilution jusqu'à ne contenir que 50% d'ADN tumoral. Il permet d'observer ces gains et pertes de façon correcte.
- **Profil C** : après dilution plus importante de façon à obtenir 20% d'ADN tumoral. Les simples gains et pertes sont très difficilement mis en évidence.
- **Profil D** : 10% de cellularité tumorale sont insuffisants, avec l'obtention d'un « profil plat ». En revanche, les hauts niveaux d'amplification (*flèches rouges*) sont toujours bien visualisés.



**Figure 6:** Exemple de profils de CGH-array d'un médulloblastome sans gain après dilutions (Institut Curie).

La technique de NGS quant à elle peut être effectuée à partir de 10% de cellularité tumorale.

## 2. Résultats issus de la littérature

Certaines équipes ont étudié la quantité de matériel tumoral nécessaire à la réalisation de ces analyses moléculaires et d'autres études portant sur l'efficacité des thérapies ciblées ont rapporté le pourcentage minimum de cellularité choisi dans les prélèvements afin d'établir les profils moléculaires des tumeurs analysées. Nous avons sélectionné quelques-unes d'entre elles.

L'équipe de Bourdeaut et al (33) a étudié une lignée MYC (un proto-oncogène surexprimé dans certains cancers, ici dans les médulloblastomes) amplifiée et diluée dans une lignée sans altération génomique. Elle a observé qu'avec un seuil de 20% de cellules tumorales les altérations de nombre (gains et pertes) deviennent difficilement décelables ; seules les amplifications de très haut niveau sont mises en évidence avec la technique de CGH-array avec

un seuil de 10% de cellules tumorales. Une étude (25) a comparé les mutations des gènes KRAS, NRAS et BRAF incriminés dans le cancer du colorectal dans les échantillons obtenus par biopsie endoscopique et ceux par obtenus par résection chirurgicale. Elle a également déterminé qu'un seuil de 20% de cellules adénocarcinomeuses dans les prélèvements était nécessaire à l'obtention d'une quantité minimale d'ADN extrait.

L'étude de Pirker et al (34) a tenté d'établir des recommandations pour les analyses génomiques portant sur l'EGFR dans le cancer du poumon non à petites cellules et a fait le point sur les prélèvements. Ils rapportent également le fait que les études cytogénétiques pouvaient être effectuées avec un seuil de cellularité tumorale de 20% avec des résultats plutôt fiables, mais ils estiment préférable le choix d'un seuil de 50%.

En pratique, les études choisissent en effet plutôt un seuil de 50% de cellularité pour sélectionner les échantillons à analyser. L'étude SAFIR01 (31) n'a conservé que les échantillons présentant une quantité minimum de 50% de cellules tumorales pour effectuer les hybridations génomiques comparatives. Une autre équipe a choisi ce même seuil pour effectuer la technique de CGH-array sur les échantillons tumoraux de neuroblastomes afin d'étudier le gène MYCN (35). Enfin, l'équipe de l'université de McGill (36) avait pour objectif d'établir une méthode standardisée pour analyser le contenu tumoral et l'extraction d'ADN et ARN de haute qualité avec un rendement suffisant à partir d'une biopsie de métastase hépatique de cancer colorectal. Ils ont augmenté le seuil de cellularité tumorale à 60% pour sélectionner les échantillons et y ont associé à un autre critère, celui d'une quantité de nécrose inférieure à 20%.

Ces prélèvements tumoraux qui doivent être riches en cellules tumorales, sont de plus effectués chez des patients présentant le plus souvent un cancer métastatique qui progresse malgré plusieurs lignes de chimiothérapies.

Il est connu que ces multiples traitements peuvent être à l'origine de remaniements intra-tumoraux (nécrose et/ou fibrose) qui réduisent la quantité de cellules tumorales analysables et augmentent la difficulté potentielle à obtenir des échantillons satisfaisants pour l'établissement d'un profil moléculaire (22).

### **III. BIOPSIES**

Il existe quatre façons principales d'obtenir des échantillons tumoraux : les biopsies chirurgicales, les biopsies réalisées en palpable, les biopsies sous endoscopie et les biopsies radio-guidées.

#### **A. Les biopsies chirurgicales**

Les biopsies chirurgicales des lésions primitives ou secondaires ont d'excellents résultats, puisqu'il s'agit soit de macro-biopsies soit de la résection de l'intégralité des lésions tumorales, ce qui permet de disposer d'une grande quantité de matériel histologique pour réaliser les analyses génomiques (37).

Il s'agit cependant d'interventions invasives qui nécessitent une anesthésie générale, parfois difficile à envisager du fait de l'état général des patients en phase réfractaire de leur maladie métastatique ; la morbi-mortalité est plus importante qu'avec les biopsies réalisées selon d'autres modalités moins invasives.

#### **B. Les biopsies en palpable**

Les biopsies en palpable consistent en des micro-biopsies de lésions palpables immédiatement sous-cutanées. Ces prélèvements présentent généralement de bons résultats, mais ont l'inconvénient d'être rarement réalisables puisque les lésions métastatiques tous primitifs confondus sont le plus souvent de localisation viscérale profonde (hépatique, pulmonaires, ganglionnaires...) ou osseuse.

#### **C. Les biopsies sous endoscopie**

Les micro-biopsies sous endoscopie bronchique sont souvent effectuées en première intention dans les cancers pulmonaires car il s'agit d'une procédure simple et peu invasive, réalisée sous anesthésie locale. La première méthode de prélèvement consiste en une biopsie

bronchique directe par forceps ; celle-ci est non contributive dans 35% des cas en raison d'une absence de tumeur visualisée dans les bronches, imposant le recours à une biopsie du parenchyme pulmonaire par voie transbronchique. Le taux de complications (infections, saignements et pneumothorax) est généralement bas (25). Cependant, la réalisation de ce geste peut être limitée en cas de toux importante, de mucus endo-bronchique abondant (fréquent chez ces patients présentant souvent une bronchite chronique post-tabagique), de saignement ou de sténose bronchique infranchissable. L'analyse de la littérature révèle des prélèvements présentant une quantité de cellules tumorales souvent basses et donc insuffisantes pour les études moléculaires (38,39).

Vingt à 30% des patients présentant un cancer colo-rectal métastatique n'ont pas subi de résection de la tumeur primitive en raison d'un diagnostic fait à un stade tardif, avec des lésions métastatiques synchrones inopérables. Chez ces patients, la biopsie peut être réalisée soit au niveau du site primitif grâce à une endoscopie, soit au niveau des lésions secondaires, hépatiques le plus souvent. L'étude de Saridaki et al (25) a retrouvé une moyenne de cellularité tumorale d'environ 57% dans les biopsies réalisées sous endoscopie chez des patients avec un cancer colorectal, avant résection de la tumeur primitive. La comparaison des analyses moléculaires effectuées à partir des biopsies sous endoscopie et celles réalisées à partir de la lésion primitive réséquée a établi que les biopsies sous endoscopie pouvaient être suffisantes pour les analyses génomiques, sans comparer toutefois les résultats avec ceux de biopsies métastatiques.

## **D. Les biopsies radio-guidées**

### ***1. Généralités***

Les biopsies radio-guidées sont des micro-biopsies réalisées la plupart du temps sous contrôle échographique ou scanographique. Cette procédure est généralement rapide, peu invasive, ne nécessitant pas d'anesthésie générale et réalisable chez la plupart des patients quel que soit l'état d'avancée de leur cancer et de leur état général.

De Bazelaire et al. ont décrit dans le *Journal de Radiologie Diagnostique et Interventionnelle* les différentes étapes de la procédure des biopsies en oncologie (40). Avant le

geste, l'information claire et adaptée du patient et un bilan d'hémostase (41) sont recommandés, avec un arrêt des anticoagulants en fonction du site de prélèvement et du risque hémorragique. L'analyse du trajet et le positionnement du patient constituent une étape majeure afin d'optimiser le trajet de biopsie, réduire la distance à parcourir et éviter l'interposition de structures telles que les structures vasculo-nerveuses, organes creux ou encore les conduits comme les uretères entre l'aiguille et la lésion cible. La procédure est réalisée en conditions d'asepsie stricte, avec une désinfection cutanée de la zone à ponctionner ainsi que l'installation d'un champ troué stérile. Le trajet de biopsie est anesthésié à l'aide de Xylocaïne et d'une aiguille sous-cutanée ou intra-musculaire, puis sont introduits une aiguille co-axiale permettant de protéger le trajet de ponction et une aiguille à biopsie semi-automatique ou automatique dont la taille dépend de la lésion cible et de l'organe biopsié (généralement 18G pour foie et poumon, 16G pour le rein, 14G pour les tissus mous...). La procédure est réalisée sous contrôles répétés au scanner ou en continu par échographie. Le nombre de prélèvements lésionnels est variable, se situant généralement entre deux et quatre. L'intensité de la surveillance après la procédure dépend ensuite du type de lésion prélevée.

Les principales complications regroupent hémorragie, infections, perforations et ponctions involontaires d'organes pleins. Elles sont rares et le plus souvent bénignes.

A l'inverse de la rentabilité des biopsies radio-guidées à titre diagnostique, les données concernant les performances de ces biopsies pour l'analyse du profil moléculaire des tumeurs sont plus rares.

## ***2. Biopsies radio-guidées et thérapies ciblées***

Un certain nombre d'études ont porté sur l'analyse de la faisabilité, de l'efficacité et des risques liés aux biopsies radio-guidées dans le cadre d'essais comportant des thérapies ciblées, essentiellement dans les cancers pulmonaires.

On peut citer l'étude de Yoon et al (42) qui a étudié la faisabilité et l'efficacité des biopsies itératives sous scanner pour l'évaluation du profil génomique des cancers pulmonaires non à petites cellules, chez 126 patients. Deux niveaux de succès de biopsie étaient considérés. La biopsie elle-même était considérée comme une réussite si l'échantillon prélevé était supérieur à 1 à 2 mm<sup>2</sup>, ce qui était le cas dans 100% des biopsies après exclusion de 37

patients. Puis le succès de la biopsie pour la faisabilité des analyses moléculaires (recherche des mutations EGFR et réarrangement du gène ALK) était également évalué et jugé positif dans 80% des cas. Les 20% des cas considérés comme des échecs présentaient une faible cellularité ou une absence totale de cellules tumorales. Leurs analyses révélaient une association significative entre une taille d'échantillon prélevé supérieure ou égale à 5 mm avec la réussite des analyses génomiques ( $p = 0,002$ ).

Yoon et al. ont rapporté des complications de ces biopsies dans 14% des cas, dont 6% de pneumothorax (dont 2 nécessitant un drainage), 1% d'hémithorax et 7% des hémorragies intra-alvéolaires sans instabilité hémodynamique.

Busso et al (43) ont mené une étude rétrospective qui étudiait les complications des biopsies pulmonaires majoritairement effectuées sous scanner chez 824 patients. Ils ont comptabilisé un total de 5% de complications majeures, dont 36 pneumothorax nécessitant un drainage, 3 hémithorax et un hématome sous-pleural. Le taux total de pneumothorax était de 24%. Cependant, ces biopsies n'étaient pas corrélées au succès des analyses moléculaires effectuées.

Certains auteurs ont également inclus la taille de l'aiguille de biopsie dans les éléments étudiés. Cheung et al. (44) ont mené une étude sur 47 patients qui présentaient un cancer pulmonaire réfractaire, dont 32 ont eu une biopsie avec une aiguille 18 gauge et 15 avec une aiguille 20 gauge. Tous les prélèvements ont permis une analyse génomique satisfaisante. Le taux total de pneumothorax s'élevait à 13%, dont 4 (12%) avec une aiguille 18 gauge avec un drainage, et 2 (13%) avec une aiguille 20 gauge, sans drainage. Le taux d'hémoptysie s'élevait à 6%, dont 2 patients (6%) avec une aiguille 18 gauge et 1 patient (6%) avec une aiguille 20 gauge. Il n'existait pas de différence significative de réussite ou de complications selon la taille de l'aiguille utilisée pour les études moléculaires. L'étude de Solomon et al. (45) menée sur une plus petite population (18 patients) n'a pas montré non plus de différence significative entre les complications ou la réussite des biopsies réalisée avec des aiguilles 18 ou 20 gauge.

La littérature s'accorde dans l'ensemble pour dire que ce mode de prélèvement permet l'obtention d'échantillons tumoraux de bonne qualité, suffisants pour les analyses cytogénétiques, avec un risque de complication tout à fait acceptable.

De plus, la rareté des lésions inaccessibles aux prélèvements radio-guidés et la bonne qualité régulière des échantillons tumoraux font de cette technique un compromis en terme de

performance, de faisabilité et de sécurité. Ceci permet d'éviter un recours systématique à la biopsie chirurgicale en première intention dans le cas des cancers du poumon (40).

Si l'étude de la faisabilité et des complications des biopsies radio-guidées réalisées pour établir les profils génomiques tumoraux a été explorée dans les cancers bronchiques, il n'existe pas, à notre connaissance, d'étude qui s'est consacrée en particulier à l'analyse des facteurs pronostiques de réussite des biopsies pour analyse du profil moléculaire chez des patients présentant une maladie métastatique réfractaire, regroupant un grand nombre de cancers d'histologies différentes.

#### **IV. OBJECTIF**

L'objectif de notre étude était de déterminer les facteurs pronostiques de réussite de biopsie liés au patient (BMI, chimiothérapie), à la tumeur (taille, primitif, histologie, rehaussement de la lésion au scanner) et au mode de biopsie (chirurgicale, en palpable, sous endoscopie ou scano-guidée) des lésions tumorales réalisées pour guider l'instauration de thérapies ciblées chez des patients avec un cancer solide métastatique en progression.

## **DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES**

### **I. POPULATION**

Une analyse rétrospective a été effectuée sur des données extraites de l'étude SHIVA. Il s'agit d'un essai clinique prospectif multicentrique (Institut Curie, Paris V<sup>e</sup> – Centre René Huguenin, Saint-Cloud) randomisé de phase II, qui compare l'efficacité des thérapies ciblées attribuées après analyse du profil moléculaire tumoral versus chimiothérapie conventionnelle chez des patients présentant un cancer solide réfractaire aux thérapies usuelles.

Les critères d'inclusion étaient les suivants :

- Patient de plus de 18 ans,
- Présentant un cancer solide métastatique, quel que soit le primitif,
- Progressant ou récidivant malgré thérapies standard,
- Mesurable selon les critères RECIST 1.1,
- Avec une lésion tumorale autre que cérébrale ou osseuse accessible à une biopsie ou une résection chirurgicale.

L'essai SHIVA a inclus entre septembre 2012 et août 2014 228 patients suivis et traités à l'Institut Curie. Sur ces 228 patients, 221 ont eu une biopsie d'une tumeur solide et été inclus dans notre étude rétrospective. Il y avait 146 femmes et 75 hommes, avec un âge moyen de  $58.9 \pm 14$  ans et un IMC de  $23.6 \pm 4$  kg/m<sup>2</sup>.

### **II. BIOPSIES : PROCEDURES**

Un échantillon tumoral était nécessaire pour effectuer les analyses moléculaires. Les prélèvements étaient effectués soit sur la lésion primitive, soit sur une lésion secondaire, selon leur accessibilité et la faisabilité du prélèvement. Les lésions secondaires cérébrales et osseuses étaient exclues. Les modalités utilisées pour les prélèvements biopsiques étaient les suivantes :

- Biopsies chirurgicales, réalisées par les chirurgiens ORL et gynécologues,
- Biopsies en palpable, réalisées par un anatomo-pathologiste à l'aide d'aiguilles 14 ou 16 gauge,
- Biopsies sous endoscopie, réalisées par un pneumologue ou un gastro-entérologue utilisant un forceps de 2,2 mm,
- Biopsies sous guidage scanographique.

## **Biopsies scano-guidées**

Les biopsies sous scanner ont été effectuées sur un scanner GE (Lightspeed VCT, General Electric healthcare, Milwaukee), à l'aide d'un système de co-axial 17 ou 19 gauge (SuperCore™ Argon Medical Devices, Athènes). Ces procédures ont été réalisées par trois radiologues différents. Le premier avait plus de 40 ans d'expérience en radiologie interventionnelle, avec plus de 5000 biopsies à son actif ; le second avait environ 10 ans d'expérience et plus de 1000 biopsies réalisées, et le troisième avait plus de 3 ans d'expérience avec plus de 400 biopsies.

## **III. ANALYSE ANATOMOPATHOLOGIQUE**

### **A. Prélèvements**

Un minimum de 4 prélèvements était exigé afin de permettre l'inclusion dans l'essai.

- Deux échantillons étaient fixés dans du formol et inclus en paraffine pour analyse histologique et recherche de récepteurs hormonaux en anatomo-pathologie.
- Les autres échantillons étaient congelés. Au moins un était envoyé dans le département de génétique pour analyse moléculaire avec extraction d'ADN, et l'autre stocké en biotech pour d'éventuelles études ultérieures.

### **B. Analyses**

Les anatomopathologistes ont évalué les éléments suivants : confirmation diagnostique du sous-type histologique, cellularité tumorale, analyse semi-quantitative de la nécrose et de la fibrose.

- La cellularité tumorale, soit le taux de cellules tumorales au sein du prélèvement biopsique exprimé en pourcentage. Elle a été évaluée visuellement par un anatomopathologiste ayant plus de 30 ans d'expérience puis quantifiée après coloration à l'hématéine-éosine-safran, à la fois sur les échantillons tumoraux inclus dans la paraffine et sur les échantillons congelés envoyés au laboratoire de génétique. Selon les recommandations de la

littérature et l'expérience de notre laboratoire, le seuil de cellularité à partir duquel une biopsie était considérée comme une réussite a été fixé à 30%.

- La nécrose au sein des prélèvements. Elle a été estimée visuellement de façon semi-quantitative et graduée selon une échelle s'étendant de 0 à 3 :

- 0 : absence de nécrose,
- 1 : quantité basse de nécrose,
- 2 : quantité moyenne de nécrose,
- 3 : quantité élevée de nécrose.

- La fibrose. Elle été évaluée d'une façon identique.

## **IV. RELEVÉ DES DONNÉES CLINIQUES ET RADIOLOGIQUES**

### **A. Données cliniques**

Pour chaque patient, les données cliniques suivantes ont été relevées :

- Age et sexe,
- Poids et IMC,
- Nombre de lignes de chimiothérapie,
- Sous chimiothérapie ou non pendant la biopsie,
- Histologie de la tumeur primitive,
- Siège de la tumeur primitive,
- Localisation et type de biopsie.

### **B. Données radiologiques**

Tous les patients dont les biopsies ont été effectuées sous contrôle scanographique ont réalisé un scanner sans puis avec injection de produit de contraste iodé (au temps portal, 80 secondes après le début de l'injection) moins d'un mois avant le prélèvement.

Ces examens ont été réévalués par un radiologue de 4 ans d'expérience sur une console de PACS (Carestream Health, Version 11.4, Mountain View, CA) en aveugle des données cliniques et histologiques. Les données suivantes ont été relevées :

- La **localisation** de la lésion biopsiée,
- Son **diamètre** le plus large,
- Le  **$\Delta$ -UH**, soit la valeur du rehaussement mesuré en Unité Hounsfield (UH) de la lésion entre le scanner sans puis après injection de produit de contraste iodé. Pour ce faire, une région d'intérêt d'environ 1 cm<sup>2</sup> a été tracée en regard de la partie distale de l'aiguille de biopsie sur l'image sans injection, et a ensuite été copiée et collée sur l'image injectée en prenant soin de sélectionner la même zone anatomique (recalage d'image) (Figures 9 et 10). Le  $\Delta$ -UH a été calculé en soustrayant de la densité moyenne (UH) de l'imagerie injectée la densité moyenne de l'image sans injection.

## V. ANALYSES STATISTIQUES

Les mesures d'association ont d'abord été effectuées sur la variable continue « cellularité », puis sur la variable catégorisée en « succès de biopsie » oui / non. L'association entre deux variables continues a été évaluée par un coefficient de corrélation. Du fait de la normalité des variables continues, un coefficient de Pearson a été utilisé. Le test de la corrélation à 0 a été fait.

L'association entre la cellularité et les variables catégorielles (sexe, histologie, etc.) a été effectuée par une comparaison des moyennes de cellularité dans les différents groupes de la variable catégorielle. Les moyennes ont été comparées par une analyse de la variance et un test de Fisher. En cas de différence globale entre les moyennes des tests de Tukey ont permis de comparer les modalités 2 à 2 tout en contrôlant le risque global d'erreur. L'association entre la réussite de la biopsie et les variables catégorielles a finalement été testée par un Chi<sup>2</sup> ou un test exact de Fisher en cas de petits effectifs.

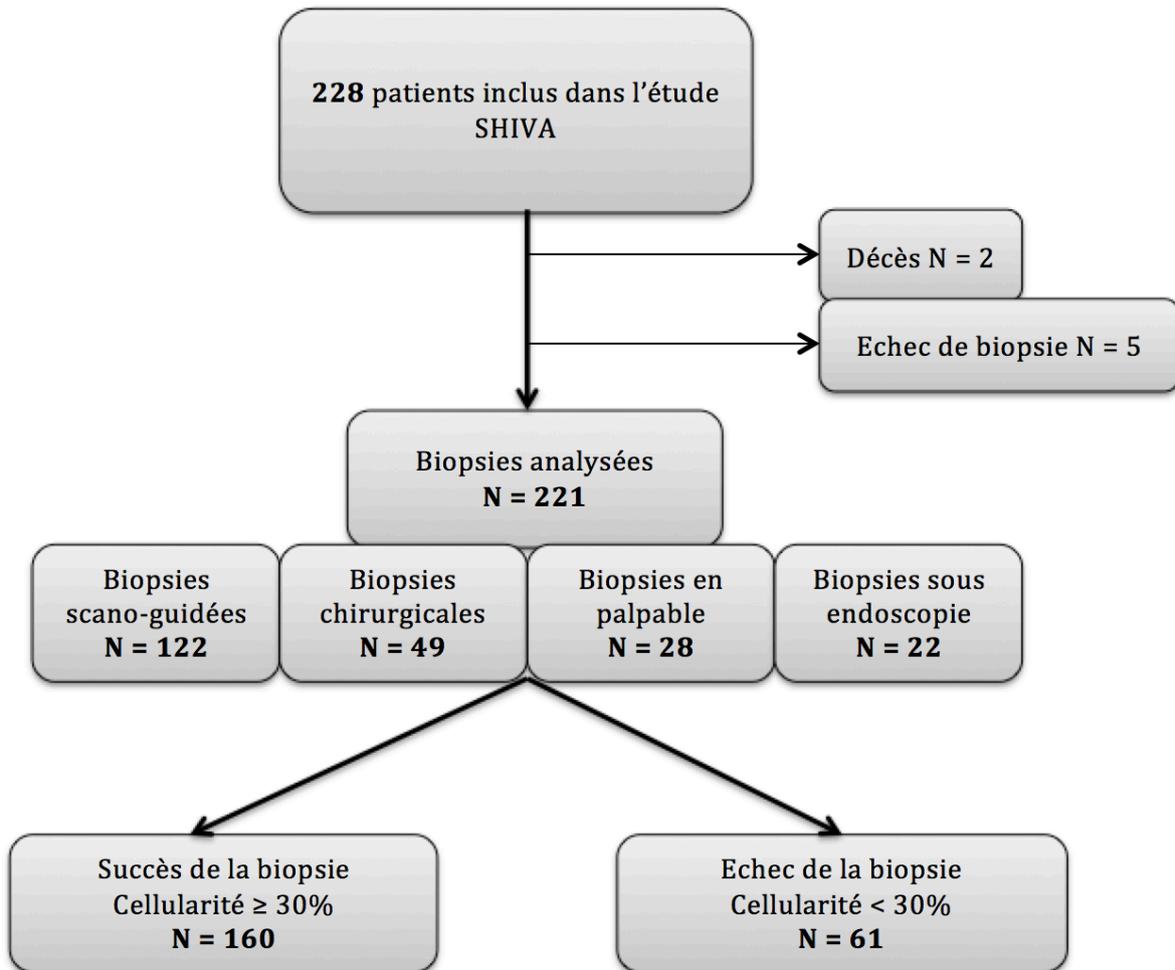
Finalement, une analyse sur le sous-groupe des biopsies réalisées sous scanner a été faite. En plus des analyses précédentes, une étude de la variation de la densité de la lésion comme outil diagnostique de réussite biopsie a été réalisée. Une courbe ROC a été construite.

Tous les tests étaient bilatéraux, avec un seuil de significativité  $P < 0,05$ .

Toutes les analyses ont été effectuées en SAS version 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC).

# TROISIEME PARTIE : RESULTATS

## I. POPULATION ET TUMEURS



**Figure 7:** Flow Chart de l'étude

Les caractéristiques de la population incluse et des tumeurs étudiées sont représentées dans le tableau 1.

**Tableau 1:** Caractéristiques des patients biopsiés et des lésions

	Population globale (N= 221 patients)	Population avec biopsie scano-guidée (N = 122)
<b>Sexe</b> <sup>b</sup>		
• Homme	75 (34%)	45 (37%)
• Femme	146 (66%)	77 (63%)
<b>Âge</b> <sup>a</sup>		
• Homme	58.9 ± 13.9	56.8 ± 15.0
• Femme	59.4 ± 13.5	60.1 ± 13.4
<b>Poids (Kg)</b> <sup>a</sup>	66.9 ± 15.4	66.7 ± 12.5
<b>IMC</b> <sup>a</sup>	23.6 ± 4	23.5 ± 3.6
<b>Cancer</b> <sup>b</sup>		
• Histologie		
- Adénocarcinome	131 (59%)	76 (62%)
- Carcinome épidermoïde	37 (17%)	13 (11%)
- Sarcome	17 (8%)	12 (10%)
- Autres	36 (16%)	21 (17%)
• Localisation du primitif		
- Poumon	38 (17%)	23 (19%)
- Sein	40 (18%)	20 (16%)
- ORL	24 (11%)	8 (7%)
- Ovaires	24 (11%)	16 (13%)
- Côlon	15 (7%)	9 (7%)
- Utérus	15 (7%)	5 (4%)
- Estomac	5 (2%)	3 (2%)
- Pancréas	7 (3%)	6 (5%)
- Vessie	6 (3%)	4 (3%)
- Os	8 (4%)	6 (5%)
- Œil	4 (2%)	2 (2%)
- Autres	27 (12%)	16 (13%)
- Inconnu	8 (4%)	4 (3%)
<b>Traitement</b>		
• Sous chimiothérapie <sup>b</sup>	145 (66%)	45 (37%)
• Nb de lignes antérieures de chimiothérapie <sup>b</sup>		
- 0	15 (7%)	6 (5%)
- 1-4	142 (64%)	75 (61%)
- ≥ 5	64 (29%)	41 (34%)
<b>Guidage de biopsie</b> <sup>b</sup>		
• Chirurgie	49 (22%)	-
• Endoscopie	22 (10%)	-

• Scanner	122 (55%)	-
• Palpable	28 (13%)	-
<b>Localisation de la biopsie <sup>b</sup></b>		
• Foie	65 (29%)	63 (51%)
• Adénopathie	37 (17%)	8 (7%)
• Tissus mous	34 (15%)	11 (9%)
• Poumon	26 (12%)	24 (20%)
• Bronches	15 (7%)	
• Péritoine	12 (6%)	8 (7%)
• Système digestif	7 (3%)	
• Vagin	6 (3%)	
• Surrénales	5 (2%)	4 (3%)
• Sein	4 (2%)	
• ORL	3 (1%)	
• Utérus	3 (1%)	
• Autre	4 (2%)	4 (3%)
<b>Taille de la lésion biopsiée <sup>a</sup></b>	-	46.7 (23.0)
(disponible chez 120 patients)		

<sup>a</sup>: Les données représentées sont des moyennes ± déviation standard

<sup>b</sup>: Les données représentées sont des nombres de cas (avec pourcentage)

L'histologie la plus fréquente retrouvée était l'**adénocarcinome** (131/221, 59%). Les tumeurs primitives les plus fréquemment retrouvées étaient le **sein** (18%), le **poumon** (17%) et les tumeurs de la sphère **ORL** (17%).

Cent quarante-cinq patients (66%) étaient **sous chimiothérapie** lorsque la biopsie était réalisée.

## II. BIOPSIES

Sept biopsies n'ont pas pu être réalisées pour les raisons suivantes : décès avant le prélèvement (2 patients), problème technique rendant impossible la réalisation de la biopsie (4 patients), et échec de la biopsie (un patient). Ces 7 patients ont été exclus de l'analyse, portant le nombre total final de patients à 221.

Les caractéristiques des biopsies sont représentées dans le tableau 1.

Plus de la moitié des biopsies ont été réalisées sous **guidage scanographique** (n = 122). Une aiguille 18 gauge a été utilisée chez 103 patients (84%), dont 10 biopsies pulmonaires, et une aiguille 20 gauge chez 19 patients (16%) dont 14 biopsies pulmonaires.

La localisation la plus fréquente des biopsies (quel que soit le guidage) était le **foie** (65/221, 29%), puis les **adénopathies** (37/221, 17%). Parmi les 221 biopsies, 160 (72%) présentaient une cellularité tumorale supérieure ou égale à 30% et ont été considérées comme une réussite.

### 1. Complications des biopsies

#### *a. Biopsies en palpable*

Aucune complication n'a été notée lors des cas de biopsies en palpable.

#### *b. Biopsies sous endoscopie*

Aucune complication n'a été notée lors des biopsies sous guidage endoscopique.

#### *c. Biopsies sous guidage scanographique*

Cinq patients ont présenté une complication après biopsie scano-guidée. Il s'agissait de pneumothorax après prélèvements thoraciques (5/24, 21%). Un drainage de l'épanchement gazeux a été nécessaire chez un des 5 patients, tandis que chez les 4 patients restant le pneumothorax était limité et asymptomatique, avec une résolution spontanée.

#### *d. Biopsies chirurgicales*

Des complications sont survenues chez 5 patients (10%) ayant eu les interventions chirurgicales avec biopsies suivantes : amputation abdomino-périnéale (n = 3) et lymphadénomectomie rétro-péritonéale (n = 2). Deux de ces 5 complications ont nécessité une nouvelle intervention chirurgicale, et consistaient en un hématome pelvien surinfecté et une ascite chyleuse réfractaire.

### **2. Facteurs pronostiques de cellularité tumorale et réussite de l'ensemble des biopsies**

Les facteurs pronostiques de cellularité tumorale sont représentés dans le tableau 2.

Les échantillons prélevés chez les patients qui étaient **sous chimiothérapie** au moment du geste avaient une cellularité tumorale significativement plus basse (41,3%) que les patients ne recevant pas de chimiothérapie (51,6%) ( $P = 0.015$ ).

Il n'y avait pas de lien significatif entre le **nombre de lignes** de chimiothérapie et la cellularité.

Il y avait un lien significatif entre le **sous-type histologique** et la cellularité ( $P = 0.002$ ). Le sous-type histologique présentant la cellularité tumorale la plus haute était le **sarcome** (cellularité moyenne = 67,7%).

Les échantillons de **biopsies réalisées en palpable** présentaient la cellularité tumorale moyenne la plus élevée (cellularité moyenne = 59,3%). A l'opposé, ceux des biopsies sous **endoscopie** présentaient la cellularité moyenne la plus basse (cellularité moyenne = 28,4%).

La cellularité tumorale moyenne la plus haute a été retrouvée dans les prélèvements d'**adénopathies** et de **tissus mous** (cellularité moyenne = 62,6% and 61,8%, respectivement). La cellularité tumorale la plus basse était dans les prélèvements **pulmonaires** et **bronchiques** (cellularité moyenne = 31,6% et 16,7%, respectivement).

Les facteurs pronostiques de réussite de biopsie sont rapportés dans le tableau 3. Cent-soixante sur 221 biopsies (72%) présentaient des échantillons avec 30% ou plus de cellules tumorales et étaient considérées comme une réussite.

De façon comparable aux résultats liés à la cellularité tumorale, les facteurs pronostiques de réussite de biopsie étaient : **l'absence de chimiothérapie** en cours lors du prélèvement (47/76, 62%), les biopsies en **palpable** (25/28, 90%), la réalisation de la biopsie dans les **adénopathies** (34/37, 92%) et les **tissus mous** (31/34, 91%).

**Tableau 2:** Facteurs pronostiques de cellularité

	POPULATION GLOBALE			BIOPSIES SCANO-GUIDEES		
	Coefficient de corrélation Pearson R	Cellularité moyenne $\pm$ SD	<i>P</i>	Coefficient de corrélation Pearson R	Cellularité moyenne $\pm$ SD	<i>P</i>
<b>Age</b>	-0.03	–	0.73	-0.03	–	0.76
<b>IMC</b>	0.08	–	0.26	0.09	–	0.33
<b>Poids</b>	0.13	–	0.06	0.2	–	<b>0.025</b>
<b>Sous chimiothérapie</b>			<b>0.015</b>			0.068
* Oui		41.3 $\pm$ 31.9			38.8 $\pm$ 32.3	
* Non		51.6 $\pm$ 28.3			49.3 $\pm$ 29.1	
<b>Nb de lignes de chimiothérapie</b>			0.537			0.429
* 0	–	42.3 $\pm$ 33.5		–	32.5 $\pm$ 39.2	
* 1-4	–	47.4 $\pm$ 31.0		–	44.5 $\pm$ 32.0	
* $\geq 5$	–	51.0 $\pm$ 26.6		–	49.0 $\pm$ 26.6	
<b>Histologie</b>			<b>0.002</b>			<b>0.009</b>
* Adénocarcinome	–	43.9 $\pm$ 27.5		–	39.9 $\pm$ 28.2	
* Carcinome épidermoïde	–	44.5 $\pm$ 33.6		–	40.4 $\pm$ 37.1	
* Sarcome	–	67.7 $\pm$ 29.9		–	66.7 $\pm$ 26.5	
* Autre	–	57.9 $\pm$ 29.7		–	56.2 $\pm$ 30.9	
<b>Localisation du primitif</b>			<b>0.026</b>			0.055
<b>Guidage</b>			<b>&lt; 0.0001</b>	-	-	-
* Chirurgie	–	57.9 $\pm$ 22.8				
* Endoscopie	–	28.4 $\pm$ 31.9				
* Scanner	–	45.1 $\pm$ 30.4				
* Palpable	–	59.3 $\pm$ 27.5				
<b>Localisation de la biopsie</b>			<b>&lt; 0.0001</b>			<b>0.04</b>
* Adénopathie	–	62.6 $\pm$ 22.5		–	60.0 $\pm$ 25.6	
* Tissus mous	–	61.8 $\pm$ 27.1		–	60.9 $\pm$ 28.1	
* Autre	–	58.9 $\pm$ 21.7		–	65 $\pm$ 12.9	
* Foie	–	47.4 $\pm$ 27.8		–	47.3 $\pm$ 28.1	
* Digestif	–	47.1 $\pm$ 28.1				
* Vagin	–	45.8 $\pm$ 23.8				
* Surrénales	–	38 $\pm$ 34.9		–	47.5 $\pm$ 32.0	
* Péritoine	–	36.7 $\pm$ 19.1			34.0 $\pm$ 20.4	
* Poumon	–	31.6 $\pm$ 36.6		–	27.9 $\pm$ 35.7	
* Bronches	–	16.7 $\pm$ 24.7				

*Les valeurs significatives de p sont en gras*

**Tableau 3:** Facteurs pronostiques de réussite de la biopsie

	POPULATION GLOBALE			BIOPSIES SCANO-GUIDEES		
	Réussite N = 160	Echec N = 61	<i>P</i>	Succès N = 82	Echec N = 40	<i>P</i>
<b>Age</b>	59.2 ± 13.3	59.2 ± 12.3	0.98	58.9 ± 14.6	58.8 ± 12.9	0.95
<b>IMC</b>	23.8 ± 23.1	23.3 ± 22.6	0.33	24.0 ± 3.9	22.7 ± 2.7	0.07
<b>Poids</b>	67.6 ± 14.3	65.3 ± 11.2	0.2	68.7 ± 12.8	62.7 ± 10.9	<b>0.01</b>
<b>Sous chimiothérapie<sup>b</sup></b>			<b>0.01</b>			0.068
* Oui	47 (62%)	29 (38%)		26 (58%)	19 (27%)	
* Non	113 (78%)	32 (22%)		56 (73%)	21 (42%)	
<b>Nb de lignes de chimiothérapie<sup>b</sup></b>			0.149			0.102
* 0	8 (53%)	7 (47%)		2 (33%)	4 (67%)	
* 1-4	102 (61%)	40 (39%)		49 (65%)	26 (35%)	
* ≥ 5	50 (78%)	14 (22%)		31 (76%)	10 (24%)	
<b>Histologie<sup>b</sup></b>			0.057			<b>0.041</b>
* Adénocarcinome	93 (71%)	38 (29%)		48 (63%)	28 (37%)	
* Carcinome épidermoïde	22 (60%)	15 (40%)		6 (46%)	7 (54%)	
* Sarcome	15 (88%)	2 (12%)		11 (92%)	1 (8%)	
* Autres	30 (83%)	6 (17%)		17 (81%)	4 (19%)	
<b>Localisation du primitif</b>	-	-	0.140			<b>0.046</b>
<b>Guidage<sup>b</sup></b>			<b>&lt; 0.0001</b>			
* Chirurgie	43 (88%)	6 (12%)				
* Endoscopie	10 (45%)	12 (54%)				
* Scanner	82 (67%)	40 (33%)				
* Palpable	25 (90%)	3 (11%)				
<b>Localisation de la biopsie<sup>b</sup></b>			<b>0.0001</b>			<b>0.001</b>
* Foie	48 (74%)	17 (26%)		46 (73%)	17 (27%)	
* Adénopathie	34 (92%)	3 (8%)		7 (88%)	1 (12%)	
* Tissus mous	31 (91%)	3 (9%)		10 (91%)	1 (9%)	
* Poumons	10 (38%)	16 (62%)		8 (33%)	16 (67%)	
* Bronches	4 (27%)	11 (73%)				
* Autres	12 (85%)	2 (14%)		11 (69%)	5 (31%)	

Les valeurs significatives de *p* sont en gras

### 3. Facteurs pronostiques de cellularité tumorale et réussite des biopsies scano-guidées

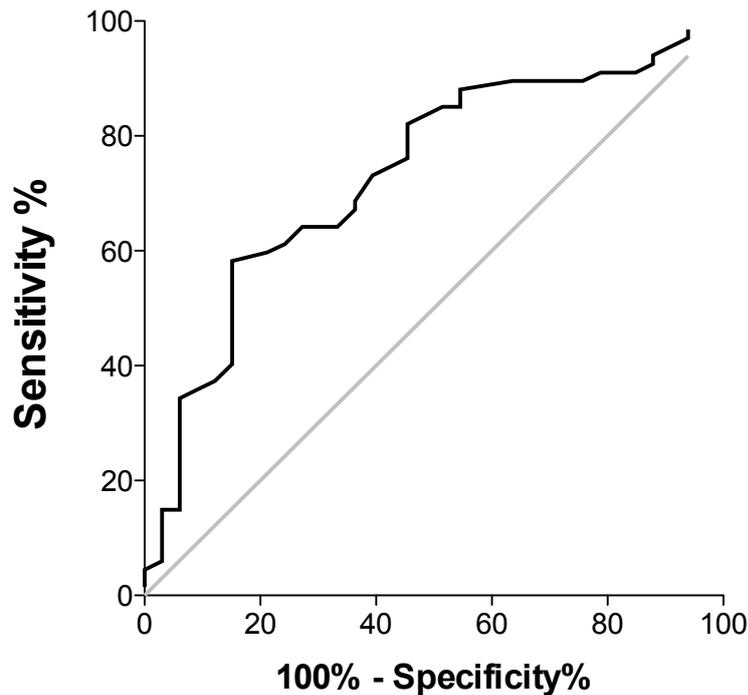
Les facteurs pronostiques de cellularité tumorale des biopsies scano-guidées sont représentés dans le tableau 2.

A l'instar de la population totale de l'étude, il existait un lien significatif entre la cellularité tumorale et le **sous-type histologique** de la tumeur (**sarcome**, cellularité moyenne = 66,7%,  $P = 0.009$ ). La localisation de la biopsie était associée de façon significative à une cellularité tumorale élevée ( $P = 0.04$ ) avec les meilleurs résultats dans les échantillons biopsiques provenant des **tissus mous** (cellularité moyenne = 60,9%) et des **adénopathies** (cellularité moyenne = 60%), tandis que les **biopsies pulmonaires** présentaient les résultats de cellularité les plus bas (cellularité moyenne = 27,9%).

A l'inverse des données retrouvées dans la population générale, il n'existait pas de corrélation significative entre cellularité et chimiothérapie en cours ou non, avec néanmoins une tendance entre cellularité basse et le fait de recevoir une chimiothérapie ( $P = 0.068$ ).

Les facteurs pronostiques de réussite des biopsies scano-guidées sont représentés dans le tableau 3. Quarante-deux biopsies sur 122 (67%) étaient associées à une réussite. Un des facteurs pronostiques de réussite de biopsie était la **localisation** de la biopsie ( $P = 0.001$ ), avec les meilleurs résultats dans les prélèvements des **tissus mous** (10/11, 91%) et les **adénopathies** (7/8, 88%), tandis que les **biopsies pulmonaires** étaient le plus souvent associées à un échec (16/24, 67%).

Le taux de réussite était significativement plus haut dans les cas de **sarcome** (11/12, 92%) que dans les autres sous-types histologiques.



**Figure 8:** courbe ROC pour la valeur diagnostique de l'atténuation de la densité mesurée au scanner selon les réussites et les échecs de biopsie. L'aire sous la courbe est de  $0.74 \pm 0.05$  [0.63 ; 0.84] IC 95%  $P = 0.00017$ .

Etonnamment, un **pooids** plus bas était associé à une réussite des biopsie ( $P = 0,01$ ), mais pas l'IMC ( $P = 0,07$ ).

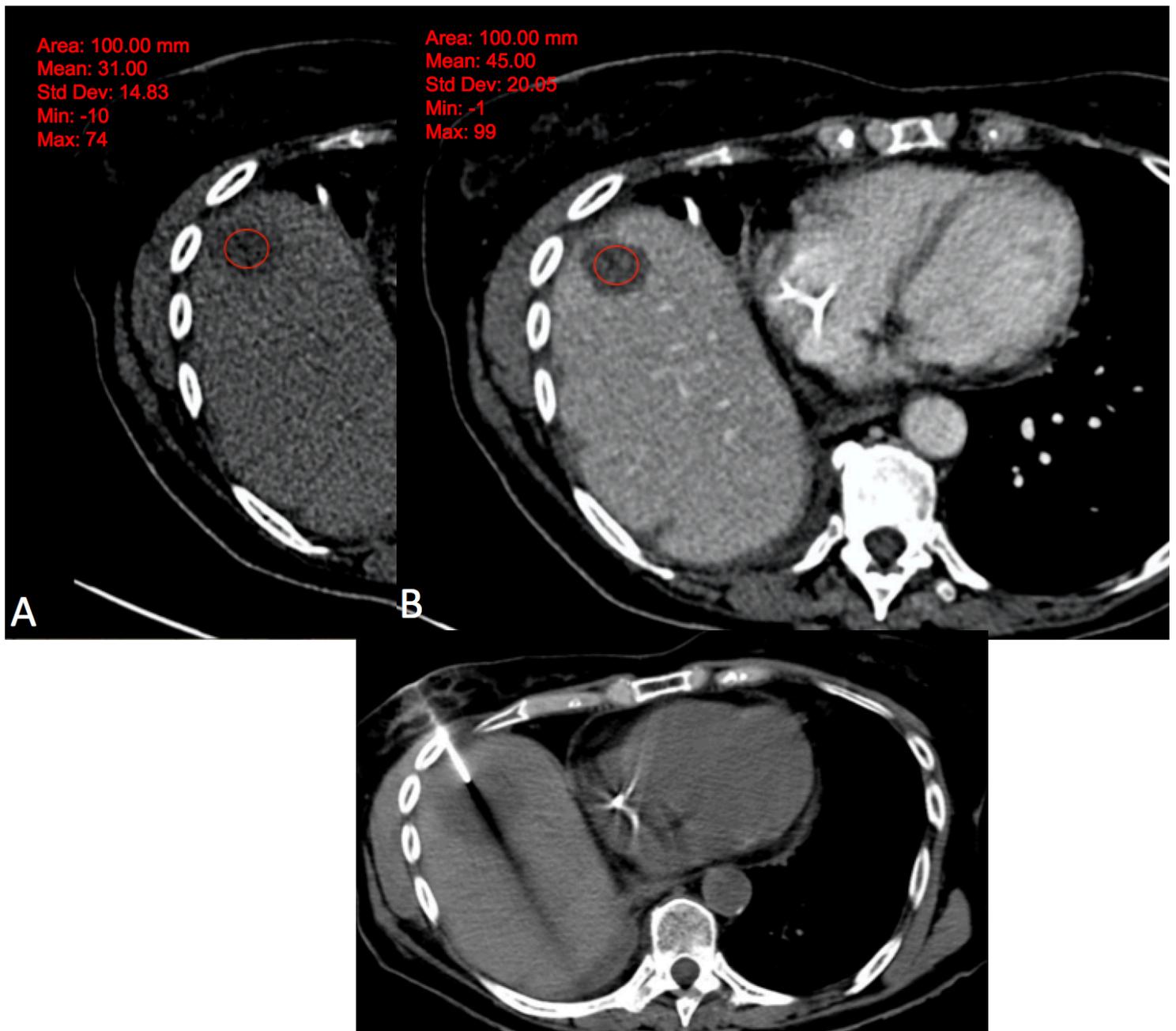
L'échec ou la réussite des biopsies n'étaient pas associés à la taille de la lésion ( $P = 0,35$ ).

La **différence moyenne d'atténuation** de densité mesurée sur les scanners sans puis après injection était associée à une cellularité significativement plus haute dans les réussites de biopsie (33.6 HU vs. 19.1 HU,  $P < 0.001$ ). L'aire sous la courbe ROC était de  $0.74 \pm 0.05$  (IC 95% : 0.63 - 0.84,  $P < 0.001$ ) (Figure 8). Le seuil optimal retrouvé était de 23 UH, avec une sensibilité de 87% et une spécificité de 45% pour une réussite de biopsie.



**Figure 9:** Exemple de réussite de biopsie scano-guidée de lésion secondaire hépatique d'une tumeur de la glande sous-maxillaire chez une femme de 58 ans. La cellularité tumorale des prélèvements était évaluée à 65% et le  $\Delta$ UH à 37.

Densité lésionnelle mesurée à 27 UH sur l'acquisition sans injection (cercle rouge, image A) et 64 UH sur l'image injectée (cercle rouge, image B).



**Figure 10:** Exemple d'échec de biopsie scano-guidée de lésion secondaire hépatique d'une néoplasie pulmonaire chez un homme de 65 ans. La cellularité tumorale des prélèvements était évaluée à 20% et le  $\Delta$ UH à 14. Densité lésionnelle mesurée à 31 UH sur l'acquisition sans injection (cercle rouge sur l'image A) et 45 UH sur l'image injectée (cercle rouge sur l'image B).

### ***Corrélation entre histologie et cellularité tumorale***

Dans la population globale, une évaluation semi-quantitative de la nécrose a été réalisée par un anatomopathologiste après relecture des lames. Le grade de nécrose était réparti de la façon suivante :

- Grade 0 : n = 154 cas (77%)
- Grade 1 : n = 22 cas (11%)
- Grades 2 et 3 : n = 24 cas (12%)

Il existait une association significative entre la cellularité tumorale et le grade de nécrose ( $P < 0,001$ ) mais elle ne reflétait pas une tendance.

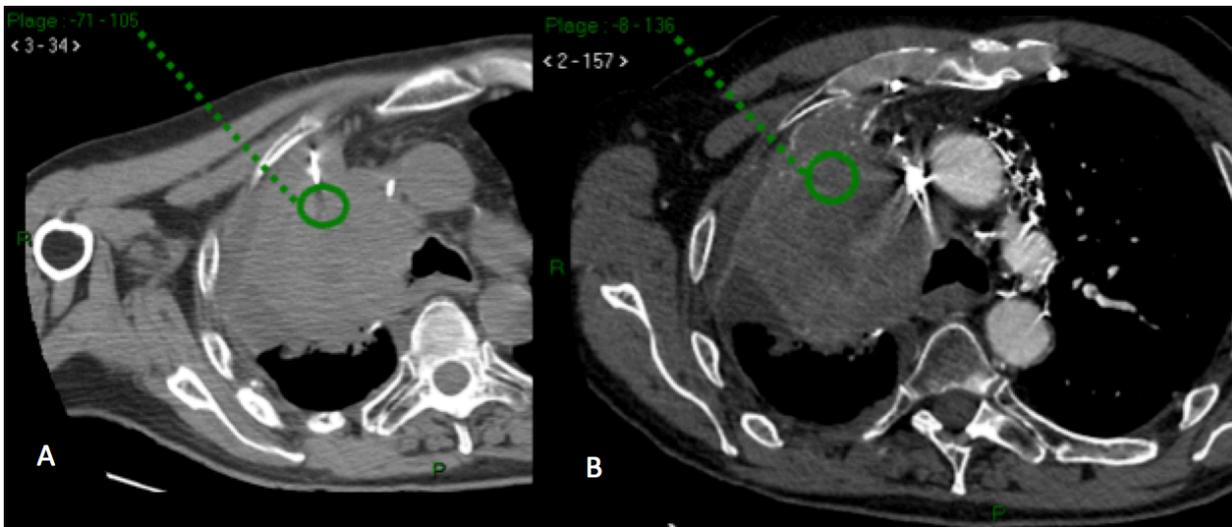
- Grade 0 : cellularité moyenne =  $52\% \pm 27.3$
- Grade 1 : cellularité moyenne =  $66.6\% \pm 25.2$
- Grades 2 et 3 : cellularité moyenne =  $35.6\% \pm 27.5$

### **III. Etiologie des échecs**

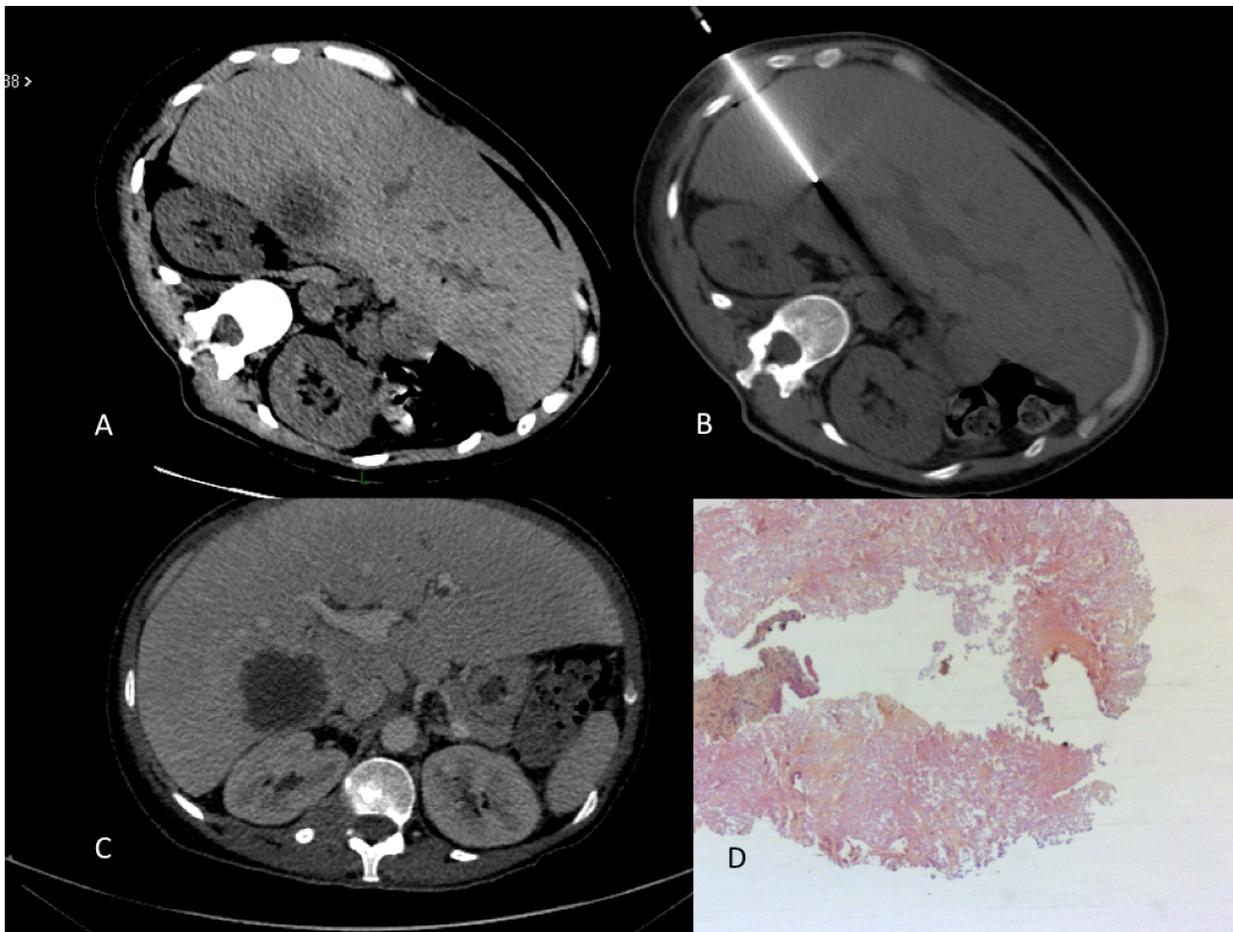
Les causes d'échec de biopsies sont représentées dans le tableau 4.

Les échecs pouvaient être imputés à la présence de nécrose dans le cas de 10 biopsies, (16%) ou à celle de fibrose dans 23 cas (38%).

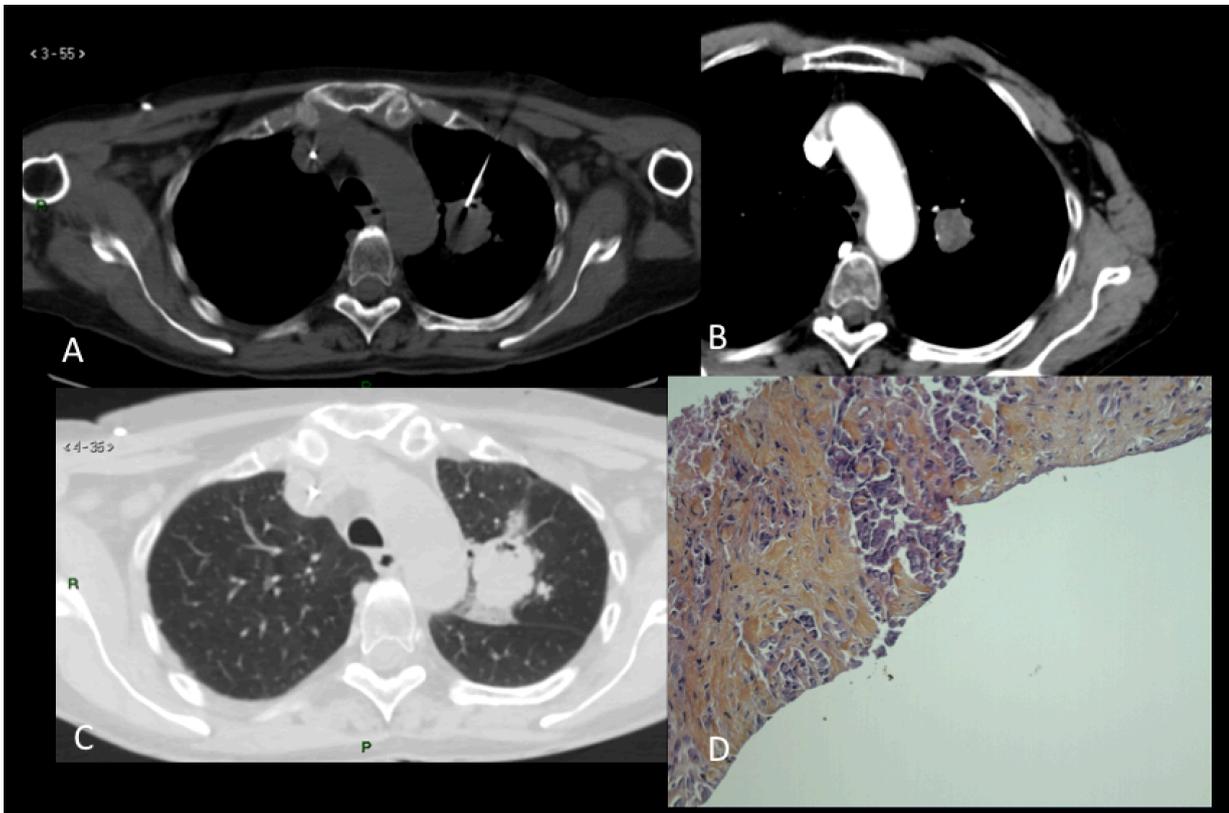
Les autres causes d'échecs étaient liées à l'absence (28%) ou à une quantité insuffisante de matériel tumoral (35%) dans l'échantillon prélevé.



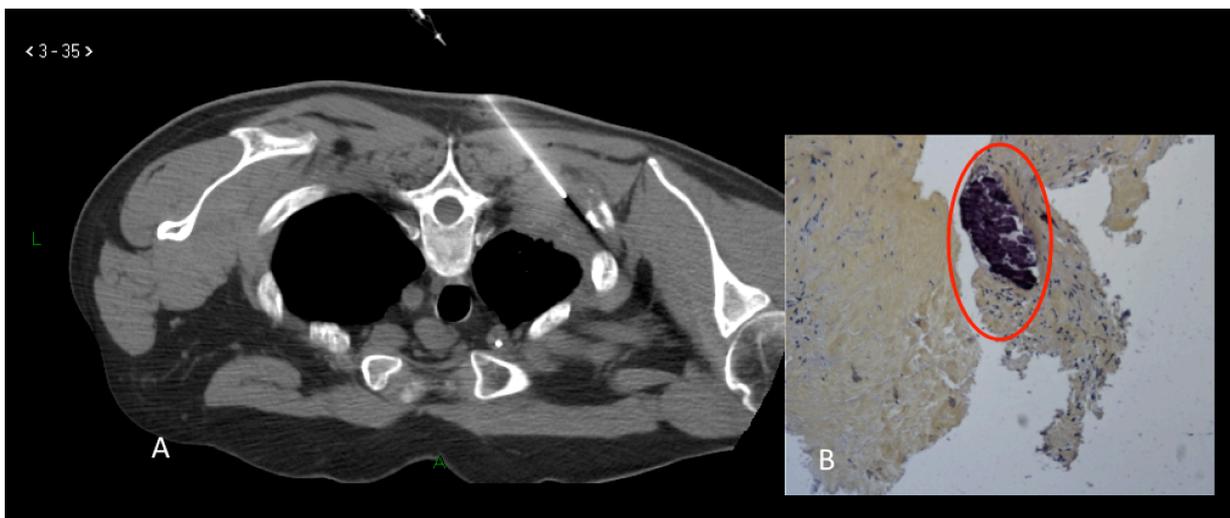
**Figure 12:** Echec de biopsie de lésion primitive pulmonaire à l'aide d'une aiguille 18 G, avec une cellularité tumorale estimée à 10% et un  $\Delta$ UH inférieur à 23 mesuré sur le scanner sans (image A) et avec injection de produit de contraste iodé (image B).



**Figure 11 :** Echec de biopsie de lésion secondaire hépatique d'une tumeur primitive pulmonaire, avec une cellularité tumorale estimée à 5%. Scanner de repérage sans injection (image A), biopsie de la lésion (image B) et hélice injectée (image C) révélant une lésion d'allure liquidienne. L'analyse histologique de la lame (image D) confirme la présence importante de nécrose tumorale.



**Figure 14:** Biopsie d'une lésion primitive pulmonaire à l'aide d'une aiguille 18 G (image A). Acquisition injectée (image B) et fenêtre parenchymateuse (image C). L'analyse histologique de la lame (image D) révèle une fibrose importante et une quantité limitée de cellules tumorales.



**Figure 13:** Echec de biopsie de lésion primitive pulmonaire à l'aide d'une aiguille 18 G (image A). L'analyse histologique (image D) révèle une fibrose diffuse et une faible quantité focale de cellules tumorales.

Dans le sous-groupe des biopsies scano-guidées, 40 étaient un échec, pour lesquels la taille des aiguilles utilisées a également été étudiée. Bien que l'échantillon soit trop petit pour réaliser des analyses statistiques, il a été relevé les données suivantes :

- 32 biopsies (80%) ont été effectuées à l'aide d'aiguille **18 gauge**, dont 8 ont été réalisées sur des lésions pulmonaires.
- 8 biopsies (20%) ont été effectuées à l'aide d'aiguille **20 gauge**, et toutes ont été réalisées sur des lésions pulmonaires.

Sur ces 40 échecs, 17 étaient liés à l'absence de tumeur ou à une quantité insuffisante de tissu tumoral, et concernaient des lésions pulmonaires dans plus de la moitié des cas (10 biopsies, soit 59%)

- 10 ont été effectuées à l'aide d'aiguille **18 gauge** (6 biopsies hépatiques, 4 biopsies pulmonaires et une biopsie des tissus mous)
- 6 ont été effectuées à l'aide d'aiguille **20 gauge** (6 biopsies pulmonaires)

Au total, parmi ces 17 échecs, 10 biopsies (59% soit plus de la moitié) étaient réalisées dans le poumon.

	Chirurgie N = 49	Palpable N = 28	Endoscopie N = 22	Scanner N = 122	Total N = 221*
<b>Nombre d'échecs</b>	6 (12%)	3 (11%)	12 (54%)	40 (33%)	61 (28%)
<b>Raison de l'échec</b>					
* Absence de tumeur	1 (16%)	2 (67%)	6 (50%)	7 (17.5%)	16 (26%)
* Quantité insuffisante de tumeur	0 (0%)	0 (0%)	2 (17)	10 (25%)	12 (19%)
* Fibrose (grade 2 ou 3)	4 (66%)	1 (33%)	3 (25%)	15 (37.5%)	23 (38%)
* Nécrose (grade 2 ou 3)	1 (16%)	0 (0%)	1 (8%)	8 (20%)	10 (16%)

**Tableau 4:** Etiologie des échecs

\* Problème technique empêchant la biopsie chez 5 patients, décès avant la biopsie chez 2 patients.

## QUATRIEME PARTIE : DISCUSSION

Dans cette étude, les facteurs pronostiques de réussite de biopsie définie par une cellularité tumorale supérieure ou égale à 30% au sein du prélèvement réalisé se sont révélés être les suivants : l'absence de chimiothérapie au moment de la réalisation de la biopsie, la localisation anatomique de la biopsie dans les adénopathies ou les tissus mous, et une différence d'atténuation plus élevée de la densité tumorale mesurée au scanner.

De plus, les échecs de biopsie étaient plus fréquents lors des biopsies scano-guidées que lors des biopsies chirurgicales ou en palpable.

S'il est évident qu'une quantité suffisante de matériel tumoral est nécessaire aux analyses génomiques afin d'obtenir une détection optimale des altérations moléculaires, le seuil de cellularité tumorale requis n'est pas consensuel. Il dépend en effet des laboratoires et l'on retrouve des valeurs différentes selon les études publiées. Par exemple, certaines équipes ont validé pour leurs études un seuil de cellularité tumorale supérieur à 50% afin de poursuivre les analyses moléculaires (11) tandis que d'autres ont montré que les altérations génomiques pouvaient être détectées de façon optimale à partir d'un seuil de cellularité de 20% (25,33).

Le seuil de cellularité initialement déterminé à 50% lors de la conception de l'étude SHIVA a été abaissé à 30% après validation des techniques permettant d'établir le profil moléculaire par les biologistes en charge de la réalisation du protocole.

La quantité de matériel tumoral dans une lésion, qu'elle soit primitive ou secondaire, dépend de l'hétérogénéité spontanée de la lésion en dehors de tout traitement mais aussi des modifications secondaires aux différents traitements, chimiothérapie ou radiothérapie, responsables de remaniements nécrotiques, de fibrose et d'une baisse de la cellularité tumorale (22). On conçoit qu'au sein de la population de patients étudiés, qui présentent un cancer résistant à plusieurs lignes de chimiothérapie, la quantité minimale de cellules tumorales requise pour réaliser une analyse du profil moléculaire soit difficile à obtenir.

Notre étude a mis en évidence trois constatations notables :

- Tout d'abord *la cellularité tumorale était plus faible chez les patients recevant une chimiothérapie* au moment de la réalisation de la biopsie. Il existait donc un taux d'échec plus

haut dans cette population. Ce facteur pronostique est logiquement expliqué par l'objectif même de la chimiothérapie qui est d'induire une apoptose et une diminution des cellules néoplasiques au sein des lésions tumorales (46).

Dans la population de patients ne recevant pas de chimiothérapie durant les prélèvements, on peut émettre l'hypothèse que la ou les lésions tumorales réfractaires aux traitements institués ont à nouveau progressé après la dernière ligne de chimiothérapie, avec une majoration du nombre de cellules tumorales expliquant la meilleure rentabilité des prélèvements dans cette situation.

Fort de ce premier résultat, il eut été logique de retrouver une corrélation significative et décroissante entre le nombre de lignes de chimiothérapies antérieures et la cellularité tumorale. A l'inverse de notre attente, la cellularité tumorale constatée était plus importante chez les patients ayant reçu plus de 5 lignes de chimiothérapie. Cela suppose la présence d'un facteur confondant ; on peut émettre l'hypothèse que ces maladies tumorales qui résistent à plus de cinq lignes de chimiothérapies ont un haut potentiel évolutif avec un contenu important en cellules tumorales.

- Par ailleurs, nous avons constaté que *les résultats en terme de cellularité étaient meilleurs lors des biopsies chirurgicales et lors des biopsies en palpable* (réussite de la biopsie dans respectivement 88% et 90% des cas). En effet, les chirurgiens résèquent souvent la lésion tumorale entière (récidive tumorale, adénopathie...) et bénéficient d'une vision ou d'une palpation des tumeurs directement accessibles comme celles de la sphère ORL ou gynécologique. Il en est de même lors des biopsies en palpable puisque la lésion peut être ciblée avec une marge d'erreur quasi nulle, tout en permettant généralement la réalisation de prélèvements multiples sans risque majeur pour le patient. La taille des prélèvements réalisés constitue un facteur important dans la réussite des analyses nécessaire à l'établissement du profil moléculaire. Par exemple dans le cadre des cancers bronchiques, l'étude de phase III TRIBUTE a montré que des petits prélèvements étaient plus à risque d'échec avec un taux variant de 55 à 65% pour les prélèvements réalisés lors d'endoscopies bronchiques et de biopsies scano-guidées, contre 24% d'échec pour les prélèvements chirurgicaux plus larges ou la résection de lésions tumorales entières (47).

Néanmoins, dans la pratique clinique, compte tenu du risque et du caractère agressif que constitue une intervention chirurgicale, elle n'est proposée généralement qu'aux patients qui peuvent bénéficier d'une chirurgie de rattrapage dont l'objectif est la résection complète des

lésions tumorales. La chirurgie ne concerne donc dans ce contexte qu'un nombre limité de patients.

Les biopsies sous endoscopie présentaient les résultats les moins bons, comme le laissait supposer les études antérieures (38,39).

Les biopsies sous scanner présentaient des résultats intermédiaires avec 67% de succès, situés entre les résultats des biopsies chirurgicales/en palpable et des biopsies sous endoscopie. Ces résultats sont un peu plus faibles que ceux rapportés dans la littérature, mais les études réalisées concernent principalement les cancers bronchiques et plus particulièrement les adénocarcinomes pulmonaires. Il n'existe pas à notre connaissance d'études ayant inclus un grand nombre de patients présentant des types histologiques variés et des sites de prélèvements divers et peu d'études ont évalué la réussite de la biopsie en terme de quantification de la cellularité tumorale au sein du prélèvement (31,36).

- De plus, les *prélèvements d'adénopathies et des tissus mous étaient le plus fréquemment associés à une réussite de biopsie* (respectivement 92 et 91%), tandis que *les biopsies pulmonaires présentaient les résultats les moins bons*. Ceci pourrait être expliqué en partie par la meilleure performance de la chirurgie et des biopsies en palpable, puisque les prélèvements ganglionnaires et des tissus mous ne représentent que 7 et 9% respectivement des biopsies scano-guidées. Néanmoins, malgré le faible nombre de cas, le taux de succès était plus important pour ces deux localisations y compris pour les biopsies scano-guidées. Nous n'avons pas d'explication pour ce constat et l'analyse de la littérature ne permet pas d'apporter de réponse précise. Seule l'étude SAFIR01 avait noté un taux de succès plus élevé pour les prélèvements hépatiques et ganglionnaires que pour les prélèvements pulmonaires, osseux et cutanés ; mais cette étude ne portait que sur les cancers du sein et les causes d'échec ou de réussite des biopsies n'étaient pas analysées en détail.

Enfin, l'analyse des échecs retrouvait des étiologies variables.

Dans la population globale, 28 biopsies représentant 45% des échecs présentaient une quantité de matériel tumoral insuffisante ou une absence totale de cellule néoplasique. Cela concernait essentiellement les prélèvements effectués sous contrôle scanographique ou endoscopique.

Dans le sous-groupe où les prélèvements étaient réalisés sous scanner, on retrouvait une quantité insuffisante de matériel tumoral ou une absence totale de cellule néoplasique dans 17 des 122 biopsies (14%). Trois facteurs peuvent expliquer ce résultat :

- la réussite du ciblage tumoral et de la réalisation de l'acte de biopsie,
- la quantité de matériel prélevé liée principalement à la taille de l'aiguille et au nombre de biopsies,
- la composition histologique et l'hétérogénéité de la lésion tumorale biopsiée.

Le premier facteur est commun à tout acte de biopsie percutanée quel que soit le contexte. La réussite repose principalement sur l'expérience de l'opérateur, la taille et la situation anatomique de la lésion ainsi que sur la coopération du patient.

Pour le deuxième facteur, il n'existe pas de recommandation consensuelle dans la littérature à propos la taille des aiguilles à utiliser dans ce contexte particulier d'analyses génomiques. En effet, plusieurs études ont montré que des prélèvements réalisés soit avec des aiguilles 18 gauge soit 20 gauge ont une efficacité équivalente pour réaliser les analyses moléculaires, sans différence significative du taux de complications post-procédure (44,45,48). Cependant, certaines équipes s'interrogent dans ce contexte sur l'utilisation d'aiguille de plus fort calibre dont le surcroît de performance et le taux de complications comparés aux procédures habituelles seront à évaluer (36). Le nombre de biopsies a été arbitrairement déterminé à quatre dans notre étude. Là encore, l'analyse de la littérature ne nous a pas permis de déterminer de recommandation précise dans cette situation qui repose principalement sur l'habitude des centres qui réalisent ces actes.

Enfin, nous supposions initialement que la présence de nécrose pouvait être une cause majeure des échecs de biopsie. Les analyses statistiques effectuées après relecture des lames d'anatomo-pathologie n'ont pas mis en évidence de corrélation significative entre la présence de nécrose et le taux de cellularité tumorale des prélèvements ; en revanche, la présence de fibrose était plus fréquente que celle de nécrose lors des échecs de biopsie.

Ces résultats renforcent l'idée d'un meilleur ciblage radiologique des lésions lors de la réalisation des biopsies pour identifier et éviter les zones de nécrose ou de fibrose. Plusieurs améliorations pourraient être proposées et évaluées :

- La réalisation d'acquisition tardive lors des scanners injectés pour identifier les zones de fibrose les plus abondantes au sein des lésions tumorales,
- L'utilisation plus fréquente de l'imagerie fonctionnelle comme le TEP-scanner ou l'IRM de diffusion pour préciser les zones tumorales les plus cellulaires.

Notre étude présente différentes limites.

Tout d'abord, on peut observer le fait que plus de la moitié des biopsies réalisées sous scanner concernaient le foie (n = 63) et les tissus mous (n = 11). Ces biopsies auraient pu être réalisées sous échographie, examen non irradiant avec un temps de procédure souvent plus court qu'une biopsie réalisée sous scanner. Dans notre étude, issue de l'essai thérapeutique SHIVA, il a été décidé d'utiliser une technique d'imagerie reproductible permettant une analyse rétrospective des images donnant accès à la taille de la lésion biopsiée, la position de l'aiguille au sein de la lésion et à la mesure de la densité lésionnelle sur le scanner. Pour ces raisons, nous avons privilégié le scanner comme technique de guidage pour la réalisation des biopsies.

Par ailleurs, les biologistes en charge de réaliser les analyses ont fixé un seuil de cellularité tumorale de 30% pour considérer les biopsies pour affirmer le succès de la biopsie, mais cela reste un choix en partie arbitraire. Une grande partie des analyses statistiques de cette étude repose sur la réussite ou l'échec des biopsies ; on peut supposer qu'en choisissant un autre seuil les résultats liés aux facteurs pronostiques de réussite des prélèvements auraient pu être différents. Les résultats liés à la cellularité seraient restés cependant identiques. Ceci implique que nos résultats sont centre-dépendants et que leur reproductibilité dans d'autres centres reste à être validée.

De plus, il a été choisi pour chaque procédure un nombre de quatre prélèvements tumoraux, dont deux étaient envoyés au laboratoire d'anatomo-pathologie et deux au laboratoire de génétique pour analyse du profil moléculaire. Certaines études ont montré qu'il existait une variabilité parfois importante de la qualité du contenu tumoral entre plusieurs prélèvements biopsiques d'une même lésion, ce qui peut laisser penser que la cellularité tumorale pourrait être meilleure en multipliant le nombre des prélèvements (36). En pratique, et tout particulièrement pour les biopsies radio-guidées, il n'est pas toujours possible compte tenu de la taille et de la situation anatomique de la lésion biopsiée de réaliser un grand nombre de prélèvements de bonne qualité. Le chiffre de quatre prélèvements nous est apparu comme un compromis satisfaisant.

Pour finir, nous n'avons pas évalué les performances de l'imagerie fonctionnelle (TEP-TDM, IRM de diffusion) dans l'identification des zones de nécrose et fibrose intra-tumorale pour permettre un meilleur ciblage lésionnel n'ont pas été évaluées, mais ce n'était pas l'objectif de notre étude. Alors que la TEP-TDM est fréquemment utilisée dans les lymphomes ou les cancers bronchiques pour cibler plus précisément les zones métaboliquement

les plus actives son utilisation courante pour la réalisation des biopsies dans les autres types de tumeurs reste incomplètement étudiée (49).

Les progrès continus en oncologie ont permis de développer une technique non invasive pour évaluer les altérations génomiques des tumeurs par prélèvement de l'ADN tumoral circulant au moyen d'une simple prise de sang. Une étude initiée à partir de l'essai SHIVA a comparé l'ADN tumoral plasmatique avec les biopsies de lésions métastatiques chez 34 patients présentant jusqu'à 18 différents types histologiques. Cette étude met en évidence des mutations génétiques identifiées dans les prélèvements biopsiques tissulaires chez 27 patients 97% (50). Nombre d'études corroborent ces résultats (31,51–54). Cette technique, effectuée actuellement en complément des prélèvements biopsiques tissulaires, pourrait à l'avenir se substituer à ces prélèvements dans certaines indications.

## CONCLUSION

La quantité de cellules néoplasiques dans les biopsies réalisées pour analyses génomiques semble être plus élevée chez les patients ne recevant pas de chimiothérapie au moment du prélèvement et lorsque les biopsies sont effectuées dans les tissus mous et les adénopathies. Ces résultats pousseraient à effectuer les prélèvements chez des patients plutôt en pause thérapeutique, et à préférer les tissus mous et les lésions ganglionnaires lorsque c'est réalisable. La mesure du rehaussement de la lésion biopsiée sur le scanner après injection de produit de contraste iodé est une mesure dont la performance est insuffisante pour prédire la réussite d'une biopsie en terme de cellularité. En dehors de la nécrose, la fibrose intra-tumorale est un élément majeur dans les causes d'échec ; l'apport des différents types d'imagerie fonctionnelle reste à évaluer pour améliorer le ciblage des zones tumorales les plus cellulaires.

## BIBLIOGRAPHIE

1. Le Tourneau C, Delord J-P, Gonçalves A, Gavaille C, Dubot C, Isambert N, et al. Molecularly targeted therapy based on tumour molecular profiling versus conventional therapy for advanced cancer (SHIVA): a multicentre, open-label, proof-of-concept, randomised, controlled phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2015 Sep 3;
2. Rowinsky EK. Signal events: Cell signal transduction and its inhibition in cancer. *The Oncologist.* 2003;8 Suppl 3:5–17.
3. Rowinsky EK. Crossing the cancer cell membrane to improve clinical outcomes. *The Oncologist.* 2003;8 Suppl 3:1–4.
4. Finley RS. Overview of targeted therapies for cancer. *Am J Health-Syst Pharm AJHP Off J Am Soc Health-Syst Pharm.* 2003 Dec 15;60(24 Suppl 9):S4-10.
5. Finley RS. Targeted therapy for lung cancer: implications for pharmacy practice. Introduction. *Am J Health-Syst Pharm AJHP Off J Am Soc Health-Syst Pharm.* 2003 Dec 15;60(24 Suppl 9):S2-3.
6. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011 Mar 4;144(5):646–74.
7. Auguste P, Lemièrè S, Larrieu-Lahargue F, Bikfalvi A. Molecular mechanisms of tumor vascularization. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2005 Apr;54(1):53–61.
8. Ray-Coquard I, Bachelot T, Saba C, Confavreux C, Brantus J-F, Rustam F, et al. [Are antiangiogenic antibodies universal for solid tumor?]. *Bull Cancer (Paris).* 2007 Jul;94 Spec No:S191-196.
9. Willett CG, Boucher Y, di Tomaso E, Duda DG, Munn LL, Tong RT, et al. Direct evidence that the VEGF-specific antibody bevacizumab has antivascular effects in human rectal cancer. *Nat Med.* 2004 Feb;10(2):145–7.
10. Wildiers H, Guetens G, De Boeck G, Verbeken E, Landuyt B, Landuyt W, et al. Effect of antivascular endothelial growth factor treatment on the intratumoral uptake of CPT-11. *Br J Cancer.* 2003 Jun 16;88(12):1979–86.
11. Alvarez RH, Kantarjian H, Cortes JE. The biology of chronic myelogenous leukemia: implications for imatinib therapy. *Semin Hematol.* 2007 Jan;44(1 Suppl 1):S4-14.
12. O'Brien SG, Guilhot F, Larson RA, Gathmann I, Baccarani M, Cervantes F, et al. Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med.* 2003 Mar 13;348(11):994–1004.
13. Druker BJ, Guilhot F, O'Brien SG, Gathmann I, Kantarjian H, Gattermann N, et al. Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med.* 2006 Dec 7;355(23):2408–17.
14. Demetri GD, von Mehren M, Blanke CD, Van den Abbeele AD, Eisenberg B, Roberts PJ, et al. Efficacy and safety of imatinib mesylate in advanced gastrointestinal stromal tumors.

N Engl J Med. 2002 Aug 15;347(7):472–80.

15. Escudier B, Pluzanska A, Koralewski P, Ravaud A, Bracarda S, Szczylik C, et al. Bevacizumab plus interferon alfa-2a for treatment of metastatic renal cell carcinoma: a randomised, double-blind phase III trial. *Lancet Lond Engl*. 2007 Dec 22;370(9605):2103–11.
16. Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P, Michaelson MD, Bukowski RM, Rixe O, et al. Sunitinib versus interferon alfa in metastatic renal-cell carcinoma. *N Engl J Med*. 2007 Jan 11;356(2):115–24.
17. Escudier B, Eisen T, Stadler WM, Szczylik C, Oudard S, Siebels M, et al. Sorafenib in advanced clear-cell renal-cell carcinoma. *N Engl J Med*. 2007 Jan 11;356(2):125–34.
18. Hudes G, Carducci M, Tomczak P, Dutcher J, Figlin R, Kapoor A, et al. Temsirolimus, interferon alfa, or both for advanced renal-cell carcinoma. *N Engl J Med*. 2007 May 31;356(22):2271–81.
19. Motzer RJ, Escudier B, Oudard S, Hutson TE, Porta C, Bracarda S, et al. Efficacy of everolimus in advanced renal cell carcinoma: a double-blind, randomised, placebo-controlled phase III trial. *Lancet Lond Engl*. 2008 Aug 9;372(9637):449–56.
20. Kabbinavar F, Hurwitz HI, Fehrenbacher L, Meropol NJ, Novotny WF, Lieberman G, et al. Phase II, randomized trial comparing bevacizumab plus fluorouracil (FU)/leucovorin (LV) with FU/LV alone in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2003 Jan 1;21(1):60–5.
21. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, Cartwright T, Hainsworth J, Heim W, et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2004 Jun 3;350(23):2335–42.
22. Stremitzer S, Stift J, Singh J, Starlinger P, Gruenberger B, Tamandl D, et al. Histological response, pattern of tumor destruction and clinical outcome after neoadjuvant chemotherapy including bevacizumab or cetuximab in patients undergoing liver resection for colorectal liver metastases. *Eur J Surg Oncol J Eur Soc Surg Oncol Br Assoc Surg Oncol*. 2015 Jul;41(7):868–74.
23. Taieb J, Tabernero J, Mini E, Subtil F, Folprecht G, Van Laethem J-L, et al. Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin with or without cetuximab in patients with resected stage III colon cancer (PETACC-8): an open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2014 Jul;15(8):862–73.
24. Primrose J, Falk S, Finch-Jones M, Valle J, O'Reilly D, Siriwardena A, et al. Systemic chemotherapy with or without cetuximab in patients with resectable colorectal liver metastasis: the New EPOC randomised controlled trial. *Lancet Oncol*. 2014 May;15(6):601–11.
25. Saridaki Z, Saegart X, De Vriendt V, Hatzidaki D, Palmans S, De Smedt L, et al. KRAS, NRAS, BRAF mutation comparison of endoscopic and surgically removed primary CRC paired samples: is endoscopy biopsy material adequate for molecular evaluation? *Br J Cancer*. 2015 Sep 15;113(6):914–20.
26. Van Cutsem E, Lenz H-J, Köhne C-H, Heinemann V, Tejpar S, Melezínek I, et al. Fluorouracil, leucovorin, and irinotecan plus cetuximab treatment and RAS mutations in

- colorectal cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2015 Mar 1;33(7):692–700.
27. Romond EH, Perez EA, Bryant J, Suman VJ, Geyer CE, Davidson NE, et al. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med*. 2005 Oct 20;353(16):1673–84.
28. Levisky JM, Singer RH. Fluorescence in situ hybridization: past, present and future. *J Cell Sci*. 2003 Jul 15;116(Pt 14):2833–8.
29. Solinas-Toldo S, Lampel S, Stilgenbauer S, Nickolenko J, Benner A, Döhner H, et al. Matrix-based comparative genomic hybridization: biochips to screen for genomic imbalances. *Genes Chromosomes Cancer*. 1997 Dec;20(4):399–407.
30. Pinkel D, Seagraves R, Sudar D, Clark S, Poole I, Kowbel D, et al. High resolution analysis of DNA copy number variation using comparative genomic hybridization to microarrays. *Nat Genet*. 1998 Oct;20(2):207–11.
31. André F, Bachelot T, Commo F, Campone M, Arnedos M, Dieras V, et al. Comparative genomic hybridisation array and DNA sequencing to direct treatment of metastatic breast cancer: a multicentre, prospective trial (SAFIR01/UNICANCER). *Lancet Oncol*. 2014 Mar;15(3):267–74.
32. Sleijfer S, Ballman K, Verweij J. The future of drug development? Seeking evidence of activity of novel drugs in small groups of patients. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2013 Jun 20;31(18):2246–8.
33. Bourdeaut F, Grison C, Maurage C-A, Laquerriere A, Vasiljevic A, Delisle M-B, et al. MYC and MYCN amplification can be reliably assessed by aCGH in medulloblastoma. *Cancer Genet*. 2013 Apr;206(4):124–9.
34. Pirker R, Herth FJF, Kerr KM, Filipits M, Taron M, Gandara D, et al. Consensus for EGFR mutation testing in non-small cell lung cancer: results from a European workshop. *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer*. 2010 Oct;5(10):1706–13.
35. Schleiermacher G, Michon J, Ribeiro A, Pierron G, Mosseri V, Rubie H, et al. Segmental chromosomal alterations lead to a higher risk of relapse in infants with MYCN-non-amplified localised unresectable/disseminated neuroblastoma (a SIOPEN collaborative study). *Br J Cancer*. 2011 Dec 6;105(12):1940–8.
36. Diaz Z, Aguilar-Mahecha A, Paquet ER, Basik M, Orain M, Camlioglu E, et al. Next-generation biobanking of metastases to enable multidimensional molecular profiling in personalized medicine. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc*. 2013 Nov;26(11):1413–24.
37. Cooke DT, Gandara DR, Goodwin NC, Calhoun RF, Lara PN, Mack PC, et al. Outcomes and efficacy of thoracic surgery biopsy for tumor molecular profiling in patients with advanced lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2014 Jul;148(1):36–40.
38. Coghlin CL, Smith LJ, Bakar S, Stewart KN, Devereux GS, Nicolson MC, et al. Quantitative analysis of tumor in bronchial biopsy specimens. *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer*. 2010 Apr;5(4):448–52.
39. Tsao M-S. Should mutational analyses of tumor samples bypass histopathology? *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer*. 2007 May;2(5):375–6.

40. de Bazelaire C, Sabatier F, Pluvinage A, de Kerviler É. [CT-guided percutaneous biopsies]. *J Radiol*. 2011 Sep;92(9):842–59.
41. Malloy PC, Grassi CJ, Kundu S, Gervais DA, Miller DL, Osnis RB, et al. Consensus guidelines for periprocedural management of coagulation status and hemostasis risk in percutaneous image-guided interventions. *J Vasc Interv Radiol JVIR*. 2009 Jul;20(7 Suppl):S240-249.
42. Yoon HJ, Lee HY, Lee KS, Choi Y-L, Ahn M-J, Park K, et al. Repeat biopsy for mutational analysis of non-small cell lung cancers resistant to previous chemotherapy: adequacy and complications. *Radiology*. 2012 Dec;265(3):939–48.
43. Busso M, Sardo D, Garetto I, Righi L, Libero G, Vavalà T, et al. Safety and diagnostic performance of image-guided lung biopsy in the targeted therapy era. *Radiol Med (Torino)*. 2015 Nov;120(11):1024–30.
44. Cheung Y-C, Chang JW-C, Hsieh J-J, Lin G, Tsai Y-H. Adequacy and complications of computed tomography-guided core needle biopsy on non-small cell lung cancers for epidermal growth factor receptor mutations demonstration: 18-gauge or 20-gauge biopsy needle. *Lung Cancer Amst Neth*. 2010 Feb;67(2):166–9.
45. Solomon SB, Zakowski MF, Pao W, Thornton RH, Ladanyi M, Kris MG, et al. Core needle lung biopsy specimens: adequacy for EGFR and KRAS mutational analysis. *AJR Am J Roentgenol*. 2010 Jan;194(1):266–9.
46. Dudley J, Tseng L-H, Rooper L, Harris M, Haley L, Chen G, et al. Challenges posed to pathologists in the detection of KRAS mutations in colorectal cancers. *Arch Pathol Lab Med*. 2015 Feb;139(2):211–8.
47. Eberhard DA, Giaccone G, Johnson BE, Non-Small-Cell Lung Cancer Working Group. Biomarkers of response to epidermal growth factor receptor inhibitors in Non-Small-Cell Lung Cancer Working Group: standardization for use in the clinical trial setting. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2008 Feb 20;26(6):983–94.
48. Chen C-M, Chang JW-C, Cheung Y-C, Lin G, Hsieh J-J, Hsu T, et al. Computed tomography-guided core-needle biopsy specimens demonstrate epidermal growth factor receptor mutations in patients with non-small-cell lung cancer. *Acta Radiol Stockh Swed* 1987. 2008 Nov;49(9):991–4.
49. Guralnik L, Rozenberg R, Frenkel A, Israel O, Keidar Z. Metabolic PET/CT-guided lung lesion biopsies: impact on diagnostic accuracy and rate of sampling error. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med*. 2015 Apr;56(4):518–22.
50. Lebofsky R, Decraene C, Bernard V, Kamal M, Blin A, Leroy Q, et al. Circulating tumor DNA as a non-invasive substitute to metastasis biopsy for tumor genotyping and personalized medicine in a prospective trial across all tumor types. *Mol Oncol*. 2015 Apr;9(4):783–90.
51. Tabernero J, Lenz H-J, Siena S, Sobrero A, Falcone A, Ychou M, et al. Analysis of circulating DNA and protein biomarkers to predict the clinical activity of regorafenib and assess prognosis in patients with metastatic colorectal cancer: a retrospective, exploratory analysis of the CORRECT trial. *Lancet Oncol*. 2015 Aug;16(8):937–48.

52. Frenel JS, Carreira S, Goodall J, Roda D, Perez-Lopez R, Tunariu N, et al. Serial Next-Generation Sequencing of Circulating Cell-Free DNA Evaluating Tumor Clone Response To Molecularly Targeted Drug Administration. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 2015 Oct 15;21(20):4586–96.
53. Francis G, Stein S. Circulating Cell-Free Tumour DNA in the Management of Cancer. *Int J Mol Sci.* 2015;16(6):14122–42.
54. Heitzer E, Ulz P, Geigl JB. Circulating tumor DNA as a liquid biopsy for cancer. *Clin Chem.* 2015 Jan;61(1):112–23.

## Evaluation des facteurs pronostiques de réussite des biopsies avant thérapies ciblées chez des patients présentant une maladie métastatique réfractaire

**Objectif**-Identifier les caractéristiques des patients et des biopsies associées à un succès des biopsies réalisées pour profil génomique avant thérapies ciblées.

**Matériels et méthodes**-Inclusion rétrospective des patients suivis pour cancer réfractaire métastatique, inclus dans l'essai de phase II prospectif randomisé comparant l'efficacité de thérapies ciblées basé sur le profil moléculaire tumoral versus chimiothérapie. Une biopsie tumorale sous chirurgie, endoscopie, en palpable ou radioguidée était effectuée et considérée comme une réussite lorsque la cellularité tumorale était  $\geq 30\%$ . Les données suivantes ont été relevées: lésion primitive, taille et localisation de la cible, recevoir ou non une chimiothérapie, atténuation de la densité sur le scanner.

**Résultats**-221 patients (âge=59 $\pm$ 14 ans) ont été inclus. Les facteurs pronostiques de réussite de la biopsie étaient: ne pas recevoir de chimiothérapie lors du prélèvement, les biopsies sous chirurgie ou en palpable, adénopathies ou tissus mous ( $P < 0.01$ ). Parmi les 221 biopsies, 122(55%) ont été réalisées sous scanner et 160(72%) étaient une réussite. Le taux de réussite des biopsies scano-guidés était plus haut dans les adénopathies et les tissus mous. Les biopsies pulmonaires étaient fréquemment associées à un échec ( $P < 0.01$ ). La différence moyenne d'atténuation au scanner était plus haute chez les patients présentant une réussite de biopsie ( $P < 0.001$ ).

**Conclusion**-La réussite des biopsies pour analyse génomique était moins fréquente sous scanner et endoscopie qu'en chirurgie et en palpable. La cellularité tumorale semblait être diminuée sous chimiothérapie, et plus haute dans les biopsies des tissus mous et des adénopathies.

**Mots clés** : biopsies, biopsies scano-guidées, thérapies ciblées, cellularité tumorale

## Prognostic factors of successful on-purpose tumor biopsies in metastatic cancer patients before targeted therapies

**Purpose**- To identify patient/tumor characteristics associated with success of biopsy in patients who received multiple lines of chemotherapy with refractory cancer.

**Material and methods**- All patients with refractory cancer who were included in our center in a prospective randomized phase II trial comparing targeted therapies based on molecular profile of tumors versus conventional chemotherapy, were retrospectively included in this study. A biopsy of a tumor lesion was mandatory, performed during surgery or using CT/palpation/endoscopic guidance and was considered successful if neoplastic cellularity was  $\geq 30\%$ . Primary lesion, size, location of the biopsied lesion and ongoing chemotherapy were recorded, as well as the differential attenuation between non-enhanced and venous phase on CT.

**Results**- 221 patients (age=59 $\pm$ 14yo) were included. Prognostic factors of biopsy success were: no ongoing chemotherapy, surgical/palpation-guided biopsy, and lymph nodes/soft tissue location( $P < 0.01$ ). Among the 221 performed biopsies, 122(55%) were performed using CT guidance and 160(72%) were successful. In CT-guided biopsies, lesions located in lymph nodes/soft tissue were associated with a higher success rate, while lung location was associated with failure ( $P < 0.01$ ). The mean differential attenuation was significantly higher in lesions with a successful biopsy ( $P < 0.001$ ).

**Conclusion**- Success of biopsy for molecular profiling was less frequent with CT-guidance than with surgical/palpation-guided biopsy. Tumor cell content seemed to be decreased by ongoing chemotherapy and was higher in soft tissues and lymph nodes in visceral metastasis.

**Keywords** : biopsies, CT guided-biopsies, targeted therapies, tumor cellularity

Université Paris Descartes  
Faculté de Médecine Paris Descartes  
15, rue de l'Ecole de Médecine  
75270 Paris cedex 06