



# Imagerie TPE au 18F-FDG du cancer du sein : étude du comportement métabolique des différents phénotypes tumoraux et prédiction de la réponse tumorale à la chimiothérapie néoadjuvante

Olivier Humbert

## ► To cite this version:

Olivier Humbert. Imagerie TPE au 18F-FDG du cancer du sein : étude du comportement métabolique des différents phénotypes tumoraux et prédiction de la réponse tumorale à la chimiothérapie néoadjuvante. Traitement du signal et de l'image. Université de Bourgogne, 2015. Français. <NNT : 2015DIJOS024>. <tel-01245044>

**HAL Id: tel-01245044**

**<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01245044>**

Submitted on 16 Dec 2015

**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.



# SPIM

## Thèse de Doctorat



école doctorale sciences pour l'ingénieur et microtechniques  
UNIVERSITÉ DE BOURGOGNE

**Imagerie TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG du cancer du sein : étude du comportement métabolique des différents phénotypes tumoraux et prédiction de la réponse tumorale à la chimiothérapie néoadjuvante.**

■ HUMBERT OLIVIER

# SPIM

## Thèse de Doctorat



école doctorale sciences pour l'ingénieur et microtechniques  
UNIVERSITÉ DE BOURGOGNE

THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE BOURGOGNE

Discipline : Biophysique et Médecine Nucléaire

**Imagerie TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG du cancer du sein :  
Étude du comportement métabolique des différents  
phénotypes tumoraux et prédiction de la réponse  
tumorale à la chimiothérapie néoadjuvante.**

Par

**Olivier HUMBERT**

Soutenue le 1<sup>er</sup> octobre 2015 par un jury composé de :

<b>Professeur F. BRUNOTTE</b>	Université de Bourgogne	Directeur de thèse
<b>Professeur O. COUTURIER</b>	Université D'Angers	Rapporteur
<b>Professeur P. OLIVIER</b>	Université de Lorraine	Rapporteur
<b>Professeur A. COCHET</b>	Université de Bourgogne	Co-encadrant
<b>Professeur J. DAR COURT</b>	Université de Nice – Sophia Antipolis	Examineur
<b>Professeur P. FUMOLEAU</b>	Université de Bourgogne	Examineur



## **Aux membres de notre Jury**

### **Monsieur le Professeur François Brunotte,**

Professeur de Biophysique et Médecine Nucléaire à la Faculté de Médecine de Dijon.

Nous vous remercions de nous avoir encouragés à compléter notre cursus universitaire par cette thèse d'Université, de l'avoir encadrée et de nous avoir aidés à la mener à son terme. Vous l'avez enrichie par vos connaissances et votre rigueur scientifique, rigueur dont certains passages du manuscrit se souviennent encore! Nous vous remercions surtout pour votre bienveillance et le temps que vous nous avez toujours consacré. Veuillez trouver ici l'expression de notre respect et de notre sympathie.

### **Monsieur le Professeur Olivier Couturier,**

Professeur de Biophysique et Médecine Nucléaire à la Faculté de Médecine d'Angers.

Nous sommes sensibles à l'honneur que vous nous avez fait d'accepter de juger ce travail. Nous vous adressons nos sincères remerciements.

### **Monsieur le Professeur Pierre Olivier,**

Professeur de Biophysique et Médecine Nucléaire à la Faculté de Médecine de Nancy.

Nous sommes honorés de vous compter parmi nos juges. Nous vous témoignons de notre reconnaissance et de notre respect.

### **Monsieur le Professeur Alexandre Cochet,**

Professeur de Biophysique et Médecine Nucléaire à la Faculté de Médecine de Dijon.

Nous vous remercions pour avoir dirigé avec attention ce travail et pour votre disponibilité. Travailler avec vous est à la fois un plaisir et une stimulation. Votre ascension professionnelle éloigne nos deux bureaux, nous regrettons déjà nos échanges pluriquotidiens enrichissants et votre machine Nespresso! Recevez ici le témoignage de notre respect et de notre amitié.

**Monsieur le Professeur Jacques Darcourt,**

Professeur de Biophysique et Médecine Nucléaire à la Faculté de Médecine de Nice-Sophia Antipolis.

Nous vous remercions vivement d'avoir accepté de venir juger ce travail. Nous avons été très sensibles à vos qualités humaines et à votre accueil lors de nos passages à Nice. C'est un honneur de bientôt rejoindre votre équipe. Nous ferons tout pour être à la hauteur de la mission professionnelle que vous nous confierez.

**Monsieur le Professeur Pierre Fumoleau,**

Professeur d'Oncologie à la Faculté de Médecine de Dijon, directeur du Centre Georges-François Leclerc.

Vous nous avez honorés en étant membre de ce jury, vos connaissances et vos travaux faisant autorité en matière de cancérologie mammaire. Vous étiez présent à notre thèse de Médecine et poursuivez votre implication dans notre parcours universitaire en étant de nouveau membre du jury aujourd'hui. Au sein du centre Georges-François Leclerc, nous avons eu la chance de bénéficier d'une formation d'excellence, d'une recherche clinique dynamique et de votre soutien pour nos travaux sur l'imagerie mammaire. Aujourd'hui une opportunité professionnelle nous mène sur un autre chemin mais veuillez trouver ici le témoignage de notre reconnaissance et de notre respect.

Nous tenons à remercier tous ceux qui nous ont permis de mener à bien ce travail et tout particulièrement :

L'ensemble de l'équipe médicale et paramédicale de Médecine Nucléaire : Alina, Inna, Michel, Salim, Jean-Marc R et Jean-Marc V, Myriam, Sylvianne, l'ensemble de l'équipe manipulatrice pour la réalisation des examens TREN, le secrétariat pour sa gestion efficace des rendez-vous, nos internes qui ont participé à l'analyse des examens.

L'équipe de biophysique/IRM avec une mention spéciale pour Paul et Alain, l'équipe de recherche de la plateforme préclinique.

L'ensemble du personnel du Centre Georges-François Leclerc qui a participé de près ou de loin au protocole de recherche de cette thèse : les équipes d'oncologie, de chirurgie oncologique, d'anatomo-pathologie, de biologie, de radiothérapie et de radiologie, et tout particulièrement également l'équipe du DIM qui son aide majeure dans la gestion de la base de données.



Je dédie cette thèse à mon père,

A Laurette, tout mon amour et ma reconnaissance pour ton soutien inconditionnel,

A Juliette, Jeanne, Etienne, Charles

A ma mère

A mes grands-parents

A ma sœur, mon frère et toute ma famille

A ma belle famille

A tous mes amis

Avec toute mon affection

# Sommaire

INTRODUCTION .....	15
CHAPITRE I : LE CANCER DU SEIN .....	17
1. Epidémiologie .....	17
2. Classification des cancers du sein .....	18
2.1. Classification anatomopathologique classique.....	18
2.1.1. Carcinome in situ .....	19
2.1.1.1. Carcinome canalaire in situ.....	19
2.1.1.2. Carcinome lobulaire in situ.....	20
2.1.2. Carcinomes infiltrants .....	20
2.1.2.1. Carcinome canalaire infiltrant.....	20
2.1.2.2. Carcinome lobulaire infiltrant.....	20
2.1.2.3. Autres types histologiques .....	20
2.2. Classification selon le grade histo-pathologique.....	21
2.3. Classification génomique .....	22
2.3.1. Le profil luminal.....	22
2.3.2. Le profil HER2 enriched .....	23
2.3.3. Le profil basal.....	23
2.3.4. Le profil « normal-like » .....	23
2.4. Classification immunohistochimique .....	25
3. Traitement par chimiothérapie néoadjuvante .....	28
3.1. Historique .....	28
3.2. Intérêt théorique de la chimiothérapie néoadjuvante .....	28
3.2.1. Améliorer la survie par 3 mécanismes .....	29

3.2.2.	Augmenter le taux de conservation mammaire .....	29
3.2.3.	Intérêt pour la recherche translationnelle .....	29
3.3.	Importance de la réponse histologique complète .....	30
3.4.	Résultats observés dans la littérature .....	32
3.5.	Importance du phénotype tumoral.....	33
3.5.1.	Le phénotype HER2 positif.....	34
3.5.2.	Le phénotype triple négatif .....	35
3.5.3.	Le phénotype luminal.....	35
3.6.	Evaluation précoce de l'efficacité de la chimiothérapie néo-adjuvante.....	37
3.6.1.	Clinique .....	37
3.6.2.	Biologique .....	38
3.6.3.	Imagerie.....	39
3.6.3.1.	Le volume tumoral.....	40
3.6.3.2.	Perfusion et perméabilité capillaire tumorale .....	41
3.6.3.3.	Etude de la diffusion en IRM.....	43
3.6.3.4.	Spectroscopie RMN .....	45
3.6.3.5.	Métabolisme glucidique tumoral .....	46
3.6.3.6.	Les autres approches envisageables.....	46
CHAPITRE II : LA TEP EN SENOLOGIE .....		47
1.	Principe et fonctionnement de la tomographie par émission de positons .....	47
1.1.	Introduction .....	47
1.2.	Emetteurs de positons.....	48
1.2.1.	Les isotopes émetteurs de positon : principes physiques et exemples. ....	48
1.2.2.	Réaction d'annihilation .....	50
1.2.3.	Parcours des photons dans les tissus .....	51
1.3.	Fonctionnement et caractéristiques des détecteurs de la TEP .....	52

1.3.1.	Principes de la détection des photons coïncidents.....	52
1.3.2.	Résolution temporelle et énergétique des détecteurs .....	54
1.3.3.	Résolution spatiale des détecteurs.....	55
1.3.4.	Le « temps de vol » en TEP .....	58
1.4.	Mode d'acquisition et reconstruction tomographique.....	66
1.5.	Corrections de l'atténuation .....	67
1.6.	La mammo-TEP .....	68
1.7.	Les systèmes TEP/IRM .....	70
2.	Le Fluoro-2-Deoxy-D-Glucose marqué au Fluor 18 ( $^{18}\text{F}$ -FDG).....	72
2.1.	Caractéristiques biologiques des cancers .....	72
2.2.	Métabolisme glucidique cellulaire .....	73
2.2.1.	Métabolisme glucidique des cellules normales .....	73
2.2.2.	Métabolisme glucidique des cellules tumorales .....	76
2.3.	Le $^{18}\text{F}$ -FDG .....	78
2.3.1.	Structure chimique de la molécule de $^{18}\text{F}$ -FDG .....	78
2.3.2.	Pharmacocinétique .....	78
2.4.	Mesure semi-quantitative et quantitative du métabolisme glucidique .....	80
2.4.1.	La Standard Uptake Value (SUV) .....	80
2.4.2.	Analyse cinétique compartimentale du $^{18}\text{F}$ -FDG .....	82
2.4.3.	Analyse cinétique simplifiée de Patlak .....	84
2.5.	Mesure de la perfusion tumorale avec le $^{18}\text{F}$ -FDG .....	86
2.5.1.	Par l'analyse cinétique compartimentale.....	86
2.5.2.	Par la méthode de Mullani .....	86
2.6.	Mesure du volume tumoral .....	90
2.6.1.	Méthodes de seuillages fixes.....	90
2.6.2.	Méthodes de segmentation automatique .....	92
3.	La TEP au $^{18}\text{F}$ -FDG en sénologie.....	93

3.1.	Fixation mammaire physiologique du <sup>18</sup> F-FDG.....	93
3.2.	Indications de la TEP pour le bilan initial du cancer du sein .....	94
3.2.1.	Mise au point sur les recommandations actuelles .....	94
3.2.1.1.	Standards Options Recommandations (SOR) de janvier 2006 .....	94
3.2.1.2.	Recommandations de l'Institut National du Cancer (INCa).....	94
3.2.1.3.	Guide du bon usage des examens de la Haute Autorité de Santé .....	95
3.2.1.4.	Recommandations du National Comprehensive Cancer Network.....	95
3.2.2.	Détection et caractérisation de la lésion mammaire primitive. ....	96
3.2.3.	Bilan d'extension locorégional.....	98
3.2.3.1.	Envahissement axillaire .....	98
3.2.3.2.	Envahissement extra-axillaire.....	101
3.2.4.	Bilan d'extension métastatique .....	102
3.3.	Valeur pronostique de la TEP au <sup>18</sup> F-FDG initiale.....	105
3.3.1.	Corrélation du métabolisme glucidique tumoral avec les facteurs pronostiques clinico-histo-pathologiques.....	105
3.3.2.	Corrélation du métabolisme glucidique tumoral avec la survie .....	107
3.4.	Recherche de récurrence(s) .....	108
3.5.	Evaluation de la réponse tumorale au traitement néoadjuvant.....	109

CHAPITRE III : ARTICLES PUBLIES SUR LE COMPORTEMENT METABOLIQUE DES DIFFERENTS PHENOTYPES DU CANCER DU SEIN .....

1.	Présentation des articles publiés dans le cadre de cette thèse .....	115
2.	Importance du phénotype pour la caractérisation tumorale métabolique.....	120
2.1.	Introduction .....	120
2.2.	Article 1 .....	120
3.	Métabolisme du cancer luminal / HER2 négatif .....	127
3.1.	Introduction .....	127

3.2. Article 2.....	127
4. Métabolisme du cancer HER2 positif .....	140
4.1. Introduction .....	140
4.2. Article 3.....	140
5. Perfusion et métabolisme du cancer du sein triple négatif.....	150
5.1. Introduction .....	150
5.2. Article 4.....	151
 DISCUSSION ET PERSPECTIVES.....	 169
 ANNEXES.....	 189
1. Annexe 1 : Classification TNM du cancer du sein, 7 <sup>ème</sup> édition (2010) .....	189
2. Annexe 2 : classification UICC du cancer du sein (2010) .....	190
3. Annexe 3 : Revue de la littérature publiée en 2015 dans le journal « The Oncologist » .....	190

## Abréviations

$^{18}\text{F}$ -FDG = 2-( $^{18}\text{F}$ )fluoro-2-déoxy-D-glucose

APD = Photodiodes à avalanches

AMM = Autorisation de Mise sur le Marché

ASIC = Application-Specific Integrated Circuit

AUC = Area Under the Curve

ATP = Adénosine triphosphate

BGO = Germanate de bismuth

BMI = Body Mass Index

BRCA1 = BReast CAncer gène 1

BRCA2 = BReast CAncer gène 2

CCIS = Carcinome canalaire in situ

CGFL = Centre Georges-François Leclerc

CK = Cyto-kératines

CNA = chimiothérapie néoadjuvante

DCE-MRI = Dynamic Contrast Enhanced - Magnetic Resonance Imaging

DPC = Digital Photon Counters

dSiPM = Digital Silicon Photomultiplicateur

EGFR = Epithelium Growth Factor Receptor

$E_{\max}$  = Energie maximale

$E_{\text{moy}}$  = Energie moyenne

EORTC = European Organization for Research and Treatment of Cancer

FCH =  $^{18}\text{F}$ -Fluorocholine

FGPA = Field Programmable Gate Array

FLAB = Fuzzy Locally Adaptive Bayesian

FWHM = Full width at half maximum

FWTM = Full width at tenth of maximum

GSH = glutathion réduit

GSO = Orthosilicate de gadolinium

GTV = Growth Tumor Volume

H<sub>2</sub><sup>15</sup>O = eau marquée à l'oxygène 15

HAS = Haute Autorité de Santé

HER2 = Human Epidermal Growth Factor Receptor-2

IHC = immunohistochimie

INCA = Institut National du Cancer

IRM = Imagerie par résonance magnétique

LBM = Lean Body Mass

LDR = Ligne de réponse

LYSO = Orthosilicate de lutetium

NGS = Next sequencing Generation

MeV= Méga-électron Volt

NAD = Nicotinamide Adénine Dinucléotide

NADPH = Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

NaI(Tl) = Iodure de sodium dopé au thallium

NECR = Noise Equivalent Count Rate

NSABPB = National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project

OMS = Organisation Mondiale de la Santé

PEM = Mammographie par émissions de positons

PERCIST = Positron Emission Tomography Response Criteria in Solid Tumors

PHRC-K = Programme Hospitalier de Recherche Clinique en cancérologie

RCC = Réponse Clinique Complète

RCP = Réunion de Concertation Pluridisciplinaire

RE= Récepteurs aux œstrogènes



RECIST = Response Criteria in Solid Tumors

RH = Récepteurs hormonaux

Ribose-5-P = ribose 5 phosphate

ROI = Région d'intérêt

RP = Récepteurs progestatifs

SBR = Scarff-Bloom-Richardson

SFMN = Société Française de Médecine Nucléaire

SFR = Société Française de Radiologie

SiPM = Silicon Photomultiplier

SOR = Standards Options et Recommandations

SSP = Survie sans progression

SUL = Lean Standard Uptake

SUV = Standard Uptake Value

TDM = Examen tomodensitométrie

TEP = Tomographie par Emission de Positons

TLG = Total Lesion Glycolysis

TN = Triple négatif

TNM = Tumor nodes metastasis

UICC = Union for International Cancer Control

VEGF = Vascular Endothelial Growth Factor

VMA = Volume métaboliquement actif

VOI = Volume d'intérêt

## INTRODUCTION

La Tomographie par émission de positons (TEP) au <sup>18</sup>F-Fluoro-déoxy-glucose (<sup>18</sup>F-FDG), analogue radiopharmaceutique du glucose, est une technique d'imagerie en plein essor depuis les années 2000, avec un développement particulièrement rapide dans le domaine de l'oncologie. Il s'agit de l'imagerie de référence pour l'exploration in vivo de la glycolyse cellulaire. L'augmentation de la glycolyse dans la cellule tumorale a été décrite initialement par Warburg en 1924. Elle est liée à la surexpression tumorale des transporteurs membranaires du glucose, à l'augmentation de l'activité de l'hexokinase impliquée dans la phosphorylation du glucose et à l'augmentation de la glycolyse cellulaire anaérobie par inhibition de la voie oxydative.

En cancérologie mammaire, la TEP au <sup>18</sup>F-FDG s'est imposée comme un examen clé du bilan d'extension pré-thérapeutique et de la détection précoce de la récurrence tumorale. La TEP au <sup>18</sup>F-FDG permet également un suivi évolutif du métabolisme tumoral en cours de chimiothérapie. L'intérêt est que la modification du métabolisme glucidique de la tumeur, observée lors de l'initiation du traitement cytotoxique systémique, précède la réduction de la taille tumorale évaluée par l'imagerie morphologique. Cette réponse métabolique précoce traduit la chimiosensibilité tumorale et reflète l'efficacité du traitement. L'évaluation précoce de la réponse tumorale par la TEP au <sup>18</sup>F-FDG est depuis plusieurs années un domaine très actif de la recherche clinique.

La chimiothérapie néoadjuvante, est devenue une attitude standard visant à obtenir une réduction tumorale suffisamment importante pour permettre une chirurgie mammaire conservatrice non envisageable initialement. De surcroît, cette approche permet d'évaluer in vivo la réponse tumorale histologique lors du geste chirurgical qui suit la chimiothérapie néoadjuvante. Cette situation offre ainsi l'opportunité d'identifier, par des recherches translationnelles, des facteurs cliniques, radiologiques, biologiques ou moléculaires prédictifs de la qualité de la réponse histologique finale. La distinction précoce des patientes répondeuses et non-répondeuses vise à éviter le recours à des chimiothérapies inefficaces pour certaines patientes, bien que pourvoyeuses de nombreux effets secondaires.

Au cours de la dernière décennie, plusieurs études ont évalué le rôle potentiel de la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG, dans l'évaluation précoce de l'efficacité de la chimiothérapie néoadjuvante. La corrélation entre les modifications précoces de la fixation tumorale du  $^{18}\text{F}$ -FDG (après une, deux ou trois cures de chimiothérapie) et la réponse histologique finale sur pièce opératoire a notamment été étudiée. Toutes les études ont montré que la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG est une technique d'imagerie performante pour évaluer très précocement la chimiosensibilité tumorale et ainsi prédire la réponse histologique finale.

Cependant, le cancer du sein est composé de multiples entités. L'évolution récente des techniques de biologie moléculaire permet désormais une approche globale du génome ou du transcriptome tumoral. Une taxonomie s'est établie en fonction des caractéristiques génétiques et biologiques tumorales. Elle mène à l'individualisation du pronostic et de la prédiction de la réponse au traitement.

Cependant, les analyses de biologie moléculaire sont actuellement peu utilisées en routine clinique du fait de leur coût et des difficultés techniques pour réaliser ces analyses. Plusieurs études récentes ont montré que l'immunohistochimie (IHC) permet d'établir une classification alternative aux sous-types moléculaires de la classification intrinsèque. Comme son homologue moléculaire, la classification IHC permet de progresser vers l'individualisation du pronostic et de la prédiction de la réponse au traitement des différents types de cancer du sein.

Les quatre articles publiés dans le cadre de cette thèse ont pour sujet l'étude du comportement métabolique du cancer du sein durant la chimiothérapie néoadjuvante. L'objectif est de mieux comprendre les liens unissant le métabolisme glucidique et les caractéristiques immuno-histochimiques de la tumeur primitive mammaire. Ils évaluent également la corrélation entre la réponse métabolique de la tumeur primitive, observée par la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG dès la fin de la première cure de chimiothérapie néoadjuvante, la réponse histologique obtenue lors de la chirurgie finale, et la survie de patientes.

# CHAPITRE I : LE CANCER DU SEIN

## 1. Epidémiologie

Le cancer du sein est un problème majeur de santé publique. En France, il s'agit la première cause de décès par cancer chez la femme. Actuellement, ce cancer touche une femme sur dix et une femme sur vingt-cinq en meurt. Selon les estimations de l'Institut National du cancer (INCA), environ 49.000 nouveaux cas ont été diagnostiqués en 2012 en France métropolitaine [1].

L'incidence annuelle du cancer du sein a augmenté de façon importante entre 1980 et 2005 : le taux d'incidence standardisé à la population mondiale a presque doublé, passant de 56,3 pour 100 000 en 1980 à 97,8 pour 100 000 femmes en 2005 avant d'amorcer une baisse pour tendre vers 88,0 cas pour 100 000 femmes en 2012 (figure 1) [1].

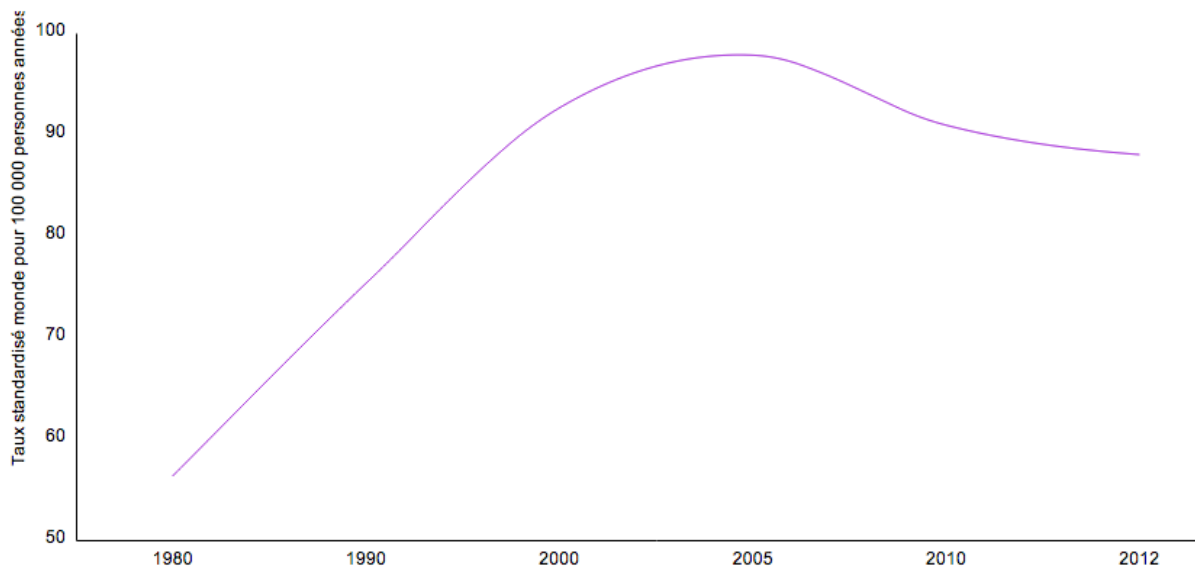


Figure 1: Incidence annuelle mondiale du cancer du sein [1]

Un facteur de cette baisse d'incidence depuis 2005 pourrait être la diminution de la prescription de traitements hormonaux de la ménopause ou de leur durée. L'arrêt de la montée en puissance du dépistage, la stabilisation de plusieurs facteurs de risque au cours des dernières années (âge tardif de la première grossesse, moins d'allaitement...) peuvent également être évoqués [1].

L'âge moyen du diagnostic est de 55 ans et 60 % des patientes ont un âge compris entre 45 et 75 ans. Le cancer du sein est rare avant 40 ans (10 % des patientes). La survie

globale, tous stades confondus (avec des écarts importants selon les stades) est d'environ 75 % à 5 ans [1, 2]. La mortalité est évaluée à 11.900 décès par cancer du sein en 2012, en France métropolitaine. Le taux de mortalité (standardisé monde) par cancer du sein a atteint un pic en 1990 avec 20,2 décès annuels pour 100 000 femmes, puis a baissé de manière régulière, pour atteindre 15,7 pour 100 000 femmes en 2012, soit une baisse de 22,2% (figure 2) [1].

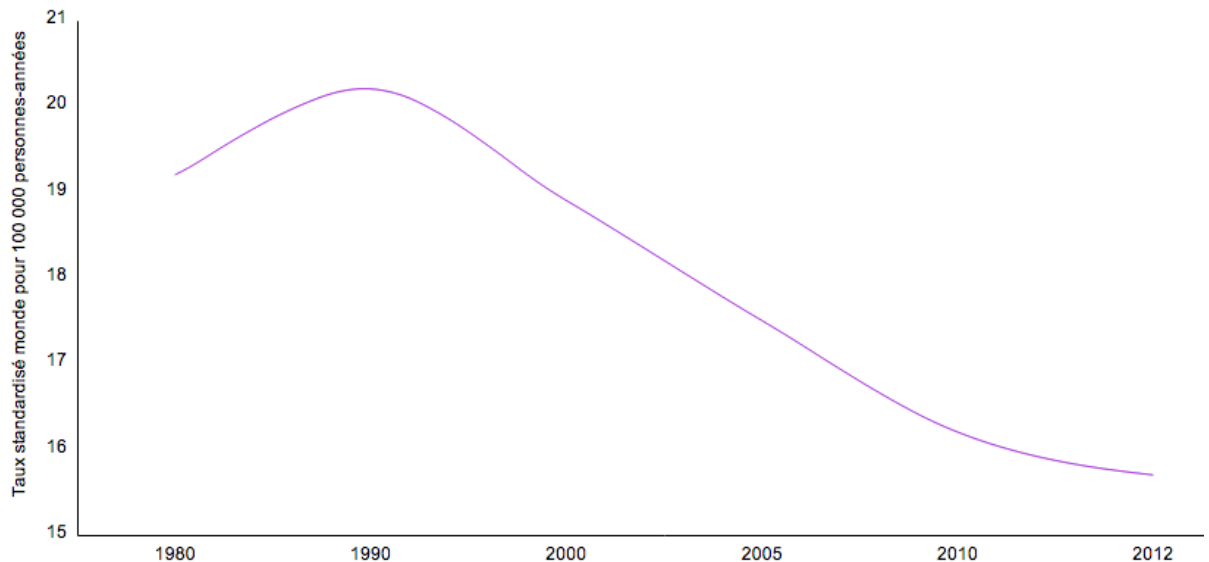


Figure 2 : Taux de mortalité (standardisé monde) par cancer du sein [1]

Pour expliquer cette baisse de mortalité, il est difficile de faire la part entre un diagnostic plus précoce apporté par le dépistage et l'amélioration des techniques de traitements adjuvants et de leurs indications.

## **2. Classification des cancers du sein**

Le cancer du sein est multiple : diverses taxinomies du cancer du sein ont été développées basées sur l'histologie, l'immunohistochimie ou encore la biologie moléculaire.

### **2.1. Classification anatomopathologique classique**

Le type histologique du cancer du sein est un élément important pour la conduite thérapeutique et l'évaluation du pronostic. Les tumeurs malignes du sein les plus fréquentes sont des adénocarcinomes développés à partir des canaux galactophores (adénocarcinomes canaux) et des lobules (adénocarcinomes lobulaires) (figure 3). Ils représentent 98 % des tumeurs malignes du sein.

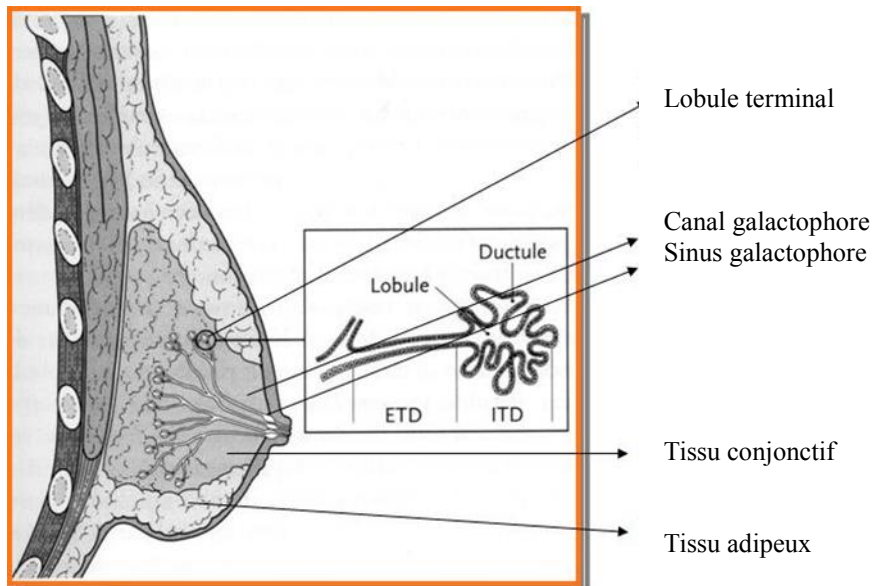


Figure 3 : représentation schématique de l'anatomie de la glande mammaire (source: site internet du Centre de Référence des Pathologies Gynécologiques rares : <http://hopital-necker.aphp.fr>)

### 2.1.1. Carcinome in situ

Les phases initiales des cancers du sein se développent à partir des cellules épithéliales des canaux ou des lobules. Tant que les cellules cancéreuses restent confinées au niveau des canaux ou des lobules, sans franchissement de la membrane basale, les cancers sont dits « in situ ». Il n'y a pas de risque théorique d'envahissement ganglionnaire ou métastatique.

#### 2.1.1.1. *Carcinome canalaire in situ*

Le carcinome canalaire in situ (CCIS) se définit comme une prolifération de cellules épithéliales, cytologiquement malignes, confinées à l'intérieur de l'arbre galactophorique. Il se distingue du carcinome infiltrant par l'absence d'effraction de la membrane basale et d'envahissement du tissu conjonctif. La classification OMS du CCIS est fondée sur l'architecture des lésions. On distingue 4 types architecturaux: massif, en comédons, papillaire, cribriforme [3]. Cette classification est cependant assez peu utile en clinique du fait de l'absence de signification biologique et pronostique de ces différents types architecturaux.

#### 2.1.1.2. *Carcinome lobulaire in situ*

Le carcinome lobulaire in situ est un carcinome intéressant les canaux intra-lobulaires qui sont comblés et distendus par une prolifération de cellules peu jointives, sans envahissement du tissu conjonctif voisin. Les cellules sont en général régulières et de taille petite ou modérée, avec un cytoplasme faiblement coloré et un noyau rond ne présentant que peu ou pas de mitoses. Les localisations multiples ou bilatérales sont fréquentes.

#### 2.1.2. Carcinomes infiltrants

A partir du moment où les cellules cancéreuses ont traversé la membrane basale des canaux ou des lobules et sont présentes dans les tissus avoisinants, le cancer est infiltrant. La classification de l'organisation mondiale de la santé (OMS) des cancers du sein, en 2003, est complexe : elle indique 20 types histologiques principaux et 18 sous-types mineurs [3].

##### 2.1.2.1. *Carcinome canalaire infiltrant*

C'est la forme la plus fréquente des tumeurs malignes du sein. Ce groupe comprend les carcinomes infiltrants qui ne peuvent être classés dans une des variétés dites particulières. Les cellules tumorales se disposent généralement en îlots, en travées ou en formations glandiformes.

##### 2.1.2.2. *Carcinome lobulaire infiltrant*

Le carcinome lobulaire infiltrant se compose de petites cellules régulières identiques à celles observées dans la forme lobulaire in situ. Classiquement les cellules sont dissociées les unes des autres, ou agencées en fines travées avec un aspect en file indienne ou en cible autour des galactophores non atteints. L'identification de reliquats de carcinome lobulaire in situ aide au diagnostic.

##### 2.1.2.3. *Autres types histologiques*

Il existe de nombreux autres types et sous-types histologiques infiltrants plus rares : les carcinomes mucineux, carcinomes médullaires, carcinomes papillaires, carcinomes tubuleux, carcinomes adénoïdes kystiques, carcinomes apocrines, carcinomes métaplasiques, les carcinomes canaux infiltrants avec composante intra-canaulaire dominante (composante in situ au moins 4 fois plus importante que la composante invasive)...

La limite de cette classification complexe est qu'elle repose exclusivement sur des critères morphologiques, sans compréhension du comportement biologique tumoral et donc avec une utilité clinique et un impact pronostic limités.

## 2.2. Classification selon le grade histo-pathologique

Il existe plusieurs modalités d'établissement des grades histo-pathologiques. La plus couramment utilisée en France est celle de Scarff-Bloom-Richardson (grade SBR) modifiée par Elston et Ellis (tableau 1) [4]. Cette classification s'applique à toutes les formes de cancer invasif. L'avantage de cette classification est qu'elle apporte une information pronostique indépendante de la taille tumorale et de l'envahissement ganglionnaire. Les survies globales et sans récurrences sont plus courtes pour les tumeurs de grade III que pour celles de grade I et II [5]. C'est aussi un facteur prédictif de la réponse à la chimiothérapie ; les tumeurs grade III répondent mieux que celles classées grade I ou II [6].

	Score
<i>Formation de tubes</i>	
la tumeur ne comprend que des tubes (> 75%)	1
la tumeur est partiellement tubulaire (10-75%)	2
la tumeur ne comprend aucun tube (< 10%)	3
<i>Atypies cytonucléaires :</i>	
noyaux réguliers monomorphes	1
atypies modérées	2
noyaux pléiomorphes avec atypies marquées	3
<i>Index mitotique</i>	
Variable selon le diamètre du champ	1 à 3

Tableau 1 : grade SBR modifié par Elston et Ellis [4].

L'addition de ces trois scores permet de déterminer le grade SBR : Grade I (score = 3, 4 ou 5), Grade II (score = 6 ou 7), Grade III (score = 8 ou 9). Le rôle du grade histo-pathologique est maintenant largement admis pour les tumeurs carcinomateuses infiltrantes. Il est actuellement recommandé de ne pas limiter l'évaluation du grade aux carcinomes canaux infiltrants mais de l'effectuer pour tous les sous types histologiques.



## 2.3. Classification génomique

L'évolution des techniques de biologie moléculaire, principalement les puces à ADN, permet une approche globale du génome ou du transcriptome à différents temps. Cet outil extrêmement puissant permet d'augmenter les connaissances en biologie moléculaire du cancer du sein. Grâce au développement récent de ces puces, une taxonomie du cancer du sein s'est établie en fonction des caractéristiques génétiques et biologiques tumorales, ayant permis de progresser vers l'individualisation du pronostic et de la prédiction de la réponse au traitement. Au début des années 2000, les études fondatrices de Sorlie et Perou ont analysé les profils d'expression génétique de 115 cancers du sein et classé les tumeurs mammaires en 5 groupes principaux: luminal A et B, basal-like, HER2/neu (surexpression du HER2) et normal-like [7-9].

Une étude plus récente, publiée en 2012 dans la revue « Nature » indique qu'une grande partie des cancers du sein sont secondaires à des mutations localisées sur 30 à 50 gènes [10]. Les cellules tumorales de 825 patientes, ont été étudiées avec un grand nombre de méthodes moléculaires à haut débit. Entre autres données, celles de l'expression des ARNm, les informations sur la méthylation de l'ADN et les mutations ponctuelles de l'ADN ont été recueillies. Par ailleurs, les micro-ARN et le séquençage complet de l'exome ainsi que l'expression de certaines protéines ont été mesurés chez 507 patientes. Les résultats indiquent une maladie très hétérogène, seuls trois gènes (TP53, PIK3CA et GATA3) sont mutés dans dix pour cent ou plus de l'ensemble des tumeurs.

Au total, les 5 profils moléculaires du cancer du sein initialement définis par Sorlie et Perou et confirmée par l'étude publiée en 2012 par le « Cancer Genome Atlas Network », dressant un atlas des mutations du génome des cellules tumorales mammaires, sont les suivants [7-10] (tableau 2): profils Luminal A, Luminal B, HER2 enriched, basal et normal-like.

### 2.3.1. Le profil luminal

Le profil luminal se rapporte au nom donné à un des 2 types cellulaires matures du tissu mammaire normal, bordant le lobule ou le canal. Ces tumeurs sont appelées lumineales car leurs gènes codent les protéines des cellules épithéliales de la lumière des canaux ou des lobules du sein. Ce sont les tumeurs les plus fréquentes, elles expriment des marqueurs associés aux récepteurs hormonaux (récepteurs des œstrogènes et de la progestérone),

certaines cyto-kératines (CK8, CK18) ainsi que des facteurs de transcription spécifiques de différenciation luminale comme GATA3 et FOXA1. Elles sont classées en 2 sous-groupes :

- les tumeurs lumineales A représentent 44% des tumeurs de l'étude et correspondent donc au génotype le plus fréquent. Elles expriment fortement les récepteurs hormonaux et ont des caractéristiques peu prolifératives.

- Les tumeurs lumineales B représentent 24% des tumeurs de l'étude, elles expriment également fortement les récepteurs hormonaux mais avec des caractéristiques plus prolifératives que les tumeurs lumineales A.

Bien que peu chimio-sensibles, les cancers lumineux ont une survie à long terme favorable par rapport aux tumeurs basales et HER2 [11, 12].

### 2.3.2. Le profil HER2 enriched

Les tumeurs HER2 enriched représentent 11% des tumeurs de l'étude. Elles se caractérisent par une forte expression du gène appelé HER2/neu qui est un proto-oncogène identifié au niveau du chromosome 17q21. Le terme HER2/neu signifie Human Epidermal Growth Factor Receptor-2 (récepteur pour les facteurs de croissance épidermiques humains) et il est spécifié neu en raison de la conséquence qu'amène sa mutation. Des traitements spécifiques de ce sous-type existent : des anticorps qui inactivent les récepteurs HER2 en se liant à la région extracellulaire de la protéine HER2 (trastuzumab et pertuzumab) ou des inhibiteurs des domaines intracellulaires de la tyrosine kinase des récepteurs EGFR (ErbB1) et HER2 (ErbB2) (lapatinib) [13].

### 2.3.3. Le profil basal

Il représente 19% des tumeurs de l'étude. Ces tumeurs expriment une partie des marqueurs « basaux » : CK 5 et 17, l'épithélium growth factor-receptor (EGFR), CK14... Ils sont de haut grade et, dans plus de 80% des cas, P53 est mutée. Leur pronostic est péjoratif du fait de leur caractère fortement prolifératif, à haut risque métastatique et de l'absence de thérapie ciblée efficace en routine clinique [9]. La plupart de ces tumeurs n'expriment ni le proto-oncogène HER2/neu, ni les récepteurs aux œstrogènes, ni les récepteurs progestatifs : c'est pourquoi le génotype basal est souvent assimilé au phénotype triple négatif.

### 2.3.4. Le profil « normal-like »

Il représente 2% des tumeurs. Ce sous-type est difficile à caractériser. A noter qu'une étude de Hu et al., menée sur 105 tumeurs, indique que le groupe « normal-like » est peu

pertinent sur le plan pronostic et émet l'hypothèse que ce groupe puisse correspondre à des tumeurs contaminées par un tissu mammaire sain, ce qui en ferait donc un groupe « artéfactuel » [14]. Dans l'étude publiée en 2012 par le « Cancer Genome Atlas Network », seulement 8 tumeurs mammaires sur 510 appartenaient au sous-type normal-like, ce qui était insuffisant pour conclure sur le profil mutationnel de ces tumeurs.

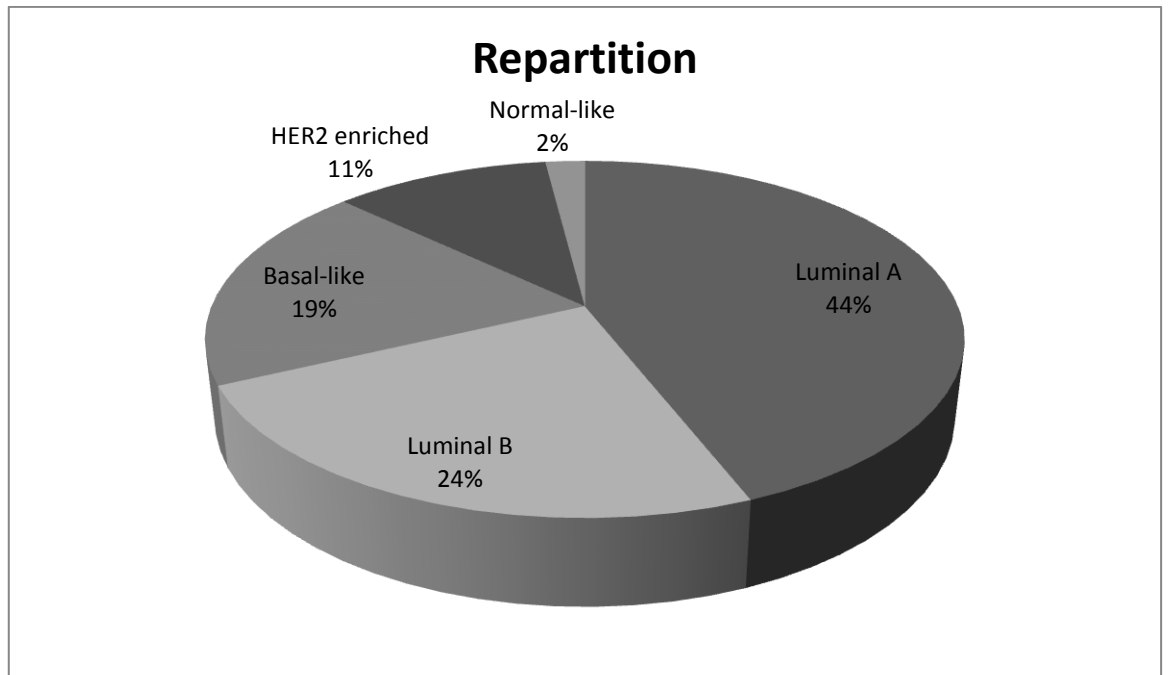


Figure 4 : fréquence des 5 principaux types de la classification génomique du cancer du sein [10].

Subtype	Luminal A	Luminal B	Basal-like	HER2E
ER <sup>+</sup> /HER2 <sup>-</sup> (%)	87	82	10	20
HER2 <sup>+</sup> (%)	7	15	2	68
TNBCs (%)	2	1	80	9
TP53 pathway	<i>TP53</i> mut (12%); gain of <i>MDM2</i> (14%)	<i>TP53</i> mut (32%); gain of <i>MDM2</i> (31%)	<i>TP53</i> mut (84%); gain of <i>MDM2</i> (14%)	<i>TP53</i> mut (75%); gain of <i>MDM2</i> (30%)
PIK3CA/PTEN pathway	<i>PIK3CA</i> mut (49%); <i>PTEN</i> mut/loss (13%); <i>INPP4B</i> loss (9%)	<i>PIK3CA</i> mut (32%) <i>PTEN</i> mut/loss (24%) <i>INPP4B</i> loss (16%)	<i>PIK3CA</i> mut (7%); <i>PTEN</i> mut/loss (35%); <i>INPP4B</i> loss (30%)	<i>PIK3CA</i> mut (42%); <i>PTEN</i> mut/loss (19%); <i>INPP4B</i> loss (30%)
RB1 pathway	Cyclin D1 amp (29%); <i>CDK4</i> gain (14%); low expression of <i>CDKN2C</i> ; high expression of <i>RB1</i>	Cyclin D1 amp (58%); <i>CDK4</i> gain (25%)	<i>RB1</i> mut/loss (20%); cyclin E1 amp (9%); high expression of <i>CDKN2A</i> ; low expression of <i>RB1</i>	Cyclin D1 amp (38%); <i>CDK4</i> gain (24%)
mRNA expression	High ER cluster; low proliferation	Lower ER cluster; high proliferation	Basal signature; high proliferation	HER2 amplicon signature; high proliferation
Copy number	Most diploid; many with quiet genomes; 1q, 8q, 8p11 gain; 8p, 16q loss; 11q13.3 amp (24%)	Most aneuploid; many with focal amp; 1q, 8q, 8p11 gain; 8p, 16q loss; 11q13.3 amp (51%); 8p11.23 amp (28%)	Most aneuploid; high genomic instability; 1q, 10p gain; 8p, 5q loss; <i>MYC</i> focal gain (40%)	Most aneuploid; high genomic instability; 1q, 8q gain; 8p loss; 17q12 focal <i>ERBB2</i> amp (71%)
DNA mutations	<i>PIK3CA</i> (49%); <i>TP53</i> (12%); <i>GATA3</i> (14%); <i>MAP3K1</i> (14%)	<i>TP53</i> (32%); <i>PIK3CA</i> (32%); <i>MAP3K1</i> (5%)	<i>TP53</i> (84%); <i>PIK3CA</i> (7%)	<i>TP53</i> (75%); <i>PIK3CA</i> (42%); <i>PIK3R1</i> (8%)
DNA methylation	–	Hypermethylated phenotype for subset	Hypomethylated	–
Protein expression	High oestrogen signalling; high MYB; RPPA reactive subtypes	Less oestrogen signalling; high FOXM1 and MYC; RPPA reactive subtypes	High expression of DNA repair proteins, <i>PTEN</i> and <i>INPP4B</i> loss signature (pAKT)	High protein and phospho-protein expression of EGFR and HER2

Tableau 2 : résumé des caractéristiques génomiques extrait de l'article «Comprehensive molecular portraits of human breast tumours» publié dans la revue Nature en 2012 [10]. L'analyse du profil des mutations somatiques du génotype normal-like n'a pas été réalisée du fait d'un effectif trop faible de tumeurs (8 patientes avec une tumeur normal-like)

## 2.4. Classification immunohistochimique

Du fait de leur coût et des difficultés techniques pour réaliser ces analyses, les analyses par puces ADN sont actuellement peu utilisées en routine clinique. Plusieurs études récentes ont montré que la difficulté de l'accès à ces puces peut être contournée par l'immunohistochimie. Celle-ci permet en effet d'établir une classification substitutive des sous-types moléculaires de la classification intrinsèque [15-17]. Comme son homologue moléculaire, la classification IHC permet de progresser vers l'individualisation du pronostic et de la prédiction de la réponse au traitement des différents types de cancer du sein [16-19].

Une classification des grands profils de phénotypes tumoraux mammaires a ainsi progressivement émergé en se basant sur l'expression des récepteurs aux œstrogènes (RE),

progestatifs (RP), le récepteur de facteur de croissance Her2, Ki-67 et éventuellement d'autres biomarqueurs tels les cyto-kératines de haut et de bas poids moléculaires (CK8 /18, CK5/6 etc..) [17].

Lors des conférences internationales de Saint Gallen de 2011 puis 2013, les experts ont recommandé une classification du cancer du sein en 5 sous-types clinico-pathologiques, en fonction des résultats de l'immunohistochimie [20, 21]:

- Luminal A – like : RE et RP positifs, absence de surexpression de Her2 et une expression de Ki-67 inférieure à 14%.
- Luminal B – like / HER2 négatif: RE positif, absence de surexpression de Her2 et au moins l'une des 2 conditions suivantes: RP négatif ou faible (<20%) et/ou une expression de Ki-67 supérieure à 14% [22].
- luminal B – like / HER2 positif: RE positif, surexpression de HER2.
- HER2 positif (non-luminal): RE et RP négatifs, surexpression de HER2.
- Triple négatif: RE et RP négatifs, absence de surexpression de HER2.

Le groupe triple négatif est celui de plus mauvais pronostic. Il constitue 10 à 20% des cancers du sein et touche plus fréquemment les femmes jeunes [23, 24]. Les rechutes sont souvent précoces puisque 95% des rechutes métastatiques surviennent avant 6 ans [23] (figure 5). Il n'existe actuellement pas de traitement spécifique de ce sous-type et moins de 30% des patientes avec une tumeur métastatique de phénotype triple négatif survivent à 5 ans [25].

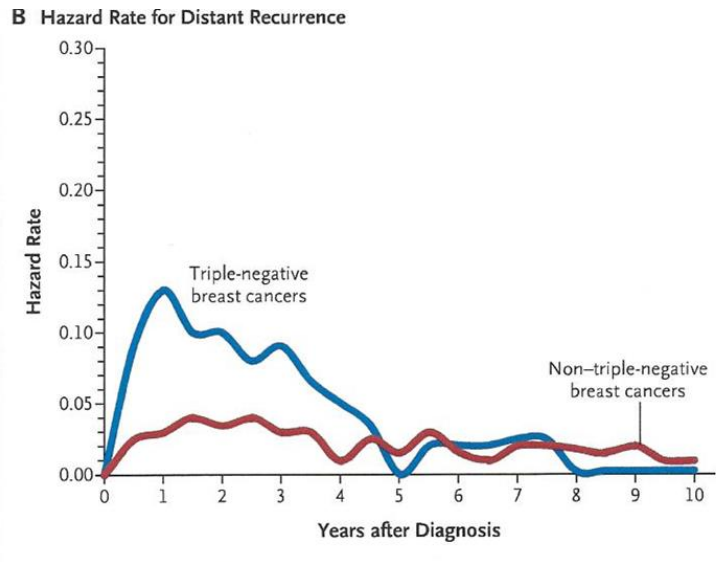


Figure 5 : Taux de récurrence métastatique des patientes présentant un cancer du sein triple négatif, d'après Foulkes et al. [23]

Le sous-type basal, défini par la génomique, est souvent assimilé aux cancers du sein « triple négatifs ». La réalité est plus complexe car différents types histologiques (carcinome canalaire infiltrant, carcinome médullaire, carcinome métaplasique...) et différentes entités moléculaires sur le plan transcriptomique, avec des pronostics et des comportements biologiques très différents, peuvent entrer dans ce groupe. En effet, si 75% des tumeurs de phénotype triple négatif sont des tumeurs de profil génomique basal, 25% sont de profils très différents (Claudin low, basal, interferon rich, moléculaire apocrine...). C'est donc un groupe de tumeurs très hétérogènes [26, 27].

Une possibilité est d'utiliser l'expression des gènes de kératines de haut poids moléculaire (CK5/6, CK14), les marqueurs de prolifération, et l'expression d'EGFR pour distinguer le phénotype basal-like («five markers method»: RE-, RP-, Her2-, CK 5/6+ et/ou EGFR+) des autres tumeurs triple négatives [28, 29]. Par ailleurs, une étude récente de Keam et al. suggère que l'expression de Ki-67 peut discriminer 2 groupes de tumeurs triple négatives avec des profils tumoraux différents [30]. Enfin, certaines études ont suggéré la présence d'un autre sous-groupe de tumeurs : les carcinomes moléculaires apocrines dont la biologie dépend de l'absence d'expression de récepteurs aux œstrogènes mais de l'expression des récepteurs androgéniques (RA) [31-33].

Une récente étude de Lehmann et al. a identifié six profils transcriptomiques et d'altérations génomiques distincts parmi les tumeurs triple négatives [31].

A ce jour, les mutations de deux gènes principaux ont été identifiées comme facteurs génétiques de prédisposition au cancer du sein: il s'agit des mutations de BRCA1 et

BRCA2. Ces deux gènes sont impliqués dans la réparation des anomalies de codage de l'ADN et donc maintiennent l'intégrité génomique. Selon une étude de Atchley et al, 57% des tumeurs chez les femmes mutées BRCA1 seraient de type triple négatif contre 23% chez les femmes mutées BRCA2 et seulement 14% chez les non-mutées BRCA [34].

En conclusion, les classifications génomiques et immunohistochimiques ne sont pas complètement superposables, comme mentionné ci-dessus avec l'exemple des tumeurs triple négatives. Néanmoins, lors des conférences de consensus de Saint Gallen en 2011 et 2013, les experts ont validé l'utilisation de la classification IHC en routine clinique pour identifier les différents sous-types du cancer du sein et pour guider les choix thérapeutiques [20, 21].

### **3. Traitement par chimiothérapie néoadjuvante**

#### **3.1. Historique**

La chimiothérapie néoadjuvante (CNA) correspond à l'utilisation d'un traitement cytotoxique systémique avant le traitement chirurgical. La terminologie de traitement néoadjuvant a été utilisée au début des années 80, pour les chimiothérapies des ostéosarcomes [35, 36].

Dans le cancer du sein, la CNA a initialement été utilisée dans les formes localement avancées non résécables (T4 et/ou N3) et dans les formes inflammatoires (T4d). Le but était d'améliorer le contrôle locorégional et la survie en comparaison à un traitement local exclusif, généralement insuffisant [37-43]. Devant les résultats encourageants, cette modalité thérapeutique a été proposée à partir de la fin des années 80 pour les formes opérables d'emblée mais avec comme principal objectif une chirurgie partielle en cas de réduction tumorale importante, évitant ainsi une mastectomie. Elle s'adresse ainsi aux tumeurs non métastatiques, généralement de taille supérieure à 3 cm ou inférieure mais en position centrale, ou à des tumeurs avec un envahissement ganglionnaire initial [42].

#### **3.2. Intérêt théorique de la chimiothérapie néoadjuvante**

Par rapport à la chimiothérapie adjuvante, la chimiothérapie néoadjuvante présente théoriquement 3 avantages que nous allons détailler.

### 3.2.1. Améliorer la survie par 3 mécanismes

- *administrer précocement la chimiothérapie* : l'objectif est de traiter précocement les micro-métastases avant l'émergence de clones chimio-résistants. Cela repose sur l'hypothèse de Goldie et Coldman selon laquelle plus une population croît, plus émergent des clones chimio-résistants, résultant de mutations somatiques spontanées [44].
- *limiter la stimulation tumorale par la sécrétion de facteurs de croissance lors de l'intervention chirurgicale* [45-47].
- *adapter la chimiothérapie à la réponse tumorale* : l'utilisation de la chimiothérapie avant la chirurgie permet de juger *in vivo* de son effet par l'étude de la réponse tumorale et ganglionnaire. L'analyse histologique de la tumeur résiduelle sur la pièce opératoire, obtenue lors de la chirurgie mammaire qui suit la chimiothérapie néoadjuvante, permet cette évaluation *in vivo* de la réponse tumorale. Cela permettrait une identification des patientes mauvaises répondeuses pour lesquelles il serait possible de s'orienter vers un autre protocole de chimiothérapie sans résistance croisée. Cette adaptation thérapeutique précoce n'a cependant pas encore fait ses preuves en termes d'amélioration de la survie.

### 3.2.2. Augmenter le taux de conservation mammaire

La chimiothérapie néoadjuvante ayant démontré de très bons résultats en terme de réponse tumorale dans le cadre de cancers non résécables [43, 48], ses indications se sont étendues aux cancers résécables d'emblée mais avec l'objectif d'augmenter le taux de conservation mammaire.

### 3.2.3. Intérêt pour la recherche translationnelle

Comme mentionné par l'Agence Nationale de la Recherche, « Le concept de recherche translationnelle s'est imposé comme l'expression d'un besoin essentiel pour que les promesses de la recherche fondamentale se traduisent rapidement par une amélioration de la santé des individus et des populations ainsi qu'une meilleure prise en charge des patients. De ce fait, la recherche translationnelle en santé assure un continuum et constitue ainsi une passerelle directe et bidirectionnelle entre recherche exploratoire et recherche clinique en stimulant cette dernière par des innovations thérapeutiques, méthodologiques



ou des outils d'investigation émanant de la recherche fondamentale, et réciproquement par la dissémination vers la recherche fondamentale d'observations nouvelles sur la nature et la progression des maladies. »

Ainsi, il apparaît que la Recherche Translationnelle est le chaînon manquant entre la Recherche Fondamentale et la Recherche Clinique. En cancérologie, un des objectifs prioritaires est d'identifier et de valider des marqueurs biologiques (biomarqueurs) pour le diagnostic et la prédiction de l'efficacité de diverses thérapies anti-tumorales. La chimiothérapie néoadjuvante permet d'observer *in vivo* la chimiosensibilité tumorale, offrant ainsi un terrain idéal pour l'étude en situation clinique de biomarqueurs prédictifs (biologiques, moléculaires...) préalablement identifiés par des recherches précliniques.

### 3.3. Importance de la réponse histologique complète

De nombreuses études ont montré un bénéfice de survie pour les patientes présentant une stérilisation complète du site tumoral et ganglionnaire axillaire à l'issue du traitement néoadjuvant (pCR pour *pathological complete response*) (tableau 3) [49-56]. Il est également constaté un rôle pronostic péjoratif de l'envahissement ganglionnaire résiduel après chimiothérapie dans plusieurs de ces études [50, 54, 57]. La réponse histologique complète est un facteur pronostic plus puissant que la réponse clinique dans les cancers du sein localement avancés [54], mais aussi dans les formes moins avancées, opérables d'emblée [50, 57]. Pour cette raison, la pCR est souvent utilisée comme marqueur substitutif de la survie dans les études cliniques évaluant l'efficacité de diverses thérapies cytotoxiques en situation néoadjuvante.

<b>Etude</b>	<b>Suivi médian</b>	<b>Critère d'évolution</b>	<b>P</b>
<b>Bonadonna</b> [57]	8 ans	Survie sans rechute	0,034
<b>Fisher</b> [50]	5 ans	Survie sans rechute	0,0001
<b>Kuerer</b> [54]	5 ans	Survie globale	< 0,01
<b>Bear</b> [51]	5 ans	Survie sans rechute	< 0,0001
<b>Cléator</b> [56]	10 ans	Survie sans rechute	0,01
<b>Abrial</b> [53]	7,6 ans	Survie globale	< 0,003

Tableau 3 : principales études montrant un bénéfice de survie pour les patientes présentant une réponse histologique complète (pCR).

Néanmoins, l'existence de plusieurs classifications histologiques évaluant la réponse tumorale rend l'analyse de la littérature sur ce sujet relativement difficile car hétérogène. La classification de Chevallier [58] (tableau 4) évalue la réponse macroscopique et microscopique de la tumeur et des ganglions axillaires homolatéraux. Elle a été la référence en France mais présente des limites : les patientes avec une réponse de grade 3 représentent un ensemble de réponses très hétérogènes, puisque comprenant de très bonnes réponses tumorales (reliquat minime et altéré) et des réponses partielles avec une régression tumorale de moins de 50 %.

<b>Classification de CHEVALLIER (1993) [58]</b>
<b>Grade 1:</b> absence de toute cellule tumorale histologiquement, et absence de métastase axillaire
<b>Grade 2:</b> présence de carcinome in situ dans le sein, sans cellule tumorale invasive et absence de métastase axillaire
<b>Grade 3:</b> carcinome invasif avec altération stromale
<b>Grade 4:</b> absence d'altération des cellules tumorales

Tableau 4 : Classification de Chevallier pour l'évaluation histologique de la réponse à la chimiothérapie néo-adjuvante dans les cancers du sein.

La classification de Sataloff, qui définit les réponses tumorale et ganglionnaire de façon indépendante, est également très utilisée. En effet les études récentes de Von Minckwitz et al. et de Cortazar et al. montrent que, pour avoir une meilleure valeur pronostique, la pCR doit être définie comme l'absence de cellules résiduelles invasives dans le site tumoral mais également dans les adénopathies, une composante in-situ résiduelle pouvant être éventuellement tolérée [59-61]. Cette définition correspond aux définitions histologiques « ypT0 ypN0 » et « ypT0/is ypN0 », ou encore à une classification Chevallier 1 et 2.

Par ailleurs, un point également très important abordé dans l'étude de Von Minckwitz et al., menée sur 6377 patientes traitées par chimiothérapie néo-adjuvante est que la valeur pronostique de la pCR est étroitement liée aux sous-types de cancer du sein de la patiente [59]. Cette étude ne montrait une valeur pronostique de la pCR que pour les patientes présentant une tumeur de type luminal B/HER2 négative, HER2-positif non-luminale et triple négative. Aucune valeur pronostique de la pCR n'était mise en évidence pour les

tumeurs lumineales B/HER2 positives et lumineales A (figure 6) [59]. Une méta-analyse récente, publiée dans « The Lancet » met également en évidence la plus forte valeur pronostique de la pCR pour les sous types tumoraux les plus agressifs, à savoir les tumeurs triple négatives et HER2 positive/ non-lumineales [61].

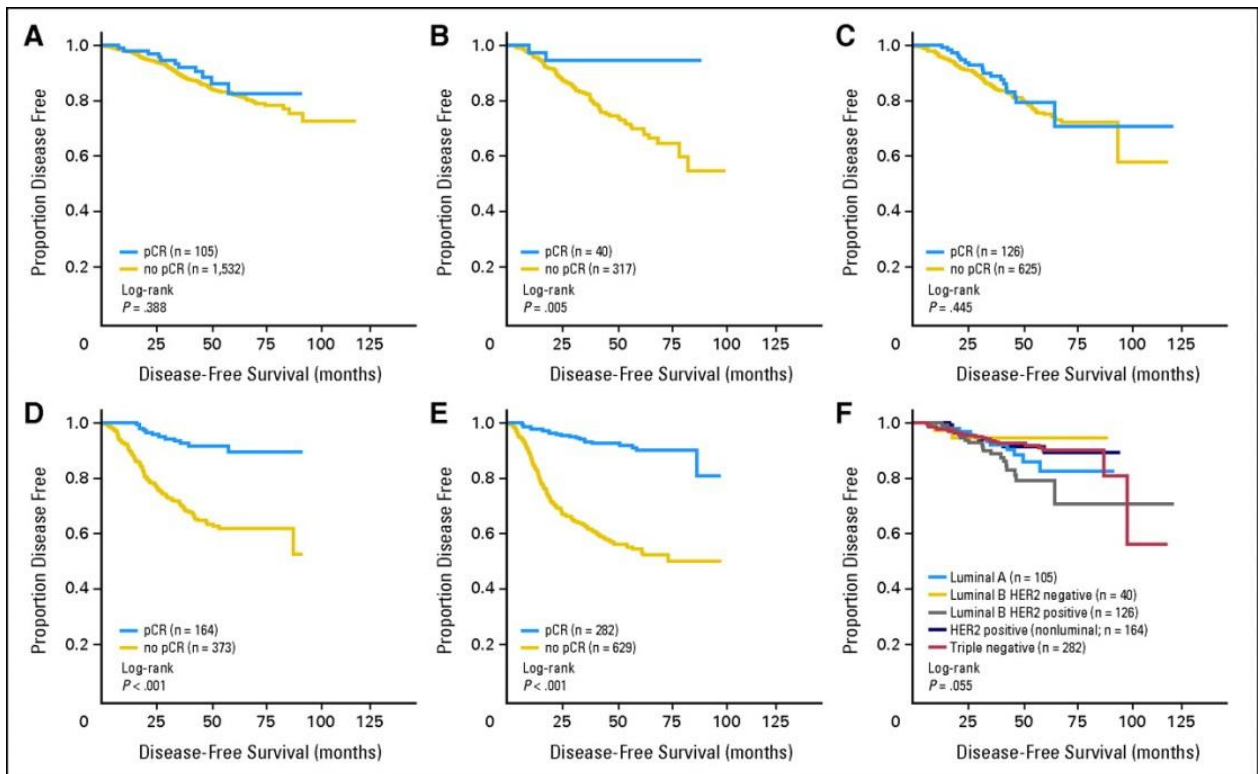


Figure 6 : Valeur pronostique de la réponse histologique complète (pCR) sur la survie sans récïdive en fonction du phénotype tumoral. (A) Patientes avec une tumeur lumineale A (B) tumeur lumineale B / HER2 négative, (C) tumeur lumineale B/HER2-positive, (D) tumeur HER2-positive non-lumineale (E) tumeurs triple-négatives (F) comparaison de la survie sans récïdive selon le phénotype tumoral. Schéma extrait de l'étude de Von Minckwitz et al. publiée dans le JCO en 2012 [59].

En conclusion, la réponse histologique complète semble être un facteur pronostique majeur pour les patientes bénéficiant d'une chimiothérapie néo-adjuvante, à condition d'utiliser une définition de la pCR incluant l'évaluation ganglionnaire et de tenir compte du phénotype tumoral de la tumeur. Pour cette raison, elle est très utilisée comme marqueur substitutif précoce de la survie dans les études cliniques évaluant l'efficacité d'une chimiothérapie néo-adjuvante.

### 3.4. Résultats observés dans la littérature

Plusieurs essais non randomisés utilisant des chimiothérapies à base d'antracyclines ont montré des taux de réponse clinique objective de 60 à 90%, dont 15 à 30% de réponse

clinique complète (RCC), autorisant une conservation mammaire dans 60 à 80 % des cas. Le taux de réponse complète histologique est de l'ordre de 10 à 15% [38, 57, 62].

Neuf essais randomisés, ayant comparé une chimiothérapie néo-adjuvante suivie d'un traitement locorégional (chirurgie et/ou radiothérapie) à un traitement locorégional suivi d'une chimiothérapie adjuvante, sont recensés dans une méta-analyse publiée en 2005 par Mauri et al. [63]. Cette dernière regroupe les données de 3946 patientes. Les objectifs principaux sont la comparaison des taux de survie globale, de survie sans récurrence locorégionale ou à distance. Les objectifs secondaires sont les taux de réponse clinique complète, de réponse histologique complète et de chirurgie conservatrice. Aucun bénéfice significatif en terme de survie globale n'est mis en évidence: le bénéfice initialement observé après un suivi de 5 ans dans les essais de Scholl et al. [64] et Mauriac et al. [65] disparaît après réactualisation des résultats et un suivi plus long de 10 ans [66]. Cinq essais randomisés sur les neuf de cette méta-analyse ont confirmé une augmentation significative de la conservation mammaire dans le bras neoadjuvant avec un taux variant de 22 à 89% suivant les études. Mais il a également été montré que ce bras neoadjuvant est associé à une augmentation statistiquement significative des récurrences locorégionales (RR=1.22, 95%, CI=1.04 à 1.43).

Le NSABPB-18 (National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Operations and Biostatistical Centers) a réalisé une vaste étude prospective incluant 1523 patientes afin de comparer l'administration en neoadjuvant ou en adjuvant d'un schéma de chimiothérapie avec 4 cycles de doxorubicine et cyclophosphamides [67]. Le taux de réponse clinique complète était de 36% et le taux de réponse histologique complète (pCR) de 13%. L'ajout des taxanes au schéma précédemment cité, en neoadjuvant, permet d'augmenter significativement le taux de RCC à 60% et le taux de pCR à 26% ( $p < 0.001$ ) [51, 68]. Il est également mis en évidence une augmentation significative du taux de récurrences locorégionales chez les patientes traitées par chirurgie conservatrice après chimiothérapie néoadjuvante alors qu'initialement une mastectomie était indiquée. La pCR est associée à une amélioration de la survie globale et sans récurrence.

### **3.5. Importance du phénotype tumoral**

La probabilité d'obtenir une réponse histologique complète à l'issue du traitement neoadjuvant est fortement influencée par le phénotype tumoral. Tumeurs lumineales, HER2

positives ou triple négatives sont 3 situations pour lesquelles la probabilité de pCR et sa signification pronostique sont différentes (figure 7).

### 3.5.1. Le phénotype HER2 positif

En combinaison avec la chimiothérapie, le trastuzumab prolonge significativement la survie des patientes porteuses d'un cancer sur-exprimant HER2, métastatique ou non [69, 70]. En situation néo-adjuvante, les études retrouvent un taux important de réponse histologique complète, allant de 12 à 54% selon la chimiothérapie associée au trastuzumab. Dans l'étude de Coudert et al, 33 patientes opérables d'emblée et sur-exprimant HER2 ont reçu 6 cures de chimiothérapie néo-adjuvante associant du docetaxel (100mg/m<sup>2</sup> toutes les 3 semaines) au trastuzumab hebdomadaire pendant 18 semaines [71]. Une réponse histologique complète a été obtenue chez 54% des patientes. Dans l'étude NOAH (Neoadjuvant Herceptin) de Gianni et al., conduite de 2007 à 2010 sur 228 patientes avec une tumeur HER2+, le taux de pCR était très nettement amélioré par l'ajout de trastuzumab à une chimiothérapie néo-adjuvante associant doxorubicine et docetaxel [72]. Le taux de pCR était de 43% dans le bras avec Trastuzumab contre 23% dans le bras sans trastuzumab (p=0.002). De même la survie sans progression était améliorée (Hasard ratio = 0.59, IC 95%= [0.38 – 0.90], p= 0.013). Cette étude soulevait cependant la problématique de la toxicité cardiaque de l'association trastuzumab-anthracyclines.

Plusieurs études récentes, dont celle de Baselga et al., ont montré que le trastuzumab pouvait être remplacé par du lapatinib, une autre thérapie anti-HER2 inhibant la tyrosine kinase, avec des résultats comparables en terme de pCR (29% dans le groupe de patientes traitées par trastuzumab, versus 24% dans le groupe traité par lapatinib) [73]. L'association de trastuzumab et de lapatinib induit une augmentation très significative du taux de pCR à 51%.

Cependant, lorsqu'elle est combinée à une chimiothérapie néoadjuvante classique, cette double association trastuzumab-lapatinib semble moins efficace en termes d'augmentation de la pCR [74]. L'impact sur la survie n'a pas encore été évalué.

L'association du pertuzumab, un anticorps monoclonal bloquant la dimérisation de HER2, avec du trastuzumab semble également très prometteuse pour augmenter le taux de pCR, avec une incidence de dysfonction ventriculaire gauche symptomatique qui reste faible [75].

En somme, si la surexpression de HER2 par la tumeur mammaire est un facteur pronostique péjoratif, la prise en charge a été profondément modifiée par l'arrivée du trastuzumab. Ce dernier, associé aux chimiothérapies néo-adjuvantes habituelles, a permis d'obtenir une augmentation très significative du taux de réponse complète histologique et de la survie.

### 3.5.2. Le phénotype triple négatif

Il est caractérisé par une grande agressivité clinique, avec un pronostic inférieur à celui des cancers HER2 positifs non traités par trastuzumab [23]. Cependant, en situation néo-adjuvante, plusieurs auteurs ont montré que ce phénotype est prédictif d'une bonne réponse histologique tumorale avec un taux élevé de pCR: cette constatation a été décrite comme "le paradoxe triple négatif." [59, 61, 76, 77]. Le pronostic des patientes qui obtiennent une pCR est excellent, avec moins de 10 % de récurrences à 5 ans, équivalent à celui des patientes également en réponse complète mais présentant un autre sous-type tumoral. A l'inverse, les patients avec une tumeur triple négative qui n'obtiennent pas de pCR à l'issue du traitement néoadjuvant ont un pronostic beaucoup plus sombre [59, 61, 76, 77].

Dans une méta-analyse récente, parmi 911 patientes avec une tumeur triple négative, traitées par une chimiothérapie néoadjuvante (taxanes et anthracyclines), un taux de pCR de 36% était observé (ypT0ypN0). Les patientes sans pCR avaient un risque 6 fois plus élevé de récurrence (95 % CI : 3.92-9.25) et une mortalité 12 fois plus élevée (95 % CI : 5.82-26.49) [59]. Ces résultats soulignent l'importance de maximiser le taux de pCR pour les patientes avec une tumeur triple négative. L'ajout de bevacizumab ou de carboplatine au schéma classique de chimiothérapie (paclitaxel, doxorubicine et cyclophosphamides) permet d'augmenter très significativement le taux de réponse histologique complète de la tumeur primitive [78]. Cependant, une méta-analyse récente a montré que l'ajout de bevacizumab, en situation néo-adjuvante comme en situation métastatique, ne semble au final pas améliorer la survie globale des patients [79].

### 3.5.3. Le phénotype luminal

L'intérêt de la chimiothérapie néo-adjuvante pour les patientes dont le phénotype tumoral est de type luminal/HER2 négatif est controversé.

Bien qu'il s'agisse d'un phénotype de relativement bon pronostic, l'obtention d'une pCR en fin de traitement est en effet plus rare, traduisant sa moindre chimiosensibilité [19, 20]. De plus, dans la méta-analyse de Von-Minckwitz et al, publiée en 2012 et ayant inclus

6377 patientes, la valeur pronostique de la pCR n'a pas été mise en évidence pour les tumeurs lumineales A [59]. Néanmoins, une proportion significative de ces patientes va présenter une réponse tumorale suffisante pour envisager un geste chirurgical conservateur du sein [80]. Il semble donc que l'objectif premier de la CNA dans ce sous-groupe soit plus l'obtention d'une réponse tumorale suffisante pour proposer une chirurgie conservatrice, que l'obtention d'une pCR.

Comme décrit précédemment, les tumeurs lumineales A et B se distinguent par leur caractéristiques prolifératives. Les tumeurs lumineales B, plus agressives, présentent une chimiosensibilité et une fréquence de réponse histologique complète supérieure aux tumeurs lumineales A [8, 9]. Une étude de Cheang et al. a suggéré d'utiliser un seuil d'expression tumoral de Ki-67 à 13.25% pour distinguer ces 2 types de tumeurs lumineales [22].

Cependant, Lips et al ont montré qu'aucun des biomarqueurs actuels ne permet de prédire de manière suffisamment fiable l'absence de réponse à la chimiothérapie néoadjuvante des tumeurs lumineales, y compris l'expression de Ki-67 [80]. Il est donc très difficile de prévoir initialement quelles patientes avec un phénotype tumoral luminal vont tirer bénéfice de la CNA.

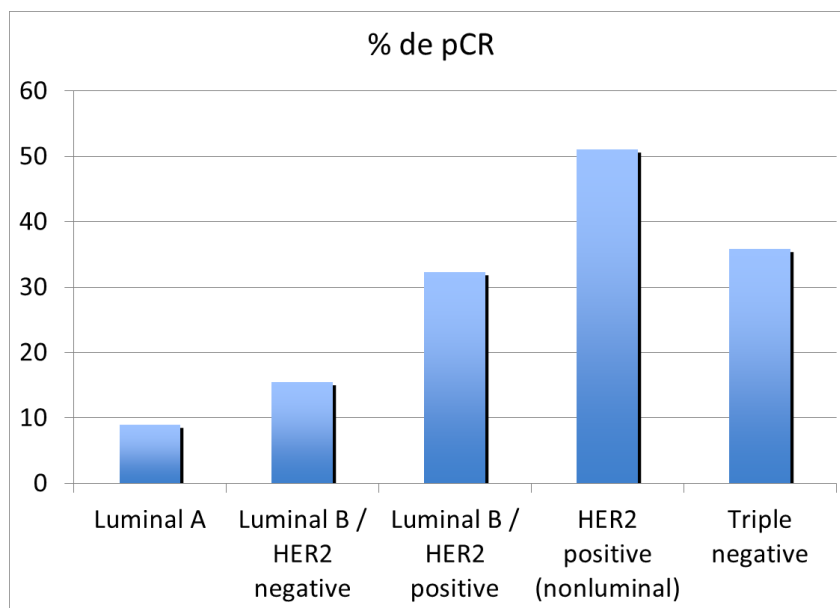


Figure 7 : taux de pCR (ypT0/is ypN0) en fonction du phénotype tumoral. Résultats de la méta-analyse de Von Minckwitz et al. de 2012 [59].

### **3.6. Evaluation précoce de l'efficacité de la chimiothérapie néo-adjuvante**

Un des atouts majeurs de la chimiothérapie néo-adjuvante est de permettre une évaluation in-vivo de la chimiosensibilité de la tumeur, via l'analyse de la réponse histologique tumorale lors du geste chirurgical. Comme nous l'avons vu précédemment, la réponse histologique complète est utilisée comme marqueur substitutif précoce de la survie dans les études cliniques évaluant l'efficacité d'une chimiothérapie néo-adjuvante. Malheureusement, il s'agit d'un critère de connaissance tardive et ne concernant que 15 à 30% des patientes. L'analyse des réponses clinique, biologique et d'imagerie semble théoriquement pouvoir fournir des critères plus précoces pour l'évaluation de l'efficacité de la chimiothérapie, d'ordre pronostique. L'objectif serait de permettre au clinicien de choisir et d'adapter au mieux son traitement. Ainsi, il pourrait être utile en l'absence de réponse à un type de molécule cytotoxique, d'administrer d'autres traitements dépourvus de résistance croisée. Cependant, l'influence bénéfique sur la survie d'une adaptation précoce du traitement préopératoire n'a pas fait ses preuves et reste donc à évaluer.

#### **3.6.1. Clinique**

La réponse tumorale évaluée par l'examen clinique est un facteur important pour la détermination de l'efficacité d'une chimiothérapie préopératoire.

Bien que plusieurs études aient montré une corrélation entre la réponse clinique et le pronostic (tableau 5), ce lien est inconstant. Ainsi, l'étude menée par Ellis et al en 1998 [81] montre un impact de la réponse clinique sur la survie sans récurrence, mais sa valeur statistique disparaît en analyse multivariée. Dans l'essai du NSABP B-18, mené par Fisher et al en 1998, la survie sans récurrence à 5 ans est également augmentée significativement pour les patientes présentant une réponse clinique complète ( $p= 0,0014$ ), mais sans que la survie globale ne soit modifiée [50].

Ce lien avec la survie est d'autant plus ténu que d'autres études s'accordent sur le caractère partiel de la corrélation entre les réponses cliniques et anatomopathologiques [55, 82]. Ainsi, dans l'essai de Fisher et al, on observe sur la pièce d'exérèse chirurgicale 56 % d'envahissement ganglionnaire et 75 % de tumeur mammaire résiduelle chez les patientes considérées en réponse clinique complète à l'issue de la chimiothérapie néo-adjuvante [67]. La chirurgie mammaire avec curage axillaire reste donc capitale, bien sûr pour réduire l'incidence des rechutes locales, mais aussi pour la vérification histologique des pièces



d'exérèse, permettant ainsi de déterminer au mieux la réponse histologique de la tumeur à la chimiothérapie néoadjuvante.

<b>Etude</b>	<b>Suivi médian</b>	<b>Critère d'évolution</b>	<b>% RCO</b>	<b>P</b>
<b>Hortobagyi [40]</b>	5 ans	Survie globale	88	0.01
<b>Cameron [83]</b>	7.5 ans	Survie globale	63	0.005
<b>Bonadonna [57]</b>	8 ans	Survie sans rechute	56	0.0001
<b>Ellis [81]</b>	5 ans	Survie globale	76	0.08
<b>Fisher [50]</b>	5 ans	Survie sans rechute	76	0.0014
<b>Pierga [84]</b>	10 ans	Survie globale	63	0.01

Tableau 5 : principales études montrant un bénéfice de survie pour les patientes présentant une réponse clinique objective (RCO).

### 3.6.2. Biologique

De nombreuses études ont recherché d'éventuels paramètres biologiques corrélés à une bonne réponse tumorale après chimiothérapie néoadjuvante. Les résultats sont souvent peu concluants, voire discordants d'une étude à l'autre, la majorité de ces travaux ayant été conduits de façon rétrospective, sur des populations de malades hétérogènes. Cependant, à travers les données récentes de la littérature, certains critères retrouvés dans plusieurs études semblent constituer des marqueurs de chimiosensibilité.

Makris et al. se sont intéressés à l'évolution de l'expression des récepteurs hormonaux, de p53, de Bcl-2, de Ki67 et du pourcentage de cellules en phase S dans les tumeurs mammaires de 31 patientes biopsiées avant et après la première cure d'une hormono-chimiothérapie néo-adjuvante [85]. Les patientes ayant répondu à ce traitement présentent une réduction plus importante du Ki67 et du pourcentage de cellules en phase S. Il n'est noté aucun changement concernant l'expression de p53 ou de Bcl-2 en cours de traitement. Dans un travail similaire de Chang et al, parmi tous les facteurs biologiques étudiés (niveau d'expression des récepteurs aux œstrogènes et la progestérone, p53, Bcl-2, Ki67, phase S) avant et à l'issue d'une cure de chimiothérapie néo-adjuvante, seule la diminution

de Ki67 après un cycle de chimiothérapie constitue un facteur prédictif de bonne réponse au traitement (figure 8) [86]. Enfin Masubara et al. ont plus récemment montré que la baisse de l'expression tumorale du Ki-67 entre l'évaluation pré et post-chimiothérapie néo-adjuvante est un marqueur de bon pronostic indépendant, mais seulement pour les patientes avec un phénotype tumoral prolifératif (Luminal B, triple négatif ou HER2) [87]. Cependant, du fait de la reproductibilité médiocre de la mesure du Ki-67 et du faible nombre d'études disponibles, il n'existe pas de recommandation quant à l'utilisation du Ki-67 pour le monitoring de la réponse tumorale.

Concernant l'évaluation par des marqueurs biologiques sanguins, il existe peu de données dans la littérature : Bottini et al. ne retrouvent aucun changement au cours de la chimiothérapie néo-adjuvante quant aux dosages sanguins de divers marqueurs tumoraux, dont le Ca 15.3 et l'ACE [88].

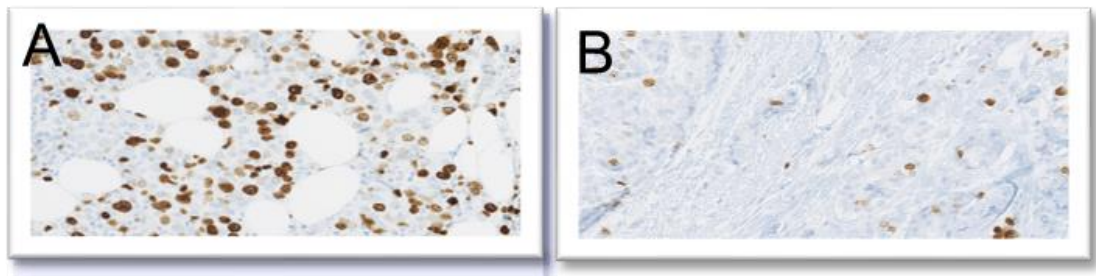


Figure 8 : Forte expression tumorale du Ki-67 en pré-thérapeutique (A) avec une importante baisse d'expression sur le résidu tumoral post-chimiothérapie (B).

### 3.6.3. Imagerie

Pouvoir évaluer précocement l'efficacité de la chimiothérapie néo-adjuvante représente un intérêt majeur pour le clinicien, lui permettant de l'adapter si nécessaire. Mais en pratique, cette évaluation s'avère complexe à mettre en œuvre : comme vu précédemment, la valeur de l'examen clinique à l'issue de la chimiothérapie néo-adjuvante est médiocre. La qualité de la réponse histologique représente un élément décisionnel fondamental pour statuer sur l'efficacité d'une chimiothérapie néo-adjuvante, mais il présente l'inconvénient d'être connu seulement après la réalisation complète de celle-ci, ne permettant donc pas de la modifier, ou de l'interrompre précocement en cas de non efficacité.

Afin de prendre une décision thérapeutique la plus précoce possible, plusieurs paramètres ont été évalués par l'imagerie: le volume tumoral d'une part et, d'autre part, les caractéristiques physiologiques cellulaires évaluées par l'imagerie fonctionnelle et moléculaire.

### 3.6.3.1. *Le volume tumoral*

Différentes méthodes permettent de mesurer le volume tumoral mammaire et de suivre ses éventuelles modifications en cours de traitement : l'échographie, la mammographie et l'imagerie par résonance magnétique (IRM). L'examen tomodensitométrique (TDM) n'est pas utilisé pour la mesure du volume tumoral mammaire, l'irradiation délivrée par le TDM étant supérieure à celle de la mammographie pour des performances moindres. En effet, les densités du tissu fibro-glandulaire et du tissu tumoral sont proches, ce qui ne permet généralement pas une délimitation précise des contours tumoraux.

Les critères utilisés pour apprécier la réponse thérapeutique reposent soit sur des mesures tridimensionnelles du volume tumoral, soit, de manière plus simple, sur la mesure d'une ou de deux dimensions.

Les critères OMS évaluent la surface tumorale (produit des deux plus grandes dimensions perpendiculaires dans un même plan). Une baisse de plus de 50% étant nécessaire pour parler de réponse tumorale [89].

Les critères RECIST (Response Criteria In Solid Tumor), dans sa version 1.1, sont surtout utilisés en situation métastatique. Ils reposent sur la somme des plus grands diamètres de une à deux lésions de plus de 10mm par organe (petit axe supérieur à 15mm pour les ganglions), sans dépasser 5 lésions [90]. Il est nécessaire de tenir compte également de l'évolution des lésions non mesurables (os, épanchement pleural, carcinose péritonéale...). On considère qu'il existe une réponse clinique tumorale si le score obtenu diminue de plus de 30%. Une progression correspond à une augmentation de plus de 20% du score.

Ainsi, ces critères nécessitent une réduction tumorale importante pour être satisfaits. Ils s'avèrent peu pertinents si l'on souhaite évaluer la réponse tumorale de manière précoce, d'autant plus que les nouvelles thérapeutiques ciblées n'ont pas toujours d'effet sur le volume néoplasique, en dépit d'une réelle efficacité biologique. Par ailleurs, les variations de volumes des localisations secondaires hépatiques et osseuses ne sont pas fiables et des pseudo-augmentations des lésions hépatiques peuvent être observées du fait d'une nécrose tumorale extensive.

La baisse précoce du volume tumoral mesurée en IRM a une valeur prédictive supérieure à la baisse de volume mesuré cliniquement : après 2 cures, l'aire sous la courbe pour prédire la pCR est calculée à 0.70 pour l'IRM versus 0.61 pour l'évaluation clinique

[91]. Les résultats restent cependant mitigés, y compris en utilisant l'évaluation RECIST en IRM [92, 93]. De plus, les modifications de la taille de la lésion ne sont habituellement détectées que plusieurs semaines après le début de chimiothérapie [94].

L'originalité et le caractère innovant de l'étude GeparTrio a consisté à évaluer l'impact de l'adaptation du traitement neoadjuvant après 2 cycles de chimiothérapie (docetaxel/doxorubicine/cyclophosphamide) en fonction de la réponse tumorale [95]. Elle était évaluée par la mesure du volume tumoral en échographie. Les patientes non-répondeuses, définies par une diminution de moins de 50% des dimensions tumorales étaient randomisées en 2 groupes : le premier recevant 4 cycles de la même chimiothérapie, le deuxième groupe bénéficiant d'un switch thérapeutique par vinorelbine/capecitabine. L'adaptation de la chimiothérapie ne permettait pas d'augmenter le taux de pCR en fin de traitement, mais améliorait néanmoins légèrement la survie des patientes, particulièrement pour les patientes avec une tumeur RH+ [96].

### 3.6.3.2. *Perfusion et perméabilité capillaire tumorale*

Le développement tumoral est conditionné par la perfusion sanguine. Il s'accompagne d'une néo-angiogenèse permettant d'augmenter le débit sanguin et les échanges transmembranaires nécessaires pour la croissance de la tumeur. La perfusion tumorale et la perméabilité capillaire sont logiquement devenues de nouvelles cibles thérapeutiques. Des thérapeutiques tels que le bevacizumab, qui est un anticorps monoclonal dirigé contre le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (en anglais : Vascular Endothelial Growth Factor ou VEGF), sont utilisées dans le traitement adjuvant du cancer mammaire, en association avec les traitements cytotoxiques habituels. Une évaluation précise des modifications de la perfusion tumorale en cours de chimiothérapie semble donc être d'un grand intérêt. Plusieurs techniques d'imagerie permettent d'évaluer la perfusion tumorale, nous allons les détailler.

#### 3.6.3.2.1. L'IRM de perfusion (DCE-MRI, pour dynamic contrast enhanced magnetic resonance imaging)

Le gadolinium ne peut être utilisé sous sa forme ionique libre à cause de sa haute toxicité. Il est néanmoins possible de masquer cette toxicité en séquestrant cet ion dans des molécules ligands: on obtient ainsi des chélates de gadolinium qui peuvent être injectés au patient. En raison de son effet paramagnétique, le gadolinium réduit les temps T1 et T2 de relaxation des protons après leur stimulation par une onde de radiofréquence au sein d'un champ magnétique. L'effet T1 du gadolinium est prédominant : il va entraîner un

rehaussement en pondération T1. Cet agent de contraste arrive tout d'abord par voie vasculaire puis diffuse librement dans le secteur interstitiel. Le profil perfusionnel de la tumeur peut être étudié par l'aspect de la courbe représentant l'arrivée d'un bolus de traceur par voie artérielle dans le volume tumoral : pente initiale de la courbe lors de l'arrivée du traceur (« wash-in), amplitude du pic, élimination du traceur (« wash-out »). Des analyses plus complexes de la vascularisation tumorale peuvent être menées en utilisant une analyse compartimentale (modèle avec 2 compartiments : espace vasculaire et espace interstitiel) : les constantes de transfert  $K_{trans}$  (du secteur vasculaire vers le secteur interstitiel) et  $K_{ep}$  (du secteur interstitiel vers le secteur vasculaire) sont calculés pour déterminer la perméabilité vasculaire.

Il a été démontré que les tumeurs mammaires très vascularisées (pente initiale, pic,  $K_{trans}$  élevés) sont corrélées à une altération de la survie sans récurrence et globale [97].

Pour le suivi de la réponse tumorale, L'IRM dynamique de contraste est un bon biomarqueur pour mesurer l'efficacité des thérapies à visée anti-angiogénique (réponse au Bevacizumab), ou même des thérapies cytotoxiques, puisque responsables d'altérations de la vascularisation tumorale [98]. Cependant, en situation néo-adjuvante, les données publiées quant à l'intérêt de l'IRM dynamique de contraste pour prédire la réponse histologique du cancer du sein sont contradictoires [99-103]. Yu et al. ont montré que les modifications de  $K_{trans}$  et  $K_{ep}$  évaluées dès la fin du premier cycle de chimio-néo-adjuvante sont très modérées et probablement trop précoces pour prédire à elles-seules la réponse tumorale histologique [102]. Cependant, la réponse perfusionnelle peut être combinée à la réponse tumorale pour mieux différencier les patientes avec une tumeur répondeuse des patientes avec une tumeur non-répondeuse. Une autre étude a montré une réduction significative et précoce de  $K_{trans}$  et  $K_{ep}$  pour les patientes répondeuses par rapport aux non répondeuses [101].

#### 3.6.3.2.2. En échographie de contraste

L'imagerie par échographie de contraste est une technique qui permet d'évaluer la vascularisation d'une tumeur. Les agents de contraste ultrasonores sont des microbulles gazeuses qui restent strictement dans l'espace intravasculaire. L'évaluation de la perfusion réalisée à partir de la cinétique de rehaussement tumoral n'est donc pas dépendante de la perméabilité capillaire des vaisseaux. La surface de la tumeur se rehaussant après injection de produit de contraste représente ainsi sa partie vascularisée. Comparativement à l'IRM,

l'échographie de contraste est moins onéreuse, sa disponibilité est meilleure, sa résolution temporelle est supérieure.

En cancérologie mammaire, l'échographie de contraste tridimensionnelle est corrélée avec la densité micro-vasculaire tumorale et avec l'expression des facteurs de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF) : elle est donc capable d'évaluer l'angiogenèse tumorale [104]. Elle est également corrélée avec les résultats de perfusion tumorale obtenue avec l'IRM dynamique (DCE-MRI) [105]. En préclinique, elle permet de déterminer très précocement la réponse tumorale à une chimiothérapie cytotoxique, via la baisse de perfusion tumorale, précédant la diminution du volume tumoral [106].

#### 3.6.3.2.3. En TEP à l'eau marquée à l'oxygène 15 ( $H_2^{15}O$ )

La TEP à l' $H_2^{15}O$  est l'examen de référence pour l'étude de la perfusion tumorale. Non invasif, l'examen nécessite une acquisition dynamique pour l'étude de la bio-distribution tumorale du traceur au cours du temps. Cette acquisition, débutant au moment de l'injection intraveineuse du traceur  $H_2^{15}O$ , se poursuit pendant 5 à 10 minutes [107]. Une analyse compartimentale simple (1 compartiment vasculaire et 1 compartiment tissulaire) permet de mesurer la constante de transfert  $K_1$  du traceur entre le compartiment vasculaire et tumoral, correspondant à la perfusion tissulaire tumorale. La limite de ce traceur est sa faible disponibilité. En effet la demi-vie de ce radiopharmaceutique est de 2 minutes : l'examen doit donc être réalisé dans un centre disposant d'un cyclotron à proximité immédiate.

L'équipe de Seattle a publié plusieurs études évaluant les modifications de la perfusion tumorale mammaire avant et à mi-course de la chimiothérapie néo-adjuvante, en utilisant la TEP à l' $H_2^{15}O$  [107-111]. La réduction précoce de la perfusion tumorale après 2 mois de chimiothérapie néo-adjuvante était prédictive de la réponse histologique finale et de la survie (figure 49) [108, 110].

#### 3.6.3.3. *Etude de la diffusion en IRM*

L'objectif des séquences pondérées en diffusion est d'obtenir des images dont le contraste est influencé par les différences de mobilité des molécules d'eau. La mesure du coefficient apparent de diffusion (ADC) est sensible à la densité cellulaire, à l'intégrité des membranes cellulaires et à la microstructure tissulaire (figure 9) [112]. Les tumeurs ont

généralement une densité cellulaire élevée qui restreint la diffusion des molécules d'eau. La diminution de la densité cellulaire tumorale après un traitement chimio-toxique entraîne donc une augmentation des coefficients ADC et s'avère donc être un biomarqueur prometteur pour évaluer précocement la chimiosensibilité d'une lésion, avant la diminution de la masse tumorale [113]. Après 3 cycles de CNA, une étude menée sur une petite population de 34 patientes a suggéré un seuil de 55% (augmentation de l'ADC) pour différencier les répondeuses histologiques complètes des autres patientes. Ce seuil avait, dans cette étude, une sensibilité de 100% et une spécificité de 70.4% [114]. Cependant, l'effectif de cette étude est très limité et elle ne tient pas compte des différents phénotypes du cancer du sein. Wu et al. ont mené une méta-analyse incluant 6 études et montré que la sensibilité de l'IRM de diffusion pour prédire la réponse histologique était de 93% et la spécificité de 82% [115]. Il semble que la valeur du coefficient apparent de diffusion (ADC) soit très variable d'un phénotype tumoral à l'autre. Richard et al. ont en effet montré, sur une analyse rétrospective ayant inclus 118 patientes, des différences significatives de l'ADC pré-thérapeutique en fonction du phénotype tumoral étudié, qu'il s'agisse de tumeurs lumineales A ( $1.001 \pm 0.143 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ ), lumineales B ( $0.983 \pm 0.150 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ ), HER2 positives ( $1.132 \pm 0.216 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ ), ou triple-négatives ( $1.168 \pm 0.245 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ ;  $P = 0.0003$ ). Concernant le phénotype triple négatif, l'ADC pré-thérapeutique était plus élevé pour les tumeurs n'obtenant pas de pCR que pour celles avec une pCR ( $P = 0.047$ ) [116].

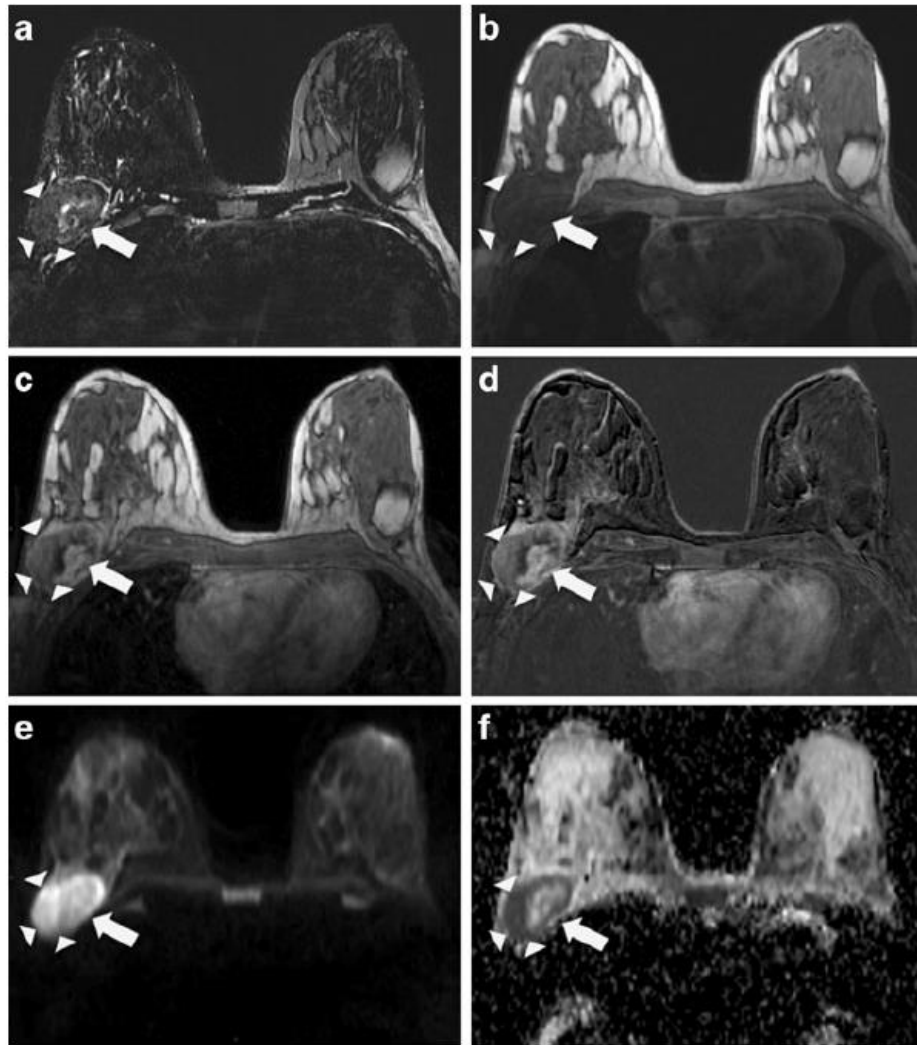


Figure 9 : Patiente de 35 ans présentant une tumeur mammaire triple négative. Les images de l'étude IRM pré-thérapeutique, en coupes axiales, pondérées en T2 fat-sat (a), T1 (b), T1 2 min après injection de gadolinium (c) et T1 gadolinium et soustraction (d) montrent une masse tumorale solide avec présence de nécrose (flèche blanche). L'image de diffusion avec une valeur de  $b = 700$   $\text{s/mm}^2$  (e) et la carte ADC(f) donne un ADC faible dans la partie solide de la tumeur ( $1.07 \times 10^{-3}$   $\text{mm}^2/\text{s}$ ), ce qui augmente la probabilité de réponse histologique complète en fin de traitement néoadjuvant. Images extraites de l'article de Richard et al. [116].

#### 3.6.3.4. Spectroscopie RMN

La technique de spectroscopie RMN du proton ( $^1\text{H}$ ) peut être utilisée pour évaluer la concentration de choline présente dans la tumeur mammaire. Des niveaux élevés de métabolites riches en choline sont principalement dus à l'augmentation du métabolisme des phospholipides et de la synthèse de membrane cellulaire dans les cellules prolifératives. Plusieurs études ont étudié la valeur prédictive de la spectroscopie RMN du proton pour le monitoring de la réponse tumorale, mais les résultats sont contradictoires [117-119]. En conséquence, la place de la spectroscopie RMN pour l'évaluation de la



réponse tumorale n'a pas été clairement établie, en partie du fait de la difficulté technique de quantifier de manière reproductible le pic de choline observée dans la tumeur.

#### 3.6.3.5. *Métabolisme glucidique tumoral*

De nombreux auteurs ont montré que la réduction de la captation du  $^{18}\text{F}$ -FDG après une à trois cures de chimiothérapie néo-adjuvante est prédictive de la réponse histologique obtenue en per-opératoire. Ces études seront détaillées dans le chapitre 3.5 du chapitre II consacré à l'intérêt de la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG dans l'évaluation de la réponse du cancer du sein.

#### 3.6.3.6. *Les autres approches envisageables*

D'autres marqueurs prédictifs de la réponse histologique à la chimiothérapie néoadjuvante pourraient, dans un avenir plus ou moins proche, voir le jour en pratique clinique.

- *Des radiopharmaceutiques émetteurs de positrons autres que le  $^{18}\text{F}$ -FDG* : la thymidine marquée au Fluor 18 est un marqueur de la prolifération cellulaire qui suscite beaucoup d'intérêt, mais l'expérience clinique avec ce traceur est encore très limitée. L'hormono-dépendance du cancer du sein ouvre des perspectives à la TEP au  $^{18}\text{F}$ -fluoro-œstradiol-17 $\beta$  ( $^{18}\text{F}$ -FES) : l'hormono-sensibilité à l'œstradiol s'accompagne d'une fixation tumorale accrue du  $^{18}\text{F}$ -FES [120].

- *L'imagerie optique* : le sein est un tissu que les infrarouges peuvent traverser. Il est envisagé d'utiliser ces rayons pour mettre en évidence la baisse de la concentration de l'hémoglobine oxygénée sous l'effet de la chimiothérapie néo-adjuvante [121].

En somme, l'imagerie du cancer du sein a beaucoup progressé, conduisant à identifier des marqueurs de la réponse tumorale précoce. Le biomarqueur actuellement le mieux documenté est la modification précoce du métabolisme glucidique tumorale sous l'effet d'une chimiothérapie néo-adjuvante. La mesure de la captation du  $^{18}\text{F}$ -FDG a en outre l'avantage d'intégrer de nombreux aspects de la physiologie tumorale, qu'il s'agisse de la prolifération cellulaire ou de la déviation vers le métabolisme glycolytique anaérobie. Cette technique d'imagerie a connu un essor important en cancérologie cette dernière décennie et a vu ses indications se multiplier, notamment dans la prise en charge du cancer du sein.

## CHAPITRE II : LA TEP EN SENOLOGIE

### 1. Principe et fonctionnement de la tomographie par émission de positons

#### 1.1. Introduction

La TEP est une modalité d'imagerie fonctionnelle qui se différencie des systèmes d'imagerie morphologique tels que le TDM ou l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) anatomique. Elle permet la détection in-vivo de la désintégration d'un radiotracer émetteur de positons dans l'organisme. Ce radiotracer est généralement constitué de l'association d'une molécule vectrice et d'un isotope radioactif ou radionucléide. La molécule vectrice est choisie pour son tropisme particulier pour un organe, un secteur liquidien, une fonction physiologique ou une pathologie. Pour l'imagerie TEP, le radionucléide est un émetteur de positon lié à cette molécule vectrice. Après incorporation du radionucléide sur la molécule vectrice, on obtient une molécule radiomarquée. Lorsqu'elle est administrée à des patients, elle a donc le statut de médicament et est appelée radiopharmaceutique. Ces produits sont également appelés traceurs (ou radiotraceurs) du fait de leur capacité à suivre un phénomène biologique (« tracer »), mais aussi en raison des quantités administrées (« traces »). Ces médicaments radiopharmaceutiques ne possèdent pas de propriétés pharmacodynamiques étant donné l'utilisation de doses massiques extrêmement faibles.

Avant leur administration à l'Homme, les médicaments radiopharmaceutiques nécessitent une opération chimique dite de radiomarquage, c'est à dire l'incorporation du radionucléide au niveau de la molécule vectrice. Suivant ce concept, des atomes ou groupes d'atomes d'une molécule sont substitués par des radionucléides (même élément ou non). Il existe essentiellement deux grandes stratégies de radiomarquage:

- Le radiomarquage direct : dans ce type de radiomarquage, le radionucléide est incorporé au sein d'une molécule possédant une fonction biologique connue. Le but est de générer une liaison covalente ou de coordination entre la molécule d'intérêt et le radionucléide. Les cas les plus courants en TEP sont les radiomarquages directs par le fluor 18 (exemple :  $^{18}\text{F}$ -FDG) ou encore les isotopes radioactifs de l'iode (exemple:  $^{124}\text{I}$ -annexin V). Cette approche ne garantit pas le maintien des propriétés biologiques des molécules ainsi radiomarquées, nécessitant des phases de validation in vitro pour s'en assurer.

- Le radiomarquage indirect : cette approche se fait en utilisant un agent bifonctionnel chélatant. Cet agent est une molécule organique qui va être conjuguée à une macromolécule (par exemple les anticorps) tout en possédant la capacité de complexer un radiométal. En général, l'agent bifonctionnel est d'abord conjugué à la macromolécule de manière à être radiomarquée par la suite. L'utilisation d'un agent bifonctionnel chélatant permet de radiomarquer des macromolécules d'intérêt avec des métaux de transition ou de post-transition (exemples :  $^{89}\text{Zr}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ...). Du fait de la présence de l'agent bifonctionnel chélatant sur la macromolécule d'intérêt, ses propriétés biologiques peuvent s'en retrouver altérées. Ainsi, comme pour la méthode de radiomarquage direct, il convient de s'assurer du maintien de l'activité biologique in vitro de la molécule radiomarquée avant toute utilisation in vivo.

Les premières molécules marquées au  $^{18}\text{F}$  ont été synthétisées à la fin des années 1970. A la même époque, ont été construits les premiers tomographes à émissions de positons utilisables à des fins médicales. De nombreux travaux effectués par les centres de recherche et les industriels ont permis le développement de caméras TEP permettant de réaliser des examens corps entier, avec une amélioration croissante des résolutions spatiale, temporelle et de la sensibilité de détection des systèmes TEP [122].

La TEP, initialement confinée à quelques centres de recherche, a essaimé dans les structures hospitalières à partir des années 2000, conduisant à son usage croissant en oncologie. Le fonctionnement de ces structures repose sur l'installation de caméras TEP dans les services de Médecine Nucléaire, et sur la mise en place d'un réseau de distribution des radiopharmaceutiques marqués. La molécule actuellement la plus utilisée est le Fluorodeoxyglucose marqué au fluor 18 ( $^{18}\text{F}$ -FDG) en raison de ses nombreuses indications, notamment en oncologie.

## **1.2. Émetteurs de positons**

### 1.2.1. Les isotopes émetteurs de positon : principes physiques et exemples.

Lorsqu'un noyau possède un excès de nucléons, protons ou neutrons, il devient instable. Son retour à l'équilibre est permis par une succession d'une ou plusieurs désintégrations radioactives. Lorsque que ces atomes présentent un excès de protons, ils

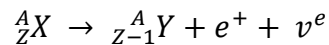
peuvent se désintégrer de deux manières: soit par émission de positon soit par capture électronique.

1. La première met en jeu la désintégration élémentaire suivante :

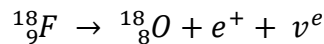


Avec p correspondant à un proton, n à un neutron,  $e^+$  à un positon, antiparticule de l'électron, de masse égale à celle d'un électron mais de charge opposée et  $\nu_e$  à un neutrino, particule élémentaire de charge électrique nulle et de masse négligeable.

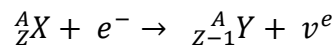
Appliquée au noyau père X de numéro atomique Z et de nombre de masse A, encore noté  ${}^A_ZX$ , on obtient la formation du noyau fils  ${}^A_{Z-1}Y$  telle que :



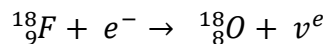
Appliquée au fluor 18, noté  ${}^{18}\text{F}$ , élément instable de nombre de masse A=18 et de numéro atomique Z=9, la désintégration s'écrit :



2. La seconde désintégration possible, appelée capture électronique, s'écrit :



Appliqué au  ${}^{18}\text{F}$ , l'équation est la suivante :



Le taux d'embranchement, c'est-à-dire la probabilité pour que le noyau excité suive l'une ou l'autre de ces voies de désintégration, dépend des propriétés du noyau père. Il est en faveur de l'émission de positon pour les noyaux de faible numéro atomique Z. Ainsi, dans le cas du  ${}^{18}\text{F}$ , le taux d'embranchement est de 97% pour l'émission de positons et de 3% pour la capture électronique.

Lors de la désexcitation par émission de positon, l'énergie libérée est partagée entre le noyau fils, le neutrino et le positon. Les positons sont émis avec une énergie cinétique qui varie de 0 à une énergie maximale  $E_{\text{max}}$  de l'ordre du méga-électron volt (ou MeV, avec  $1 \text{ eV} = 1,602 \times 10^{-19} \text{ J}$ ).

La période de l'isotope radioactif est propre à chaque élément ; elle correspond au temps nécessaire pour que la moitié des éléments de l'échantillon se désintègre. Ces

périodes sont très variables d'un isotope à l'autre. Pour exemple, L'oxygène 15 ( $^{15}\text{O}$ ), l'azote 13 ( $^{13}\text{N}$ ) et le carbone 11 ( $^{11}\text{C}$ ) ont des périodes relativement courtes, respectivement de 2, 10 et 20 minutes, ce qui implique deux contraintes : le cyclotron qui produit ces isotopes doit être à proximité du lieu de réalisation des examens TEP, et le radiomarquage de la molécule vectrice doit être rapide. D'autres isotopes, tels que le  $^{18}\text{F}$ , le  $^{64}\text{Cu}$  ont encore le  $^{89}\text{Zr}$  ont une période radioactive plus longue, de plusieurs heures à plusieurs jours (tableau 6), ce qui limite les deux contraintes préalablement mentionnées. A noter que certains isotopes ont une courte période, mais sont issus de générateurs isotopiques de longues périodes. Tel est le cas du gallium 68 ( $^{68}\text{Ga}$ ), dont la période est de 68 minutes (issu du germanium 68 de période de 271 jours), et le rubidium 82 ( $^{82}\text{Rb}$ ), dont la période est de 76 secondes (issu du strontium 82 de période de 25 jours).

Le tableau 6 présente les principales caractéristiques physiques d'isotopes émetteurs de positons utilisés en TEP.

Isotopes	Tx embranché <sup>t</sup> du $\beta^+$	$E_{\text{max}} \beta^+$ (MeV)	$E_{\text{moy}} \beta^+$ (MeV)	$R_{\text{max}}$ dans l'eau (mm)	$R_{\text{moy}}$ dans l'eau (mm)	Période (min)
$^{11}\text{C}$	99%	0.96	0.39	3.9	0.9	20
$^{15}\text{O}$	98%	1.73	0.73	7.9	2.4	2
$^{18}\text{F}$	97%	0.64	0.25	2.3	0.6	110
$^{64}\text{Cu}$	18%	0.65	0.28	2.5	0.7	762
$^{68}\text{Ga}$	89%	1.90	0.83	9.0	2.8	68
$^{89}\text{Zr}$	22%	0.90	0.40	4.2	1.3	4704

Tableau 6: caractéristiques physiques des principaux isotopes émetteurs de  $\beta^+$ .  $^{11}\text{C}$  = Carbone 11;  $^{15}\text{O}$  = Oxygène 15;  $^{18}\text{F}$  = Fluor 18 ;  $^{64}\text{Cu}$  = Cuivre 64 ;  $^{68}\text{Ga}$  = Gallium 68 ;  $^{89}\text{Zr}$  = Zirconium 89;  $E_{\text{max}} \beta^+$  = Energie maximale de l'émission  $\beta^+$ ,  $E_{\text{moy}} \beta^+$  = Energie moyenne de l'émission  $\beta^+$ ,  $R_{\text{max}}$  = libre parcours maximal ,  $R_{\text{moy}}$  = libre parcours moyen.

### 1.2.2. Réaction d'annihilation

Une fois émis, le positon parcourt quelques millimètres dans les tissus (tableau 6), au cours desquels il perd toute son énergie cinétique par suite de collisions inélastiques avec les électrons du milieu. La distance parcourue par le positon est appelée libre parcours moyen du positon. Elle est déterminée par l'énergie cinétique d'émission des positons. Quand le positon est au repos, il se recombine avec un électron du milieu, de charge opposée. La paire électron/positon ainsi formée, dont la durée de vie moyenne est de l'ordre de  $10^{-10}$  secondes, va alors s'annihiler et produire simultanément 2 photons de 511

keV émis dans des directions quasiment opposées. Au cours de cette réaction d'annihilation, la masse des deux particules se transforme donc en deux photons gamma de 511 keV, émis avec un angle de  $180 \pm 0.5^\circ$  (figure 10). En effet, comme les positons ne sont pas complètement au repos avant cette annihilation, la distribution de l'angle entre les directions des 2 photons correspond à une Gaussienne centrée sur  $180^\circ$  et de largeur à mi-hauteur (LMH) d'environ  $0,5^\circ$ .

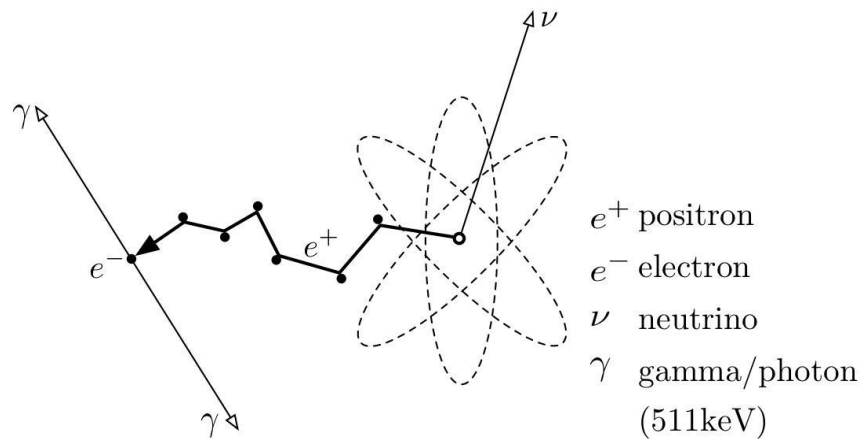


Figure 10: Désintégration du positon

### 1.2.3. Parcours des photons dans les tissus

Les 2 photons gamma émis à environ  $180 \pm 0,5^\circ$  lors de la réaction d'annihilation se propagent dans la matière. Environ 40% de ces photons de 511 keV s'échappent du corps humain sans avoir interagi. Les autres photons interagissent dans les tissus selon deux effets principaux :

L'effet photoélectrique (Figure 11): le rayonnement gamma d'énergie  $E_i$  interagit avec un électron lié au noyau par une énergie de liaison  $E_{li}$ . Le photon gamma est totalement absorbé par l'électron qui est alors arraché du cortège électronique avec une énergie cinétique  $E_e$  telle que

$$E_e = E_i - E_{li}$$

La probabilité d'interaction par effet photo-électrique croit très rapidement avec le numéro atomique  $Z$  du milieu (proportionnelle à  $Z^5$ ) et décroît avec  $E_i$ .

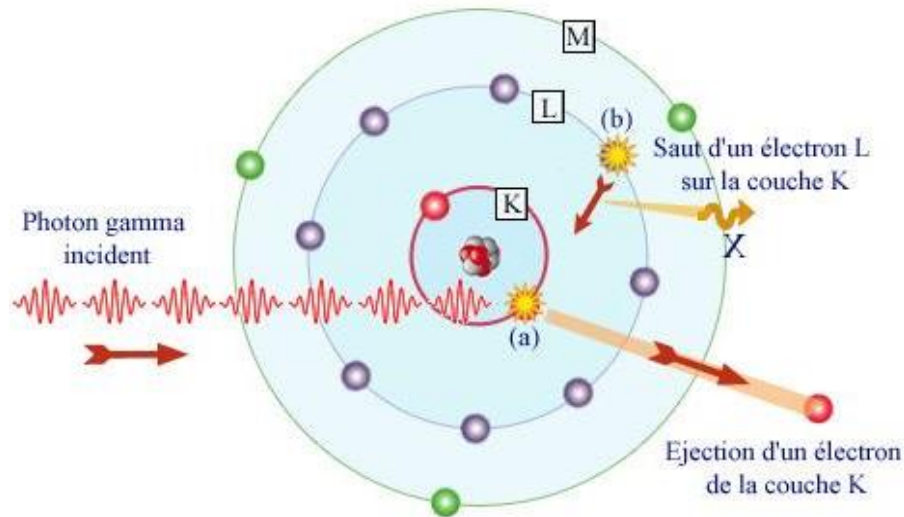


Figure 11: effet photoélectrique

L'effet Compton (Figure 12) : il s'agit de l'interaction d'un rayonnement gamma avec un électron du milieu (libre ou faiblement lié). Le photon gamma est diffusé avec un angle  $\Theta$  par rapport à sa direction incidente. Au cours de l'interaction le photon cède une partie de son énergie à l'électron sous forme d'énergie cinétique. L'électron, à l'origine au repos, ayant donc acquis de l'énergie cinétique est mis en mouvement. Il part alors avec une trajectoire faisant un angle  $\phi$  par rapport à la direction incidente du photon gamma. La probabilité d'interaction par effet Compton est proportionnelle au numéro atomique ( $Z$ ) du milieu. L'effet Compton est prédominant à 511 keV.

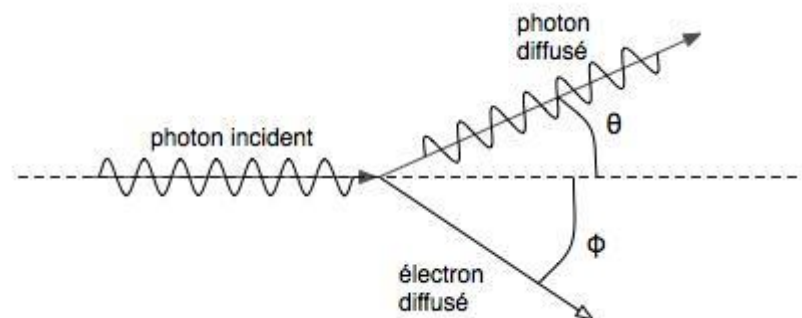


Figure 12: effet Compton

### 1.3. Fonctionnement et caractéristiques des détecteurs de la TEP

#### 1.3.1. Principes de la détection des photons coïncidents

L'annihilation du positon se caractérise par l'émission de deux photons gamma de 511 keV dans des directions opposées. Cette propriété est utilisée par la TEP pour déterminer le site de l'annihilation au moyen de deux détecteurs qui détectent quasi simultanément les

deux photons opposés. L'information mesurée correspond au lieu d'annihilation et non à celui de l'émission du positon.

L'appariement des paires de photons détectés par l'électronique de détection, ou circuit de coïncidence, du système TEP peut correspondre à plusieurs types de coïncidences (figure 13) :

#### Les coïncidences vraies

Elles correspondent à la détection de 2 photons de 511keV provenant d'une même annihilation et qui sont détectés à  $180^\circ$  l'un de l'autre de façon quasi simultanée

#### Les coïncidences fortuites

Elles correspondent à l'enregistrement de deux photons issus de deux annihilations différentes mais qui arrivent simultanément et face à face sur les détecteurs. Le taux de coïncidences fortuites dépend de la taille de la fenêtre temporelle et croît comme le carré de la radioactivité présente dans le champ de vue du système de détection.

#### Les coïncidences diffusées

Outre les coïncidences fortuites, les principales sources de biais et d'altération du rapport signal sur bruit de l'image proviennent de l'enregistrement de coïncidences diffusées. Dans ce cas, le (ou les) photon(s) d'annihilation change(nt) de direction après une ou plusieurs interactions Compton.

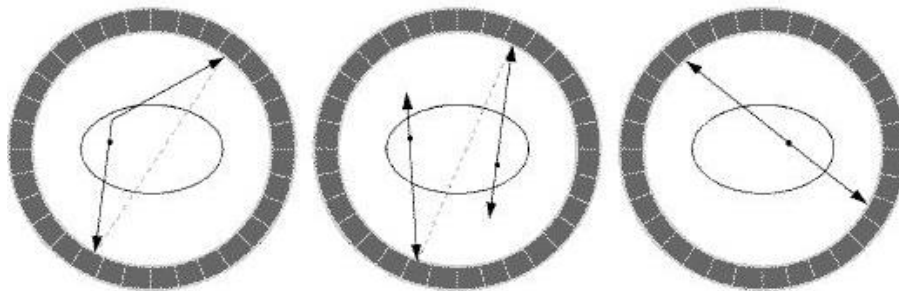


Schéma 1

Schéma 2

Schéma 3

Figure 13 : Différents types de coïncidence : -Coïncidence diffusée : elle se produit lorsque les photons subissent une diffusion Compton dans le patient avant de rencontrer le cristal (schéma1) - Coïncidence fortuite: les 2 rayons  $\gamma$  proviennent de 2 annihilations distinctes (schéma 2). Coïncidence vraie : coïncidence de rayons  $\gamma$  provenant d'une même annihilation (schéma 3).

L'électronique de détection des photons coïncidents doit pouvoir appairer correctement les photons issus de coïncidences vraies, déterminer le plus précisément le lieu de l'annihilation des 2 photons coïncidents dans le champ de vue de la TEP, tout en



limitant la détection des coïncidences fortuites et diffusées. Pour cela, l'électronique de détection utilise une fenêtre temporelle et une fenêtre en énergie. Les développements technologiques récents des détecteurs TEP visent à améliorer la précision de ces deux fenêtres.

### 1.3.2. Résolution temporelle et énergétique des détecteurs

Toute détection de photon enregistrée par le détecteur est individuellement analysée (énergie déposée par le photon et instant  $t$  de détection). De la précision avec laquelle l'énergie du photon et l'instant  $t$  sont déterminés par le détecteur, dépend le bon appariement des coïncidences vraies. Ces coïncidences sont détectées dans un intervalle de temps appelé de manière conventionnelle  $2\tau$ , qui correspond à la fenêtre temporelle du système.

Les imperfections des résolutions énergétique et temporelle des détecteurs utilisés ont plusieurs conséquences :

- La détection de coïncidences diffusées et fortuites qui génère un bruit de fond et dégrade le rapport signal sur bruit de l'image et l'exactitude du système pour la quantification de l'activité de la source.
  - La détection des coïncidences vraies permet de définir les lignes de réponses (LDR) dans le champ de vision de la caméra TEP. Cependant, le lieu exact de l'annihilation sur cette ligne est inconnu.
- Le taux de coïncidences fortuites peut être estimé à partir du taux de comptage d'événements simples par un détecteur ( $N$ ) selon la formule suivante :

$$\text{Coïncidences fortuites} = 2\tau \times N^2$$

Le nombre de coïncidences fortuites détecté dépend donc de la taille de la fenêtre temporelle et croît comme le carré de la radioactivité présente dans le champ de vue du système de détection. Meilleure la résolution temporelle du détecteur est, moins le système TEP acceptera de coïncidences fortuites, améliorant le rapport signal sur bruit de l'image. Les coïncidences fortuites sont distribuées uniformément dans le champ de vision.

- Le taux de coïncidences diffusées dépend de la résolution en énergie du détecteur. Prenons l'exemple d'un détecteur scintillateur dont la résolution énergétique est

médiocre, de l'ordre de 10-20%, nécessitant une fenêtre en énergie de 410-610keV pour accepter la plupart des photons issus de coïncidences vraies. Du fait de cette large fenêtre, une partie des coïncidences diffusées est également prise en compte.

- Au total, le rapport signal sur bruit s'exprime par le Noise Equivalent Count Rate (NECR).

$$NEC = \frac{V^2}{V + F + D}$$

V = coïncidences vraies

F = coïncidences fortuites

D = coïncidences diffusées

Ces rappels soulignent que le NECR de l'image peut être optimisé en diminuant le taux de coïncidences diffusés, grâce à des détecteurs avec une meilleure résolution énergétique (fenêtre en énergie plus étroite), et en diminuant les coïncidences fortuites, grâce à des détecteurs avec une meilleure résolution temporelle (fenêtre temporelle plus étroite).

Les caractéristiques techniques des détecteurs sont donc primordiales pour la qualité de l'image scintigraphique. Il s'agit également d'un enjeu majeur pour optimiser la quantification en TEP.

### 1.3.3. Résolution spatiale des détecteurs

#### 1.3.3.1. Facteurs limitants la résolution spatiale

La résolution spatiale du système TEP rencontre deux limites :

\* La première limite physique est le libre parcours du positon dans les tissus avant son annihilation, dépendant de son énergie cinétique ( $R_{\text{moy}} = 0,6$  mm pour le  $^{18}\text{F}$  et 2,8 mm pour le  $^{68}\text{Ga}$ ) (tableau7) [123, 124].

Isotopes	Perte de résolution (mm) $\beta^+$	
	FWHM	FWTM
$^{11}\text{C}$	0.19	1.86
$^{15}\text{O}$	0.50	4.14
$^{18}\text{F}$	0.10	1.03
$^{64}\text{Cu}$	0.10	1.05
$^{68}\text{Ga}$	0.58	4.83
$^{82}\text{Rb}$	1.27	10.5

Tableau 7 : Effet du parcours du positon sur la résolution spatiale (mm)

\* La seconde limite physique est le défaut de colinéarité des 2 photons d'annihilation ( $180 \pm 0.5^\circ$ ). Il est dû à l'élan résiduel du positon juste avant l'annihilation. La perte de résolution spatiale liée au défaut de colinéarité dépend essentiellement du diamètre de l'anneau TEP (distance qui sépare les détecteurs des 2 photons coïncidents). En imagerie préclinique du petit animal (anneau TEP <20cm), la perte de résolution spatiale est limitée à moins de 0.5mm. Cependant elle est supérieure à 2 mm pour la clinique, le diamètre de l'anneau TEP étant généralement de 80-90 cm.

La résolution de la TEP dépend de ces 2 facteurs physiques mais également de la résolution intrinsèque du système de détection TEP (algorithme de reconstruction, dimension du cristal, imprécision de codage...).

### 1.3.3.2. Mesure de la résolution spatiale TEP

La résolution spatiale est généralement définie par la largeur à mi-hauteur (LMH) de la réponse du système TEP à une source ponctuelle. La largeur à mi-hauteur, sous-entendu du maximum du pic (Full width at half maximum = FWHM en anglais) est une expression de l'amplitude d'une fonction de distribution normale, donnée pour un système d'imagerie par la distance entre les deux valeurs pour lesquelles la variable est égale à la moitié de sa valeur maximale (figure 14).

La LMH peut être approchée par la formule suivante :

$$LMH = a \sqrt{\left(\frac{d}{2}\right)^2 + b^2 + r^2 + c^2}$$

Où :

- a : Facteur dépendant de l'algorithme de reconstruction utilisé ( $1 \leq a \leq 1.3$ )
- d : dimension du cristal
- b : l'imprécision sur le décodage de la position d'interaction du photon dans le cristal de détection
- r : dimension effective de la source, tenant compte du parcours du positon
- c : effet de la non-colinéarité des 2 photons coïncidents

$$c = 0.5D \times \tan(0.25^\circ) = 0.0022 \times D$$

Avec D = diamètre de l'anneau TEP.

Le profil de distribution du positon dans les tissus est un pic central étroit, entouré d'une large bande de décroissance exponentielle sur plusieurs millimètres. Le pic central étroit, mesuré par la LMH est de moins de 1mm pour le  $^{18}\text{F}$  ( $E_{\text{max}}=0.65\text{MeV}$ ) et de un peu plus de 1 mm pour le Rubidium<sup>82</sup> ( $E_{\text{max}}=3.4\text{MeV}$ ). Son impact sur la dégradation de résolution est donc modeste. Cependant, l'étalement important de la distribution du positon (décroissance exponentielle), s'étendant nettement au-delà du pic central, altère plus sérieusement la netteté et le contraste lors de la reconstruction des images TEP. Cet effet de flou de l'image est mieux représenté par la Largeur Totale au Dixième de la Hauteur (Full width at tenth of maximum = FWTM en anglais) (tableau 7 et figure 14).

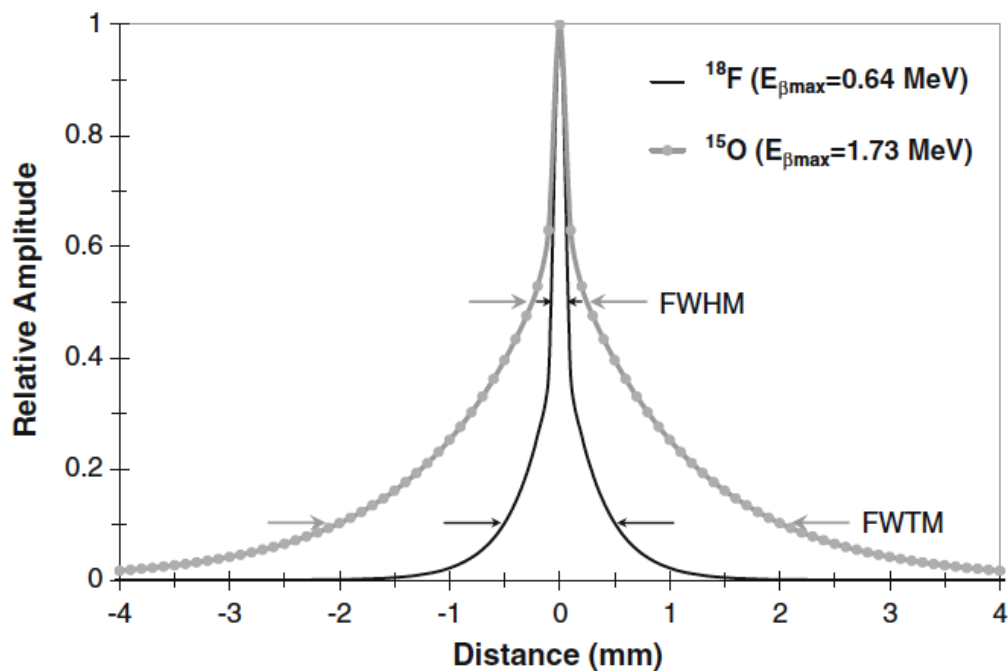


Figure 14 : Profil de distribution du parcours du positon dans les tissus pour le  $^{18}\text{F}$  et  $^{15}\text{O}$  (FWHM = Full-width-at-half-maximum et FWTM = Full-width-at-tenth-of-maximum). En abscisse: distance parcouru par le positon ; en ordonnée : nombre relatif de positons. Schéma extrait de l'article de Lecomte et al. [125].

#### 1.3.4. Le « temps de vol » en TEP

Le rapport signal sur bruit de l'image peut être amélioré si le lieu de l'annihilation du positon est localisé plus précisément sur la ligne de réponse en TEP. Ceci est possible grâce à l'information « temps de vol » des TEP de dernière génération.

Connaissant la vitesse de la lumière ( $c$ ) et le décalage entre les temps d'arrivée des 2 photons gammas sur les deux détecteurs ( $\Delta t$ ), il est possible de réduire l'incertitude sur le lieu d'annihilation des photons sur la LDR, et ce d'autant plus précisément que la résolution temporelle du système TEP est élevée.

Avec

$$\Delta x = \frac{c \times \Delta t}{2}$$

Et

$$\Delta t = t_2 - t_1$$

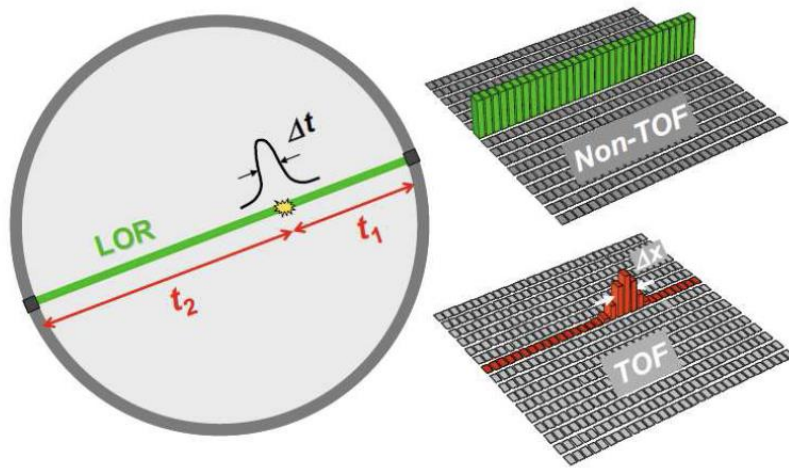


Figure 15: principe de la réduction de l'incertitude sur le lieu d'annihilation avec la mesure de temps de vol (Time of Flight) ; Source : (Lecomte, 2009) [125].

Par exemple, une précision temporelle de 500 ps, ce qui correspond à l'ordre de grandeur des systèmes TEP temps de vols actuels, permet de localiser le lieu d'annihilation du positon avec une précision de 7,5 cm sur la LDR. Cette information est alors exploitée au niveau de l'algorithme de reconstruction des images. Les détecteurs utilisés et la chaîne de traitement de l'information doivent être très rapides. Cette technologie, possible grâce à l'amélioration de la résolution temporelle des détecteurs, permet le suivi et la mesure des événements gamma de manière plus précise en utilisant des mesures très rapides de l'instant  $t$  de détection du photon (figure 15). Le NECr de l'image est amélioré. Le gain du rapport signal sur bruit peut être calculé par le ratio suivant, tenant compte de la taille de l'objet (patient) situé dans le champ de vue de la TEP.

$$\frac{SNR_{TOF}}{SNR_{NON-TOF}} = \sqrt{\frac{D_{objet}}{\Delta x}}$$

Avec une TEP TOF dont la résolution temporelle est de 500ps ( $\Delta x=7.5\text{cm}$ ), le gain attendu de rapport signal sur bruit, et donc de sensibilité du système TEP, est de 2.3 (si  $D_{objet} = 40\text{cm}$ ), ce qui permet soit une réduction de la radioactivité du radiopharmaceutique injecté (réduction de l'irradiation du patient), soit une réduction du temps d'acquisition de l'examen. Par exemple, la dose usuelle de  $^{18}\text{F-FDG}$  injectée au patient est de 2 à 3 MBq/kg avec un système TEP temps de vol, contre 5 MBq/kg avec un système TEP conventionnel. La dose injectée est donc réduite de 40 à 60%.

### 1.3.5. Technologie des détecteurs TEP

Les systèmes TEP les plus couramment utilisés sont constitués d'une couronne de détecteurs élémentaires répartis en anneau autour du patient [126]. Ces détecteurs sont composés de 2 éléments principaux : le cristal scintillant et le photodétecteur. Le cristal permet la détection des photons gamma : ils interagissent avec les électrons du cristal en cédant leur énergie et générant des scintillations. L'énergie lumineuse ainsi créée est ensuite dirigée vers le photodétecteur, qui la convertit en impulsion électrique mesurable.

#### 1.3.5.1. *Description du scintillateur*

Le cristal scintillant idéal, c'est-à-dire le cristal qui permet d'obtenir à la fois une bonne résolution spatiale et une bonne efficacité de détection, doit posséder les propriétés suivantes [127] :

- une densité et un coefficient d'atténuation linéaire élevés pour maximiser la probabilité que les photons de 511 keV interagissent dans un petit volume de cristal. En effet, plus le volume du détecteur est faible, meilleure la résolution spatiale des images est.

- une photo-fraction élevée pour que le maximum de photons dépose la totalité de leur énergie par effet photoélectrique.

- une faible constante de décroissance, c'est-à-dire l'émission d'un grand nombre de photons lumineux par unité de temps ; elle conditionne la résolution temporelle du système de détection. Meilleure la résolution temporelle du détecteur est, plus étroite sera l'ouverture de la fenêtre temporelle de coïncidence. Comme nous l'avons vu précédemment, une fenêtre étroite permet de limiter la détection de coïncidences fortuites. Une constante de décroissance très rapide permet également de réduire le temps mort relatif à chaque mesure.

- La résolution en énergie du détecteur est importante pour la collimation électronique, qui utilise l'énergie des photons pour séparer les coïncidences vraies des coïncidences diffusées. Cette caractéristique du cristal est particulièrement importante pour les acquisitions corps-entier en 3D, situation dans laquelle la détection des photons diffusés est majeure (jusqu'à 60%).

Le tableau 8 résume certaines propriétés des cristaux les plus couramment utilisés.

<b>Scintillateur</b>	<b>NaI(Tl)</b>	<b>BGO</b>	<b>GSO</b>	<b>LSO</b>	<b>LYSO</b>
<b>Densité (g/cm<sup>3</sup>)</b>	3.7	7.1	6.7	7.4	7.2
<b>Epaisseur d'atténuation 1/μ à 511 keV (mm)</b>	25.9	11.2	15.0	12.3	12.6
<b>Photofraction (%) *</b>	18	42	26	34	33
<b>Photofraction<sup>2</sup> (%) **</b>	3.2	19	6.8	12	11
<b>Décroissance de la scintillation (ns)</b>	230	300	60/600	40	40
<b>Résolution en énergie (en % de 511Kev)</b>	7.8	20	8.9	<9	11

Tableau 8: principaux scintillateurs utilisés pour détecter les photons de 511 keV en TEP.

\*Photofraction = probabilité d'absorption par effet photoélectrique.

\*\*Photofraction<sup>2</sup> = probabilité d'absorption des 2 photons coïncidents par effets photoélectrique.

A Dijon, de 2002 à 2006, la TEP Philips utilisée (modèle C-PET) était équipée d'un cristal d'iodure de sodium dopé au thallium (NaI(Tl)). En 2006, une TEP Philips Gemini a été installée, elle était équipée d'un cristal de type GSO (orthosilicate de gadolinium). En 2010, elle a été remplacée par une TEP Philips « temps de vol » (Gemini TF) équipée d'un cristal d'orthosilicate de lutétium (LYSO).

Un autre cristal scintillant utilisé sur les machines TEP commercialisées est le germanate de bismuth (BGO).

Comparativement au cristal utilisé dans les premiers systèmes TEP (le NaI(Tl) qui a comme avantage d'être peu onéreux), les cristaux BGO, LSO et LYSO sont des cristaux de densité élevée, avec un fort pouvoir d'arrêt des photons. Par exemple, 11mm d'épaisseur de BGO et 12mm de LYSO sont nécessaires pour que 63% des photons de 511keV interagissent dans le cristal, contre 26mm d'épaisseur pour le NaI(Tl). La probabilité d'interaction du photon par effet photo-électrique est un peu plus élevée pour le BGO (42%) que pour le LYSO (33%), et nettement supérieur à celui du NaI(Tl) (18%). Le LYSO a une décroissance de scintillation considérablement plus rapide que le BGO (40ns versus 300ns), ce qui augmente le taux de comptage maximum, diminue le taux de coïncidences fortuites, et permet une acquisition avec calcul du temps de vol du photon.

La plupart des cristaux ont un fonctionnement compatible avec un champ magnétique élevé, et peuvent donc être utilisés dans les systèmes TEP-IRM, à l'exception du cristal



GSO qui contient une quantité importante de gadolinium dont les propriétés paramagnétiques perturbent le champ magnétique.

#### 1.3.5.2. Description du photodétecteur

Les photons de scintillations sont ensuite interagir dans un photodétecteur, qui va les convertir en un signal électronique. Il existe différents types de photodétecteurs. Nous allons évoquer les 4 principaux utilisés ou utilisables dans les systèmes TEP :

- les photomultiplicateurs, actuellement les plus utilisés dans les systèmes TEP
- les photodiodes à avalanches (ou APD pour Avalanche Photodiodes), fabriqués à partir de semi-conducteurs.
- les SiPMs (Silicone photo-multiplicateur), composés d'un ensemble de microcellules APD de faible surface
- les digital-SiPMs, dernière évolution technologique des SiPMs

##### 1.3.5.2.1. Le photomultiplicateur

Dans la plupart des TEP actuelles, les matrices de cristaux scintillants sont couplées à des tubes photomultiplicateurs pour amplifier et convertir le signal lumineux en un signal électronique. L'association des photomultiplicateurs aux matrices de cristaux forme un bloc de détection.

Les avantages des photomultiplicateurs sont un gain très élevé (défini comme le rapport entre le nombre d'électrons recueillis à l'anode et celui reçu sur la première dynode), de l'ordre de  $10^6$ , un faible bruit du système et une réponse relativement rapide du système entre la détection du photon incident et l'impulsion électrique de sortie, de l'ordre de la nanoseconde ( $10^{-9}$  seconde).

Leur inconvénient principal est qu'il s'agit de systèmes relativement volumineux, qui ne peuvent être couplés à un seul cristal de petite taille, et doivent donc être associés à une matrice de cristaux scintillants. La taille du photomultiplicateur, qui ne peut être réduite à moins de 10mm de diamètre actuellement, est donc une limite à l'amélioration de la résolution spatiale du couple scintillateur-photomultiplicateur.

Un second inconvénient est que le fonctionnement d'un photomultiplicateur est affecté par la présence d'un champ magnétique, même d'aussi faible intensité que le champ terrestre. Ils ne sont donc pas utilisables dans les systèmes TEP-IRM. Le champ

magnétique dévie la trajectoire des électrons entre la photocathode et les dynodes (figure 16), ce qui altère à la fois le gain et la résolution énergétique du photomultiplicateur.

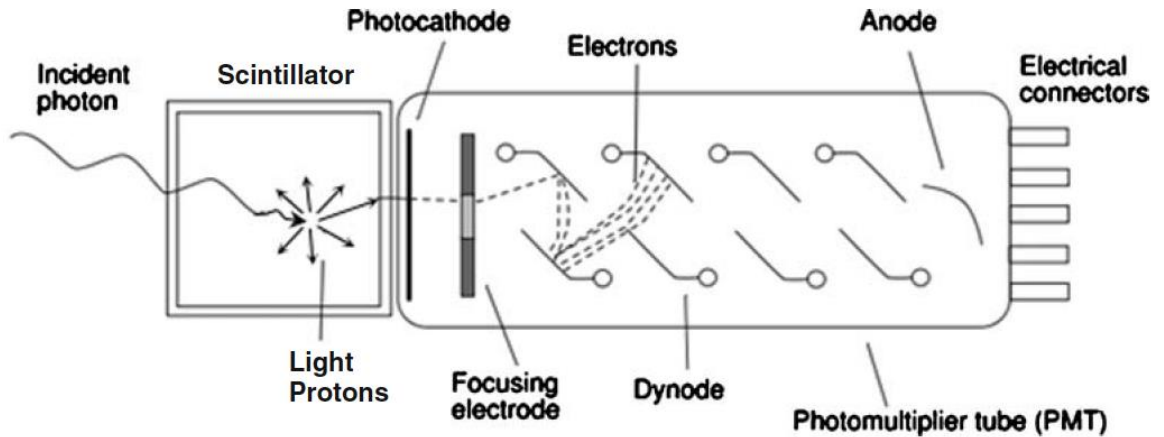


Figure 16 : schéma du photo-détecteur standard en TEP, composé d'un photomultiplicateur couplé à un cristal scintillateur. Extrait de l'article de Lecomte et al. [125].

#### 1.3.5.2.2. Les photodiodes à avalanches (APDs)

Les APDs sont une solution technologique alternative aux tubes photomultiplicateurs. Il s'agit de semi-conducteurs : le photon va interagir directement par effet photo-électrique ou Compton dans le matériau semi-conducteur composant l'APD, et ainsi lui céder une partie ou la totalité de son énergie sous forme d'énergie potentielle (ionisation) et cinétique. L'électron éjecté lors de l'interaction va déclencher à son tour d'autres ionisations en cascade. Un nuage d'électrons va se créer au sein du semi-conducteur. Le semi-conducteur étant polarisé par une haute tension, les électrons vont être attirés vers l'anode et engendrer ainsi un courant mesurable dans un circuit connecté au détecteur. Du fait de cette haute tension, Les APDs possèdent un temps de réponse rapide, pouvant descendre sous la nanoseconde [128].

L'amplification des électrons se fait dans le semi-conducteur et n'est pas perturbé par le champ magnétique. Comme il s'agit également de systèmes de détection compacts, leur utilisation est intéressante pour la conception de systèmes TEP-IRM dans lesquels les détecteurs TEP pourraient être placés à l'intérieur du tunnel étroit de l'IRM .

Par rapport aux photomultiplicateurs, ils présentent également une très bonne résolution en énergie.

Les APDs présentent deux inconvénients principaux :

- Leur fonctionnement est très dépendants de la température : leur gain et le bruit de sortie du système varie fortement avec celle-ci (par agitation thermique dans le semi-conducteur). Un système de régulation de la température est nécessaire.
- Leur gain ne dépasse généralement pas  $10^3$ , raison pour laquelle le signal de sortie doit généralement être amplifié.

#### 1.3.5.2.3. Les SiPMs

Les SiPMs sont des photodétecteurs qui utilisent des matrices de microcellules APD fonctionnant en mode Geiger à faible tension de polarisation.

Ce sont des détecteurs très compacts, formés d'une matrice de milliers cellules de détection (typiquement 576 pour un détecteur de  $1\text{mm}^2$  de surface). La taille des SiPMs va de  $1 \times 1$  à  $5 \times 5 \text{ mm}^2$ . Du fait de leur compacité, chaque SiPMs peut être couplé à un cristal unique (couplage un pour un), ce qui permet une résolution spatiale élevée du bloc de détection mais nécessite de multiplier les canaux de lecture et les composants électroniques du traitement du signal. Ceci induit une forte production de chaleur : un système de refroidissement est donc nécessaire. Bien que chaque photocellule réagisse de manière binaire (soit elle est au repos, soit elle capte un photon et émet une quantité fixe de signal électrique par photon), le signal du SiPM est une mesure analogique car obtenu en cumulant les signaux de l'ensemble des cellules. Un circuit électronique intégré de traitement du signal de type ASIC (Application-Specific Integrated Circuit) permet sa numérisation.

Les SiPMs sont caractérisés par un fort gain, de l'ordre de  $10^6$ , comparable à celui des photomultiplicateurs et supérieur à celui des APDs.

Leur résolution temporelle peut atteindre 60ps, ce qui est supérieur à celle des APDs [129]. Ces détecteurs sont donc particulièrement bien adaptés pour les systèmes TEP Temps de vol [130].

Les avantages de ce détecteur sont également sa faible tension d'alimentation (entre 30 et 80 V), sa faible consommation électrique ( $<100\mu\text{W}/\text{mm}^2$ ) et, comme pour les APDs, son insensibilité au champ magnétique jusqu'à 7 Tesla [128].

Ils ont comme inconvénients de présenter un bruit important (de 300 kHz à 10 MHz) pénalisant la détection de flux très faibles et d'avoir un gain dépendant de la température. Par ailleurs, la surface active du détecteur SiPM n'étant pas de 100% (présence de silicone

entre les cellules photodétectrices), leur efficacité de photo-détection est de 10 à 40 % (lorsqu'associés au cristal LSO), inférieure à celle de APDs.

Au total, les photodétecteurs SiPMs sont une technologie prometteuse à la fois pour les prochaines générations de TEP, mais également pour les systèmes hybrides TEP-IRM.

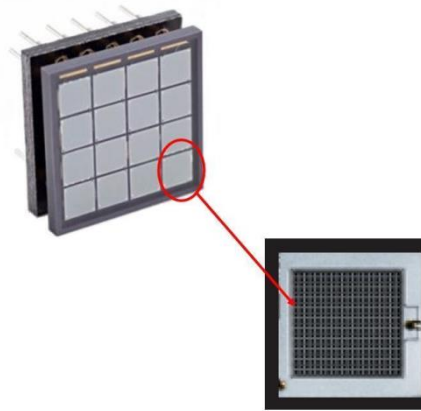


Figure 17: Schéma des SiPMs. Chaque SiPM est une matrice constituée de milliers de cellules photo-sensibles (des APD en mode Geiger) de dimensions très réduites (entre 20 et 100 micromètres de côté). Chaque cellule réagit de manière binaire : soit elle est au repos, soit elle capte un photon et émet une quantité fixe de signal électrique par photon. Le signal du SiPM est obtenu en cumulant les signaux de l'ensemble des cellules. On obtient ainsi une mesure analogique de la quantité de lumière détectée par un SiPM, mesure qui peut aller du photon unique à plus de 10 000 photons détectés. Au sein du bloc de détection, Les SiPMs sont eux même assemblés en tableaux de 4 x 4 ou de 16 x 16 éléments.

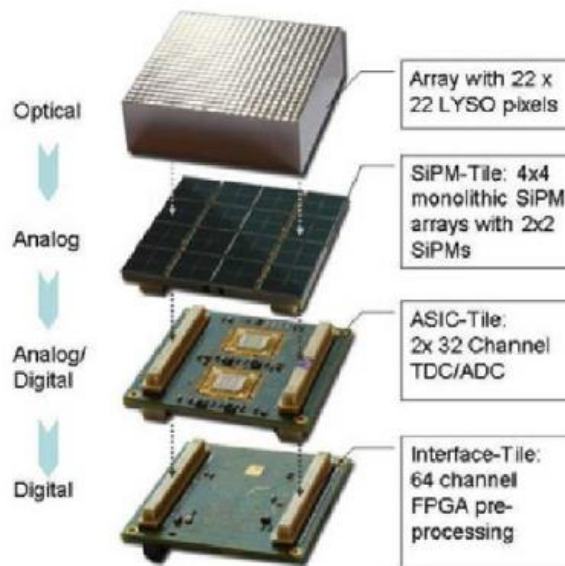


Figure 18: schéma du système de photodétection Cristal / SiPM / système ASIC (Application-Specific Integrated Circuit) pour la numérisation du signal analogique / système de pré-traitement FPGA (field-programmable gate array) : il s'agit d'un circuit logique intégré programmable capable de traiter différentes informations du signal numérique dont l'énergie d'impulsion totale de l'évènement et l'instant t de cette impulsion pour l'appariement des paires de photons coïncidents. Schéma extrait de l'article de Vandenberghe et al. [128].

#### 1.3.5.2.4. Les digital SiPMs

Un des derniers développement technologique des photodétecteurs est l'apparition des SIPM numérique (« digital SiPM ») [131]. Les signaux de cellules photodéetectrices sont individuellement analysés et additionnés directement sous forme de signal numérique. Contrairement aux SiPMs « conventionnels », le signal n'est donc plus analogique. Une partie de l'électronique de détection et du traitement du signal est directement intégrée au capteur : les systèmes ASIC (Application-Specific Integrated Circuit) pour la numérisation du signal analogique ne sont plus nécessaires. Cela aboutit à une amélioration de la performance et une baisse de la sensibilité des détecteurs à la température.

La société Philips a récemment commercialisé une TEP « temps de vol » utilisant des digital SiPMs couplés à un cristal LSO (couplage un pour un). Ces photodétecteurs ne présentent pas le problème de bruit électronique des SiPMs, la résolution spatiale du système est de 1 à 1.6 mm (LHM), la résolution temporelle de 160ps, la résolution en énergie de 12%. Cette nouvelle génération de TEP temps de vol permet donc un net gain de sensibilité de détection des lésions infra-centimétriques et un gain de précision de la quantification de la fixation du radiotraceur de ces lésions [131].

Type de photodétecteur	Photo-multiplicateur	APD	SiPM	Digital SiPM
Compatibilité IRM	Non	Oui	Oui	oui
Compatibilité TOF	Limitée	Non	Oui	oui
Amplification du signal	elevée ( $10^6$ )	moyenne ( $10^3$ )	elevée ( $10^6$ )	non applicable
Compacité	Volumineux	Compact	Compact	compact
Système ASIC	Nécessaire	Nécessaire	Nécessaire	intégré

Tableau 9 : Tableau récapitulatif des principales caractéristique des différents systèmes de photodétection.

#### 1.4. Mode d'acquisition et reconstruction tomographique

Deux modes d'acquisitions sont possibles en TEP : le mode 2D et le mode 3D.

*Mode d'acquisition 2D* : La méthode d'acquisition 2D, bidimensionnelle, est la plus ancienne. Cela signifie que seules les lignes de réponses ayant une incidence

perpendiculaire au plan du détecteur sont acceptées. En pratique, l'acquisition en mode 2D est réalisée en positionnant des parois de plomb (ou septa) entre les différentes couronnes de détecteurs. En mode 2D, 10 % des coïncidences détectées impliquent au moins un photon diffusé.

*Mode d'acquisition 3D:* Ce mode d'acquisition réalisé en l'absence de septa permet de mesurer l'ensemble des coïncidences. Il en résulte une augmentation importante de la sensibilité, ce qui permet de réduire la radioactivité injectée. En revanche le taux d'évènements diffusés et aléatoires est nettement plus élevé qu'en 2D : il peut excéder 50 %. Au niveau des images, cela se traduit par une diminution du contraste, du rapport signal sur bruit, une perte en résolution spatiale et une modification du nombre d'évènements comptés par pixel. Un détecteur avec une résolution en énergie élevée, permettant de mieux discriminer les photons diffusés, est donc indispensable pour une acquisition 3D de bonne qualité.

Les paires de photons détectées en coïncidence vont être reconstituées et stockées sous la forme d'un sinogramme. Un sinogramme contient tous les éléments de projection d'une coupe de l'objet. Les données de ces sinogrammes vont ensuite pouvoir être traitées afin d'obtenir une cartographie de la radioactivité au sein du volume étudié : c'est ce qu'on appelle la reconstruction tomographique. En imagerie TEP, les reconstructions itératives (par exemple la méthode OSEM) sont actuellement la référence. Elles permettent d'éliminer les artefacts en étoile autour des structures hyperfixantes intenses, habituellement observées avec les reconstructions analytiques. Bien que leur mise en œuvre se traduise par une augmentation du temps de calcul, ceci ne pose plus problème du fait de l'augmentation de la puissance des consoles de traitement d'image. A Dijon, les TEP Gemini XL PET/CT et Gemini TF de Philips utilisent la méthode dite "row-action maximum-likelihood algorithm » (RAMLA).

### **1.5. Corrections de l'atténuation**

Les photons gamma émis lors de l'annihilation subissent une absorption dans la matière : il s'agit du principe d'atténuation. Afin de corriger ce phénomène, les TEP sont couplées à un scanner dont le rayonnement X, détecté à sa sortie après avoir traversé les tissus, donne une cartographie précise des coefficients d'atténuation, variables en fonction des différents tissus traversés (os, graisse, air...). Il est alors possible de connaître pour

chaque coupe, et, pour chaque point de cette coupe, l'atténuation qu'auront subi les photons lors de la réalisation des images d'émission. L'apport de cette acquisition TDM permet en outre une localisation anatomique précise des lésions, aidant l'interprétation des images scintigraphiques.

Le couplage TEP/TDM est un outil intéressant en pratique clinique, sous réserve qu'un certain nombre d'aspects techniques soient pris en compte. Les coupes TDM sont obtenues dans un intervalle de temps extrêmement réduit, et elles ne correspondent pas rigoureusement aux images d'émission mesurées pendant plusieurs minutes. Les modifications du positionnement du patient (mouvements, respiration) entre les images TEP et TDM peuvent générer des artefacts au moment de la correction d'atténuation. De plus, la juxtaposition des images TEP et TDM sur l'image de fusion peut-être erronée. Par exemple, si l'acquisition TDM s'est faite avec une inspiration de grande amplitude, alors que l'acquisition TEP est systématiquement faite en respiration libre, un foyer hypermétabolique du dôme hépatique peut être faussement localisé au niveau de la base pulmonaire sur les images de fusion.

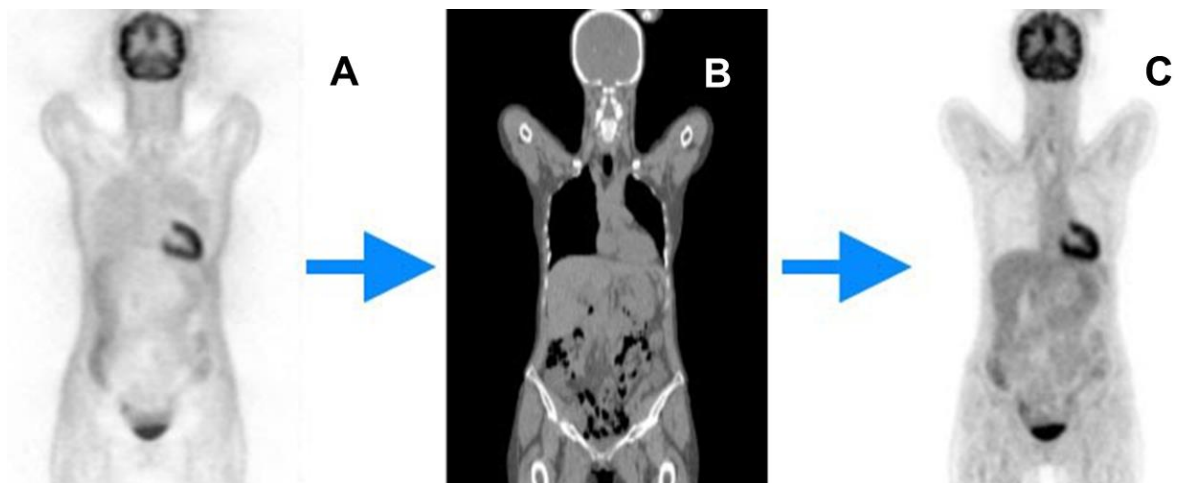


Figure 19 : images TEP non corrigée d'atténuation (A), image TDM pour calcul de la carte d'atténuation de l'image (B), image TEP corrigée de l'atténuation (C).

## 1.6. La mammo-TEP

La mammo-TEP, également appelée mammographie par émissions de positons (MEP), est un système TEP haute résolution dédié uniquement à l'imagerie mammaire. Elle possède une résolution spatiale de 1 à 2 mm de diamètre, contre 4 à 6 mm pour la plupart des systèmes TEP corps entier [132]. Cette résolution spatiale élevée est expliquée par une distance réduite entre les 2 détecteurs des photons coïncidents, et par l'utilisation de photodétecteurs solides en remplacement des photomultiplicateurs. Pour exemple, le

système clear-PEM, utilise des semi-conducteurs de type APD couplés au cristal LYSO. Cette association permet d'obtenir une résolution spatiale de 2.2 mm, une résolution en énergie de 15% pour les photons de 511 Kev, une précision temporelle de 4 ns [133]. Avec le système Clear-PEM, la patiente est positionnée en procubitus et le sein est placé dans un système de détecteurs mobiles sur 360°, qui permet l'acquisition d'images 3D.

Cette résolution élevée de la MEP se traduit par une amélioration de la sensibilité de détection des lésions tumorales mammaires. Une étude de Schilling et al. a montré une sensibilité de détection des lésions tumorales mammaires de 93% pour la MEP, identique à celle de l'IRM mammaire, et supérieure à celle de la TEP corps entier qui est de 68% [134]. Si l'on sélectionne uniquement les tumeurs infra-centimétriques, la sensibilité de la MEP est de 60 à 70% [135].

La spécificité de la MEP se situe entre 92 et 97% et est donc sensiblement supérieure à celle de l'IRM (85-92%). Les quelques résultats faux positifs de la MEP sont généralement dus à la présence de fibroadénomes fixant modérément le  $^{18}\text{F}$ -FDG [134].

Les indications de la MEP sont similaires à celles de l'IRM mammaire : elle est utile pour la stadification de l'extension tumorale intra-mammaire (stade T), la détection de lésions multifocales et/ou controlatérales, la distinction entre une récurrence intra-mammaire et une zone de fibrose post-chirurgicale, et l'évaluation thérapeutique [132]. Comme avec l'IRM, les biopsies mammaires peuvent être guidées par l'imagerie MEP. La technique ne permet pas l'évaluation de l'extension lymphatique.

Les inconvénients de la MEP sont le coût élevé de l'examen, sa faible disponibilité puisque très peu de centres sont équipés de ce système, et l'irradiation des patientes, supérieure à l'IRM mammaire ou à la mammographie, le radionucléide injecté se répartissant dans l'ensemble de l'organisme (irradiation non limitée à la glande mammaire).

En conclusion, La mammo-TEP est un examen performant, de sensibilité équivalente et de spécificité légèrement supérieure à celles de l'IRM mammaire. Cependant, la MEP est un examen très peu disponible, de seconde intention, qui peut être proposé s'il existe une contre-indication à l'IRM mammaire ou dans les cas de caractérisation difficile des lésions mammaires par l'imagerie conventionnelle (présence de tissu mammaire dense ou de risque élevé de cancer multifocal) [132, 136].



## 1.7. Les systèmes TEP/IRM

La TEP couplée au TDM est devenue une imagerie hybride de référence en cancérologie et, à l'heure actuelle, plus aucun constructeur ne commercialise de TEP non couplée au TDM. Le développement de l'imagerie multi-modalités se poursuit actuellement avec l'apparition de systèmes hybrides couplant la TEP avec l'IRM (figure 20). Bien que les preuves de faisabilité de tels systèmes soient contemporaines de celles des systèmes TEP/TDM [137], leur implantation hospitalière est très récente, encore peu répandue, et sera vraisemblablement amenée à se développer dans les années à venir. De manière synthétique, certains problèmes technologiques se posent avec ces systèmes:

- La sensibilité des photomultiplicateurs TEP au champ magnétique de l'IRM. Cependant, comme nous l'avons vu précédemment, le développement technologique récent des photodétecteurs de type APD, SiPM ou digital SiPM, dont le fonctionnement n'est pas altéré par un champ magnétique élevé, est une excellente alternative aux photomultiplicateurs. De plus, du fait de leur compacité, il est envisageable d'intégrer ces détecteurs à l'intérieur de l'anneau IRM, tout en gardant un diamètre de l'anneau compatible avec des images IRM de bonne qualité.
- La perturbation du champ magnétique par les détecteurs TEP.
- La correction d'atténuation des images TEP visant à permettre une semi-quantification fiable de la distribution du radiotraceur. En effet, en imagerie TEP/TDM, les images TDM permettent de calculer la carte des coefficients d'atténuation des tissus à partir de l'atténuation des rayons X. En IRM, les images ne permettent pas de calculer directement les coefficients d'atténuation des rayons par les tissus. Bien que le problème ne soit pas totalement résolu, plusieurs méthodes de segmentation d'image sont en développement afin d'obtenir une carte des coefficients d'atténuation à partir des images IRM [138].

Par rapport à la TEP/TDM, la TEP/IRM permet une nette amélioration de la qualité de l'image (contraste) des tissus mous, tel que le cerveau. Par ailleurs, cette imagerie hybride permet de combiner les nombreuses séquences fonctionnelles ou moléculaires de l'IRM (perfusion, diffusion, spectroscopie...) avec les images TEP. Enfin, la réduction de l'irradiation du patient (dose équivalente de l'ordre de 10 à 15 mSv pour un TEP/TDM corps entier contre 4 à 6 mSv pour une TEP/IRM), semble particulièrement intéressante pour les enfants et les adultes jeunes qui, du fait de leur pathologie, sont amenés à bénéficier de TEP itératives (exemple du lymphome).

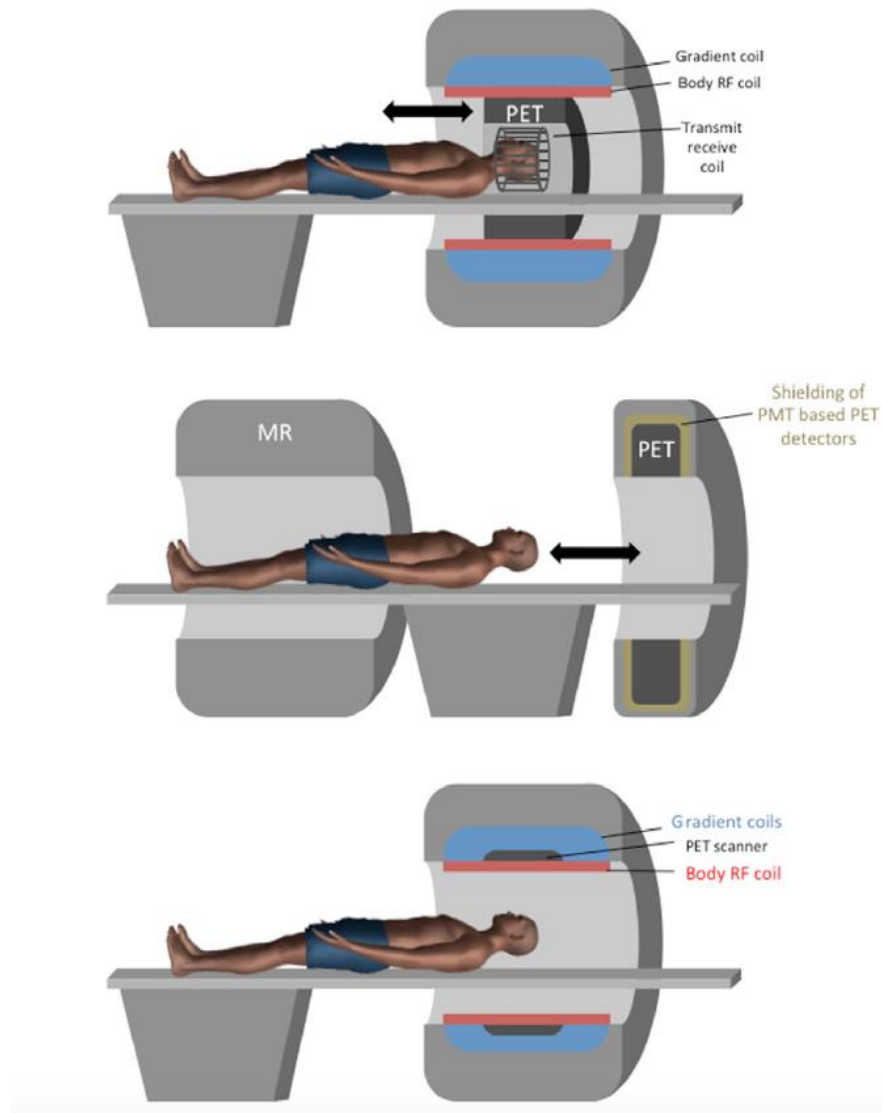


Figure 20 : trois concepts d'intégration de la TEP et de l'IRM : une TEP dédiée à l'acquisition cérébrale insérée dans une IRM corps entier (en haut), un système TEP-IRM séquentiel pour une imagerie corps entier (au milieu) et un système intégrant complètement les systèmes TEP et IRM (en bas). Schéma extrait de l'article de Vandenberghe et al. [128].

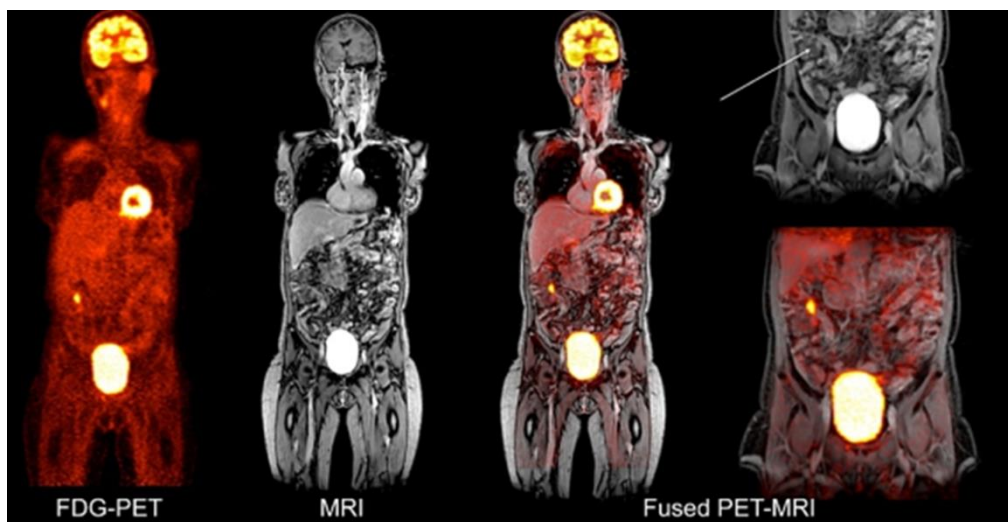


Figure 21: image TEP-IRM corps entier, avec fusion des 2 modalités. Source : "Inflammatory Bowel Disease" [139].

## 2. Le Fluoro-2-Deoxy-D-Glucose marqué au Fluor 18 (<sup>18</sup>F-FDG)

Nous allons rappeler les caractéristiques du métabolisme glucidique des cellules tumorales puis nous étudierons le <sup>18</sup>F-FDG lui-même.

### 2.1. Caractéristiques biologiques des cancers

Une revue récente de la littérature de Hanahan et Weinberg rappelle les 10 principales caractéristiques biologiques développées par les cellules et tissus tumoraux humains au cours de leur évolution (figure 22) [140] :

- Une indépendance vis à vis des signaux de prolifération
- Une insensibilité aux signaux antiprolifératifs
- Le développement d'une résistance à la mort cellulaire
- Une capacité à induire l'angiogenèse
- Une capacité à développer des mécanismes d'invasion et de dissémination
- Un potentiel illimité de réplication
- La capacité de ne pas activer le système immunitaire
- La reprogrammation du métabolisme énergétique
- L'instabilité génomique et les mutations
- L'inflammation



Figure 22 : Résumé des 10 grandes caractéristiques des tissus tumoraux. Schéma extrait de l'article de Hanahan et al, "Hallmarks of cancer: the next generation", publié en 2011 dans la revue "Cell" [140].

La TEP, imagerie fonctionnelle non invasive, est un outil qui permet d'explorer ces diverses voies biologiques tumorales afin de mieux évaluer, comprendre et suivre les modifications de ces voies métaboliques en cours de traitement.

## **2.2. Métabolisme glucidique cellulaire**

### 2.2.1. Métabolisme glucidique des cellules normales

Le glucose est le principal substrat énergétique de l'organisme. Dans la cellule normale, il franchit la membrane cellulaire grâce à un transporteur spécifique dénommé GLUT pour GLUcose Transporter. On dénombre plusieurs transporteurs (Glut 1, 2, 3, ...13). Une fois dans la cellule, les deux principales voies métaboliques du glucose sont la glycolyse et la voie des pentoses phosphate.

#### 2.2.1.1. Voie de la glycolyse

La glycolyse est la voie du métabolisme du glucose en pyruvate et en lactate, via une succession de réactions enzymatiques. Elle est présente dans le cytosol de toutes les cellules. Cette voie a pour particularité de pouvoir fonctionner en présence d'oxygène (glycolyse aérobie), mais également en son absence (glycolyse anaérobie).

En situation aérobie, le pyruvate est le produit final de la succession des réactions enzymatiques de la glycolyse (figure 23). Le pyruvate ne s'accumule pas dans le cytosol mais est transporté dans la mitochondrie par un transporteur spécifique. Il est ensuite transformé en Acétyl-CoA par un complexe multi-enzymatique nommé « pyruvate deshydrogénase ». Lors de cette réaction enzymatique Le nicotinamide adénine dinucléotide (NAD<sup>+</sup>), une co-enzyme d'oxydoréduction, est réduit en NADH. L'acétyl-CoA fournit l'énergie nécessaire à la production d'ATP via le cycle de Krebs et la phosphorylation oxydative mitochondriale.

En situation anaérobie, le métabolisme du glucose diffère du point de vue de la nature de son produit terminal. Comme l'oxygène vient à manquer, le NADH ne peut être réoxydé par le transfert des équivalents réducteurs via la phosphorylation oxydative mitochondriale. Or, lors de la glycolyse, le NADH est requis dans la réaction catalysée par la glyceraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase. Pour que la glycolyse puisse continuer à

fonctionner en situation anaérobie, le pyruvate est réduit en lactate à l'aide du NADH, qui est réoxydé en NAD<sup>+</sup>. Cette réaction est catalysée par la lactate déshydrogénase. L'oxydation du NADH lors de la formation du lactate permet à la glycolyse de se poursuivre en l'absence d'oxygène. Le lactate est donc le produit final de la glycolyse dans des conditions anaérobies (figure 23). Il est expulsé de la cellule par les transporteurs de mono-carboxylate.

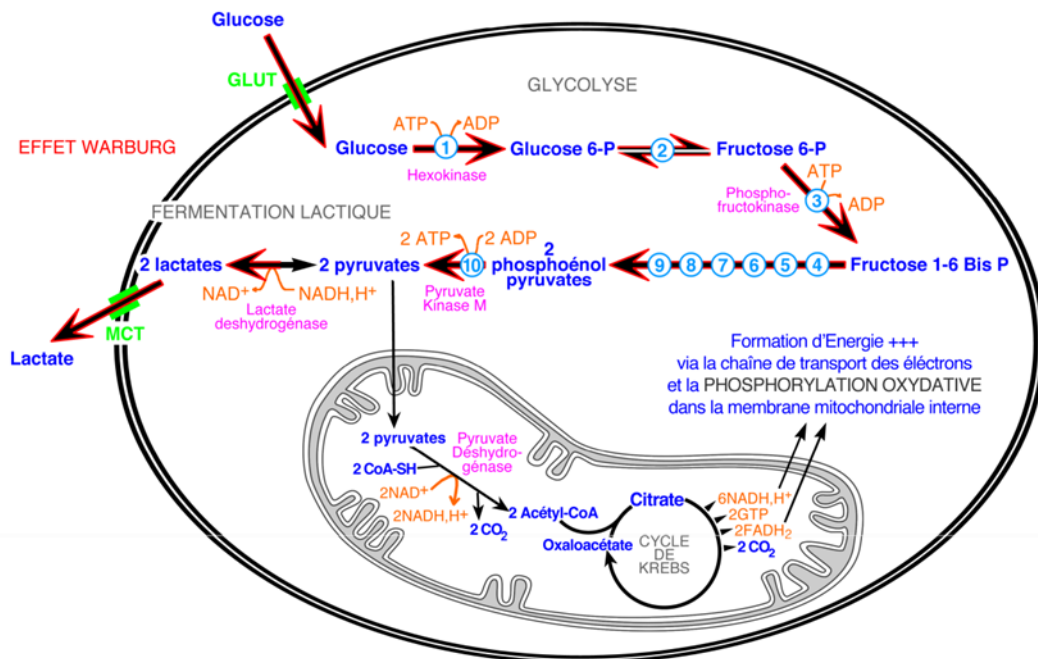


Figure 23 : Glycolyse des cellules normales. Le produit final en aérobose est le pyruvate, mais il s'agit du lactate en anaérobiose

Trois étapes de la glycolyse ne sont pas réversibles et sont donc les sites majeurs de la régulation de la glycolyse. Il s'agit des réactions catalysées par l'hexokinase, la phosphofructokinase et la pyruvate kinase. Au total, l'oxydation d'une molécule de glucose rapporte jusqu'à 38 molécules d'adénosine triphosphate (ATP) en aérobose contre seulement 2 ATP en anaérobiose.

### 2.2.1.2. Voie des pentoses phosphate (figure 24)

La voie des pentoses phosphate, présente dans le cytosol, est l'autre voie majeure du métabolisme du glucose. Elle peut également mener à son oxydation complète. Elle ne produit pas d'ATP mais permet de générer le Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate (NADPH), nécessaire aux synthèses réductrices comme la biosynthèse des

acides gras et des stéroïdes. Elle permet également de fournir le ribose 5 phosphate (ribose-5-P) pour la biosynthèse des nucléotides et des acides nucléiques. Elle peut-être divisée en deux phases : la phase oxydative générant le NADPH et du CO<sub>2</sub> (phase irréversible). La phase non-oxydative fournissant le ribose (phase réversible).

Le ribose-5-P est le produit de la voie oxydative du shunt des pentoses phosphates à partir du glucose 6-P, avec production concomitante de NADPH destiné à des processus de biosynthèse (des acides gras notamment), et de glutathion réduit (GSH) pour les processus de détoxification. Le ribose 5-P est en équilibre direct avec le fructose 6-P et le glycéraldéhyde 3-P (tous les deux sont des produits intermédiaires de la glycolyse). La direction du shunt des pentoses est déterminée essentiellement par la vitesse de conversion du glycéraldéhyde 3-P en pyruvate. Lorsque celle-ci est élevée, comme c'est le cas en normoxie dans les cellules normales, le ribose 5-P est rapidement métabolisé en fructose 6-P, glycéraldéhyde 3-P et finalement en pyruvate.

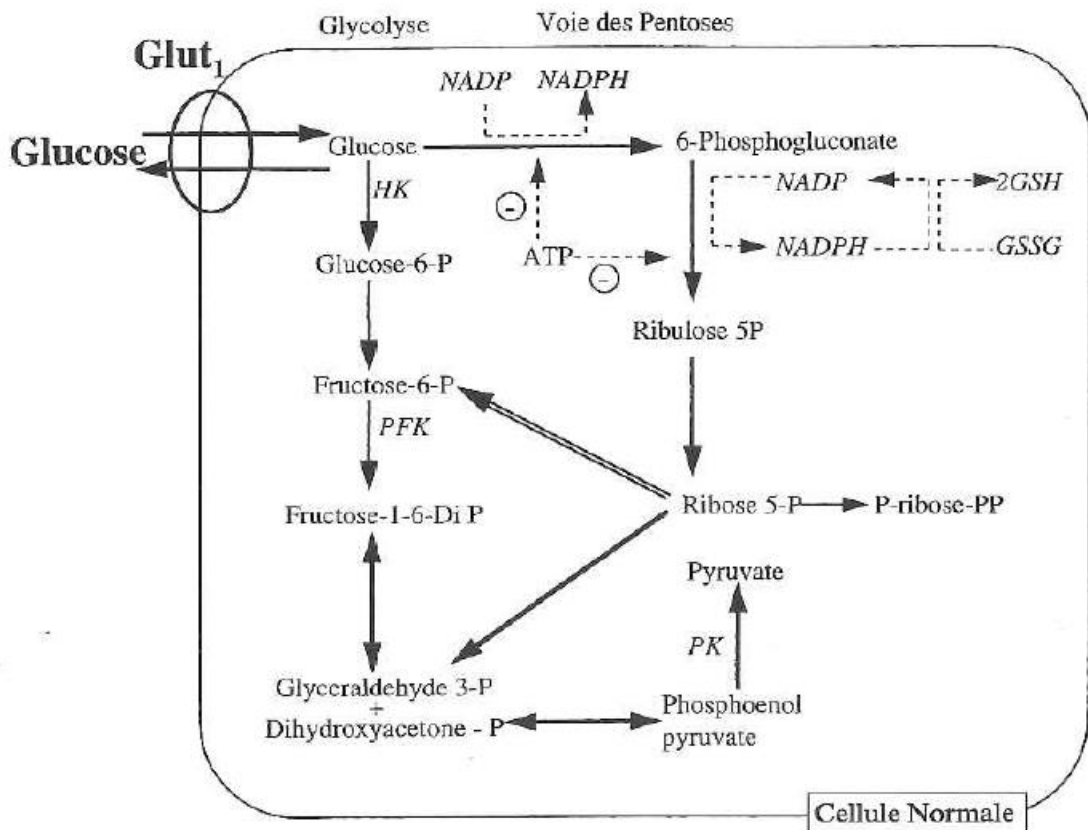


Figure 24 : Voie des pentoses phosphate dans la cellule normale. Le Ribose-5-P est produit à partir du glucose 6-P avec production concomitante de NADPH et de glutathion réduit (GSH). Le Ribose-5-P est en équilibre direct avec le fructose-6-P et le glycéraldéhyde 3-P, deux intermédiaires de la glycolyse. Schéma extrait de l'article de Vuillez et al. [141]

### 2.2.2 Métabolisme glucidique des cellules tumorales

L'augmentation de la glycolyse anaérobie dans la cellule tumorale a été décrite initialement par Warburg en 1924. En effet, le métabolisme glucidique des cellules tumorales est profondément perturbé, menant à une augmentation de la captation cellulaire du glucose, son hyperconsommation et la production de lactates (caractéristique de la glycolyse anaérobie). Cette reprogrammation du métabolisme glucidique n'est pas une propriété spécifique des cellules tumorales, mais reproduit les mécanismes physiologiques d'adaptation métabolique des tissus sains (croissance, cicatrisation, renouvellement cellulaire) dont l'objectif est une augmentation de la synthèse de précurseurs phosphorylés des acides nucléiques par la voie des pentoses [142]. Cependant, ce qui caractérise la cellule tumorale, c'est la dérégulation du métabolisme glucidique par échappement aux mécanismes normaux de rétrocontrôle. Ceci aboutit à la permanence de phénomènes normalement limités dans le temps et conditionnés par l'action de facteurs de croissance. En satisfaisant les besoins énergétiques et les besoins en acides nucléiques élevés des cellules tumorales, la reprogrammation du métabolisme glucidique leur permet une prolifération rapide et permanente.

Cette reprogrammation est la conséquence de modifications quantitatives et qualitatives des enzymes de la glycolyse [143, 144] et d'une augmentation de la synthèse des transporteurs GLUT1 (figure 25) :

- Les modifications qualitatives et quantitatives des enzymes de la voie glycolytique résultent en une inhibition de la voie oxydative, au profit de la production de lactates, et cela, indépendamment de la présence d'oxygène (« effet Warburg ») [145]. En effet, même si la captation cellulaire de glucose est augmentée en situation d'hypoxie [146], celle-ci n'est généralement pas la cause principale de l'activité glycolytique tumorale accrue [147]. Ce dérèglement enzymatique du métabolisme glucidique des cellules tumorales est complexe et dépend de nombreux facteurs intriqués (modifications mitochondriales, modifications de la voie des pentoses, interaction avec les autres métabolismes cellulaires et, en particulier, celui de la glutamine [148], dérégulations génomiques...)
- La captation élevée de glucose par les cellules tumorales est également liée à une augmentation de son transport transmembranaire [149], indépendamment de la phosphorylation et des étapes ultérieures de la glycolyse. La biologie

moléculaire a montrée que l'augmentation du nombre de GLUT1 est génétiquement déterminée dans la cellule tumorale. La transformation maligne s'accompagne d'une hyper-expression du gène codant pour GLUT1, se traduisant par une augmentation des ARNm [149]. Cette augmentation de la capacité de transport membranaire de glucose est directement liée à la prolifération cellulaire. Elle est cependant également liée à l'anaérobiose : en situation hypoxique, la tumeur produit le facteur hypoxia-inducible-factor-1 (HIF-1), qui stimule la surexpression du transporteur du glucose GLUT-1 et donc la captation intracellulaire du glucose [150].

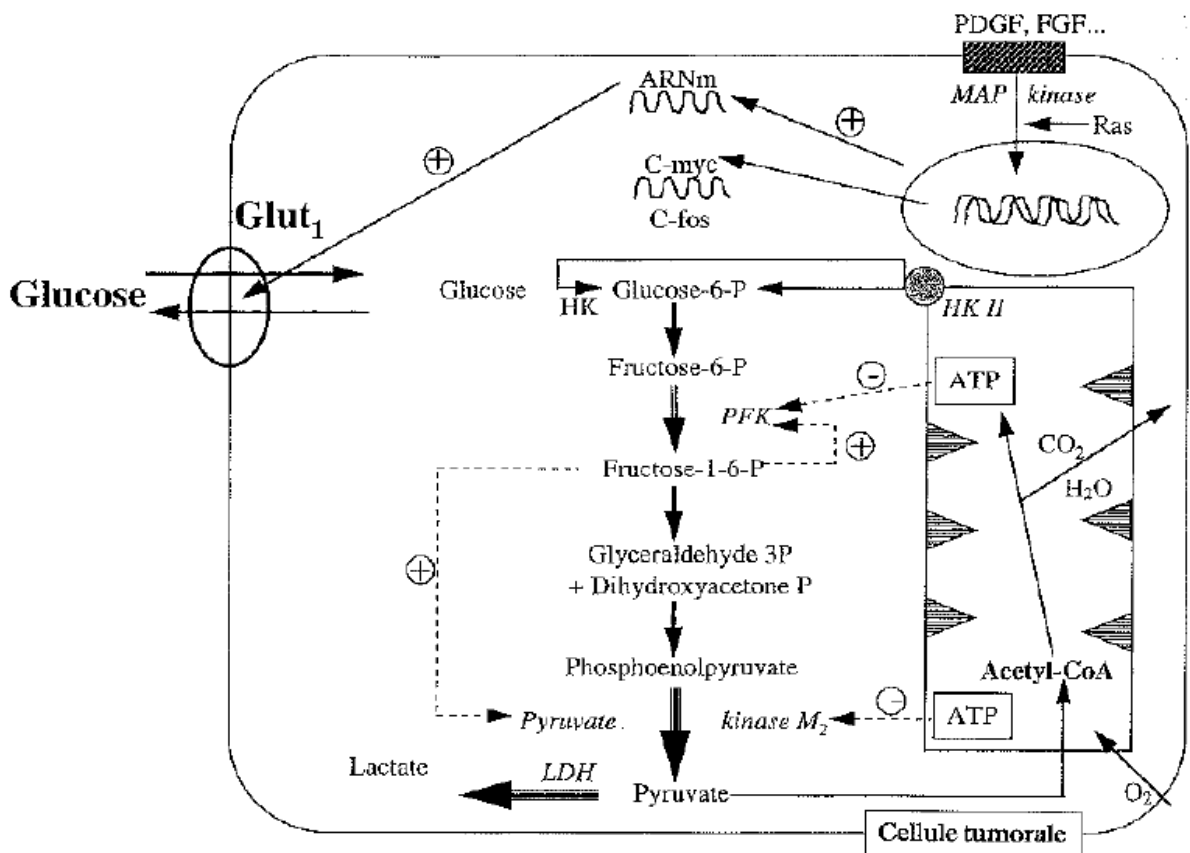


Figure 25 :Glycolyse dans les cellules tumorales. Les activités hexokinase, phosphofruktokinase assurent une capacité glycolytique élevée, tandis que la pyruvate kinase est relativement inhibée. Les facteurs de croissance ou la transformation oncogénique (Ras par exemple) induisent la transcription du gène de Glut-1. Schéma extrait de l'article de Vuillez et al. [141].



### 2.3. Le $^{18}\text{F}$ -FDG

Le  $^{18}\text{F}$ -FDG est un radiopharmaceutique émetteur de positons et un analogue du 2-déoxy-glucose. Il est utilisé en TEP pour étudier *in vivo* les premières étapes du métabolisme glucidique des cellules normales ou tumorales.

#### 2.3.1. Structure chimique de la molécule de $^{18}\text{F}$ -FDG

Un atome de fluor radioactif est introduit en position 2 de la molécule de glucose en remplacement d'un groupement hydroxyle (figure 26).

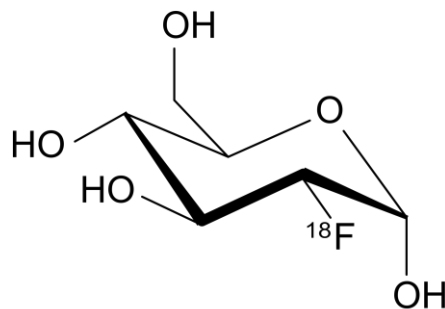


Figure 26 : structure chimique de la molécule de  $^{18}\text{F}$ -FDG

#### 2.3.2. Pharmacocinétique

Le  $^{18}\text{F}$ -FDG est un analogue du glucose et, comme lui, il pénètre dans la cellule par diffusion facilitée grâce aux transporteurs GLUT (figure 27). Il est ensuite phosphorylé en position 6 en  $^{18}\text{F}$ -FDG-6P par une hexokinase. Celui-ci n'étant ni métabolisé, ni déphosphorylé, il est bloqué dans la cellule et s'y accumule. Ce phénomène se produit dans la cellule normale mais est nettement plus marqué dans la cellule tumorale. Le  $^{18}\text{F}$ -FDG s'accumule naturellement dans différents tissus : le cerveau (substance grise), les reins et la vessie en raison de l'élimination urinaire du radiotracer. Une concentration plus modérée est observée dans le foie et l'intestin. Il existe également une accumulation dans les muscles striés et lisses, les glandes lacrymales, le nasopharynx ou encore la moelle hématopoïétique (figure 28). Sur le myocarde, la fixation est plus variable, elle est fonction de l'état métabolique du patient.

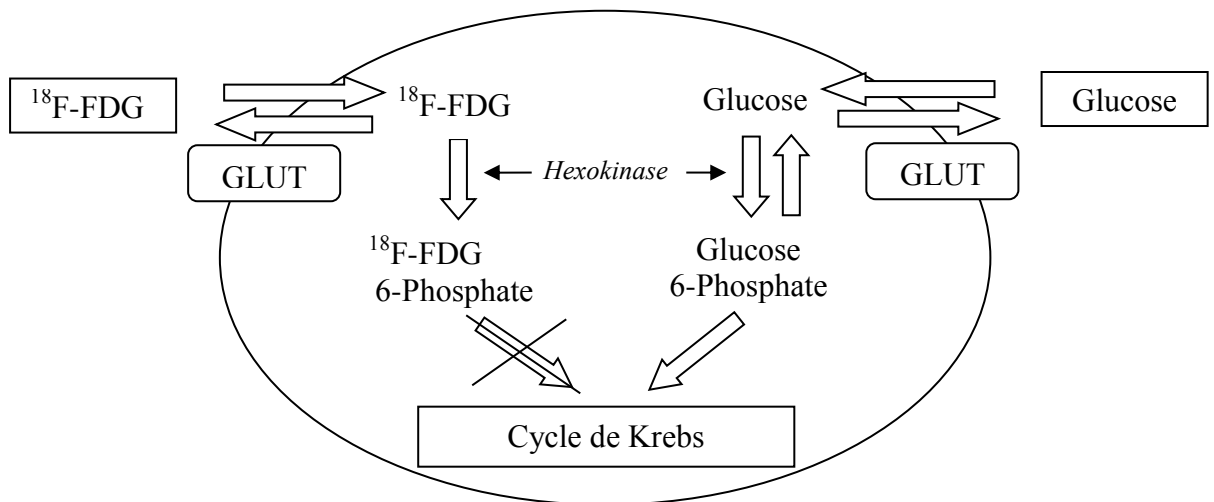


Figure 27: métabolisme cellulaire du  $^{18}\text{F-FDG}$



Figure 28: Image TEP montrant la répartition du  $^{18}\text{F-FDG}$  dans l'organisme (acquisition de la base du crane jusqu'à la racine des cuisses). Présence d'une fixation pathologique au niveau d'une tumeur mammaire droite et d'une adénopathie axillaire droite.

## 2.4. Mesure semi-quantitative et quantitative du métabolisme glucidique

### 2.4.1. La Standard Uptake Value (SUV)

La valeur de fixation normalisée (SUV pour Standard Uptake Value) se calcule comme le rapport de la fixation du radiotracer dans un tissu d'intérêt (kBq/ml) à un instant donné et la dose injectée au patient (kBq) rapportée à son volume (en mL). En supposant que le patient a une masse volumique de 1g/mL, le SUV est calculé en pratique en rapportant la dose injectée au poids du patient (kBq/g). Le SUV est donc une quantité sans dimension, dont l'usage est fréquent du fait de la facilité de son calcul. Si le radiotracer se répartissait uniformément dans l'organisme, le SUV serait en tout point égal à 1. Le SUV apporte une aide supplémentaire par rapport à l'analyse visuelle qualitative.

$$\text{SUV} = \frac{\text{Fixation dans le tissu d'intérêt (kBq/ml)}}{\text{Dose injectée (kBq) / poids (g)}}$$

Le SUV permet une quantification relative du radiotracer au niveau d'un site donné. Le SUV calculé pourra d'une part être comparé aux données de la littérature et, d'autre part, évaluer l'évolutivité de certaines lésions chez un même patient. Cependant, la qualité de la mesure du SUV (kBq/ml) dépend fortement du protocole d'acquisition et du traitement d'image. Concernant le protocole d'acquisition, un délai de 60 à 90 min entre l'injection et le début de l'acquisition est généralement respecté. Ce délai résulte d'un compromis entre la demi-vie du  $^{18}\text{F}$  et le temps nécessaire pour atteindre un bon rapport entre la fixation des lésions tumorales et la fixation vasculaire non spécifique du traceur qui constitue le bruit de fond. Le SUV est également influencé par la correction d'atténuation, la correction de diffusion, le mouvement respiratoire, l'effet de volume partiel, la reconstruction tomographique et la méthode de mesure.

Il existe autant de moyens de définir le SUV d'une lésion que de manières de choisir le VOI (Volume d'intérêt) représentatif de la concentration d'activité de la tumeur (c'est-à-dire du numérateur) :

- Le SUV<sub>max</sub> est la définition du SUV la plus utilisée en routine clinique. Dans ce cas, le VOI utilisé pour calculer le SUV est le voxel de la tumeur ayant l'activité la plus élevée.

- L'utilisation du  $SUV_{peak}$ , dont le VOI utilisé pour calculer le numérateur est un volume fixe dans la tumeur. La concentration d'activité utilisée est alors la moyenne de la concentration d'activité des voxels contenus dans ce VOI. La définition exacte du  $VOI_{peak}$  doit encore faire consensus. Récemment, l'impact de cette définition sur la classification de la réponse tumorale a été étudiée par Vanderhoek et al., en considérant 24 définitions possibles du  $SUV_{peak}$ . Pour cela, les auteurs ont analysé des images TEP au  $^{18}F$ -FLT de 17 patients, acquises avant et pendant le traitement [151]. Les résultats montrent que la réponse intra tumorale vue par cet index dépend plus de la taille du  $VOI_{peak}$  considéré que de sa localisation dans la tumeur (centrée sur le  $SUV_{max}$  ou placé dans la zone d'activité la plus élevée) ou de sa forme (circulaire ou sphérique).

Il existe également des possibilités de normalisation du SUV en modifiant le dénominateur de la formule permettant le calcul du SUV :

- Normalisation de la glycémie : La glycémie est un autre facteur qui influe directement sur la captation intra-cellulaire du  $^{18}F$ -FDG et donc sur la valeur du  $SUV_{max}$ . Si la glycémie est trop élevée, le glucose marqué entre en compétition avec le glucose non marqué et on constate une captation plus faible du  $^{18}F$ -FDG par les tissus. Pour limiter ce problème, les patients doivent être à jeun depuis 6 heures. Mais la valeur de glycémie peut néanmoins fluctuer et une normalisation du SUV par la glycémie est possible.

- Normalisation de la surface corporelle : en utilisant la normalisation par le poids du patient, on considère que tous les tissus non tumoraux consomment une quantité totale de  $^{18}F$ -FDG proportionnelle au poids du patient. Comme relevé par Keyes, cette hypothèse n'est pas vérifiée puisque les tissus adipeux ont une fixation de  $^{18}F$ -FDG inférieure à celle des autres tissus [152]. Il en résulte une augmentation de la valeur des SUV tumoraux pour les patients en surcharge pondérale par rapport aux patients avec un poids standard [153, 154]. Ce problème concerne, entre autre, le contexte du suivi thérapeutique, où la modification de la masse grasseuse d'un patient durant le traitement peut engendrer des interprétations des variations du SUV contradictoires. La correction par la surface corporelle totale (BSA, Body Surface Area), exprimée en  $m^2$  permet de limiter l'influence de la masse grasseuse du patient sur les SUV tumoraux. La formule préconisée par l'European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC) est la classique formule de Du Bois et Du Bois [155] :

$$S = 0.007184 \times T^{0.725} \times P^{0.425}$$

S = surface corporelle en m<sup>2</sup>

T = taille en cm

P = masse en kg

- Normalisation de la masse maigre (LBM pour Lean Body Mass) [153] :

Lorsque le SUV est normalisé par la masse maigre du patient, il devient le SUL (Lean Standard Uptake). En s'affranchissant au maximum de l'impact de la masse grasseuse du patient, le SUL est une quantification plus constante d'un patient à l'autre que le SUV corrigé par le poids ou la surface corporelle [154]. Pour ces raisons, les critères PERCIST recommandent de calculer le SUL pour quantifier et définir la réponse métabolique des tumeurs solides [156].

La formule empirique de James, qui repose sur le sexe, la taille (T en cm) et le poids total du patient (P en kg), permet d'estimer la LBM du patient grâce à l'équation suivante :

$$\text{LBM}_{\text{James}} \text{ (kg)} = 1,1 \times P - 128 \times \left(\frac{P}{T}\right)^2 \quad (\text{Hommes})$$

$$= 1,07 \times P - 148 \times \left(\frac{P}{T}\right)^2 \quad (\text{Femmes})$$

L'estimation de la masse maigre manque cependant parfois de fiabilité [157] et il a été montré que la formule de James n'est plus suffisamment précise au-delà d'un BMI à 43 pour les hommes et 37 pour les femmes [158].

Pour cette raison, Janmahasatian et al. ont développé une autre formule de calcul du LBM [159]:

$$\text{LBM}_{\text{Janma}} \text{ (kg)} = \frac{9,27 \times 10^3 \times P}{6,68 \times 10^3 + 216 \times \text{BMI}} \quad (\text{Hommes})$$

$$= \frac{9,27 \times 10^3 \times P}{8,78 \times 10^3 + 244 \times \text{BMI}} \quad (\text{Femmes})$$

Une étude de Tahari et al. a récemment confirmé que la formule de Janmahasatian permet d'obtenir une valeur de SUL robuste car non influencée par le poids du patient, y compris pour ceux souffrant d'une obésité morbide [160].

#### 2.4.2. Analyse cinétique compartimentale du <sup>18</sup>F-FDG

Cette analyse du métabolisme du <sup>18</sup>F-FDG utilise un modèle à 3 compartiments pour

décrire les passages entre (figure 29):

- Le  $^{18}\text{F}$ -FDG artériel et le  $^{18}\text{F}$ -FDG intracellulaire, avec les constantes cinétiques  $k_1$  et  $k_2$ .
- Une fois en intracellulaire, la phosphorylation du  $^{18}\text{F}$ -FDG en  $^{18}\text{F}$ -FDG-6-P par les hexokinases ( $k_3$ ) et la déphosphorylation par la glucose-6-phosphatase du  $^{18}\text{F}$ -FDG-6-P ( $k_4$ ). Cependant, la déphosphorylation est négligeable par rapport à la phosphorylation du  $^{18}\text{F}$ -FDG.

Contrairement au glucose-6-P, le  $^{18}\text{F}$ -FDG-6-P ne peut pas être métabolisé par la cellule, il s'accumule donc dans l'espace intracellulaire, jusqu'à la désintégration du  $^{18}\text{F}$ , ce qui justifie donc l'utilisation du  $^{18}\text{F}$ -FDG en TEP comme biomarqueur de l'activité glucidique.

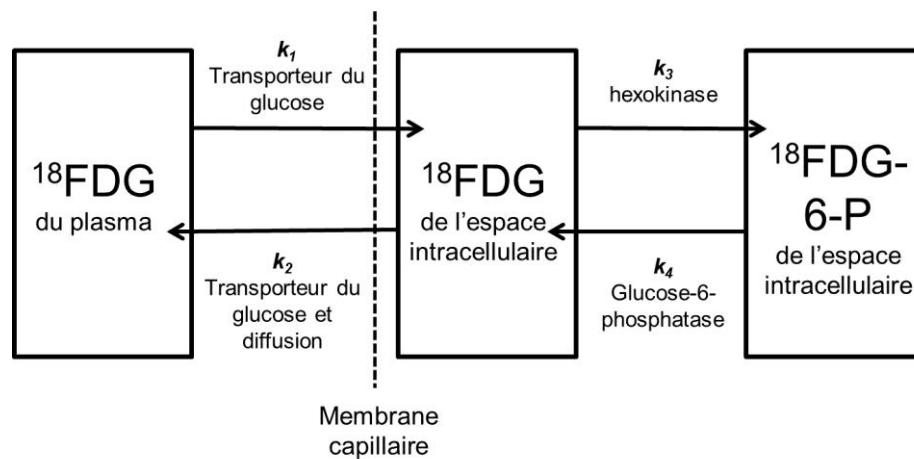


Figure 29: modèle à 3 compartiments utilisé pour calculer les constantes de transfert  $k_1$ ,  $k_2$ ,  $k_3$ ,  $k_4$ .

Ce modèle compartimental repose sur plusieurs hypothèses [161]:

- Les tissus contenus dans la région d'intérêt (ROI) étudiée sont homogènes et les constantes  $k_1$ ,  $k_2$ ,  $k_3$ ,  $k_4$ , sont identiques en tout point de la ROI.
- Le système est à l'état d'équilibre ( $k_1$ ,  $k_2$ ,  $k_3$ ,  $k_4$  et la concentration du glucose dans le plasma sont constants dans le temps).
- Les concentrations de glucose et de  $^{18}\text{F}$ -FDG dans le plasma artériel sont égales à leurs concentrations plasmatiques dans les capillaires.

Avec ce modèle compartimental, la concentration de  $^{18}\text{F-FDG}$  ( $\text{kBq.mL}^{-1}$ ) dans la ROI est donnée par la formule suivante :

$$FDG(t) = k_i \int_0^t C_a(t) \cdot dt + V_p \cdot C_a(t)$$

Avec :

$$K_i = \frac{k_1 \cdot k_3}{k_2 + k_3}$$

et :

$C_a(t)$  : Concentration artérielle de  $^{18}\text{F-FDG}$  à un instant  $t$  (en  $\text{kBq.mL}^{-1}$ ).

$V_p$  : Fraction de volume plasmatique dans le VOI (sans unité).

$K_i$  : constante d'entrée du  $^{18}\text{F-FDG}$  dans le VOI exprimée en  $\text{min}^{-1}$ .

L'analyse compartimentale complète est la méthode la plus précise pour quantifier la concentration tumorale de  $^{18}\text{F-FDG}$ . Cependant, elle présente des inconvénients :

- Elle nécessite de connaître l'évolution dans le temps de la concentration artérielle de  $^{18}\text{F-FDG}$  (fonction d'entrée artérielle), ce qui implique d'être invasif. Une alternative consiste à l'estimer à partir d'une ROI artérielle tracée sur les images TEP.
- Une acquisition d'images dynamiques TEP à partir du moment de l'injection et pendant une durée d'environ 60 minutes pour mesurer l'évolution de la concentration de  $^{18}\text{F-FDG}$  dans la ROI à chaque instant.

#### 2.4.3. Analyse cinétique simplifiée de Patlak

Bien qu'il s'agisse de la méthode de référence pour la quantification en TEP, l'analyse compartimentale s'avère complexe à réaliser et peu adaptée à la quantification en routine clinique.

Des méthodes d'analyse cinétiques simplifiées ont été développées, la plus utilisée en recherche étant celle de Patlak [162]. Il s'agit d'une analyse graphique basée sur une régression linéaire. Dans ce modèle  $k_4$  est négligée et  $k_i$  est obtenu en calculant la pente de la partie linéaire (entre 20 et 60 min après injection du  $^{18}\text{F-FDG}$ ) du graphique ou  $C_t(t)/C_a(t)$  (avec  $C_t(t)$  = Concentration tumorale de  $^{18}\text{F-FDG}$  à un instant  $t$  (en  $\text{kBq.mL}^{-1}$ )) est tracé par rapport à  $\int_0^t C_a(t) dt / C_a(t)$  (figure 30). La seule hypothèse est que la

cinétique du traceur peut être approchée par un modèle à 2 compartiments : le premier « central » et réversible, qui est rapidement à l'équilibre avec le plasma, le second « périphérique », ou le traceur entre de manière irréversible pendant l'acquisition.

Cette méthode graphique nécessite une acquisition dynamique simplifiée, débutant 15 à 30 minutes après injection du radiotraceur, avec une cadence d'acquisition d'images allongée par rapport à l'analyse cinétique complète. Le prélèvement artériel pour déterminer  $C_a(t)$  reste théoriquement nécessaire mais, en pratique, il est possible de se contenter de prélèvements veineux de sang artérialisé en chauffant le bras aux environs de 44° C. Un autre avantage de cette méthode est qu'elle est moins sensible au bruit que l'analyse cinétique complète. Il est de ce fait possible de créer des images paramétriques des  $K_i$  [163, 164].

En conclusion, la simplicité d'obtention du SUV explique qu'il soit le seul paramètre largement adopté en routine clinique. Afin de valider sa fiabilité, certaines études ont comparé la semi-quantification par le SUV à la quantification fournie par les méthodes d'analyse cinétique plus complexes (analyse compartimentale et Patlak). Les résultats obtenus mettent en évidence une bonne corrélation entre les mesures semi quantitatives du SUV et la mesure de  $K_i$  obtenue avec l'analyse graphique de Patlak [165]. La reproductibilité du SUV a elle aussi été largement étudiée : une méta-analyse récente de Langen et al. a montré que la reproductibilité du SUV était de l'ordre de ~30% [166]. La reproductibilité s'est avérée meilleure pour le  $SUV_{peak}$ .



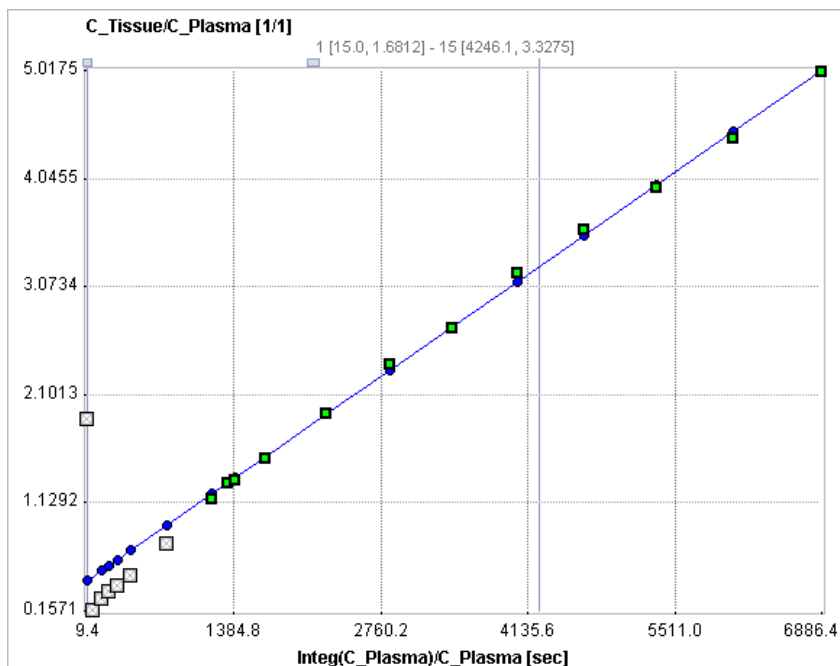


Figure 30 : représentation graphique d'une analyse de Patlak de la fixation tissulaire  $^{18}\text{F}$ -FDG (schéma extrait du site du logiciel pmod: <http://doc.pmod.com>)

## 2.5. Mesure de la perfusion tumorale avec le $^{18}\text{F}$ -FDG

### 2.5.1. Par l'analyse cinétique compartimentale

Comme décrit précédemment, le modèle d'analyse compartimentale à 3 compartiments permet de calculer la constante de transfert  $k_1$ , représentant le passage du  $^{18}\text{F}$ -FDG depuis le compartiment plasmatique vers le compartiment intra-cellulaire. Plusieurs études ont montré que, dans le cancer du sein, cette constante de transfert  $k_1$  obtenue avec le  $^{18}\text{F}$ -FDG est fortement corrélée avec le  $k_1$  obtenu avec le radiopharmaceutique  $\text{H}_2\text{O}^{15}$  ( $r=0.84$  dans l'étude de Zasadny et al.), qui est la référence pour le calcul de la perfusion tissulaire en TEP [109, 110, 167]. Ces études suggèrent donc que l'analyse cinétique compartimentale du  $^{18}\text{F}$ -FDG puisse apporter des informations sur la perfusion tumorale.

### 2.5.2. Par la méthode de Mullani

Ce modèle, basé sur celui de Kety, a été proposé par Mullani et al. pour l'évaluation du flux sanguin en TEP avec des radiotraceurs autre que l' $^{15}\text{O}$ - $\text{H}_2\text{O}$ . Simple et fiable, il a initialement été validé pour la détermination du flux myocardique avec le  $^{82}\text{Rb}$  [168] puis étendu à la mesure de la perfusion tumorale avec le  $^{18}\text{F}$ -FDG [169].

Comme pour l' $^{15}\text{O}$ - $\text{H}_2\text{O}$ , la mesure du flux sanguin tumoral consiste en une acquisition dynamique dans les premières minutes après injection du  $^{18}\text{F}$ -FDG, reflétant le premier

passage du traceur. L'hypothèse est que, lors du premier passage du traceur, il existe un laps de temps pendant lequel le traceur n'a pas encore quitté la région d'intérêt, et pendant lequel la concentration veineuse du traceur est encore nulle. Pendant cette période, la mesure de la perfusion peut être obtenue dans tout organe avec n'importe quel traceur à condition de connaître sa cinétique de diffusion, son extraction et la concentration artérielle du traceur.

Pour le  $^{18}\text{F}$ -FDG, l'extraction tumorale est considérée comme complète (coefficient d'extraction = 1) [169].

L'hypothèse de Mullani est donc que, si le temps de mesure  $t$  est inférieur au temps de transit du traceur ( $t_d$ ), la concentration veineuse du traceur est nulle. En utilisant un modèle mono-compartmental, l'équation pour donner la quantité  $Q(t)$  de traceur au temps  $t$  peut alors se simplifier de la manière suivante :

si  $t < t_d$

$$Q(t) = \int_0^t F \cdot Ca(t) dt - \int_{t_d}^t F \cdot Cv(t) dt$$

$Q(t)$  est la quantité de traceur dans le tissu au temps  $t$

$F$  est le flux sanguin dans le tissu au temps  $t$ , considéré comme constant.

$Ca(t)$  et  $Cv(t)$  sont les concentrations artérielle et veineuse du traceur au temps  $t$

$t_d$  représente le temps de transit du traceur à travers le tissu

Donc

$$F = \frac{Q(t)}{\int_0^t Ca(t) dt}$$

Par ailleurs, l'erreur de mesure de la perfusion due à la statistique de comptage peut être minimisée quand le numérateur et le dénominateur de l'équation sont à leur valeur maximale. Il faut donc définir l'instant  $t_m$  appelé « temps du pic artériel ». Il s'agit du temps où l'apport artériel dans le volume d'intérêt cesse et la sortie du traceur est encore nulle (donc  $t_m < t_d$ ). A ce moment précis, la totalité de l'activité se situe dans la région d'intérêt tumorale, dans le champ de vue de la caméra. Le nombre total de coups détectés atteint alors un maximum.

L'équation générale du flux au premier passage peut ainsi être modifiée par l'équation suivante, permettant d'obtenir la perfusion durant le pic artériel  $t_m$  :

$$F = \frac{Q(t_m)}{\int_0^{t_m} Ca(t)dt}$$

La validité du modèle de la perfusion au temps du pic artériel dépend de la relation entre le temps  $t_m$  et le temps de transit  $t_d$ . Le temps de transit est plus long si le traceur traverse la paroi capillaire et s'il passe dans le secteur intracellulaire et interstitiel.

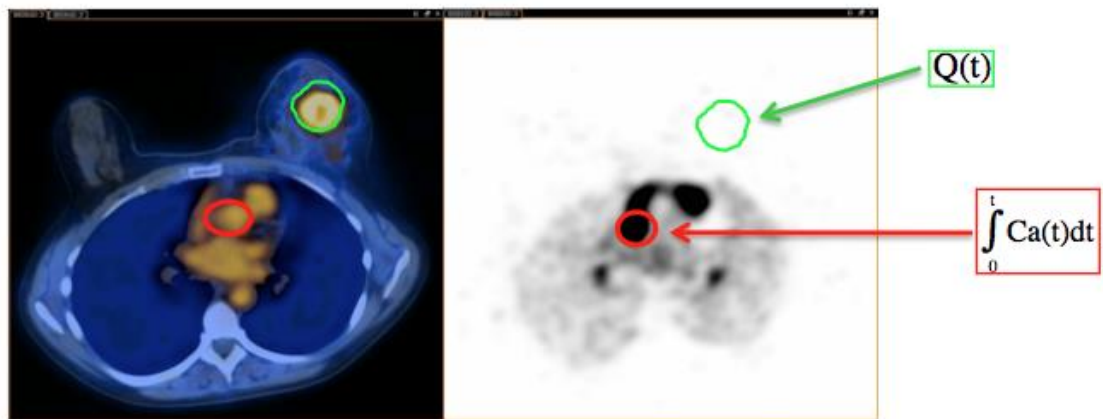


Figure 31 : Représentation des volumes d'intérêt aortique (en rouge) et tumoral (en vert) tracés sur l'image fusionnée TEP-TDM et sur l'image TEP dynamique pour estimation de la fonction d'entrée artérielle du système (VOI aortique en rouge) et la mesure de l'activité tumorale en fonction du temps (VOI tumoral en vert).

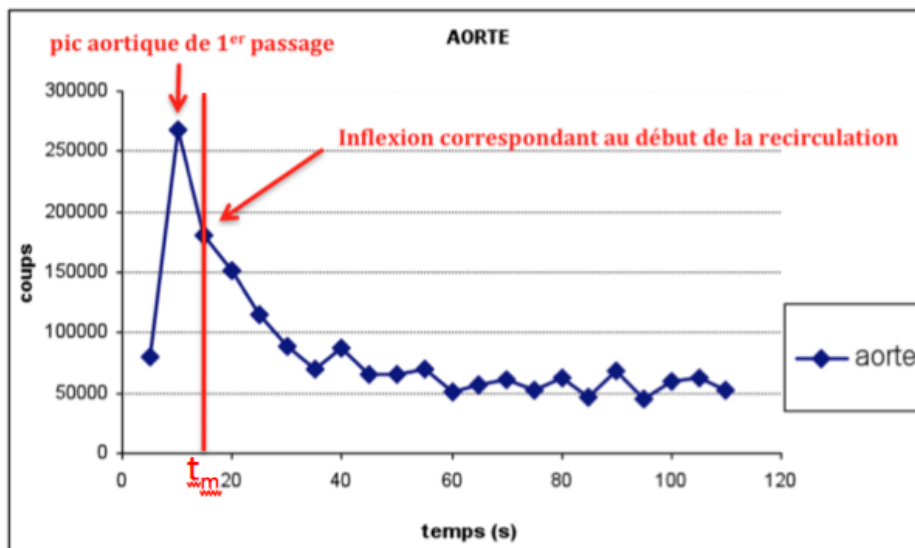


Figure 32 : Evolution de l'activité du traceur en fonction du temps, mesurée lors d'une acquisition dynamique (acquisition toutes les 5 secondes) dans le VOI aortique (fonction d'entrée

du modèle de Mullani). Visualisation du phénomène de recirculation aortique et définition visuelle du temps  $t_m$ .

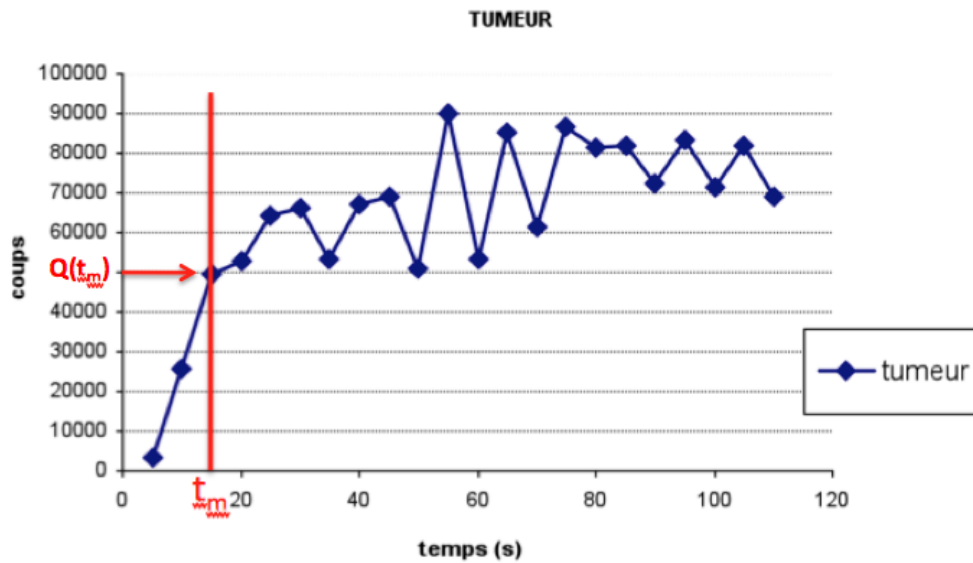


Figure 33 : Evolution de l'activité du traceur en fonction du temps, mesurée lors d'une acquisition dynamique dans le VOI tumoral. Mesure de  $Q(t_m)$  = quantité de traceur dans la tumeur au temps  $t_m$ .

Ainsi, la perfusion tumorale peut être estimée à partir de cette équation *pour tout instant*  $t_m < t_d$  en divisant la radioactivité totale mesurée au niveau de la région d'intérêt tumorale au temps  $t_m$  ( $Q(t_m)$ ) par l'intégrale de la concentration artérielle du traceur du

temps 0 au temps  $t_m$  ( $\int_0^{t_m} F.Ca(t)dt$ ) qui représente l'apport de traceur au cours du temps à

l'organe cible. Mullani et al proposent une technique permettant d'estimer de manière non invasive cette fonction d'entrée artérielle en mesurant la radioactivité au cours du temps dans une région d'intérêt centrée sur l'aorte [169].

Pour appliquer ce modèle de Mullani, une acquisition dynamique de 2 minutes doit être réalisée immédiatement après injection d'un bolus de  $^{18}\text{F}$ -FDG, avec un échantillonnage des images toutes les 5 ou 10 secondes.

Mullani a montré une bonne corrélation entre les mesures de perfusion tumorale obtenues avec du  $^{18}\text{F}$ -FDG et de l' $^{15}\text{O}$ -H<sub>2</sub>O [168, 169]. Cette méthode a été récemment appliquée à l'évaluation de la perfusion tumorale dans les néoplasies hépatiques [170]. Une étude menée par A. Cochet et al. [171] a montré une bonne corrélation entre la

perfusion tumorale mammaire mesurée en TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG par le modèle de Mullani et les marqueurs immuno-histochimiques de l'angiogénèse.

L'intérêt de ce modèle de Mullani est de permettre une mesure conjointe du métabolisme glucidique tumoral et de la perfusion tumorale, sans avoir recours à la TEP à l' $^{15}\text{O}$ -H<sub>2</sub>O, peu accessible, et avec une méthode d'acquisition nettement plus rapide que celle de l'analyse compartimentale complète décrite précédemment.

Ce modèle a été utilisé dans l'article présenté chapitre IV, Paragraphe 4.

## **2.6. Mesure du volume tumoral**

La mesure du volume tumoral métaboliquement actif (VMA) en TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG est également une approche intéressante pour le développement de nouveaux paramètres métaboliques d'ordre pronostique [172] ou prédictif de la réponse [173], le suivi thérapeutique [156], et la définition des contours des GTV (Gross Tumor Volumes) en radiothérapie [174]. L'activité tumorale glycolytique totale (TLG pour Total Lesion Glycolysis), qui correspond au produit du VMA par le  $\text{SUV}_{\text{mean}}$  des voxels intra-tumoraux, est un paramètre très utilisé pour appréhender le volume tumoral métaboliquement actif : il présente une bonne valeur pronostique pré-thérapeutique, notamment dans le lymphome [177]. L'utilité potentielle du VMA ne se limite pas à la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG mais pourrait s'appliquer à d'autres radiotraceurs plus spécifiques, tels que la  $^{18}\text{F}$ -FLT, permettant de visualiser la prolifération cellulaire, ou le  $^{18}\text{F}$ -FMISO pour mesurer l'hypoxie. La définition d'un volume cible biologique pour ces traceurs pourrait en effet être particulièrement intéressante en radiothérapie pour identifier des régions plus agressives ou radio-résistantes. Le développement de nouvelles techniques d'irradiation ciblée telle que la radiothérapie conformationnelle par modulation d'intensité (RCMI) et la possibilité d'escalade de dose font de la définition du volume tumorale métabolique un enjeu majeur pour optimiser le traitement des patients.

Diverses méthodes de définitions du VMA sur les images TEP ont été développées, plus ou moins complexes, sans qu'aucune ne se soit encore imposée comme méthode de référence pour quantifier de manière rapide, fiable et reproductible le VMA.

### **2.6.1. Méthodes de seuillages fixes**

Avec ces méthodes, les contours du volume tumoral sont définis à partir de seuillages fixes : les voxels dont l'intensité est supérieure à une valeur seuil sont considérés comme

appartenant au volume tumoral. Ce seuil est généralement une valeur absolue de SUV ( $SUV > 2,5$ ) ou un seuil relatif au voxel d'intensité maximum (souvent 40 ou 41% du  $SUV_{max}$ ) [175]. Les méthodes de seuillages fixes sont les plus utilisées dans les publications étudiant le volume tumoral métabolique car elles ont l'avantage d'être rapides et très simples à utiliser. Il apparaît cependant de plus en plus évident que la méthode de seuillage utilisant une valeur absolue de SUV est à proscrire du fait de la variabilité inter-centre des SUV. Elle a par ailleurs tendance à surestimer le volume tumoral du fait de l'inclusion de voxel appartenant au bruit de fond extra-tumoral.

La méthode d'un seuil fixe à 41% du  $SUV_{max}$  a été très utilisée dans les études cliniques, notamment pour la pathologie lymphomateuse hodgkinienne et non-hodgkinienne, avec une bonne reproductibilité inter-observateur [176]. Une étude de Kanoun et al. a inclu 59 patients consécutifs présentant un lymphome de hodgkin (tous stades confondus) [177]. Les résultats montrent que le VMA pré-thérapeutique est prédictif de la survie sans progression à 4 ans (seuil =  $225 \text{ cm}^3$ ), avec une valeur pronostique supérieure à celle du « Bulky » défini par le TDM (masse tumorale médiastinale supérieure à 10cm de diamètre). La même méthode de définition du volume tumoral, appliquée aux patients présentant un lymphome B diffus à grandes cellules à montré que le VMA est également prédictif de la survie sans progression et de la survie globale à 3 ans (seuil =  $550 \text{ cm}^3$ ) [178].

Cependant, les méthodes à seuillage fixe reposent sur des hypothèses simplificatrices, et plusieurs études ont démontré leur manque de robustesse [179]. En effet, concernant le seuil relatif, la définition du seuil tumoral dépend uniquement de la valeur du voxel d'intensité maximum ( $SUV_{max}$ ), qui est particulièrement sensible au bruit dans l'image ainsi qu'à l'hétérogénéité tumorale. Une faible variation du  $SUV_{max}$  a pour conséquence une variation importante des contours tumoraux. De plus, pour la détection de lésions avec un faible contraste, ce type de seuillage a tendance à inclure les voxels du fond dans la région d'intérêt, surévaluant le volume métabolique. Enfin la grande hétérogénéité de valeurs de seuils indiqués dans les publications (de 20 à 75% du SUV maximum), accentue la variabilité liée aux méthodes de seuillages fixes. En l'absence de standardisation, ces approches peuvent difficilement être utilisées dans le cadre d'études multicentriques. Ces techniques sont peu fiables dans les situations complexes, notamment de distribution hétérogène du radiotraceur dans le volume tumoral.

Pour toutes ces raisons, ces différentes méthodes ne font pas consensus et une segmentation manuelle reste souvent préférable à un seuillage fixe pour la définition du volume tumoral cible en radiothérapie [180].

### 2.6.2. Méthodes de segmentation automatique

Des approches automatiques plus complexes ont été développées pour délimiter le volume tumoral métabolique en imagerie TEP. Parmi elles, l'algorithme des K-moyennes (K-means), dans lequel les voxels de l'image sont répartis en différentes classes selon un critère donné, généralement basé sur leur intensité : une classe est associée au fond de l'image, tandis qu'une autre correspond aux fixations pathologiques. Cette approche est cependant généralement trop simpliste du fait de la complexité de l'image TEP (fixation tumorale hétérogène, fixations physiologiques...). Une méthode, dérivée de l'algorithme des K-moyennes et appelée Fuzzy-C-means (FCM) a été développée [181]; elle s'appuie sur une théorie mathématique des ensembles flous. Cette méthode considère que les voxels peuvent appartenir à plusieurs classes de l'image. Le principal inconvénient de ces méthodes réside dans le fait que la classification ne repose que sur l'intensité des éléments de volume sans prendre en compte l'information spatiale, ce qui la rend sensible au bruit et à l'hétérogénéité d'intensité des voxels tumoraux. Cependant, cet algorithme a récemment été amélioré et peut désormais intégrer une information spatiale, ce qui le rend plus robuste pour délimiter le volume de tumeurs métaboliquement hétérogènes [182].

Par ailleurs, la méthode de définition du volume tumoral appelée FLAB (Fuzzy Locally Adaptive Bayesian) [183] est une approche probabiliste qui permet une classification floue en considérant un modèle adaptatif prenant en compte le voisinage des voxels, combiné à une estimation des paramètres de l'observation. L'algorithme FLAB a été validé sur des études sur fantômes, mais également sur des patients [173, 183] ou dans le cadre d'études pronostiques sur la réponse au traitement, notamment dans le cancer du sein de phénotype luminal [184].

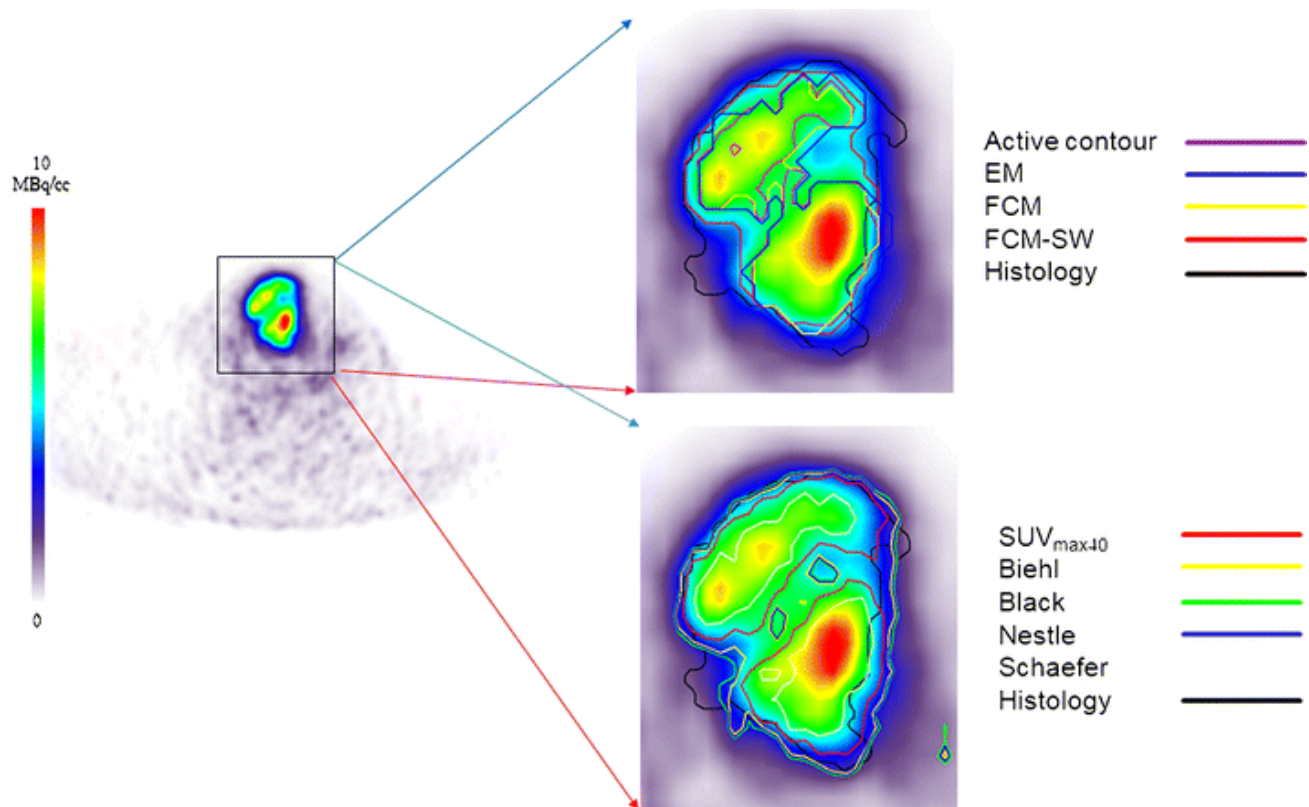


Figure 34: Image extraite de l'article de Zaidi et al. [185], montrant, pour une même image TEP du métabolisme glucidique d'un carcinome épidermoïde laryngé, la différence de résultats de 9 méthodes de segmentation d'image pour définir le volume tumoral. Le volume tumoral histologique est donné comme référence. Les méthodes automatiques donnent des résultats plus proches de la réalité histologique que les méthodes utilisant des seuillages fixes ou adaptatifs. Parmi les méthodes automatiques utilisées, l'algorithme FCM intégrant information spatiale donne le meilleur résultat. Pour plus de détail sur les méthodes de segmentation utilisées, voir l'article de Zaidi et al. [185].

### 3. La TEP au $^{18}\text{F}$ -FDG en sénologie

#### 3.1. Fixation mammaire physiologique du $^{18}\text{F}$ -FDG

Le tissu mammaire sain fixe le  $^{18}\text{F}$ -FDG de façon modérée et variable. La densité du tissu mammaire est à l'origine de cette fixation significative. Le statut hormonal a également une influence : les femmes non ménopausées ou les femmes ménopausées bénéficiant d'un traitement substitutif ont une fixation du  $^{18}\text{F}$ -FDG dans le tissu mammaire significativement plus élevée que les femmes ménopausées sans traitement substitutif. Ces hyperfixations physiologiques restent cependant d'intensité très modérée ( $\text{SUV}_{\text{max}}$  moyen égal à 1.4 pour le tissu mammaire dense) [124]. La lactation induit également une fixation intense et diffuse de la glande mammaire [186].



## 3.2. Indications de la TEP pour le bilan initial du cancer du sein

### 3.2.1. Mise au point sur les recommandations actuelles

#### 3.2.1.1. *Standards Options Recommandations (SOR) de janvier 2006*

Le groupe de travail SOR conduit en 2006 par P. Bourguet [187] recommande cet examen en option selon un niveau de preuve B2 pour le bilan d'extension locorégional et à distance, et avec un niveau de preuve A en cas de suspicion de récurrence locale ou métastatique. La TEP n'est pas indiquée pour le diagnostic de malignité des tumeurs mammaires (niveau de preuve A) et la recherche de micro-métastases ganglionnaires (niveau de preuve B2). Pour l'évaluation des traitements, et notamment de la chimiothérapie néo-adjuvante, les données de la littérature ne semblaient alors pas suffisantes pour établir des recommandations dans cette indication.

#### 3.2.1.2. *Recommandations de l'Institut National du Cancer (INCa)*

L'INCa et la Société française de Sénologie et de Pathologie Mammaire (SFSPM) ont publié en juillet 2012 des recommandations professionnelles concernant la prise en charge thérapeutique du cancer du sein infiltrant non métastatique. Concernant l'indication du bilan d'imagerie, il est mentionné que :

*Un bilan d'imagerie d'extension est recommandé :*

- pour les tumeurs cT3-T4 ou cN+
- après chirurgie, si envahissement ganglionnaire macro-métastatique confirmé.

*Le bilan de première intention repose sur l'une des options suivantes :*

- radiographie de thorax, échographie abdominale et scintigraphie osseuse.
- Tomodensitométrie (TDM) thoraco-abdominale et scintigraphie osseuse.
- TEP-TDM au <sup>18</sup>F-FDG.

La TEP au <sup>18</sup>F-FDG est donc une des 3 options d'imagerie possible pour réaliser le bilan d'extension. Les études retenues par la revue de la littérature faite par les experts de l'Inca tendent à montrer des meilleures performances de la TEP-TDM au <sup>18</sup>F-FDG pour la détection de métastases à distance en comparaison à la scintigraphie osseuse, la radiographie thoracique, l'échographie hépatique et la TDM (niveau de preuve C), mais des limitations méthodologiques réduisent la portée de ces conclusions. Par ailleurs, il est précisé que, à ce jour, aucune étude ne permet d'évaluer l'impact qu'aurait la découverte précoce de métastases asymptomatiques sur l'évolution de la maladie.

### 3.2.1.3. *Guide du bon usage des examens de la Haute Autorité de Santé*

Le guide du bon usage des examens d'imagerie médicale est un référentiel de bonnes pratiques à l'usage de tous les médecins qui sont amenés à demander ou à réaliser des examens d'imagerie médicale pour la prise en charge de leurs patientes [188]. Publié en 2005 et régulièrement mis à jour, ce guide est le fruit d'un travail coopératif entre de nombreux professionnels issus de la Société Française de Radiologie (SFR) et de la Société Française de Médecine Nucléaire (SFMN).

Concernant le bilan initial des cancers à risque élevé de métastases, des cancers inflammatoires et des cancers localement avancés (stade IIIA, IIIB et au-delà) (annexe 2 : classification UICC du cancer du sein) , ou en cas de signe(s) d'appel clinique, les recommandations sont les suivantes :

- La TEP/TDM au  $^{18}\text{F}$ -FDG réalise le bilan d'extension métastatique ganglionnaire extra-axillaire (mammaire interne, sous pectoral, sus et sous claviers), des métastases viscérales ou osseuses occultes, des cancers localement avancés (stade III) ou inflammatoires (stade T4d). Rôle potentiel dans les stades IIB. L'examen est plus sensible que la TDM.

- La TEP est indiquée à partir du stade T3N1 mais discutée pour les stades T1N1 (stade IIA) et T2N1 (stade IIB).

- évaluation thérapeutique : la TEP/TDM au  $^{18}\text{F}$ -FDG est utile pour évaluer l'efficacité de la chimiothérapie et de l'hormonothérapie. Elle peut être utile en phase néo-adjuvante et métastatique.

### 3.2.1.4. *Recommandations du National Comprehensive Cancer Network*

Dans la dernière mise à jour de 2013, Le National Comprehensive cancer network (NCCN) recommande une TEP /TDM uniquement comme examen optionnel pour les femmes présentant un stade III [189]. Il y a cependant un débat actuel pour savoir si la classification TNM est le seul critère pour définir l'indication de la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG. Il est par exemple connu que les femmes jeunes présentent des cancers du sein plus agressifs avec un risque plus élevé d'atteinte métastatique [190]. Ainsi, Riedl et al. a publié une étude suggérant un bénéfice de la TEP pour les patientes de stade IIB (en imagerie conventionnelle) mais âgées de moins de 40 ans, puisque 17% d'entre elles étaient finalement diagnostiquées métastatiques (stade IV) par la TEP, sans aucun faux positif. Par

contre, seulement 5 % des patientes de moins de 40 ans avec une tumeur initialement stade I ou IIA étaient reclassées en stade IV par la TEP [191].

### 3.2.2. Détection et caractérisation de la lésion mammaire primitive.

La fixation intense du  $^{18}\text{F}$ -FDG dans les cancers du sein reflète la densité et le métabolisme des cellules tumorales viables au sein de la tumeur (figure 35) [192]. Du fait de sa résolution spatiale limitée (environ 5mm), la sensibilité de la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG pour détecter une lésion mammaire primitive à un stade précoce est nettement en deçà de celles de la mammographie, de l'échographie et de l'IRM mammaire. Elle est évaluée à moins de 50% pour les tumeurs mammaires infra-centimétriques [193]. De plus, des tumeurs supra-centimétriques peuvent ne pas être détectées du fait de leur faible captation du  $^{18}\text{F}$ -FDG : il s'agit généralement des carcinomes lobulaires ou des cancers de phénotype luminal (hormono-sensibles et sans surexpression de HER2), bien différenciés, avec une expression de Ki-67 et un score SBR faibles [194, 195]. La spécificité et la valeur prédictive positive de la TEP peuvent aussi parfois être prises à défaut : une captation modérée du  $^{18}\text{F}$ -FDG par les fibroadénomes [196], des foyers de cytotéatonécrose [197], ou des dysplasies fibreuses [198] ont été décrites. Les mastites infectieuses ou l'inflammation secondaire à une hémorragie intra-mammaire sont également hyperfixantes [199].

Une méta-analyse de Samson et al, publiée en 2002 et menée sur 606 patientes, a évalué les performances de la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG pour le diagnostic de malignité d'une lésion suspecte chez des patientes présentant une mammographie anormale ou une masse palpable au niveau du sein [200]. Elle reprend les données de 13 études (dont 9 études prospectives) publiées entre janvier 1966 et mars 2001. Elle a permis d'estimer la sensibilité de la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG à 88 % et sa spécificité à 79%. Comparativement à l'IRM, Heinisch et al. montrent un manque de sensibilité de la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG (68% pour la TEP versus 92 % pour l'IRM) [201]. Dans cette étude, la supériorité de l'IRM est surtout vraie pour les tumeurs infra-centimétriques et les formes lobulaires.

Par la suite, l'ajout d'un TDM non injecté systématiquement couplé à l'acquisition TEP n'a pas amélioré la sensibilité ni la spécificité de l'examen. Celui-ci n'apporte en effet pas d'aide pour la distinction des tumeurs bénignes et malignes.

Afin d'améliorer la sensibilité de la TEP, certains auteurs ont montré l'utilité d'une deuxième acquisition 2 heures après l'injection du traceur (« dual-time imaging ») : la fixation tumorale du  $^{18}\text{F}$ -FDG par les lésions malignes semble croître en fonction du temps,

contrairement aux lésions bénignes [202]. Cependant, ce protocole d'acquisition est long et sa performance n'a pas été confirmée par de plus larges études.

Au total, la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG n'est pas assez sensible pour pouvoir être utilisée pour le dépistage du cancer du sein, et sa valeur prédictive positive pas assez élevée pour surseoir à une biopsie en cas de fixation d'une lésion mammaire.

Peu d'études ont évalué le rôle de la TEP pour déterminer le stade T de la tumeur (classification TNM 2010, annexe 1). Il apparaît que, du fait de sa résolution spatiale limitée, la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG est moins performante que l'IRM pour la stadification [203]. Heusner et al. ont mis en évidence sur une population de 40 patientes que l'IRM mammaire permet une classification correcte du stade T dans 77% contre seulement 54% des cas pour la TEP-FDG [203]. Concernant la recherche de multifocalité, Ergul et al. ont montré que la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG possède une sensibilité de détection inférieure à l'IRM (67% versus 78%) mais une spécificité nettement supérieure (100% versus 53%) [204]. Dans cette étude, le gold standard était l'analyse histologique. Pour cette raison, l'imagerie combinée TEP-IRM semble être un examen prometteur pour la classification T d'une lésion mammaire et la recherche de multifocalité [205]. Par ailleurs, les systèmes TEP haute résolution, dédiés à l'imagerie mammaire (mammo-TEP), ont montré une nette amélioration de la sensibilité de détection des lésions mammaires primitives multifocales, avec une sensibilité équivalente, mais une spécificité un peu supérieure à l'IRM mammaire (Cf paragraphe 1.6 du chapitre II). Une méta-analyse récente de Caldarella et al. conclut à une sensibilité et une spécificité de 85 et 79% de la mammo-TEP, comparables à celles de l'IRM mammaire [206].

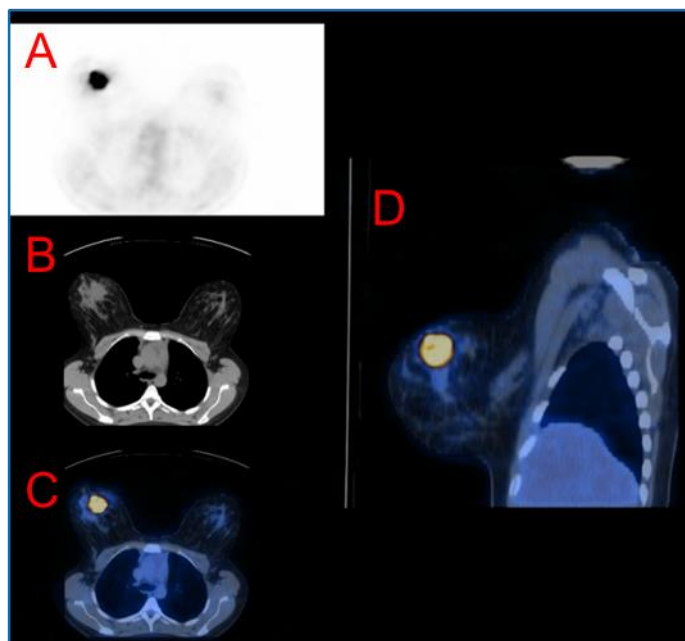


Figure 35: TEP/TDM au  $^{18}\text{F}$ -FDG chez une patiente présentant un cancer mammaire T2N0. L'examen montre une fixation tumorale intense du F-FDG. (A) : coupe axiale TEP. (B) : coupe axiale TDM. (C) : coupe axiale fusionnée TEP-TDM. (D) coupe sagittale fusionnée TEP-TDM.

### 3.2.3. Bilan d'extension locorégional

#### 3.2.3.1. Envahissement axillaire

##### 3.2.3.1.1. *Cancer du sein de petite taille, inférieure à 2 cm*

L'envahissement ganglionnaire du creux axillaire a une valeur pronostique péjorative pour la survie sans événement et la survie globale. Pour les tumeurs opérées d'emblée, son évaluation est effectuée lors du geste chirurgical.

En raison de sa résolution spatiale limitée, la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG ne met pas en évidence les micro-métastases et les métastases ganglionnaires de petite taille. Dans une étude prospective multicentrique incluant 360 patientes présentant une tumeur mammaire de diagnostic récent, avec intention de curage ganglionnaire axillaire [207], la sensibilité et la spécificité de la TEP pour l'évaluation de l'envahissement ganglionnaire axillaire étaient respectivement de 61% (95% IC= 54%-67%) et 80% (95% IC= 50%-79%). De même, une méta-analyse ayant inclus 26 études évaluant la TEP ou la TEP/TDM pour la détection de l'envahissement ganglionnaire axillaire (n = 2591 patients) a montré une sensibilité de 63% (range 20-100%) et spécificité de 94% (75-100%) [208](5).

Du fait de la faible probabilité d'envahissement axillaire pour les tumeurs mammaires de petite taille (<2cm) et de la sensibilité imparfaite de l'examen, la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG n'est

pas indiquée pour le bilan d'extension des tumeurs mammaire de moins de 2cm, sans envahissement ganglionnaire à l'examen clinique (stade I de la classification UICC).

La technique du ganglion sentinelle présente une excellente sensibilité pour la détection de l'envahissement axillaire homolatéral, associée à une faible morbidité. Elle est le gold standard pour les néoplasies mammaires à un stade précoce [209].

Dans un groupe de 236 patientes, Veronesi et al. [210] ont confirmé une faible sensibilité de la TEP (37%) pour la mise en évidence de l'envahissement ganglionnaire axillaire, mais calculé une forte spécificité (96%) et valeur prédictive positive (88%). Du fait de cette spécificité élevée, ils proposent de surseoir à l'étude du ganglion sentinelle et de programmer d'emblée un curage axillaire si une TEP pré-thérapeutique montre un foyer hypermétabolique axillaire. Si la TEP est négative, l'étude du ganglion sentinelle ne peut être évitée. Une étude plus récente confirme ces données [211].

#### 3.2.3.1.2. *Cancer du sein de grande taille ou localement avancé*

Les tumeurs mammaires de grande taille ou localement avancées sont le plus souvent traitées par une chimiothérapie néo-adjuvante. Le curage axillaire, réalisé dans un second temps, peut revenir négatif en raison de l'efficacité de la chimiothérapie néoadjuvante. Or, la connaissance d'un envahissement initial du creux axillaire peut être une information importante, notamment pour guider les champs de radiothérapie. Cermik et al ont montré que la sensibilité de l'examen s'accroît avec l'importance de l'envahissement axillaire : 41% pour pTN1, 67% pour pTN2 et 100% pour pTN3 [212].

Le couplage TEP-TDM est particulièrement performant [213, 214] et permet de corriger les faux positifs comme un hypermétabolisme de la graisse brune ou d'un muscle [215]. Le TDM permet de localiser précisément les adénopathies métastatiques (figure 36). Il est ainsi possible de différencier une adénopathie axillaire du niveau III de Berg (région infra-claviculaire, supéro-médiale par rapport au muscle petit pectoral) d'une adénopathie plus bas située (niveaux I et II). Cette information n'est habituellement pas apportée par le curage ganglionnaire qui se limite au niveau I et II, un curage du niveau III étant source de morbidité élevée. Or, plusieurs séries chirurgicales ont montré qu'une adénopathie de niveau III est associée à un mauvais pronostic [216, 217] et nécessite une prise en charge adaptée.

Plusieurs études ont rapporté l'utilité de la TEP (avec ou sans TDM associé) pour le bilan d'extension des patientes présentant un cancer du sein large (>3cm), localement avancé ou inflammatoire [213, 218-221]. Groheux et al. ont montré un faible intérêt de la TEP au <sup>18</sup>F-FDG pour le bilan d'extension des patientes avec un cancer classé IIA par l'imagerie conventionnelles (4.5% de modification du résultat du bilan d'extension par la TEP), comparativement aux patientes avec un stade plus élevé, suggérant donc un intérêt du bilan d'extension TEP à partir du stade IIB [213]. Comparativement à ces résultats, une étude de Cochet et al. sur 142 patientes montre un impact de la TEP sur la prise en charge des patientes particulièrement important à partir du stade III (17% de modification du schéma thérapeutique pour les tumeurs initialement de stade III et 24% pour le stade IV), mais non négligeable pour les stade IIA (9%) et IIB (7%). Environ 35% des patientes avec un stade tumoral initialement IIA ou IIB étaient différemment reclassées par la TEP.

Au total, la TEP est un examen performant pour le bilan d'extension des tumeurs mammaires larges ou localement avancées, particulièrement utile à partir du stade IIB. L'intérêt pour les tumeurs IIA nécessite de plus larges études prospectives.

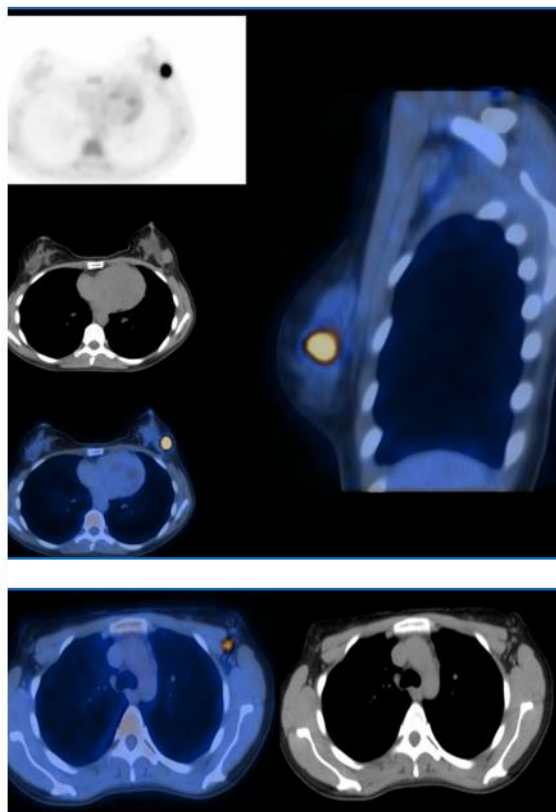


Figure 36: Hypermétabolisme glucidique de la tumeur mammaire gauche et détection d'une adénopathie unique, infra-centimétrique axillaire gauche.

#### 3.2.3.1.3. Comparaison aux autres modalités d'imagerie.

Une méta-analyse récente, incluant 7 études (n= 8762 patientes), a confirmé une sensibilité à 56% [95% IC= 44% - 67%] et une spécificité à 96% (95% IC = 90% - 99%) du système TEP/TDM pour l'évaluation ganglionnaire [222]. Dans cette étude, La TEP-TDM présente une sensibilité inférieure (56% vs 88%), mais une spécificité supérieure (96% vs 73%) à l'IRM pour l'évaluation ganglionnaire [222]. La performance de la TEP pour l'évaluation axillaire n'est également pas supérieure à celle de l'échographie [223]. Il a par ailleurs été montré qu'une imagerie couplée TEP-IRM permet d'augmenter la fiabilité de la détection d'un envahissement ganglionnaire axillaire [205].

#### 3.2.3.2. *Envahissement extra-axillaire*

Le statut ganglionnaire extra-axillaire est certainement sous-évalué par les techniques d'imagerie conventionnelle et n'est généralement pas évalué par la chirurgie. Cependant, des ganglions sus-claviculaires et mammaires internes peuvent être envahis même si le creux axillaire est indemne de maladie. Cela est probablement plus fréquent pour les tumeurs localisées au niveau des quadrants internes du sein [224]. Une meilleure évaluation initiale de l'envahissement des aires ganglionnaires extra-axillaires pourrait permettre d'effectuer un traitement locorégional plus adapté (notamment en ajustant les champs de radiothérapie) et de diminuer ainsi le risque de récurrence. La TEP apparaît intéressante pour évaluer le statut ganglionnaire extra-axillaire, et notamment la chaîne mammaire interne (figure 37) [212] avec une sensibilité d'environ 85% contre 50% pour l'évaluation scanographique [225]. En 2010, une étude de Aukama et al, ayant inclus 60 patientes, a montré que la TEP-TDM détecte un envahissement ganglionnaire extra-axillaire pour presque un tiers (28%) des patientes présentant une tumeur mammaire de stade II ou III, non évaluables en échographie, et impliquant un changement des champs de radiothérapie pour 12% des patientes [226].



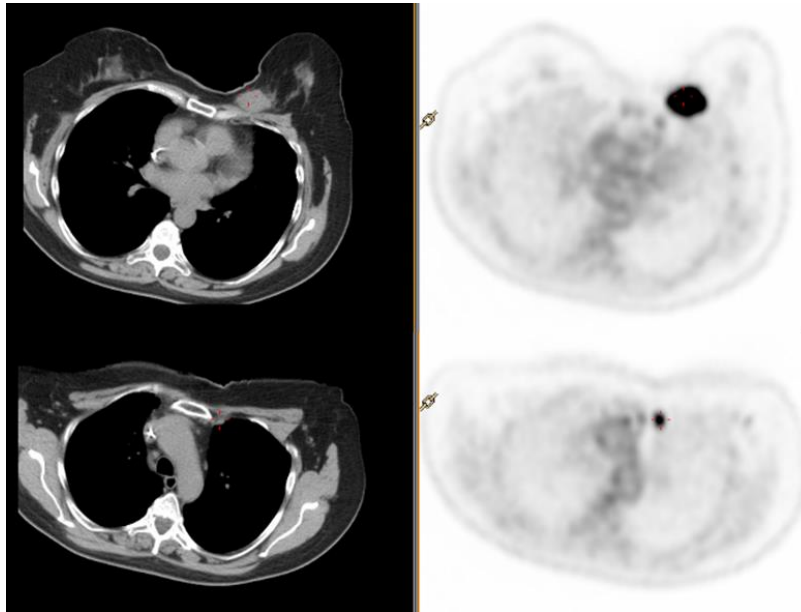


Figure 37 : lésion tumorale dans le quadrant supéro-interne du sein gauche, associée à une adénopathie mammaire interne homolatérale de 5 mm.

#### 3.2.4. Bilan d'extension métastatique

L'évaluation de la dissémination métastatique de la maladie est capitale dans la prise en charge des néoplasies mammaires localement avancées. Les métastases les plus fréquentes sont osseuses, hépatiques et pulmonaires.

Dès 2002, Dose et al ont comparé la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG, sans TDM associé, au bilan d'imagerie conventionnel (radiographie pulmonaire, scintigraphie osseuse, échographie hépatique, scanner thoraco-abdominal) pour la détection de métastases chez 50 patientes présentant un cancer du sein. La sensibilité de la TEP est de 86% et sa spécificité de 86% contre 36 et 95% pour le bilan conventionnel [227]. Une étude de 2008 menée sur 119 patientes (69 patientes avec une néoplasie mammaire localement avancée et 50 patientes avec un antécédent de tumeur mammaire) ont retrouvé des résultats comparables avec une sensibilité et une spécificité de respectivement 87 et 83% contre 43 et 98% pour l'imagerie conventionnelle, après confirmation histologique [228]. Le développement et l'utilisation, désormais quasi systématique de TDM couplé à la TEP, améliore la performance de détection des foyers métastatiques, non seulement en surclassant les patientes par rapport au bilan d'imagerie conventionnel (figure 38), mais parfois également en les sous-classant [219, 220]. En effet, l'étude de Cochet et al a montré que, pour les patientes avec une tumeur du sein localement évoluée mais considérée comme non-métastatique par l'examen clinique et l'imagerie standard (stade II et III), des métastases (stade IV) sont retrouvées dans une proportion non négligeables de patientes [219][62]. A l'inverse, cette même étude

a mis en évidence que 24% (4/17) des patientes considérées métastatiques par l'imagerie conventionnelle, ne l'étaient pas en TEP. L'impact de ce changement de classification sur la stratification pronostique des patientes est majeure : les patientes considérées métastatiques par la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG présentent une survie sans progression (SSP) de seulement 40%, alors que celles considérées comme métastatiques par le bilan d'imagerie conventionnel présentent une SSP de 63% à 2 ans. La valeur pronostique de la classification TNM par la TEP est donc supérieure à celle du bilan d'imagerie conventionnel [219].

Par ailleurs, les cancers du sein inflammatoires (T4d) sont associés à un risque élevé de métastases viscérales ou osseuses. Selon une étude d'Alberini et al., la TEP/TDM retrouve des métastases chez 18 des 59 patientes (31%) présentant un cancer mammaire inflammatoire : seulement 6 des ces patientes métastatiques avaient été diagnostiquées par l'imagerie conventionnelles [221].

Si l'on s'intéresse séparément aux différents sites métastatiques, le débat sur le manque de sensibilité de la TEP pour la détection des métastases osseuses, par rapport à la scintigraphie osseuse, est toujours ouvert. En effet, une étude prospective de 2005 de Uematsu et al., portant sur 15 patientes ayant bénéficié successivement d'une scintigraphie osseuse et d'une TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG, avait montré une sensibilité de 85 % pour l'analyse lésion par lésion de la scintigraphie osseuse et de seulement 17 % pour la TEP [229]. Ces résultats s'expliquaient par la présence d'un nombre élevé de métastases ostéoblastiques où la TEP n'est positive que dans 6 % des cas. En revanche, la TEP retrouvait 90 % des lésions lytiques. A l'inverse, si la scintigraphie osseuse retrouvait 92 % des métastases ostéoblastiques, elle ne permettait de distinguer que 3.5% des formes purement ostéolytiques. Les formes mixtes étaient détectées par la TEP dans 95 % des cas. Dans l'étude de Gallowitsch et al. [230], datant de 2003, la TEP apparaissait également moins sensible que la scintigraphie osseuse (61 versus 97 %). Là encore, ce résultat est expliqué par la nature ostéo-sclérotique des lésions. La conclusion de ces études est que, en raison de sa faible sensibilité de détection des métastases ostéoblastiques, la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG ne peut se substituer à la scintigraphie osseuse, et que ces deux examens apparaissent complémentaires. Cependant, pour ces 2 études, la TEP ne disposait pas de système TDM embarqué. L'imagerie hybride TEP-TDM, systématiquement utilisée de nos jours, est nettement plus performante que l'examen TEP seul pour le bilan osseux. Il permet la visualisation des lésions osseuses condensantes sur le TDM, même si elles s'avèrent peu métaboliques sur la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG. Une étude publiée dans le JCO par Morris et al

montre que la TEP/TDM est performante pour la détection des lésions osseuses à la fois condensantes et lytiques, et que la scintigraphie osseuse, dans ce contexte, semble redondante [231].

A l'avenir, il n'est pas impossible que les bonnes performances de la TEP au fluorure de sodium (TEP au  $^{18}\text{FNa}$ ) soient mises à profit pour la détection des métastases ostéoblastiques. Cependant la question de l'impact pronostic des lésions osseuses condensantes non métaboliques en TEP au  $^{18}\text{F-FDG}$  reste à élucider : il est en effet probable que ces lésions correspondent à des séquelles de métastases peu ou pas actives, avec un faible impact pronostique.

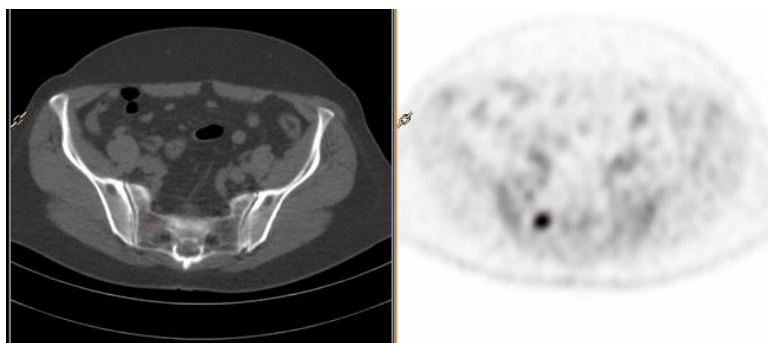


Figure 38 : petit foyer d'hypermétabolisme, focalisé sur l'aileron sacré droit, unique, sans traduction sur les images TDM. Le suivi de la patiente a confirmé qu'il s'agissait d'une lésion métastatique osseuse.

Pour la recherche de métastases pulmonaires, la TEP au  $^{18}\text{F-FDG}$  est vraisemblablement intéressante mais elle souffre de sa résolution spatiale insuffisante. Le mouvement de la coupole diaphragmatique induit un flou cinétique avec étalement du signal des lésions des bases pulmonaires (diminution du  $\text{SUV}_{\text{max}}$  de la lésion et erreur de localisation). L'imagerie hybride TEP-TDM effectuée avec un scanner en coupes fines, en fenêtre parenchymateuse, permet d'améliorer la sensibilité de détection.

Pour l'envahissement ganglionnaire médiastinal, la TEP est un examen performant. Il peut toutefois exister des examens faussement positifs, par exemple en cas de tuberculose ou de sarcoïdose.

La TEP est moins sensible que l'échographie pour la recherche des localisations hépatiques : la résolution spatiale du système, la fixation physiologique hépatique, et les mouvements du dôme hépatique lors du cycle respiratoire sont des facteurs limitants [227].

Du fait du métabolisme glucidique cérébral physiologique, la TEP au  $^{18}\text{F-FDG}$  n'est pas indiquée pour la recherche de localisations secondaires cérébrales.

Au total, pour les tumeurs du sein localement avancées, la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG est un examen performant pour rechercher une extension métastatique. Pour autant, il faut en connaître les limites. Les faux négatifs sont essentiellement représentés par les métastases osseuses condensantes et les lésions de petite taille, notamment au niveau des parenchymes pulmonaire et hépatique. L'analyse de l'acquisition TDM couplée à la TEP permet de nettement limiter ces résultats faux-négatifs. Quant aux faux positifs, ils sont l'apanage des phénomènes infectieux et/ou inflammatoires. Malgré ces limitations, la TEP est aujourd'hui l'examen le plus fiable pour définir le stade UICC de la tumeur et obtenir une stratification pronostique des patientes en fonction de ce stade (figure 39) [219, 232].

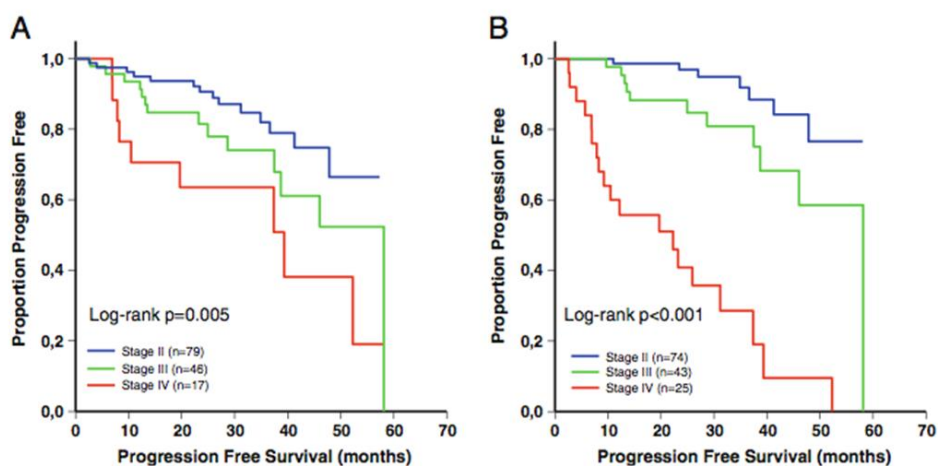


Figure 39 : Etude de Cochet et al. montrant la stratification pronostique des patientes (survie sans progression) par l'imagerie conventionnelle (A) et par la TEP-TDM (B) [219].

### 3.3. Valeur pronostique de la TEP au $^{18}\text{F}$ -FDG initiale

#### 3.3.1. Corrélation du métabolisme glucidique tumoral avec les facteurs pronostiques clinico-histo-pathologiques

Plusieurs études ont étudié l'influence du type histologique et des facteurs histobiologiques (grade histo-pronostic, expression des récepteurs hormonaux....) sur l'intensité de fixation du  $^{18}\text{F}$ -FDG par la tumeur. Ainsi, la majorité des travaux ont montré que les carcinomes canaux infiltrants ont une fixation plus importante que les carcinomes lobulaires infiltrants, ces derniers pouvant être source d'examen faussement négatif [233, 234]. La fixation est habituellement très faible, voire absente, pour les carcinomes intra-canaux [234].

Il existe une corrélation positive entre le métabolisme glucidique tumoral et l'agressivité des cellules néoplasiques, évaluée par le grade histo-pronostic SBR : la

captation du  $^{18}\text{F}$ -FDG est plus importante pour les tumeurs classées SBRIII [234, 235]. Il existe également une corrélation entre l'index de prolifération tumorale (expression du Ki67 en immunohistochimie) et l'intensité de captation du  $^{18}\text{F}$ -FDG [233-236].

La surexpression de la protéine p53 constitue un facteur d'agressivité tumorale de mauvais pronostic [230, 237]. Plusieurs équipes ont mis en évidence une corrélation entre la captation tumorale du  $^{18}\text{F}$ -FDG et le statut tumoral p53 [234, 238, 239].

Le métabolisme glucidique tumoral est par ailleurs très influencé par le phénotype tumoral, défini par méthode immuno-histochimiques. Plusieurs publications récentes ont montré que le phénotype triple négatif présente une fixation du  $^{18}\text{F}$ -FDG nettement supérieur aux autres phénotypes. [194, 236, 237, 240, 241]. Cet hypermétabolisme glucidique intense est expliqué par le caractère agressif et très prolifératif de ce phénotype tumoral. A l'inverse, le phénotype luminal-HER2 négatif, caractérisé par une expression des récepteurs aux œstrogènes et qui une bonne différenciation des cellules tumorales, présente un index de fixation du  $^{18}\text{F}$ -FDG plus faible (figure 40 et 41) [194, 236, 241, 242]. Beaucoup des faux négatifs de la TEP appartiennent à ce sous-groupe [195].

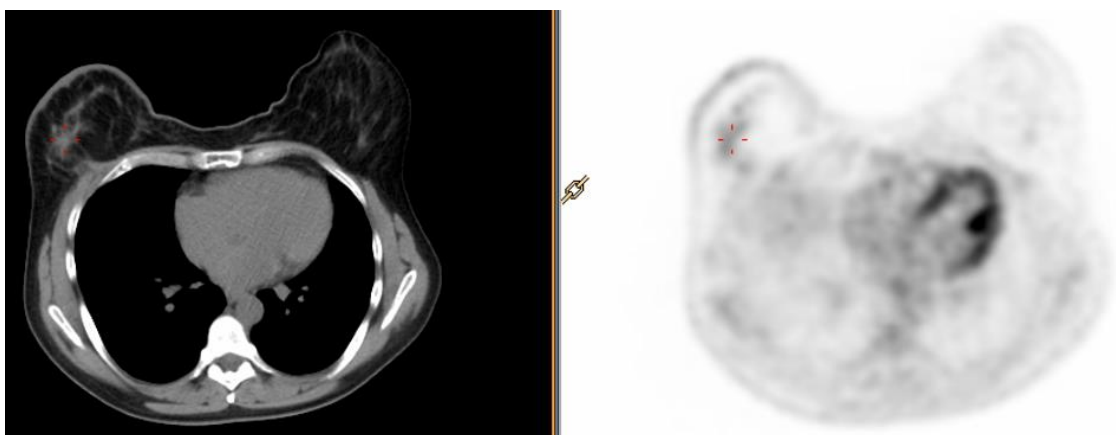


Figure 40 : lésion tumorale mammaire droite, de phénotype luminal HER2 négatif, SBR I, KI-67 = 10%, présentant un très faible métabolisme glucidique (SUV = 2,0).

Une étude de Garcia-Esquinas et al., publiée en 2014 et ayant inclus prospectivement 43 patientes avec un cancer mammaire stade II et III, a montré une association significative entre un SUVmax tumoral élevé et l'absence de récepteurs aux œstrogènes, le phénotype triple négatif (par rapport aux tumeurs lumorales), la surexpression de HER2 (par rapport aux tumeurs lumorales), un grade SBR élevé, l'expression tumoral de Ki-67 [236].

En conclusion, les données de la littérature convergent en montrant que les carcinomes canauxaires fixent plus le  $^{18}\text{F}$ -FDG que les formes lobulaires. L'intensité de la fixation du

$^{18}\text{F}$ -FDG est corrélée de façon positive au grade histo-pronostique et aux caractéristiques prolifératives de la tumeur. Les tumeurs RE négatives sont plus fixantes que les tumeurs RE positives. Il ne semble pas exister de corrélation entre le statut HER2 positif et le taux de fixation du  $^{18}\text{F}$ -FDG. Les tumeurs triple négatives présentent une importante avidité pour le  $^{18}\text{F}$ -FDG.

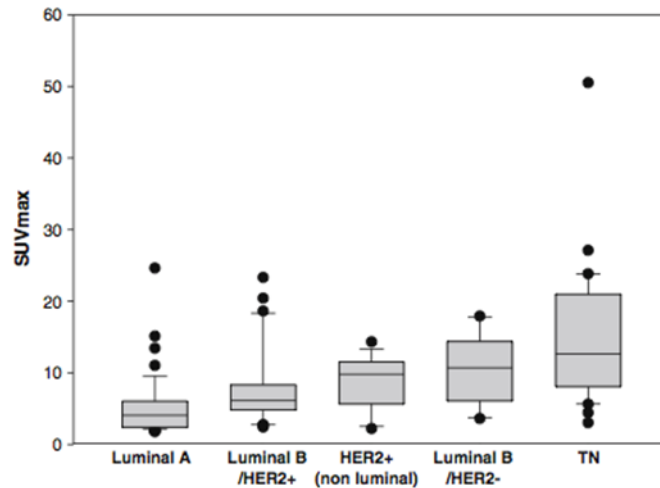


Figure 41 : Etude de Cochet et al. montrant la variation de valeur du SUV pré-thérapeutique d'un phénotype tumoral à l'autre [219].

### 3.3.2. Corrélation du métabolisme glucidique tumoral avec la survie

En évaluation pré-opératoire, Inoue et al. [243] ont effectué une TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG chez 81 patientes présentant une tumeur mammaire opérable d'emblée. L'intensité de la fixation du  $^{18}\text{F}$ -FDG ( $\text{SUV}_{\text{max}}$ ) par la tumeur primitive et la présence de ganglions axillaires hypermétaboliques (80 % des patientes) ont été comparées à la survie sans récurrence. Le pronostic apparaît moins bon dans le groupe présentant un  $\text{SUV}_{\text{max}}$  supérieur à 4 que dans le groupe ayant un  $\text{SUV}_{\text{max}}$  tumoral inférieur à 4 ( $p=0,011$ ). Le taux de survie sans récurrence à 5 ans est mesuré à 75% dans le premier groupe contre 95,1 % dans le second. La combinaison du  $\text{SUV}_{\text{max}}$  tumoral et de la présence d'adénopathies hypermétaboliques axillaires apparaît être un facteur pronostique indépendant du T et du N clinique. Les patientes présentant un  $\text{SUV}_{\text{max}}$  tumoral supérieur à 4 associé à un foyer hypermétabolique du creux axillaire ont présenté un nettement moins bon pronostic que les autres ( $p < 0,001$ ) avec une survie sans récurrence à 5 ans de 44,4% contre 96,8 %. Cette valeur pronostique péjorative d'un  $\text{SUV}_{\text{max}}$  élevé a également été montrée dans une étude plus récente de Baba et al. [244].

### 3.4. Recherche de récurrence(s)

Une récurrence du cancer du sein est généralement suspectée en cas de symptômes cliniques, de ré-ascension des biomarqueurs biologiques sanguins (CA15.3 et ACE). Dans cette indication, la TEP-TDM au  $^{18}\text{F}$ -FDG est un examen particulièrement performant pour authentifier et localiser le (ou les) site(s) de récurrence, elle est supérieure au bilan d'imagerie conventionnel, incluant le bilan TDM [245, 246]. Dans un groupe de 52 femmes, la sensibilité et la spécificité sont respectivement de 93 et 100 % pour la TEP-TDM, de 84 et 100 % pour la TEP seule et de 66 et 92 % pour le TDM injecté seul [247]. Une méta-analyse sur ce sujet a par ailleurs été publiée en 2010, ayant inclus 26 études évaluant la TEP ou la TEP/TDM dans un contexte de suspicion de récurrence du cancer mammaire [248]. Les conclusions étaient les suivantes :

- La TEP, lorsqu'elle est réalisée en plus du bilan d'imagerie conventionnel, améliore l'exactitude du diagnostic de récurrence du cancer du sein. Il persiste cependant une incertitude sur sa place : doit-elle s'ajouter ou se substituer au bilan d'imagerie conventionnel ?
- La TEP/TDM est supérieure au TDM seul pour le diagnostic de récurrence.
- La TEP/TDM est supérieure à la TEP seule pour le diagnostic de récurrence.
- La TEP/TDM et la TEP ont un impact significatif sur la prise en charge des patientes, mais il n'a pour l'instant pas été mis en évidence d'effet sur la survie des patientes par rapport aux patientes ayant bénéficié d'un bilan d'imagerie conventionnel.

Ainsi, qu'elle soit effectuée en raison de l'augmentation d'un marqueur ou du fait d'une suspicion clinique de récurrence, la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG est un examen performant. Un groupe d'expert a confirmé cette indication [249], également recommandée avec un niveau de preuve A par le groupe de travail SOR [187]. Plus récemment, le guide du bon usage des examens d'imagerie médicale, rédigé par une collaboration d'expert de l'HAS et des sociétés françaises de radiologie et de médecine nucléaire, a confirmé l'indication de la TEP en cas de suspicion de récurrence (clinique, biologique, imagerie suspecte), tout en mentionnant que La TEP/TDM au  $^{18}\text{F}$ -FDG est l'examen le plus sensible pour la détection des récurrences métastatiques osseuses ou viscérales. Il n'y a cependant pas d'indication de la TEP dans la surveillance systématique, sauf cas particulier : la TEP/TDM au  $^{18}\text{F}$ -FDG pourrait en effet être utile dans le suivi des patientes à très haut risque de rechute (jeune < 40 ans, triple négatif...) après avis en réunion de concertation pluri-disciplinaire (RCP).

### 3.5. Evaluation de la réponse tumorale au traitement néoadjuvant

La TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG permet une mesure in vivo du métabolisme glucidique tumoral ainsi qu'un suivi évolutif de ce métabolisme en cours de chimiothérapie. L'intérêt est que les modifications du métabolisme glucidique tumoral, induites par la chimiothérapie, précèdent la réduction de la taille tumorale observée en imagerie morphologique. L'évaluation précoce de la réponse tumorale par la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG est depuis plusieurs années un domaine très actif de la recherche clinique, particulièrement dans la situation d'un traitement néoadjuvant. En effet, la chimiothérapie permet d'observer in vivo la réponse tumorale, offrant ainsi l'opportunité d'identifier, par des recherches translationnelles, des facteurs (cliniques, radiologiques, biologiques, moléculaires) prédictifs ou explicatifs de la qualité de la réponse.

Parmi les marqueurs biologiques ou radiologiques habituels, aucun ne permet de prédire de manière précoce et fiable la réponse histologique complète, facteur de bon pronostic.

Au cours de la dernière décennie, plusieurs études, ne prenant pas en compte le phénotype tumoral, ont été menées pour évaluer le rôle potentiel de la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG, dans la prédiction précoce de la chimiothérapie néo-adjuvante (tableau 11). Elles ont mis en évidence une corrélation entre les modifications précoces de la valeur du  $\text{SUV}_{\text{max}}$  (après une, deux ou trois cures de chimiothérapie) et la réponse finale sur pièce opératoire [250-257]. Trois méta-analyses sur le sujet ont récemment été publiées, montrant toutes une sensibilité de la TEP supérieure à sa spécificité [258-260].



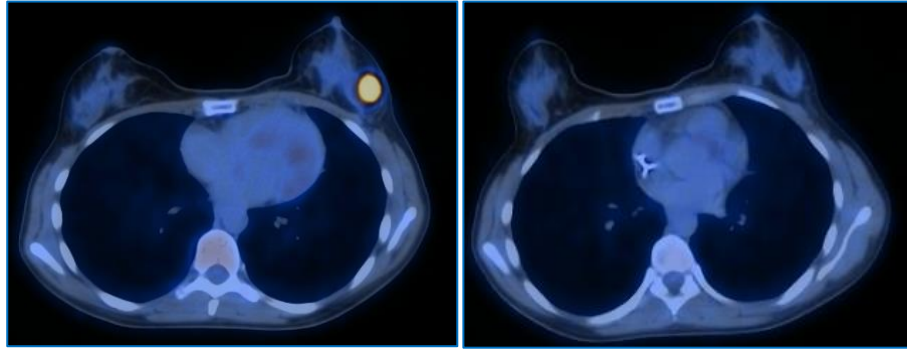


Figure 42 : Patiente âgée de 48 ans présentant une tumeur mammaire T2N0. La TEP/TDM au  $^{18}\text{F}$ -FDG pré-thérapeutique (image de gauche) montre un hypermétabolisme intense de la lésion primitive de 30mm de diamètre (SUV tumeur = 15.4). La TEP/TDM au  $^{18}\text{F}$ -FDG après la première cure de chimiothérapie (Taxotère-herceptine) montre une réponse métabolique complète (absence d'hypermétabolisme résiduel significatif, SUV tumeur = 1.4). Le  $\Delta\text{SUV}$  tumoral est calculé à 91%. L'analyse histologique de la pièce opératoire à l'issue des 6 cures de CNA montrait l'absence de tissu tumoral résiduel (Chevallier 1).

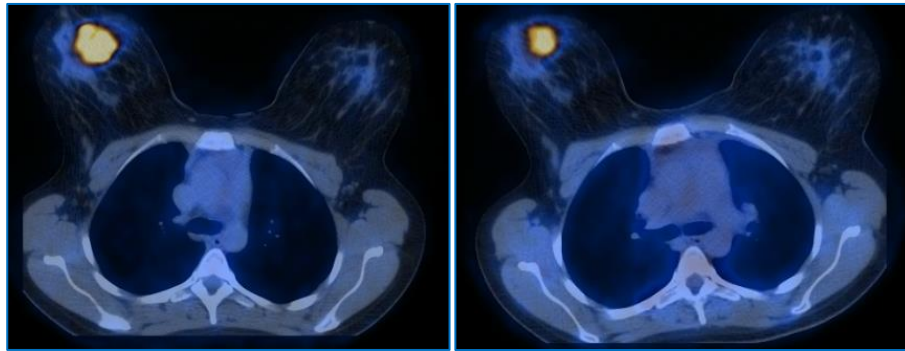


Figure 43 : Patiente âgée de 64 ans présentant une tumeur mammaire T2N0. La TEP/TDM au F-FDG pré-thérapeutique (image de gauche) montre un hypermétabolisme intense de la lésion primitive de 40 mm de diamètre (SUV tumeur = 12.9). La TEP/TDM au F-FDG après la première cure de chimiothérapie (FEC100) montre une réponse métabolique modérée et partielle (SUV tumeur = 7.2). Le  $\Delta\text{SUV}$  tumoral est calculé à 44%. L'analyse de la pièce opératoire à l'issue des 6 cures de CNA montrait la persistance de tissu tumoral vivace au sein de la tumeur (Chevallier 3).

Cependant, les résultats de ces travaux concernant la définition de la valeur seuil de  $\Delta\text{SUV}$  pour prédire la pCR, sont hétérogènes. Rousseau et al. ont déterminé comme seuil optimal, pour différencier les patientes répondeuses des non-répondeuses, une diminution du  $\text{SUV}_{\text{max}}$  d'au moins 40% après 2 cures de chimiothérapie [253]. Deux autres équipes ont observé une valeur optimale de 55% après 2 cures [252, 255]. Berriolo-Riedinger et al. ont proposé un seuil de 60% après la première cure [254]. La raison est qu'il existe de nombreuses différences de méthodologie entre les études: le moment de l'évaluation de la réponse métabolique, le protocole d'acquisition de la TEP, le type de la chimiothérapie, la

définition de la réponse histologique complète et la prise en compte des ganglions axillaires ou non.

En effet, à la fin de la chimiothérapie, les données histo-pathologiques sur la pièce opératoire constituent la référence pour évaluer *in vivo* la réponse thérapeutique [261]. Cependant, différentes échelles histologiques sont disponibles: les échelles les plus couramment utilisées dans les études TEP sont celle de Sataloff [262], de Honkoop [263], et de Miller-Payne [264]. L'échelle diffère donc entre les études et, pour une même échelle, les regroupements effectués pour définir la réponse thérapeutique peuvent être différents (tableau 10). Dans l'étude de Rousseau, les répondeuses ont été définies comme les patientes avec une régression tumorale égale ou supérieure à 50% (Sataloff TA et TB). Sur la base de cette définition, Rousseau et al. ont observé qu'une baisse de 40% du  $SUV_{max}$  après 2 cycles constitue la valeur seuil optimale pour différencier les répondeuses des non-répondeuses [253]. Toutefois, si une régression tumorale de plus de 50% sur l'analyse histologique peut permettre de réaliser une tumorectomie plutôt qu'une chirurgie radicale, cette diminution est néanmoins insuffisante pour espérer obtenir une meilleure survie. En effet, les études cliniques ont démontré que seules les patientes avec une pCR ont un taux de survie significativement augmenté [67, 261]. En se basant sur l'échelle de Honkoop, Schwarz-Dose et al. ont cherché à prédire l'absence totale de tumeur invasive (pCR) ou seulement quelques petits résidus tumoraux microscopiques (pMRD pour « pathological Minimal Residual Disease ») [265]. Cette situation est proche de la réponse T-A selon l'échelle de Sataloff. Par conséquent, Schwarz-Dose a cherché à prédire une réponse plus importante que Rousseau. Cela pourrait expliquer que la valeur seuil optimale de baisse du  $SUV_{max}$  après 2 cycles pour identifier les répondeuses, était plus élevée dans l'étude allemande (55% pour Schwarz-Dose et al., vs 40% pour Rousseau et al.). Avec des critères similaires à ceux de Schwarz-Dose, Schelling a également identifié une valeur de 55% comme un seuil optimal après 2 cures [252].

Sataloff	<p><b>Evaluation de la tumeur primitive:</b></p> <p><b>T-A:</b> réponse complète ou quasiment complète;</p> <p><b>T-B:</b> réponse &gt;50% mais inférieure à T-A;</p> <p><b>T-C:</b> effet thérapeutique évident mais réponse &lt;50%;</p> <p><b>T-D:</b> absence d'effet thérapeutique;</p> <p><b>Evaluation des ganglions axillaires:</b></p> <p><b>N-A:</b> absence de cellules malignes et évidence d'un effet thérapeutique;</p> <p><b>N-B:</b> absence de cellules malignes et absence d'effet thérapeutique;</p> <p><b>N-C:</b> évidence d'un effet thérapeutique mais métastases ganglionnaires toujours présentes;</p> <p><b>N-D:</b> métastases ganglionnaires viables et sans effet thérapeutique.</p>
Honkoop	<p><b>pCR:</b> absence de tumeur résiduelle invasive sur la pièce de mastectomie;</p> <p><b>pMRD:</b> présence de quelques micro-foyers de cancer infiltrant;</p> <p><b>GRD:</b> tumeur résiduelle macroscopique ou infiltration microscopique extensive.</p>
Miller et Payne	<p><b>Grade-1:</b> absence de modifications ou altérations minimales des cellules malignes sans réduction de la cellularité tumorale globale;</p> <p><b>Grade-2:</b> diminution mineure de la cellularité tumorale (&lt;30%);</p> <p><b>Grade-3:</b> diminution de la cellularité tumorale entre 30% et 90%;</p> <p><b>Grade-4:</b> persistance de quelques petits îlots de cellules tumorales résiduelles avec une diminution de la cellularité supérieure à 90%;</p> <p><b>Grade-5:</b> disparition totale des cellules tumorales infiltrantes (des cellules in situ peuvent être présentes).</p>

Tableau 10 : 3 échelles histologiques permettant de définir la réponse histologique après la chimiothérapie du cancer du sein et utilisées dans les études évaluant la TEP.

pCR: pathologic Complete Response ; MRD: Minimal Residual Disease ;GRD : Gross Residual Disease

Etudes	n° cycles CNA	Date de la (des) TEP(s) d'évaluation	Echelle pour définir la réponse histologique	Définition des répondeuses histologiques	Evaluation du statut ganglionnaire	Proportion de réponses histologiques selon l'échelle	Proportion de Réponses complètes	Seuil optimal de diminution du SUV pour différencier répondeuses et non-répondeuses
Duch et al., 2009*[257]	4	après 2 cycles	Miller-Payne	grades 4 et 5 de Miller-Payne	Non	22%	16%	40%
Kumar et al., 2009*[256]	6	après 2 cycles	inspirée de Sataloff	pCR ou cellules malignes < 25%	Non	65%	-	50% est le seul seuil testé
Schwarz-Dose et al., 2009** [255]	4 à 6	après 1 et 2 cycles	Honkoop	pCR et pMRD	Non	16%	12%	45 % après 1 cycle et 55% après 2 cycles
Berriolo-Riedinger et al., 2007 [254]	4 à 6	après 1 cycle	Sataloff	T-A N-A/B de Sataloff	Oui	23%	23%	60%
McDermott et al., 2007 [251]	6 à 8	après 1 cycle, à mi-parcours, et avant la chirurgie	Miller-Payne	grades 4 et 5 de Miller-Payne	Non	-	-	24% après 1 cycle ; 58% à mi-parcours
Rousseau et al., 2006*[253]	4 à 6	après 1, 2 et 3 cycles, et avant la chirurgie	Sataloff	T-A/B de Sataloff	Non	56%	16%	40%
Schelling et al., 2000 [252]	2 à 4	après 1 et 2 cycles	Honkoop	pCR et pMRD	Non	17%	12%	55%
Smith et al., 2000 [250]	8	après 1 et 4 cycles, et avant la chirurgie	Inspiré de Miller-Payne	pCR et RP	Oui	58%	26%	non indiqué

Tableau 11 : Principales études évaluant la diminution du  $SUV_{max}$  au cours de la CNA du cancer du sein, tous phénotypes tumoraux inclus.

\* Ces études ont été effectuées avec un TEP-TDM, alors que les autres ont été réalisées avec une TEP seule.

\*\* Dans cette étude, les 24 patientes qui avaient un  $SUV_{max}$  initial inférieur à 3 ont été exclues.

TTT : traitement ; pCR : Réponse histologique complète ; RP : Réponse Partielle ; pMRD : maladie résiduelle minimale.

Ces études sont basées sur une réponse histologique en fin de CNA au niveau de la tumeur primitive. Cependant, pour que la survie soit augmentée, les cellules invasives ne doivent persister ni dans le sein, ni dans les ganglions axillaires [59]. Ainsi, la pCR est actuellement définie comme l'absence de cellules tumorales invasives résiduelles dans le sein et dans les ganglions axillaires, la présence de cellules malignes intra-canalaires ne semblant pas avoir d'impact sur la survie [59, 61]. En accord avec cette définition, Berriolo-Riedinger a considéré comme répondeuses les patientes qui présentaient une réponse complète dans la tumeur primitive (Sataloff T-A) et l'absence de maladie résiduelle dans les ganglions (Sataloff N-A/B) [254]. Il n'est donc pas étonnant que le seuil de  $SUV_{max}$  prédictif de la réponse soit encore plus exigeant dans cette étude ( $\Delta SUV$  à 60% après seulement 1 cycle de CNA).

En résumé, les différences de seuils entre les études semblent en partie pouvoir s'expliquer par les critères histo-pathologiques retenus pour définir la réponse histologique en fin de chimiothérapie néo-adjuvante.

Depuis les travaux publiés par Sorlie et Perou dans les années 2000 [7-9, 266], l'étude de la signature génomique des cancers du sein a montré l'hétérogénéité du profil génomique des néoplasies mammaires et mené à l'émergence d'une classification moléculaire du cancer du sein. Par la suite, s'est également développée une classification des cancers mammaires selon leurs caractéristiques immuno-histochimiques, moins onéreuse et plus facile à obtenir pour la pratique quotidienne [15, 17-19]. Ces deux classifications ont souligné l'existence de diverses entités tumorales du cancer du sein dont la présentation clinique, le profil évolutif, le traitement, la chimio-sensibilité et le pronostic divergent. L'impact de ces diverses entités biologiques sur le comportement métabolique du cancer du sein est donc devenu le sujet de travaux évaluant le rôle de la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG comme biomarqueur précoce de la réponse tumorale. Plusieurs articles sur ce sujet ont été publiés en 2012, 2013 et 2014 dans le cadre de cette thèse [111, 194, 241]. Leur contenu va maintenant être détaillé.

# CHAPITRE III : ARTICLES PUBLIES SUR LE COMPORTEMENT METABOLIQUE DES DIFFERENTS PHENOTYPES DU CANCER DU SEIN

## 1. Présentation des articles publiés dans le cadre de cette thèse

Les données des articles publiés dans le cadre de cette thèse proviennent de patientes évaluées dans différents protocoles de chimiothérapies néoadjuvantes depuis avril 2004.

Les patientes évaluées présentaient un cancer du sein prouvé histologiquement avec une indication de traitement néoadjuvant : cancer non métastatique, de taille supérieure à 2cm ou localement avancé. L'examen TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG n'était pas réalisé si la patiente présentait un diabète non contrôlé au moment de l'examen (glycémie > 8 mmol/L) ou si elle n'était pas apte à rester immobile pendant les 40 min de l'examen.

La première étude publiée en 2012 dans la revue « Annals of Oncology » [194] a évalué 115 patientes traitées par chimiothérapie néoadjuvante entre janvier 2004 et septembre 2009 et ayant bénéficié de 2 examens TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG, avant et après la première cure de chimiothérapie néoadjuvante. Dans les 3 articles suivants [195, 267], les patientes ont été séparées en trois groupes distincts en fonction des caractéristiques biologiques tumorales évaluées par l'immunohistochimie (surexpression de HER2 et présence de récepteurs hormonaux). L'objectif était d'obtenir une classification similaire à la nouvelle classification moléculaire du sein, basée sur les caractéristiques génétiques et biologiques des tumeurs (luminal A et B, basal, HER2). A noter que pour ces 3 articles, seuls les résultats des patientes incluses à partir de juillet 2006 étaient analysés, la première étude ayant montré le manque de reproductibilité entre les valeurs de SUV tumoral du premier système (CPET d'avril 2004 à juillet 2006,) avec les 2 suivants (Gemini GXL de juillet 2006 à décembre 2010 et Gemini TF de décembre 2010 à janvier 2014).

Il s'agit d'études monocentriques de soins courants, prospectives, observationnelles. La figure 44 représente le schéma simplifié de la prise en charge des patientes..

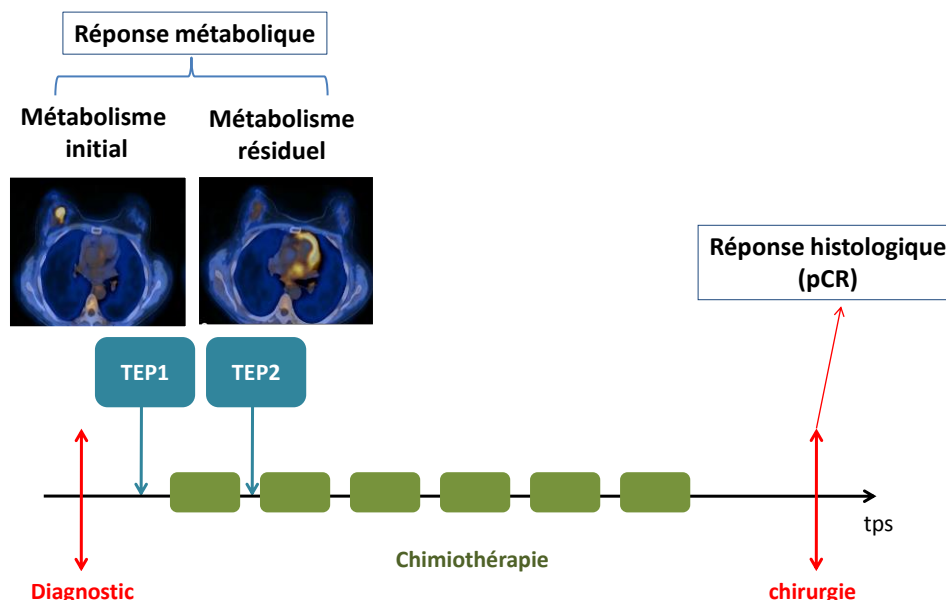


Figure 44: schéma simplifié de la prise en charge des patientes. Les données de la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG réalisée avant le début du traitement (TEP1) permettent de quantifier le métabolisme glucidique initial de la tumeur. Les données de la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG réalisée après une cure de chimiothérapie (TEP2) permettent d'évaluer le métabolisme tumoral résiduel et la réponse métabolique en comparaison avec les résultats de la TEP1.

### **Réalisation des examens TEP au $^{18}\text{F}$ -FDG**

Entre avril 2004 et juillet 2006, les examens se sont déroulés sur une C-PET Plus Scanner (Philips Medical systems, Eindhoven, The Netherlands). L'injection a été de 2 MBq/kg de  $^{18}\text{F}$ -FDG et une source de transmission externe de césium 137 a permis la correction d'atténuation.

De juillet 2006 à décembre 2010, les examens se sont déroulés sur une TEP GEMINI GXL (Philips) équipée d'un cristal GSO (orthosilicate de gadolinium). La dose administrée a été de 5 MBq/kg. La TEP a été couplée à un examen tomодensitométrie permettant d'obtenir une correction d'atténuation, avec une épaisseur de coupes de 5mm.

De décembre 2010 à janvier 2014, les examens se sont déroulés sur une TEP GEMINI TF (Philips) équipée d'un cristal d'orthosilicate de lutétium (LYSO). La dose administrée a été de 3 MBq/kg. La TEP a été couplée à un examen tomодensitométrie permettant d'obtenir une correction d'atténuation, avec une épaisseur de coupes de 5mm.

#### **TEP pré-thérapeutique (TEP 1)**

Toutes les patientes ont bénéficié d'une TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG pré-thérapeutique. La TEP1 a été réalisée selon les modalités suivantes:

- Délais d'au moins 5 jours après la biopsie
- Patiente à jeun depuis au moins 6 heures avant l'injection de  $^{18}\text{F}$ -FDG.
- Pesée et mesure de la taille de la patiente
- Recueil des antécédents récents (pathologie infectieuse, chirurgie...)
- Information orale de la patiente sur l'examen TEP
- Prélèvement intraveineux pour un dosage de la glycémie plasmatique.
- Injection intraveineuse en bolus du  $^{18}\text{F}$ -FDG avec un dose variant de 2MBq/kg à 5MBq/Kg selon le système TEP utilisé
- Patiente installée seule dans une pièce, en position couchée, au repos strict, pendant environ 50 à 60 minutes
- installation en décubitus dorsal pour une acquisition TEP de la racine des cuisses jusqu'à la tête, 60 minutes environ après l'injection du traceur, suivie d'une acquisition tomодensitométrique de la même région pour le repérage anatomique et la correction d'atténuation (keV et mAs variables selon le système TDM).
- Réalisation d'une acquisition en décubitus ventral sur le matelas dédié à la mammo-scintigraphie, bras levés, pour une acquisition TEP centrée sur la région mammaire (2 pas de 3 minutes), réalisé  $90 \pm 10$  min après injection du  $^{18}\text{F}$ -FDG, suivie d'une acquisition tomодensitométrique de la même région pour le repérage anatomique et la correction d'atténuation (keV et mAs variables selon le système TDM).

A partir de mai 2009, une acquisition dynamique mammaire complémentaire a été rajoutée lors de la TEP1 afin d'évaluer la perfusion tumorale avant et après la première cure de chimiothérapie : injection du bolus de  $^{18}\text{F}$ -FDG à une vitesse de 1mL/s par un système d'injection semi-automatique MEDRAD. Immédiatement après injection du  $^{18}\text{F}$ -FDG, réalisation d'une acquisition TEP dynamique centrée sur les seins pendant 2 minutes, suivie d'une acquisition tomодensitométrique de la même région pour le repérage anatomique et correction de l'atténuation. L'acquisition s'est faite en mode LIST.

### *TEP intermédiaire (TEP2)*

Ce deuxième examen est réalisé après la première cure de chimiothérapie mais le plus à distance possible de l'administration des cytotoxiques, généralement juste avant la réalisation de la deuxième cure. Certaines patientes n'ont pas eu de seconde TEP pour des raisons diverses (tumeur mammaire initialement non fixante, oubli du RDV...). La TEP2 a été réalisé selon les modalités suivantes:



- Patiente à jeun depuis au moins 6 heures avant l'injection de  $^{18}\text{F}$ -FDG.
- Pesée et mesure de la taille de la patiente
- Prélèvement intraveineux pour un dosage de la glycémie plasmatique.
- Injection intraveineuse en bolus du  $^{18}\text{F}$ -FDG avec un dose variant de 2MBq/kg à 5MBq/Kg selon le système TEP utilisé
- Patient installé seule dans une pièce, en position couchée, au repos strict, pendant environ 80 minutes
- Installation en décubitus ventral sur le matelas dédié, bras levés, pour une acquisition TEP centrée sur la région mammaire (2 pas de 3 minutes), en respectant le même délai d'acquisition que pour la TEP1 (environ  $90 \pm 10$  minutes après l'injection de F-FDG), suivie d'une acquisition tomodensitométrie de la même région pour le repérage anatomique et la correction d'atténuation (keV et mAs variables selon le système TDM).

A partir de mai 2009, une acquisition dynamique mammaire complémentaire a été rajoutée lors de la TEP 2, avec le même protocole d'acquisition que pour la TEP 1, afin d'évaluer la perfusion tumorale.

La reconstruction des images a été effectuée par un algorithme 3D RAMLA avec la caméra C-PET, LOR RAMLA avec la GEMINI GXL et TOF-OSEM 3D pour la caméra Gemini TF.

### **Poursuite du traitement néoadjuvant et chirurgie**

Le traitement néoadjuvant a été poursuivi selon les modalités habituelles (généralement 6 cures de chimiothérapie au total), selon différents protocoles de chimiothérapie. Le détail des traitements reçus est détaillé dans chaque article en fonction du phénotype étudié.

Dans le mois suivant la fin de la chimiothérapie néo-adjuvante, les patientes ont bénéficié d'un traitement chirurgical: soit une chirurgie conservatrice, soit une mastectomie, en fonction de l'appréciation du chirurgien et de la taille du résidu tumoral. Le curage ganglionnaire axillaire homolatéral était systématique. L'examen anatomopathologique de la pièce opératoire évaluait la réponse histologique selon les classifications de Sataloff et de Chevallier.

A l'issue de la chirurgie, une radiothérapie de la glande mammaire ou de la paroi thoracique +/- du creux axillaire a systématiquement été réalisée dans un délai de 3 à 4 semaines.

Une chimiothérapie adjuvante a parfois été réalisée en fonction des données cliniques, biologiques et histologiques.

Une hormonothérapie adjuvante par tamoxifène ou anti-aromatase était administrée dans le cas de tumeurs hormono-dépendantes.

### **Suivi**

Les patientes ont été suivies au CGFL par les différents médecins du Centre (oncologues, radiothérapeutes et chirurgiens). Le suivi clinique, biologique et radiologique a été effectué selon les recommandations habituelles.

Les consultations de surveillance avaient lieu en moyenne tous les 3 mois pendant les deux premières années puis tous les 6 mois pendant les 3 années suivantes.

## **2. Importance du phénotype pour la caractérisation tumorale métabolique**

### **2.1. Introduction**

A partir des années 2000, plusieurs études ont utilisé la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG pour évaluer la réponse métabolique précoce du cancer du sein traité par chimiothérapie néo-adjuvante [250-257]. Elles ont toutes montré que la modification précoce de la fixation tumorale du  $^{18}\text{F}$ -FDG (après 1, 2 ou 3 cycles de chimiothérapie) est un marqueur prédictif précoce de la réponse histologique complète déterminée sur la pièce opératoire en fin de chimiothérapie néo-adjuvante. Des méta-analyses sur le sujet ont récemment été publiées, confirmant une sensibilité de la TEP supérieure à sa spécificité [258-260].

Cependant, le seuil optimal de  $\Delta\text{SUV}$  pour définir les patientes bonnes ou mauvaises répondeuses diffère d'une étude à l'autre. De plus, depuis les travaux publiés par Sorlie et Perou dans les années 2000 [7-9, 266], l'étude de la signature génomique des cancers du sein a mis en évidence l'hétérogénéité du profil génomique des néoplasies mammaires et mené à l'émergence d'une classification moléculaire du cancer du sein. Par la suite s'est également développée une classification des cancers mammaires selon leurs caractéristiques immuno-histochimiques [15, 17-19]. Ces deux classifications ont souligné l'existence de diverses entités tumorales du cancer du sein dont la présentation clinique, le profil évolutif, le traitement optimal, la chimio-sensibilité et le pronostic divergent.

L'objectif de cette étude a été d'évaluer l'impact de ces diverses entités biologiques sur le comportement métabolique du cancer du sein (métabolisme initial et réponse métabolique après la première cure de chimiothérapie). Trois groupes principaux de cancers du sein ont été définis en utilisant l'immunohistochimie : les sous-types luminal, HER2 positif et triple négatif.

### **2.2. Article 1**

# Changes in $^{18}\text{F}$ -FDG tumor metabolism after a first course of neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: influence of tumor subtypes

O. Humbert<sup>1\*</sup>, A. Berriolo-Riedinger<sup>1</sup>, J. M. Riedinger<sup>1</sup>, B. Coudert<sup>2</sup>, L. Arnould<sup>3</sup>, A. Cochet<sup>1,5</sup>, C. Loustalot<sup>4</sup>, P. Fumoleau<sup>2,5</sup> & F. Brunotte<sup>1,5</sup>

Departments of <sup>1</sup>Nuclear Medicine; <sup>2</sup>Medical Oncology; <sup>3</sup>Pathology; <sup>4</sup>Surgery, Centre GF. Leclerc; <sup>5</sup>LE2I, UMR CNRS 5158, Université de Bourgogne, Dijon, France

Received 22 August 2011; revised 7 February 2012; accepted 9 February 2012

**Background:** The aim of this study is to evaluate the impact of the different breast cancer subtypes on the tumor  $^{18}\text{F}$ -FDG uptake at baseline and on its changes after the first course of neoadjuvant chemotherapy (NAC).

**Patients and Methods:** One hundred and fifteen women with newly diagnosed, large or locally advanced breast cancer undergoing NAC were included. Estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR) and HER2 status were used to define three major tumor subtypes: triple negative (TN) (ER-/PR-/HER2-), luminal (ER+ and/or PR+; HER2-) and HER2 positive (HER2+). Using Fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography, the tumoral standard uptake value (SUV) maximal index was measured at baseline and just before the second course of NAC.

**Results:** TN tumors presented the highest baseline SUV ( $11.3 \pm 8.5$ ;  $P < 0.0001$ ). The decrease of SUV after the first course of NAC ( $\Delta\text{SUV}$ ) was significantly higher in TN and HER2-positive subtypes ( $-45\% \pm 25\%$  and  $-57\% \pm 30\%$ , respectively) than in luminal one ( $-19\% \pm 35\%$ ;  $P < 0.0001$ ).  $\Delta\text{SUV}$  was a predictive factor of the pathological complete response only in HER2-positive tumors (cut-off =  $-75\%$ ;  $P < 0.03$ ) with an accuracy of 76%.

**Conclusion:** The baseline  $^{18}\text{F}$ -FDG tumoral uptake but also its early response to NAC is different according to the immunohistological subtypes of breast cancer.

**Key words:** breast cancer subtype, FDG PET, immunohistochemistry, monitoring therapy, neoadjuvant chemotherapy

## Introduction

Neoadjuvant chemotherapy (NAC) was first introduced for managing inflammatory or inoperable locally advanced breast cancers. This approach has been extended to earlier tumoral stages in order to increase the rate of breast-conserving surgery [1] and allow for a quantifiable evaluation of the tumoral chemosensitivity. NAC does not improve patient's survival compared with a conventional adjuvant chemotherapy [2], except for those achieving a pathological complete response (pCR) at the end of the treatment [3, 4].

Fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography ( $^{18}\text{F}$ -FDG PET) is the gold standard for *in vivo* evaluation of tumor glucose metabolism. Many studies, including all immunohistochemical subtypes, have demonstrated that  $^{18}\text{F}$ -FDG PET is efficient in identifying the highly responding breast cancer after one course, two courses or after completion of NAC [5–8]. This earlier assessment of

the tumoral response to NAC could permit to switch to a different regimen of NAC for an individual patient, leading to tailored therapy.

Nonetheless, breast cancer is a heterogeneous disease that comprises several distinct entities with different biological characteristics and clinical behaviors [9–11].

Using immunohistochemistry (IHC) as a surrogate for expression profiling, the aim of this prospective study was to evaluate the impact of these different subtypes both on baseline tumoral metabolism, assessed with  $^{18}\text{F}$ -FDG PET, but also on its changes after the first course of NAC. The relationship between this early metabolic response and pCR at time of surgery was then separately evaluated in each subtype of breast cancer.

## Materials and methods

### Patients and treatments

One hundred and thirty six women with newly diagnosed, non-inflammatory, biopsy proven, large or locally advanced breast cancer (T2/T3; N0/N1/N2) were consecutively evaluated in this prospective study. Twenty patients were excluded because of metastases revealed on the baseline  $^{18}\text{F}$ -FDG PET and one because of high glycemia ( $>8$  mmol/l) due

\*Correspondence to: Dr O. Humbert, Department of Nuclear Medicine, Centre GF Leclerc, 1 rue du Pr Marion, 21000 Dijon, France, Tel: +33-3-80-73-75-22; Fax: +33-3-80-73-77-32; E-mail: ohumbert@cgfl.fr

to uncontrolled diabetes. The remaining 115 women underwent  $^{18}\text{F}$ -FDG PET before and after the first course of NAC. These patients were included in clinical trials with the main objective to determine the pathological response at surgery; an ancillary study with the two  $^{18}\text{F}$ -FDG PET was planned and included within the informed consent.

Clinical characteristics included age, tumor size and lymph node involvement. Histological characteristics included histological type, tumor grading using the modified Scarff–Bloom–Richardson system [12], architectural differentiation, nuclear polymorphism and mitotic figure count.

The women benefited of different NAC regimens, described in Table 1. Within 4 weeks after the last course of NAC, tumors were surgically removed and pCR was assessed according to Chevallier's classification [19]: pCR was defined as no evidence of carcinoma either in the breast or in the lymph nodes, without (grade 1) or with (grade 2) *in situ* carcinoma.

### histopathological analysis and definition of breast cancer subtypes

Tumor samples were collected by needle core biopsy before NAC. IHC was carried out on buffered formalin fixed, paraffin-embedded tissues with an indirect immunoperoxidase method, using antibodies directed against HER2 oncoprotein, estrogen receptor and progesterone receptor (HER2: rabbit monoclonal prediluted antibody 4B5; ER: rabbit monoclonal prediluted antibody SP1; PR: rabbit monoclonal prediluted antibody 1E2; Ventana Tucson, AZ, USA). All immunostainings were carried out on an automated immunostainer (Ventana XT).

Estrogen receptor (ER) and progesterone receptor (PR) status were considered as positive if the tumor showed at least 10% of positive cells using ER or PR antibody [20]. HER2 status was graded according to the HercepTest scoring system modified by the recommendations of the American Society of Clinical Oncology (ASCO) and the College of American Pathologists (CAP) (0, 1+, 2+ or 3+) [21]. Tumors with scores of 3+ were considered positive. In case of 2+ scores, FISH was used to confirm HER2 amplification, using the dual color HER2 and CEN17 probes (ZytoLight, SPEC HER2/CEN17 Dual Color Prob kit; Zytovision GmbH, Bremerhaven, Germany). HER2 amplification was defined, according to ASCO/CAP criteria [21], by a ratio of HER2/CEN17 > 2.2.

Using IHC, the tumors were classified as three subtypes:

- Triple negative (TN): ER, PR and HER2 negative ( $n = 25$ ).
- Luminal: ER and/or PR positive, HER2 negative ( $n = 53$ ).
- HER2 positive: HER2 positive, ER and PR may be positive or negative ( $n = 37$ ).

This classification is roughly similar to the prior studies that used IHC as surrogate for molecular classification [11, 22–24].

### $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT imaging

Two whole-body PET imaging systems were used: a C-PET Plus scanner and a Gemini GXL scanner (Philips Medical Systems, Eindhoven, The Netherlands). Emission data were corrected for dead time, random and scatter coincidences and attenuation before reconstruction with the RAMLA iterative method. The image voxel counts were calibrated to activity–concentration (Bq/ml) and decay corrected using the time of tracer injection as reference.

All patients were instructed to fast for at least 6 h before the injection of  $^{18}\text{F}$ -FDG. Serum glucose level was measured by the hexokinase method [25]. Whole-body emission and transmission scans were acquired 60 min after the i.v. administration of 2 MBq/kg of  $^{18}\text{F}$ -FDG for CPET studies (NaI(Tl) detector) and 5 MBq/kg of  $^{18}\text{F}$ -FDG for Gemini studies (GSO-Zr detector). Then, for both PET system, emission and transmission scans restricted to the chest with patients in prone position and arms raised started 80–90 min after the administration of  $^{18}\text{F}$ -FDG.

Two  $^{18}\text{F}$ -FDG PET studies were carried out: the first one at baseline, at least ten days after core biopsy, and the second one just before the second course of NAC. The same imaging system and the same acquisition parameters (duration and delay from injection) were used for baseline and post-treatment studies.

The standard uptake value (SUV) of the primary tumor was measured on the chest-restricted acquisition at baseline (SUV1) and before the second course of NAC (SUV2). A stack of transaxial attenuation-corrected slices encompassing the upper and lower limits of the tumor was first selected. A region of interest (ROI) was manually drawn on the slice with the highest tumoral radioactivity concentration. The location of this ROI was identical

**Table 1.** Subtypes, pCR and metabolic response according to the different regimens of NAC

Neoadjuvant therapy regimen	Luminal subtype (N)	Triple-negative subtype (N)	HER2+ subtype (N)	PCR, N (%)	$\Delta\text{SUV}$ (%), mean $\pm$ SD
Six courses of fluorouracil, epirubicin and cyclophosphamide (FEC 100) [13]	16	9	–	4 (16%)	–24% $\pm$ 38%
Three courses of FEC 100, followed by three courses of docetaxel [14]	29	10	–	4 (10%)	–25% $\pm$ 30%
Three courses of docetaxel, followed by three courses of epirubicin and docetaxel [15]	4	4	–	–	–55% $\pm$ 33%
Four courses of epirubicin, capecitabine and cyclophosphamide (CEX) [16]	4	2	–	2 (33%)	–21% $\pm$ 36%
Six courses of trastuzumab and docetaxel $\pm$ carboplatin [17, 18]	–	–	37	14 (37.8%)	–57% $\pm$ 30%
Total	53	25	37	24 (20.8%)	–37% $\pm$ 36%

at first and second study. The  $SUV_{max}$  was corrected by body surface area (BSA) and glycemia and normalized to standard BSA ( $1.72 \text{ m}^2$ ) and normal glycemia ( $5.6 \text{ mmol/l}$ ):

$$SUV_{max-BSA-G} = C_{max} \times 70 \times BSA \times G / (IA \times 1.72 \times 5.6),$$

where  $C_{max}$  (Bq/ml): activity concentration in the voxel of highest tumor activity; IA, injected activity (Bq); G, blood glucose (mmol/l) and BSA ( $\text{m}^2$ ).

For the reader's convenience, all the SUVs mentioned in this paper represent in fact the  $SUV_{max-BSA-G}$ .

### evaluation of metabolic response to therapy

The metabolic response after the first course of chemotherapy was calculated using the following formula:

$$\Delta SUV (\%) = 100 \times (SUV2 - SUV1) / SUV1.$$

### statistical analysis

Correlation between baseline  $^{18}\text{F}$ -FDG uptake and clinical, histopathological and biological parameters was assessed by Mann-Whitney and Kruskal-Wallis tests.

The same tests were used to compare SUV1, SUV2 and  $\Delta SUV$  according to the different tumoral subtypes and to the final histopathological response.

An optimal threshold of  $\Delta SUV$  was identified for the prediction of the pCR in HER2 positive subtype. A receiver operating characteristics (ROC) analysis was carried out by incrementally increasing cut-off values of the  $\Delta SUV$  and recalculating corresponding true-positive and false-negative rates.

Univariate and multivariate logistic regression analyses were employed for each potential predictor variable of pCR.

Values of  $P \leq 0.05$  were considered significant.

## results

### patient's characteristics and pathological response after NAC

A total of 115 patients were included. Patient's characteristics are summarized in supplemental Table S1 (available at *Annals of Oncology* online). The mean patient's age was 51 years; 95% of them had ductal carcinoma and 69% had lymph node involvement. Tumor subtype in most patients was luminal (46%), followed by HER2 positive (32%) and TN (22%). Differences in tumor pathological response after NAC were observed among these subtypes: pCR occurred more often in HER2 positive and TN tumors (37.8% and 36%, respectively) when compared with luminal ones (1.9%,  $P < 0.001$ ).

### correlation between baseline FDG uptake and clinical/histopathological parameters

Baseline SUV ( $SUV1$ ) was measured according to different clinical and pathological tumoral characteristics. The mean values of  $SUV1$  are shown in supplemental Table S2 (available at *Annals of Oncology* online). High mitotic activity ( $P < 0.0001$ ), high nuclear pleomorphism ( $P < 0.0001$ ), high tumor grading ( $P < 0.0001$ ) and negative estrogen hormonal receptor status ( $P < 0.0001$ ) were significantly associated with higher tumoral  $SUV1$ .  $SUV1$  was  $11.3 \pm 8.5$  in TN ( $n = 25$ ),  $4.7 \pm 3.3$  in luminal ( $n = 53$ ) and  $6.3 \pm 4.5$  in HER2-positive tumors ( $n = 37$ ). The Kruskal-Wallis test showed significant differences

between these results (supplemental Table S3, available at *Annals of Oncology* online).

Two different PET systems were used in this study. Differences of mean SUVs were observed between the two PET scans, with lower values on the C-PET scanner. The Kruskal-Wallis test showed the same differences of  $SUV1$  among the tumoral subtypes in both PET system: Luminal tumors always had the lowest mean  $SUV1$  while TN tumors had the highest one (supplemental Table S3, available at *Annals of Oncology* online).

### metabolic response to NAC

The metabolic response, corresponding to the relative change of SUV, was much more higher in TN ( $-45\% \pm 25\%$ ) and HER2-positive tumors ( $-57\% \pm 30\%$ ) than in luminal ones ( $-19\% \pm 35\%$ ) (supplemental Table S3, available at *Annals of Oncology* online).  $\Delta SUV$  did not differ by the PET system used in the study.

### relationship between metabolic response and achievement of pCR

In TN tumors,  $SUV1$ ,  $SUV2$  and  $\Delta SUV$  were not significantly different by the pCR (Table 2).

Among the 53 patients with luminal cancer, only one woman achieved a pCR. Thus, it was not possible to compare the tumoral metabolic characteristics according to the pCR.

In patients with HER2-positive tumors,  $SUV2$  was significantly lower in tumors that achieved pCR than in the other ones ( $1.5 \pm 0.1$  versus  $2.9 \pm 2.4$ ;  $P = 0.01$ ). Similarly,  $\Delta SUV$  was significantly greater in the pCR group than in the non-pCR group ( $-71\% \pm 24\%$  versus  $-47\% \pm 29\%$ ;  $P = 0.01$ ) (Table 2). With ROC curve analysis, the optimized cut-off of  $\Delta SUV$  for optimal sensitivity and specificity to predict pCR was determined at  $-75\%$  with a sensitivity of 64%, a specificity of 83%, a positive predictive value of 69%, a negative predictive value of 79%, and accuracy is 76% (area under curve = 0.73;  $P < 0.05$ ) (supplemental Figure S1, available at *Annals of Oncology* online). By univariate logistic analysis, beyond the clinical, histopathological and metabolic factors, only  $SUV2$  and  $\Delta SUV$  were predictive of pCR in HER2-positive subtype (Table 3). By multivariate analysis,  $\Delta SUV$  was the only independent

**Table 2.** Metabolic characteristics according to pathological response in HER2 positive and triple-negative subtypes

	N	SUV1	SUV2	$\Delta SUV$ (%)
HER2 positive				
pCR	14	$6.2 \pm 3.5$	$1.5 \pm 0.1$	$-71 \pm 24$
non-pCR	23	$6.5 \pm 5.2$	$2.9 \pm 2.4$	$-47 \pm 29$
P value*		0.67	0.01	0.01
Triple negative				
pCR	9	$10.7 \pm 5.1$	$5.1 \pm 2.6$	$-45 \pm 30$
non-pCR	16	$11.7 \pm 9.9$	$6.4 \pm 5.3$	$-45 \pm 22$
P value*		0.82	0.95	0.50

Data are mean  $\pm$  SD. Luminal tumors are not shown due to the very low rate of pCR.

\*Mann-Whitney test.

**Table 3.** Univariate and multivariate logistic analysis of significant predictive factors for pCR in HER2-positive subtype

	Univariate analysis			Multivariate analysis		
	OR	95% CI	P value	OR	95% CI	P value
SUV2						
≥2.0	1	1.1–20.8	0.03	1	0.3–11.7	0.41
<2.0	4.81			2.05		
ΔSUV						
≥-75%	1	1.9–42.6	0.005	1	1.1–36.1	0.03
<-75%	9.00			6.31		

Non significant parameters = age, tumor size, lymph node involvement, tumor grading, architectural differentiation, nuclear pleomorphism, number of mitoses, estrogen receptor and progesterone receptor status. OR, odds ratio; 95% CI, 95% confidence interval.

predictive factor of pCR in HER2 subtype. A decrease of SUV over 75% ( $\Delta\text{SUV} < -75\%$ ) had a high odds ratio of 6.31 ( $P = 0.03$ ).

## discussion

Recently, using intrinsic gene set, the molecular classification of breast cancer has demonstrated distinct molecular classes with predictive and prognostic significance [9, 10, 26, 27]. A biology-based breast cancer classification, using ER, PR and HER status is also a reproducible, easy to use, predictive marker of the histological tumoral response to NAC [11, 28, 29]. In the present study, using IHC as a surrogate marker of the gene expression profiling, the tumors were classified as luminal, TN and HER2-positive subtypes. The results confirm that baseline glucidic metabolism is different in these various subtypes of breast cancer because of specific metabolic patterns. Other studies have previously shown that the tumoral uptake of FDG at baseline depends on the biological and pathological characteristics of the tumor [18, 31–33]. But our results also demonstrate a new finding: the change of tumor glucose metabolism, assessed after only once course of NAC, is markedly different in these three subtypes and has to be evaluated differently.

### TN tumors

In the present study, the highest baseline SUV is found in this subtype. Previous works have also described a high glucidic metabolism in TN tumors [31, 34]. Basu et al. [34] have found an SUV of  $7.27 \pm 5.6$  for TN tumors compared with an SUV of  $2.68 \pm 1.9$  for ER+/PR+/HER2- tumors. The gene expression profiling has demonstrated that TN tumors are the most proliferative and aggressive ones [10, 26, 35], thus explaining their high glucidic metabolism.

In our study, a high metabolic response after the first course of NAC ( $\Delta\text{SUV} = -45\% \pm 25\%$ ) and a high final pathological response rate (36% of pCR) are observed in TN tumors. The high rate of pCR achievement has already been demonstrated in this subtype [11, 28] but no other study has currently underlined this high metabolic response. Despite this good chemosensitivity, TN subtype has a poor prognosis [24, 28, 36]. In this subgroup, pCR

is a good surrogate marker of survival [37], but our results show no significant correlation between the early metabolic and the final pathological response. The heterogeneity of NAC regimens and the switch in some patients to a hypothetically non-cross resistant regimen after three courses (Table 1) can potentially explain why  $\Delta\text{SUV}$  does not predict pCR in TN tumors. Indeed, one hypothesis is that the good metabolic response, induced early after NAC, might be not sustained on the final pathological response in women with a switch at midpoint of NAC. Moreover,  $\Delta\text{SUV}$  is higher in the few women first treated with docetaxel, which can introduce a bias in the correlation between  $\Delta\text{SUV}$  and pCR in TN patients (Table 1). Consistent with these results, Schneider-Kolsky et al. [38] have shown that the  $\Delta\text{SUV}$  might be dependent on the NAC regimen used.

### luminal tumors

The lowest value of SUV is found in luminal subtype. It corresponds to well-differentiated tumors expressing hormonal receptors. Mavi et al. [32] have also found a baseline SUV of 5.54 in ER and PR negative tumors versus 3.10 in positive ones.

The metabolic response after the first course of NAC is lower than in the two other subtypes ( $\Delta\text{SUV} = -19\% \pm 35\%$ ) and only one woman exhibit a pCR. These results confirm that, despite their good prognosis, the chemosensitivity of these tumors is low and that pCR is rarely obtained in this subtype [9, 11, 24, 36]. Bhargava et al. [11] have shown on 359 women that pCR is obtained in a very limited number of patients with luminal tumors (1.65%). Therefore, other surrogate markers of survival are required in this subtype. The early metabolic response, evaluated with  $^{18}\text{F}$ -FDG-PET, could be one of these factors but further studies are required.

### HER2-positive tumors

Trastuzumab (Herceptin®) selectively targets HER2 oncoprotein. During NAC, the synergy between Trastuzumab and cytotoxic therapy [39] is very efficient: Coudert et al. [17] have found a rate of pCR of almost 45%. At baseline, SUV is higher than in luminal subtype. After the first course of NAC, an important decrease of SUV ( $\Delta\text{SUV} = -57\% \pm 30\%$ ), roughly similar to that found in TN, is observed. At the end of NAC, 14 patients out of 37 achieve a pCR due to the high chemosensitivity of this tumor when treated with trastuzumab [17]. Using a threshold of  $-75\%$ , the  $\Delta\text{SUV}$  predicts the pCR with an accuracy of 76%. This threshold is different than those found in previous papers studying the predictive value of  $^{18}\text{F}$ -FDG-PET response of all subtypes of tumors included [6–8] and confirms the need to take into consideration the tumoral subtype in the assessment of the metabolic response.

In this tumoral subtype, pCR is considered as a good surrogate of survival [40, 41]. Identifying the poor-responding patients after the first course of NAC might be important for improving outcome by quickly switching to a different preoperative chemotherapy and/or targeted therapy (i.e. lapatinib). In our institution, a prospective study is ongoing: this randomized, open-label study will assess the effect of adding bevacizumab in NAC if the decrease of SUV, evaluated after the first course of trastuzumab and docetaxel, is fewer than 70%.

Our study has some limitations. First, patients were divided into three commonly used subgroups by IHC rather than potentially more precise techniques, such as microarray analysis. But De Ronde et al. [42] have demonstrated a high concordance between the IHC and molecular subtypes. Secondly, our HER2-positive subtype group is not large enough to allow additional stratification into ER-positive and ER-negative tumors in this subset of women as suggested in other studies [11, 22]. Moreover, only static SUV measures were carried out, while Dunnwald et al. [43] have shown that kinetic analysis may hold advantage on static uptake measures for response assessment.

SUV has many drawbacks as it is dependant on parameters such as the delay between injection and measurement, plasma glucose concentration, body weight, instrumental factors and partial volume effect [44]. In the present study, the corrections relying on BSA and serum glycemia limit the impact of their variation during NAC. But the absolute SUV1 and SUV2 measures are affected by the use of two different PET systems, with lower values on the C-PET scanner. It is therefore beyond any doubt that better standardization between PET imaging systems is needed for the use of quantitative  $^{18}\text{F}$ -FDG PET as an imaging biomarker [44, 45]. It is worth to note that the measures of the relative changes in SUV are not different by the two PET systems used in this study because it is less affected by technical factors such as camera calibration. Indeed, when  $\Delta\text{SUV}(\%)$  is considered, some factors only need to be consistent across longitudinal scans of the same subject [45]. This intrasubject standardization was applied in the present study.  $\Delta\text{SUV}(\%)$  appears as a very reliable measure when analyzing data from various scanners.

In conclusion, our results show that baseline glucidic metabolism, evaluated with  $^{18}\text{F}$ -FDG PET, is higher in TN tumors. The glucidic metabolic response after the first course of NAC also differs among breast cancer subtypes and is efficient in determining the final pCR only in patients with HER2-positive tumor. The metabolic differences found across the distinct immunohistological subtypes bring additional evidence to the fact that they have specific metabolic patterns and have to be evaluated differently.  $^{18}\text{F}$ -FDG PET could offer the opportunity to switch to a different regimen of chemotherapy for an individual patient. These clinical benefits are plausible but have to be confirmed by prospective clinical studies.

## acknowledgements

This study is part of the PharmImage® project. We thank M. Toubeau, I. Cochet and F. Meyer for assistance.

## disclosure

The authors declare no conflict of interest.

## references

- Gralow JR, Burstein HJ, Wood W et al. Preoperative therapy in invasive breast cancer: pathologic assessment and systemic therapy issues in operable disease. *J Clin Oncol* 2008; 26: 814–819.
- Mauri D, Pavlidis N, Ioannidis JP. Neoadjuvant versus adjuvant systemic treatment in breast cancer: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97: 188–194.
- Kuerer HM, Newman LA, Smith TL et al. Clinical course of breast cancer patients with complete pathologic primary tumor and axillary lymph node response to doxorubicin-based neoadjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol* 1999; 17: 460–469.
- Fisher B, Bryant J, Wolmark N et al. Effect of preoperative chemotherapy on the outcome of women with operable breast cancer. *J Clin Oncol* 1998; 16: 2672–2685.
- Kim SJ, Kim SK, Lee ES et al. Predictive value of [18F]FDG PET for pathological response of breast cancer to neo-adjuvant chemotherapy. *Ann Oncol* 2004; 15: 1352–1357.
- Schwarz-Dose J, Untch M, Tiling R et al. Monitoring primary systemic therapy of large and locally advanced breast cancer by using sequential positron emission tomography imaging with [18F]fluorodeoxyglucose. *J Clin Oncol* 2009; 27: 535–541.
- Berriolo-Riedinger A, Touzery C, Riedinger JM et al. [18F]FDG-PET predicts complete pathological response of breast cancer to neoadjuvant chemotherapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2007; 34: 1915–1924.
- Rousseau C, Devillers A, Sagan C et al. Monitoring of early response to neoadjuvant chemotherapy in stage II and III breast cancer by [18F]fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *J Clin Oncol* 2006; 24: 5366–5372.
- Rouzier R, Perou CM, Symmans WF et al. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 5678–5685.
- Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 10869–10874.
- Bhargava R, Beriwal S, Dabbs DJ et al. Immunohistochemical surrogate markers of breast cancer molecular classes predicts response to neoadjuvant chemotherapy: a single institutional experience with 359 cases. *Cancer* 2010; 116: 1431–1439.
- Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 2002; 41: 154–161.
- Bonnetterre J, Roche H, Kerbrat P et al. Epirubicin increases long-term survival in adjuvant chemotherapy of patients with poor-prognosis, node-positive, early breast cancer: 10-year follow-up results of the French Adjuvant Study Group 05 randomized trial. *J Clin Oncol* 2005; 23: 2686–2693.
- Roche H, Fumoleau P, Spielmann M et al. Sequential adjuvant epirubicin-based and docetaxel chemotherapy for node-positive breast cancer patients: the FNCLCC PACS 01 Trial. *J Clin Oncol* 2006; 24: 5664–5671.
- Bonnefoi H, Potti A, Delorenzi M et al. Validation of gene signatures that predict the response of breast cancer to neoadjuvant chemotherapy: a substudy of the EORTC 10994/BIG 00-01 clinical trial. *Lancet Oncol* 2007; 8: 1071–1078.
- Fumoleau P, Cameron D. Future options with capecitabine (Xeloda) in (neo)adjuvant treatment of breast cancer. *Semin Oncol* 2004; 31: 45–50.
- Coudert BP, Largillier R, Arnould L et al. Multicenter phase II trial of neoadjuvant therapy with trastuzumab, docetaxel, and carboplatin for human epidermal growth factor receptor-2-overexpressing stage II or III breast cancer: results of the GETN(A)-1 trial. *J Clin Oncol* 2007; 25: 2678–2684.
- Coudert BP, Arnould L, Moreau L et al. Pre-operative systemic (neo-adjuvant) therapy with trastuzumab and docetaxel for HER2-overexpressing stage II or III breast cancer: results of a multicenter phase II trial. *Ann Oncol* 2006; 17: 409–414.
- Chevallier B, Roche H, Olivier JP et al. Inflammatory breast cancer. Pilot study of intensive induction chemotherapy (FEC-HD) results in a high histologic response rate. *Am J Clin Oncol* 1993; 16: 223–228.
- Zafrani B, Aubriot MH, Mouret E et al. High sensitivity and specificity of immunohistochemistry for the detection of hormone receptors in breast carcinoma: comparison with biochemical determination in a prospective study of 793 cases. *Histopathology* 2000; 37: 536–545.
- Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for



- human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25: 118–145.
22. Carey LA, Perou CM, Livasy CA et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA* 2006; 295: 2492–2502.
  23. de Ronde JJ, Hannemann J, Halfwerk H et al. Concordance of clinical and molecular breast cancer subtyping in the context of preoperative chemotherapy response. *Breast Cancer Res Treat* 2010; 119: 119–126.
  24. Specht JM, Kurland BF, Montgomery SK et al. Tumor metabolism and blood flow as assessed by positron emission tomography varies by tumor subtype in locally advanced breast cancer. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 2803–2810.
  25. Schmidt FH. [Blood glucose levels in capillary blood of adults assessed by the hexokinase method (author's transl)]. *Klin Wochenschr* 1973; 51: 520–522.
  26. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000; 406: 747–752.
  27. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 8418–8423.
  28. rb-Esfahani S, Loibl S, Muller BM et al. Identification of biology-based breast cancer types with distinct predictive and prognostic features: role of steroid hormone and HER2 receptor expression in patients treated with neoadjuvant anthracycline/taxane-based chemotherapy. *Breast Cancer Res* 2009; 11: R69.
  29. Colleoni M, Viale G, Zahrieh D et al. Chemotherapy is more effective in patients with breast cancer not expressing steroid hormone receptors: a study of preoperative treatment. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 6622–6628.
  30. Goldhirsch A, Ingle JN, Gelber RD et al. Thresholds for therapies: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2009. *Ann Oncol* 2009; 20: 1319–1329.
  31. Groheux D, Giacchetti S, Moretti JL et al. Correlation of high (18)F-FDG uptake to clinical, pathological and biological prognostic factors in breast cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2011; 38: 426–435.
  32. Mavi A, Cermik TF, Urhan M et al. The effects of estrogen, progesterone, and ErbB-2 receptor states on 18F-FDG uptake of primary breast cancer lesions. *J Nucl Med* 2007; 48: 1266–1272.
  33. Osborne JR, Port E, Gonen M et al. 18F-FDG PET of locally invasive breast cancer and association of estrogen receptor status with standardized uptake value: microarray and immunohistochemical analysis. *J Nucl Med* 2010; 51: 543–550.
  34. Basu S, Chen W, Tchou J et al. Comparison of triple-negative and estrogen receptor-positive/progesterone receptor-positive/HER2-negative breast carcinoma using quantitative fluorine-18 fluorodeoxyglucose/positron emission tomography imaging parameters: a potentially useful method for disease characterization. *Cancer* 2008; 112: 995–1000.
  35. Dent R, Trudeau M, Pritchard KI et al. Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 4429–4434.
  36. Carey LA, Dees EC, Sawyer L et al. The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 2329–2334.
  37. Liedtke C, Mazouni C, Hess KR et al. Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26: 1275–1281.
  38. Schneider-Kolsky ME, Hart S, Fox J et al. The role of chemotherapeutic drugs in the evaluation of breast tumour response to chemotherapy using serial FDG-PET. *Breast Cancer Res* 2010; 12: R37.
  39. Arnould L, Gelly M, Penault-Llorca F et al. Trastuzumab-based treatment of HER2-positive breast cancer: an antibody-dependent cellular cytotoxicity mechanism? *Br J Cancer* 2006; 94: 259–267.
  40. Romond EH, Perez EA, Bryant J et al. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2005; 353: 1673–1684.
  41. Berruti A, Brizzi MP, Generali D et al. Presurgical systemic treatment of nonmetastatic breast cancer: facts and open questions. *Oncologist* 2008; 13: 1137–1148.
  42. de Ronde JJ, Hannemann J, Halfwerk H et al. Concordance of clinical and molecular breast cancer subtyping in the context of preoperative chemotherapy response. *Breast Cancer Res Treat* 2010; 119: 119–126.
  43. Dunnwald LK, Doot RK, Specht JM et al. PET tumor metabolism in locally advanced breast cancer patients undergoing neoadjuvant chemotherapy: value of static versus kinetic measures of fluorodeoxyglucose uptake. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 2400–2409.
  44. Boellaard R, Oyen WJ, Hoekstra CJ et al. The Netherlands protocol for standardisation and quantification of FDG whole body PET studies in multi-centre trials. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2008; 35: 2320–2333.
  45. Boellaard R. Need for standardization of 18F-FDG PET/CT for treatment response assessments. *J Nucl Med* 2011; 52 (Suppl 2): 93S–100S.

### **3. Métabolisme du cancer luminal / HER2 négatif**

#### **3.1. Introduction**

Suite aux résultats de l'étude précédente, il apparaît que, pour être pertinents, les critères métaboliques pour définir les patientes répondeuses et non-répondeuses doivent nécessairement tenir compte des spécificités du comportement métabolique de chaque phénotype tumoral.

Les tumeurs dites « lumorales / HER2-négatives » correspondent aux lésions exprimant des récepteurs aux œstrogènes et/ou progestatifs de manière significative, mais ne sur-exprimant pas l'onco-protéine HER2. Bien que de pronostic globalement favorable par rapport aux tumeurs HER2+ et triple négatives, Il s'agit d'un phénotype tumoral relativement bien différencié et donc peu chimio-sensible: la réponse histologique complète à l'issue de la chimiothérapie néo-adjuvante est rare. Pour cette raison la pCR ne peut être facilement utilisée comme biomarqueur substitutif de la survie.

La réponse métabolique précoce observée en TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG ne pouvant être confrontée à la pCR (seulement 1 patiente sur 60 dans notre étude), nous avons donc directement évalué la valeur pronostique à 5 ans de la réponse métabolique tumorale. L'objectif étant de définir si la baisse précoce du métabolisme tumoral est un bon marqueur de l'efficacité de la chimiothérapie pour ce phénotype tumoral, prédictif de la survie des patientes.

Par ailleurs, la question de la corrélation entre le métabolisme glucidique tumoral pré-thérapeutique et différents paramètres cliniques, biologiques et histologiques a été posée. Nous avons notamment évalué la corrélation entre le métabolisme tumoral et les biomarqueurs de la prolifération cellulaire tels que le type histologique, le grade SBR l'expression tumorale de Ki-67, utilisée notamment pour distinguer les tumeurs lumorales A, peu prolifératives et de bon pronostic, des tumeurs lumorales B.

#### **3.2. Article 2**

# Prognostic relevance at 5 years of the early monitoring of neoadjuvant chemotherapy using $^{18}\text{F}$ -FDG PET in luminal HER2-negative breast cancer

Olivier Humbert · Alina Berriolo-Riedinger · Alexandre Cochet · Mélanie Gauthier · Céline Charon-Barra · Séverine Guiu · Isabelle Desmoulin · Michel Toubeau · Inna Dygai-Cochet · Charles Coutant · Pierre Fumoleau · François Brunotte

Received: 27 June 2013 / Accepted: 14 October 2013 / Published online: 21 November 2013  
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2013

## Abstract

**Purpose** The objective of this study was to evaluate, in the luminal human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-negative breast cancer subtype, the prognostic value of tumour glucose metabolism at baseline and of its early changes during neoadjuvant chemotherapy (NAC).

**Methods** This prospective study included 61 women with hormone-sensitive HER2-negative breast cancer treated with NAC.  $^{18}\text{F}$ -Fluorodeoxyglucose (FDG) positron emission tomography (PET) was performed at baseline. Hepatic activity

was used as a reference to distinguish between low metabolic and hypermetabolic tumours. In hypermetabolic tumours, a PET exam was repeated after the first course of NAC. The relative change in the maximum standardized uptake value of the tumour ( $\Delta\text{SUV}$ ) was calculated.

**Results** Nineteen women had low metabolic luminal breast cancers at baseline, correlated with low proliferation indexes. Forty-two women had hypermetabolic tumours, corresponding to more proliferative breast cancers with higher Ki-67 expression ( $p=0.017$ ) and higher grade ( $p=0.04$ ). The median follow-up period was 64.2 months (range 11.5–93.2). Thirteen women developed recurrent disease, nine of whom died. Worse overall survival was associated with larger tumour size [ $>5$  cm, hazard ratio (HR)=6.52,  $p=0.009$ ] and with hypermetabolic tumours achieving a low metabolic response after one cycle of NAC ( $\Delta\text{SUV}<16\%$ , HR=10.63,  $p=0.004$ ). Five-year overall survival in these poor responder patients was 49.2 %. Overall survival in women with low metabolic tumours or hypermetabolic/good response tumours was 100 and 96.15 %, respectively.

**Conclusion** In luminal HER2-negative breast tumours, tumour metabolism at baseline and changes after the first course of NAC are early surrogate markers of patients' survival. A subgroup of women with hypermetabolic/poorly responding tumours, correlated with poor prognosis at 5 years, can be identified early. These results may guide future studies by tailoring the NAC regimen to the metabolic response.

O. Humbert (✉) · A. Berriolo-Riedinger · A. Cochet · M. Toubeau · I. Dygai-Cochet · F. Brunotte  
Department of Nuclear Medicine, Centre GF Leclerc, 1 rue du Pr Marion, 21000 Dijon, France  
e-mail: ohumbert@cgfl.fr

M. Gauthier  
Biostatistics and Quality of Life Unit, EA 4184, Centre GF Leclerc, Dijon, France

C. Charon-Barra  
Department of Pathology, Centre GF Leclerc, Dijon, France

S. Guiu · I. Desmoulin · P. Fumoleau  
Department of Medical Oncology, Centre GF Leclerc, Dijon, France

C. Coutant  
Department of Surgery, Centre GF Leclerc, Dijon, France

O. Humbert · F. Brunotte  
Imaging Department, CHU Le Bocage, Dijon, France

O. Humbert · A. Cochet · F. Brunotte  
Université de Bourgogne, UMR CNRS 5158, Dijon, France

**Keywords** Breast cancer · Luminal · Neoadjuvant chemotherapy · Monitoring ·  $^{18}\text{F}$ -FDG PET

## Introduction

Neoadjuvant chemotherapy (NAC) was first introduced for the management of inflammatory or inoperable locally advanced breast cancers. This approach has been extended to earlier tumour stages in order to increase the rate of breast-conserving surgery and to provide a quantifiable evaluation of a tumour's chemosensitivity. Studies have indicated that there is no survival advantage to the administration of NAC when compared to adjuvant therapy. However, when a pathological complete response (pCR) is obtained with NAC it is a predictor of better outcome and often used as a surrogate for survival in breast cancer clinical trials [1–4].

Nonetheless, breast cancer comprises several genomic entities with different biological characteristics, different degrees of tumour chemosensitivity and prognoses [5–7]. Using immunohistochemistry (IHC) as a surrogate marker of gene expression profiling, distinct tumour subtypes which differ in their response to chemotherapy and outcomes have also been defined [8–12]. This biology-based breast cancer classification can be done with a limited panel of immunohistochemical markers, including oestrogen receptor (ER) status, progesterone receptor (PR) status, the over-expression of human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) and Ki-67 expression [8–11, 13–16]. The luminal HER2-negative subtype can thus be immunophenotypically defined (ER and/or PR positive). It has recently been demonstrated that, among these luminal HER2-negative tumours, pCR is a suitable surrogate end point of survival only in high-grade ones [luminal B defined as Scarff-Bloom-Richardson (SBR) grade III] [4, 17]. Bhargava et al. also showed that, despite a good prognosis, this subtype is predictive of tumours that are relatively resistant to NAC, with lower rate of pCR (1.6 %) [10]. Other markers are thus required to identify, in this less chemosensitive subtype, a subgroup of patients that might still benefit from NAC.

<sup>18</sup>F-Fluorodeoxyglucose (FDG) positron emission tomography (PET) is the gold standard for *in vivo* evaluation of tumour glucose metabolism. In breast cancer, many studies have suggested that the metabolic changes of the tumour can predict the final pCR after only one or two courses of NAC, all cancer subtypes included [18–20]. Nevertheless, the early metabolic response differs widely depending on the breast cancer subtypes. The lowest baseline standardized uptake value (SUV) and metabolic response are observed in the luminal HER2-negative subtype [21, 22]. Therefore, no conclusions can currently be drawn about the predictive value of <sup>18</sup>F-FDG PET for the pCR in this specific tumour subtype.

The objective of the present prospective study was to determine whether tumour metabolism at baseline and the metabolic response monitoring after the first course of NAC are good surrogate markers of survival in women with luminal HER2-negative tumours.

## Materials and methods

### Patients and treatments

From April 2004 to August 2009, 128 women with newly diagnosed, biopsy-proven, stage II or IIIA breast cancer were consecutively evaluated in this prospective study. Only those with immunophenotypically defined luminal HER2-negative tumours (hormonal receptor-positive, HER2-negative) were included. Patients with high glycaemia, distant metastases, inflammatory or inoperable breast cancer were excluded. Clinical characteristics included age, menopausal status, tumour size and lymph node involvement. Histological characteristics, evaluated on the pretreatment core needle biopsy, included histological type, tumour grading using the modified SBR system [23], architectural differentiation, nuclear polymorphism and number of mitotic divisions. The molecular markers examined included ER, PR, HER2 and Ki-67 expression. This prospective study was approved by the Institutional Review Board and all women gave their informed consent.

Within 4 weeks after the last course of NAC (regimen detailed in Table 1), the tumours were surgically removed and pCR was defined as ypT0/is ypN0 [17, 24]. All patients were then treated with radiotherapy and adjuvant hormone therapy according to standard recommendations. Some of them, first treated with an anthracycline-based neoadjuvant regimen, also benefited from four cycles of adjuvant docetaxel (100 mg/m<sup>2</sup>), either because required by a specific protocol or because of incomplete histological response after NAC (consensus in a multidisciplinary meeting). Patients were followed up for evaluation of disease status every 3 months during the first 2 years, every 6 months for the following 3 years and then once per year.

### Histopathological analysis

Tumour samples were collected by needle core biopsy before the NAC. The specimens were fixed on buffered formalin, embedded in paraffin and cut in 4- $\mu$ m thick sections with a microtome. IHC was performed with an indirect immunoperoxidase method using antibodies directed against HER2 oncoprotein, Ki-67, ER and PR (HER2: rabbit monoclonal prediluted antibody 4B5; ER: rabbit monoclonal prediluted antibody SP1; PR: rabbit monoclonal prediluted antibody 1E2, all Ventana Medical Systems, Tucson, AZ, USA; Ki-67: Monoclonal Mouse Anti-Human Ki-67 Antigen (clone MIB-1), Dako Denmark A/S). ER and PR status were considered positive if the tumour showed at least 10 % of positive cells using ER or PR antibody [25]. HER2 status was graded according to the HercepTest scoring system modified by American Society of Clinical Oncology (ASCO)/College of American Pathologists (CAP) recommendations [26]. Invasive tumours with scores of 3+ were considered positive. In

**Table 1** Population characteristics

Characteristics	Number of patients (%)
<i>n</i>	61
Age (years)	
≤ 50	29 (47.5)
>50	32 (52.5)
Tumour size	
≤ 2 cm	6 (9.8)
2 cm < size ≤ 5 cm	49 (80.4)
> 5 cm	6 (9.8)
Histological type	
Ductal	49 (80.3)
Lobular	12 (19.7)
Lymph node status (N)	
N0	24 (39.3)
N1 + N2	37 (60.7)
Tumour grading (SBR)	
Grade I	7 (11.5)
Grade II	46 (75.4)
Grade III	7 (11.5)
Unavailable	1 (1.6)
Architectural differentiation	
Score 1	1 (1.6)
Score 2	14 (23)
Score 3	44 (72.1)
Unavailable	2 (3.3)
Nuclear pleomorphism	
Score 1	2 (3.3)
Score 2	45 (73.7)
Score 3	12 (19.7)
Unavailable	2 (3.3)
Number of mitoses	
Score 1	42 (68.8)
Score 2	10 (16.4)
Score 3	7 (11.5)
Unavailable	2 (3.3)
ER status	
Negative	1 (1.6)
Positive	60 (98.4)
PR status	
Negative	8 (13.1)
Positive	53 (86.9)
Luminal subtype	
A (Ki-67 < 14 %)	7 (11.5)
B (Ki-67 ≥ 14 %)	42 (68.8)
Unavailable	12 (19.7)
NAC regimen	
6 courses of fluorouracil, epirubicin and cyclophosphamide (FEC 100)	25 (41.0)
	26 (42.6)

**Table 1** (continued)

Characteristics	Number of patients (%)
3 courses of FEC 100, followed by 3 courses of docetaxel	
3 courses of docetaxel, followed by 3 courses of epirubicin and docetaxel	6 (9.8)
4 courses of epirubicin, capecitabine and cyclophosphamide	4 (6.6)
Surgery	
Mastectomy	31 (50.8)
Breast-conserving	30 (49.2)
Histological response	
pCR	1 (1.6)
No pCR	60 (98.4)
Adjuvant chemotherapy	
Yes	16 (26.3)
No	45 (73.7)

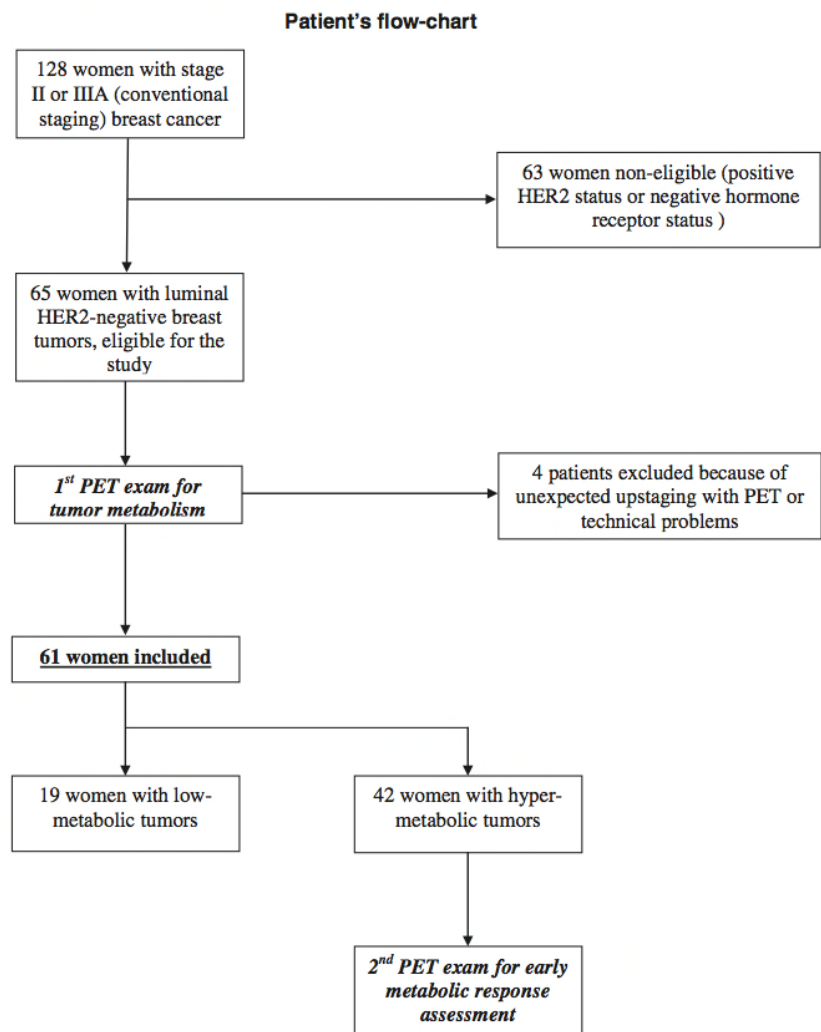
ER oestrogen receptor, PR progesterone receptor, pCR pathological complete response

case of 2+ scores, fluorescent in situ hybridization was used to confirm HER2 amplification, using the dual colour HER2 and CEN17 probes (ZytoLight, SPEC HER2/CEN17 Dual Color Probe Kit, ZytoVision GmbH, Bremerhaven, Germany). HER2 amplification was defined, according to ASCO/CAP criteria, by a ratio of HER2/CEN17 > 2.2 [26]. Finally, the index of cellular proliferation was studied. Using an index cut-off of 14 %, positive average nuclear staining of any intensity in malignant cells and tumours with low Ki-67 expression were classified as luminal A, whereas tumours with high expression were considered luminal B [15, 16].

#### <sup>18</sup>F-FDG PET procedures

A first <sup>18</sup>F-FDG PET study was performed at baseline, at least 7 days after the core biopsy. Two different whole-body PET imaging systems were used: a CPET Plus scanner from April 2004 to July 2006 and a Gemini GXL PET/CT scanner from July 2006 to August 2009 (Philips Medical Systems, Eindhoven, The Netherlands). All patients were instructed to fast for at least 6 h before the injection of 2 MBq/kg of <sup>18</sup>F-FDG for the CPET studies and 5 MBq/kg for the Gemini studies. Emission and transmission scans from brain to mid-thigh were first acquired 60 min after the intravenous administration. Then, scans restricted to the chest with patients in the prone position and arms raised started 80–90 min after the administration of <sup>18</sup>F-FDG. Emission data were corrected for dead time, random and scatter coincidences and attenuation before reconstruction with the row action maximum likelihood algorithm (RAMLA) iterative method. The image voxel counts were calibrated to activity concentration (Bq/ml) and decay

Fig. 1 Patients' flow chart



corrected using the time of tracer injection as the reference. On the chest-restricted acquisition, a volume of interest (VOI) encompassing the entire tumour was manually drawn on the transaxial attenuation-corrected slices to identify the maximum SUV of the primary tumour. A 2-cm diameter VOI was also drawn on the liver parenchyma, at mid height, to measure the hepatic SUV. Indeed, hepatic metabolic activity was used as a threshold to distinguish between low metabolic and hypermetabolic tumours at baseline. Tumours with an SUV at baseline (SUV1) lower than the hepatic SUV were regarded as low metabolic, whereas those with a higher SUV1 were regarded as hypermetabolic.

Women with hypermetabolic breast cancers benefited from a second chest-restricted PET study, performed just before the second course of NAC. No second PET was performed in the low metabolic group because of the absence of significant FDG uptake at baseline. For each individual patient, the same imaging system (either the CPET or the Gemini GXL system), <sup>18</sup>F-FDG activity, time from injection to acquisition and

acquisition parameters were used for baseline and post-treatment studies to obtain good intra-subject standardization. A VOI encompassing the tumour was drawn to measure the tumour SUV after the first course of NAC (SUV2).

For both studies, the SUVs measured were corrected for body surface area (BSA) and glycaemia and normalized to standard BSA (1.72 m<sup>2</sup>) and normal glycaemia (5.6 mmol/L) [19]:

$$SUV_{\max-BSA-G} = C_{\max} \times 70 \times BSA \times G / (IA \times 1.72 \times 5.6)$$

$C_{\max}$  (Bq/ml): activity concentration in the voxel of highest tumour activity  
 $IA$ : injected activity (Bq)  
 $G$ : blood glucose (mmol/L)

For patients with two PET studies, the metabolic response was calculated using the formula:  $\Delta SUV (\%) = 100 \times (SUV1 - SUV2) / SUV1$ .

**Table 2** Baseline SUV according to the clinical and histopathological status

	CPET			Gemini GXL			CPET+Gemini GXL		
	n	SUV1	p*	n	SUV1	p <sup>a</sup>	n	SUV1	p <sup>a</sup>
All patients	29	2.5±1.5		32	5.6±4.0		61	4.1±3.4	
Age (years)									
≤50	14	2.5±1.8	NS	15	5.3±3.7	NS	29	4.0±3.3	NS
>50	15	2.4±1.1		17	5.8±4.3		32	4.2±3.6	
Tumour size									
≤2 cm	5	1.4±0.7	NS	1	4.6	NS	6	1.9±1.5	NS
2 cm<size≤5 cm	20	2.7±1.6		29	5.7±4.1		49	4.5±3.7	
>5 cm	4	3.1±1.2		2	4.4±2.7		6	3.5±1.7	
Lymph node status									
N0	12	2.9±1.8	NS	12	4.9±3.6	NS	24	3.9±3.0	NS
N1+N2	17	2.1±1.1		20	5.9±4.2		37	4.2±3.7	
Histological type									
Ductal	22	2.8±1.5	0.008	27	5.9±4.2	NS	49	4.5±3.6	0.004
Lobular	7	1.4±0.5		5	3.5±1.9		12	2.3±1.6	
Tumour grading (SBR)									
I+II	26	2.2±1.1	NS	27	4.9±3.6	0.013	53	3.6±3.0	0.004
III	3	4.7±2.7		4	10.2±4.2		7	7.8±4.5	
Unavailable				1			1		
Architectural differentiation									
1+2	6	2.2±1.0	NS	9	4.6±2.5	NS	15	3.7±2.3	NS
3	22	2.6±1.6		22	6.0±4.5		44	4.3±3.8	
Unavailable	1			1			2		
Nuclear pleomorphism									
1+2	24	2.4±1.5	NS	23	5.0±3.9	NS	47	3.7±3.2	0.035
3	4	3.0±1.5		8	7.2±4.3		12	5.8±4.1	
Unavailable	1			1			2		
Number of mitosis									
1	21	2.2±1.1	0.036	21	5.3±4.0	NS	42	3.7±3.3	0.019
2+3	7	3.6±2.0		10	6.3±4.2		17	5.2±3.6	
Unavailable	1			1			2		
ER status									
Negative	0	–	–	1	16.2	NS	1	16.1	NS
Positive	29	2.5±1.5		31	5.2±3.5		60	3.9±3.1	
PR status									
Negative	5	2.1±1.4	NS	3	4.1±2.1	NS	8	2.9±1.8	NS
Positive	24	2.5±1.5		29	5.7±4.1		53	4.3±3.6	
Luminal subtype									
A (Ki-67<14 %)	6	1.7±0.7	NS	1	1.6	NS	7	1.7±0.6	0.003
B (Ki-67≥14 %)	19	2.5±1.2		23	6.3±4.2		42	4.6±3.7	
Unavailable	4			8			12		

Data are mean ± SD

NS not significant, ER oestrogen receptor, PR progesterone receptor

<sup>a</sup> Mann-Whitney or Kruskal-Wallis test

**Statistical analysis**

Data were described as frequency (percentage) or mean (SD) and median (min.–max.). To compare mean SUV1s with the different clinical, biological and pathological variables, the non-parametric Mann-Whitney test was used. To compare the distribution of these variables according to the low or high tumour uptake of FDG at baseline, the chi-square, Fisher's exact or Student's tests were

used. Spearman's rank correlation coefficient was used to define the links between numerical variables. No correction for multiple comparisons was used according to the application conditions. Receiver-operating characteristic curves (ROC) were performed to identify the ΔSUV cut-off with the highest prognostic value (maxPCC threshold, non-parametric).

Relapse-free survival (RFS) was calculated from the time between the date of diagnosis to the date of any event

**Table 3** Clinical, biological and histopathological variables according to tumour metabolism at baseline (low or high with hepatic uptake as the threshold)

Variable	Low metabolic tumour <i>n</i> (%)	Hypermetabolic tumour <i>n</i> (%)	<i>p</i>
All patients	19 (31.1)	42 (68.9)	
Age (years)			
≤ 50	8 (42.1)	21 (50.0)	NS <sup>a</sup>
>50	11 (57.9)	21 (50.0)	
Tumour size			
≤ 5 cm	18 (94.7)	37 (88.1)	NS <sup>b</sup>
> 5 cm	1 (5.3)	5 (11.9)	
Histological type			
Ductal	11 (57.9)	38 (90.5)	0.006 <sup>b</sup>
Lobular	8 (42.1)	4 (9.5)	
Lymph node status			
N0	8 (42.1)	16 (38.1)	NS <sup>a</sup>
N1+N2	11 (57.9)	26 (61.9)	
Tumour grading			
Grade I	5 (26.3)	2 (4.9)	0.040 <sup>b</sup>
Grade II	13 (68.4)	33 (80.5)	
Grade III	1 (5.3)	6 (14.6)	
Unavailable		1	
Architectural differentiation			
Score 1	1 (5.6)	0 (0.0)	NS <sup>b</sup>
Score 2	3 (16.7)	11 (26.8)	
Score 3	14 (77.8)	30 (73.2)	
Unavailable	1	1	
Nuclear pleomorphism			
Score 1	1 (5.6)	1 (2.4)	NS <sup>b</sup>
Score 2	15 (83.3)	30 (73.2)	
Score 3	2 (11.1)	10 (24.4)	
Unavailable	1	1	
Number of mitoses			
Score 1	17 (94.4)	25 (61.0)	0.009 <sup>a</sup>
Score 2–3	1 (5.6)	16 (39.0)	
ND	1	1	
ER status			
Negative	0 (0.0)	1 (2.4)	NS <sup>b</sup>
Positive	19 (100.0)	41 (97.6)	
PR status			
Negative	4 (21.1)	4 (9.5)	NS <sup>b</sup>
Positive	15 (79.0)	38 (90.5)	
Ki-67 expression			
Mean (SD)	25.7 (20.6)	41.9 (21.4)	0.017 <sup>c</sup>
Unavailable	4	8	
Luminal <sub>IHC</sub> subtype			
A (Ki-67 < 14 %)	5 (33.3)	2 (5.9)	0.022 <sup>b</sup>
B (Ki-67 ≥ 14 %)	10 (66.7)	32 (94.1)	
Unavailable	4	8	

NS not significant, ND not determined, ER oestrogen receptor, PR progesterone receptor

<sup>a</sup> Chi-square test

<sup>b</sup> Fisher's exact test

<sup>c</sup> Student's test

including any recurrences. Overall survival (OS) was defined as the time between the date of diagnosis and the date of death

(all causes). Surviving patients without progression were censored at the last follow-up. Median follow-up with its 95 %



confidence interval (CI) was calculated using the reverse Kaplan-Meier method. Survival curves were estimated using the Kaplan-Meier method and compared using log-rank tests. Univariate Cox proportional hazards models were calculated to compute the hazard ratios (HRs) with their 95 % CIs. For each univariate model, the proportionality of hazard assumption was tested on the basis of Schoenfeld residuals.

All *p* values were two-sided and considered significant when no greater than 0.05. All analyses were performed using Stata V11 software.

## Results

### Patients' characteristics

Among the 128 women evaluated, the 65 women with luminal HER2-negative breast tumours were included. After the first  $^{18}\text{F}$ -FDG PET study, but before NAC, four patients were excluded because of unexpected upstaging (stage IV,  $n=3$ ) or technical problems ( $n=1$ ). In the remaining 61 patients, 21 did not undergo the second  $^{18}\text{F}$ -FDG PET study: 19 because of low tumour FDG uptake at baseline (tumour SUV < hepatic SUV) and 2 because of technical problems. Therefore, PET response data were assessed in 40 patients among the 61 women included. Only one woman achieved a pCR at the end of NAC. Patients' characteristics are shown in Table 1. A flow chart is shown in Fig. 1.

The mean tumour SUV at baseline was  $4.1\pm 3.4$  and the mean hepatic SUV was  $2.4\pm 0.5$ . In hypermetabolic tumours, the mean  $\Delta\text{SUV}$  ( $\pm$  SD) after the first cycle of NAC was  $16.5\pm 36.6\%$ . Two different PET systems were used in this study: 29 patients were imaged with the CPET and 32 with the Gemini PET/CT system. Lower SUVs were observed on the CPET scanner ( $2.5\pm 1.5$  vs  $5.6\pm 4.0$ ,  $p<0.0001$ ). But  $\Delta\text{SUV}$  did not significantly differ according to the PET system used ( $-11\pm 39.6\%$  on the CPET and  $-19.7\pm 35.5\%$  on the Gemini PET/CT,  $p=0.34$ ).

A high tumour SUV1 was associated with high SBR grade ( $p=0.0045$ ), high mitotic activity ( $p=0.0196$ ), high nuclear pleomorphism ( $p=0.0358$ ), ductal histology ( $p=0.0044$ ) and luminal B subtype ( $p=0.0036$ ) (Table 2). Spearman's rank correlation showed a positive link between tumour SUV1 and Ki-67 expression ( $r=0.49$ ,  $p=0.0003$ ).

Analysing the two PET systems separately, higher tumour SUV1 was correlated with higher mitosis score (2+3) and ductal histology in the CPET system, while it was only correlated with high tumour grading (SBR III) in the Gemini GXL (Table 2). The tendency that a higher SUV1 is linked with higher tumour proliferation characteristics was observed in both PET systems. Nevertheless, results of correlation between absolute SUV and biological characteristics differed between the two PET systems.

Therefore, the distribution of the clinical, biological and pathological tumour variables according to the tumour metabolic activity was also analysed using hepatic metabolic activity as a threshold. The aim was to limit the bias induced by the difference in absolute SUV measures across PET systems (Table 3).

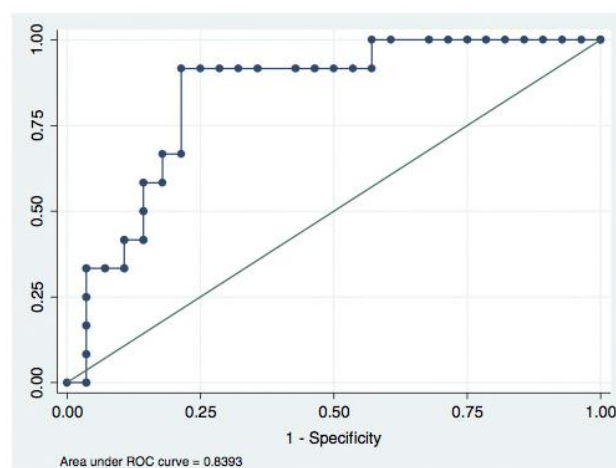
### Survival analysis

The median follow-up period was 64.2 months (range 11.5–93.2). During the follow-up period, 13 of the 61 women included developed recurrent disease, 9 of whom died. The 5-year RFS rate was 78.9 % (95 % CI 64.75–87.97 %) and the 5-year OS rate was 88.0 % (95 % CI 74.7–94.5 %).

Using ROC curve analysis, the optimal threshold of  $\Delta\text{SUV}$  to predict RFS in hypermetabolic tumours was calculated at 16 % with sensitivity = 91.7 %, specificity = 78.6 % and area under the curve = 0.8393 (95 % CI 0.7122–0.9664) (Fig. 2).

By univariate Cox analysis, an increased risk of recurrence was associated with larger tumour size ( $p<0.001$ ), hypermetabolic tumours ( $p=0.04$ ) and, more precisely, with hypermetabolic tumours achieving a poor tumour response after the first cycle of NAC ( $\Delta\text{SUV} < 16\%$ ,  $p=0.001$ ) (Table 4). The 5-year RFS for patients with hypermetabolic/poorly responding tumours was 33.2 % (95 % CI 6.69–63.85 %) compared with 88.5 % (95 % CI 88.46–96.13 %) in hypermetabolic/good responder patients ( $\Delta\text{SUV} \geq 16\%$ ). Women with low metabolic tumours had a 5-year RFS of 93.33 % (95 % CI 61.26–99.03 %).

Worse OS was associated with larger tumour size ( $p=0.009$ ), negative PR status ( $p=0.039$ ) and with hypermetabolic tumours that achieved a poor metabolic response after the first cycle of



**Fig. 2** ROC curve analysis for the prediction of RFS with the  $\Delta\text{SUV}$  of hypermetabolic tumours. It identified the optimal  $\Delta\text{SUV}$  cut-off at 16 % (sensitivity = 91.7 %, specificity = 78.6 %). Area under the curve = 0.8393 (95 % CI 0.7122–0.9664)

**Table 4** Univariate analysis of prognostic factors for RFS and OS

	RFS				OS			
	Events	HR	95 % CI	<i>p</i> value	Events	HR	95 % CI	<i>p</i> value
Age (years)								
≤ 50	6/29	1			4/29	1		
>50	7/32	0.98	0.33–2.92	0.969	5/32	0.95	0.25–3.56	0.939
Tumour size								
≤ 5 cm	9/55	1			6/55	1		
> 5 cm	4/6	11.22	3.4–37.7	<0.001	3/6	6.52	1.60–26.64	0.009
Histological type								
Ductal	10/49	1			7/49	1		
Lobular	3/12	1.2	0.33–4.39	0.778	2/12	0.9	0.18–4.43	0.897
Lymph node status								
N0	5/24	1			3/24	1		
N1+N2	8/37	1.08	0.35–3.3]	0.888	6/37	1.45	0.36–5.79	0.603
Tumour grading								
Grade I–II	12/53	1			8/53	1		
Grade III	1/7	0.53	0.07–4.06	0.538	1/7	0.84	0.10–6.88	0.874
Unavailable	0/1				0/1			
ER status								
Negative	0/1	1			0/1	1		
Positive	13/60	ND	–	–	9/60	ND	–	–
PR status								
Negative	4/8	1			4/8	1		
Positive	9/53	0.31	0.09–1.02	0.054	5/53	4.07	1.07–15.4	0.039
Luminal <sub>IHC</sub> subtype								
Luminal A (Ki-67<14 %)	1/7	1			0/7	1		
Luminal B (Ki-67≥14 %)	11/42	2.36	0.29–17.59	0.441	8/42	ND	–	–
Unavailable	1/12				1/12			
Histological response								
pCR	0/1	1			0/1	1		
No pCR†	13/60	ND	–	–	9/60	ND	–	–
Surgery								
Mastectomy	8/31	1			6/31	1		
Breast-conserving	5/30	0.72	0.24–2.22	0.572	3/30	0.65	0.16–2.61	0.541
Adjuvant chemotherapy								
No	8/45	1			4/45	1		
Yes	5/16	1.6	0.51–4.97	0.418	5/16	2.6	0.67–10.3	0.168
Baseline SUV (cut-off = hepatic uptake)								
Low metabolic	1/19	1			1/19	1		
Hypermetabolic	12/42	8.46	1.08–66.46	0.042	8/42	6.9	0.83–57.6	0.074
Baseline SUV and ΔSUV								
Low metabolic tumours	1/19	0.22	0.02–2.05	0.002	1/19	0.34	0.03–3.94	0.004
Hypermetabolic with ΔSUV ≥ 16 %	4/26	1			2/26	1		
Hypermetabolic with ΔSUV < 16 %	8/14	5.35	1.57–18.17		6/14	10.54	1.84–60.4	
Hypermetabolic missing ΔSUV	0/2				0/2			

HR hazard ratio, CI confidence interval, ER oestrogen receptor, PR progesterone receptor, ND not determined, pCR pathological complete response

NAC (ΔSUV<16 %, *p*=0.004) (Table 4). The 5-year OS for patients with hypermetabolic/poorly responding tumours was 49.22 % (95 % CI 14.76–76.90 %) compared with 96.15 % (95 % CI 75.69–99.45 %) in hypermetabolic/good responder

patients. Five-year OS in women with low metabolic tumours was 100 % (one death 7 years after diagnosis). Survival curves are shown in Figs. 3 and 4. Given the small number of events, multivariate Cox regression analysis was not performed.

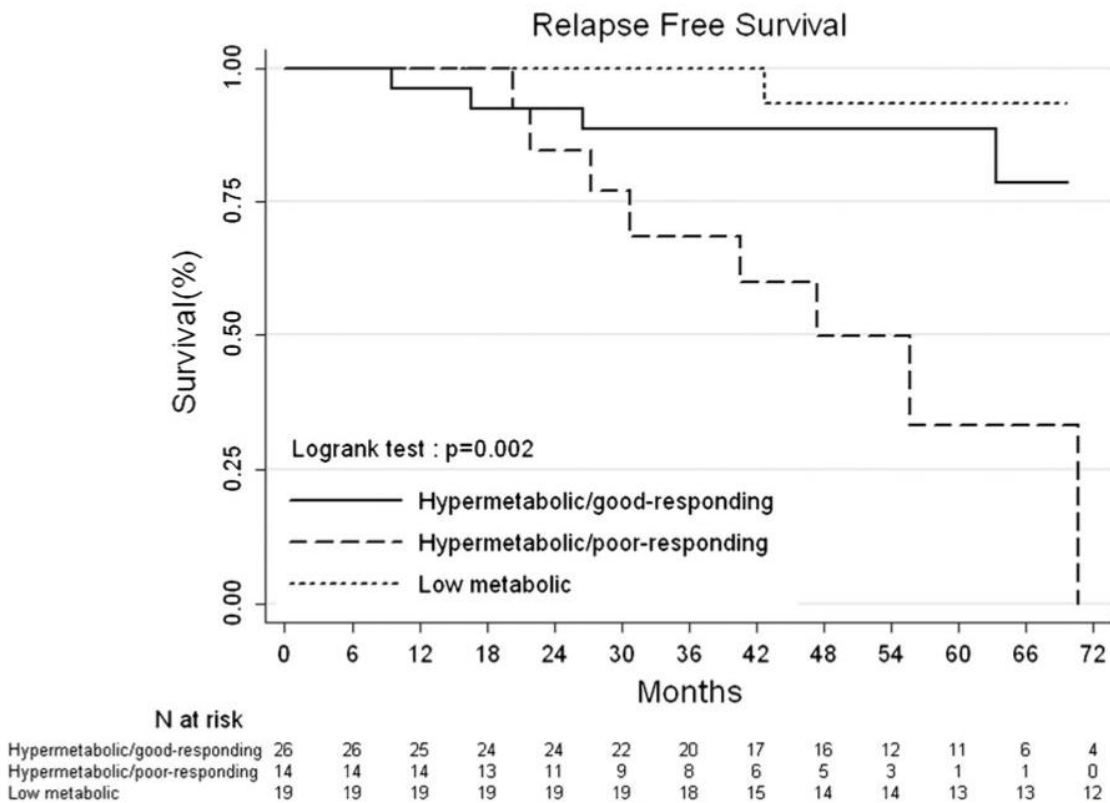
**Discussion**

For patients with luminal HER2-negative breast cancer, the appropriateness of preoperative chemotherapy remains controversial because pCR is more rarely achieved [16, 27]. Nevertheless, in a significant proportion of these patients the tumour is downstaged, and these women might therefore benefit from this treatment [27]. To predict at baseline which luminal tumours will undergo a significant clinical and histological response and which will not is currently an important clinical issue: there is a need for suitable surrogate end points of efficacy of NAC in luminal HER2-negative breast cancer.

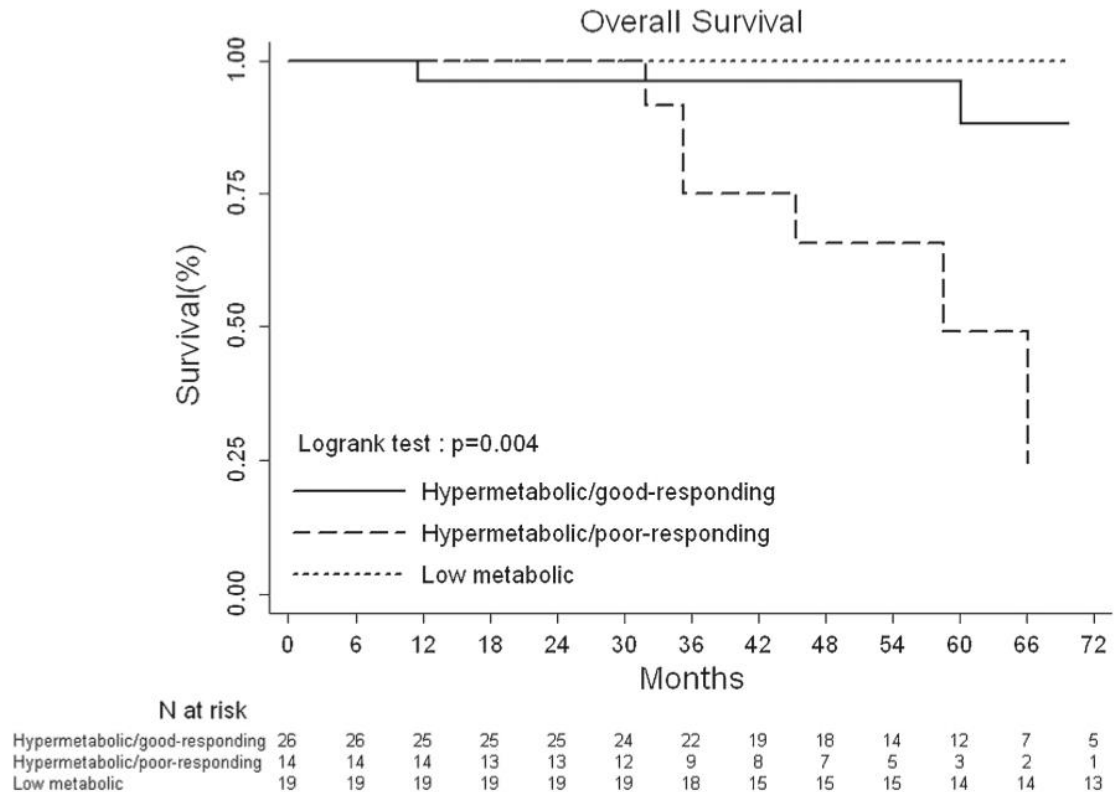
Gene expression profiling studies have identified two molecular subtypes of luminal disease with differences in underlying biology and outcomes. These are referred to as luminal A or luminal B. The latter are characterized by increased proliferation, higher grade and higher sensitivity to NAC [6, 7, 28]. Cheang et al. suggested that these two subtypes could

also be distinguished using Ki-67 expression, with 13.25 % of positive cells as a cut-off [15]. In the present study, using this cut-off, luminal B tumours had a significantly higher SUV1 than luminal A tumours (4.5 vs 1.6,  $p=0.0028$ ), as previously shown by Buck et al. [29]. In contrast with larger studies [14, 15], this classification into luminal A and B has no prognostic value in our study, perhaps due to the low number of women included. Lips et al. recently showed that none of the standard predictive pathology and molecular markers, including Ki-67 expression, could reliably define an NAC-resistant luminal HER2-negative subgroup with no significant chemotherapy benefit [27].

The present study demonstrates that  $^{18}\text{F}$ -FDG PET at baseline can also distinguish between two subgroups of luminal HER2-negative tumours with different underlying proliferation indexes and outcomes: on the one hand breast tumours with low baseline glucose metabolism and, on the other hand, hypermetabolic tumours. Hepatic glucose metabolism was used as the reference background, and tumours with higher levels of metabolism were regarded as hypermetabolic. The use of the hepatic SUV as a threshold leads to lower inter-observer variability than does a simple visual interpretation of hepatic metabolism. Breast glucose metabolism was not used as the reference background because breast density and



**Fig. 3** RFS curves according to tumour metabolism at baseline (low or hypermetabolic tumours) and to changes in metabolism after the first course of NAC (poor response if  $\Delta\text{SUV} < 16\%$  and good response if  $\Delta\text{SUV} \geq 16\%$ )



**Fig. 4** OS curves according to the tumour metabolism at baseline (low or hypermetabolic tumours) and to changes in metabolism after the first course of NAC (poor response if  $\Delta\text{SUV} < 16\%$  and good response if  $\Delta\text{SUV} \geq 16\%$ )

hormonal status affect FDG uptake [30]. On the contrary, hepatic FDG uptake has been shown to be reproducible with little variability of the SUVs in healthy individuals [31].

Compared with hypermetabolic tumours, low metabolic tumours were more often lobular carcinoma (42.1 vs 9.5 %,  $p=0.006$ ), with a lower SBR grade ( $p=0.04$ ), a lower mitotic rate ( $p=0.009$ ) and lower Ki-67 expression (25.7 vs 41.9 %,  $p=0.017$ ) (Table 3) and, as a consequence, had an excellent prognosis at 5 years. Several reports have suggested that both lobular and low Ki-67 expression breast cancers are less chemosensitive and could be considered for endocrine therapy only [27, 32–35]. Similarly, the benefit of NAC in low metabolic luminal tumours should be questioned and neoadjuvant endocrine therapy could also be considered.

In contrast, 42 women had hypermetabolic luminal breast tumours at baseline, with higher proliferative indexes and therefore close to the luminal B subtype (94.1 %). In this subgroup of tumours, the present study demonstrated that the metabolic response after the first course of NAC had a good prognostic value at 5 years and could define two subgroups of hypermetabolic luminal tumours with different degrees of response to NAC correlated with different outcomes. Indeed, a good metabolic response to NAC, with a decrease in tumour

glucose metabolism over 16 % ( $\Delta\text{SUV} \geq 16\%$ ) after the first course of treatment, was related to an excellent outcome and could be used as an early surrogate end point for the efficacy of NAC. In contrast, patients with a lower metabolic response ( $\Delta\text{SUV} < 16\%$ ) had a higher risk of relapse at 5 years ( $\text{HR}=5.35$ ,  $p=0.001$ ) and worse OS ( $\text{HR}=10.63$ ,  $p=0.004$ ). In the future, these poorly responding women, for whom the prognosis is poorer, might benefit from an early tailoring of the NAC regimen used for the first cycle. Within the context of clinical trials, a variety of other approaches could be tested in these patients, including the use of a combination of new chemotherapy/endocrine agents.

Our study has some limitations: SUV is dependent on parameters such as the delay between injection and measurement, glucose concentration, body weight, preparation procedures and instrumental factors. Standardization of PET imaging systems is required for the use of quantitative  $^{18}\text{F}$ -FDG PET as an imaging biomarker. Guidelines have been issued and have to be implemented [36–38]. In the present study, the corrections for BSA and serum glycaemia limit the impact of variations in these parameters on the SUV during NAC. The absolute SUV1 measurements were affected by the use of two different PET systems. Indeed, absolute SUV measures should

be interpreted with caution when analysing data from various PET imaging systems. The use of an intra-subject reference background, as performed in the present study, can limit this bias. Moreover, the measurements of  $\Delta\text{SUV}$  (%) were reproducible because they were less affected by technical factors such as camera calibration [36]. Thus,  $\Delta\text{SUV}$  (%) appears to be a reliable and reproducible measurement when data from various scanners with strict intra-subject standardization are analysed, as was the case in the present study.

Because it is the first study evaluating the prognostic relevance of early FDG PET monitoring in luminal breast cancers, no previous  $\Delta\text{SUV}$  thresholds are available in the literature. The ROC analysis method was thus used to define the  $\Delta\text{SUV}$  cut-off with the best prognostic significance. But this method can overestimate the statistical significance of the variable. Hence, these first results should be interpreted with caution. Other prospective and multicentre studies, evaluating the survival benefit of tailoring the NAC regimen according to the early metabolic response are thus required.

The median follow-up period was 64.2 months (11.5–93.2). The excellent survival curves of women with low metabolic tumours could be overestimated because the risk of late mortality persists after 5 years in this subgroup. Haque et al. showed that, in contrast with other subtypes, survival curves for women with luminal A tumours continued to decline steadily after 10 years of follow-up [39]. In our results, the only death in the low metabolic tumour subgroup was observed 7 years after diagnosis. This 5-year follow-up gives preliminary survival results rather than definitive.

Finally, due to the low number of observed events, a reliable multivariable model could not be fitted in this study. We can therefore not assess whether the effect of baseline SUV and  $\Delta\text{SUV}$  on survival are still significant after adjusting for tumour size and PR status.

## Conclusion

Firstly, luminal HER2-negative tumours with high glucose metabolism at baseline are characterized by increased proliferation indexes and mainly belong to the immunohistochemically defined luminal B subtype. Among these hypermetabolic luminal tumours, the metabolic changes after the first course of NAC can define a subgroup of women with poorly responding tumours, related to a poorer prognosis at 5 years. Metabolic response monitoring, using  $^{18}\text{F}$ -FDG PET before and after the first course of NAC, may create in the future the ability to early tailor the NAC regimen to the chemosensitivity of the primary tumour. The survival benefit should be evaluated in future trials.

Secondly, luminal HER2-negative tumours with low glucose metabolism at baseline have low proliferative indexes, with an excellent prognosis at 5 years. The benefit of NAC

should be questioned in this subgroup of patients, and the use of neoadjuvant endocrine therapy should be evaluated.

**Acknowledgments** We are grateful to Mr. Bastable for his writing services. This study is part of the PharmImage® project.

**Conflicts of interest** None.

## References

- Mauri D, Pavlidis N, Ioannidis JP. Neoadjuvant versus adjuvant systemic treatment in breast cancer: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:188–94.
- Fisher B, Bryant J, Wolmark N, Mamounas E, Brown A, Fisher ER, et al. Effect of preoperative chemotherapy on the outcome of women with operable breast cancer. *J Clin Oncol* 1998;16:2672–85.
- Kuerer HM, Newman LA, Smith TL, Ames FC, Hunt KK, Dhingra K, et al. Clinical course of breast cancer patients with complete pathologic primary tumor and axillary lymph node response to doxorubicin-based neoadjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol* 1999;17:460–9.
- von Minckwitz G, Untch M, Blohmer JU, Costa SD, Eidtmann H, Fasching PA, et al. Definition and impact of pathologic complete response on prognosis after neoadjuvant chemotherapy in various intrinsic breast cancer subtypes. *J Clin Oncol* 2012;30:1796–804.
- Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000;406:747–52.
- Sørlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:10869–74.
- Sørlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:8418–23.
- Bhargava R, Striebel J, Beriwal S, Flickinger JC, Onisko A, Ahrendt G, et al. Prevalence, morphologic features and proliferation indices of breast carcinoma molecular classes using immunohistochemical surrogate markers. *Int J Clin Exp Pathol* 2009;2:444–55.
- de Ronde JJ, Hannemann J, Halfwerk H, Mulder L, Straver ME, Vrancken Peeters MJ, et al. Concordance of clinical and molecular breast cancer subtyping in the context of preoperative chemotherapy response. *Breast Cancer Res Treat* 2010;119:119–26.
- Bhargava R, Beriwal S, Dabbs DJ, Ozbek U, Soran A, Johnson RR, et al. Immunohistochemical surrogate markers of breast cancer molecular classes predicts response to neoadjuvant chemotherapy: a single institutional experience with 359 cases. *Cancer* 2010;116:1431–9.
- Darb-Esfahani S, Loibl S, Müller BM, Roller M, Denkert C, Komor M, et al. Identification of biology-based breast cancer types with distinct predictive and prognostic features: role of steroid hormone and HER2 receptor expression in patients treated with neoadjuvant anthracycline/taxane-based chemotherapy. *Breast Cancer Res* 2009;11:R69.
- Kim SI, Sohn J, Koo JS, Park SH, Park HS, Park BW. Molecular subtypes and tumor response to neoadjuvant chemotherapy in patients with locally advanced breast cancer. *Oncology* 2010;79:324–30.
- Voduc KD, Cheang MC, Tyldesley S, Gelmon K, Nielsen TO, Kennecke H. Breast cancer subtypes and the risk of local and regional relapse. *J Clin Oncol* 2010;28:1684–91.

14. Hugh J, Hanson J, Cheang MC, Nielsen TO, Perou CM, Dumontet C, et al. Breast cancer subtypes and response to docetaxel in node-positive breast cancer: use of an immunohistochemical definition in the BCIRG 001 trial. *J Clin Oncol* 2009;27:1168–76.
15. Cheang MC, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, Snider J, et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2009;101:736–50.
16. Gnant M, Harbeck N, Thomssen C. St. Gallen 2011: Summary of the Consensus Discussion. *Breast Care (Basel)* 2011;6:136–41.
17. Cortazar P, Zhang L, Untch M, Mehta K, Costantino J, Wolmark N, et al. Meta-analysis results from the Collaborative Trials in Neoadjuvant Breast Cancer (CTNeoBC). Presented at the San Antonio Breast Cancer Symposium, Texas, USA, 4–8 December 2012.
18. Schwarz-Dose J, Untch M, Tiling R, Sassen S, Mahner S, Kahlert S, et al. Monitoring primary systemic therapy of large and locally advanced breast cancer by using sequential positron emission tomography imaging with [<sup>18</sup>F]fluorodeoxyglucose. *J Clin Oncol* 2009;27:535–41.
19. Berriolo-Riedinger A, Touzery C, Riedinger JM, Toubreau M, Coudert B, Arnould L, et al. [<sup>18</sup>F]FDG-PET predicts complete pathological response of breast cancer to neoadjuvant chemotherapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2007;34:1915–24.
20. Rousseau C, Devillers A, Sagan C, Ferrer L, Bridji B, Campion L, et al. Monitoring of early response to neoadjuvant chemotherapy in stage II and III breast cancer by [<sup>18</sup>F]fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *J Clin Oncol* 2006;24:5366–72.
21. Humbert O, Berriolo-Riedinger A, Riedinger JM, Coudert B, Arnould L, Cochet A, et al. Changes in <sup>18</sup>F-FDG tumor metabolism after a first course of neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: influence of tumor subtypes. *Ann Oncol* 2012;23:2572–7.
22. Keam B, Im SA, Koh Y, Han SW, Oh DY, Cho N, et al. Early metabolic response using FDG PET/CT and molecular phenotypes of breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy. *BMC Cancer* 2011;11:452.
23. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1991;19:403–10. *Histopathology* 2002;41:151–2, discussion.
24. Green MC, Buzdar AU, Smith T, Ibrahim NK, Valero V, Rosales MF, et al. Weekly paclitaxel improves pathologic complete remission in operable breast cancer when compared with paclitaxel once every 3 weeks. *J Clin Oncol* 2005;23:5983–92.
25. Zafrani B, Aubriot MH, Mouret E, De Crémoux P, De Rycke Y, Nicolas A, et al. High sensitivity and specificity of immunohistochemistry for the detection of hormone receptors in breast carcinoma: comparison with biochemical determination in a prospective study of 793 cases. *Histopathology* 2000;37:536–45.
26. Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol* 2007;25:118–45.
27. Lips EH, Mulder L, de Ronde JJ, Mandjes IA, Vincent A, Vrancken Peeters MT, et al. Neoadjuvant chemotherapy in ER+ HER2- breast cancer: response prediction based on immunohistochemical and molecular characteristics. *Breast Cancer Res Treat* 2012;131:827–36.
28. Esserman LJ, Berry DA, Cheang MC, Yau C, Perou CM, Carey L, et al. Chemotherapy response and recurrence-free survival in neoadjuvant breast cancer depends on biomarker profiles: results from the I-SPY 1 TRIAL (CALGB 150007/150012; ACRIN 6657). *Breast Cancer Res Treat* 2012;132:1049–62.
29. Buck A, Schirmeister H, Kühn T, Shen C, Kalker T, Kotzerke J, et al. FDG uptake in breast cancer: correlation with biological and clinical prognostic parameters. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2002;29:1317–23.
30. Vranjesevic D, Schiepers C, Silverman DH, Quon A, Villalpando J, Dahlbom M, et al. Relationship between <sup>18</sup>F-FDG uptake and breast density in women with normal breast tissue. *J Nucl Med* 2003;44:1238–42.
31. Kanstrup IL, Klausen TL, Bojsen-Møller J, Magnusson P, Zerahn B. Variability and reproducibility of hepatic FDG uptake measured as SUV as well as tissue-to-blood background ratio using positron emission tomography in healthy humans. *Clin Physiol Funct Imaging* 2009;29:108–13.
32. Katz A, Saad ED, Porter P, Pusztai L. Primary systemic chemotherapy of invasive lobular carcinoma of the breast. *Lancet Oncol* 2007;8:55–62.
33. Colleoni M, Viale G, Goldhirsch A. Lessons on responsiveness to adjuvant systemic therapies learned from the neoadjuvant setting. *Breast* 2009;18 Suppl 3:S137–40.
34. Semiglazov VF, Semiglazov VV, Dashyan GA, Ziltsova EK, Ivanov VG, Bozhok AA, et al. Phase 2 randomized trial of primary endocrine therapy versus chemotherapy in postmenopausal patients with estrogen receptor-positive breast cancer. *Cancer* 2007;110:244–54.
35. Alba E, Calvo L, Albanell J, De la Haba JR, Arcusa Lanza A, Chacon JI, et al. Chemotherapy (CT) and hormone therapy (HT) as neoadjuvant treatment in luminal breast cancer patients: results from the GEICAM/2006-03, a multicenter, randomized, phase-II study. *Ann Oncol* 2012;23:3069–74.
36. Boellaard R. Need for standardization of <sup>18</sup>F-FDG PET/CT for treatment response assessments. *J Nucl Med* 2011;52 Suppl 2:93S–100S.
37. Boellaard R, Oyen WJ, Hoekstra CJ, Hoekstra OS, Visser EP, Willemsen AT, et al. The Netherlands protocol for standardisation and quantification of FDG whole body PET studies in multi-centre trials. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2008;35:2320–33.
38. Boellaard R. Standards for PET image acquisition and quantitative data analysis. *J Nucl Med* 2009;50 Suppl 1:11S–20S.
39. Haque R, Ahmed SA, Inzhakova G, Shi J, Avila C, Polikoff J, et al. Impact of breast cancer subtypes and treatment on survival: an analysis spanning two decades. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2012;21:1848–55.

## **4. Métabolisme du cancer HER2 positif**

### **4.1. Introduction**

La prise en charge des tumeurs HER2 positives a été révolutionnée par le développement d'anticorps ciblant les récepteurs membranaires HER2, tel que le trastuzumab, et inhibant ainsi la croissance tumorale contrôlée par la voie du récepteur 2 du facteur de croissance épidermique humain. Bien qu'il s'agisse de tumeurs généralement prolifératives, leur pronostic a ainsi été fortement amélioré par l'arrivée de ces thérapies. Une réponse histologique complète est fréquemment observée pour ce phénotype et est considérée comme un biomarqueur précoce favorable de la survie sans récurrence et globale. L'identification précoce des patientes moins bonnes répondeuses, qui n'obtiendront pas de pCR, est un enjeu clinique important. En effet, diverses thérapies ciblées, agissant soit sur d'autres sites de la protéine HER2 que le trastuzumab (ex : Pertuzumab), soit sur d'autres voies moléculaires (ex : lapatinib), ont une efficacité prouvée pour ce type tumoral. Une intensification thérapeutique pourrait donc être proposée aux patientes ne répondant que partiellement au trastuzumab. L'objectif de cette étude a été d'évaluer si la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG est un bon outil pour identifier précocement les patientes moins bonnes répondeuses à une première ligne de docetaxel-trastuzumab, dont la probabilité d'obtention d'une pCR est faible. La valeur prédictive de divers paramètres métaboliques a été étudiée : SUV absolu,  $\Delta\text{SUV}$ , variations du volume métabolique tumoral...

### **4.2. Article 3**

# HER2-positive breast cancer: $^{18}\text{F}$ -FDG PET for early prediction of response to trastuzumab plus taxane-based neoadjuvant chemotherapy

Olivier Humbert · Alexandre Cochet · Jean-Marc Riedinger · Alina Berriolo-Riedinger · Laurent Arnould · Bruno Coudert · Isabelle Desmoulins · Michel Toubeau · Inna Dygai-Cochet · Séverine Guiu · Charles Coutant · Pierre Fumoleau · François Brunotte

Received: 6 January 2014 / Accepted: 17 February 2014 / Published online: 20 March 2014  
 © Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

## Abstract

**Purpose** To investigate the value of  $^{18}\text{F}$ -fluorodeoxyglucose positron emission tomography ( $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT) to predict a pathological complete response (pCR) after neoadjuvant chemotherapy (NAC) in women with human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-positive breast cancer.

**Material and methods** Fifty-seven consecutive women with HER2-positive breast cancer, treated with trastuzumab plus taxane-based NAC, were prospectively included. Maximum Standardized Uptake Value of the primary tumor and axillary nodes were measured at baseline ( $\text{PET}_1.\text{SUV}_{\text{max}}$ ) and after the first course of NAC ( $\text{PET}_2.\text{SUV}_{\text{max}}$ ). Tumor metabolic volumes were assessed to determine Total Lesion Glycolysis (TLG). The tumor metabolic response ( $\Delta\text{SUV}_{\text{max}}$  and  $\Delta\text{TLG}$ ) was calculated.

**Results** In univariate analysis, negative hormonal receptor status ( $p=0.04$ ), high tumor grade ( $p=0.03$ ), and low tumor  $\text{PET}_2.\text{SUV}_{\text{max}}$  ( $p=0.001$ ) were predictive of pCR. Tumor  $\Delta\text{SUV}_{\text{max}}$  correlated with pCR ( $p=0.03$ ), provided that tumors with low metabolic activity at baseline were excluded.  $\Delta\text{TLG}$  did not correlate with pCR. In multivariate analysis, tumor  $\text{PET}_2.\text{SUV}_{\text{max}} < 2.1$  was the best independent predictive factor (Odds ratio =14.3;  $p=0.004$ ) with both negative and positive predictive values of 76 %. Although the metabolic features of the primary tumor did not depend on hormonal receptor status, both the baseline metabolism and early response of axillary nodes were higher if estrogen receptors were not expressed ( $p=0.01$  and  $p=0.03$ , respectively).

**Conclusion** In HER2-positive breast cancer, very low tumor residual metabolism after the first cycle of NAC ( $\text{SUV}_{\text{max}} < 2.1$ ) was the main predictor of pCR. These results should be further explored in multicenter studies and incorporated into the design of clinical trials.

O. Humbert (✉) · A. Cochet · J.-M. Riedinger · A. Berriolo-Riedinger · M. Toubeau · I. Dygai-Cochet · F. Brunotte  
 Department of Nuclear Medicine, Centre GF Leclerc, 1 rue du Pr Marion, 21000 Dijon, France  
 e-mail: ohumbert@cgfl.fr

J.-M. Riedinger · L. Arnould  
 Department of Biology and Pathology, Centre GF Leclerc, Dijon, France

B. Coudert · I. Desmoulins · S. Guiu · P. Fumoleau  
 Department of Medical Oncology, Centre GF Leclerc, Dijon, France

C. Coutant  
 Department of Surgery, Centre GF Leclerc, Dijon, France

O. Humbert · F. Brunotte  
 Imaging Department, CHU Le Bocage, Dijon, France

O. Humbert · A. Cochet · F. Brunotte  
 Université de Bourgogne, UMR CNRS 5158, Dijon, France

**Keywords** Breast cancer · Neoadjuvant chemotherapy · PET · HER2 · Response monitoring

## Introduction

Neoadjuvant chemotherapy (NAC) is used more and more in order to increase conserving surgery of breast cancer by reducing tumor size [1, 2]. Studies have demonstrated that NAC does not improve survival when compared with adjuvant chemotherapy [3], but women who achieve a pathological complete response (pCR) in the breast and axillary nodes at the end of NAC have significantly improved survival [4].

Breast cancer includes several molecular entities that differ in their clinical behavior, biological characteristics and



outcomes [5–7]. The standard of care in the overexpression and/or amplification of human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-positive subtype is characterized by the use of trastuzumab (Herceptin®), which selectively targets HER2 oncoprotein. During neoadjuvant treatment, the synergy between trastuzumab and cytotoxic therapy is very effective. It induces a high rate of complete pathological response at the end of treatment [8] and improves outcomes [9]. However, the features of this HER2-positive subtype are heterogeneous and depend on hormonal receptor (HR) expression [10, 11].

Fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography ( $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT) is the gold standard for in vivo evaluation of tumor glucose metabolism. Studies regarding the use of PET/CT to monitor early tumor response to NAC have shown promising results in predicting the final pCR, all tumor subtypes included [12–14]. Nevertheless, because the metabolic behavior of tumors varies considerably among breast cancer subtypes, breast cancer cannot be considered a single entity [15]. Few studies have evaluated the relevance of metabolic response to predict pCR in the HER2-positive subtype specifically, and results are contradictory because of small and heterogeneous patient series [15–18].

The objective of this prospective study was to demonstrate the value of early tumor metabolic changes to predict pCR at surgery in a large group of women with exclusive HER2-positive invasive carcinoma. Different  $^{18}\text{F}$ -FDG PET parameters were evaluated, including tumor metabolic volumes. The correlation between PET parameters and the molecular markers of HER2-positive breast cancer, including hormonal receptor status, was also analyzed.

## Materials and methods

### Patients and treatments

From November 2006 to October 2012, 195 women that were referred to our institution (Centre Georges-François Leclerc, Dijon, France) because of an indication for NAC and clinical stage II or III breast cancer were consecutively evaluated in this prospective study. Only those with non-inflammatory HER2-positive tumors treated with six cycles of standardized trastuzumab and docetaxel-based regimen were included. Patients with high glycemia ( $> 9$  mmol/l) were excluded. The institutional review board approved this prospective study and all women gave their informed consent.

Docetaxel was administered as an intravenous infusion every 3 weeks, at the dose of  $100\text{ mg/m}^2$  with a concomitant dose of trastuzumab. About 1 month after the last course of NAC, the tumors were surgically removed, and pCR was defined as no residual invasive cancer in the breast and nodes, though in-situ breast residuals were allowed (ypT0/is ypN0) [10].

### Histopathological analysis

Pre-treatment core biopsies from the primary tumor were used to determine the histological type, tumor grade [19], architectural differentiation, nuclear polymorphism and rate of mitosis. The molecular markers examined included estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR) and HER2 expression.

Tumor samples were fixed on buffered formalin, embedded in paraffin and cut with a microtome. Immunohistochemistry was performed with an indirect immunoperoxidase method using antibodies directed against HER2 oncoprotein, ER and PR (HER2: rabbit monoclonal prediluted antibody 4B5; ER: rabbit monoclonal prediluted antibody SP1; PR: rabbit monoclonal prediluted antibody 1E2, Ventana Tucson, AZ, USA). All immunostainings were performed on an automated immunostainer (Ventana XT, Tucson, AZ, USA). ER and PR status were considered positive if the tumor showed at least 10 % of positive cells [20]. HER2 status was graded according to the HercepTest scoring system modified by ASCO/CAP recommendations (0, 1+, 2+ or 3+) [21]. Scores of 3+ were considered positive. In the case of 2+ scores, fluorescent in situ hybridization (FISH) was used to confirm HER2 amplification, using the dual color HER2 and CEN17 probes (ZytoLight, SPEC HER2/CEN17 Dual Color Prob Kit, Zytovision GmbH, Bremerhaven, Germany). HER2 amplification was defined, according to ASCO/CAP criteria, by a ratio of  $\text{HER2/CEN17} > 2.2$  [21].

### $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT procedures

A first  $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT study was performed at baseline. Two different PET/CT imaging systems were used: a Gemini GXL PET/CT scanner from November 2006 to December 2010, and a Gemini TF PET/CT scanner from December 2010 to October 2012 (Philips Medical Systems, Eindhoven, The Netherlands). Patients were instructed to fast for at least 6 h before the intravenous injection of 5 MBq/kg of  $^{18}\text{F}$ -FDG for Gemini GXL studies and 3.5 MBq/kg for Gemini TF studies. Emission and transmission scans from the brain to mid-thigh were acquired 60 min later. Scans restricted to the chest with patients in the prone position were started 90 min after the injection of  $^{18}\text{F}$ -FDG. Emission data were corrected for dead time, random and scatter coincidences, and attenuation before reconstruction with the RAMLA iterative method. A second  $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT study was performed just before the second course of NAC. A chest-restricted acquisition was done 90 min after the injection of the  $^{18}\text{F}$ -FDG. For each patient, the same imaging system,  $^{18}\text{F}$ -FDG activity and time from injection to acquisition were used for both studies.

A spheroidal volume of interest (VOI) encompassing the primary tumor or nodes was manually drawn on the chest-restricted acquisitions, to measure the Standardized Uptake

Value maximal index ( $SUV_{max}$ ) at baseline ( $PET_1.SUV_{max}$ ) and after the first course of NAC ( $PET_2.SUV_{max}$ ). Measured  $SUV_{max}$  was systematically corrected for body surface area (BSA) and glycemia, as detailed in our previous studies [12, 15].

The metabolic response to NAC was calculated:

$$\Delta SUV_{max}(\%) = 100 \times (PET_1.SUV_{max} - PET_2.SUV_{max}) / PET_1.SUV_{max}$$

Metabolic tumor volume (MTV) was automatically measured inside the tumoral VOI, which had been previously drawn using a dedicated software package (Tumor-tracking; Philips) with margin thresholds set at 41 % of  $SUV_{max}$ , after correction for the breast background activity [threshold =  $0.41 \times (\text{Tumor } SUV_{max} - \text{Contralateral breast background } SUV_{max})$ ]. Total lesion glycolysis (TLG) was then calculated as  $SUV_{mean} \times MTV$ , which considers both the metabolic activity and tumor burden. Tumor  $\Delta TLG$  (%) was calculated.

Three other VOIs were drawn to assess different background  $SUV_{mean}$  and  $SUV_{max}$ :

- on the contralateral breast glandular tissue (breast background)
- inside the ascending aorta (mediastinal background)
- on the liver parenchyma, at mid height (hepatic background)

The mediastinal and hepatic  $SUV_{max}$  were used as thresholds on the PET2 examination to distinguish between tumors with low or high residual metabolism.

#### Statistical analysis

Statistical analysis was performed with the use of WinSTAT software (Microsoft, Redmond, Washington, USA) and Systat software (Systat Inc., Evanston, IL). Data were described by frequency (percentage) or mean and standard deviation (SD).

Correlations between metabolic tumor parameters and the different clinical, biological and pathological variables were assessed with either the Mann–Whitney or the Kruskal–Wallis test.

Tumor metabolic characteristics according to the PET/CT system used and to achievement of pCR were compared with the Mann–Whitney test.

The Chi-square test was used to compare the rates observed.

The predictive value of  $\Delta SUV_{max}$  was first evaluated in the whole population. But because previous studies reported  $\Delta SUV_{max}$  to be less accurate in response assessment for women with low-metabolic tumors (tumor-to-background ratio of less than 5) [22–24], this analysis was secondly restricted to women with hypermetabolic tumors at baseline. In the present study, a tumor-to-background tumor ratio  $\geq 5$  was

comparable to a tumor  $PET_1.SUV_{max} \geq 3.7$  (mean contralateral breast tissue  $SUV_{mean} = 0.74$ ): this threshold was therefore used.

Receiver operating characteristic curves (ROC) were performed to define the optimal threshold of  $\Delta SUV_{max}$  and  $PET_2.SUV_{max}$  for the prediction of pCR.

Univariate analyses of the different clinical, histopathological and metabolic parameters to predict pCR were performed using a logistic regression model. Multivariate analyses with backward variable selection were done to identify prognostic variables of independent statistical significance. P values < 0.05 were considered significant in all tests.

## Results

### Patients' characteristics (Table 1)

Among the 195 women evaluated, 72 had HER2-positive breast tumors. Seven of them were excluded because they had undergone a NAC regimen that did not include trastuzumab and docetaxel, and eight were excluded because of obvious upstaging after the first PET exam (stage IV), and in whom NAC was no longer indicated. In the remaining 57 patients, three missed the second PET exams because they declined to continue or because of problems with the equipment. All tumors were invasive ductal carcinoma; none of them belonged to the lobular histological subtype.

The mean tumoral  $SUV_{max}$  ( $\pm$  SD) at baseline was  $8.3 \pm 4.4$  (Table 2) and the mean lymph node  $SUV_{max}$  was  $5.9 \pm 3.9$ . After the first cycle of NAC, the mean tumoral  $PET_2.SUV_{max}$  was  $2.9 \pm 1.5$ . The mean tumoral  $\Delta SUV_{max}$  was  $58.5 \pm 22.7$  %. There were no significant differences between patients imaged with the Gemini GXL ( $n=39$ ) and the Gemini TF PET/CT ( $n=18$ ) systems for mean  $PET_1.SUV_{max}$ ,  $PET_2.SUV_{max}$  and  $\Delta SUV_{max}$ .

The mean tumoral TLG1 and  $\Delta TLG$  ( $\pm$  SD) were calculated at  $31.4 \pm 38.3$  and  $84.9 \pm 12.8$  %, respectively.

The pCR rate was 43.9 % (25/57).

### Correlation between metabolic features and clinical/histopathological parameters (Table 2)

Regarding primary tumor metabolism, both higher  $SUV_{max}$  and higher  $\Delta SUV_{max}$  were associated with a higher mitotic count (respectively  $P=0.001$  and  $P<0.001$ ). The correlation between  $\Delta TLG$  and mitotic count was lower ( $P=0.02$ ). Baseline TLG was only correlated with PR status: TLG1 was  $37.0 \pm 40.1$  in tumors with negative PR status and  $25.7 \pm 36.2$  in tumors with positive PR status ( $P=0.04$ ).

Regarding axillary node metabolism, higher  $PET_1.SUV_{max}$  and greater  $\Delta SUV_{max}$  were only associated with negative tumor estrogen receptor status. In negative ER tumors, mean

**Table 1** Population characteristics

Characteristics	Number of patients: N (%)
Total patients	57
Age (years)	
≤50	36 (63 %)
>50	21 (37 %)
Menopause	
No	35 (61 %)
Yes	21 (37 %)
Unknown	1 (2 %)
Tumour size (T)	
≤5 cm	50 (88 %)
>5 cm	7 (12 %)
Lymph node involvement	
Negative	19 (33 %)
Positive	38 (67 %)
Tumour grading	
Grade I	2 (4 %)
Grade II	24 (42 %)
Grade III	28 (49 %)
Missing	3 (5 %)
Architectural differentiation	
Score I	1 (2 %)
Score II	12 (21 %)
Score III	37 (65 %)
Missing	7 (12 %)
Nuclear pleomorphism	
Score I	0 (0 %)
Score II	21 (37 %)
Score III	29 (51 %)
Missing	7 (12 %)
Number of mitoses	
Score I	14 (25 %)
Score II	27 (47 %)
Score III	11 (19 %)
Missing	5 (9 %)
HER2 status	
++ and FISH +	8 (14 %)
+++	49 (86 %)
Estrogen receptor status	
Negative	18 (32 %)
Positive	39 (68 %)
Progesterone receptor status	
Negative	29 (51 %)
Positive	28 (49 %)
Hormonal receptor status	
Negative (ER and PR negative)	15 (26 %)
Positive (ER or PR positive)	42 (74 %)
pCR (ypT0/is ypN0)	
Yes	25 (44 %)
No	32 (56 %)

pCR is defined as ypT0/is ypN0: no invasive residual in the breast and nodes; in-situ breast residuals allowed

PET<sub>1</sub>.SUV<sub>max</sub> was 9.2±4.5 in the nodes and mean ΔSUV<sub>max</sub> was 76.6±11.6, whereas these values were 4.7±3.0 and 60.1±19.0 in positive ER tumors ( $P=0.01$  and  $P=0.03$ , respectively).

Relationship between tumor metabolic parameters and pCR (Tables 3 and 4)

There was a strong correlation between tumor residual SUV<sub>max</sub> at PET2 and pathological response: mean PET<sub>2</sub>.SUV<sub>max</sub> was 3.2±1.6 in women without pCR and 2.3±1.1 in those with pCR ( $P=0.003$ ) (Fig. 1, Table 3).

ROC analyses were performed for SUV2 for the early prediction of pCR; the area under the curve (AUC) was 0.73 ( $P=0.003$ ) (Fig. 2). With an optimal cut-off determined at 2.1, both the negative predictive value (NPV), and the positive predictive value (PPV) of a low PET<sub>2</sub>.SUV<sub>max</sub> to predict pCR were 76 %. Other cut-offs could be used. For example, if the aim rather was to best identify the non-complete responding women, a higher cut-off might be favored to improve the NPV of PET<sub>2</sub>.SUV<sub>max</sub>, but at the expense of the PPV. Indeed, the accurate identification of non-responding women may also be an important point in the design of treatment intensification trials for poor-responding women.

Instead of a fixed value, intra-subject background cut-offs (mediastinal or hepatic SUV<sub>max</sub>) were used on interim PET to distinguish between tumors with low or high residual metabolism, but this did not predict pCR ( $P=0.58$  in univariate logistic analysis, both).

In the first analysis, ΔSUV<sub>max</sub> did not correlate significantly with pathological response ( $P=0.17$ ). But when ΔSUV<sub>max</sub> was compared with baseline SUV<sub>max</sub> (Fig. 3), we reported ΔSUV<sub>max</sub> to be less accurate in response assessment for the subset of five patients with low <sup>18</sup>F-FDG uptake at baseline (PET<sub>1</sub>.SUV<sub>max</sub><3.7) because of lower metabolic response, despite a 80 % rate of pCR in this subgroup. Therefore a second analysis of ΔSUV<sub>max</sub> was restricted to the subset of 52 women with hypermetabolic tumors (PET<sub>1</sub>.SUV<sub>max</sub>≥3.7): there was a correlation between the early percentage decrease in SUV<sub>max</sub> and the pathological response at surgery (ΔSUV<sub>max</sub>=58.6±17.6 % in women without pCR vs. 71.3±14.2 % in those with pCR,  $P=0.02$ ; Table 3). Using ROC analysis, the AUC was 0.70, 95 % IC=[0.55–0.85],  $P=0.02$ . When an optimal cut-off of 60 % was used, the sensitivity, specificity, positive predictive and negative predictive value of ΔSUV<sub>max</sub> to predict pCR were 83 % (15/18), 52 % (16/31), 50 % (15/30), and 84 % (16/19), respectively.

By univariate logistic analysis, tumor PET<sub>1</sub>.SUV<sub>max</sub> ( $P=0.03$ ), ΔSUV<sub>max</sub> if baseline SUV<sub>max</sub>≥3.7 ( $P=0.03$ ), tumor PET<sub>2</sub>.SUV<sub>max</sub> ( $P=0.001$ ), SBR grade ( $P=0.03$ ) and hormonal receptor status ( $P=0.04$ ) correlated with pCR (Table 4). By multivariate analysis, tumor PET<sub>2</sub>.SUV<sub>max</sub> was the best independent predictive factor of pCR: a decrease in SUV<sub>max</sub> below

**Table 2** Metabolic characteristics of the primary tumor according to the clinical and histopathological status

	TUMOR								
	Baseline SUV <sub>max</sub>			ΔSUV <sub>max</sub>			ΔTLG		
	N	mean ± S.D.	P	N	mean ± S.D.	P	N	mean ± S.D.	P
All patients	57	8.3±4.4		54	58.5±22.7		54	84.9±12.8	
Age (years)									
≤50	36	8.3±4.5	NS*	34	59.1±20.6	NS*	34	85.9±14.0	NS*
>50	21	8.2±4.2		20	57.5±26.5		20	83.3±10.6	
Tumor size									
≤5 cm	50	8.4±4.5	NS*	47	59.8±23.5	NS*	47	85.3±12.5	NS*
>5 cm	7	7.2±2.6		7	49.7±15.4		7	82.3±15.2	
Tumour Grading (SBR)									
I+II	26	7.5±4.0	0.05*	25	53.8±19.8	0.02*	26	87.9±10.4	NS*
III	28	9.4±4.6		26	64.0±22.7		25	83.0±12.7	
Number of mitosis									
I	14	7.3±4.9	0.001**	13	44.2±18.9	< 0.001**	13	77.1±12.2	0.02**
II	27	7.6±3.7		26	59.9±22.3		26	88.5±11.0	
III	11	12.1±3.8		10	76.6±9.4		10	88.8±8.1	
Estrogen receptor status									
Negative	18	7.9±3.5	NS*	16	57.6±26.8	NS*	16	78.9±15.7	NS*
Positive	39	8.4±4.7		38	58.8±28.2		38	87.5±10.6	
Progesterone receptor status									
Negative	29	8.7±4.7	NS*	27	58.7±25.7	NS*	27	85.1±13.9	NS*
Positive	28	7.8±4.0		27	58.2±19.8		27	84.8±11.9	
Hormonal receptor status									
Negative	15	8.0±3.9	NS*	13	57.3±28.9	NS*	13	80.9±16.7	NS*
Positive	42	8.4±4.5		41	58.8±20.8		41	86.2±11.2	

S.D. = Standard Deviation, NS = not significant, TLG = Total Lesion Glycolysis

\*Mann–Whitney test, \*\*Kruskal–Wallis test

Menopausal status, architectural differentiation and nuclear pleomorphism were not significantly correlated with tumor metabolic characteristics

2.1 after the first cycle of NAC had a high odds ratio of 14.3 (95 % CI=[2.3–90.9]; *P*=0.004).

We found no significant association between the various tumor volume parameters (MTV<sub>1</sub>, MTV<sub>2</sub>, ΔMTV, TLG<sub>1</sub>, TLG<sub>2</sub> or ΔTLG) and a pCR.

No correlation was found between axillary metabolic parameters and nodal or tumoral pCR.

## Discussion

Because alternative therapies are now available in HER2-positive tumors (e.g. association of an anti-angiogenic drug, dual anti-HER2 blockage, etc.), the early identification of women who do not respond to a trastuzumab/taxane regimen is an important clinical issue. Neoadjuvant chemotherapy allows the quantifiable in vivo assessment of tumor chemosensitivity and is an excellent setting for the translational evaluation of new predictive biomarkers of tumor response.

The interest of the present study is that it included a relatively large population of women with invasive HER2-positive ductal breast carcinoma whose tumor response to taxane and trastuzumab-based neoadjuvant chemotherapy was monitored early with <sup>18</sup>F-FDG PET/CT.

### Correlation between early metabolic parameters and pCR

The findings demonstrate that in this specific breast cancer subtype, tumor metabolic response after the first cycle of NAC correlated with pCR. Nonetheless, this correlation was strongly linked to the metabolic parameter studied.

A SUV<sub>max</sub> lower than 2.1 after the first cycle of NAC was the only independent predictor of pCR (*P*=0.004), with an accuracy of 76 %. Because HER2-positive cancers are highly sensitive to trastuzumab associated with chemotherapy, this threshold is very low, meaning a nearly complete metabolic response after the first course of NAC is required to predict pCR. A recent study by Groheux et al., which included 30 patients with the same subtype but a different PET timing

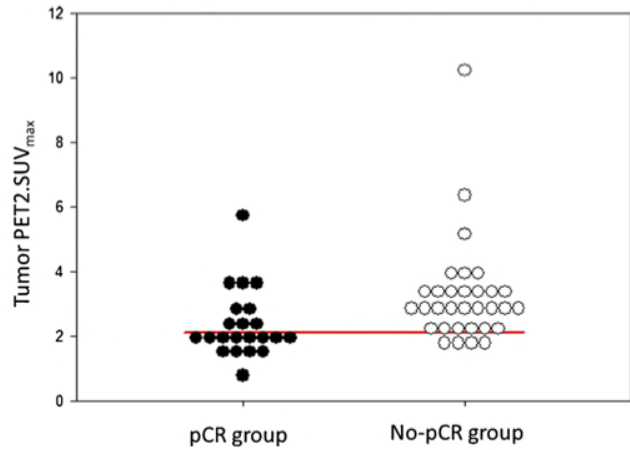
**Table 3** Tumor metabolic characteristics according to achievement of pCR

	N	Mean ± S.D.	P*
PET <sub>1</sub> -SUV <sub>max</sub>			
pCR	25	7.9±4.4	NS
no-pCR	32	8.6±4.4	
PET <sub>2</sub> -SUV <sub>max</sub>			
pCR	22	2.3±1.1	<b>0.003</b>
no-pCR	32	3.2±1.6	
ΔSUV <sub>max</sub>			
pCR	22	59.8±28.4	NS
no-pCR	32	57.5±18.3	
ΔSUV <sub>max</sub> if PET <sub>1</sub> -SUV <sub>max</sub> ≥3.7			
pCR	18	71.3±14.2	<b>0.02</b>
no-pCR	31	58.6±17.6	
TLG <sub>2</sub>			
pCR	22	3.2±3.3	NS
no-pCR	32	4.9±8.3	
ΔTLG			
pCR	22	86.6±12.7	NS
no-pCR	32	83.8±12.9	

S.D = Standard Deviation

\*Mann–Whitney test

(after two courses), also found that a low PET<sub>2</sub>-SUV<sub>max</sub> was the main determinant to predict pCR early, with an accuracy of



**Fig. 1** Distribution of absolute tumor PET<sub>2</sub>-SUV<sub>max</sub> for pCR and non-pCR women. The red line corresponds to the threshold of PET<sub>2</sub>-SUV<sub>max</sub>=2.1

90 % [17]. The predictive threshold in this study was higher (SUV<sub>max</sub>>3), but may be explained by a different neoadjuvant regimen, which introduced trastuzumab after four cycles of anthracycline-based chemotherapy.

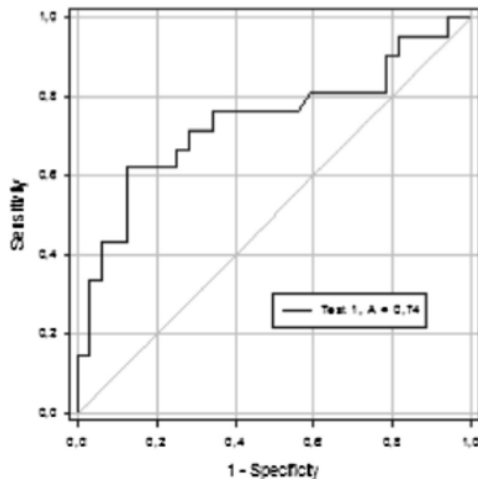
The predictive value of ΔSUV<sub>max</sub> is more conflicting among the few studies. Groheux et al. found an accuracy of 73 % to predict pCR, which is lower than that of PET<sub>2</sub>-SUV<sub>max</sub> [17], but equivalent to the findings of a preliminary study at our institution (76 %) [15]. A study by Koolen

**Table 4** Univariate and multivariate logistic analysis of significant predictive factors for pCR

	N	pCR			pCR		
		Univariate analysis			Multivariate analysis		
		OR	[95 % CI]	P value	OR	[95 % CI]	P value
PET <sub>2</sub> -SUV <sub>max</sub>							
≥2.1	37	1			1		
<2.1	17	10.1	[2.6–38.4]	<b>0.001</b>	14.3	[2.3–90.9]	<b>0.004</b>
Missing	3						
PET <sub>1</sub> -SUV <sub>max</sub> and ΔSUV <sub>max</sub>							
Hypermetabolic with ΔSUV <sub>max</sub> <65.5 %	24	1			1		
Hypermetabolic with ΔSUV <sub>max</sub> ≥65.5 %	25	4.1	[1.2–14.5]	<b>0.03</b>	0.9	[0.1–5.6]	NS
Low metabolic (PET <sub>1</sub> -SUV <sub>max</sub> <3.7)	5	15.2	[1.4–168.0]	<b>0.03</b>	13.7	[1.2–162.1]	<b>0.04</b>
Missing	3						
SBR							
I + II	26	1					
III	28	3.6	[1.2–11.4]	<b>0.03</b>			NS
Missing	3						
Hormonal status (ER + PR)							
Positive	42	1					NS
Negative	15	3.6	[1.0–12.5]	<b>0.04</b>			

OR = odds ratio; [95 % CI] = [95 % confidence interval]; NS = not significant

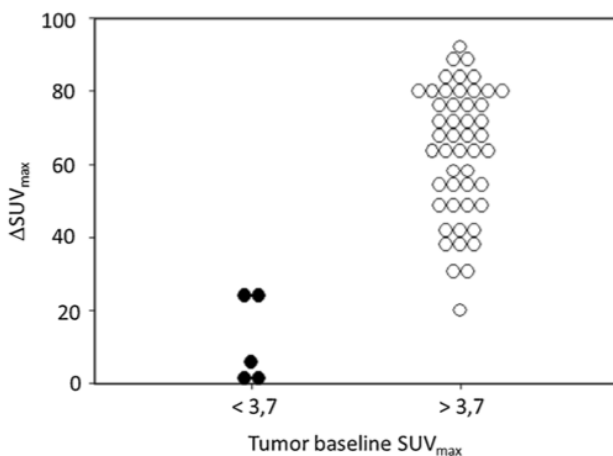
Tumor size and PET<sub>2</sub>-SUV<sub>max</sub> using either the mediastinal or hepatic uptakes as cut-offs were not significant factors in univariate analysis.



**Fig. 2** ROC curve analysis of PET<sub>2</sub>-SUV<sub>max</sub> for prediction of pCR. Area under curve=0.73±0.07; 95 % IC=[0.59–0.88]; *p*=0.004; threshold=2.1; sensitivity is 59 % (13/22), specificity is 88 % (28/32), positive predictive value is 76 % (13/17), negative predictive value is 76 % (28 / 37), and accuracy is 76 % (41/54)

et al., however, found that  $\Delta\text{SUV}_{\text{max}}$  evaluated after 3 or 8 weeks of treatment was not accurately associated with a pathological response [18]. Differences between results may be explained by the small numbers of patients, and different regimens and timing for the neoadjuvant treatment.

In the first analysis of the present study,  $\Delta\text{SUV}_{\text{max}}$  was not an appropriate metabolic parameter to predict histological response in the HER2+ subtype. Nonetheless, we observed that, although tumors with low baseline SUV<sub>max</sub> frequently reached pCR, their early metabolic response ( $\Delta\text{SUV}_{\text{max}}$ ) was always weak and therefore not accurate. This is due to the high impact of the breast background metabolic activity on  $\Delta\text{SUV}_{\text{max}}$  measurements in low-metabolism tumors. This finding is in keeping with previous studies suggesting that  $\Delta\text{SUV}_{\text{max}}$  only be evaluated in cases with a tumor-to-background ratio higher than 5 [22–24]. A statistically significant improvement in the classification of responses was



**Fig. 3** Distribution of  $\Delta\text{SUV}_{\text{max}}$  according to tumor PET<sub>1</sub>-SUV<sub>max</sub>

indeed obtained when the predictive value of  $\Delta\text{SUV}_{\text{max}}$  was assessed only in tumors with baseline  $\text{SUV}_{\text{max}} \geq 3.7$  (comparable to a tumor-to-background ratio  $\geq 5$  because of mean breast tissue SUV measured at 0.74). Similarly, according to the data reported by Groheux et al. [17], it appeared that none of the four low-metabolism tumors ( $\text{SUV}_{\text{max}} < 3.7$ ) reached the  $-62\%$  cutoff used in the study to predict pCR, even though it was finally achieved by three of them, demonstrating many false negative results. Therefore,  $\Delta\text{SUV}_{\text{max}}$  may be an early predictor of pCR, but caution is required when the response of tumors with low tumor-to-background  $\text{SUV}_{\text{max}}$  ratio is evaluated.

Among other PET parameters, the predictive value of early changes in the metabolic tumor volume was assessed, using the TLG. As previously suggested by a pilot study by Hatt et al., which included a small cohort of 12 women [25], this metabolic parameter was not found to correlate significantly with pCR in the HER2-positive subtype.

The use of intra-subject reference background SUV<sub>max</sub> (mediastinal or hepatic) to distinguish between tumors with a poor and those with a good response on interim PET is more robust than absolute SUV<sub>max</sub> cut-offs for multicenter settings, and is currently applied in the prognostic stratification of lymphoma [26]. Nevertheless, no predictive value of these thresholds has been found on PET2.

#### Metabolic characteristics of tumors and lymph nodes according to the clinical and histopathological status

In this HER2-positive subtype, only a higher mitotic activity correlated with both higher baseline tumor metabolism and a greater early decrease in metabolism. These findings corroborate our previous results in a general population of breast cancers [15]. Hormone receptor (HR) status is a major driver of breast cancer clinical phenotype and tumor features, even among HER2-positive patients [10, 11, 27]. The pathological response of tumors to HER2-directed neoadjuvant regimen differs according to ER expression, and a study of Von Minckwitz et al. has reported pCR not to be a prognostic marker in HER2+/HR+ breast cancers [10]. Surprisingly, no significant difference was found in the metabolic behavior of HER2+/HR+ and HER2+/RH- primary tumors, thus confirming the results of Groheux et al. in a smaller cohort of patients [17].

The metabolism of synchronous axillary nodes raises an interesting point: both the baseline metabolism (SUV<sub>1</sub>) and the early metabolic decrease ( $\Delta\text{SUV}$ ) were greater in HER2+/HR- lymph nodes. To our knowledge, this is the first study to evaluate the metabolism of axillary lymph nodes according to the HR status in HER2+ tumors. Several hypotheses could explain these differences. Firstly, breast cancer is a heterogeneous tumor made up of different cell clones [28] that derive from genetic instability acquired by cancer cells during the

multi-step process of tumor progression [29]. The few cells that acquire metastatic behavior and present in the involved nodes may have higher proliferation and apoptosis rates in the HER2+/HR- subtype than in the HER2+/HR+ subtype, thus explaining their higher metabolism. Secondly, crosstalk between the ER and HER2 pathways has been shown to play a role in both intrinsic and acquired resistance to endocrine agents and HER2-directed agents in previous studies [30]. Vaz-Luis et al. found a 49 % discordance rate of one of the markers (ER, PR, HER2 status) between HER2-positive primary tumors and metastatic samples, including a switch from HER2-positive to HER2-negative in 17 % of cases [11]. Even though this discordance may be lower between primary and synchronous axillary nodes, the down-regulation of HER2 overexpression in lymph nodes could explain the higher metabolic activity usually observed in the triple-negative subtype [15, 31]. The expression pattern of markers involved in cell proliferation, differentiation and apoptosis in primary and synchronous axillary node metastasis should be compared in the HER2-positive subtype to confirm or rule out these hypotheses.

#### Limitations of the study

Our study has some limitations. Firstly, only static SUV measurements were performed, while kinetic analysis may present advantages for response assessment [32]. Secondly, due to the small number of women included, we cannot draw any definitive conclusions about the predictive value of PET with an additional stratification of the HER2 subtype into ER-positive and ER-negative tumors. Moreover, the best metabolic surrogate marker of pCR and the optimal threshold may still differ from one single-center trial with small subgroups of patients to another. There is now a crucial need for multicenter prospective trials. One was recently performed (Neo-ALTTO) to determine the value of  $^{18}\text{F}$ -FDG PET for the early prediction of response to neoadjuvant lapatinib and trastuzumab, without associated chemotherapy [33]. The results are encouraging:  $\Delta\text{SUV}_{\text{max}}$  was significantly higher in patients who achieved a pCR. Because there had been no prior PET harmonization program, absolute  $\text{SUV}_{\text{max}}$  were not comparable among cameras and therefore not evaluated. Indeed, the absolute  $\text{SUV}_{\text{max}}$  measurements can be affected by the use of different PET systems which is currently a limitation for its use as an imaging biomarker in multicentric studies. In contrast,  $\Delta\text{SUV}$  (%) is more reproducible and reliable when data from various scanners with strict intra-subject standardization are analyzed. Guidelines for the Standardization of PET imaging systems have recently been issued and should be applied in multicenter trials using  $^{18}\text{F}$ -FDG PET as an imaging biomarker to improve the reproducibility of  $\text{SUV}_{\text{max}}$  measurements in the future [34, 35].

#### Conclusion

Because alternative therapies are now available in HER2-positive tumors, the early identification of responding and non-responding women is an important clinical issue. The metabolic response after the first cycle of NAC, assessed with  $^{18}\text{F}$ -FDG-PET, is predictive of the final histological response. Clinical trial now needed to determine whether tailoring early the neoadjuvant drug regimen to the metabolic response could improve the pCR rate in non-responding women and induce a survival benefit.

**Acknowledgments** This study is part of the PharmImage® project. We thank Mr Bastable for proof-reading the text.

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

#### References

1. Gralow JR, Burstein HJ, Wood W, Hortobagyi GN, Gianni L, von MG, et al. Preoperative therapy in invasive breast cancer: pathologic assessment and systemic therapy issues in operable disease. *J Clin Oncol.* 2008;26:814–9.
2. Fisher B, Brown A, Mamounas E, Wieand S, Robidoux A, Margolese RG, et al. Effect of preoperative chemotherapy on local-regional disease in women with operable breast cancer: findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18. *J Clin Oncol.* 1997;15:2483–93.
3. Mauri D, Pavlidis N, Ioannidis JP. Neoadjuvant versus adjuvant systemic treatment in breast cancer: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst.* 2005;97:188–94.
4. Kuerer HM, Newman LA, Smith TL, Ames FC, Hunt KK, Dhingra K, et al. Clinical course of breast cancer patients with complete pathologic primary tumor and axillary lymph node response to doxorubicin-based neoadjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol.* 1999;17:460–9.
5. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de RM, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature.* 2000;406:747–52.
6. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98:10869–74.
7. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100:8418–23.
8. Buzdar AU, Ibrahim NK, Francis D, Booser DJ, Thomas ES, Theriault RL, et al. Significantly higher pathologic complete remission rate after neoadjuvant therapy with trastuzumab, paclitaxel, and epirubicin chemotherapy: results of a randomized trial in human epidermal growth factor receptor 2-positive operable breast cancer. *J Clin Oncol.* 2005;23:3676–85.
9. Gianni L, Eiermann W, Semiglazov V, Manikhas A, Lluch A, Tjulandin S, et al. Neoadjuvant chemotherapy with trastuzumab followed by adjuvant trastuzumab versus neoadjuvant chemotherapy alone, in patients with HER2-positive locally advanced breast cancer (the NOAH trial): a randomised controlled superiority trial with a parallel HER2-negative cohort. *Lancet.* 2010;375:377–84.

10. von MG, Untch M, Blohmer JU, Costa SD, Eidtmann H, Fasching PA, et al. Definition and impact of pathologic complete response on prognosis after neoadjuvant chemotherapy in various intrinsic breast cancer subtypes. *J Clin Oncol.* 2012;30:1796–804.
11. Vaz-Luis I, Ottesen RA, Hughes ME, Marcom PK, Moy B, Rugo HS, et al. Impact of hormone receptor status on patterns of recurrence and clinical outcomes among patients with human epidermal growth factor-2-positive breast cancer in the National Comprehensive Cancer Network: a prospective cohort study. *Breast Cancer Res.* 2012;14:R129.
12. Berriolo-Riedinger A, Touzery C, Riedinger JM, Toubeau M, Coudert B, Arnould L, et al. [18F]FDG-PET predicts complete pathological response of breast cancer to neoadjuvant chemotherapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2007;34:1915–24.
13. Schwarz-Dose J, Untch M, Tiling R, Sassen S, Mahner S, Kahlert S, et al. Monitoring primary systemic therapy of large and locally advanced breast cancer by using sequential positron emission tomography imaging with [18F]fluorodeoxyglucose. *J Clin Oncol.* 2009;27:535–41.
14. Rousseau C, Devillers A, Sagan C, Ferrer L, Bridji B, Champion L, et al. Monitoring of early response to neoadjuvant chemotherapy in stage II and III breast cancer by [18F]fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *J Clin Oncol.* 2006;24:5366–72.
15. Humbert O, Berriolo-Riedinger A, Riedinger JM, Coudert B, Arnould L, Cochet A, et al. Changes in 18F-FDG tumor metabolism after a first course of neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: influence of tumor subtypes. *Ann Oncol.* 2012;23:2572–7.
16. Koolen BB, Pengel KE, Wesseling J, Vogel WV, Vrancken Peeters MJ, Vincent AD, et al. FDG PET/CT during neoadjuvant chemotherapy may predict response in ER-positive/HER2-negative and triple negative, but not in HER2-positive breast cancer. *Breast.* 2013;22:691–7.
17. Groheux D, Giacchetti S, Hatt M, Marty M, Vercellino L, de RA, et al. HER2-overexpressing breast cancer: FDG uptake after two cycles of chemotherapy predicts the outcome of neoadjuvant treatment. *Br J Cancer.* 2013;109:1157–64.
18. Koolen BB, Pengel KE, Wesseling J, Vogel WV, Vrancken Peeters MJ, Vincent AD, et al. Sequential (18)F-FDG PET/CT for early prediction of complete pathological response in breast and axilla during neoadjuvant chemotherapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2014;41:32–40.
19. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. C. W. Elston & I. O. Ellis. *Histopathology.* 1991; 19; 403–410. *Histopathology.* 2002; 41:151–2, discussion.
20. Zafrani B, Aubriot MH, Mouret E, De CP, De RY, Nicolas A, et al. High sensitivity and specificity of immunohistochemistry for the detection of hormone receptors in breast carcinoma: comparison with biochemical determination in a prospective study of 793 cases. *Histopathology.* 2000;37:536–45.
21. Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, et al. American society of clinical oncology/college of American pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol.* 2007;25:118–45.
22. Erdi YE, Mawlawi O, Larson SM, Imbriaco M, Yeung H, Finn R, et al. Segmentation of lung lesion volume by adaptive positron emission tomography image thresholding. *Cancer.* 1997;80:2505–9.
23. McDermott GM, Welch A, Staff RT, Gilbert FJ, Schweiger L, Semple SI, et al. Monitoring primary breast cancer throughout chemotherapy using FDG-PET. *Breast Cancer Res Treat.* 2007;102:75–84.
24. Doot RK, Dunnwald LK, Schubert EK, Muzi M, Peterson LM, Kinahan PE, et al. Dynamic and static approaches to quantifying 18F-FDG uptake for measuring cancer response to therapy, including the effect of granulocyte CSF. *J Nucl Med.* 2007;48:920–5.
25. Hatt M, Groheux D, Martineau A, Espie M, Hindie E, Giacchetti S, et al. Comparison between 18F-FDG PET image-derived indices for early prediction of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *J Nucl Med.* 2013;54:341–9.
26. Barrington SF, Qian W, Somer EJ, Franceschetto A, Bagni B, Brun E, et al. Concordance between four European centres of PET reporting criteria designed for use in multicentre trials in Hodgkin lymphoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2010;37:1824–33.
27. Perez EA, Suman VJ, Davidson NE, Gralow JR, Kaufman PA, Visscher DW, et al. Sequential versus concurrent trastuzumab in adjuvant chemotherapy for breast cancer. *J Clin Oncol.* 2011;29:4491–7.
28. Heim S, Teixeira MR, Dietrich CU, Pandis N. Cytogenetic polyclonality in tumors of the breast. *Cancer Genet Cytogenet.* 1997;95:16–9.
29. Teixeira MR, Pandis N, Bardi G, Andersen JA, Heim S. Karyotypic comparisons of multiple tumorous and macroscopically normal surrounding tissue samples from patients with breast cancer. *Cancer Res.* 1996;56:855–9.
30. Gluck S, Arteaga CL, Osborne CK. Optimizing chemotherapy-free survival for the ER/HER2-positive metastatic breast cancer patient. *Clin Cancer Res.* 2011;17:5559–61.
31. Groheux D, Giacchetti S, Moretti JL, Porcher R, Espie M, Lehmann-Che J, et al. Correlation of high (18)F-FDG uptake to clinical, pathological and biological prognostic factors in breast cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2011;38:426–35.
32. Dunnwald LK, Doot RK, Specht JM, Gralow JR, Ellis GK, Livingston RB, et al. PET tumor metabolism in locally advanced breast cancer patients undergoing neoadjuvant chemotherapy: value of static versus kinetic measures of fluorodeoxyglucose uptake. *Clin Cancer Res.* 2011;17:2400–9.
33. Gebhart G, Gamez C, Holmes E, Robles J, Garcia C, Cortes M, et al. 18F-FDG PET/CT for early prediction of response to neoadjuvant lapatinib, trastuzumab, and their combination in HER2-positive breast cancer: results from Neo-ALTTO. *J Nucl Med.* 2013. doi:10.2967/112.119271.
34. Boellaard R. Standards for PET image acquisition and quantitative data analysis. *J Nucl Med.* 2009;50 Suppl 1:11S–20S.
35. Boellaard R. Need for standardization of 18F-FDG PET/CT for treatment response assessments. *J Nucl Med.* 2011;52 Suppl 2: 93S–100S.



## **5. Perfusion et métabolisme du cancer du sein triple négatif**

### **5.1. Introduction**

Le phénotype triple négatif représente 15% des cancers du sein. Il s'agit actuellement du phénotype le plus problématique pour la prise en charge des patientes : son pronostic est sombre du fait de son comportement clinique et biologique agressif, mais également de l'absence de cible moléculaire spécifique pour ce sous-type. Il n'y a en effet actuellement aucune thérapie ciblée ayant montré une efficacité supérieure à celle des chimiothérapies cytotoxiques conventionnelles.

Plusieurs études ont montré que, pour ces patientes, la pCR en fin de traitement neoadjuvant est un objectif clinique majeur, car elle est fortement corrélée à la survie.

L'objectif de l'étude présentée dans ce chapitre a été d'identifier, parmi un panel de biomarqueurs cliniques, biologiques, histologiques et d'imagerie fonctionnelle, ceux pouvant être le plus utile aux cliniciens pour rapidement identifier les patientes présentant une tumeur résistante à la chimiothérapie néo-adjuvante, et donc avec une faible probabilité de pCR à la fin du traitement.

Il s'agit d'un phénotype très hétérogène, pour lequel différentes entités génomiques ont été identifiées. Même si ces entités sont encore peu utilisées en routine clinique pour le choix de la chimiothérapie, il est probable que dans les années à venir, la signature génomique des tumeurs triple négatives soit utilisée pour décider du choix de thérapies ciblant spécifiquement une voie de l'oncogenèse de la cellule.

Parmi les biomarqueurs biologiques, nous avons étudié, entre autres, l'expression tumorale d'EGFR et des cyto-kératines 4 et 5 (immunohistochimie) afin de différencier les tumeurs TN de type basal-like, dont le pronostic est particulièrement péjoratif, du phénotype non-basal-like.

Parmi les biomarqueurs d'imagerie TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG, nous avons étudié les modifications précoces du métabolisme glucidique tumoral après la première cure de chimiothérapie, mais également les modifications précoces de la perfusion tumorale : une acquisition dynamique réalisée immédiatement après l'injection du bolus intraveineux de  $^{18}\text{F}$ -FDG a permis de mesurer le premier passage artériel et tumoral du  $^{18}\text{F}$ -FDG, et ainsi d'estimer le flux sanguin tumoral par le méthode de Mullani (chapitre II, paragraphe 2.5.2).

## 5.2. Article 4

### Identification of biomarkers for early prediction of response to neoadjuvant chemotherapy in Triple Negative Breast Cancer, including <sup>18</sup>FDG-PET/CT

Olivier Humbert<sup>1,6</sup>; Jean-Marc Riedinger<sup>1,2</sup>; Céline Charon-Barra<sup>2</sup>; Alina Berriolo-Riedinger<sup>1</sup>; Isabelle Desmoulins<sup>3</sup>; Bruno Coudert<sup>3</sup>; Salim Kanoun<sup>1,5,6</sup>; Charles Coutant<sup>4</sup>; Pierre Fumoleau<sup>3</sup>; Alexandre Cochet<sup>1,6</sup>, François Brunotte<sup>1,5,6</sup>.

<sup>1</sup> Department of Nuclear Medicine, Centre GF Leclerc, Dijon, France;

<sup>2</sup> Departments of Biology and Pathology, Centre GF Leclerc, Dijon, France;

<sup>3</sup> Department of Medical Oncology, Centre GF Leclerc, Dijon, France;

<sup>4</sup> Department of Surgery, Centre GF Leclerc, Dijon, France;

<sup>5</sup> Imaging Department, CHU Le Bocage, Dijon, France;

<sup>6</sup> Université de Bourgogne, UMR CNRS 6306, Dijon, France.

Corresponding author:

Dr. Olivier Humbert

Centre GF Leclerc, 1 rue du Pr Marion, 21000 Dijon, France,

Telephone: +33-3-80737522

Fax: +33-3-80737732

Email: ohumbert@cgfl.fr

Keys words: breast cancer, neoadjuvant chemotherapy, FDG PET, Triple negative, response, monitoring.

## **ABSTRACT**

**Purpose:** To investigate the value of metabolic and perfusion parameters, derived from <sup>18</sup>F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography (FDG-PET) exams, to predict pathological complete response (pCR) to neoadjuvant chemotherapy (NAC) in women with triple negative breast cancer (TNBC), compared to clinico-biological markers.

**Material and methods:** Fifty consecutive women with TNBC and indication of NAC were prospectively included. Different pre-treatment clinical, biological and pathological biomarkers were assessed, including SBR grade, Ki-67 proliferation index, androgen receptor, epidermal growth factor receptor (EGFR) and cytokeratins 5/6. Tumor glucidic metabolism at baseline and change after the first cycle of NAC ( $\Delta$ SUV) were assessed using FDG-PET. Changes in blood flow ( $\Delta$ BF) were measured with FDG-PET using a dynamic first-pass model.

**Results:** the pCR rate was 42%. In univariate analysis, high Ki-67 proliferation index ( $p=0.03$ ), negative EGFR status ( $p=0.04$ ), tumor  $\Delta$ BF ( $p=0.02$ ) and  $\Delta$ SUV ( $p=0.001$ ) were predictive factors of pCR. Tumor  $\Delta$ SUV was the most accurate biomarker to predict pCR (threshold=-60%; PPV=80.0%; NPV=75.9%; accuracy=77.3%). In multivariate analysis, both negative EGFR status (Odds ratio=9.3;  $p=0.034$ ) and high  $\Delta$ SUV (Odds ratio=6.8;  $p=0.049$ ) were independent predictive factors of pCR. Combining these two parameters could predict non-pCR with an accuracy of 92%.

### **Conclusion:**

To early define TNBC chemo-sensitivity to NAC is an important issue. Both negative EGFR status and early good metabolic response, assessed with FDG-PET can help the physician to early identify a sub-group of tumor with higher probability of achieving pCR. Based on these results, multicentric trials using FDG-PET for response-guided neoadjuvant chemotherapy in TNBC are needed.

## **INTRODUCTION**

Although neoadjuvant chemotherapy (NAC) does not improve survival when compared with adjuvant chemotherapy [268], it is increasingly used in operable breast cancer in order to downstage the breast tumor and to make breast conserving surgery possible [67, 269].

Breast cancer includes several molecular entities that differ in their clinical behavior, biological characteristics and outcomes [7, 9]. Triple Negative breast cancer (TNBC) account for roughly 15% of breast tumors [23, 270] and are defined by the absence of hormonal receptor expression and no overexpression of HER2 [25]. This subtype is characterized by its higher aggressiveness and poorer outcome compared to the other subtypes [23], but also by its high responsiveness to neoadjuvant chemotherapy, called the “triple negative paradoxe” [76, 77]. Indeed, a complete pathological response (pCR) is often reached at the end of NAC and is associated with more favorable long-term outcome: women that did not achieve it have higher risk of relapse and reduced overall survival [61, 77, 271]. It explains why pCR is often used as an important endpoint in the treatment of TNBC. One other important characteristic of TNBC is the diversity within this subgroup, including distinct molecular subtypes. Despite a clear need of therapeutic options for women with TNBC tumors, their heterogeneity and absence of high-frequency molecular alterations have limited the development of target therapies [270]. Identification of clinical, biological or imaging biomarkers in regard to therapeutic response is thus important. The aim is not only to predict the better outcomes in women with responsive TNBC, but also to avoid the use of an ineffective treatment in non-responding women and to give them a better chance with an alternative therapy.

Fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography ( $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT) is the gold standard for in vivo evaluation of tumor glucose metabolism. Studies regarding the use of PET/CT to monitor early tumor response to NAC have shown promising results in predicting the final pCR, all tumors subtypes included [253-255]. But few studies have evaluated the relevance of metabolic response to predict pCR in the specific TNBC subtype.

The purpose of this prospective trial was to investigate the value of the metabolic and perfusion tumor parameters, assessed at baseline and after first cycle of treatment with dynamic FDG-PET studies, to early predict pCR, and to compare them with biological pre-treatment markers.

## **MATERIALS AND METHODS**

### **Patients and study design**

From November 2006 to March 2013, 240 women referred to our institution (Centre Georges-François Leclerc, Dijon, France) because of clinical stage II or III invasive breast cancer with an indication for NAC were consecutively and prospectively evaluated in this study. Only women with TNBC were included in the present study. Patients with high glycaemia (>9 mmol/l), unwilling to undergo the 2 Pet exams or with suspicion of metastasis on baseline FDG-PET were excluded. The institutional review board approved this prospective study. Women gave their informed consent.

Women benefited of rule-based NAC: Most of them underwent sequential NAC with anthracyclines (FEC100: FU 500mg/m<sup>2</sup>, epirubicine 100mg/m<sup>2</sup>, cyclophosphamide 500mg/m<sup>2</sup>/q3w, 3 courses) and taxanes (docetaxel 75mg/m<sup>2</sup>/q3w, 3 courses). Some of them (n=9), included at the beginning of the study, underwent continuous NAC with 6 cycles of anthracyclines (FEC100).

About one month after the last course of NAC, the tumors were surgically removed and pCR was defined as no residual invasive cancer in the breast and nodes, though in-situ breast residuals were allowed (ypT0/is ypN0) [271]. pCR was the endpoint of the study and the end of the follow-up period. This study adheres to the REMARK criteria [272].

### **Histopathological analysis**

Pre-treatment core biopsies from the primary tumor were used to determine the histological type, tumor grade [4], architectural differentiation, nuclear polymorphism and rate of mitosis. Immunohistochemical (IHC) analysis reported in this study was carried out in a single laboratory. The molecular markers examined included estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), HER2 expression, Ki-67 proliferation index, androgen receptor (AR), epidermal growth factor receptor (EGFR) and cytokeratines (CK) 5/6 tumor expression.

Tumor samples were fixed on buffered formalin, embedded in paraffin and cut with a microtome. Immunohistochemistry was performed with an indirect immunoperoxidase method using antibodies directed against HER2 oncoprotein, ER and PR (HER2: rabbit monoclonal prediluted antibody 4B5; ER: rabbit monoclonal prediluted antibody SP1; PR: rabbit monoclonal prediluted antibody 1E2, Ventana Tucson, AZ, USA), AR, Ki-67,

EGFR and CK 5/6. All immunostainings were performed on an automated immunostainer (Ventana XT, Tucson, AZ, USA). ER and PR status were considered positive if the tumor showed at least 10% of positive cells [273]. HER2 status was graded according to the HercepTest scoring system modified by ASCO/CAP recommendations (0, 1+, 2+ or 3+) [274]. Scores of 3+ were considered positive. In case of 2+ scores, fluorescent in situ hybridization (FISH) was used to confirm HER2 amplification, using the dual color HER2 and CEN17 probes (ZytoLight, SPEC HER2/CEN17 Dual Color Prob Kit, Zytovision GmbH, Bremerhaven, Germany). HER2 amplification was defined, according to ASCO/CAP criteria, by a ratio of HER2/CEN17 > 2.2 [274]. AR status was considered positive if the tumor showed at least 10% of positive cells. No cut-off is currently recommended for the definition of EGFR and CK5/6 positivity. Based on previous studies, tumors with no or faint membrane staining ( $\leq 5\%$ ) were considered negative for EGFR and CK5/6 [275-277]. Basal-like subtype was defined as EGFR and/or CK5/6 positive [28]; the other ones were considered as non-basal-like TNBC. Finally, the index of cellular proliferation was studied, using Ki-67 tumor expression. For Ki-67 tumor expression, consensus is not yet apparent in the optimal threshold to separate 2 subgroups of TNBC. Based on a ROC analysis, a threshold of 70% was used to distinguish tumor with low (<70%) and high ( $\geq 70\%$ ) proliferation fraction.

### **FDG-PET/CT procedures**

A first FDG-PET/CT study was performed at baseline. Two different PET/CT imaging systems were used: a Gemini GXL PET/CT scanner from November 2006 to December 2010 and a Gemini TF PET/CT scanner from December 2010 to March 2013 (Philips Medical Systems, Eindhoven, The Netherlands). Patients were instructed to fast for at least 6 hours before the intravenous injection of 5 MBq/kg of  $^{18}\text{F}$ -FDG for Gemini GXL studies and 3 MBq/kg for Gemini TF studies. Patients were asked to rest. Sixty minutes after injection, a whole-body PET/CT scan was acquired from the brain to the mid-thigh, with the patient supine. Finally, 90 min after injection, a PET/CT scan restricted to the chest (2 bed positions) with patients in the prone position, both arms raised, was acquired. Emission data were all corrected for dead time, random and scatter coincidences and attenuation before reconstruction with the RAMLA iterative method.

A second FDG-PET/CT study was performed just before the second course of NAC with a chest-restricted acquisition done 90 minutes after the injection. For each patient, the same imaging system, FDG activity and time from injection to acquisition were used for

both studies.

From February 2009, an early dynamic first-pass acquisition was added to the standard acquisition procedure previously mentioned in order to measure tumor blood flow (BF). FDG was injected using an automatic PET infusion system (Intego; Medrad) at a rate of 1 mL/s, followed by a 30-mL injection of saline solution. Simultaneously with the injection, the first emission acquisition was started in list mode for 8 min, with the breast centered in the axial field of view of the PET system. A low-dose CT scan of the same region was then obtained. A reconstruction of 5-seconds frames was extracted from the first 2 min of the acquisition (dynamic first-pass images).

#### *First-Pass Model for Measurement of tumor blood flow*

The concept and method of measuring tumor blood flow from the first pass of FDG has been explained in a previous paper of our institution [171]. Briefly, it is based on the first-pass model of Mullani et al. [168, 278] hypothesizing that 1) during the first transit of a bolus of activity through the tumor, there exists an early period during which the venous concentration of the tracer can be considered as zero. 2) the extraction fraction of FDG in tumor tissue is close to the extraction fraction for the gold standard tracer  $^{15}\text{O}$ -water and thus close to 1. 3) so as to minimize the error in flow measurement due to the statistical quality of the data the numerator and the denominator are determined at their maximum values: this peak count time ( $T_m$ ) was determined visually on the arterial time–activity curve and defined as the end of the first pass of the tracer in the arterial volume of interest (VOI) drawn inside the ascending aorta. A VOI encompassing the primary tumor was also manually drawn on the chest-restricted acquisitions.

Tumor BF at baseline ( $\text{BF}_1$ ) and after the 1<sup>st</sup> cycle of NAC ( $\text{BF}_2$ ) were then calculated in mL/min/g of tumor, using the following equation:

$$\text{BF} = \frac{Q(T_m)}{\int_0^{T_m} \text{Ca}(t)dt}$$

Where BF is the blood flow in the tumor,  $Q(T_m)$  is the amount of the tracer in tumor tissue at time  $T_m$ ,  $\text{Ca}(t)$  is the arterial concentration of the tracer at time  $t$ .

The tumor time-activity curve was corrected for partial volume effect and background activity as detailed in a previous study of Cochet et al. [171].

The tumor blood flow response to NAC was calculated:

$$\Delta BF (\%) = 100 \times (BF_2 - BF_1) / BF_1$$

#### Tumor Glucidic metabolism measurements

A spheroidal VOI encompassing the primary tumor was manually drawn on the chest-restricted acquisitions performed at 90min after tracer injection, to measure the Standardized Uptake Value maximal index (SUV) at baseline (SUV<sub>1</sub>) and after the first course of NAC (SUV<sub>2</sub>). Measured SUV were systematically corrected for body surface area (BSA) and glycemia, as detailed in our previous studies [267].

The metabolic response to NAC was calculated as followed:

$$\Delta SUV (\%) = 100 \times (SUV_2 - SUV_1) / SUV_1$$

Finally, the tumor flow-metabolism mismatch at baseline was calculated as the ratio between BF<sub>1</sub> and SUV<sub>1</sub>.

#### Statistical analysis

Statistical analysis was performed with the use of WinSTAT software (Microsoft, Redmond, Washington, USA) and Systat software (Systat Inc, Evanston, IL). Data were described by frequency (percentage) or mean and standard deviation (SD).

Correlations between metabolic tumor parameters and the different clinico-pathological and molecular variables were assessed with either the Mann-Whitney or the Kruskal-Wallis test.

For continuous variables, their link with the achievement of pCR was compared with the Mann-Whitney test. For continuous variables significantly correlated with pCR ( $p < 0.05$ ), Receivers operating characteristic curves (ROC) were then used to define the optimal threshold for the prediction of pCR (Ki-67, SUV<sub>2</sub>,  $\Delta SUV$ , BF<sub>2</sub> and  $\Delta BF$ ).

Univariate analyses of the different clinical, pathological, molecular and functional imaging parameters to predict pCR were performed using a logistic regression model.

Multivariate analyses with backward variable selection were done to identify prognostic variables of independent statistical significance. Among the different significant imaging parameters predictive of pCR in the univariate analysis, only the most predictive one ( $\Delta SUV$ ), was selected in the multivariate analysis. P values  $< 0.05$  were considered



significant in all tests.

## **RESULTS**

### **Patients' characteristics (table 12).**

Among the 240 women evaluated, 56 (23%) were identified as TNBC. Two of them were excluded because of technical problem during baseline PET and four of them because NAC was no longer indicated after the first PET exam (obvious stage IV upstaging). In the remaining 50 patients included, six missed the second PET exams because of problems with the equipment or because they declined this second exam. The median age was 47 years (range 26-70 years). Eighteen women (36%) were postmenopausal. All tumors were invasive ductal carcinoma. Mean Ki-67 tumor expression was  $67 \pm 18\%$ . AR, EGFR and CK5/6 tumor expression were positive in 17% (8/46), 44% (20/46) and 74% (34/46) of tumors, respectively. The basal-like subtype represented 85% of tumors.

Mean tumor  $SUV_1$  ( $\pm$  SD) was  $13.4 \pm 7.6$ . Mean lymph node  $SUV_1$  was  $7.1 \pm 5.0$ . After the first cycle of NAC, mean tumor  $SUV_2$  was  $6.9 \pm 4.1$ . Mean tumor  $\Delta SUV$  was  $-43.7 \pm 25.4\%$ . Mean tumor  $BF_1$ ,  $BF_2$  and  $\Delta BF$  ( $\pm$  SD) were  $0.38 \pm 0.20$   $ml \cdot min^{-1} \cdot g^{-1}$ ,  $0.28 \pm 0.21$   $ml \cdot min^{-1} \cdot g^{-1}$  and  $-19.4 \pm 91.9\%$ , respectively.

NAC regimens are detailed in table 12. Conservative surgery was performed in 74% (37/50) of women. The pCR rate was 42% (21/50).

### **Correlation between clinical/histopathological parameters and FDG-PET features (table 13).**

Higher tumor grading and tumor architectural differentiation were associated with higher tumor  $SUV_1$  (respectively  $p=0.003$  and  $p=0.03$ ).

Tumor with no AR expression trended to have higher  $SUV_1$ , but this difference was not significant ( $SUV_1 = 14.3 \pm 8.0$  in AR negative tumors vs  $9.9 \pm 6.6$  in positive ones,  $p=0.09$ ).

Using a threshold of 70%, higher Ki-67 proliferation index was not associated with baseline tumor FDG uptake but was associated with higher metabolic response ( $\Delta SUV = -53.8 \pm 25.8\%$  in highly proliferative tumors vs  $-30.9 \pm 22.3\%$  in low proliferative ones,  $p=0.003$ ).

Tumor blood flow at baseline or changes after the first cycle of NAC were not correlated with tumor biological features.

**Correlation between pCR and tumor clinico-pathological, biological and imaging biomarkers (tables 14 and 15).**

Among continuous variables, using the Mann-Whitney test, high Ki-67 tumor expression ( $p=0.016$ ), high  $\Delta\text{SUV}$  ( $p=0.0004$ ), low  $\text{BF}_2$  ( $p=0.02$ ), high  $\Delta\text{BF}$  ( $p=0.03$ ), were significantly correlated with pCR (table 14). ROC analysis were used to define optimal predictive thresholds for these continuous variables. The tumor flow-metabolism mismatch ( $\text{BF}_1/\text{SUV}_1$ ) was not correlated with pCR.

By univariate logistic analysis, high Ki-67 tumor expression (optimal threshold = 70%;  $p=0.028$ ), Negative EGFR status ( $p=0.042$ ), high  $\Delta\text{SUV}$  (optimal threshold = -60%;  $p=0.001$ ), low tumor  $\text{SUV}_2$  (optimal threshold = 7;  $p=0.013$ ), low tumor  $\text{BF}_2$  (optimal threshold = 0.2 ml/gr/min;  $p=0.048$ ) and high tumor  $\Delta\text{BF}$  (optimal threshold = -50%;  $p=0.022$ ), correlated with pCR (table 15).

The most accurate biomarker to predict pathological response was tumor  $\Delta\text{SUV}$ : mean  $\Delta\text{SUV}$  was  $-58.7 \pm 19.5\%$  in women achieving pCR and  $-32.2 \pm 23.6\%$  in those without pCR ( $p=0.0004$ ). ROC analyses were performed for  $\Delta\text{SUV}$  to predict pCR: the area under curves (AUC) was 0.81 (95% confidence interval (CI) [0.68-0.94];  $p=0.0004$ ) (figure 45). With an optimal cut-off determined at -60%, the negative predictive value (NPV), positive predictive value (PPV), sensibility, specificity and accuracy of a high  $\Delta\text{SUV}$  to predict pCR were 76% , 80%, 63%, 88% and 77%, respectively.

In comparison, the AUC of Ki-67,  $\text{SUV}_2$ ,  $\text{BF}_2$ ,  $\Delta\text{BF}$  were 0.71 (95% CI= [0.56-0.87];  $p=0.018$ ), 0.65 (95% CI= [0.48-0.82];  $p=0.09$ ), 0.75 (95% CI= [0.56-0.94];  $p=0.022$ ) and 0.73 (95% CI= [0.54-0.92];  $p=0.03$ ), respectively (figure 46).

By multivariate analysis, EGFR status was the strongest independent predictive factor of pCR: negative EGFR tumor expression had a high odds ratio of 9.4 (95% CI= [1.2-76.9];  $P=0.032$ ).  $\Delta\text{SUV}$  was also an independent predictive factor of pCR but with lower significance than in univariate analysis (OR=6.8; 95% CI= [1.01-45.5];  $P=0.049$ ). Ki-67 tumor expression was not an independent biomarker.

Neither patient's age, menopausal status, tumor size, UICC staging, lymph node involvement, tumor inflammation, tumor histological grading, CA15.3 values, ACE values, nor tumor baseline metabolism and blood flow showed any correlation with the pCR rate.

Combining a low metabolic response ( $\Delta\text{SUV} \leq -60\%$ ) with negative EGFR status, offers the opportunity to predict non-pCR with an accuracy of 92% (12 women with non-pCR over a total of 13 women). Conversely, the association of a good metabolic response and tumor positive EGFR status predicts pCR with an accuracy of 88% (8 over 9 women).

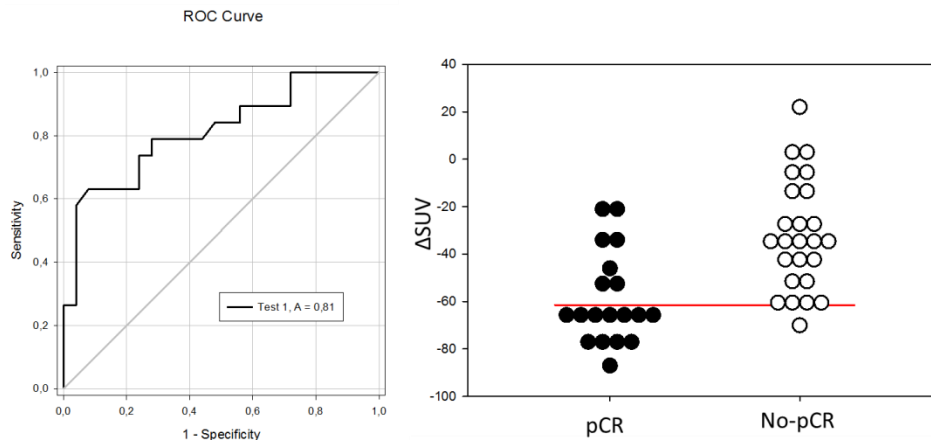


Figure 45: ROC curve analysis and distribution of tumor metabolic response ( $\Delta\text{SUV}$ ) for prediction of pCR. Area under curve =  $0.81 \pm 0.06$ ; 95% IC =  $[0.68-0.94]$ ;  $p=0.0004$ ; With an optimal threshold at  $-60\%$ , sensitivity is 63% (12/19), specificity is 88% (22/25), positive predictive value is 80% (12/15), negative predictive value is 76% (22/29), and accuracy is 77% (34/44). The red line corresponds to the threshold of  $\Delta\text{SUV} = -60\%$ .

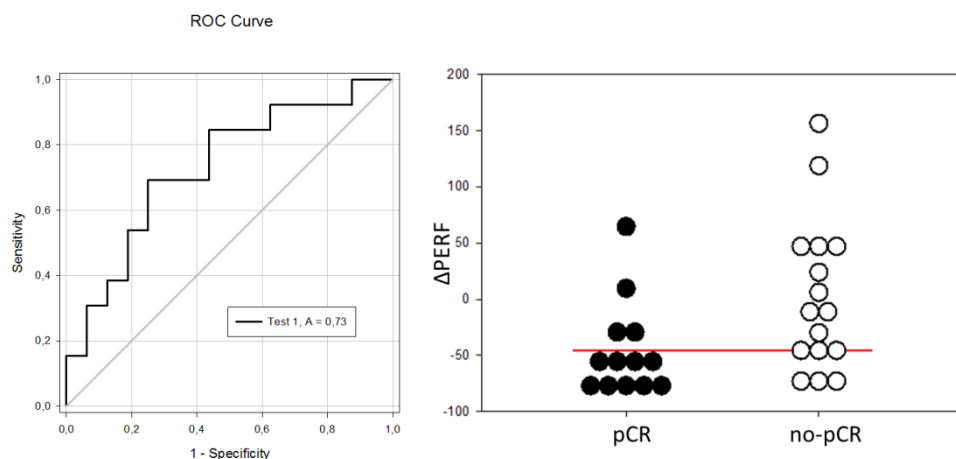


Figure 46: ROC curve analysis and distribution of tumor blood flow response ( $\Delta\text{BF}$ ) for prediction of pCR. Area under curve =  $0.73 \pm 0.09$ ; 95% IC =  $[0.54-0.92]$ ;  $p=0.03$ ; With an optimal threshold at  $-50\%$ , sensitivity of  $\Delta\text{BF}$  is 69% (9/13), specificity is 75% (12/16), positive predictive value is 69% (9/13), negative predictive value is 75% (12/16), and accuracy is 72% (21/29). The red line corresponds to the threshold of  $\Delta\text{BF} = -50\%$ .

Characteristic	Number of patients: N (%)
Total patients	50
Menopause	
No	32
Yes	16

Unknown	2
AJCC clinical stage*	
IIA	13
IIB	21
IIIA	7
IIIB	2
IIIC	7
Tumour grading	
Grade I	0
Grade II	7
Grade III	39
Missing	4
Architectural differentiation	
Score I	0
Score II	7
Score III	38
Missing	5
Nuclear pleomorphism	
Score I	0
Score II	4
Score III	41
Missing	5
Number of mitoses	
Score I	3
Score II	9
Score III	33
Missing	5
Ki-67 tumor expression (%)	
Mean $\pm$ SD	67 $\pm$ 18
Median	70
Missing	7
EGFR expression	
Negative	24
Positive	22
Missing	4
Androgen receptor status	
Negative	38
Positive (>10%)	8
Missing	4
CK5/6 expression	
Negative	12
Positive	34
Missing	4
Phenotype	
Basal like	39
Non-basal like	7
Missing	4
Chemotherapy regimen	
6 courses of FEC100	9

3 courses of FEC 100 followed by 3 courses of docetaxel	41
Surgery	
Breast-conserving surgery	37
Mastectomy	13
pCR (ypT0/is ypN0)**	
Yes	21
No	29

Table 12: Patient characteristics

\*clinical stage according to the seventh edition of the American Joint Committee on Cancer (AJCC) staging manual (tumor size assessed with Us scan, lymph node involvement and metastasis assessed both with US scan and with FDG PET, metastasis status assessed with FDG-PET.

\*\*pCR is defined as ypT0/is ypN0: no invasive residual in the breast and nodes; in-situ breast residuals allowed.

	Baseline SUV			ΔSUV			Change in tumor blood flow (ΔBF)		
	N	mean ± S.D.	P	N	mean ± S.D.	P	N	mean ± S.D.	P
All patients	50	13.4 ± 7.6		44	-43.7 ± 25.4		29	-19.4 ± 91.9	
Inflammatory breast cancer									
No	46	13.0 ± 7.3	<b>0.04*</b>	40	-44.7 ± 23.3	NS*	26	-20.1 ± 64.0	NS*
Yes	3	22.2 ± 7.7		3	-52.3 ± 32.6		3	-13.3 ± 49.9	
Tumour Grading (SBR)									
Score II	7	7.3 ± 3.5	<b>0.003*</b>	6	-33.7 ± 12.3	NS*	3	+8.9 ± 51.9	NS*
Score III	39	14.8 ± 7.5		34	-45.5 ± 27.0		23	-17.5 ± 65.3	
Architectural differentiation									
Score II	7	9.3 ± 3.0	<b>0.03*</b>	7	-40.2 ± 22.3	NS*	6	-6.5 ± 42.3	NS*
Score III	38	14.7 ± 7.7		33	-44.4 ± 26.5		20	-17.0 ± 69.4	
Ki-67 expression									
≤70%	23	12.5 ± 6.3	NS*	19	-30.9 ± 22.3	<b>0.003*</b>	12	+6.9 ± 71.5	0.08*
>70%	20	14.3 ± 6.7		18	-53.8 ± 25.8		13	-34.9 ± 50.9	
EGFR expression									
Negative	26	13.7 ± 7.4	NS*	24	-46.8 ± 25.5	NS*	15	-24.1 ± 67.6	NS*
Positive	20	13.4 ± 8.6		16	-35.6 ± 24.4		10	-2.1 ± 59.3	
CK5/6 expression									
Negative	12	10.3 ± 6.9	<b>0.06*</b>	12	-41.9 ± 19.6	NS*	7	-39.2 ± 48.2	NS*
Positive	34	14.7 ± 8.0		28	-42.5 ± 27.8		18	-6.0 ± 68.2	
Androgen receptor status									
Negative (<10%)	38	14.3 ± 8.0	<b>0.09*</b>	33	-44.5 ± 26.2	NS*	20	-14.5 ± 69.5	NS*
Positive	8	9.9 ± 6.6		7	-31.7 ± 18.6		5	-18.2 ± 40.8	
Phenotype									
Basal-like	39	14.1 ± 7.7	NS*	33	-42.2 ± 26.3	NS*	5	-35.5 ± 58.1	NS*
Non-basal-like	7	10.5 ± 8.8		7	-42.8 ± 21.8		20	-10.2 ± 65.9	
Chemotherapy regimen									
Continuous (FEC 100)	9	13.9 ± 5.9	NS*	9	-54.7 ± 22.1	NS*	4	-37.4 ± 36.0	NS*
Sequential (FEC 100 + taxotere)	41	13.3 ± 8.0		35	-40.8 ± 25.8		25	-16.5 ± 65.1	
Surgery									
Breast-conserving surgery	37	14.1 ± 7.8	NS*	33	-48.5 ± 23.0	<b>0.03*</b>	21	-25.1 ± 61.1	NS*
Mastectomy	13	11.4 ± 7.0		11	-29.0 ± 27.8		8	-4.2 ± 65.6	

Table 13: Metabolic characteristics of the primary tumor according to the clinical, biological and pathological status

S.D. = Standard Deviation, NS = not significant

\*Mann-Whitney test, \*\*Kruskal-Wallis test

Age (cut-off= 50 years old), menopausal status, tumor size (cut-off=5cm), nuclear pleomorphism, number of mitosis, phenotype (basal vs non-basal), CA15-3, ACE and CA 125 values were not significantly correlated with tumor metabolic characteristics.

	N	Mean ± S.D.	P*
SUV <sub>1</sub>			
pCR	21	14.3 ± 6.1	NS
no-pCR	29	12.8 ± 8.6	
SUV <sub>2</sub>			
pCR	19	5.6 ± 3.0	0.09
no-pCR	25	7.9 ± 4.6	
ΔSUV (%)			
pCR	19	-58.7 ± 19.5	<b>0.0004</b>
no-pCR	25	-32.2 ± 23.6	
BF <sub>1</sub> (ml/min/g)			
pCR	15	0.36 ± 0.20	NS
no-pCR	18	0.40 ± 0.20	
BF <sub>2</sub> (ml/min/g)			
pCR	12	0.22 ± 0.24	<b>0.02</b>
no-pCR	16	0.34 ± 0.16	
ΔBF (%)			
pCR	13	-45.5 ± 42.1	<b>0.03</b>
no-pCR	16	+1.8 ± 68.3	
SUV <sub>1</sub> / BF <sub>1</sub>			
pCR	15	52.7 ± 37.1	NS
no-pCR	18	49.0 ± 50.1	
Ki-67 expression (%)			
pCR	18	77 ± 13	<b>0.016</b>
no-pCR	25	62 ± 21	

Table 14: Tumor biological and imaging characteristics according to achievement of pCR

\*Mann-Whitney test

CA15-3, ACE and CA 125 values were not significantly correlated with pCR.

Bold numerals correspond to statistical significant P values (<0.05).

	patients		Univariate analysis		Multivariate analysis	
	Overall (No.)	pCR (%)	OR	P value	OR	[95% CI] P value
SUV <sub>2</sub>						
≥ 7	18	3 (17)	1	<b>0.013</b>		
< 7	26	16 (61)	5.6			
Missing	6	2				
ΔSUV						
> -60%	29	7 (24)	1	<b>0.001</b>	1	[1.01 – 45.4] <b>0.049</b>
≤ -60%	15	12 (80)	12.5			
Missing	6	2				
BF <sub>2</sub>						

≥ 0.2	15	4 (26)	1				
< 0.2	14	9 (64)	4.9	<b>0.048</b>			
Missing	21	8					
ΔBF							
> -50%	16	4 (25)	1				
≤ -50%	13	9 (69)	6.8	<b>0.022</b>			
Missing	21	8					
Number of mitosis							
Score I & score II	12	3 (25)	1				
Score III	33	18 (54)	3.6	<b>0.089</b>			
Missing	5	0					
KI-67 expression							
< 70%	15	3 (20)	1		1		
≥ 70%	28	15 (54)	4.2	<b>0.028</b>	4.62	[0.8 – 27.7]	0.093
Missing	7	3					
EGFR							
Positive	22	6 (27)	1		1		
Negative	24	11 (46)	4.0	<b>0.042</b>	9.35	[1.2 – 76.9]	<b>0.034</b>
Missing	4	4					

Table 15: Univariate and multivariate logistic analysis of significant predictive factors for pCR

Age (cut-off=50 years old), menopausal status, pregnancy history, UICC staging (2 vs 3), SBR grade, architectural differentiation, nuclear pleomorphism, androgen receptor status, CA 153 (cut-off=30kU/L), CA 125 (cut-off=35 kU/L), ACE (S=0.8µg/L), SUV<sub>1</sub>, BF<sub>1</sub>, Tumor size, tumor inflammation, CK, tumor phenotype (basal and non-basal) were not significant predictive factor of pCR. Among the significant imaging parameters in univariate analysis, only the most predictive one was used for multivariate analysis.

## **DISCUSSION**

Among the various breast cancer subtypes, TNBC remains as a challenging tumor subgroup with an aggressive course, no specific targeted therapy currently available and a poor prognosis [23, 270]. Indeed, TNBC is associated with higher risk of distance recurrence and death, especially within the first 3 years after diagnostic [25, 279]. Identification of clinico-biological, molecular or imaging biomarkers to early predict which TNBC tumors will respond to NAC is of great importance in order to better tailor the neoadjuvant treatment in poor-responding TNBC.

### **Biological biomarkers of tumor response**

The present prospective study was undertaken to determine, among a panel of biomarkers, which one could predict the pCR in TNBCs. No pre-therapy clinical factor could predict pCR, including the UICC staging. Concerning biological factors, both negative EGFR status and very high Ki-67 proliferation index of the primary tumor (>70%) were correlated with the achievement of pCR, which is consistent with previous

studies [30, 275, 276]. Indeed, Keam et al. have demonstrated that, although TNBC is already associated with higher expression of Ki-67 than non-TNBC [280], a very high Ki-67 expression can be used to separate TNBC tumors with a more aggressive phenotype in addition to predicting response to NAC [30]. In our study, the predictive value of ki-67 was negative in multivariate analysis. This is probably because tumors highly expressing of Ki-67 showed a significant higher tumor metabolic response ( $p=0.003$ ).

As the biology of TNBC is better understood nowadays, it is clear that TNBC does not directly correspond to a single molecular entity but rather to a heterogeneous subgroup, including various genomic entities [31, 281]. The basal-like subtype, defined by gene expression analysis, is the most frequent one. Using IHC, the basal-like subtype can be approached as CK5/6 positive and/or EGFR positive [28, 282]. We found that a negative EGFR status, mainly observed in non basal-like tumors, was independently associated with higher pCR rate (50% in EGFR negative tumors versus 20% in EGFR positive ones). This result is consistent with 2 previous reports showing a higher pCR rate in EGFR negative and non-basal-like tumors, defined by IHC [275, 276]. One study had conflicting results [277]. There also is a discrepancy with the results obtained by gene expression profiling: Rouzier et al. reported that basal-like subtype was more sensitive to NAC than normal-like cancers [266]. The reason may be that the normal-like subtype, classified based on gene-expression profile, included 60% of ER-positive tumors and thus does not match with the non-basal-like phenotype based on IHC. Moreover, Lehmann and colleagues have recently reported a 7-subtypes molecular classification of TNBC, including 2 basal-like subtype: BL1 and BL2 [27]. These 2 subtypes have similar biology, such as high Ki-67 mRNA expression and enrichment of proliferation genes; however, BL2 has unique gene ontologies involving growth factor signaling. Contrary to their first hypothesis, Masuda et al. recently demonstrated that, among the seven TNBC subtypes, the BL1 subtype had the highest chemo-sensitivity (pCR rate =52%) whereas the BL2 subtype had the lowest one (pCR rate = 0%) [283]. Thus basal-tumors can not clinically be considered as a single good-response entity.

One advantage on IHC classification is to be more easy-to-use in clinical practice and less expensive than gene expression classification. Nevertheless, one limit is the lack of reproducibility of measures and the absence of consensus regarding the optimal threshold to define EGFR and CK5/6 positive tumor expression, for example.



Our results found that IHC can help to define a TNBC subgroup with higher likelihood to achieve pCR but is still not accurate enough to reliably define, at baseline, a group with no benefit to conventional NAC regimen. Other early biomarkers of tumor response are mandatory to better tailor the treatment.

#### Tumor glucidic metabolism as a biomarker of response

One originality of the present study has been to include an evaluation of molecular imaging biomarkers, using FDG-PET. Tumor metabolic behavior was assessed at baseline and after the first cycle of NAC. Different metabolic parameters were evaluated. Among them, the percentage decrease in SUV on interim PET, corresponding to the tumor metabolic response, was the biomarker that offers the best accuracy in predicting pCR: a decrease of tumor FDG uptake higher than 60% predicted pCR with a PPV at 80% and a NPV at 76%. Contrary to the HER2 positive subtype,  $\Delta$ SUV was more efficient to predict pCR in TNBC than the absolute SUV on interim PET [267, 284]. In multivariate analysis, the metabolic response was an independent predictive factor, but with lower significance than in univariate analysis, suggesting an impact of biological TNBC characteristics on tumor metabolic behavior. Few studies have evaluated the predictive value of FDG-PET in TNBC treated with NAC. Most of them found a good predictive value of PET in this subtype, either after one or two cycles of NAC [285-287]. In Groheux's study, the optimal  $\Delta$ SUV threshold to predict pCR was found at -50%, the accuracy was 80%, same as our [286]. The lowest  $\Delta$ SUV threshold may be explained by a choice to promote the NPV in Groheux's study, calculated at 96% (versus 76% in our study), so as to identify non-responding tumors as effectively as possible. As for Groheux et al., measuring response in axillary lymph nodes provided no benefit over metabolic assessment of only breast tumor.

#### Tumor blood flow as a biomarker of response

Neoangiogenesis is one important hallmark of breast cancer. Our present findings have demonstrated that changes in tumor blood flow, evaluated with a first-pass dynamic FDG-PET before and after the first cycle, could predict histological response. The tumor blood flow response ( $\Delta$ BF) showed more scattered values than the metabolic response, with  $\Delta$ BF values ranging from -79% to +92%. Indeed, some women experienced an increased tumor blood flow after the first cycle of treatment (8/29). Although the optimal cut-off was found at -50%, 87.5% of women (7/8) with increased tumor blood flow after NAC did not achieve pCR. This is consistent with previous observations of Mankoff who found that, using  $^{15}$ O-water PET, non-responding breast tumors had an average increase in tumor

blood flow after 2 months of NAC [108]. The team of Seattle also pointed out that breast tumors with high glucidic metabolism related to low blood flow may correspond to tumors with poor response to chemotherapy and outcome [110, 111, 288]. These tumors with inadequate blood supply may be unable to meet energy demands resulting in metabolic stress and low oxygen levels, i.e. hypoxia. To explain why a flow-metabolism mismatch, which is a sign of tumor metabolic stress, may correspond to a more invasive phenotype with poorer outcome, in breast tumor as in other cancers [289], Mankoff et al. have suggested that, if a tumor can survive the stress of metabolic demands of rapid growth and inadequate delivery of oxygen, it may be also be able to withstand cancer treatments [289]. Moreover the tumor response to hypoxia through HIF-1 both promotes tumor angiogenesis and is associated with a greater tumor property to spread [290]. Nonetheless, no correlation between tumor flow-metabolism mismatch and chemo-resistance was observed in the present study. Because neoangiogenesis is one important hallmark of breast cancer, the predictive and prognostic value of blood flow changes compared to metabolic changes has to be more implemented in future study, in particular when anti-angiogenesis drugs are used.

#### Limitations of the study

A limitation of our study is the use of different therapeutic schemes and the frequent switch to docetaxel after the first 3 cycles of FEC100. Several Phase-III trials have demonstrated that this systematic switch at mid-course improves pCR rate [291, 292], with a meta-analysis finding an absolute difference of 2.4% ( $p=0.013$ ) [293]. The survival benefit of this switch is more controversial [291, 292]. In the present study and others [285], final pathological response to the sequential regimen highly depends on tumor response assessed after the first cycle of FEC or EC. Thus, it suggests low benefit of the systematic switch.

In the neoadjuvant setting, pCR is a strong prognostic marker, particularly in the TNBC subtype [61, 77, 271]. Nevertheless, there is no clear answer whether an increased of pCR rate, due to a novel treatment, translates into improved patient's survival [61]; This is a crucial question for the design of future PET-guided therapeutic trials, evaluating the benefit of an early therapeutic switch in non-responding women [294].

## **CONCLUSION**

To early define TNBC tumor with lower chemo-sensitivity to NAC is an important issue. Tumor EGFR negative status, mostly observed in non-basal-like TNBC, is an independent predictive factor of pCR after neoadjuvant chemotherapy. But the importance of routine identification of basal/non-basal like cancers is unclear and thus not currently used for treatment decision making. The metabolic response after the first cycle of NAC can more accurately predicts pCR. Tumor metabolic response and EGFR status can be combined to increase the early identification of women without pCR at the end of NAC. Based on these results, multicentric trials, evaluating PET-guided treatment strategies, are now necessary to evaluate the benefit of early therapeutic changes in poor-responding women, leading to personalized medicine. Further studies evaluating the link between TNBC metabolic behavior and expression of different gene signatures are also needed for greater understanding of the biology of poor-responding TNBC.

## DISCUSSION ET PERSPECTIVES

Au cours de la dernière décennie, plusieurs études ont évalué le rôle potentiel de la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG dans la prédiction précoce de la réponse du cancer du sein traité par chimiothérapie néo-adjuvante. Toutes ces études ont montré que la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG est une technique robuste pour évaluer très précocement la chimiosensibilité tumorale et prédire la réponse histologique finale.

Cependant, le cancer du sein est multiple : diverses taxinomies ont été développées à partir de l'histologie, de l'immunohistochimie ou encore de la biologie moléculaire. Ces classifications ont abouti à l'individualisation du pronostic des patientes et à la prédiction de la réponse au traitement en fonction des différents types de cancer du sein. Tumeurs lumineuses, HER2-positives ou triple négatives sont 3 situations pour lesquelles, en situation néo-adjuvante, la probabilité de pCR et sa signification pronostique sont différentes. De plus, on assiste actuellement à l'émergence de thérapies ciblées spécifiques à certains de ces phénotypes tumoraux.

### **1. Résumé des travaux présentés**

Les quatre articles publiés dans le cadre de cette thèse permettent de faire progresser la connaissance du métabolisme glucidique du cancer du sein. Ils soulignent l'impact majeur de la classification immunohistochimique sur le comportement métabolique de la tumeur primitive mammaire. Ainsi, le phénotype triple négatif présente un métabolisme glucidique particulièrement exacerbé. Sa haute avidité pour le glucose est expliquée par son caractère très prolifératif. A l'inverse, les tumeurs lumineuses /HER2-négatives, nettement moins prolifératives, présentent un hypermétabolisme glucidique globalement plus modéré.

De même, après la mise en route de la chimiothérapie néo-adjuvante, la baisse rapide du métabolisme glucidique tumoral est fortement influencée par le phénotype tumoral. Les tumeurs triple négatives et HER2 positives (traitées par trastuzumab) sont particulièrement chimio-sensibles avec un taux élevé de réponses histologiques complètes en fin de traitement néoadjuvant. Il apparaît à travers ces travaux que la baisse du métabolisme glucidique de ces tumeurs est également très rapide puisque, après la première cure de chimiothérapie, le SUV baisse en moyenne de 45% pour les tumeurs triple négatives et de 58% pour les tumeurs HER2 positives. Pour ces deux phénotypes, la baisse de SUV précoce est corrélée à la réponse histologique finale : le  $\Delta\text{SUV}$  tumoral prédit précocement la pCR finale pour les tumeurs triple négatives (seuil = 60%, AUC = 0.81) et pour les

tumeurs HER2 positives (seuil= 60%; AUC= 0.70). A l'inverse, la baisse du métabolisme glucidique des tumeurs lumineales/HER2 négatives est nettement plus modeste, avec un  $\Delta$ SUV moyen de  $19 \pm 35$  %, soulignant la chimio-résistance de ce phénotype généralement moins prolifératif. Il existe donc un paradoxe entre la chimio-résistance et le pronostic relativement favorable de ce phénotype luminal/ HER2 négatif. Cette chimio-résistance est confirmée par la rareté de la réponse histologique complète observée pour ce phénotype : parmi notre population de 60 patientes présentant une tumeur luminale/HER2 négative, une seule a obtenue une réponse histologique complète. La corrélation entre réponse métabolique précoce et pCR en fin de traitement n'a donc pu être mise en évidence. A partir de ce constat, l'article présenté dans le paragraphe 2.2 du chapitre IV de cette thèse s'affranchit de la réponse histologique en évaluant directement la valeur pronostique de la réponse métabolique précoce des tumeurs de phénotype luminal/HER2 négatif. Les résultats montrent que le comportement métabolique de ce phénotype permet d'identifier 3 groupes de patientes avec des pronostics très différents. Les patientes présentant une tumeur mammaire hypermétabolique, et donc proliférative, sans réponse significative après la première cure de chimiothérapie, ont un pronostic très péjoratif avec une survie sans récurrence à 5 ans de seulement 33%. A l'inverse, on observe un pronostic favorable pour les patientes avec une tumeur luminale faiblement métabolique et donc peu proliférative (survie sans récurrence à 5 ans = 93%), ainsi que celles avec une tumeur hypermétabolique mais répondant bien à la chimiothérapie (survie sans récurrence à 5 ans = 88%). Il semblerait donc intéressant d'utiliser la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG pour différencier les tumeurs lumineales tirant bénéfice de la chimiothérapie néo-adjuvante, des tumeurs lumineales ne relevant que de l'hormonothérapie néo-adjuvante.

## **2. Futurs axes de recherche pour le développement de la TEP au $^{18}\text{F}$ -FDG en situation néo-adjuvante**

En situation néoadjuvante, d'autres travaux devront faire suite à ceux initiés dans le cadre de cette thèse afin que la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG devienne un examen standard, permettant une adaptation précoce du traitement néoadjuvant pour les patientes non-répondeuses. Des travaux reposant sur la biologie moléculaire tumorale pourront également aider à la compréhension des mécanismes de la chimiorésistance précoce des cellules cancéreuses, mise en évidence par la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG dès le premier cycle de chimiothérapie.

En situation métastatique, la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG est désormais devenu un examen de routine pour l'évaluation précoce de l'efficacité des chimiothérapies et l'adaptation du

traitement pour les patientes mauvaises répondeuses. Cependant, l'étude de la littérature révèle la grande hétérogénéité de méthodologies des études monocentriques publiées sur ce sujet. De nombreuses questions sont encore sans réponses, notamment sur le moment idéal de la TEP intermédiaire et sur les critères métaboliques optimaux à utiliser pour distinguer les patientes bonnes répondeuses des non-répondeuses.

Au-delà du  $^{18}\text{F}$ -FDG, de nouveaux radio-traceurs d'autres voies moléculaires du cancer du sein sont en cours de développement. Nous allons détailler ceux dont les premiers résultats cliniques sont prometteurs.

## **2.1 Etudes multicentriques pour l'évaluation d'une stratégie thérapeutique guidée par la TEP**

Plusieurs études ont montré que la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG est un outil robuste pour évaluer précocement la réponse tumorale. Cependant, à ce jour, une seule étude publiée a évalué le bénéfice d'une stratégie thérapeutique adaptée à la réponse métabolique tumorale observée en TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG. Il s'agit de l'étude AVATAXHER, élaborée à partir des premiers résultats de cette thèse, et publiée en 2014 dans la revue « Lancet Oncology » [294]. Cette étude ayant inclu 142 patientes a démontré que, pour les patientes présentant une tumeur HER2 positive, la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG peut identifier précocement les patientes bonnes et moins bonnes répondeuses à la première cure de chimiothérapie néo-adjuvante par Docetaxel et Trastuzumab. Pour les patientes bonnes répondeuses précoces en TEP ( $\Delta\text{SUV} \geq 70\%$ ), le taux de pCR final est de 54%. Pour les patientes médiocres répondeuses, l'ajout de bevacizumab au schéma néo-adjuvant permet de faire passer le taux de pCR de 24 à 44%.

De nombreux enjeux persistent concernant l'utilisation en routine de la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG pour l'évaluation de la réponse au traitement néoadjuvant du cancer du sein.

Tout d'abord, des études multicentriques de phase II et III seront nécessaires pour confirmer l'intérêt d'une stratégie thérapeutique guidée par la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG pour les différents phénotypes. De nombreux centres devront participer à ces essais afin que le recrutement des effectifs nécessaires à ces études puisse se faire, notamment pour les tumeurs triple négatives. Les centres participant à ces essais devront respecter des recommandations rigoureuses pour la calibration des systèmes TEP, les contrôles qualité et les procédures d'acquisition afin d'éviter l'écueil d'un manque de reproductibilité des valeurs de SUV d'un centre à l'autre [295]. Afin de standardiser les procédures, et donc les

valeurs de SUV, des recommandations européennes ont récemment été publiées pour les centres TEP participant à des essais multicentriques [296]. Enfin, les essais évaluant des schémas thérapeutiques guidés par la TEP en situation néo-adjuvante ne pourront faire l'économie d'une étude de la survie des patientes, ce qui nécessitera un suivi d'au moins 5 à 10 ans. En effet, bien que la réponse histologique complète en fin de traitement soit considérée comme un marqueur substitutif précoce de la survie, il n'a pour l'instant pas été démontré qu'une stratégie visant à augmenter le taux de pCR des patientes initialement résistantes soit corrélée à une augmentation de la survie [61]. Actuellement, dans la continuité de ce travail et de ceux de David Groheux [285], un projet multicentrique de stratégie thérapeutique guidée par la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG est actuellement porté par les équipes de l'hôpital Saint Louis, de CGFL à Dijon, de l'Institut Gustave Roussy et de l'intergroupe coopérateur français Unicancer – UCBG sur les cancers du sein, labélisé par l'Inca. L'objectif est de proposer une stratégie thérapeutique de rattrapage innovante, basée sur la biologie moléculaire tumorale, pour les patientes dont la tumeur triple négative ne présente pas de réponse métabolique satisfaisante après les deux premières cures de chimiothérapie néoadjuvante standard. Il a récemment été soumis à l'appel à projet PHRC-K 2015 (Programme Hospitalier de Recherche Clinique en cancérologie).

## **2.2 Compréhension des voies moléculaires de la chimiorésistance précoce des tumeurs triple négatives**

Les récents progrès de la biologie moléculaire sont très prometteurs pour l'étude des mécanismes de la chimio-résistance tumorale précoce observée par la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG. Un projet monocentrique nommé « TRANSTEP » a récemment été accepté lors d'un appel à projet local (AOI 2015). L'objectif de ce projet est d'identifier un profil transcriptomique et mutationnel associé à la non-réponse des tumeurs triple négatives traitées par chimiothérapie néoadjuvante. Cette chimio-résistance est identifiée par la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG après la première cure de chimiothérapie néoadjuvante. En effet, le phénotype triple négatif présente une importante hétérogénéité de profils transcriptomiques tumoraux ; l'identification de signatures moléculaires prédictives et explicatives de la chimiorésistance tumorale est un enjeu clinique important pour le développement de thérapies ciblant les voies moléculaires responsables de cette chimiorésistance précoce. Pour cela, nous réaliserons un séquençage de l'ARN tumoral par NGS (Next sequencing Generation 500, Illumina) pré-thérapeutique mais également intérimaire (après la première cure de

chimiothérapie) pour la recherche de profils transcriptomiques et d'altérations génomiques (mutations, gènes fusions) pouvant expliquer l'absence de réponse métabolique de certaines tumeurs triple négatives. Les profils transcriptomiques seront identifiés par clustering non supervisé.

### 2.3 Post-traitement des images TEP au $^{18}\text{F}$ -FDG

La plupart des études ont évalué la valeur prédictive du  $\Delta\text{SUV}$  tumoral, dont les avantages sont la simplicité de mesure, la reproductibilité inter-observateur et inter-centre. Cependant, de multiples autres paramètres métaboliques peuvent être évalués pour étudier la réponse tumorale : SUV absolu, mesure du métabolisme ganglionnaire, mesure du volume tumoral selon des méthodes de segmentation d'image plus ou moins élaborées, mesure de la perfusion tumorale par une acquisition dynamique précoce, analyse de texture de l'image avec étude de l'hétérogénéité de fixation tumorale... Plusieurs projets de recherche portant sur le traitement des images TEP pourront être développés à partir de ces thématiques. Par exemple, nous avons vu dans cette thèse qu'il existe diverses méthodes pour définir le volume tumoral métabolique, sans qu'aucune ne se soit encore imposée comme méthode de référence. Un des articles présentés dans cette thèse a évalué la valeur prédictive des modifications précoces du volume métabolique tumoral. Les résultats se sont avérés décevants par rapport à ceux obtenus avec le suivi du  $\text{SUV}_{\text{max}}$  tumoral. Cependant, nous avons utilisé une méthode utilisant un seuil fixe relatif au voxel d'intensité maximum et au bruit de fond mammaire [267]. Or, bien que relativement simple à utiliser, le recours à des seuils fixes est actuellement controversé. Il serait intéressant d'évaluer l'utilisation de méthodes plus complexes pour définir le volume tumoral en TEP. Par exemple, Hatt et al. ont utilisé l'algorithme FLAB (Fuzzy Locally Adaptive Bayesian), avec des résultats prometteurs pour l'étude de la réponse des tumeurs lumineales / HER2 négatives [184].

Par ailleurs, l'analyse de texture, évaluant l'hétérogénéité de la fixation tumorale du  $^{18}\text{F}$ -FDG, est une approche également intéressante pour prédire la chimio-résistance des cancers pulmonaires et œsophagiens [297-300]. L'analyse de texture repose sur divers algorithmes mathématiques dont l'objectif est de décrire la relation entre l'intensité des voxels et leur localisation dans le volume tumoral étudié. L'hétérogénéité métabolique tumorale est classiquement associée aux divers marqueurs de l'agressivité tumorale : la prolifération cellulaire, la nécrose, l'hypoxie et l'angiogenèse tumorale. Concernant le



cancer du sein, une étude récente de Soussan et al. a montré sur une série de 54 patientes la corrélation entre l'hétérogénéité de fixation tumorale en TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG et les facteurs histo-pathologiques de pronostic péjoratif [301]. Il serait donc intéressant d'évaluer la corrélation entre l'hétérogénéité du métabolisme glucidique intra-tumoral et la chimio-résistance tumorale, évaluée précocement par la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG et plus tardivement par la réponse histologique.

### **3. Evaluation de la réponse tumorale en situation métastatique : un enjeu d'actualité**

La meilleure connaissance du comportement métabolique des divers phénotypes tumoraux en situation néoadjuvante a pour objectif d'être étendue à la situation métastatique. Un des enjeux de la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG est de devenir un examen de référence de l'évaluation de l'efficacité des thérapeutiques en situation métastatique, notamment dans le cadre d'essais cliniques évaluant de nouvelles thérapies ciblées. Pour cela, la définition préalable de critères TEP reproductibles et robustes de bonne ou de mauvaise réponse tumorale s'avère indispensable. Ces critères devront vraisemblablement tenir compte de la diversité des phénotypes tumoraux du cancer du sein et du type de traitement évalué (thérapie cytotoxique versus thérapie ciblée).

#### **3.1 Evaluation de la réponse morphologique tumorale : limites des critères RECIST**

Contrairement à la situation néoadjuvante, la réponse histologique tumorale ne peut généralement pas être évaluée en situation métastatique. Parce que les modifications de taille tumorale en cours de chimiothérapie, évaluées par l'imagerie morphologique, sont corrélées à la survie des patientes pour de nombreuses tumeurs solides [302], il s'agit du marqueur le plus fréquemment utilisé en routine et recherche clinique pour l'efficacité d'un traitement en situation métastatique. Les critères pour l'évaluation de la réponse des tumeurs solides (RECIST) ont été définis [303] et mis à jour [90] afin de standardiser cette évaluation morphologique.

Cependant, ces critères ont leurs limites. Tout d'abord, les nouvelles thérapies ciblées de plus en plus utilisées en cancérologie, induisent un effet cytostatique prédominant sur l'effet cytotoxique, rendant le critère de taille peu représentatif de l'effet du traitement. De plus, les modifications de taille tumorale ne peuvent pas correctement évaluer la réponse

au niveau osseux. Pour cette raison, les critères RECIST version 1.1 précisent que les lésions osseuses métastatiques ne présentant pas d'infiltration des tissus mous ne peuvent pas être considérées comme des lésions mesurables [90] : il s'agit d'une limitation majeure pour le cancer du sein métastatique à prédominance osseuse [304, 305]. De plus, le TDM montre parfois l'apparition de lésions osseuses condensantes suite à l'initiation du traitement, qui correspondent en réalité à une sclérose cicatricielle de lésions initialement non visibles et donc à une bonne réponse tumorale (figure 47) [306, 307]. Par rapport à l'imagerie morphologique, l'intérêt de l'imagerie moléculaire au  $^{18}\text{F}$ -FDG pour l'évaluation osseuse est de s'intéresser directement aux altérations précoces du métabolisme tumoral après induction du traitement systémique, et non plus à l'effet tardif de la réponse ou non-réponse sur le tissu osseux adjacent [308].

### **3.2 Evaluation de la réponse métabolique tumorale par la TEP au $^{18}\text{F}$ -FDG**

#### **3.2.1 Réponse tumorale à la chimiothérapie**

De nombreuses études ont montré que les modifications du métabolisme glucidique du tissu tumoral précèdent de plusieurs semaines à plusieurs mois les modifications morphologiques tumorales, observées par l'imagerie conventionnelle [265, 309-311], et prédisent précocement la survie des patientes [312]. L'arrivée des système d'imagerie hybride, intégrant à la fois une TEP et un TDM a permis d'évaluer la réponse tumorale en combinant l'évaluation morphologique et fonctionnelle, ce qui est particulièrement pertinent pour les métastases osseuses (figure 47) [313].

Pour exemple, Tateishi et al. ont rétrospectivement comparé la valeur pronostique des réponses tumorales morphologique et fonctionnelle de patientes présentant un cancer du sein métastatique, en utilisant un système hybride TEP-TDM [314]. Cent deux patientes traitées par une première ligne d'hormono-chimiothérapie ont été incluses. La TEP-TDM était réalisée avant et après traitement (moyenne= 28 jours ; intervalle 21-38 jours). Seule la lésion la plus intensément hypermétabolique était considérée comme lésion cible pour évaluer la réponse. Les résultats ont montré qu'une augmentation du coefficient d'atténuation de la lésion en TDM et qu'une baisse du SUV des métastases osseuses étaient toutes deux associées à une meilleure survie sans progression. L'analyse multivariée a montré qu'une baisse du SUV de plus de 8.5% était le seul facteur indépendant prédictif d'une réponse de longue durée au traitement.

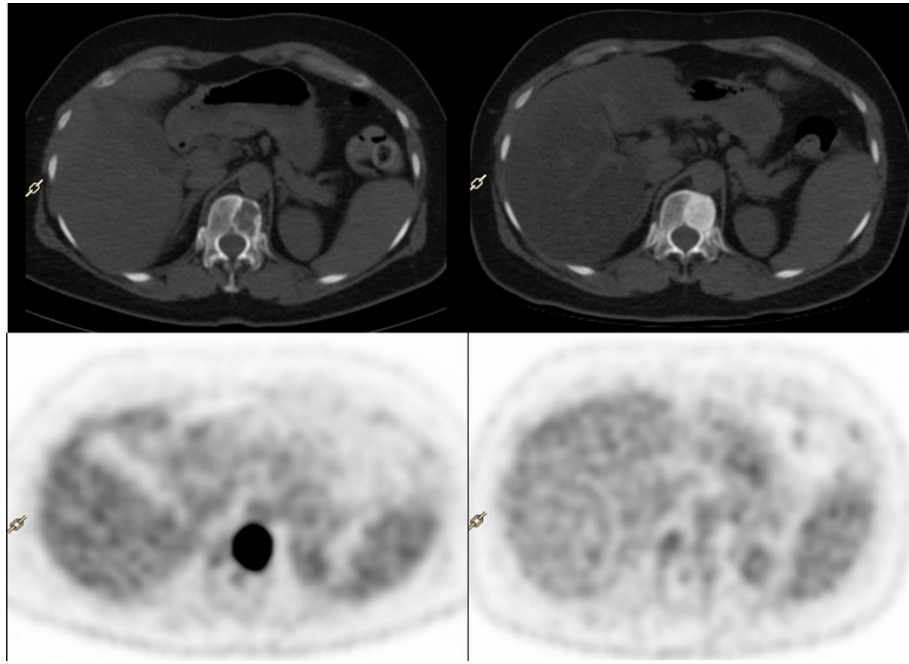


Figure 47: Exemple de TEP/TDM au  $^{18}\text{F}$ -FDG réalisée avant (images de gauche) et après (images de droite) 3 mois de traitement par eribuline et trastuzumab chez une patiente suivie pour un cancer mammaire avec une métastase ostéolytique de la 12<sup>ème</sup> vertèbre thoracique. Après traitement, le TDM montre une réaction d'ostéosclérose cicatricielle de la lésion osseuse et la TEP montre l'absence d'hypermétabolisme résiduel. Les imageries morphologique et fonctionnelle sont donc toutes les deux en faveur d'une bonne réponse de la métastase.

En conclusion, de nombreuses études ont montré que la TEP/TDM au  $^{18}\text{F}$ -FDG est plus performante que l'imagerie morphologique conventionnelle pour évaluer précocement la réponse au traitement des métastases [313, 314]. Pour cette raison, la TEP-TDM est en train de devenir une imagerie standard pour le suivi évolutif des cancers du sein métastatiques.

### 3.2.2 Réponse tumorale à l'hormonothérapie

L'hormonothérapie est un traitement efficace et relativement peu toxique du cancer du sein métastatique exprimant des récepteurs hormonaux (RH). Il s'agit d'une modalité fréquemment utilisée en première ligne, mais seulement 30 à 50% des patientes avec un cancer du sein RH positif y répondront [315-317]. Ceci peut être expliqué par l'hétérogénéité d'expression des récepteurs hormonaux au sein des métastases, une erreur d'échantillonnage lors de la biopsie d'un seul clone métastatique, la présence de récepteurs hormonaux non fonctionnels. Ainsi, l'identification de biomarqueurs complémentaires pour prédire l'hormono-sensibilité tumorale est une problématique clinique d'actualité.

Pour les patientes répondeuses à la première ligne d'hormonothérapie, une augmentation précoce de la fixation tumorale de  $^{18}\text{F}$ -FDG est observée 7 à 10 jours après

l'introduction de tamoxifène (modulateur sélectif des récepteurs des œstrogènes qui induit un blocage de ces récepteurs) [318]. Ce rebond métabolique tumoral des patientes bonnes répondeuses peut être expliqué par une poussée de croissance des cellules tumorales induite par un effet initialement agoniste du tamoxifène. Il implique que les récepteurs aux œstrogènes soient fonctionnels et sensibles à l'action du tamoxifène. Il s'agit donc d'un facteur prédictif précoce de l'hormono-sensibilité tumorale [318, 319].

A l'inverse, les traitements par anti-aromatases diminuent la synthèse d'œstrogène et donc leur effet agoniste sur la croissance tumorale: les patientes répondeuses présentent une baisse rapide du métabolisme tumoral après la mise en route des inhibiteurs de l'aromatase [320].

Une seule étude a étudié la pertinence de la TEP pour l'évaluation plus tardive de la réponse tumorale des cancers du sein métastatiques traités par hormonothérapie. La TEP/TDM au  $^{18}\text{F}$ -FDG a été réalisé en pré-thérapeutique et  $10 \pm 4$  semaines après l'initiation du traitement [321]. Avec un seuil de baisse ou d'augmentation du SUV de 25%, la progression, la stabilité et la réponse métabolique partielle se traduisaient par une survie sans progression de respectivement 6, 27 et 20 mois ( $P < 0.0001$ ).

La TEP-TDM au  $^{18}\text{F}$ -FDG peut donc être utilisée pour le suivi de la réponse des cancers du sein métastatiques RH positifs traités par hormonothérapie, de manière précoce ou plus tardive, situation pour laquelle l'imagerie morphologique conventionnelle est souvent prise à défaut [306, 313].

### 3.2.3 Limitations et perspectives

Toutes les études précédemment mentionnées sont mono-centriques et généralement rétrospectives. Elles souffrent d'un manque de consensus sur le moment optimal pour réaliser la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG intermédiaire, et sur les critères métaboliques à utiliser pour définir la réponse tumorale. Les recommandations américaines du NCCN ont souligné ce manque de standardisation qui constitue l'une des principales limites à l'utilisation de la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG en situation métastatique [322].

Actuellement, deux types de critères existent pour définir la réponse en TEP : ceux développés par l'EORTC (European Organization for Research and Treatment of Cancer) [323] et ceux développés par Wahl et al. : PET Response Criteria in Solid Tumors (PERCIST) [156].

Ces critères font cependant toujours débat. Un premier point critiquable est que la réponse métabolique tumorale est très influencée par le phénotype du cancer mammaire et par le traitement utilisé qui dépend directement de ce phénotype [194]. Il semble donc que les critères de réponse doivent être adaptés à chaque situation clinique.

Une deuxième limite est que PERCIST, tout comme RECIST, étudie uniquement les modifications métaboliques de la lésion la plus active, et ne considère donc pas l'hétérogénéité de réponse des lésions métastatiques d'un même patient, pourtant souvent observée. La TEP-TDM au  $^{18}\text{F}$ -FDG, qui permet une évaluation corps entier, est une modalité plus performante que l'imagerie conventionnelle pour identifier une réponse hétérogène des différents clones métastatiques d'un même patient (figure 48).

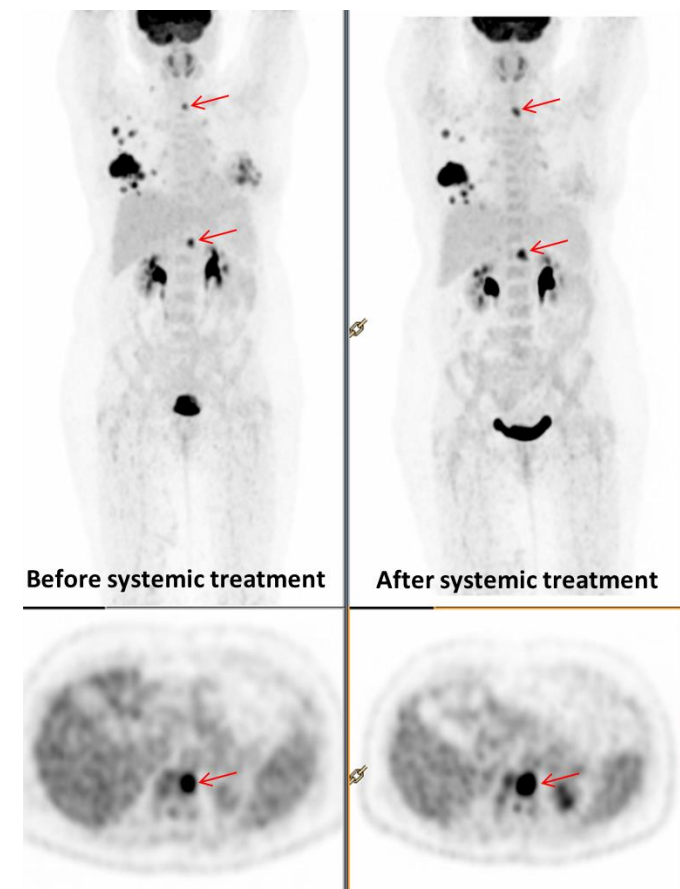


Figure 48: Réponse discordante des métastases osseuses et viscérales en TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG . Les 2 TEP sont réalisées avant (images de gauche) et après (images de droite) 3 mois de traitement par gemcitabine-trastuzumab. La TEP- $^{18}\text{F}$ FDG pré-thérapeutique montre un hypermétabolisme glucidique intense de la tumeur mammaire bilatérale et multifocale, des adénopathies axillaires droites et des métastases osseuses. Après initiation du traitement, la TEP intermédiaire montre une réponse métabolique hétérogène avec coexistence de lésions répondeuses (sein gauche, adénopathies axillaires) et non-répondeuses (flèche rouge : augmentation modérée de la fixation de 2 lésions osseuses).

Afin d'obtenir la reproductibilité nécessaire aux études multicentriques d'adaptation thérapeutique selon la réponse TEP, il apparaît donc indispensable de définir des critères standards et robustes pour évaluer la réponse métabolique des cancers du sein métastatiques. Idéalement, ces critères devront tenir compte de l'hétérogénéité génomique du cancer du sein, des différents traitements utilisés (chimiothérapie, hormonothérapie ou immunothérapie), et de l'hétérogénéité de réponse des différents clones métastatiques pour une même patiente.

#### **4. Au-delà du $^{18}\text{F}$ -FDG : autres traceurs des voies moléculaires de l'oncogénèse tumorale mammaire pour la prédiction de la réponse.**

L'identification d'altérations moléculaires impliquées dans l'oncogénèse du cancer du sein a abouti au développement de nouvelles thérapies ciblées. Il y a donc actuellement un besoin de biomarqueurs spécifiques de ces voies moléculaires afin de prédire et d'évaluer l'efficacité de ces thérapies.

##### **4.1 Etude de la néo-angiogenèse et de la perfusion tumorale**

Le développement tumoral est conditionné par la perfusion des cellules néoplasiques. Il s'accompagne d'une néo-angiogenèse permettant d'augmenter les échanges transmembranaires nécessaires pour la croissance de la tumeur. L'angiogenèse est une des voies clé du développement tumoral et est récemment devenue une cible thérapeutique. Des traitements tels que le bevacizumab, un anticorps monoclonal dirigé contre le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF), sont utilisés dans le traitement adjuvant du cancer mammaire, en association avec les traitements cytotoxiques habituels. Cependant, l'utilisation de ces thérapies anti-VEGF est controversée car elles n'ont pas démontré de bénéfices sur la survie globale, aussi bien en situation néo-adjuvante, adjuvante ou métastatique [324]. Il existe donc un réel besoin de biomarqueurs pour mieux cibler le profil moléculaire tumoral des patientes susceptibles de tirer bénéfice de ces thérapies anti-angiogéniques.

##### **4.1.1 La TEP à l' $\text{H}_2^{15}\text{O}$ : étude de la perfusion tumorale**

Outre l'IRM de perfusion et l'échographie de contraste par injection de microbulles, la TEP à l' $\text{H}_2^{15}\text{O}$  (eau marquée à l'oxygène 15) est considérée comme l'examen gold standard pour l'étude de la perfusion tumorale. Non invasif, l'examen nécessite une acquisition dynamique pour l'étude de la bio-distribution tumorale du traceur au cours du temps. Cette acquisition, débutant au moment de l'injection intraveineuse du traceur  $\text{H}_2^{15}\text{O}$ ,

se poursuit pendant 5 à 10 minutes [107]. Une analyse compartimentale simple (1 compartiment vasculaire et 1 compartiment tissulaire) permet de mesurer la constante de transfert  $K_1$  du traceur entre le compartiment vasculaire et tumoral, correspondant à la perfusion tissulaire tumorale. La limite de ce traceur est sa faible disponibilité. En effet la demi-vie de ce radiopharmaceutique est de 2 minutes : l'examen doit donc être réalisé dans un centre disposant d'un cyclotron à proximité immédiate.

L'équipe de Seattle a publié plusieurs études évaluant les modifications de la perfusion tumorale mammaire avant et à mi-course de la chimiothérapie néo-adjuvante, en utilisant la TEP à l'  $H_2^{15}O$  [107-111]. Ces mesures nécessitaient une acquisition dynamique continue de 7.75 minutes après injection d'un bolus de  $H_2^{15}O$ . La réduction précoce de la perfusion tumorale après 2 mois de chimiothérapie néo-adjuvante était prédictive de la réponse histologique finale et de la survie (figure 49) [108, 110]. Par ailleurs, les tumeurs mammaires présentant une discordance entre leur perfusion et leur métabolisme glucidique (faible perfusion mais métabolisme glucidique élevé) présentaient une moindre chimio-sensibilité, avec une faible probabilité de réponse histologique complète et un risque élevé de récurrence [107, 325]. Cette discordance, correspondant vraisemblablement à une situation d'hypoxie tumorale, était principalement retrouvée parmi les tumeurs de phénotype triple négatif [111].

#### 4.1.2 La TEP dynamique au $^{18}F$ -FDG

Du fait de sa demi-vie très courte, la TEP à l'  $H_2^{15}O$  n'est cependant pas disponible pour la grande majorité des centres de médecine nucléaire. Comme nous l'avons précédemment vu dans les paragraphes 2.3.2 et 2.4.1 du chapitre II, une acquisition dynamique de 60 minutes en TEP au  $^{18}F$ -FDG peut également évaluer la perfusion tissulaire grâce à une analyse cinétique reposant sur un modèle tri-compartimental [109, 326]. Elle permet de déterminer la constante de transfert  $k_1$  du  $^{18}F$ -FDG, depuis le compartiment vasculaire vers le compartiment tissulaire. Tseng et al. ont montré que cette constante  $k_1$ , obtenue avec l'analyse compartimentale du  $^{18}F$ -FDG, est corrélée à la perfusion tissulaire du cancer mammaire mesurée avec la TEP à l'  $H_2^{15}O$  [109]. Comme pour le débit perfusionnel mesuré en TEP à l'  $H_2^{15}O$ , l'absence de diminution significative du  $k_1$  du  $^{18}F$ -FDG après 2 mois de chimiothérapie néo-adjuvante était un facteur prédictif péjoratif de la survie globale et sans récurrence [110].

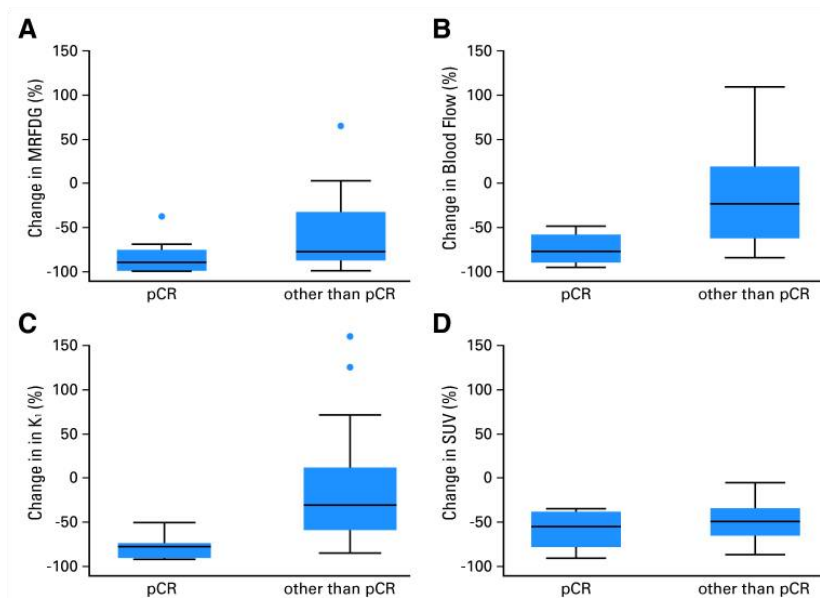


Figure 49 : Modification en pourcentage du taux métabolique du  $^{18}\text{F}$ -FDG (MRFDG) (A), de la perfusion tumorale (B), de la constante de transfert K1 du  $^{18}\text{F}$ -FDG (C) et du SUV (D) pour les patientes présentant une réponse histologique complète finale versus celles n'en présentant pas. Graphique extrait de l'article de Dunnwald et al, JCO 2008 [110].

Par la suite, Specht et al ont poursuivi cette étude en tenant en compte l'impact des différents phénotypes du cancer du sein : tumeurs lumineales, triple négatives et HER2-positives [111]. Les caractéristiques perfusionnelles et le métabolisme glucidique sont très variables d'un phénotype tumoral à l'autre. Le ratio métabolisme glucidique / perfusion tumorale, connu pour être un marqueur de chimiorésistance et de pronostic péjoratif [289], est donc plus souvent élevé dans le phénotype triple négatif [111].

#### 4.1.3 Radiotraceurs de l'angiogenèse tumorale

L'imagerie d'autres voies moléculaires de l'angiogenèse a été étudiée en clinique et en préclinique. L'intégrine  $\alpha\beta3$  est une protéine exprimée par les cellules endothéliales activées pendant l'angiogenèse: son rôle est de permettre la croissance des néo-vaisseaux, l'invasion locorégionale et la dissémination métastatique des cellules cancéreuses [327]. Des traceurs TEP ont été développés pour obtenir des images de l'expression de cette protéine : le  $^{18}\text{F}$ -galacto-RDG est celui qui a été le plus étudié [327-329]. Dans le cancer du sein, une étude TEP a montré une surexpression intense mais très variable de l'intégrine  $\alpha\beta3$  par les tumeurs primitives mammaires [327]. Il s'agit donc d'un radiopharmaceutique avec un fort potentiel de développement pour l'imagerie de l'angiogenèse tumorale.



L'expression tumorale de VEGF est également une cible moléculaire d'intérêt pour l'imagerie métabolique de l'angiogénèse. Le bévaccizumab est un anticorps monoclonal dirigé contre le VEGF libéré par les cellules tumorales dans l'espace extracellulaire. En se liant aux molécules de VEGF, il empêche leur fixation sur les récepteurs endothéliaux du VEGF et inhibe ainsi la néo-angiogénèse tumorale (figure 50). Il est donc utilisé pour ralentir la croissance de nouveaux vaisseaux sanguins. Cet anticorps peut également être marqué avec le Zirconium 89 ( $^{89}\text{Zr}$ ), sans altérer sa fixation au VEGF. La fixation de  $^{89}\text{Zr}$ -bevacizumab est alors corrélée au niveau d'expression de VEGF par les cellules tumorales [330] : il peut être utilisé pour la caractérisation biologique de ces cellules ainsi que pour la prédiction de l'efficacité de thérapeutiques ciblant l'expression tumorale de VEGF.

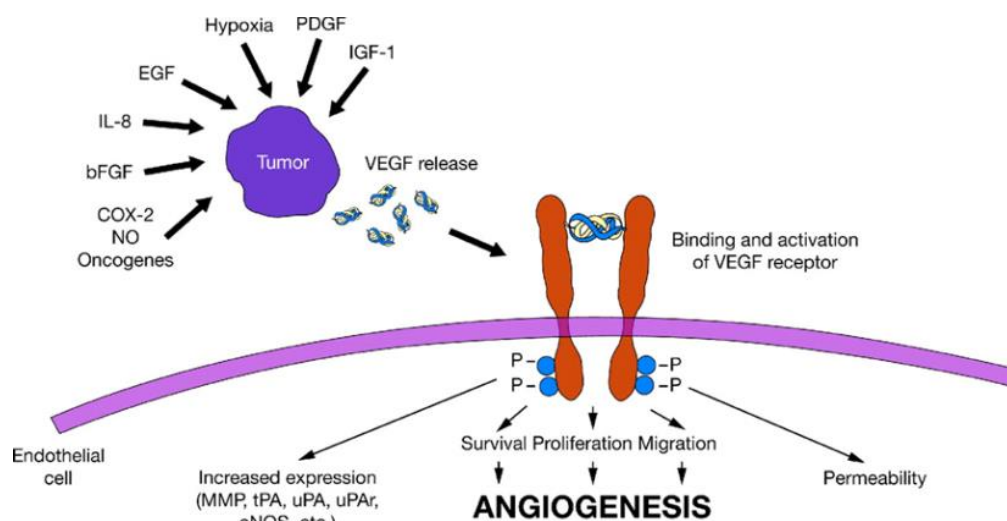


Figure 50 : Les caractéristiques biologiques tumorales et l'environnement de la cellule promeuvent l'expression de VEGF. Images extraites de l'article de Josep Taberero publié en 2007 dans la revue "Molecular cancer Research" [331].

Le développement récent de système hybride TEP-IRM est également un outil prometteur pour l'évaluation de l'angiogénèse tumorale à la fois par l'étude de la fixation de traceurs TEP spécifiques et par l'étude de la perfusion tumorale en IRM [112].

## 4.2 Etude de la prolifération des cellules tumorales

La prolifération cellulaire est une des voies clé du développement tumoral et donc une cible particulièrement intéressante pour l'imagerie moléculaire des tumeurs.

La  $^{18}\text{F}$ -fluorothymidine ( $^{18}\text{FLT}$ ) est le radiotracer TEP de la prolifération qui a été le plus étudié. La fixation cellulaire de la  $^{18}\text{FLT}$  dépend de l'activité de la thymidine kinase-1

des cellules tumorales, surexprimée pendant la phase S du cycle cellulaire. Elle représente l'activité de synthèse de l'ADN directement liée à la prolifération cellulaire [332, 333].

Les premières études ont montré que la fixation tumorale de la  $^{18}\text{F}$ FLT est généralement plus faible que celle du  $^{18}\text{F}$ -FDG [334]. De plus, la fixation physiologique du foie et de la moelle osseuse limite son utilité pour l'étude des lésions de ces 2 organes (figure 51). Mais un des principaux avantages de la  $^{18}\text{F}$ FLT est sa relative indépendance vis-à-vis de l'inflammation tumorale, souvent importante lors de l'initiation du traitement anti-tumoral [335-337]. La  $^{18}\text{F}$ FLT est donc un radiopharmaceutique pertinent pour suivre l'évolution de la prolifération tumorale suite à l'initiation d'un traitement cytotoxique efficace. Par rapport au  $^{18}\text{F}$ -FDG, la  $^{18}\text{F}$ FLT est donc théoriquement moins sujette à l'effet « faux positif » induit par l'inflammation tumorale lors de la réponse au traitement.

Des études menées sur de petits effectifs de patientes ont montré que la TEP à la  $^{18}\text{F}$ FLT peut évaluer plus précocement la réponse tumorale que l'imagerie morphologique [338-340]. Contractor et al ont récemment publié 2 études montrant que les modifications de prolifération tumorale, observées par la TEP à la  $^{18}\text{F}$ FLT 2 semaines après induction du traitement par docetaxel, prédit correctement la réponse clinique à mi-traitement (3 cycles) [339]. Néanmoins, en situation néo-adjuvante, une étude récente ayant inclus 20 patientes a montré des résultats relativement décevants : la fixation tumorale pré-thérapeutique de la  $^{18}\text{F}$ FLT était certes corrélée à l'expression tumorale de Ki-67 ( $p=0.006$ ), mais la baisse de fixation après la première cure de CNA ne permettait pas de prédire la réponse histologique finale [341].

La  $^{18}\text{F}$ FLT est donc un biomarqueur théoriquement idéal pour évaluer très précocement la réponse tumorale après mise en route du traitement ciblant la prolifération tumorale, mais des essais cliniques de plus grande envergure seront nécessaires afin de mieux définir la place de ce radiopharmaceutique par rapport au  $^{18}\text{F}$ -FDG.

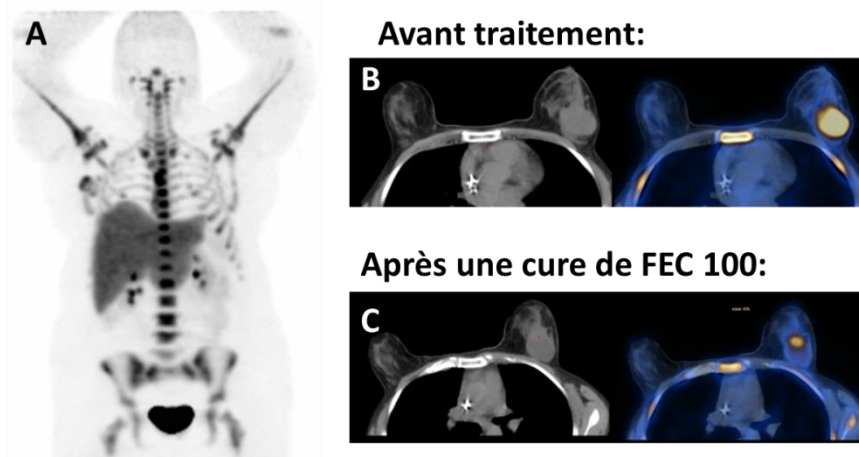


Figure 51: TEP à la  $^{18}\text{FLT}$  : Images MIP (vertex - racines des cuisses) avant traitement (A) ; images axiales mammaires TDM et TEP-TDM fusionnées avant traitement (B) et après une cure de chimiothérapie (C).

### 4.3 Etude de l'expression des récepteurs tumoraux aux œstrogènes

Environ 70% des patientes présentant un cancer du sein ont une expression tumorale des récepteurs aux œstrogènes. Parce que les localisations métastatiques sont habituellement nombreuses et peu accessibles aux biopsies [342], le statut œstrogénique de ces lésions métastatiques est habituellement considéré par le clinicien comme identique à celui de la lésion mammaire primitive. Cependant, en réalité, environ 40% des lésions métastatiques présentent un statut hormonal différent de celui de la tumeur primitive [343].

La TEP à la  $16\alpha\text{-}^{18}\text{F}\text{-fluoro-}17\beta\text{-œstradiol}$  ( $^{18}\text{FES}$ ) est une technique non-invasive qui peut quantifier in-vivo le niveau d'expression de récepteurs aux œstrogènes fonctionnels, lésion métastatique par lésion métastatique pour une même patiente (figure 52). Sa sensibilité et sa spécificité pour détecter les lésions ER positives sont respectivement de 84 et 98% [344]. Cinq études ont étudié la valeur de la TEP à la  $^{18}\text{FES}$  pour prédire la réponse à l'hormonothérapie de cancers du sein métastatiques, incluant un total de 138 patientes [318, 344-347] (tableau 16). La TEP à la  $^{18}\text{FES}$  était réalisée avant la mise en route de l'hormonothérapie. Au total, 49% des patientes ont présenté un bénéfice clinique de l'hormonothérapie selon les critères RECIST évalués à 6 mois ou plus tardivement. Un SUV tumoral pré-thérapeutique supérieur à 1.5 prédisait un bénéfice clinique de l'hormonothérapie avec une valeur prédictive positive de 65% et une valeur prédictive négative de 88%. A l'inverse, l'absence de fixation de la  $^{18}\text{FES}$  (SUV < 1.5) d'une lésion métastatique, prédisait l'absence de réponse à l'hormonothérapie de cette lésion, même pour ces patientes dont la tumeur était pourtant initialement classée ER positive. Une de ces études a également évalué la baisse de fixation tumorale de la  $^{18}\text{FES}$ , 7 à 10 jours après

mise en route du tamoxifène : la diminution était plus forte pour les patientes répondeuses que pour les non-répondeuses (respectivement  $55\pm 14\%$  vs  $19\pm 17\%$ ) [348].

Néanmoins, les différences de seuil prédictif de la réponse entre ces études, ainsi que le faible nombre de patientes incluses, mènent à un faible niveau de preuve. Des études plus importantes sont en cours pour confirmer ces résultats (PHRC Estrotopredic, coordinateur: Dr K. Kerrou, Hôpital Tenon, AP-HP, Paris; Eudract:2011-005043-27).

	Nombre de patientes	Stade	Objectif principal	Conclusions
Dehdashti et al., 1999 [348]	11 patientes ménopausées	Cancer du sein métastatique	Evaluer si les TEP à la FES et au FDG, réalisées 7-10 jours après l'initiation de tamoxifène, prédisent l'hormonosensibilité tumorale.	L'augmentation de la fixation de FDG et la baisse de fixation de la FES après l'introduction de tamoxifène, sont prédictifs de la réponse.
Mortimer et al., 2001 [318]	40 patientes ménopausées	Cancer localement avancé, récurrent ou métastatique	Evaluer si les TEP à la FES et au FDG, réalisées 7-10 jours après l'initiation de tamoxifène, prédisent l'hormonosensibilité tumorale.	L'augmentation de la fixation tumorale de FDG, la fixation pré-thérapeutique de la FES et sa diminution 7-10 jours après l'introduction de tamoxifène sont prédictifs de la réponse tumorale.
Linden et al., 2006 [346]	47 patientes	Cancer du sein métastatique	Quantifier la fixation tumorale de la FES pour prédire la réponse à une hormonothérapie de rattrapage chez des patientes métastatiques, principalement traitées par inhibiteurs de l'aromatase.	L'absence de fixation de la FES en pré-thérapeutique ( $SUV < 1.5$ ) prédit l'échec de l'hormonothérapie
Dehdashti et al., 2009 [345]	51 patientes ménopausées	Cancer localement avancé ou métastatique	Prédire la réponse à l'hormonothérapie (inhibiteur de l'aromatase ou fulvestrant) avec une TEP pré-thérapeutique au FDG et à la FES, avant et après une dose de charge de 30 mg d'estradiol.	Une fixation tumorale de la FES en pré-thérapeutique ( $SUV \geq 2$ ) et l'augmentation de fixation de FDG après une dose d'estradiol, sont prédictifs de l'hormonosensibilité tumorale.
Linden et al., 2011 [347]	30 patientes	Cancer du sein métastatique	Mesurer les changements de fixation tumorale de la FES en cours de traitement par inhibiteur de l'aromatase, tamoxifène ou fulvestrant	Importante baisse de fixation de la FES après introduction du tamoxifène ou du fulvestrant (baisse moyenne de 54%). Diminution plus faible après inhibiteur de l'aromatase (baisse moyenne de 15%).

Tableau 16: Etudes évaluant la prédiction de la réponse clinique avec la TEP à la  $^{18}F$ FES chez des patientes avec un cancer du sein exprimant des récepteurs hormonaux

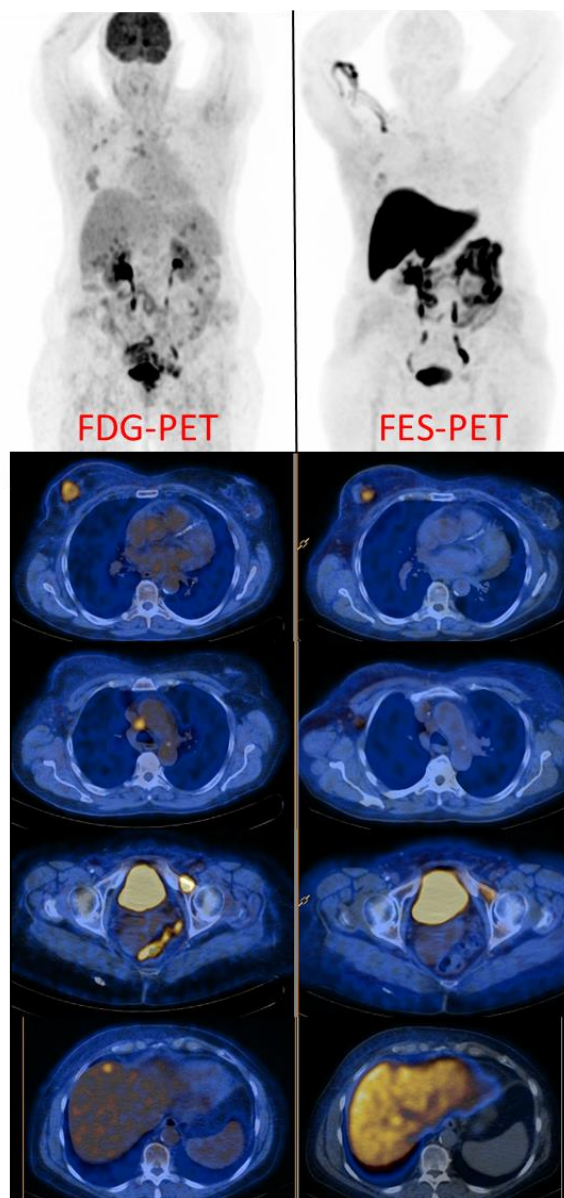


Figure 52: TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG (images de gauche) et TEP à la  $^{18}\text{F}$ FES (images de droite) d'une patiente présentant un cancer du sein métastatique. Les lésions tumorales, fixant toutes intensément le  $^{18}\text{F}$ -FDG, montrent une expression plus hétérogène des récepteurs aux œstrogènes : la tumeur primitive mammaire a une fixation élevée mais hétérogène de la  $^{18}\text{F}$ FES, les adénopathies médiastinales ne montrent pas d'hyperfixation significative de la  $^{18}\text{F}$ FES, la lésion osseuse métastatique sur la branche ischio-pubienne gauche montre une faible fixation de la  $^{18}\text{F}$ FES. La lésion tumorale hépatique n'est pas évaluable avec la TEP à la  $^{18}\text{F}$ FES du fait de la fixation physiologique hépatique intense du traceur (les images ont été obtenus dans le cadre du PHRC Estrotopredic, coordinateur: Dr K. Kerrou, Hôpital Tenon, AP-HP, Paris; Eudract:2011-005043-27).

#### 4.4 Etude du métabolisme de la choline

La choline est une molécule de la famille des alcools aminés et un précurseur des phospholipides membranaires. La choline est phosphorylée dans le cytosol par la choline kinase. La phosphorylcholine est ensuite incorporée dans la phosphatidylcholine, qui est un composant de la membrane cellulaire.

La  $^{18}\text{F}$ -Fluorocholine (FCH) est un radiopharmaceutique dont le métabolisme est identique à celui de la choline. Dans les cellules tumorales, l'augmentation du transport intracellulaire de la choline et l'augmentation de l'activité de la choline kinase aboutissent à une rétention de la FCH [349]. Par rapport au  $^{18}\text{F}$ -FDG, l'intérêt principal de la FCH est d'être métabolisé par des tumeurs peu prolifératives et donc peu glycolytiques, telles que l'adénocarcinome prostatique ou l'hépatocarcinome bien différencié, qui correspondent à l'AMM de la FCH en France.

En oncologie mammaire, peu d'études ont évalué l'intérêt des radio-traceurs de la choline. Il a été montré que la FCH s'accumule dans le cancer du sein [350, 351] et que la fixation mammaire de la choline radio-marquée est plus faible que celle du  $^{18}\text{F}$ -FDG, ce qui permet de mieux délimiter la fixation tumorale de la fixation mammaire physiologique [352]. La FCH présente cependant plusieurs sites d'accumulation et d'élimination physiologiques (notamment au niveau hépatique et digestif) et de nombreuses causes de faux positif (maladies inflammatoires), ce qui rend l'interprétation parfois difficile.

Pour l'instant, aucune étude n'a évalué l'intérêt de la FCH pour le suivi de la réponse tumorale. Dans la suite de ce travail de thèse, nous participons actuellement à un appel à projet du Cancerpole Grand-Est afin d'étudier l'intérêt de la TEP à la FCH pour évaluer précocement l'hormono-sensibilité du cancer du sein luminal A traité par hormonothérapie néoadjuvante.

L'hormonothérapie néoadjuvante est une option thérapeutique efficace et bien tolérée pour les patientes ménopausées présentant un cancer du sein Luminal A, c'est-à-dire exprimant des récepteurs aux œstrogènes (RE) avec un faible index de prolifération cellulaire ( $\text{Ki-67} < 14\%$ ) [353, 354]. Son objectif est une réduction de la taille tumorale pour favoriser par la suite une chirurgie conservatrice. Cependant, après plusieurs semaines d'hormonothérapie néoadjuvante, environ 40% des patientes traitées ne présentent pas de réponse clinique objective [354]. Actuellement, le seul biomarqueur pour prédire précocement l'efficacité de l'hormonothérapie est la baisse d'expression tumorale du Ki-67, un indicateur biologique de la prolifération cellulaire [355]. Sa mesure est invasive car, en plus de la biopsie pré-thérapeutique, elle nécessite une biopsie intermédiaire après 15 jours de traitement.

Le cancer du sein Luminal A est une lésion peu proliférative, peu glycolytique, et donc généralement non-évaluable par la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG [195]. Il apparaît donc intéressant d'étudier l'intérêt de la  $^{18}\text{F}$ -choline, dont l'avantage est d'être métabolisé par des tumeurs

peu prolifératives, pour l'évaluation de la réponse tumorale des lésions lumineales A , traitées par hormonothérapie néoadjuvante.

Ainsi, loin de se limiter à l'étude du métabolisme glucidique des cellules tumorales mammaires, la TEP permet aujourd'hui l'étude in vivo et non-invasive de diverses propriétés biologiques de l'oncogenèse, via le développement préclinique et clinique de nouveaux radiotraceurs émetteurs de positons. Ces biomarqueurs de l'expression tumorale de récepteurs membranaires, de la prolifération cellulaire ou encore de l'angiogenèse tumorale pourraient, dans un avenir proche, aider le clinicien à choisir une thérapie ciblant spécifiquement les voies moléculaires de l'oncogenèse les plus actives pour une patiente donnée, menant ainsi aux concepts de médecine personnalisée et de théranostique.

## ANNEXES

### 1. Annexe 1 : Classification TNM du cancer du sein, 7<sup>ème</sup> édition (2010)

#### Tumeur Primitive T

Tx : la tumeur primitive ne peut pas être évaluée

T0 : la tumeur primitive n'est pas palpable

T1 : tumeur  $\leq 2$  cm dans sa plus grande dimension

· *T1mic : micro-invasion  $\leq 1$  mm dans sa plus grande dimension*

· *T1a :  $1\text{ mm} < \text{tumeur} \leq 5\text{ mm}$  dans sa plus grande dimension*

· *T1b :  $5\text{ mm} < \text{tumeur} \leq 1\text{ cm}$  dans sa plus grande dimension*

· *T1c :  $1\text{ cm} < \text{tumeur} \leq 2\text{ cm}$  dans sa plus grande dimension*

T2 :  $2\text{ cm} < \text{tumeur} \leq 5\text{ cm}$  dans sa plus grande dimension

T3 : tumeur  $> 5$  cm dans sa plus grande dimension

T4 : tumeur, quelle que soit sa taille, avec une extension directe soit à la paroi thoracique (a), soit à la peau (b)

· *T4a : extension à la paroi thoracique en excluant le muscle pectoral*

· *T4b : oedème (y compris peau d'orange) ou ulcération de la peau du sein*

· *T4c : T4a + T4b*

· *T4d : cancer inflammatoire*

#### Ganglions lymphatiques régionaux N

Nx : l'envahissement des ganglions lymphatiques régionaux ne peut pas être évalué

N0 : absence d'envahissement ganglionnaire régional histologique et absence d'examen complémentaire à la recherche de cellules tumorales isolées

N1mi : micrométastases  $> 0,2$  mm et  $\leq 2$  mm

N1 : envahissement de 1 à 3 ganglions axillaires ou/et envahissement des ganglions de la CMI détecté sur ganglion sentinelle sans signe clinique

· *N1a : envahissement de 1 à 3 ganglions axillaires*

· *N1b : envahissement des ganglions de la CMI détecté sur ganglion sentinelle sans signe clinique*

· *N1c : envahissement de 1 à 3 ganglions axillaires et envahissement des ganglions de la CMI détecté sur ganglion sentinelle sans signe clinique (pN1a + pN1b)*

N2 : envahissement de 4 à 9 ganglions axillaires ou envahissement des ganglions mammaires internes homolatéraux suspects, en l'absence d'envahissement ganglionnaire axillaire

· *N2a : envahissement de 4 à 9 ganglions axillaires avec au moins un amas cellulaire  $> 2$  mm*

· *N2b : envahissement des ganglions mammaires internes homolatéraux suspects, en l'absence d'envahissement ganglionnaire axillaire*



N3 : envahissement d'au moins 10 ganglions axillaires ou envahissement des ganglions sous-claviculaires (niveau III axillaire) ou envahissement des ganglions mammaires internes homolatéraux suspects avec envahissement ganglionnaire axillaire ou envahissement de plus de 3 ganglions axillaires et envahissement des ganglions de la CMI détecté sur ganglion sentinelle sans signe clinique ou envahissement des ganglions sus-claviculaires homolatéraux.

### **Métastases à distance (M)**

Mx : renseignements insuffisants pour classer les métastases à distance

M0 : absence de métastases à distance

M1 : présence de métastase(s) à distance

## **2. Annexe 2 : classification UICC du cancer du sein (2010)**

<b>0</b>	Tis N0 M0
<b>I</b>	T1 N0 M0
<b>IIA</b>	T0 N1 M0 ; T1 N1 M0 ; T2 N0 M0 ;
<b>IIB</b>	T2 N1 M0 ; T3 N0 M0
<b>IIIA</b>	T0 N2 M0 ; T1 N2 M0 ; T2 N2 M0 ; T3 N1 M0 ; T3 N2 M0
<b>IIIB</b>	T4 N0 M0 ; T4 N1 M0 ; T4 N2 M0
<b>IIIC</b>	Tous T N3 M0
<b>IV</b>	Tous T Tous N M1

## **3. Annexe 3 : Revue de la littérature publiée en 2015 dans le journal « The Oncologist »**

## Role of Positron Emission Tomography for the Monitoring of Response to Therapy in Breast Cancer

OLIVIER HUMBERT,<sup>a,c,d</sup> ALEXANDRE COCHET,<sup>a,d</sup> BRUNO COUDERT,<sup>b</sup> ALINA BERRIOLO-RIEDINGER,<sup>a</sup> SALIM KANOUN,<sup>a</sup> FRANÇOIS BRUNOTTE,<sup>a,c,d</sup> PIERRE FUMOLEAU<sup>b</sup>

Departments of <sup>a</sup>Nuclear Medicine and <sup>b</sup>Medical Oncology, Centre G.F. Leclerc, Dijon, France; <sup>c</sup>Imaging Department, Centre Hospitalo-Universitaire Le Bocage, Dijon, France; <sup>d</sup>Université de Bourgogne, UMR CNRS 6306, Dijon, France

Disclosures of potential conflicts of interest may be found at the end of this article.

**Key Words.** Breast • Cancer • Positron emission tomography • <sup>18</sup>F-Fluorodeoxyglucose • Response • Monitoring

### ABSTRACT

This review considers the potential utility of positron emission tomography (PET) tracers in the setting of response monitoring in breast cancer, with a special emphasis on glucose metabolic changes assessed with <sup>18</sup>F-fluorodeoxyglucose (FDG). In the neoadjuvant setting of breast cancer, the metabolic response can predict the final complete pathologic response after the first cycles of chemotherapy. Because tumor metabolic behavior highly depends on cancer subtype, studies are ongoing to define the optimal metabolic criteria of tumor response in each subtype. The recent multicentric randomized AVATAXHER trial has suggested, in the human epidermal growth factor 2-positive subtype, a clinical benefit of early tailoring the neoadjuvant treatment in women with poor metabolic response after the first course of treatment. In the bone-dominant metastatic setting, there is increasing clinical evidence that FDG-PET/computed tomography (CT)

is the most accurate imaging modality for assessment of the tumor response to treatment when both metabolic information and morphologic information are considered. Nevertheless, there is a need to define standardized metabolic criteria of response, including the heterogeneity of response among metastases, and to evaluate the costs and health outcome of FDG-PET/CT compared with conventional imaging. New non-FDG radiotracers highlighting specific molecular hallmarks of breast cancer cells have recently emerged in preclinical and clinical studies. These biomarkers can take into account the heterogeneity of tumor biology in metastatic lesions. They may provide valuable clinical information for physicians to select and monitor the effectiveness of novel therapeutics targeting the same molecular pathways of breast tumor. *The Oncologist* 2015;20:1–13

**Implications for Practice:** <sup>18</sup>F-Fluorodeoxyglucose (FDG)-positron emission tomography (PET) is a molecular imaging exam. It can monitor breast cancer response to therapy earlier than the tumor shrinking observed with conventional imaging. This review focuses on the advantages and limits of FDG-PET for early determination of response, both in the neoadjuvant and metastatic settings. It discusses the different PET timing and metabolic criteria to define response that have been evaluated in previous studies. The development of new radiotracers of specific molecular pathways of breast cancer cells is also a challenging and promising research area to monitor the effectiveness of the new target treatments emerging in breast cancer.

### INTRODUCTION

Positron emission tomography (PET) allows noninvasive visualization and quantitative assessment of many biologic processes that are modulated during therapy of breast cancer. Of these, evaluation of glucose metabolism with <sup>18</sup>F-fluorodeoxyglucose (FDG) is the most widely used and has an evolving role in breast cancer management [1]. Because glucose metabolic changes occur earlier than tumor shrinking [2], the ability of FDG-PET to predict treatment response in individual patients has been an active field of research for many years, particularly in the neoadjuvant setting. For the

same reason, but also in the context of the heterogeneity of breast cancer metastases, FDG-PET/computed tomography (CT) has been implemented in the follow-up of metastatic breast cancer. In all cases, accurate early differentiation of responders from nonresponders using FDG-PET/CT is clinically relevant to avoid unnecessary drug toxicities and to allow an early switch of noneffective treatment.

Besides FDG, new radiotracers of specific molecular pathways of breast cancer have recently emerged. These biomarkers of receptor expression, tumor cell proliferation, or

Correspondence: Olivier Humbert, M.D., Centre G.F. Leclerc, 1 rue du Pr Marion, 21000 Dijon, France. Telephone: 33-3-80737522; E-Mail: ohumbert@cgfl.fr Received September 8, 2014; accepted for publication November 25, 2014. ©AlphaMed Press 1083-7159/2015/\$20.00/0 <http://dx.doi.org/10.1634/theoncologist.2014-0342>

angiogenesis may provide valuable clinical information to select the most efficient treatment and to monitor the effectiveness of novel therapeutics.

#### MATERIALS AND METHODS

We searched for studies that evaluated the value of PET for monitoring the response to therapy of breast cancer. The search was performed using the electronic database PubMed (<http://www.pubmed.com>) until May 2014. The search strategy included the keywords "PET" or "PET/CT"; "breast cancer" or "breast carcinoma"; "response" or "monitoring"; "neoadjuvant" or "primary" or "metastatic"; "chemotherapy" or "hormone therapy" or "endocrine therapy"; "HER2" or "triple negative" or "luminal"; "18F-FDG" or "FDG" or "FES" or "FLT" or "15O-water"; and "glucidic metabolism" or "blood flow" or "angiogenesis." Studies were considered eligible if they included women with breast cancer who were initiated with chemotherapy or endocrine therapy either in the neoadjuvant or metastatic settings with baseline and interim PET. Both prospective and retrospective studies were included on the condition that they were published in English in a peer-reviewed journal. Except for the ACRIN 6688 and ZEPHIR trials, both presented at the 2014 American Society of Clinical Oncology (ASCO) meeting, unpublished data, case reports, abstracts, and letters were not sought.

We screened the titles and abstracts of all potentially relevant articles to determine eligibility. All studies matching the eligibility criteria were retrieved, and bibliographies were checked for other relevant publications. The bibliographies of relevant review articles were also hand-searched to identify additional studies. If few articles were available on a precise question being address in the present review, they are mentioned. If many articles were eligible, only the ones considered to be "major articles" are mentioned. Articles were considered major either because they correspond to first pilot studies that were later corroborated, because of their good design and high impact factor of the journal in which they were published, or because of a relatively higher number of women included compared with other studies. We also searched for meta-analysis.

Although systematic literature search protocols were applied to provide an overview of the area of the present subject, the PRISMA Statement guidelines could not be entirely applied because of the extended field of the topic, the methodological heterogeneity in the literature existing, and the lack of evidence on this subject. Moreover, combining data from these heterogeneous studies would not have been appropriate.

#### FDG-PET IN THE NEOADJUVANT SETTING

Neoadjuvant chemotherapy (NAC) is used in large but operable breast cancer to downstage the primary tumor and increase the rate of breast conservative surgery [3, 4]. NAC also provides the opportunity to evaluate *in vivo* the breast tumor sensitivity to therapeutics. Women who achieve a pathological complete response (pCR) in the breast and axillary nodes at the end of NAC seem to have significantly improved survival [5, 6]. However, this conclusion depends on breast cancer subtype [6]. Thus, pathological examination at the end of NAC has been used as a surrogate of survival for assessing treatment efficacy,

but pathological response cannot be determined until surgery. An earlier tumoral response assessment could allow for adjusting the treatment to the individual tumor response during NAC.

Because of delayed tumor shrinking and difficulties in differentiating residual fibrosis from active tumor, conventional imaging (CI) is of limited accuracy to assess the response to NAC [2]. Because glucose metabolism is increased in breast cancer, the monitoring of the metabolic response with FDG-PET has been proposed for the early prediction of pCR [7–15]. PET uptake measures can provide a continuous indicator of response and carries information beyond the standard dichotomous evaluations usually used in other response assessments. Although interesting papers published by Dunnwald et al. [16] have shown that FDG uptake kinetic analysis may hold an advantage over static uptake measures for response assessment, the most-used parameter is the percentage decrease of the tumor maximal standard uptake value (SUV) between baseline and post-treatment exam ( $\Delta$ SUV). Indeed, this parameter is easier to measure than FDG kinetic parameters in routine practice and is more reproducible among centers than absolute SUV values [17]. A study by Schwarz-Dose et al. [12], prospectively including 104 women, found that a  $\Delta$ SUV superior to 45% after the first cycle predicts a pathological response with a sensitivity of 73%, a specificity of 63%, a positive predictive value (PPV) of 36%, and a negative predictive value (NPV) of 90%. Similar results were found after the second cycle of NAC, using a threshold of 55%.

Three meta-analyses were published [18–20]: results indicate that FDG-PET has reasonable sensitivity to make early predictions regarding histopathological response to NAC in breast cancer, all tumor subtypes included. Mghanga et al. [20] included 15 studies (745 patients). The pooled sensitivity, specificity, PPV, and NPV were 80.5%, 78.8%, 79.8%, and 79.5%, respectively. Mghanga et al. concluded that FDG-PET is valuable for early monitoring of breast cancer response to NAC, with a trend toward a higher sensitivity after the second course than after the first course. This meta-analysis also underlined the great heterogeneity of the monocentric studies. Indeed, the definition of the pathological response largely varies from one study to another, considering or not axillary lymph nodes involvement (Table 1). Differences in PET timing were also observed. Consequently, the thresholds of  $\Delta$ SUV to define metabolic response largely differ across studies, ranging from 40% to 88% SUV decrease (Table 1). In addition to the predictive value of FDG-PET, this exam also carries an independent prognostic value: a high tumor SUV can help discriminate patients at high risk of tumor relapse [21, 22].

Since the original works published by Sorlie and Perou [23–26], gene expression profiling has led to a new molecular classification of breast cancer. A more easy-to-use, biology-based classification has arisen in clinical practice [27–30]. Both classification systems demonstrated distinct breast cancer subtypes with predictive and prognostic significance. The influence of these entities on the tumor metabolic behavior became a matter of interest.

At baseline, FDG avidity correlates with high tumor grading, high mitotic activity, negative hormonal receptor status, tumor proliferation index assessed with Ki-67: it is thus a marker of tumor aggressiveness [9, 31]. A first paper of our

**Table 1.** Some of the studies evaluating the predictive value of  $\Delta$ SUV with FDG-PET (CT) on tumor pathological response at the end of neoadjuvant chemotherapy

Study	Patients (n)	Tumor stage	Timing of interim PET	Optimal pet timing	Number of cycles of NAC	Histological scale	Definition of pathological responders	Axillary involvement considered	Pathological responders according to definition	Optimal SUV decrease cutoff	Accuracy
Schelling et al. (2000) [7]	22	Large (T $\geq$ 3 cm) and LABC	After 1 and 2 cycles	One and or two cycles	2-4	Honkoop	pCR and pMRD	No	29%	55% (ROC)	88% (first cycle) and 91% (second cycle)
Rousseau et al. (2006) [8]	64	Stage II-III	After 1, 2, and 3 cycles	Two cycles	4-6	Sataloff	Sataloff TA-B	No	56%	40% (ROC)	77% (first cycle) and 87% (second cycle)
Berriolo-Riedinger et al. (2007) [9]	47	Large and LABC	After 1 cycle	One cycle	4-6	Sataloff	Sataloff TA NA-B	Yes	23%	60% (ROC)	87%
McDermott et al. (2007) [10]	96	Large and LABC	After 1 cycle, midpoint, endpoint	Between one cycle and midpoint	6 or 8	Miller-Payne	Miller-Payne grades 4 and 5	No	Not indicated	24% after 1 cycle and 58% at midpoint (ROC)	65% (first cycle) and 78% (midpoint)
Schwarz-Dose et al. (2009) [12]	104	Large (T $\geq$ 3 cm) and LABC	After 1 and 2 cycles	One or two courses, equally	4-6	Honkoop	pCR and pMRD	No	16%	45% after 1 cycle and 55% after 2 cycles (ROC)	65% (first cycle) and 64% (second cycle)
Duch et al. (2009) [15]	50	Stage II-III	After 2 cycles	After two cycles	4	Miller-Payne	Miller-Payne grades 4 and 5	No	22%	40% (ROC)	78%
Kolesnikov-Gauthier et al. (2012) [13]	63	Large and LABC	After 1 and 2 cycles	After 1 and 2 cycles	6	Sataloff	Sataloff TA	No	21%	15% prospectively defined (EORTC)	Not indicated (sensitivity = 36%, specificity = 100%)

Abbreviations: CT, computed tomography; EORTC, European Organization for Research and Treatment of Cancer; FDG, fluorodeoxyglucose; LABC, locally advanced breast cancer; NAC, neoadjuvant chemotherapy; pCR, pathological complete response; PET, positron emission tomography; pMRD, pathological minimal residual disease; ROC, receiver operating characteristic curves; SUV, standard uptake value; T, tumor.

institution, confirmed by other studies, demonstrated that both the tumor metabolism at baseline and the metabolic response after the first cycle of treatment are highly dependent on the tumoral subtype [32–34]. Thereafter, different metabolic patterns have been identified in each of the three main biologic subtypes of breast cancer.

### HER2-Positive Subtype

Approximately 20% of invasive breast cancers overexpress human epidermal growth factor 2 (HER2). This subtype is highly proliferative, but its prognosis has been strongly improved with the advent of trastuzumab [35–37]. Because new therapies are available in this subtype (i.e., dual anti-HER2 blockage, the addition of an antiangiogenic drug), the early identification of poor-responding women after a first line of trastuzumab/cytotoxic drugs is an important clinical issue.

Initial results were conflicting because two studies demonstrated a good value of early FDG-PET/CT to predict pCR [38, 39], contrasting with the results of Koolen et al. [40, 41]. The two positive studies found that absolute residual SUV at interim PET was the best predictive marker. Groheux et al. [38] found that a tumor and axillary SUV <3.0 after two cycles of NAC was a good predictor of a pCR (PPV = 92%, NPV = 88%, accuracy = 90%). Although Humbert et al. [39] found tumor SUV <2.1 to be the optimal cutoff after the first cycle (PPV, NPV, and accuracy = 76%). Contrary to Humbert et al., trastuzumab was introduced after four cycles of NAC in Groheux's study, explaining the lower early tumor response. Both studies found a lower predictive value of  $\Delta$ SUV. Nevertheless, the strength of  $\Delta$ SUV is to be less affected by technical factors than absolute SUV and to be more reproducible among centers in multicentric trials [17], and its predictive value can be improved by the exclusion of low metabolic tumors at baseline [39].

The neo-ALTO study enrolled women with HER2+ breast cancer and compared metabolic response to neoadjuvant lapatinib and/or trastuzumab. In 66 women, FDG-PET/CT was performed at baseline; at weeks 2 and 6, pCR rate was twice as high for PET responders than nonresponders (week 2: 42% vs. 21%,  $p = .12$ ; week 6: 44% vs. 19%,  $p = .005$ ). The authors concluded that FDG-PET/CT is efficient for monitoring the tumor response to neoadjuvant anti-HER2 therapy alone [42].

Coudert et al. [43] planned the AVATAXHER multicentric phase 2 randomized trial to assess the benefit of adding bevacizumab after the second cycle of treatment in women who responding poorly ( $\Delta$ SUV <70%) to trastuzumab/docetaxel. The addition of bevacizumab for women with a poor metabolic response increased the pCR rate from 24% to 43.8%. This is the first study suggesting that tailoring the NAC regimen to the early metabolic response might be of clinical benefit. The prognostic value of the metabolic response in this subtype has not been evaluated yet.

### Triple-Negative Subtype

Approximately 15% of breast cancers are triple-negative (negative estrogen and progesterone receptors, no HER2 overexpression) [44]. It is a highly chemosensitive subtype with a pCR frequently reached, but the prognosis remains poor, particularly when pCR is not achieved at the end of NAC [6, 45, 46].

This aggressive subtype has the highest baseline SUV [32, 33, 47]. In the recent study of Groheux et al. [48], 50 patients were included. Interim FDG-PET/CT was performed after the second course of NAC. The mean  $\Delta$ SUV of the primary tumor was –72% in the pCR group versus –38% in the non-pCR group ( $p < .0001$ ). Using a 50% cutoff,  $\Delta$ SUV was the best PET parameter to predict pCR, corroborating previous results [40, 49]. Interim PET was also associated with patient outcome: the 3-year event-free survival was 77.5% in metabolic responders ( $\Delta$ SUV  $\geq$  42%) versus 47.1% in nonresponders ( $\Delta$ SUV <42%).

The main limit is the heterogeneity of the NAC regimen used across studies and the usual switch to another regimen at midpoint of NAC in triple-negative (TN) breast cancer. Two previous studies showed that  $\Delta$ SUV is dependent on the type and sequence of drugs used [32, 50]. Therefore, the observed metabolic response may not be sustained after the switch. Care must be taken when interpreting FDG-PET in settings of TN women with a midcourse switch.

### Luminal/HER2-Negative Subtype

Despite a favorable prognosis, the luminal subtype usually has a low chemosensitivity. pCR is rarely achieved [29], and an intermediate tumor reduction allowing a conservative surgery is a more reasonable aim. Because NAC is controversial in this low chemosensitive subtype, there is a need for early biomarker to predict which luminal tumors will respond to NAC.

When primary tumor has a low pretherapy uptake, the ability of PET to detect it and to assess its response is limited [10, 51]: this limitation is usually observed in the luminal/HER2 subtype, which has the lowest baseline SUV and  $\Delta$ SUV [32, 33]. Moreover, because pCR is rare in this subtype, previous studies failed to demonstrate its prediction with FDG-PET [41, 52, 53]. Koolen et al. [41] found that  $\Delta$ SUV was predictive of “near pCR,” allowing few scattered cells, but the prognostic value of this definition is controversial [6]. In this subtype, the metabolic tumor volume could be more accurate than the SUV to predict the response [52, 54].

Because pCR is very uncommon, a study of our institution directly assessed the prognostic value of PET [53]. We demonstrated that tumor metabolism at baseline, and changes after the first course were early surrogate markers of 5 years of patient survival, independently of the pathologic response. We were able to identify a subgroup of patients with a high risk of relapse (5-year relapse-free survival [RFS] of 33%) based on a high baseline tumor metabolism and a low metabolic response following one cycle of chemotherapy. In contrast, patients with a low baseline tumor metabolism or a high baseline tumor metabolism followed by a good metabolic response had a low risk of relapse (5-year RFSs of 93% and 88%, respectively). Moreover, the baseline tumor metabolism was strongly correlated with tumor proliferation index: low-metabolic luminal tumors had low Scarff-Bloom-Richardson grade and Ki-67 expression, contrary to hypermetabolic ones, which presented increased proliferation indexes and mainly belonged to the luminal B subtype.

### FDG-PET IN THE METASTATIC SETTING

Contrary to the neoadjuvant setting, the pathological response generally cannot be obtained in the metastatic setting. Because a change in tumor size is an indicator of outcome in the treatment of many solid tumors [55], it is the most

frequently used surrogate endpoint to evaluate therapeutic effects in metastatic disease. Anatomic imaging is used for this purpose (predominantly ultrasound, CT, or magnetic resonance imaging [MRI]). The Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) have been defined [56] and updated [57] to standardize this response assessment.

However, criteria based on the size of tumors are limited because new targeted therapies are more cytostatic than cytotoxic. Moreover, change in tumor size is also not a good surrogate of bone lesion response, and the RECIST 1.1 criteria specify that bone lesions without soft tissue components cannot be considered as measurable [57]. This is a major limitation because bone is the preferential site of breast cancer metastases [58, 59].

In order to overcome this problem, the University of Texas M.D. Anderson Cancer Center has developed more specific response criteria for bone metastases response monitoring (MDA Criteria), combining quantitative (size measurement) and qualitative (sclerotic bone reaction) assessments [60, 61]. Despite such efforts, Hayashi et al. [62] found that the MDA criteria predicted progression-free survival at 6 months, but not earlier. Indeed, because morphologic imaging does not directly reflect tumor cell viability, but rather the secondary effect on bone adjacent tissue, morphologic changes are often delayed during chemotherapy [63] and do not seem to correlate with the presence of residual active tumor [64]. Moreover, a “flare” reaction can be assessed on CT or bone scan, corresponding to the sclerotic healing (Fig. 1), making the response evaluation difficult [60, 65].

In contrast, PET reflects cellular and molecular changes of tumor cells occurring before tumor shrinking, as demonstrated in 1993 by Wahl et al. [2]. In 2002, Stafford et al. [66] published preliminary results showing that changes in tumor FDG uptake with therapy were correlated with the overall clinical assessment of response ( $p < .01$ ) and concluded that serial FDG-PET can help in bone response assessment. This was corroborated by Schwarz-Dose et al. [67], who included 11 patients with 26 metastatic lesions in first-line therapy: metabolic tumor changes, evaluated after the first and second courses of chemotherapy, correctly predicted the final clinical response in all women. Regarding the optimal timing for interim PET, Couturier et al. [68] had conflicting results: they found that PET changes after the third cycle of chemotherapy, but not after the first, predicting the clinical response after six cycles and overall survival. Tumor metabolic early change as a surrogate of survival in bone-dominant metastatic breast tumor response was later confirmed by Specht et al. [69]. A greater than 41% decline in SUV of the most hypermetabolic lesion at baseline was associated with a longer time to progression ( $p < .005$ ). However, this study was retrospective with a large interval between PET exams ranging from 1 to 17 months. Cachin et al. [70] also found that a complete PET response after completion of high-dose chemotherapy (maximum three cycles) can more powerfully stratify for survival than conventional imaging (including CT).

Later, the development of integrated FDG-PET/CT has improved the accuracy of the response evaluation beyond that achievable by PET alone by adding information on bone morphological changes, particularly interesting for bone metastases (Fig. 1). Indeed, FDG uptake reflects the metabolic

feature of bone metastases independently of their CT pattern (osteoblastic and osteoclastic) [64].

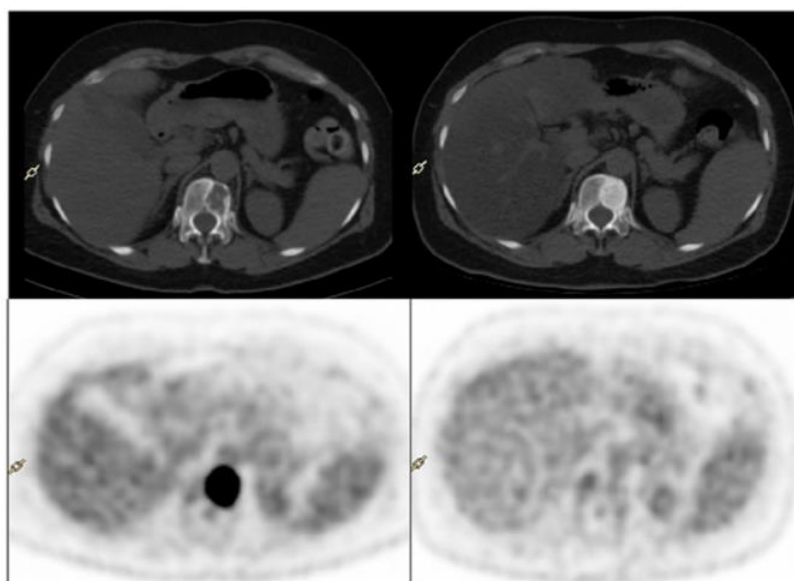
Tateishi et al. [71] retrospectively compared the prognostic value of morphologic and metabolic changes in bones metastases in patients with metastatic breast cancer, both evaluated with a FDG-PET/CT. One hundred and two women treated with first-line hormone-chemotherapy were included. PET/CT was performed at baseline and after treatment (mean: 28 days; range: 21–38 days). Only the metastatic lesion that exhibited the most substantial uptake was selected as the target lesion for response. Results showed that an increase in CT attenuation and a decrease in SUV of bone metastases were associated with response duration. Multivariate analysis showed that a decrease in SUV of 8.5% or more was the only significant predictor of long response duration. This  $\Delta$ SUV threshold differs from that of Specht’s study (41%), possibly in relation with the difference of time between PET exams [69].

Thus, many studies have demonstrated that FDG-PET/CT is more accurate than morphologic CI for early monitoring of response to therapy, with a good prognostic stratification [64, 71]. FDG-PET/CT may emerge as a standard of care in bone metastatic breast cancer.

### Evaluation of Response to Endocrine Therapy

Endocrine therapy is an efficient and low-toxicity treatment in metastatic hormone-positive (HR) breast cancer. It is often used as the first line treatment [72], but only 30%–50% of women with HR+ metastatic disease respond to first-line hormonotherapy [73, 74]. It may be explained by the heterogeneity of HR expression in the metastases, the sampling error of a one-site biopsy, and the presence of non-functional estrogen receptors (ERs). Thus, identification of other predictive biomarkers of the tumor hormone sensitivity remains an important clinical issue.

In responding tumors, an early increase in FDG uptake has been described 7–10 days after introduction of tamoxifen therapy [75]. This metabolic flare reaction may be explained by an initial increase in cell growth caused by an agonist effect of therapy and implies that ERs are functional. Thus, it is an early predictor of tumor sensitivity to endocrine therapy [75, 76]. In contrast, because antiaromatase therapy lowers estradiol level and thus reduces the tumor agonist effect, responding patients shows an early drop in tumor FDG uptake after antiaromatase induction [77]. Dehdashti et al. [78] demonstrated that an estradiol challenge (30 mg of estradiol), initiated before the antiaromatase therapy, can restore the metabolic flair that both predicts tumor response and longer overall survival. Only one study has evaluated the relevance of FDG-PET/CT for the delayed monitoring of metastatic breast cancer treated with endocrine therapy. PET/CT exams were performed at baseline and after  $10 \pm 4$  weeks [79]. Using cutoffs of 25% SUV increase or decrease, progressive, stable, and partial metabolic response disease showed median progression-free survival times of 6, 27, and 20 months, respectively ( $p < .0001$ ). FDG-PET/CT can thus be used for the delayed monitoring of response to hormone therapy, usually indicated for bone-dominant metastatic cancer, in which morphological modalities often fail to assess tumor response [60, 64].



**Figure 1.** Example of fluorodeoxyglucose-positron emission tomography (PET)/computed tomography (CT) exam before (left) and after (right) 3 months of eribulin and trastuzumab therapy in a woman with an osteolytic metastases of breast cancer, located on TH12 . After treatment, CT showed an important sclerotic reaction of the bone lesion, whereas PET showed no more metabolic activity. Both the anatomic and molecular imaging are in favor of a good response to systemic treatment.

Because antiaromatase therapy lowers estradiol level and thus reduces the tumor agonist effect, responding patients shows an early drop in tumor FDG uptake after antiaromatase induction. Dehdashti et al. demonstrated that an estradiol challenge (30 mg of estradiol), initiated before the antiaromatase therapy, can restore the metabolic flair that both predicts tumor response and longer overall survival

### Limitations

All the studies previously mentioned were monocentric, and most of them were retrospective. They suffer from a lack of consensus on the optimal PET timing and metabolic criteria to use for response evaluation, compared with RECIST. Consequently, the 2012 NCCN Guidelines have pointed out this lack of standardization as a key limitation for using FDG-PET/CT in the metastatic setting of breast cancer, emphasizing the need of further prospective studies [80].

Currently, two sets of response criteria using PET are available: those developed by the European Organization for Research and Treatment of Cancer [81] and the PET Response Criteria in Solid Tumors (PERCIST) [82]. These criteria are still matters of debate. One first critical point is that the metabolic response is highly influenced by the cancer genomic and immunohistological subtype and by the treatment [32]. The optimal criteria therefore need to be adapted to each situation.

A second limit is that PERCIST, like RECIST, evaluates change of SUV only in the most active lesion(s), without considering the frequently observed intraindividual heterogeneity of the response among lesions in metastatic breast cancer. FDG-PET/CT being a whole body evaluation of metastases with a unique procedure is much more reliable than conventional imaging to

identify a mixed response (Fig. 2). Huyge et al. [83] have performed serial FDG-PET/CT in women with bone-dominant metastatic breast cancer. Coexistence of responding and nonresponding metastatic lesions was observed in 43% of women with a trend toward an intermediate outcome in these patients, compared with women with homogeneous response or nonresponse.

To create the reproducibility that is needed in multicentric trials, further multicentric studies should thus be conducted to define robust standardized metabolic criteria in the monitoring of metastatic breast cancer, taking into account the various subtypes of breast cancer, the treatments used, and the heterogeneity of response among metastases.

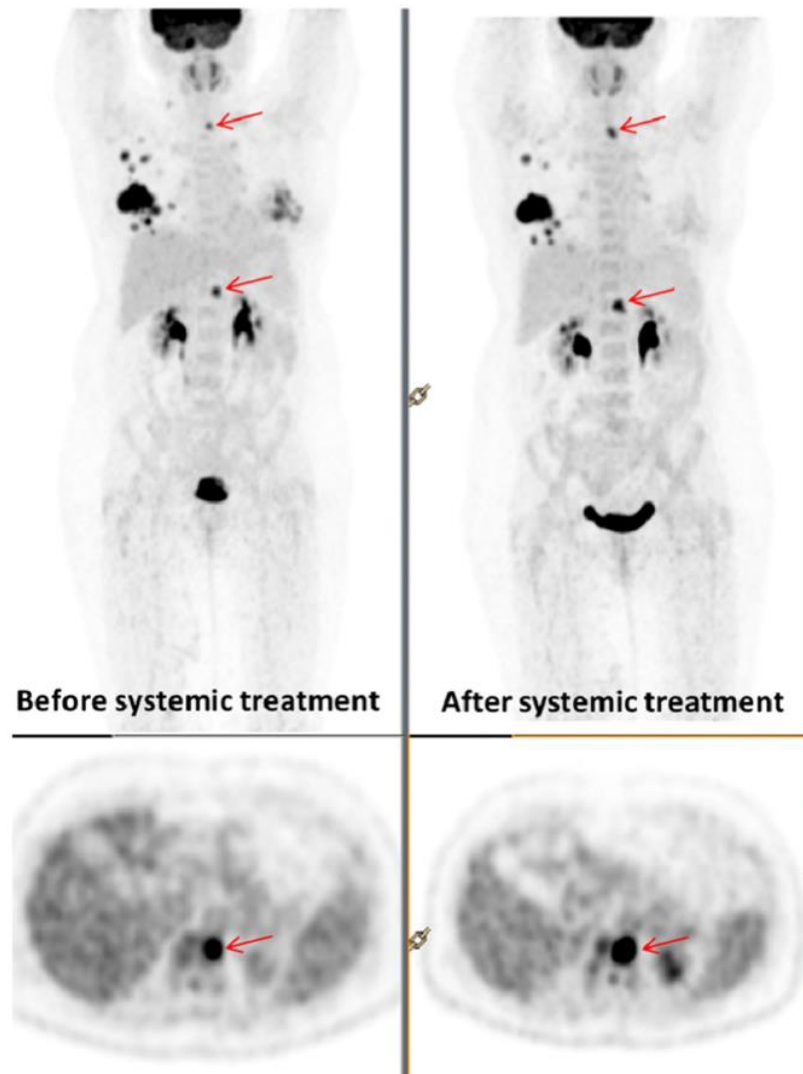
### NEW TRACERS OF OTHER MOLECULAR PATHWAYS FOR BREAST TUMOR RESPONSE EVALUATION

Recent identification of molecular alterations in key proteins involved in breast cancer cell proliferation has led to the development of new target therapies. Specific biomarkers are required to evaluate these molecular pathways.

Furthermore, breast cancer is a heterogeneous tumor made up of different cell clones [84, 85]. Imaging tracers have the advantage of taking into account the heterogeneity of tumor biology in metastatic lesions, whereas biopsies are subject to sample error.

### Changes in Tumor Cell Proliferation

Proliferation is one of the key behaviors of cancer and is thus particularly attractive in cancer imaging. The most studied PET proliferation tracer is  $^{18}\text{F}$ -fluorothymidine (FLT). Its uptake depends on the activity of thymidine kinase-1, overexpressed during the S phase of the cell cycle [86, 87]. Its use is limited by a lower uptake than FDG [88], and a high physiological uptake in the liver and in bone marrow limits its use for evaluating metastases in these organs [88]. The main advantage of FLT is



**Figure 2.** Discordant response between bone and visceral metastases on fluorodeoxyglucose (FDG)-positron emission tomography (PET) exams performed before (left) and after (right) 3 months of treatment with gemcitabine-trastuzumab. Baseline FDG-PET shows hypermetabolic activity in bilateral and multifocal breast tumors, lymph node involvement of right axilla, and bone metastases. After treatment, PET demonstrated a heterogeneous metabolic response with coexistence of responding (left breast, axillary nodes) and nonresponding metastatic bone lesions (red arrows, moderate increased in focal uptake of the two bone lesions).

its lower accumulation caused by tumor inflammation [89–91], which may reduce the false-positive effects of inflammatory reaction encountered with FDG-PET. Small studies have shown that FLT could reflect treatment effectiveness earlier than anatomic imaging [92–94]. Contractor et al. have recently demonstrated that changes in FLT-PET uptake within 2 weeks after initiating the first or second cycle of docetaxel can predict the anatomic response at midtherapy (after three cycles) with good sensitivity [93] and is correlated with the decrease of circulatory tumor cells [94]. In the neoadjuvant setting, the few studies are contradictory. A recent study including 20 women has reported disappointing results: FLT breast tumor uptake at baseline was correlated with baseline Ki-67 ( $p = .006$ ), but the decrease after the first cycle of NAC did not predict pathological response [95]. In contrast, preliminary results of the ACRIN 6688 multicentric trials, presented at the 2014 ASCO meeting, found that FLT-PET after the first cycle of NAC was marginally predictive

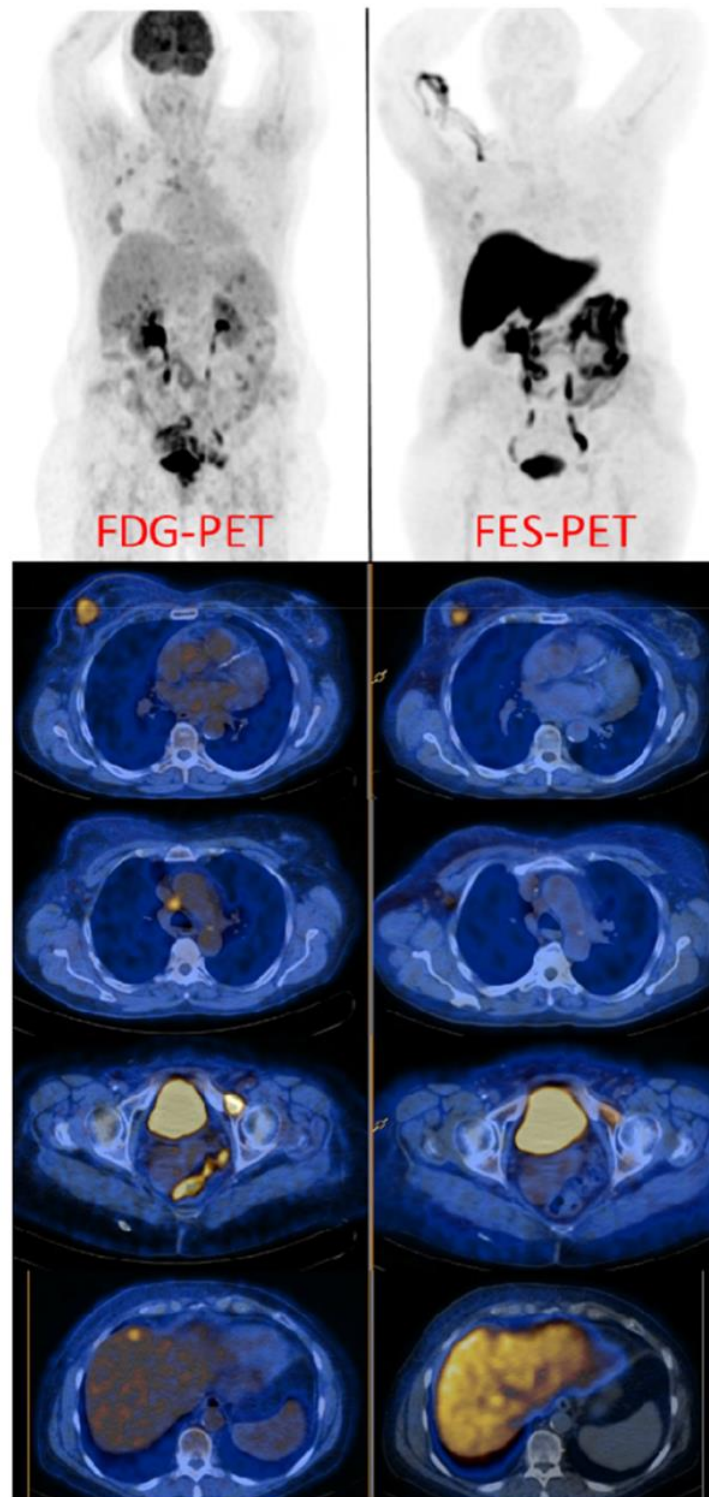
of pCR in 51 women [96]. Further works are warranted to establish the exact clinical role of FLT for monitoring breast tumor response, compared with FDG.

Contractor et al. have recently demonstrated that changes in FLT-PET uptake within 2 weeks after initiating the first or second cycle of docetaxel can predict the anatomic response at midtherapy (after three cycles) with good sensitivity and is correlated with the decrease of circulatory tumor cells.

#### Changes in Tumor Blood Flow and Angiogenesis

Angiogenesis is an important hallmark of tumor growth [97] and has become a therapeutic target in breast cancer. Imaging





**Figure 3.** FDG-PET exam (left) and FES-PET exam (right) of a woman with metastatic breast cancer. The tumor lesions, assessed with FDG-PET, showed heterogeneous expression of estrogen receptors: primary breast tumor had a high but heterogeneous uptake pattern of FES, mediastinal nodes showed no significant FES uptake, and the bone metastasis on the left ischiopubic branch showed weak FES uptake. The liver metastasis was not evaluable with FES-PET because of the high physiological uptake of the liver (images are obtained from Estrotopredic Programme Hospitalier de Recherche Clinique, coordinator: Dr. K. Kerrou, Hôpital Tenon, Assistance-Publique–Hôpitaux de Paris, Paris; Eudract: 2011-005043-27).

Abbreviations: FDG, fluorodeoxyglucose; FES,  $16\alpha$ - $^{18}\text{F}$ -fluoro- $17\beta$ -estradiol; PET, positron emission tomography.

**Table 2.** Studies evaluating the prediction of response with FES-PET in women with estrogen receptor-positive breast cancer

Study	Number of patients	Stage	Main goal	Conclusions
Dehdashti et al. (1999) [76]	11 postmenopausal women	Metastatic breast cancer	To investigate whether FES and FDG-PET, performed both before and 7–10 days after initiation of tamoxifen, can predict hormonally responsive breast cancer	Increase in FDG uptake and the degree of ER blockage, evaluated by FES uptake decrease after the initiation of tamoxifen, predicted response
Mortimer et al. (2001) [75]	40 postmenopausal women	Locally advanced, recurrent, or metastatic	To investigate whether FES and FDG-PET, performed both before and 7–10 days after initiation of tamoxifen, can predict hormonally responsive breast cancer	Increase in FDG uptake, baseline FES uptake and decrease in FES uptake 7–10 days after the initiation of tamoxifen predicted response
Linden et al. (2006) [113]	47	Metastatic breast cancer	To quantify tumor FES uptake to predict response to salvage hormonal treatment in heavily pretreated metastatic breast cancer patients, predominantly treated with aromatase inhibitors.	Absence of FES uptake (SUV <1.5) predict failure of endocrine therapy; may help to guide treatment selection
Dehdashti et al. (2009) [78]	51 postmenopausal women	Locally advanced or metastatic	To predict the response to endocrine therapy (aromatase inhibitor or fulvestrant) with baseline FES-PET and FDG-PET before and after challenge with 30 mg of estradiol	Baseline FES uptake (SUV $\geq 2$ ) and metabolic FDG flare after estradiol challenge can predict the response to therapy
Linden et al. (2011) [120]	30	Metastatic	To measure changes in FES uptake during treatment with aromatase inhibitor, tamoxifen, or fulvestrant	High decreases with tamoxifen and fulvestrant (54% average decline); lowest decrease after aromatase inhibitor (15% average decline)

Abbreviations: FDG, fluorodeoxyglucose; FES,  $16\alpha$ - $^{18}\text{F}$ -fluoro- $17\beta$ -estradiol; PET, positron emission tomography; SUV, standard uptake value.

of changes in tumor flow during therapy is an important clinical issue to evaluate the efficacy of these drugs.

The Seattle group has assessed perfusion in breast cancer using  $^{15}\text{O}$ -labeled water [34, 98–101]. They determined that blood flow decrease after 2 months of therapy can predict tumor response and outcome in women receiving NAC [99, 100]. Moreover, locally advanced breast cancer tumors with a baseline flow-glycolytic metabolism mismatch (low tumor blood flow but high glycolytic metabolism) are more resistant to therapy, predicting a low likelihood of pCR and higher risk of early relapse [98, 101]. This mismatch is more common in triple-negative tumors [34].

In a few papers, determination of tumor blood flow and metabolism with a single injection of FDG was suggested to be an alternative to the less available  $^{15}\text{O}$ -water. Indeed, dynamic FDG-PET can indirectly evaluate blood flow using a two-compartment model [100, 102], but it requires an acquisition of 1 hour. Mullani et al. [103] used a shorter first-pass method to calculate blood flow by dynamic imaging 2 minutes after FDG injection: it was linearly correlated with the  $^{15}\text{O}$ -water method. Cochet et al. [104] demonstrated that, in breast cancer, blood flow determined with this first-pass FDG method was correlated with tumor angiogenesis evaluated by immunohistochemistry.

Other molecular pathways have been studied.  $\alpha_v\beta_3$  integrin is a protein expressed on activated endothelial cells during angiogenesis. It is involved in tumor growth, local invasiveness, and metastatic spread [105]. Promising PET tracers have been developed to image this protein:  $^{18}\text{F}$ -galacto-RGD is the most studied one [105–107]. In breast cancer, a clinical study demonstrated elevated and highly variable  $\alpha_v\beta_3$  expression in primary tumor, assessed with PET [105].

Vascular endothelial growth factor (VEGF) is a molecular target of the monoclonal antibody bevacizumab. When labeled with 89-zirconium ( $^{89}\text{Zr}$ ), bevacizumab preserves its VEGF-binding properties.  $^{89}\text{Zr}$ -Bevacizumab tumor uptake correlated with VEGF tumor levels [108] and might be valuable for prediction and evaluation of the effect of VEGF-targeting therapeutics. In the near future, the development of a PET/MRI integrated system will permit the combination of imaging of molecular targets using PET tracers and study of perfusion using MRI [109].

### Estrogen Receptor Tumor Expression

Approximately 70% of women with breast cancer have ER-positive tumors. Currently, because distant metastases are numerous and not easily accessible for biopsies [110], patients with metastatic breast cancer are usually stratified according to the immunohistochemistry analysis of the primary tumor, but approximately 40% of them have discordant ER expression across lesions [111]. PET with  $16\alpha$ - $^{18}\text{F}$ -fluoro- $17\beta$ -estradiol (FES) can characterize and quantify the in vivo functional status of ER expression in all tumor lesions within one patient (Fig. 3). Its sensitivity and specificity to detect ER+ lesions are evaluated at 84% and 98%, respectively [112]. Four studies reported the predictive value of FES tumor uptake for response to endocrine therapy in 138 patients with metastatic breast cancer [75, 76, 78, 112, ] (Table 2). FES-PET was performed before introducing endocrine therapy. A tumor SUV higher than 1.5 at baseline predicts a clinical benefit with a PPV of 65% and a NPV of 88%. Thus, in patients with a previously ER+ tumor, low FES uptake in metastasis predicts nonresponse to endocrine therapy. One of these studies, including 40 women, also found that the decrease in FES uptake 7–10 days after induction of tamoxifen, corresponding to ER blockage, was

greater in responders than nonresponders ( $55\% \pm 14\%$  vs.  $19\% \pm 17\%$ , respectively) [75]. Nevertheless, the limited number of women included, the differences in optimal SUV cutoff, and the predictive value require additional studies.

Many other PET tracers are being evaluated, for example  $^{89}\text{Zr}$ -trastuzumab [114–117]. The few studies published demonstrated a good uptake in HER2-positive liver, lung, bone, and brain metastases. The multicentric ZEPHYR trial, presented at the 2014 ASCO meeting, found promising first results for  $^{89}\text{Zr}$ -trastuzumab as a predictive marker for trastuzumab/emtansine (T-DM1) therapy in HER2+ breast cancer [118]. Promising works are also ongoing in progesterone-receptor imaging [119].

### CONCLUSION

FDG-PET is a promising early imaging biomarker of the efficacy of breast treatment. First studies demonstrated that, in the neoadjuvant setting, the metabolic response can predict final pCR after the first cycles of NAC. However, breast cancer is a heterogeneous disease, and following studies showed that tumor metabolic behavior highly depends on the various biologic subtypes of breast cancer. In subgroup analysis, FDG-PET seems to correctly predict pCR in HER2-positive and TN subtypes, whereas it may rather be a surrogate marker of survival in luminal tumors. Rigorous prospective clinical trials are mandatory to define the optimal metabolic criteria of good and poor metabolic response for each of the three main biologic subtypes of breast cancer and answer questions about the optimal PET timing. Randomized clinical trials, evaluating different PET-based therapeutic strategies, are also needed to demonstrate a clinical benefit of an early tailoring of the neoadjuvant treatment.

In the metastatic setting, there is increasing clinical evidence that FDG-PET/CT is the most accurate and earlier imaging modality for assessment of the tumor response to treatment when both metabolic and morphologic tumor data are

considered. Compared with other imaging modalities, whole-body FDG-PET/CT is particularly efficient in measuring bone metastasis response and may emerge as a standard of care.

Many therapies targeting specific molecular hallmarks of breast tumor cells have recently emerged, with encouraging and sometimes disappointing results. The concurrent development of new predictive surrogate markers of the efficacy of these treatments is required to reveal their true potential. In the future, new radiopharmaceuticals highlighting specific molecular pathways of an individual tumor may help physicians to select the optimal target therapy, leading to a more personalized treatment. The role of imaging biomarkers, compared with biological and molecular biomarkers of response (circulating tumor cells for example) will also have to be better defined.

### ACKNOWLEDGMENT

This review is part of the PharmImage project.

### AUTHOR CONTRIBUTIONS

**Conception/Design:** Olivier Humbert, Alexandre Cochet, Bruno Coudert, Alina Berriolo-Riedinger, Salim Kanoun, François Brunotte, Pierre Fumoleau

**Provision of study material or patients:** Olivier Humbert

**Collection and/or assembly of data:** Olivier Humbert, Alexandre Cochet, Alina Berriolo-Riedinger

**Data analysis and interpretation:** Olivier Humbert, Alina Berriolo-Riedinger, François Brunotte, Pierre Fumoleau

**Manuscript writing:** Olivier Humbert, Alexandre Cochet, Bruno Coudert, Pierre Fumoleau

**Final approval of manuscript:** Olivier Humbert, Alexandre Cochet, Bruno Coudert, Alina Berriolo-Riedinger, Salim Kanoun, François Brunotte, Pierre Fumoleau

### DISCLOSURES

**Bruno Coudert:** Laboratory Roche (C/A); **Pierre Fumoleau:** Sanofi, Roche, GlaxoSmithKline, Janssen, Eisai, Debiopharm (C/A). The other authors indicated no financial relationships.

### REFERENCES

- Groheux D, Espié M, Giacchetti S et al. Performance of FDG PET/CT in the clinical management of breast cancer. *Radiology* 2013;266:388–405.
- Wahl RL, Zasadny K, Helvie M et al. Metabolic monitoring of breast cancer chemohormonotherapy using positron emission tomography: Initial evaluation. *J Clin Oncol* 1993;11:2101–2111.
- Fisher B, Brown A, Mamounas E et al. Effect of preoperative chemotherapy on local-regional disease in women with operable breast cancer: Findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18. *J Clin Oncol* 1997;15:2483–2493.
- Gralow JR, Burstein HJ, Wood W et al. Preoperative therapy in invasive breast cancer: Pathologic assessment and systemic therapy issues in operable disease. *J Clin Oncol* 2008;26:814–819.
- Kuerer HM, Newman LA, Smith TL et al. Clinical course of breast cancer patients with complete pathologic primary tumor and axillary lymph node response to doxorubicin-based neoadjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol* 1999;17:460–469.
- von Minckwitz G, Untch M, Blohmer JU et al. Definition and impact of pathologic complete response on prognosis after neoadjuvant chemotherapy in various intrinsic breast cancer subtypes. *J Clin Oncol* 2012;30:1796–1804.
- Schelling M, Avril N, Nahrig J et al. Positron emission tomography using [ $^{18}\text{F}$ ]fluorodeoxyglucose for monitoring primary chemotherapy in breast cancer. *J Clin Oncol* 2000;18:1689–1695.
- Rousseau C, Devillers A, Sagan C et al. Monitoring of early response to neoadjuvant chemotherapy in stage II and III breast cancer by [ $^{18}\text{F}$ ]fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *J Clin Oncol* 2006;24:5366–5372.
- Berriolo-Riedinger A, Touzery C, Riedinger JM et al. [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-PET predicts complete pathological response of breast cancer to neoadjuvant chemotherapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2007;34:1915–1924.
- McDermott GM, Welch A, Staff RT et al. Monitoring primary breast cancer throughout chemotherapy using FDG-PET. *Breast Cancer Res Treat* 2007;102:75–84.
- Kumar A, Kumar R, Seenu V et al. The role of  $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT in evaluation of early response to neoadjuvant chemotherapy in patients with locally advanced breast cancer. *Eur Radiol* 2009;19:1347–1357.
- Schwarz-Dose J, Untch M, Tiling R et al. Monitoring primary systemic therapy of large and locally advanced breast cancer by using sequential positron emission tomography imaging with [ $^{18}\text{F}$ ]fluorodeoxyglucose. *J Clin Oncol* 2009;27:535–541.
- Kolesnikov-Gauthier H, Vanlemmens L, Baranzelli MC et al. Predictive value of neoadjuvant chemotherapy failure in breast cancer using FDG-PET after the first course. *Breast Cancer Res Treat* 2012;131:517–525.
- Duch J, Fuster D, Muñoz M et al. PET/CT with [ $^{18}\text{F}$ ] fluorodeoxyglucose in the assessment of metabolic response to neoadjuvant chemotherapy in locally advanced breast cancer. *Q J Nucl Med Mol Imaging* 2012;56:291–298.
- Duch J, Fuster D, Muñoz M et al.  $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT for early prediction of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2009;36:1551–1557.
- Dunnwald LK, Doot RK, Specht JM et al. PET tumor metabolism in locally advanced breast cancer patients undergoing neoadjuvant chemotherapy: Value of static versus kinetic measures of fluorodeoxyglucose uptake. *Clin Cancer Res* 2011;17:2400–2409.
- Boellaard R. Need for standardization of  $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT for treatment response assessments. *J Nucl Med* 2011;52(suppl 2):935–1005.
- Cheng X, Li Y, Liu B et al.  $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT and PET for evaluation of pathological response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: A meta-analysis. *Acta Radiol* 2012;53:615–627.

19. Wang Y, Zhang C, Liu J et al. Is 18F-FDG PET accurate to predict neoadjuvant therapy response in breast cancer? A meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat* 2012;131:357–369.
20. Mghanga FP, Lan X, Bakari KH et al. Fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography-computed tomography in monitoring the response of breast cancer to neoadjuvant chemotherapy: A meta-analysis. *Clin Breast Cancer* 2013;13:271–279.
21. Ohara M, Shigematsu H, Tsutani Y et al. Role of FDG-PET/CT in evaluating surgical outcomes of operable breast cancer: Usefulness for malignant grade of triple-negative breast cancer. *Breast* 2013;22:958–963.
22. Ahn SG, Lee M, Jeon TJ et al. [18F]-fluorodeoxyglucose positron emission tomography can contribute to discriminate patients with poor prognosis in hormone receptor-positive breast cancer. *PLoS One* 2014;9:e105905.
23. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000;406:747–752.
24. Sørlie T, Perou CM, Tibshirani R et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:10869–10874.
25. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:8418–8423.
26. Rouzier R, Perou CM, Symmans WF et al. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2005;11:5678–5685.
27. Bhargava R, Striebel J, Beriwal S et al. Prevalence, morphologic features and proliferation indices of breast carcinoma molecular classes using immunohistochemical surrogate markers. *Int J Clin Exp Pathol* 2009;2:444–455.
28. de Ronde JJ, Hannemann J, Halfwerk H et al. Concordance of clinical and molecular breast cancer subtyping in the context of preoperative chemotherapy response. *Breast Cancer Res Treat* 2010;119:119–126.
29. Bhargava R, Beriwal S, Dabbs DJ et al. Immunohistochemical surrogate markers of breast cancer molecular classes predicts response to neoadjuvant chemotherapy: A single institutional experience with 359 cases. *Cancer* 2010;116:1431–1439.
30. Darb-Esfahani S, Loibl S, Muller BM et al. Identification of biology-based breast cancer types with distinct predictive and prognostic features: Role of steroid hormone and HER2 receptor expression in patients treated with neoadjuvant anthracycline/taxane-based chemotherapy. *Breast Cancer Res* 2009;11:R69.
31. García García-Esquinas M, García-Sáenz JA, Arrazola García J et al. 18F-FDG PET-CT imaging in the neoadjuvant setting for stages II-III breast cancer: Association of loco-regional SUVmax with classical prognostic factors. *Q J Nucl Med Mol Imaging* 2014;58:66–73.
32. Humbert O, Berriolo-Riedinger A, Riedinger JM et al. Changes in 18F-FDG tumor metabolism after a first course of neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: Influence of tumor subtypes. *Ann Oncol* 2012;23:2572–2577.
33. Keam B, Im SA, Koh Y et al. Early metabolic response using FDG PET/CT and molecular phenotypes of breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy. *BMC Cancer* 2011;11:452.
34. Specht JM, Kurland BF, Montgomery SK et al. Tumor metabolism and blood flow as assessed by positron emission tomography varies by tumor subtype in locally advanced breast cancer. *Clin Cancer Res* 2010;16:2803–2810.
35. Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B et al. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2005;353:1659–1672.
36. Gianni L, Eiermann W, Semiglazov V et al. Neoadjuvant chemotherapy with trastuzumab followed by adjuvant trastuzumab versus neoadjuvant chemotherapy alone, in patients with HER2-positive locally advanced breast cancer (the NOAH trial): A randomised controlled superiority trial with a parallel HER2-negative cohort. *Lancet* 2010;375:377–384.
37. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med* 2001;344:783–792.
38. Groheux D, Giacchetti S, Hatt M et al. HER2-overexpressing breast cancer: FDG uptake after two cycles of chemotherapy predicts the outcome of neoadjuvant treatment. *Br J Cancer* 2013;109:1157–1164.
39. Humbert O, Cochet A, Riedinger JM et al. HER2-positive breast cancer: <sup>18</sup>F-FDG PET for early prediction of response to trastuzumab plus taxane-based neoadjuvant chemotherapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2014;41:1525–1533.
40. Koolen BB, Pengel KE, Wesseling J et al. FDG PET/CT during neoadjuvant chemotherapy may predict response in ER-positive/HER2-negative and triple negative, but not in HER2-positive breast cancer. *Breast* 2013;22:691–697.
41. Koolen BB, Pengel KE, Wesseling J et al. Sequential (18)F-FDG PET/CT for early prediction of complete pathological response in breast and axilla during neoadjuvant chemotherapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2014;41:32–40.
42. Gebhart G, Gámez C, Holmes E et al. 18F-FDG PET/CT for early prediction of response to neoadjuvant lapatinib, trastuzumab, and their combination in HER2-positive breast cancer: Results from Neo-ALTO. *J Nucl Med* 2013;54:1862–1868.
43. Coudert B, Piergat JY, Mouret-Reynier MA et al. Use of [18F]-FDG PET to predict response to neoadjuvant trastuzumab and docetaxel in patients with HER2-positive breast cancer, and addition of bevacizumab to neoadjuvant trastuzumab and docetaxel in [18F]-FDG PET-predicted non-responders (AVATAXHER): An open-label, randomized phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2014;15:1493–1502.
44. Boyle P. Triple-negative breast cancer: Epidemiological considerations and recommendations. *Ann Oncol* 2012;23(suppl 6):vi7–vi12.
45. Carey LA, Dees EC, Sawyer L et al. The triple negative paradox: Primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. *Clin Cancer Res* 2007;13:2329–2334.
46. Liedtke C, Mazouni C, Hess KR et al. Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 2008;26:1275–1281.
47. Basu S, Chen W, Tchou J et al. Comparison of triple-negative and estrogen receptor-positive/progesterone receptor-positive/HER2-negative breast carcinoma using quantitative fluorine-18 fluorodeoxyglucose/positron emission tomography imaging parameters: A potentially useful method for disease characterization. *Cancer* 2008;112:995–1000.
48. Groheux D, Hindié E, Giacchetti S et al. Early assessment with 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography can help predict the outcome of neoadjuvant chemotherapy in triple negative breast cancer. *Eur J Cancer* 2014;50:1864–1871.
49. Groheux D, Hindié E, Giacchetti S et al. Triple-negative breast cancer: Early assessment with 18F-FDG PET/CT during neoadjuvant chemotherapy identifies patients who are unlikely to achieve a pathologic complete response and are at a high risk of early relapse. *J Nucl Med* 2012;53:249–254.
50. Schneider-Kolsky ME, Hart S, Fox J et al. The role of chemotherapeutic drugs in the evaluation of breast tumour response to chemotherapy using serial FDG-PET. *Breast Cancer Res* 2010;12:R37.
51. Doot RK, Dunnwald LK, Schubert EK et al. Dynamic and static approaches to quantifying 18F-FDG uptake for measuring cancer response to therapy, including the effect of granulocyte CSF. *J Nucl Med* 2007;48:920–925.
52. Groheux D, Hatt M, Hindié E et al. Estrogen receptor-positive/human epidermal growth factor receptor 2-negative breast tumors: Early prediction of chemosensitivity with (18)F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography during neoadjuvant chemotherapy. *Cancer* 2013;119:1960–1968.
53. Humbert O, Berriolo-Riedinger A, Cochet A et al. Prognostic relevance at 5 years of the early monitoring of neoadjuvant chemotherapy using (18)F-FDG PET in luminal HER2-negative breast cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2014;41:416–427.
54. Hatt M, Groheux D, Martineau A et al. Comparison between 18F-FDG PET image-derived indices for early prediction of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *J Nucl Med* 2013;54:341–349.
55. Bruzzi P, Del Mastro L, Sormani MP et al. Objective response to chemotherapy as a potential surrogate end point of survival in metastatic breast cancer patients. *J Clin Oncol* 2005;23:5117–5125.
56. Therasse P, Arbuuck SG, Eisenhauer EA et al. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:205–216.
57. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J et al. New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer* 2009;45:228–247.
58. Coleman RE. Clinical features of metastatic bone disease and risk of skeletal morbidity. *Clin Cancer Res* 2006;12:6243s–6249s.
59. Harvey HA, Cream L. Biology of bone metastases: Causes and consequences. *Clin Breast Cancer* 2007;7(suppl 1):S7–S13.
60. Hamaoka T, Madewell JE, Podoloff DA et al. Bone imaging in metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2004;22:2942–2953.
61. Hamaoka T, Costelloe CM, Madewell JE et al. Tumour response interpretation with new tumour response criteria vs the World Health Organisation criteria in patients with bone-only metastatic breast cancer. *Br J Cancer* 2010;102:651–657.
62. Hayashi N, Costelloe CM, Hamaoka T et al. A prospective study of bone tumor response assessment in metastatic breast cancer. *Clin Breast Cancer* 2013;13:24–30.

63. Avril N, Sassen S, Roylance R. Response to therapy in breast cancer. *J Nucl Med* 2009;50(suppl 1):555–635.
64. Du Y, Cullum I, Illidge TM et al. Fusion of metabolic function and morphology: Sequential [18F] fluorodeoxyglucose positron-emission tomography/computed tomography studies yield new insights into the natural history of bone metastases in breast cancer. *J Clin Oncol* 2007;25:3440–3447.
65. Schneider JA, Divgi CR, Scott AM et al. Flare on bone scintigraphy following Taxol chemotherapy for metastatic breast cancer. *J Nucl Med* 1994;35:1748–1752.
66. Stafford SE, Gralow JR, Schubert EK et al. Use of serial FDG PET to measure the response of bone-dominant breast cancer to therapy. *Acad Radiol* 2002;9:913–921.
67. Schwarz-Dose J, Bader M, Jenicke L et al. Early prediction of response to chemotherapy in metastatic breast cancer using sequential 18F-FDG PET. *J Nucl Med* 2005;46:1144–1150.
68. Couturier O, Jerusalem G, N'Guyen JM et al. Sequential positron emission tomography using [18F]fluorodeoxyglucose for monitoring response to chemotherapy in metastatic breast cancer. *Clin Cancer Res* 2006;12:6437–6443.
69. Specht JM, Tam SL, Kurland BF et al. Serial 2-[18F] fluoro-2-deoxy-D-glucose positron emission tomography (FDG-PET) to monitor treatment of bone-dominant metastatic breast cancer predicts time to progression (TTP). *Breast Cancer Res Treat* 2007;105:87–94.
70. Cachin F, Prince HM, Hogg A et al. Powerful prognostic stratification by [18F]fluorodeoxyglucose positron emission tomography in patients with metastatic breast cancer treated with high-dose chemotherapy. *J Clin Oncol* 2006;24:3026–3031.
71. Tateishi U, Gamez C, Dawood S et al. Bone metastases in patients with metastatic breast cancer: Morphologic and metabolic monitoring of response to systemic therapy with integrated PET/CT. *Radiology* 2008;247:189–196.
72. Beslija S, Bonnetterre J, Burstein HJ et al. Third consensus on medical treatment of metastatic breast cancer. *Ann Oncol* 2009;20:1771–1785.
73. Mouridsen H, Gershanovich M, Sun Y et al. Superior efficacy of letrozole versus tamoxifen as first-line therapy for postmenopausal women with advanced breast cancer: Results of a phase III study of the International Letrozole Breast Cancer Group. *J Clin Oncol* 2001;19:2596–2606.
74. Howell A, Robertson JF, Quaresma Albano J et al. Fulvestrant, formerly ICI 182,780, is as effective as anastrozole in postmenopausal women with advanced breast cancer progressing after prior endocrine treatment. *J Clin Oncol* 2002;20:3396–3403.
75. Mortimer JE, Dehdashti F, Siegel BA et al. Metabolic flare: Indicator of hormone responsiveness in advanced breast cancer. *J Clin Oncol* 2001;19:2797–2803.
76. Dehdashti F, Flanagan FL, Mortimer JE et al. Positron emission tomographic assessment of “metabolic flare” to predict response of metastatic breast cancer to antiestrogen therapy. *Eur J Nucl Med* 1999;26:51–56.
77. Kurland BF, Gadi VK, Specht JM et al. Feasibility study of FDG PET as an indicator of early response to aromatase inhibitors and trastuzumab in a heterogeneous group of breast cancer patients. *EJNMMI Res* 2012;2:34.
78. Dehdashti F, Mortimer JE, Trinkaus K et al. PET-based estradiol challenge as a predictive biomarker of response to endocrine therapy in women with estrogen-receptor-positive breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2009;113:509–517.
79. Mortazavi-Jehanno N, Giraudet AL, Champion L et al. Assessment of response to endocrine therapy using FDG PET/CT in metastatic breast cancer: A pilot study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2012;39:450–460.
80. Carlson RW, Allred DC, Anderson BO et al. Metastatic breast cancer, version 1.2012: Featured updates to the NCCN guidelines. *J Natl Compr Canc Netw* 2012;10:821–829.
81. Young H, Baum R, Cremerius U et al. Measurement of clinical and subclinical tumour response using [18F]-fluorodeoxyglucose and positron emission tomography: Review and 1999 EORTC recommendations. *Eur J Cancer* 1999;35:1773–1782.
82. Wahl RL, Jacene H, Kasamon Y et al. From RECIST to PERCIST: Evolving Considerations for PET response criteria in solid tumors. *J Nucl Med* 2009;50(suppl 1):122S–150S.
83. Huyge V, Garcia C, Alexiou J et al. Heterogeneity of metabolic response to systemic therapy in metastatic breast cancer patients. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2010;22:818–827.
84. Heim S, Teixeira MR, Dietrich CU et al. Cytogenetic polyclonality in tumors of the breast. *Cancer Genet Cytogenet* 1997;95:16–19.
85. Teixeira MR, Pandis N, Bardi G et al. Karyotypic comparisons of multiple tumorous and macroscopically normal surrounding tissue samples from patients with breast cancer. *Cancer Res* 1996;56:855–859.
86. Kenny LM, Vigushin DM, Al-Nahhas A et al. Quantification of cellular proliferation in tumor and normal tissues of patients with breast cancer by [18F]fluorothymidine-positron emission tomography imaging: Evaluation of analytical methods. *Cancer Res* 2005;65:10104–10112.
87. Soloviev D, Lewis D, Honess D et al. [(18)F]FLT: An imaging biomarker of tumour proliferation for assessment of tumour response to treatment. *Eur J Cancer* 2012;48:416–424.
88. Kenny LM, Al-Nahhas A, Aboagye EO. Novel PET biomarkers for breast cancer imaging. *Nucl Med Commun* 2011;32:333–335.
89. van Waarde A, Cobben DC, Suurmeijer AJ et al. Selectivity of 18F-FLT and 18F-FDG for differentiating tumor from inflammation in a rodent model. *J Nucl Med* 2004;45:695–700.
90. van Waarde A, Elsinga PH. Proliferation markers for the differential diagnosis of tumor and inflammation. *Curr Pharm Des* 2008;14:3326–3339.
91. Yue J, Chen L, Cabrera AR et al. Measuring tumor cell proliferation with 18F-FLT PET during radiotherapy of esophageal squamous cell carcinoma: A pilot clinical study. *J Nucl Med* 2010;51:528–534.
92. Pio BS, Park CK, Pietras R et al. Usefulness of 3'-[F-18]fluoro-3'-deoxythymidine with positron emission tomography in predicting breast cancer response to therapy. *Mol Imaging Biol* 2006;8:36–42.
93. Contractor KB, Kenny LM, Stebbing J et al. [18F]-3'-Deoxy-3'-fluorothymidine positron emission tomography and breast cancer response to docetaxel. *Clin Cancer Res* 2011;17:7664–7672.
94. Contractor K, Aboagye EO, Jacob J et al. Monitoring early response to taxane therapy in advanced breast cancer with circulating tumor cells and [(18)F] 3'-deoxy-3'-fluorothymidine PET: A pilot study. *Biomarkers Med* 2012;6:231–233.
95. Woolf DK, Beresford M, Li SP et al. Evaluation of FLT-PET-CT as an imaging biomarker of proliferation in primary breast cancer. *Br J Cancer* 2014;110:2847–2854.
96. Kostakoglu L. Phase II study of 3'-deoxy-3'-18F fluorothymidine PET/CT (FLT-PET) in the assessment of early response in locally advanced breast cancer (LABC): Preliminary results of ACRIN 6688. Poster presented at: Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology; May 30 to June 3, 2014; Chicago, IL.
97. Folkman J. Tumor angiogenesis: Therapeutic implications. *N Engl J Med* 1971;285:1182–1186.
98. Mankoff DA, Dunnwald LK, Gralow JR et al. Blood flow and metabolism in locally advanced breast cancer: Relationship to response to therapy. *J Nucl Med* 2002;43:500–509.
99. Mankoff DA, Dunnwald LK, Gralow JR et al. Changes in blood flow and metabolism in locally advanced breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy. *J Nucl Med* 2003;44:1806–1814.
100. Dunnwald LK, Gralow JR, Ellis GK et al. Tumor metabolism and blood flow changes by positron emission tomography: Relation to survival in patients treated with neoadjuvant chemotherapy for locally advanced breast cancer. *J Clin Oncol* 2008;26:4449–4457.
101. Eby PR, Partridge SC, White SW et al. Metabolic and vascular features of dynamic contrast-enhanced breast magnetic resonance imaging and (15)O-water positron emission tomography blood flow in breast cancer. *Acad Radiol* 2008;15:1246–1254.
102. Tseng J, Dunnwald LK, Schubert EK et al. 18F-FDG kinetics in locally advanced breast cancer: Correlation with tumor blood flow and changes in response to neoadjuvant chemotherapy. *J Nucl Med* 2004;45:1829–1837.
103. Mullani NA, Herbst RS, O'Neil RG et al. Tumor blood flow measured by PET dynamic imaging of first-pass 18F-FDG uptake: A comparison with 15O-labeled water-measured blood flow. *J Nucl Med* 2008;49:517–523.
104. Cochet A, Pigeonnat S, Khoury B et al. Evaluation of breast tumor blood flow with dynamic first-pass 18F-FDG PET/CT: Comparison with angiogenesis markers and prognostic factors. *J Nucl Med* 2012;53:512–520.
105. Beer AJ, Niemeyer M, Carlsen J et al. Patterns of alphavbeta3 expression in primary and metastatic human breast cancer as shown by 18F-Galacto-RGD PET. *J Nucl Med* 2008;49:255–259.
106. Beer AJ, Haubner R, Sarbia M et al. Positron emission tomography using [18F]Galacto-RGD identifies the level of integrin alpha(v)beta3 expression in man. *Clin Cancer Res* 2006;12:3942–3949.
107. Beer AJ, Haubner R, Wolf I et al. PET-based human dosimetry of 18F-galacto-RGD, a new radiotracer for imaging alpha v beta3 expression. *J Nucl Med* 2006;47:763–769.
108. Gaykema SB, Brouwers AH, Lub-de Hooge MN et al. 89Zr-bevacizumab PET imaging in primary breast cancer. *J Nucl Med* 2013;54:1014–1018.
109. O'Flynn EA, DeSouza NM. Functional magnetic resonance: Biomarkers of response in breast cancer. *Breast Cancer Res* 2011;13:204.
110. Chung GG, Zerkowski MP, Ghosh S et al. Quantitative analysis of estrogen receptor heterogeneity in breast cancer. *Lab Invest* 2007;87:662–669.

- 111.** Amir E, Miller N, Geddie W et al. Prospective study evaluating the impact of tissue confirmation of metastatic disease in patients with breast cancer. *J Clin Oncol* 2012;30:587–592.
- 112.** van Kruchten M, de Vries EG, Brown M et al. PET imaging of oestrogen receptors in patients with breast cancer. *Lancet Oncol* 2013;14:e465–e475.
- 113.** Linden HM, Stekhova SA, Link JM et al. Quantitative fluoroestradiol positron emission tomography imaging predicts response to endocrine treatment in breast cancer. *J Clin Oncol* 2006;24:2793–2799.
- 114.** Dijkers EC, Kosterink JG, Rademaker AP et al. Development and characterization of clinical-grade 89Zr-trastuzumab for HER2/neu immunoPET imaging. *J Nucl Med* 2009;50:974–981.
- 115.** Dijkers EC, Oude Munnink TH, Kosterink JG et al. Biodistribution of 89Zr-trastuzumab and PET imaging of HER2-positive lesions in patients with metastatic breast cancer. *Clin Pharmacol Ther* 2010;87:586–592.
- 116.** Gaykema SB, Brouwers AH, Hovenga S et al. Zirconium-89-trastuzumab positron emission tomography as a tool to solve a clinical dilemma in a patient with breast cancer. *J Clin Oncol* 2012;30:e74–e75.
- 117.** Gaykema SB, Schröder CP, Vitfell-Rasmussen J et al. 89Zr-trastuzumab and 89Zr-bevacizumab PET to evaluate the effect of the HSP90 inhibitor NVP-AUY922 in metastatic breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 2014;20:3945–3954.
- 118.** Gebhart G. PET/CT with 89Zr-trastuzumab and 18F-FDG to individualize treatment with trastuzumab emtansine (T-DM1) in metastatic HER2-positive breast cancer. Oral abstract presented at: Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology; May 30 to June 3, 2014; Chicago, IL.
- 119.** Dehdashti F, Laforest R, Gao F et al. Assessment of progesterone receptors in breast carcinoma by PET with 21-18F-fluoro-16 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -[(R)-(1'- $\alpha$ -furylmethylidene)dioxy]-19-norpregn-4-ene-3,20-dione. *J Nucl Med* 2012;53:363–370.
- 120.** Linden HM, Kurland BF, Peterson LM et al. Fluoroestradiol positron emission tomography reveals differences in pharmacodynamics of aromatase inhibitors, tamoxifen, and fulvestrant in patients with metastatic breast cancer. *Clin Cancer Res* 2011;17:4799–4805.

## References

1. Binder-Foucard F, Belot A, Delafosse P, Remontet L, Woronoff AS, Bossard N. Estimation nationale de l'incidence et de la mortalité par cancer en France entre 1980 et 2012 - Partie 1 - Tumeurs solides. Editeur: Institut de veille sanitaire. 2013.
2. Verdecchia A, Francisci S, Brenner H, Gatta G, Micheli A, Mangone L, et al. Recent cancer survival in Europe: a 2000-02 period analysis of EURO CARE-4 data. *Lancet Oncol* 2007; 8:784-796.
3. Tavassoli FA, Devilee P. WHO classification : tumours of the breast and female genital organs. Oxford University Press. 2003.
4. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. C. W. Elston & I. O. Ellis. *Histopathology* 1991; 19; 403-410. *Histopathology* 2002; 41:151-2, discussion.
5. Nixon AJ, Schnitt SJ, Gelman R, Gage I, Bornstein B, Hetelekidis S, et al. Relationship of tumor grade to other pathologic features and to treatment outcome of patients with early stage breast carcinoma treated with breast-conserving therapy. *Cancer* 1996; 78:1426-1431.
6. Pinder SE, Murray S, Ellis IO, Trihia H, Elston CW, Gelber RD, et al. The importance of the histologic grade of invasive breast carcinoma and response to chemotherapy. *Cancer* 1998; 83:1529-1539.
7. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de RM, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000; 406:747-752.
8. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98:10869-10874.
9. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100:8418-8423.
10. Cancer Genome Atlas network. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2012; 490:61-70.
11. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100:8418-8423.
12. Rouzier R, Perou CM, Symmans WF, Ibrahim N, Cristofanilli M, Anderson K, et al. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2005; 11:5678-5685.
13. Konecny GE, Pegram MD, Venkatesan N, Finn R, Yang G, Rahmeh M, et al. Activity of the dual kinase inhibitor lapatinib (GW572016) against HER-2-overexpressing and trastuzumab-treated breast cancer cells. *Cancer Res* 2006; 66:1630-1639.

14. Hu Z, Fan C, Oh DS, Marron JS, He X, Qaqish BF, et al. The molecular portraits of breast tumors are conserved across microarray platforms. *BMC Genomics* 2006; 7:96.
15. de Ronde JJ, Hannemann J, Halfwerk H, Mulder L, Straver ME, Vrancken Peeters MJ, et al. Concordance of clinical and molecular breast cancer subtyping in the context of preoperative chemotherapy response. *Breast Cancer Res Treat* 2010; 119:119-126.
16. Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, Conway K, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA* 2006; 295:2492-2502.
17. Bhargava R, Striebel J, Beriwal S, Flickinger JC, Onisko A, Ahrendt G, et al. Prevalence, morphologic features and proliferation indices of breast carcinoma molecular classes using immunohistochemical surrogate markers. *Int J Clin Exp Pathol* 2009; 2:444-455.
18. rb-Esfahani S, Loibl S, Muller BM, Roller M, Denkert C, Komor M, et al. Identification of biology-based breast cancer types with distinct predictive and prognostic features: role of steroid hormone and HER2 receptor expression in patients treated with neoadjuvant anthracycline/taxane-based chemotherapy. *Breast Cancer Res* 2009; 11:R69.
19. Bhargava R, Beriwal S, Dabbs DJ, Ozbek U, Soran A, Johnson RR, et al. Immunohistochemical surrogate markers of breast cancer molecular classes predicts response to neoadjuvant chemotherapy: a single institutional experience with 359 cases. *Cancer* 2010; 116:1431-1439.
20. Gnant M, Harbeck N, Thomssen C. St. Gallen 2011: Summary of the Consensus Discussion. *Breast Care (Basel)* 2011; 6:136-141.
21. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart M, Thurlimann B, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol* 2013; 24:2206-2223.
22. Cheang MC, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, Snider J, et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101:736-750.
23. Foulkes WD, Smith IE, Reis-Filho JS. Triple-negative breast cancer. *N Engl J Med* 2010; 363:1938-1948.
24. Morris GJ, Naidu S, Topham AK, Guiles F, Xu Y, McCue P, et al. Differences in breast carcinoma characteristics in newly diagnosed African-American and Caucasian patients: a single-institution compilation compared with the National Cancer Institute's Surveillance, Epidemiology, and End Results database. *Cancer* 2007; 110:876-884.
25. Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, Hanna WM, Kahn HK, Sawka CA, et al. Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence. *Clin Cancer Res* 2007; 13:4429-4434.
26. Reis-Filho JS, Tutt AN. Triple negative tumours: a critical review. *Histopathology* 2008; 52:108-118.



27. Lehmann BD, Pietenpol JA. Identification and use of biomarkers in treatment strategies for triple-negative breast cancer subtypes. *J Pathol* 2014; 232:142-150.
28. Cheang MC, Voduc D, Bajdik C, Leung S, McKinney S, Chia SK, et al. Basal-like breast cancer defined by five biomarkers has superior prognostic value than triple-negative phenotype. *Clin Cancer Res* 2008; 14:1368-1376.
29. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, Cheang M, Karaca G, Hu Z, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004; 10:5367-5374.
30. Keam B, Im SA, Lee KH, Han SW, Oh DY, Kim JH, et al. Ki-67 can be used for further classification of triple negative breast cancer into two subtypes with different response and prognosis. *Breast Cancer Res* 2011; 13:R22.
31. Lehmann BD, Bauer JA, Chen X, Sanders ME, Chakravarthy AB, Shyr Y, et al. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *J Clin Invest* 2011; 121:2750-2767.
32. Farmer P, Bonnefoi H, Becette V, Tubiana-Hulin M, Fumoleau P, Larsimont D, et al. Identification of molecular apocrine breast tumours by microarray analysis. *Oncogene* 2005; 24:4660-4671.
33. Tsutsumi Y. Apocrine carcinoma as triple-negative breast cancer: novel definition of apocrine-type carcinoma as estrogen/progesterone receptor-negative and androgen receptor-positive invasive ductal carcinoma. *Jpn J Clin Oncol* 2012; 42:375-386.
34. Atchley DP, Albarracin CT, Lopez A, Valero V, Amos CI, Gonzalez-Angulo AM, et al. Clinical and pathologic characteristics of patients with BRCA-positive and BRCA-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26:4282-4288.
35. Patel SG, Meyers P, Huvos AG, Wolden S, Singh B, Shaha AR, et al. Improved outcomes in patients with osteogenic sarcoma of the head and neck. *Cancer* 2002; 95:1495-1503.
36. Frei E, III. Clinical cancer research: an embattled species. *Cancer* 1982; 50:1979-1992.
37. Chauvergne J, Durand M, Hoerni B, Cohen P, Lagarde C. [Induction chemotherapy in high risk breast cancer. Results of a prospective therapeutic study (author's transl)]. *Bull Cancer* 1979; 66:9-16.
38. Jacquillat C, Weil M, Baillet F, Borel C, Auclerc G, de Maublanc MA, et al. Results of neoadjuvant chemotherapy and radiation therapy in the breast-conserving treatment of 250 patients with all stages of infiltrative breast cancer. *Cancer* 1990; 66:119-129.
39. Bonadonna G, Veronesi U, Brambilla C, Ferrari L, Luini A, Greco M, et al. Primary chemotherapy to avoid mastectomy in tumors with diameters of three centimeters or more. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82:1539-1545.
40. Hortobagyi GN, Ames FC, Buzdar AU, Kau SW, McNeese MD, Paulus D, et al. Management of stage III primary breast cancer with primary chemotherapy, surgery, and radiation therapy. *Cancer* 1988; 62:2507-2516.

41. Jaiyesimi IA, Buzdar AU, Hortobagyi G. Inflammatory breast cancer: a review. *J Clin Oncol* 1992; 10:1014-1024.
42. Lee MC, Newman LA. Management of patients with locally advanced breast cancer. *Surg Clin North Am* 2007; 87:379-98, ix.
43. Kaufmann M, von Minckwitz G, Smith R, Valero V, Gianni L, Eiermann W, et al. International expert panel on the use of primary (preoperative) systemic treatment of operable breast cancer: review and recommendations. *J Clin Oncol* 2003; 21:2600-2608.
44. Coldman AJ, Goldie JH. Factors affecting the development of permanent drug resistance and its impact upon neoadjuvant chemotherapy. *Recent Results Cancer Res* 1986; 103:69-78.
45. Fisher B, Gunduz N, Coyle J, Rudock C, Saffer E. Presence of a growth-stimulating factor in serum following primary tumor removal in mice. *Cancer Res* 1989; 49:1996-2001.
46. Fisher B, Gunduz N, Saffer EA. Interrelation between tumor cell proliferation and 17-fluoresceinated estrone binding following primary tumor removal, radiation, cyclophosphamide, or tamoxifen. *Cancer Res* 1983; 43:5244-5247.
47. Fisher B, Saffer E, Rudock C, Coyle J, Gunduz N. Effect of local or systemic treatment prior to primary tumor removal on the production and response to a serum growth-stimulating factor in mice. *Cancer Res* 1989; 49:2002-2004.
48. Perloff M, Lesnick GJ, Korzun A, Chu F, Holland JF, Thirlwell MP, et al. Combination chemotherapy with mastectomy or radiotherapy for stage III breast carcinoma: a Cancer and Leukemia Group B study. *J Clin Oncol* 1988; 6:261-269.
49. van der Hage JA, van d, V, Julien JP, Tubiana-Hulin M, Vandervelden C, Duchateau L. Preoperative chemotherapy in primary operable breast cancer: results from the European Organization for Research and Treatment of Cancer trial 10902. *J Clin Oncol* 2001; 19:4224-4237.
50. Fisher B, Bryant J, Wolmark N, Mamounas E, Brown A, Fisher ER, et al. Effect of preoperative chemotherapy on the outcome of women with operable breast cancer. *J Clin Oncol* 1998; 16:2672-2685.
51. Bear HD, Anderson S, Smith RE, Geyer CE, Jr., Mamounas EP, Fisher B, et al. Sequential preoperative or postoperative docetaxel added to preoperative doxorubicin plus cyclophosphamide for operable breast cancer: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-27. *J Clin Oncol* 2006; 24:2019-2027.
52. Machiavelli MR, Romero AO, Perez JE, Lacava JA, Dominguez ME, Rodriguez R, et al. Prognostic significance of pathological response of primary tumor and metastatic axillary lymph nodes after neoadjuvant chemotherapy for locally advanced breast carcinoma. *Cancer J Sci Am* 1998; 4:125-131.
53. Abrial C, Van P, I, Delva R, Leduc B, Fleury J, Gamelin E, et al. Pathological and clinical response of a primary chemotherapy regimen combining vinorelbine, epirubicin, and paclitaxel as neoadjuvant treatment in patients with operable breast cancer. *Oncologist* 2005; 10:242-249.

54. Kuerer HM, Newman LA, Smith TL, Ames FC, Hunt KK, Dhingra K, et al. Clinical course of breast cancer patients with complete pathologic primary tumor and axillary lymph node response to doxorubicin-based neoadjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol* 1999; 17:460-469.
55. Brain E, Garrino C, Misset JL, Carbonero IG, Itzhaki M, Cvitkovic E, et al. Long-term prognostic and predictive factors in 107 stage II/III breast cancer patients treated with anthracycline-based neoadjuvant chemotherapy. *Br J Cancer* 1997; 75:1360-1367.
56. Cleator SJ, Makris A, Ashley SE, Lal R, Powles TJ. Good clinical response of breast cancers to neoadjuvant chemoendocrine therapy is associated with improved overall survival. *Ann Oncol* 2005; 16:267-272.
57. Bonadonna G, Valagussa P, Brambilla C, Ferrari L, Moliterni A, Terenziani M, et al. Primary chemotherapy in operable breast cancer: eight-year experience at the Milan Cancer Institute. *J Clin Oncol* 1998; 16:93-100.
58. Chevallier B, Roche H, Olivier JP, Chollet P, Hurteloup P. Inflammatory breast cancer. Pilot study of intensive induction chemotherapy (FEC-HD) results in a high histologic response rate. *Am J Clin Oncol* 1993; 16:223-228.
59. von Minckwitz G, Untch M, Blohmer JU, Costa SD, Eidtmann H, Fasching PA, et al. Definition and impact of pathologic complete response on prognosis after neoadjuvant chemotherapy in various intrinsic breast cancer subtypes. *J Clin Oncol* 2012; 30:1796-1804.
60. Cortazar P, Zhang L, Untch M, Mehta K, and Costantino J. Meta-analysis Results from the Collaborative Trials in Neoadjuvant Breast Cancer (CTNeoBC). Presented at the San Antonio Breast cancer Symposium, Texas, USA. 5-12-2012.
61. Cortazar P, Zhang L, Untch M, Mehta K, Costantino JP, Wolmark N, et al. Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis. *Lancet* 2014; 384:164-172.
62. Wolff AC, Davidson NE. Primary systemic therapy in operable breast cancer. *J Clin Oncol* 2000; 18:1558-1569.
63. Mauri D, Pavlidis N, Ioannidis JP. Neoadjuvant versus adjuvant systemic treatment in breast cancer: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97:188-194.
64. Scholl SM, Fourquet A, Asselain B, Pierga JY, Vilcoq JR, Durand JC, et al. Neoadjuvant versus adjuvant chemotherapy in premenopausal patients with tumours considered too large for breast conserving surgery: preliminary results of a randomised trial: S6. *Eur J Cancer* 1994; 30A:645-652.
65. Mauriac L, MacGrogan G, Avril A, Durand M, Floquet A, Debled M, et al. Neoadjuvant chemotherapy for operable breast carcinoma larger than 3 cm: a unicentre randomized trial with a 124-month median follow-up. Institut Bergonie Bordeaux Groupe Sein (IBBGS). *Ann Oncol* 1999; 10:47-52.
66. Broet P, Scholl SM, de la RA, Fourquet A, Moreau T, De RY, et al. Short and long-term effects on survival in breast cancer patients treated by primary chemotherapy: an updated analysis of a randomized trial. *Breast Cancer Res Treat* 1999; 58:151-156.

67. Fisher B, Brown A, Mamounas E, Wieand S, Robidoux A, Margolese RG, et al. Effect of preoperative chemotherapy on local-regional disease in women with operable breast cancer: findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18. *J Clin Oncol* 1997; 15:2483-2493.
68. Bear HD, Anderson S, Brown A, Smith R, Mamounas EP, Fisher B, et al. The effect on tumor response of adding sequential preoperative docetaxel to preoperative doxorubicin and cyclophosphamide: preliminary results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-27. *J Clin Oncol* 2003; 21:4165-4174.
69. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, Fuchs H, Paton V, Bajamonde A, et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med* 2001; 344:783-792.
70. Romond EH, Perez EA, Bryant J, Suman VJ, Geyer CE, Jr., Davidson NE, et al. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2005; 353:1673-1684.
71. Coudert BP, Arnould L, Moreau L, Chollet P, Weber B, Vanlemmens L, et al. Pre-operative systemic (neo-adjuvant) therapy with trastuzumab and docetaxel for HER2-overexpressing stage II or III breast cancer: results of a multicenter phase II trial. *Ann Oncol* 2006; 17:409-414.
72. Gianni L, Eiermann W, Semiglazov V, Manikhas A, Lluch A, Tjulandin S, et al. Neoadjuvant chemotherapy with trastuzumab followed by adjuvant trastuzumab versus neoadjuvant chemotherapy alone, in patients with HER2-positive locally advanced breast cancer (the NOAH trial): a randomised controlled superiority trial with a parallel HER2-negative cohort. *Lancet* 2010; 375:377-384.
73. Baselga J, Bradbury I, Eidtmann H, Di CS, de AE, Aura C, et al. Lapatinib with trastuzumab for HER2-positive early breast cancer (NeoALTTO): a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial. *Lancet* 2012; 379:633-640.
74. Robidoux A, Tang G, Rastogi P, Geyer CE, Jr., Azar CA, Atkins JN, et al. Lapatinib as a component of neoadjuvant therapy for HER2-positive operable breast cancer (NSABP protocol B-41): an open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2013; 14:1183-1192.
75. Schneeweiss A, Chia S, Hickish T, Harvey V, Eniu A, Hegg R, et al. Pertuzumab plus trastuzumab in combination with standard neoadjuvant anthracycline-containing and anthracycline-free chemotherapy regimens in patients with HER2-positive early breast cancer: a randomized phase II cardiac safety study (TRYPHAENA). *Ann Oncol* 2013; 24:2278-2284.
76. Carey LA, Dees EC, Sawyer L, Gatti L, Moore DT, Collichio F, et al. The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. *Clin Cancer Res* 2007; 13:2329-2334.
77. Liedtke C, Mazouni C, Hess KR, Andre F, Tordai A, Mejia JA, et al. Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26:1275-1281.
78. Sikov WM, Berry DA, Perou CM, Singh B, Cirrincione CT, Tolaney SM, et al. Impact of the Addition of Carboplatin and/or Bevacizumab to Neoadjuvant Once-per-Week Paclitaxel Followed by Dose-Dense Doxorubicin and Cyclophosphamide on Pathologic Complete

Response Rates in Stage II to III Triple-Negative Breast Cancer: CALGB 40603 (Alliance). *J Clin Oncol* 2014.

79. Kumler I, Christiansen OG, Nielsen DL. A systematic review of bevacizumab efficacy in breast cancer. *Cancer Treat Rev* 2014; 40:960-973.

80. Lips EH, Mulder L, de Ronde JJ, Mandjes IA, Vincent A, Vrancken Peeters MT, et al. Neoadjuvant chemotherapy in ER+. *Breast Cancer Res Treat* 2012; 131:827-836.

81. Ellis P, Smith I, Ashley S, Walsh G, Ebbs S, Baum M, et al. Clinical prognostic and predictive factors for primary chemotherapy in operable breast cancer. *J Clin Oncol* 1998; 16:107-114.

82. Ferriere JP, Assier I, Cure H, Charrier S, Kwiatkowski F, Achard JL, et al. Primary chemotherapy in breast cancer: correlation between tumor response and patient outcome. *Am J Clin Oncol* 1998; 21:117-120.

83. Cameron DA, Anderson ED, Levack P, Hawkins RA, Anderson TJ, Leonard RC, et al. Primary systemic therapy for operable breast cancer--10-year survival data after chemotherapy and hormone therapy. *Br J Cancer* 1997; 76:1099-1105.

84. Pierga JY, Mouret E, Laurence V, Dieras V, Savigioni A, Beuzeboc P, et al. Prognostic factors for survival after neoadjuvant chemotherapy in operable breast cancer. the role of clinical response. *Eur J Cancer* 2003; 39:1089-1096.

85. Makris A, Powles TJ, Allred DC, Ashley SE, Trott PA, Ormerod MG, et al. Quantitative changes in cytological molecular markers during primary medical treatment of breast cancer: a pilot study. *Breast Cancer Res Treat* 1999; 53:51-59.

86. Chang J, Powles TJ, Allred DC, Ashley SE, Clark GM, Makris A, et al. Biologic markers as predictors of clinical outcome from systemic therapy for primary operable breast cancer. *J Clin Oncol* 1999; 17:3058-3063.

87. Matsubara N, Mukai H, Fujii S, Wada N. Different prognostic significance of Ki-67 change between pre- and post-neoadjuvant chemotherapy in various subtypes of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2013; 137:203-212.

88. Bottini A, Berruti A, Tampellini M, Morrica B, Brunelli A, Gnocchi E, et al. Influence of neoadjuvant chemotherapy on serum tumor markers CA 15-3, MCA, CEA, TPS and TPA in breast cancer patients with operable disease. *Tumour Biol* 1997; 18:301-310.

89. Miller AB, Hoogstraten B, Staquet M, Winkler A. Reporting results of cancer treatment. *Cancer* 1981; 47:207-214.

90. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer* 2009; 45:228-247.

91. Hylton NM, Blume JD, Bernreuter WK, Pisano ED, Rosen MA, Morris EA, et al. Locally advanced breast cancer: MR imaging for prediction of response to neoadjuvant chemotherapy--results from ACRIN 6657/I-SPY TRIAL. *Radiology* 2012; 263:663-672.

92. An YY, Kim SH, Kang BJ, Lee AW, Song BJ. MRI volume measurements compared with the RECIST 1.1 for evaluating the response to neoadjuvant chemotherapy for mass-type lesions. *Breast Cancer* 2014; 21:316-324.
93. Romero A, Garcia-Saenz JA, Fuentes-Ferrer M, Lopez Garcia-Asenjo JA, Furio V, Roman JM, et al. Correlation between response to neoadjuvant chemotherapy and survival in locally advanced breast cancer patients. *Ann Oncol* 2013; 24:655-661.
94. Rieber A, Brambs HJ, Gabelmann A, Heilmann V, Kreienberg R, Kuhn T. Breast MRI for monitoring response of primary breast cancer to neo-adjuvant chemotherapy. *Eur Radiol* 2002; 12:1711-1719.
95. von MG, Blohmer JU, Raab G, Lohr A, Gerber B, Heinrich G, et al. In vivo chemosensitivity-adapted preoperative chemotherapy in patients with early-stage breast cancer: the GEPARTRIO pilot study. *Ann Oncol* 2005; 16:56-63.
96. Gampenrieder SP, Rinnerthaler G, Greil R. Neoadjuvant chemotherapy and targeted therapy in breast cancer: past, present, and future. *J Oncol* 2013; 2013:732047.
97. Pickles MD, Manton DJ, Lowry M, Turnbull LW. Prognostic value of pre-treatment DCE-MRI parameters in predicting disease free and overall survival for breast cancer patients undergoing neoadjuvant chemotherapy. *Eur J Radiol* 2009; 71:498-505.
98. O'Connor JP, Jackson A, Parker GJ, Jayson GC. DCE-MRI biomarkers in the clinical evaluation of antiangiogenic and vascular disrupting agents. *Br J Cancer* 2007; 96:189-195.
99. Manton DJ, Chaturvedi A, Hubbard A, Lind MJ, Lowry M, Maraveyas A, et al. Neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: early response prediction with quantitative MR imaging and spectroscopy. *Br J Cancer* 2006; 94:427-435.
100. Padhani AR, Hayes C, Assersohn L, Powles T, Makris A, Suckling J, et al. Prediction of clinicopathologic response of breast cancer to primary chemotherapy at contrast-enhanced MR imaging: initial clinical results. *Radiology* 2006; 239:361-374.
101. Pickles MD, Lowry M, Manton DJ, Gibbs P, Turnbull LW. Role of dynamic contrast enhanced MRI in monitoring early response of locally advanced breast cancer to neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat* 2005; 91:1-10.
102. Yu HJ, Chen JH, Mehta RS, Nalcioglu O, Su MY. MRI measurements of tumor size and pharmacokinetic parameters as early predictors of response in breast cancer patients undergoing neoadjuvant anthracycline chemotherapy. *J Magn Reson Imaging* 2007; 26:615-623.
103. Chen JH, Su MY. Clinical application of magnetic resonance imaging in management of breast cancer patients receiving neoadjuvant chemotherapy. *Biomed Res Int* 2013; 2013:348167.
104. Chen M, Wang WP, Jia WR, Tang L, Wang Y, Zhan WW, et al. Three-dimensional contrast-enhanced sonography in the assessment of breast tumor angiogenesis: correlation with microvessel density and vascular endothelial growth factor expression. *J Ultrasound Med* 2014; 33:835-846.

105. Jia WR, Chai WM, Tang L, Wang Y, Fei XC, Han BS, et al. Three-dimensional contrast enhanced ultrasound score and dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging score in evaluating breast tumor angiogenesis: correlation with biological factors. *Eur J Radiol* 2014; 83:1098-1105.
106. Wang JW, Zheng W, Liu JB, Chen Y, Cao LH, Luo RZ, et al. Assessment of early tumor response to cytotoxic chemotherapy with dynamic contrast-enhanced ultrasound in human breast cancer xenografts. *PLoS One* 2013; 8:e58274.
107. Mankoff DA, Dunnwald LK, Gralow JR, Ellis GK, Charlop A, Lawton TJ, et al. Blood flow and metabolism in locally advanced breast cancer: relationship to response to therapy. *J Nucl Med* 2002; 43:500-509.
108. Mankoff DA, Dunnwald LK, Gralow JR, Ellis GK, Schubert EK, Tseng J, et al. Changes in blood flow and metabolism in locally advanced breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy. *J Nucl Med* 2003; 44:1806-1814.
109. Tseng J, Dunnwald LK, Schubert EK, Link JM, Minoshima S, Muzi M, et al. <sup>18</sup>F-FDG kinetics in locally advanced breast cancer: correlation with tumor blood flow and changes in response to neoadjuvant chemotherapy. *J Nucl Med* 2004; 45:1829-1837.
110. Dunnwald LK, Gralow JR, Ellis GK, Livingston RB, Linden HM, Specht JM, et al. Tumor metabolism and blood flow changes by positron emission tomography: relation to survival in patients treated with neoadjuvant chemotherapy for locally advanced breast cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26:4449-4457.
111. Specht JM, Kurland BF, Montgomery SK, Dunnwald LK, Doot RK, Gralow JR, et al. Tumor metabolism and blood flow as assessed by positron emission tomography varies by tumor subtype in locally advanced breast cancer. *Clin Cancer Res* 2010; 16:2803-2810.
112. O'Flynn EA, DeSouza NM. Functional magnetic resonance: biomarkers of response in breast cancer. *Breast Cancer Res* 2011; 13:204.
113. Pickles MD, Gibbs P, Lowry M, Turnbull LW. Diffusion changes precede size reduction in neoadjuvant treatment of breast cancer. *Magn Reson Imaging* 2006; 24:843-847.
114. Park SH, Moon WK, Cho N, Chang JM, Im SA, Park IA, et al. Comparison of diffusion-weighted MR imaging and FDG PET/CT to predict pathological complete response to neoadjuvant chemotherapy in patients with breast cancer. *Eur Radiol* 2012; 22:18-25.
115. Wu LM, Hu JN, Gu HY, Hua J, Chen J, Xu JR. Can diffusion-weighted MR imaging and contrast-enhanced MR imaging precisely evaluate and predict pathological response to neoadjuvant chemotherapy in patients with breast cancer? *Breast Cancer Res Treat* 2012; 135:17-28.
116. Richard R, Thomassin I, Chapellier M, Scemama A, De CP, Varna M, et al. Diffusion-weighted MRI in pretreatment prediction of response to neoadjuvant chemotherapy in patients with breast cancer. *Eur Radiol* 2013; 23:2420-2431.
117. Baek HM, Chen JH, Nalcioglu O, Su MY. Proton MR spectroscopy for monitoring early treatment response of breast cancer to neo-adjuvant chemotherapy. *Ann Oncol* 2008; 19:1022-1024.

118. Baek HM, Chen JH, Nie K, Yu HJ, Bahri S, Mehta RS, et al. Predicting pathologic response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer by using MR imaging and quantitative <sup>1</sup>H MR spectroscopy. *Radiology* 2009; 251:653-662.
119. Tozaki M, Oyama Y, Fukuma E. Preliminary study of early response to neoadjuvant chemotherapy after the first cycle in breast cancer: comparison of <sup>1</sup>H magnetic resonance spectroscopy with diffusion magnetic resonance imaging. *Jpn J Radiol* 2010; 28:101-109.
120. Dehdashti F, Mortimer JE, Trinkaus K, Naughton MJ, Ellis M, Katzenellenbogen JA, et al. PET-based estradiol challenge as a predictive biomarker of response to endocrine therapy in women with estrogen-receptor-positive breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2009; 113:509-517.
121. Enfield LC, Gibson AP, Hebden JC, Douek M. Optical tomography of breast cancer-monitoring response to primary medical therapy. *Target Oncol* 2009; 4:219-233.
122. Ter-Pogossian MM. The origins of positron emission tomography. *Semin Nucl Med* 1992; 22:140-149.
123. Levin CS, Hoffman EJ. Calculation of positron range and its effect on the fundamental limit of positron emission tomography system spatial resolution. *Phys Med Biol* 1999; 44:781-799.
124. Vranjesevic D, Schiepers C, Silverman DH, Quon A, Villalpando J, Dahlbom M, et al. Relationship between <sup>18</sup>F-FDG uptake and breast density in women with normal breast tissue. *J Nucl Med* 2003; 44:1238-1242.
125. Lecomte R. Novel detector technology for clinical PET. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2009; 36 Suppl 1:S69-S85.
126. Koeppe RA, Hutchins GD. Instrumentation for positron emission tomography: tomographs and data processing and display systems. *Semin Nucl Med* 1992; 22:162-181.
127. Melcher CL. Scintillation crystals for PET. *J Nucl Med* 2000; 41:1051-1055.
128. Vandenberghe S, Marsden PK. PET-MRI: a review of challenges and solutions in the development of integrated multimodality imaging. *Phys Med Biol* 2015; 60:R115-R154.
129. Anvar. Journées prospectives 2012 IN2P3-Irfu, Instrumentation et détection. 2012.
130. Roncali E, Cherry SR. Application of silicon photomultipliers to positron emission tomography. *Ann Biomed Eng* 2011; 39:1358-1377.
131. Seifert S, van der Lei G, van Dam HT, Schaart DR. First characterization of a digital SiPM based time-of-flight PET detector with 1 mm spatial resolution. *Phys Med Biol* 2013; 58:3061-3074.
132. Glass SB, Shah ZA. Clinical utility of positron emission mammography. *Proc (Bayl Univ Med Cent)* 2013; 26:314-319.
133. Amarala, P., Carricoa, B., Ferreiraa, M., Mouraa, R., Ortigaoa, C., Rodriguesa, P., and Da Silva, J. Performance and quality control of Clear-PEM detector modules. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research* (580), 1123-1126. 29-6-2007.



134. Schilling K, Narayanan D, Kalinyak JE, The J, Velasquez MV, Kahn S, et al. Positron emission mammography in breast cancer presurgical planning: comparisons with magnetic resonance imaging. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2011; 38:23-36.
135. Tejerina BA, Tejerina BA, Rabadan DF, De Lara GA, Rosello Llerena JA, Tejerina GA. Breast imaging: how we manage diagnostic technology at a multidisciplinary breast center. *J Oncol* 2012; 2012:213421.
136. Tafra L. Positron Emission Tomography (PET) and Mammography (PEM) for breast cancer: importance to surgeons. *Ann Surg Oncol* 2007; 14:3-13.
137. Shao Y, Cherry SR, Farahani K, Meadors K, Siegel S, Silverman RW, et al. Simultaneous PET and MR imaging. *Phys Med Biol* 1997; 42:1965-1970.
138. Kim JH, Lee JS, Song IC, Lee DS. Comparison of segmentation-based attenuation correction methods for PET/MRI: evaluation of bone and liver standardized uptake value with oncologic PET/CT data. *J Nucl Med* 2012; 53:1878-1882.
139. Szabo I. Inflammatory bowel disease. 2012.
140. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144:646-674.
141. Vuillez, J. P. Métabolisme glucidique des cellules tumorales: conséquences pour l'utilisation de radiopharmaceutiques analogues du glucose. *Journal de Médecine Nucléaire* 1, 9-29. 1-2-1998.
142. Ting YL, Sherr D, Degani H. Variations in energy and phospholipid metabolism in normal and cancer human mammary epithelial cells. *Anticancer Res* 1996; 16:1381-1388.
143. Weber G. Enzymology of cancer cells (first of two parts). *N Engl J Med* 1977; 296:486-492.
144. Weber G. Enzymology of cancer cells (second of two parts). *N Engl J Med* 1977; 296:541-551.
145. Krebs HA. The Pasteur effect and the relations between respiration and fermentation. *Essays Biochem* 1972; 8:1-34.
146. Clavo AC, Brown RS, Wahl RL. Fluorodeoxyglucose uptake in human cancer cell lines is increased by hypoxia. *J Nucl Med* 1995; 36:1625-1632.
147. Gullino PM, Grantham FH, Courtney AH, Losonczy I. Relationship between oxygen and glucose consumption by transplanted tumors in vivo. *Cancer Res* 1967; 27:1041-1052.
148. Mazurek S, Hugo F, Failing K, Eigenbrodt E. Studies on associations of glycolytic and glutaminolytic enzymes in MCF-7 cells: role of P36. *J Cell Physiol* 1996; 167:238-250.
149. Flier JS, Mueckler MM, Usher P, Lodish HF. Elevated levels of glucose transport and transporter messenger RNA are induced by ras or src oncogenes. *Science* 1987; 235:1492-1495.

150. Dierckx RA, Van de WC. FDG uptake, a surrogate of tumour hypoxia? *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2008; 35:1544-1549.
151. Vanderhoek M, Perlman SB, Jeraj R. Impact of the definition of peak standardized uptake value on quantification of treatment response. *J Nucl Med* 2012; 53:4-11.
152. Keyes JW, Jr. SUV: standard uptake or silly useless value? *J Nucl Med* 1995; 36:1836-1839.
153. Zasadny KR, Wahl RL. Standardized uptake values of normal tissues at PET with 2-[fluorine-18]-fluoro-2-deoxy-D-glucose: variations with body weight and a method for correction. *Radiology* 1993; 189:847-850.
154. Sugawara Y, Zasadny KR, Neuhoff AW, Wahl RL. Reevaluation of the standardized uptake value for FDG: variations with body weight and methods for correction. *Radiology* 1999; 213:521-525.
155. Du Bois, Du Bois EF. A formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. 1916. *Nutrition* 1989; 5:303-311.
156. Wahl RL, Jacene H, Kasamon Y, Lodge MA. From RECIST to PERCIST: Evolving Considerations for PET response criteria in solid tumors. *J Nucl Med* 2009; 50 Suppl 1:122S-150S.
157. Erselcan T, Turgut B, Dogan D, Ozdemir S. Lean body mass-based standardized uptake value, derived from a predictive equation, might be misleading in PET studies. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2002; 29:1630-1638.
158. La CL, Albertin A, La CG. Pharmacokinetic model-driven remifentanyl administration in the morbidly obese: the 'critical weight' and the 'fictitious height', a possible solution to an unsolved problem? *Clin Pharmacokinet* 2009; 48:397-398.
159. Janmahasatian S, Duffull SB, Ash S, Ward LC, Byrne NM, Green B. Quantification of lean bodyweight. *Clin Pharmacokinet* 2005; 44:1051-1065.
160. Tahari AK, Chien D, Azadi JR, Wahl RL. Optimum lean body formulation for correction of standardized uptake value in PET imaging. *J Nucl Med* 2014; 55:1481-1484.
161. Wienhard K. Measurement of glucose consumption using [(18)F]fluorodeoxyglucose. *Methods* 2002; 27:218-225.
162. Patlak CS, Blasberg RG, Fenstermacher JD. Graphical evaluation of blood-to-brain transfer constants from multiple-time uptake data. *J Cereb Blood Flow Metab* 1983; 3:1-7.
163. Messa C, Choi Y, Hoh CK, Jacobs EL, Glaspy JA, Rege S, et al. Quantification of glucose utilization in liver metastases: parametric imaging of FDG uptake with PET. *J Comput Assist Tomogr* 1992; 16:684-689.
164. Zasadny KR, Wahl RL. Enhanced FDG-PET tumor imaging with correlation-coefficient filtered influx-constant images. *J Nucl Med* 1996; 37:371-374.
165. Brenner W, Vernon C, Muzi M, Mankoff DA, Link JM, Conrad EU, et al. Comparison of different quantitative approaches to 18F-fluoride PET scans. *J Nucl Med* 2004; 45:1493-1500.

166. de Langen AJ, Vincent A, Velasquez LM, van TH, Boellaard R, Shankar LK, et al. Repeatability of 18F-FDG uptake measurements in tumors: a metaanalysis. *J Nucl Med* 2012; 53:701-708.
167. Zasadny KR, Tatsumi M, Wahl RL. FDG metabolism and uptake versus blood flow in women with untreated primary breast cancers. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2003; 30:274-280.
168. Mullani NA, Goldstein RA, Gould KL, Marani SK, Fisher DJ, O'Brien HA, Jr., et al. Myocardial perfusion with rubidium-82. I. Measurement of extraction fraction and flow with external detectors. *J Nucl Med* 1983; 24:898-906.
169. Mullani NA, Herbst RS, O'Neil RG, Gould KL, Barron BJ, Abbruzzese JL. Tumor blood flow measured by PET dynamic imaging of first-pass 18F-FDG uptake: a comparison with 15O-labeled water-measured blood flow. *J Nucl Med* 2008; 49:517-523.
170. Bernstine H, Braun M, Yefremov N, Lamash Y, Carmi R, Stern D, et al. FDG PET/CT early dynamic blood flow and late standardized uptake value determination in hepatocellular carcinoma. *Radiology* 2011; 260:503-510.
171. Cochet A, Pigeonnat S, Khoury B, Vrigneaud JM, Touzery C, Berriolo-Riedinger A, et al. Evaluation of breast tumor blood flow with dynamic first-pass 18F-FDG PET/CT: comparison with angiogenesis markers and prognostic factors. *J Nucl Med* 2012; 53:512-520.
172. Lucignani G, Larson SM. Doctor, what does my future hold? The prognostic value of FDG-PET in solid tumours. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2010; 37:1032-1038.
173. Hatt M, Visvikis D, Pradier O, Cheze-Le RC. Baseline (1)(8)F-FDG PET image-derived parameters for therapy response prediction in oesophageal cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2011; 38:1595-1606.
174. Pan T, Mawlawi O. PET/CT in radiation oncology. *Med Phys* 2008; 35:4955-4966.
175. Nestle U, Kremp S, Schaefer-Schuler A, Sebastian-Welsch C, Hellwig D, Rube C, et al. Comparison of different methods for delineation of 18F-FDG PET-positive tissue for target volume definition in radiotherapy of patients with non-Small cell lung cancer. *J Nucl Med* 2005; 46:1342-1348.
176. Meignan M, Sasanelli M, Casasnovas RO, Luminari S, Fioroni F, Coriani C, et al. Metabolic tumour volumes measured at staging in lymphoma: methodological evaluation on phantom experiments and patients. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2014; 41:1113-1122.
177. Kanoun S, Rossi C, Berriolo-Riedinger A, Dygai-Cochet I, Cochet A, Humbert O, et al. Baseline metabolic tumour volume is an independent prognostic factor in Hodgkin lymphoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2014; 41:1735-1743.
178. Sasanelli M, Meignan M, Haioun C, Berriolo-Riedinger A, Casasnovas RO, Biggi A, et al. Pretherapy metabolic tumour volume is an independent predictor of outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2014; 41:2017-2022.
179. Tylski P, Stute S, Grotus N, Doyeux K, Hapdey S, Gardin I, et al. Comparative assessment of methods for estimating tumor volume and standardized uptake value in (18)F-FDG PET. *J Nucl Med* 2010; 51:268-276.

180. Devic S, Tomic N, Faria S, Menard S, Lisbona R, Lehnert S. Defining radiotherapy target volumes using 18F-fluoro-deoxy-glucose positron emission tomography/computed tomography: still a Pandora's box? *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2010; 78:1555-1562.
181. Bezdek JC, Keller J, Krisnapuram R, Pal N. *Fuzzy Models and Algorithms for Pattern Recognition and Image Processing*. 1999.
182. Belhassen S, Zaidi H. A novel fuzzy C-means algorithm for unsupervised heterogeneous tumor quantification in PET. *Med Phys* 2010; 37:1309-1324.
183. Hatt M, Cheze le RC, Turzo A, Roux C, Visvikis D. A fuzzy locally adaptive Bayesian segmentation approach for volume determination in PET. *IEEE Trans Med Imaging* 2009; 28:881-893.
184. Hatt M, Groheux D, Martineau A, Espie M, Hindie E, Giacchetti S, et al. Comparison between 18F-FDG PET image-derived indices for early prediction of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *J Nucl Med* 2013; 54:341-349.
185. Zaidi H, Abdoli M, Fuentes CL, El Naqa IM. Comparative methods for PET image segmentation in pharyngolaryngeal squamous cell carcinoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2012; 39:881-891.
186. Hicks RJ, Binns D, Stabin MG. Pattern of uptake and excretion of (18)F-FDG in the lactating breast. *J Nucl Med* 2001; 42:1238-1242.
187. Bourguet P, Hitzel A, Houvenaeghel G, Vinatier D, Bosquet L, Bonichon F, et al. [Synthesis bulletin of 2005 surveillance. Clinical practice recommendations: the use of PET-FDG in cancers of the breast, ovary and uterus]. *Bull Cancer* 2006; 93:385-390.
188. *Guide du Bon Usage des examens d'imagerie médicale*. 1-6-2012.
189. Theriault RL, Carlson RW, Allred C, Anderson BO, Burstein HJ, Edge SB, et al. Breast cancer, version 3.2013: featured updates to the NCCN guidelines. *J Natl Compr Canc Netw* 2013; 11:753-760.
190. Gnerlich JL, Deshpande AD, Jeffe DB, Sweet A, White N, Margenthaler JA. Elevated breast cancer mortality in women younger than age 40 years compared with older women is attributed to poorer survival in early-stage disease. *J Am Coll Surg* 2009; 208:341-347.
191. Riedl CC, Slobod E, Jochelson M, Morrow M, Goldman DA, Gonen M, et al. Retrospective analysis of 18F-FDG PET/CT for staging asymptomatic breast cancer patients younger than 40 years. *J Nucl Med* 2014; 55:1578-1583.
192. Brown RS, Leung JY, Fisher SJ, Frey KA, Ethier SP, Wahl RL. Intratumoral distribution of tritiated fluorodeoxyglucose in breast carcinoma: I. Are inflammatory cells important? *J Nucl Med* 1995; 36:1854-1861.
193. Kumar R, Chauhan A, Zhuang H, Chandra P, Schnall M, Alavi A. Clinicopathologic factors associated with false negative FDG-PET in primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2006; 98:267-274.

194. Humbert O, Berriolo-Riedinger A, Riedinger JM, Coudert B, Arnould L, Cochet A, et al. Changes in 18F-FDG tumor metabolism after a first course of neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: influence of tumor subtypes. *Ann Oncol* 2012; 23:2572-2577.
195. Humbert O, Berriolo-Riedinger A, Cochet A, Gauthier M, Charon-Barra C, Guiu S, et al. Prognostic relevance at 5 years of the early monitoring of neoadjuvant chemotherapy using (18)F-FDG PET in luminal HER2-negative breast cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2014; 41:416-427.
196. Schirrmeister H, Kuhn T, Guhlmann A, Santjohanser C, Horster T, Nussle K, et al. Fluorine-18 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose PET in the preoperative staging of breast cancer: comparison with the standard staging procedures. *Eur J Nucl Med* 2001; 28:351-358.
197. Rosen EL, Turkington TG, Soo MS, Baker JA, Coleman RE. Detection of primary breast carcinoma with a dedicated, large-field-of-view FDG PET mammography device: initial experience. *Radiology* 2005; 234:527-534.
198. Avril N, Bense S, Ziegler SI, Dose J, Weber W, Laubenbacher C, et al. Breast imaging with fluorine-18-FDG PET: quantitative image analysis. *J Nucl Med* 1997; 38:1186-1191.
199. Bakheet SM, Powe J, Kandil A, Ezzat A, Rostom A, Amartey J. F-18 FDG uptake in breast infection and inflammation. *Clin Nucl Med* 2000; 25:100-103.
200. Samson DJ, Flamm CR, Pisano ED, Aronson N. Should FDG PET be used to decide whether a patient with an abnormal mammogram or breast finding at physical examination should undergo biopsy? *Acad Radiol* 2002; 9:773-783.
201. Heinisch M, Gallowitsch HJ, Mikosch P, Kresnik E, Kumnig G, Gomez I, et al. Comparison of FDG-PET and dynamic contrast-enhanced MRI in the evaluation of suggestive breast lesions. *Breast* 2003; 12:17-22.
202. Kumar R, Loving VA, Chauhan A, Zhuang H, Mitchell S, Alavi A. Potential of dual-time-point imaging to improve breast cancer diagnosis with (18)F-FDG PET. *J Nucl Med* 2005; 46:1819-1824.
203. Heusner TA, Kuemmel S, Umutlu L, Koeninger A, Freudenberg LS, Hauth EA, et al. Breast cancer staging in a single session: whole-body PET/CT mammography. *J Nucl Med* 2008; 49:1215-1222.
204. Ergul N, Kadioglu H, Yildiz S, Yucel SB, Gucin Z, Erdogan EB, et al. Assessment of multifocality and axillary nodal involvement in early-stage breast cancer patients using 18F-FDG PET/CT compared to contrast-enhanced and diffusion-weighted magnetic resonance imaging and sentinel node biopsy. *Acta Radiol* 2014.
205. Taneja S, Jena A, Goel R, Sarin R, Kaul S. Simultaneous whole-body (18)F-FDG PET-MRI in primary staging of breast cancer: A pilot study. *Eur J Radiol* 2014; 83:2231-2239.
206. Caldarella C, Treglia G, Giordano A. Diagnostic performance of dedicated positron emission mammography using fluorine-18-fluorodeoxyglucose in women with suspicious breast lesions: a meta-analysis. *Clin Breast Cancer* 2014; 14:241-248.

207. Wahl RL, Siegel BA, Coleman RE, Gatsonis CG. Prospective multicenter study of axillary nodal staging by positron emission tomography in breast cancer: a report of the staging breast cancer with PET Study Group. *J Clin Oncol* 2004; 22:277-285.
208. Cooper KL, Harnan S, Meng Y, Ward SE, Fitzgerald P, Papaioannou D, et al. Positron emission tomography (PET) for assessment of axillary lymph node status in early breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Surg Oncol* 2011; 37:187-198.
209. Crippa F, Gerali A, Alessi A, Agresti R, Bombardieri E. FDG-PET for axillary lymph node staging in primary breast cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2004; 31 Suppl 1:S97-102.
210. Veronesi U, De CC, Galimberti VE, Fernandez JR, Rotmensz N, Viale G, et al. A comparative study on the value of FDG-PET and sentinel node biopsy to identify occult axillary metastases. *Ann Oncol* 2007; 18:473-478.
211. Yutani K, Shiba E, Kusuoka H, Tatsumi M, Uehara T, Taguchi T, et al. Comparison of FDG-PET with MIBI-SPECT in the detection of breast cancer and axillary lymph node metastasis. *J Comput Assist Tomogr* 2000; 24:274-280.
212. Cermik TF, Mavi A, Basu S, Alavi A. Impact of FDG PET on the preoperative staging of newly diagnosed breast cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2008; 35:475-483.
213. Groheux D, Moretti JL, Baillet G, Espie M, Giacchetti S, Hindie E, et al. Effect of (18)F-FDG PET/CT imaging in patients with clinical Stage II and III breast cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008; 71:695-704.
214. Heusner TA, Kuemmel S, Umutlu L, Koeninger A, Freudenberg LS, Hauth EA, et al. Breast cancer staging in a single session: whole-body PET/CT mammography. *J Nucl Med* 2008; 49:1215-1222.
215. Jacene HA, Goudarzi B, Wahl RL. Scalene muscle uptake: a potential pitfall in head and neck PET/CT. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2008; 35:89-94.
216. Newman LA, Kuerer HM, Fornage B, Mirza N, Hunt KK, Ross MI, et al. Adverse prognostic significance of infraclavicular lymph nodes detected by ultrasonography in patients with locally advanced breast cancer. *Am J Surg* 2001; 181:313-318.
217. Kuru B, Camlibel M, Dinc S, Gulcelik MA, Alagol H. Prognostic significance of axillary node and infraclavicular lymph node status after mastectomy. *Eur J Surg Oncol* 2003; 29:839-844.
218. Koolen BB, Valdes Olmos RA, Vogel WV, Vrancken Peeters MJ, Rodenhuis S, Rutgers EJ, et al. Pre-chemotherapy 18F-FDG PET/CT upstages nodal stage in stage II-III breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat* 2013; 141:249-254.
219. Cochet A, Dygai-Cochet I, Riedinger JM, Humbert O, Berriolo-Riedinger A, Toubreau M, et al. (1)(8)F-FDG PET/CT provides powerful prognostic stratification in the primary staging of large breast cancer when compared with conventional explorations. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2014; 41:428-437.

220. Fuster D, Duch J, Paredes P, Velasco M, Munoz M, Santamaria G, et al. Preoperative staging of large primary breast cancer with [18F]fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography compared with conventional imaging procedures. *J Clin Oncol* 2008; 26:4746-4751.
221. Alberini JL, Lerebours F, Wartski M, Fourme E, Le SE, Gontier E, et al. 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography (FDG-PET/CT) imaging in the staging and prognosis of inflammatory breast cancer. *Cancer* 2009; 115:5038-5047.
222. Cooper KL, Meng Y, Harnan S, Ward SE, Fitzgerald P, Papaioannou D, et al. Positron emission tomography (PET) and magnetic resonance imaging (MRI) for the assessment of axillary lymph node metastases in early breast cancer: systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess* 2011; 15:iii-134.
223. Ueda S, Tsuda H, Asakawa H, Omata J, Fukatsu K, Kondo N, et al. Utility of 18F-fluorodeoxyglucose emission tomography/computed tomography fusion imaging (18F-FDG PET/CT) in combination with ultrasonography for axillary staging in primary breast cancer. *BMC Cancer* 2008; 8:165.
224. Tran A, Pio BS, Khatibi B, Czernin J, Phelps ME, Silverman DH. 18F-FDG PET for staging breast cancer in patients with inner-quadrant versus outer-quadrant tumors: comparison with long-term clinical outcome. *J Nucl Med* 2005; 46:1455-1459.
225. Eubank WB, Mankoff DA, Takasugi J, Vesselle H, Eary JF, Shanley TJ, et al. 18fluorodeoxyglucose positron emission tomography to detect mediastinal or internal mammary metastases in breast cancer. *J Clin Oncol* 2001; 19:3516-3523.
226. Aukema TS, Straver ME, Peeters MJ, Russell NS, Gilhuijs KG, Vogel WV, et al. Detection of extra-axillary lymph node involvement with FDG PET/CT in patients with stage II-III breast cancer. *Eur J Cancer* 2010; 46:3205-3210.
227. Dose J, Bleckmann C, Bachmann S, Bohuslavizki KH, Berger J, Jenicke L, et al. Comparison of fluorodeoxyglucose positron emission tomography and "conventional diagnostic procedures" for the detection of distant metastases in breast cancer patients. *Nucl Med Commun* 2002; 23:857-864.
228. Mahner S, Schirmacher S, Brenner W, Jenicke L, Habermann CR, Avril N, et al. Comparison between positron emission tomography using 2-[fluorine-18]fluoro-2-deoxy-D-glucose, conventional imaging and computed tomography for staging of breast cancer. *Ann Oncol* 2008; 19:1249-1254.
229. Uematsu T, Yuen S, Yukisawa S, Aramaki T, Morimoto N, Endo M, et al. Comparison of FDG PET and SPECT for detection of bone metastases in breast cancer. *AJR Am J Roentgenol* 2005; 184:1266-1273.
230. Gallowitsch HJ, Kresnik E, Gasser J, Kumnig G, Igerc I, Mikosch P, et al. F-18 fluorodeoxyglucose positron-emission tomography in the diagnosis of tumor recurrence and metastases in the follow-up of patients with breast carcinoma: a comparison to conventional imaging. *Invest Radiol* 2003; 38:250-256.

231. Morris PG, Lynch C, Feeney JN, Patil S, Howard J, Larson SM, et al. Integrated positron emission tomography/computed tomography may render bone scintigraphy unnecessary to investigate suspected metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28:3154-3159.
232. Riegger C, Herrmann J, Nagarajah J, Hecktor J, Kuemmel S, Otterbach F, et al. Whole-body FDG PET/CT is more accurate than conventional imaging for staging primary breast cancer patients. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2012; 39:852-863.
233. Bos R, van Der Hoeven JJ, van Der WE, van Der GP, van Diest PJ, Comans EF, et al. Biologic correlates of (18)fluorodeoxyglucose uptake in human breast cancer measured by positron emission tomography. *J Clin Oncol* 2002; 20:379-387.
234. Gil-Rendo A, Martinez-Regueira F, Zornoza G, Garcia-Velloso MJ, Beorlegui C, Rodriguez-Spiteri N. Association between [18F]fluorodeoxyglucose uptake and prognostic parameters in breast cancer. *Br J Surg* 2009; 96:166-170.
235. Shimoda W, Hayashi M, Murakami K, Oyama T, Sunagawa M. The relationship between FDG uptake in PET scans and biological behavior in breast cancer. *Breast Cancer* 2007; 14:260-268.
236. Garcia Garcia-Esquinas M, Garcia-Saenz JA, Arrazola GJ, Enrique Fuentes FM, Furio V, Rodriguez RC, et al. 18F-FDG PET-CT imaging in the neoadjuvant setting for stages II-III breast cancer: association of locoregional SUVmax with classical prognostic factors. *Q J Nucl Med Mol Imaging* 2014; 58:66-73.
237. Basu S, Chen W, Tchou J, Mavi A, Cermik T, Czerniecki B, et al. Comparison of triple-negative and estrogen receptor-positive/progesterone receptor-positive/HER2-negative breast carcinoma using quantitative fluorine-18 fluorodeoxyglucose/positron emission tomography imaging parameters: a potentially useful method for disease characterization. *Cancer* 2008; 112:995-1000.
238. Crippa F, Seregini E, Agresti R, Chiesa C, Pascali C, Bogni A, et al. Association between [18F]fluorodeoxyglucose uptake and postoperative histopathology, hormone receptor status, thymidine labelling index and p53 in primary breast cancer: a preliminary observation. *Eur J Nucl Med* 1998; 25:1429-1434.
239. Ikenaga N, Otomo N, Toyofuku A, Ueda Y, Toyoda K, Hayashi T, et al. Standardized uptake values for breast carcinomas assessed by fluorodeoxyglucose-positron emission tomography correlate with prognostic factors. *Am Surg* 2007; 73:1151-1157.
240. Bhargava R, Beriwal S, Dabbs DJ, Ozbek U, Soran A, Johnson RR, et al. Immunohistochemical surrogate markers of breast cancer molecular classes predicts response to neoadjuvant chemotherapy: a single institutional experience with 359 cases. *Cancer* 2010; 116:1431-1439.
241. Keam B, Im SA, Koh Y, Han SW, Oh DY, Cho N, et al. Early metabolic response using FDG PET/CT and molecular phenotypes of breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy. *BMC Cancer* 2011; 11:452.
242. Osborne JR, Port E, Gonen M, Doane A, Yeung H, Gerald W, et al. 18F-FDG PET of locally invasive breast cancer and association of estrogen receptor status with standardized uptake value: microarray and immunohistochemical analysis. *J Nucl Med* 2010; 51:543-550.



243. Inoue T, Yutani K, Taguchi T, Tamaki Y, Shiba E, Noguchi S. Preoperative evaluation of prognosis in breast cancer patients by [(18)F]2-Deoxy-2-fluoro-D-glucose-positron emission tomography. *J Cancer Res Clin Oncol* 2004; 130:273-278.
244. Baba S, Isoda T, Maruoka Y, Kitamura Y, Sasaki M, Yoshida T, et al. Diagnostic and prognostic value of pretreatment SUV in 18F-FDG/PET in breast cancer: comparison with apparent diffusion coefficient from diffusion-weighted MR imaging. *J Nucl Med* 2014; 55:736-742.
245. Champion L, Brain E, Giraudet AL, Le SE, Wartski M, Edeline V, et al. Breast cancer recurrence diagnosis suspected on tumor marker rising: value of whole-body 18FDG-PET/CT imaging and impact on patient management. *Cancer* 2011; 117:1621-1629.
246. Aukema TS, Rutgers EJ, Vogel WV, Teertstra HJ, Oldenburg HS, Vrancken Peeters MT, et al. The role of FDG PET/CT in patients with locoregional breast cancer recurrence: a comparison to conventional imaging techniques. *Eur J Surg Oncol* 2010; 36:387-392.
247. Dirisamer A, Halpern BS, Flory D, Wolf F, Beheshti M, Mayerhoefer ME, et al. Integrated contrast-enhanced diagnostic whole-body PET/CT as a first-line restaging modality in patients with suspected metastatic recurrence of breast cancer. *Eur J Radiol* 2010; 73:294-299.
248. Pennant M, Takwoingi Y, Pennant L, Davenport C, Fry-Smith A, Eisinga A, et al. A systematic review of positron emission tomography (PET) and positron emission tomography/computed tomography (PET/CT) for the diagnosis of breast cancer recurrence. *Health Technol Assess* 2010; 14:1-103.
249. Fletcher JW, Djulbegovic B, Soares HP, Siegel BA, Lowe VJ, Lyman GH, et al. Recommendations on the use of 18F-FDG PET in oncology. *J Nucl Med* 2008; 49:480-508.
250. Smith IC, Welch AE, Hutcheon AW, Miller ID, Payne S, Chilcott F, et al. Positron emission tomography using [(18)F]-fluorodeoxy-D-glucose to predict the pathologic response of breast cancer to primary chemotherapy. *J Clin Oncol* 2000; 18:1676-1688.
251. McDermott GM, Welch A, Staff RT, Gilbert FJ, Schweiger L, Semple SI, et al. Monitoring primary breast cancer throughout chemotherapy using FDG-PET. *Breast Cancer Res Treat* 2007; 102:75-84.
252. Schelling M, Avril N, Nahrig J, Kuhn W, Romer W, Sattler D, et al. Positron emission tomography using [(18)F]Fluorodeoxyglucose for monitoring primary chemotherapy in breast cancer. *J Clin Oncol* 2000; 18:1689-1695.
253. Rousseau C, Devillers A, Sagan C, Ferrer L, Bridji B, Campion L, et al. Monitoring of early response to neoadjuvant chemotherapy in stage II and III breast cancer by [18F]fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *J Clin Oncol* 2006; 24:5366-5372.
254. Berriolo-Riedinger A, Touzery C, Riedinger JM, Toubreau M, Coudert B, Arnould L, et al. [18F]FDG-PET predicts complete pathological response of breast cancer to neoadjuvant chemotherapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2007; 34:1915-1924.
255. Schwarz-Dose J, Untch M, Tiling R, Sassen S, Mahner S, Kahlert S, et al. Monitoring primary systemic therapy of large and locally advanced breast cancer by using sequential

- positron emission tomography imaging with [18F]fluorodeoxyglucose. *J Clin Oncol* 2009; 27:535-541.
256. Kumar A, Kumar R, Seenu V, Gupta SD, Chawla M, Malhotra A, et al. The role of 18F-FDG PET/CT in evaluation of early response to neoadjuvant chemotherapy in patients with locally advanced breast cancer. *Eur Radiol* 2009; 19:1347-1357.
257. Duch J, Fuster D, Munoz M, Fernandez PL, Paredes P, Fontanillas M, et al. 18F-FDG PET/CT for early prediction of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2009; 36:1551-1557.
258. Mghanga FP, Lan X, Bakari KH, Li C, Zhang Y. Fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography-computed tomography in monitoring the response of breast cancer to neoadjuvant chemotherapy: a meta-analysis. *Clin Breast Cancer* 2013; 13:271-279.
259. Cheng X, Li Y, Liu B, Xu Z, Bao L, Wang J. 18F-FDG PET/CT and PET for evaluation of pathological response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: a meta-analysis. *Acta Radiol* 2012; 53:615-627.
260. Wang Y, Zhang C, Liu J, Huang G. Is 18F-FDG PET accurate to predict neoadjuvant therapy response in breast cancer? A meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat* 2012; 131:357-369.
261. Symmans WF, Peintinger F, Hatzis C, Rajan R, Kuerer H, Valero V, et al. Measurement of residual breast cancer burden to predict survival after neoadjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol* 2007; 25:4414-4422.
262. Sataloff DM, Mason BA, Prestipino AJ, Seinige UL, Lieber CP, Baloch Z. Pathologic response to induction chemotherapy in locally advanced carcinoma of the breast: a determinant of outcome. *J Am Coll Surg* 1995; 180:297-306.
263. Honkoop AH, van Diest PJ, de Jong JS, Linn SC, Giaccone G, Hoekman K, et al. Prognostic role of clinical, pathological and biological characteristics in patients with locally advanced breast cancer. *Br J Cancer* 1998; 77:621-626.
264. Ogston KN, Miller ID, Payne S, Hutcheon AW, Sarkar TK, Smith I, et al. A new histological grading system to assess response of breast cancers to primary chemotherapy: prognostic significance and survival. *Breast* 2003; 12:320-327.
265. Dose SJ, Bader M, Jenicke L, Hemminger G, Janicke F, Avril N. Early prediction of response to chemotherapy in metastatic breast cancer using sequential 18F-FDG PET. *J Nucl Med* 2005; 46:1144-1150.
266. Rouzier R, Perou CM, Symmans WF, Ibrahim N, Cristofanilli M, Anderson K, et al. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2005; 11:5678-5685.
267. Humbert O, Cochet A, Riedinger JM, Berriolo-Riedinger A, Arnould L, Coudert B, et al. HER2-positive breast cancer: F-FDG PET for early prediction of response to trastuzumab plus taxane-based neoadjuvant chemotherapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2014; 41:1525-1533.

268. Mauri D, Pavlidis N, Ioannidis JP. Neoadjuvant versus adjuvant systemic treatment in breast cancer: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97:188-194.
269. Gralow JR, Burstein HJ, Wood W, Hortobagyi GN, Gianni L, von Minckwitz G, et al. Preoperative therapy in invasive breast cancer: pathologic assessment and systemic therapy issues in operable disease. *J Clin Oncol* 2008; 26:814-819.
270. Oakman C, Viale G, Di LA. Management of triple negative breast cancer. *Breast* 2010; 19:312-321.
271. von Minckwitz G, Untch M, Blohmer JU, Costa SD, Eidtmann H, Fasching PA, et al. Definition and impact of pathologic complete response on prognosis after neoadjuvant chemotherapy in various intrinsic breast cancer subtypes. *J Clin Oncol* 2012; 30:1796-1804.
272. McShane LM, Altman DG, Sauerbrei W, Taube SE, Gion M, Clark GM. REporting recommendations for tumor MARKer prognostic studies (REMARK). *Breast Cancer Res Treat* 2006; 100:229-235.
273. Zafrani B, Aubriot MH, Mouret E, De CP, De RY, Nicolas A, et al. High sensitivity and specificity of immunohistochemistry for the detection of hormone receptors in breast carcinoma: comparison with biochemical determination in a prospective study of 793 cases. *Histopathology* 2000; 37:536-545.
274. Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25:118-145.
275. Masuda H, Masuda N, Kodama Y, Ogawa M, Karita M, Yamamura J, et al. Predictive factors for the effectiveness of neoadjuvant chemotherapy and prognosis in triple-negative breast cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol* 2011; 67:911-917.
276. Li XR, Liu M, Zhang YJ, Wang JD, Zheng YQ, Li J, et al. CK5/6, EGFR, Ki-67, cyclin D1, and nm23-H1 protein expressions as predictors of pathological complete response to neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancer patients. *Med Oncol* 2011; 28 Suppl 1:S129-S134.
277. Tang Y, Zhu L, Li Y, Ji J, Li J, Yuan F, et al. Overexpression of epithelial growth factor receptor (EGFR) predicts better response to neo-adjuvant chemotherapy in patients with triple-negative breast cancer. *J Transl Med* 2012; 10 Suppl 1:S4.
278. Mullani NA, Herbst RS, O'Neil RG, Gould KL, Barron BJ, Abbruzzese JL. Tumor blood flow measured by PET dynamic imaging of first-pass 18F-FDG uptake: a comparison with 15O-labeled water-measured blood flow. *J Nucl Med* 2008; 49:517-523.
279. Kaufmann M, von Minckwitz G, Mamounas EP, Cameron D, Carey LA, Cristofanilli M, et al. Recommendations from an international consensus conference on the current status and future of neoadjuvant systemic therapy in primary breast cancer. *Ann Surg Oncol* 2012; 19:1508-1516.
280. Keam B, Im SA, Kim HJ, Oh DY, Kim JH, Lee SH, et al. Prognostic impact of clinicopathologic parameters in stage II/III breast cancer treated with neoadjuvant docetaxel

and doxorubicin chemotherapy: paradoxical features of the triple negative breast cancer. *BMC Cancer* 2007; 7:203.

281. Rakha EA, Ellis IO. Triple-negative/basal-like breast cancer: review. *Pathology* 2009; 41:40-47.

282. Valentin MD, da Silva SD, Privat M, Alaoui-Jamali M, Bignon YJ. Molecular insights on basal-like breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2012; 134:21-30.

283. Masuda H, Baggerly KA, Wang Y, Zhang Y, Gonzalez-Angulo AM, Meric-Bernstam F, et al. Differential response to neoadjuvant chemotherapy among 7 triple-negative breast cancer molecular subtypes. *Clin Cancer Res* 2013; 19:5533-5540.

284. Groheux D, Giacchetti S, Hatt M, Marty M, Vercellino L, de RA, et al. HER2-overexpressing breast cancer: FDG uptake after two cycles of chemotherapy predicts the outcome of neoadjuvant treatment. *Br J Cancer* 2013; 109:1157-1164.

285. Groheux D, Hindie E, Giacchetti S, Delord M, Hamy AS, de RA, et al. Triple-negative breast cancer: early assessment with 18F-FDG PET/CT during neoadjuvant chemotherapy identifies patients who are unlikely to achieve a pathologic complete response and are at a high risk of early relapse. *J Nucl Med* 2012; 53:249-254.

286. Groheux D, Hindie E, Giacchetti S, Hamy AS, Berger F, Merlet P, et al. Early assessment with 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography can help predict the outcome of neoadjuvant chemotherapy in triple negative breast cancer. *Eur J Cancer* 2014; 50:1864-1871.

287. Koolen BB, Pengel KE, Wesseling J, Vogel WV, Vrancken Peeters MJ, Vincent AD, et al. Sequential (18)F-FDG PET/CT for early prediction of complete pathological response in breast and axilla during neoadjuvant chemotherapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2014; 41:32-40.

288. Semple SI, Gilbert FJ, Redpath TW, Staff RT, Ahearn TS, Welch AE, et al. The relationship between vascular and metabolic characteristics of primary breast tumours. *Eur Radiol* 2004; 14:2038-2045.

289. Mankoff DA, Dunnwald LK, Partridge SC, Specht JM. Blood flow-metabolism mismatch: good for the tumor, bad for the patient. *Clin Cancer Res* 2009; 15:5294-5296.

290. Semenza GL. Targeting HIF-1 for cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2003; 3:721-732.

291. Rastogi P, Anderson SJ, Bear HD, Geyer CE, Kahlenberg MS, Robidoux A, et al. Preoperative chemotherapy: updates of National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocols B-18 and B-27. *J Clin Oncol* 2008; 26:778-785.

292. Hutcheon AW, Heys SD, Sarkar TK. Neoadjuvant docetaxel in locally advanced breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2003; 79 Suppl 1:S19-S24.

293. Cuppone F, Bria E, Carlini P, Milella M, Felici A, Sperduti I, et al. Taxanes as primary chemotherapy for early breast cancer: meta-analysis of randomized trials. *Cancer* 2008; 113:238-246.

294. Coudert, B., Piergat, J. Y., Mouret-Reynier, M. A., Kerrou, K., Ferrero, J. M., Petit, T., Kerbrat, P., Dupre, P. F., Bachelot, T., Gabelle, P., Giard, S., Coeffic, D., and Berriolo-Riedinger, A. Use of [18F]-FDG PET to predict response to neoadjuvant trastuzumab and docetaxel in patients with HER2-positive breast cancer, and addition of bevacizumab to neoadjuvant trastuzumab and docetaxel in [18F]-FDG PET-predicted non-responders (AVATAXHER): an open-label, randomized phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2014; 15:1493-502.
295. Boellaard R. Need for standardization of 18F-FDG PET/CT for treatment response assessments. *J Nucl Med* 2011; 52 Suppl 2:93S-100S.
296. Boellaard R, Delgado-Bolton R, Oyen WJ, Giammarile F, Tatsch K, Eschner W, et al. FDG PET/CT: EANM procedure guidelines for tumour imaging: version 2.0. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2014.
297. Cook GJ, Yip C, Siddique M, Goh V, Chicklore S, Roy A, et al. Are pretreatment 18F-FDG PET tumor textural features in non-small cell lung cancer associated with response and survival after chemoradiotherapy? *J Nucl Med* 2013; 54:19-26.
298. Tixier F, Le Rest CC, Hatt M, Albarghach N, Pradier O, Metges JP, et al. Intratumor heterogeneity characterized by textural features on baseline 18F-FDG PET images predicts response to concomitant radiochemotherapy in esophageal cancer. *J Nucl Med* 2011; 52:369-378.
299. Tixier F, Hatt M, Valla C, Fleury V, Lamour C, Ezzouhri S, et al. Visual Versus Quantitative Assessment of Intratumor 18F-FDG PET Uptake Heterogeneity: Prognostic Value in Non-Small Cell Lung Cancer. *J Nucl Med* 2014; 55:1235-1241.
300. Hatt M, Majdoub M, Vallieres M, Tixier F, Le Rest CC, Groheux D, et al. 18F-FDG PET uptake characterization through texture analysis: investigating the complementary nature of heterogeneity and functional tumor volume in a multi-cancer site patient cohort. *J Nucl Med* 2015; 56:38-44.
301. Soussan M, Orhac F, Boubaya M, Zelek L, Ziol M, Eder V, et al. Relationship between tumor heterogeneity measured on FDG-PET/CT and pathological prognostic factors in invasive breast cancer. *PLoS One* 2014; 9:e94017.
302. Bruzzi P, Del ML, Sormani MP, Bastholt L, Danova M, Focan C, et al. Objective response to chemotherapy as a potential surrogate end point of survival in metastatic breast cancer patients. *J Clin Oncol* 2005; 23:5117-5125.
303. Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA, Wanders J, Kaplan RS, Rubinstein L, et al. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92:205-216.
304. Coleman RE. Clinical features of metastatic bone disease and risk of skeletal morbidity. *Clin Cancer Res* 2006; 12:6243s-6249s.
305. Harvey HA, Cream L. Biology of bone metastases: causes and consequences. *Clin Breast Cancer* 2007; 7 Suppl 1:S7-S13.
306. Hamaoka T, Madewell JE, Podoloff DA, Hortobagyi GN, Ueno NT. Bone imaging in metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2004; 22:2942-2953.

307. Schneider JA, Divgi CR, Scott AM, Macapinlac HA, Seidman AD, Goldsmith SJ, et al. Flare on bone scintigraphy following Taxol chemotherapy for metastatic breast cancer. *J Nucl Med* 1994; 35:1748-1752.
308. Avril N, Sassen S, Roylance R. Response to therapy in breast cancer. *J Nucl Med* 2009; 50 Suppl 1:55S-63S.
309. Wahl RL, Zasadny K, Helvie M, Hutchins GD, Weber B, Cody R. Metabolic monitoring of breast cancer chemohormonotherapy using positron emission tomography: initial evaluation. *J Clin Oncol* 1993; 11:2101-2111.
310. Stafford SE, Gralow JR, Schubert EK, Rinn KJ, Dunnwald LK, Livingston RB, et al. Use of serial FDG PET to measure the response of bone-dominant breast cancer to therapy. *Acad Radiol* 2002; 9:913-921.
311. Couturier O, Jerusalem G, N'Guyen JM, Hustinx R. Sequential positron emission tomography using [18F]fluorodeoxyglucose for monitoring response to chemotherapy in metastatic breast cancer. *Clin Cancer Res* 2006; 12:6437-6443.
312. Specht JM, Tam SL, Kurland BF, Gralow JR, Livingston RB, Linden HM, et al. Serial 2-[18F] fluoro-2-deoxy-D-glucose positron emission tomography (FDG-PET) to monitor treatment of bone-dominant metastatic breast cancer predicts time to progression (TTP). *Breast Cancer Res Treat* 2007; 105:87-94.
313. Du Y, Cullum I, Illidge TM, Ell PJ. Fusion of metabolic function and morphology: sequential [18F]fluorodeoxyglucose positron-emission tomography/computed tomography studies yield new insights into the natural history of bone metastases in breast cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25:3440-3447.
314. Tateishi U, Gamez C, Dawood S, Yeung HW, Cristofanilli M, Macapinlac HA. Bone metastases in patients with metastatic breast cancer: morphologic and metabolic monitoring of response to systemic therapy with integrated PET/CT. *Radiology* 2008; 247:189-196.
315. Beslija S, Bonnetterre J, Burstein HJ, Cocquyt V, Gnant M, Heinemann V, et al. Third consensus on medical treatment of metastatic breast cancer. *Ann Oncol* 2009; 20:1771-1785.
316. Mouridsen H, Gershanovich M, Sun Y, Perez-Carrion R, Boni C, Monnier A, et al. Superior efficacy of letrozole versus tamoxifen as first-line therapy for postmenopausal women with advanced breast cancer: results of a phase III study of the International Letrozole Breast Cancer Group. *J Clin Oncol* 2001; 19:2596-2606.
317. Howell A, Robertson JF, Quaresma AJ, Aschermannova A, Mauriac L, Kleeberg UR, et al. Fulvestrant, formerly ICI 182,780, is as effective as anastrozole in postmenopausal women with advanced breast cancer progressing after prior endocrine treatment. *J Clin Oncol* 2002; 20:3396-3403.
318. Mortimer JE, Dehdashti F, Siegel BA, Trinkaus K, Katzenellenbogen JA, Welch MJ. Metabolic flare: indicator of hormone responsiveness in advanced breast cancer. *J Clin Oncol* 2001; 19:2797-2803.
319. Dehdashti F, Flanagan FL, Mortimer JE, Katzenellenbogen JA, Welch MJ, Siegel BA. Positron emission tomographic assessment of "metabolic flare" to predict response of metastatic breast cancer to antiestrogen therapy. *Eur J Nucl Med* 1999; 26:51-56.

320. Kurland BF, Gadi VK, Specht JM, Allison KH, Livingston RB, Rodler ET, et al. Feasibility study of FDG PET as an indicator of early response to aromatase inhibitors and trastuzumab in a heterogeneous group of breast cancer patients. *EJNMMI Res* 2012; 2:34.
321. Mortazavi-Jehanno N, Giraudet AL, Champion L, Lerebours F, Le SE, Edeline V, et al. Assessment of response to endocrine therapy using FDG PET/CT in metastatic breast cancer: a pilot study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2012; 39:450-460.
322. Carlson RW, Allred DC, Anderson BO, Burstein HJ, Edge SB, Farrar WB, et al. Metastatic breast cancer, version 1.2012: featured updates to the NCCN guidelines. *J Natl Compr Canc Netw* 2012; 10:821-829.
323. Young H, Baum R, Cremerius U, Herholz K, Hoekstra O, Lammertsma AA, et al. Measurement of clinical and subclinical tumour response using [18F]-fluorodeoxyglucose and positron emission tomography: review and 1999 EORTC recommendations. European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) PET Study Group. *Eur J Cancer* 1999; 35:1773-1782.
324. Kristensen TB, Knutsson ML, Wehland M, Laursen BE, Grimm D, Warnke E, et al. Anti-Vascular Endothelial Growth Factor Therapy in Breast Cancer. *Int J Mol Sci* 2014; 15:23024-23041.
325. Eby PR, Partridge SC, White SW, Doot RK, Dunnwald LK, Schubert EK, et al. Metabolic and vascular features of dynamic contrast-enhanced breast magnetic resonance imaging and (15)O-water positron emission tomography blood flow in breast cancer. *Acad Radiol* 2008; 15:1246-1254.
326. Zasadny KR, Tatsumi M, Wahl RL. FDG metabolism and uptake versus blood flow in women with untreated primary breast cancers. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2003; 30:274-280.
327. Beer AJ, Niemeyer M, Carlsen J, Sarbia M, Nahrig J, Watzlowik P, et al. Patterns of alphavbeta3 expression in primary and metastatic human breast cancer as shown by 18F-Galacto-RGD PET. *J Nucl Med* 2008; 49:255-259.
328. Beer AJ, Haubner R, Sarbia M, Goebel M, Luderschmidt S, Grosu AL, et al. Positron emission tomography using [18F]Galacto-RGD identifies the level of integrin alpha(v)beta3 expression in man. *Clin Cancer Res* 2006; 12:3942-3949.
329. Beer AJ, Haubner R, Wolf I, Goebel M, Luderschmidt S, Niemeyer M, et al. PET-based human dosimetry of 18F-galacto-RGD, a new radiotracer for imaging alpha v beta3 expression. *J Nucl Med* 2006; 47:763-769.
330. Gaykema SB, Brouwers AH, Lub-de Hooge MN, Pleijhuis RG, Timmer-Bosscha H, Pot L, et al. 89Zr-bevacizumab PET imaging in primary breast cancer. *J Nucl Med* 2013; 54:1014-1018.
331. Tabernero J. The role of VEGF and EGFR inhibition: implications for combining anti-VEGF and anti-EGFR agents. *Mol Cancer Res* 2007; 5:203-220.
332. Kenny LM, Vigushin DM, Al-Nahhas A, Osman S, Luthra SK, Shousha S, et al. Quantification of cellular proliferation in tumor and normal tissues of patients with breast

cancer by [18F]fluorothymidine-positron emission tomography imaging: evaluation of analytical methods. *Cancer Res* 2005; 65:10104-10112.

333. Soloviev D, Lewis D, Honess D, Aboagye E. [(18)F]FLT: an imaging biomarker of tumour proliferation for assessment of tumour response to treatment. *Eur J Cancer* 2012; 48:416-424.

334. Kenny LM, Al-Nahhas A, Aboagye EO. Novel PET biomarkers for breast cancer imaging. *Nucl Med Commun* 2011; 32:333-335.

335. van Waarde A, Cobben DC, Suurmeijer AJ, Maas B, Vaalburg W, de Vries EF, et al. Selectivity of 18F-FLT and 18F-FDG for differentiating tumor from inflammation in a rodent model. *J Nucl Med* 2004; 45:695-700.

336. van Waarde A, Elsinga PH. Proliferation markers for the differential diagnosis of tumor and inflammation. *Curr Pharm Des* 2008; 14:3326-3339.

337. Yue J, Chen L, Cabrera AR, Sun X, Zhao S, Zheng F, et al. Measuring tumor cell proliferation with 18F-FLT PET during radiotherapy of esophageal squamous cell carcinoma: a pilot clinical study. *J Nucl Med* 2010; 51:528-534.

338. Pio BS, Park CK, Pietras R, Hsueh WA, Satyamurthy N, Pegram MD, et al. Usefulness of 3'-[F-18]fluoro-3'-deoxythymidine with positron emission tomography in predicting breast cancer response to therapy. *Mol Imaging Biol* 2006; 8:36-42.

339. Contractor KB, Kenny LM, Stebbing J, Rosso L, Ahmad R, Jacob J, et al. [18F]-3'Deoxy-3'-fluorothymidine positron emission tomography and breast cancer response to docetaxel. *Clin Cancer Res* 2011; 17:7664-7672.

340. Contractor K, Aboagye EO, Jacob J, Challapalli A, Coombes RC, Stebbing J. Monitoring early response to taxane therapy in advanced breast cancer with circulating tumor cells and [(18)F] 3 -deoxy-3 -fluorothymidine PET: a pilot study. *Biomark Med* 2012; 6:231-233.

341. Woolf DK, Beresford M, Li SP, Dowsett M, Sanghera B, Wong WL, et al. Evaluation of FLT-PET-CT as an imaging biomarker of proliferation in primary breast cancer. *Br J Cancer* 2014; 110:2847-2854.

342. Amir E, Miller N, Geddie W, Freedman O, Kassam F, Simmons C, et al. Prospective study evaluating the impact of tissue confirmation of metastatic disease in patients with breast cancer. *J Clin Oncol* 2012; 30:587-592.

343. Chung GG, Zerkowski MP, Ghosh S, Camp RL, Rimm DL. Quantitative analysis of estrogen receptor heterogeneity in breast cancer. *Lab Invest* 2007; 87:662-669.

344. van Kruchten M, de Vries EG, Brown M, de Vries EF, Glaudemans AW, Dierckx RA, et al. PET imaging of oestrogen receptors in patients with breast cancer. *Lancet Oncol* 2013; 14:e465-e475.

345. Dehdashti F, Mortimer JE, Trinkaus K, Naughton MJ, Ellis M, Katzenellenbogen JA, et al. PET-based estradiol challenge as a predictive biomarker of response to endocrine therapy in women with estrogen-receptor-positive breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2009; 113:509-517.



346. Linden HM, Stekhova SA, Link JM, Gralow JR, Livingston RB, Ellis GK, et al. Quantitative fluoroestradiol positron emission tomography imaging predicts response to endocrine treatment in breast cancer. *J Clin Oncol* 2006; 24:2793-2799.
347. Linden HM, Kurland BF, Peterson LM, Schubert EK, Gralow JR, Specht JM, et al. Fluoroestradiol positron emission tomography reveals differences in pharmacodynamics of aromatase inhibitors, tamoxifen, and fulvestrant in patients with metastatic breast cancer. *Clin Cancer Res* 2011; 17:4799-4805.
348. Dehdashti F, Flanagan FL, Mortimer JE, Katzenellenbogen JA, Welch MJ, Siegel BA. Positron emission tomographic assessment of "metabolic flare" to predict response of metastatic breast cancer to antiestrogen therapy. *Eur J Nucl Med* 1999; 26:51-56.
349. DeGrado TR, Baldwin SW, Wang S, Orr MD, Liao RP, Friedman HS, et al. Synthesis and evaluation of (18)F-labeled choline analogs as oncologic PET tracers. *J Nucl Med* 2001; 42:1805-1814.
350. DeGrado TR, Reiman RE, Price DT, Wang S, Coleman RE. Pharmacokinetics and radiation dosimetry of 18F-fluorocholine. *J Nucl Med* 2002; 43:92-96.
351. Kwee SA, Coel MN. Detection of synchronous primary breast and prostate cancer by F-18 fluorocholine PET/CT. *Clin Nucl Med* 2010; 35:128-129.
352. Tateishi U, Terauchi T, Akashi-Tanaka S, Kinoshita T, Kano D, Daisaki H, et al. Comparative study of the value of dual tracer PET/CT in evaluating breast cancer. *Cancer Sci* 2012; 103:1701-1707.
353. Chia YH, Ellis MJ, Ma CX. Neoadjuvant endocrine therapy in primary breast cancer: indications and use as a research tool. *Br J Cancer* 2010; 103:759-764.
354. Olson JA, Jr., Budd GT, Carey LA, Harris LA, Esserman LJ, Fleming GF, et al. Improved surgical outcomes for breast cancer patients receiving neoadjuvant aromatase inhibitor therapy: results from a multicenter phase II trial. *J Am Coll Surg* 2009; 208:906-914.
355. Dowsett M, Smith IE, Ebbs SR, Dixon JM, Skene A, A'Hern R, et al. Prognostic value of Ki67 expression after short-term presurgical endocrine therapy for primary breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99:167-170.



## Résumé :

La Tomographie par Emission de Positons (TEP) au  $^{18}\text{F}$ -Fluoro-désoxyglucose ( $^{18}\text{F}$ -FDG) est l'imagerie de référence pour la quantification in vivo du métabolisme glucidique des cellules tumorales. Elle permet, entre autre, de suivre les modifications du métabolisme tumoral en cours de chimiothérapie. Le cancer du sein regroupe différentes entités génomiques dont les comportements clinico-biologiques et la prise en charge thérapeutique divergent. L'objectif de cette thèse était d'étudier le lien entre ces diverses entités biologiques du cancer du sein et le comportement métabolique tumoral en cours de chimiothérapie néoadjuvante. Nous avons également extrait, parmi les différents paramètres métaboliques tumoraux des images TEP, les critères les plus robustes pour prédire dès la fin de la première cure de chimiothérapie néoadjuvante la réponse histologique finale et la survie des patientes. Nous avons également appliqué un modèle de mesure de la perfusion tumorale, dérivée d'une acquisition dynamique du premier passage artériel et tumoral du  $^{18}\text{F}$ -FDG. Le premier article de cette thèse souligne l'impact majeur du phénotype tumoral sur le comportement métabolique en cours de chimiothérapie de la tumeur primitive mammaire. Les trois articles suivants montrent que, pour les tumeurs triple-négatives et HER2 positives, les modifications métaboliques tumorales observées par la TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG prédisent la réponse histologique complète à l'issue du traitement. Concernant le phénotype tumoral luminal/HER2 négatif, la réponse métabolique apporte surtout une information pronostique. L'imagerie TEP au  $^{18}\text{F}$ -FDG pourrait permettre dans un avenir proche de guider les choix thérapeutiques du clinicien, en proposant une alternative thérapeutique aux patientes non-répondeuses identifiées dès la première cure de chimiothérapie néoadjuvante.

## Abstract:

Positron Emission Tomography (PET) with  $^{18}\text{F}$ -Fluoro-deoxyglucose ( $^{18}\text{F}$ -FDG) is the reference imaging examination for in-vivo quantification of the glucidic metabolism of tumour cells. It allows for the monitoring of tumour metabolic changes during chemotherapy. Breast cancer comprises several distinct genomic entities with different biological characteristics and clinical behaviours, leading to different tailored treatments. The aim of this doctoral thesis was to evaluate the relationship between the different biological entities of breast cancer and the tumour metabolic behaviour during neoadjuvant chemotherapy. We have also retrieved, among the various metabolic parameters on PET images, the most reliable ones to predict, as early as after the first neoadjuvant cycle, the final tumour histologic response and patient's outcome. We have also evaluated early changes in tumour blood flow, using a tumour first-pass model derived from an dynamic  $^{18}\text{F}$ -FDG-PET acquisition.

The first article presented in this thesis has underlined the strong correlation between breast cancer subtypes, and the tumour metabolic behaviour during chemotherapy. The following three articles have demonstrated that tumour metabolic changes after the first neoadjuvant cycle can predict the final histologic complete response at the end of the treatment, both in triple-negative and HER2 positive tumours. Concerning the luminal/HER2 subtype, the early metabolic response mainly predicts patient's outcome.

These results should lead, in the near future, to PET-guided neoadjuvant strategies, in order to adapt the neoadjuvant treatment in poor-responding women. Such a strategy should lead to enhanced personalized medicine.

The logo for the SPIM (École doctorale SPIM) features the letters 'S', 'P', 'I', and 'M' in a large, white, sans-serif font. The 'S' is stylized with a curved top. To the left of the letters is a solid orange horizontal bar.