



HAL
open science

Nouvelles approches thérapeutiques pour le traitement du glioblastome : exemple du développement d'une protéine pro-apoptotique

Aurélie Martins-Gomes

► To cite this version:

Aurélie Martins-Gomes. Nouvelles approches thérapeutiques pour le traitement du glioblastome : exemple du développement d'une protéine pro-apoptotique. Sciences pharmaceutiques. 2012. dumas-00693267

HAL Id: dumas-00693267

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-00693267>

Submitted on 2 May 2012

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.

**NOUVELLES APPROCHES THERAPEUTIQUES
POUR LE TRAITEMENT DU GLIOBLASTOME :
EXEMPLE DU DEVELOPPEMENT
D'UNE PROTEINE PRO-APOPTOTIQUE**

THESE PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU TITRE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

DIPLÔME D'ETAT

MARTINS-GOMES Aurélie
Née le 23 Mars 1985

A Chambéry (73)

THESE SOUTENUE PUBLIQUEMENT A LA FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE

Le 26 Avril 2012

DEVANT LE JURY COMPOSE DE

Président du jury : Pr **Michel SEVE**, Docteur en Pharmacie, Praticien
Hospitalier, Professeur à l'UFR de Pharmacie

Directeur de Thèse : Pr **Jean-Luc LENORMAND**, Professeur de l'UFR de
Pharmacie

Membres :

Dr **Jean BRETON**, Docteur en Pharmacie, MCU de l'UFR de Pharmacie

Dr **Sandra CORTES**, Docteur en Biologie

La Faculté de Pharmacie de Grenoble n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.

Directeur de l'UFR : **M. Pr. Christophe RIBUOT**

Vice-doyen et Directeur des Etudes : **Mme Delphine ALDEBERT**

Année 2011-2012

PROFESSEURS A L'UFR DE PHARMACIE (n = 18)

BAKRI	Aziz	Pharmacie Gélénique et Industrielle, Formulation et Procédés Pharmaceutiques (TIMC-IMAG)
BOUMENDJEL	Ahcène	Chimie Organique (D.P.M.)
BURMEISTER	Wim	Biophysique (U.V.H.C.I)
CALOP	Jean	Pharmacie Clinique (TIMC-IMAG, PU-PH)
CORNET	Murielle	Parasitologie – Mycologie Médicale (LAPM, PU-PH)
DANEL	Vincent	Toxicologie (SMUR SAMU / PU-PH)
DECOUT	Jean-Luc	Chimie Inorganique (D.P.M.)
DROUET	Christian	Immunologie Médicale (TIMC-IMAG)
DROUET	Emmanuel	Microbiologie (U.V.H.C.I)
FAURE	Patrice	Biochimie (HP2/PU-PH)
GODIN-RIBUOT	Diane	Physiologie-Pharmacologie (HP2)
GRILLOT	Renée	Parasitologie – Mycologie Médicale (LAPM, PU-PII) (Eméritat)
LENORMAND	Jean Luc	Ingénierie Cellulaire, Biothérapies (THEREX, TIMC, IMAG)
MOSSUZ	Pascal	Hématologie (PU-PH)
PEYRIN	Eric	Chimie Analytique (D.P.M.)
SEVE	Michel	Biochimie – Biotechnologie (IAB, PU-PH)
RIBUOT	Christophe	Physiologie – Pharmacologie (HP2)
WOUESSIDJEWE	Denis	Pharmacotechnie (D.P.M.)

PROFESSEURS ASSOCIES (PAST) (n=3)

BELLET	Béatrice	Pharmacie Clinique
RIEU	Isabelle	Qualitologie (Praticien Attaché – CHU)
TROUILLER	Patrice	Santé Publique (Praticien Hospitalier – CHU)

ATER : Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherches
CHU : Centre Hospitalier Universitaire
CIB : Centre d'Innovation en Biologie
DPM : Département de Pharmacochimie Moléculaire
HP2 : Hypoxie Physiopathologie Respiratoire et Cardiovasculaire
IAB : Institut Albert Bonniot, Centre de Recherche « Oncogenèse et Ontogenèse »
IBS : Institut de Biologie Structurale
JR : Jean Roget
LAPM : Laboratoire Adaptation et Pathogenèse des Microorganismes
LBFA : Laboratoire Bioénergétique Fondamentale et Appliquée

Dernière mise à jour : 05/09/11

Rédacteur : L.FAURE, Secrétaire du Directeur

Directeur de l'UFR : **M. Pr. Christophe RIBUOT**

Vice-doyen et Directeur des Etudes : **Mme Delphine ALDEBERT**

Année 2011-2012

MAITRE DE CONFERENCES DE PHARMACIE (n = 35)

ALDEBERT	Delphine	Parasitologie-Mycologie (L.A.P.M)
ALLENET	Benoît	Pharmacie Clinique (THEMAS TIMC-IMAG / MCU-PH)
BATANDIER	Cécile	Nutrition et Physiologie (L.B.F.A)
BOURGOIN	Sandrine	Biochimie – Biotechnologie (IAB)
BRETON	Jean	Biologie Moléculaire / Biochimie (L.C.I.B – LAN)
BRIANCON-MARJOLLET	Anne	Physiologie Pharmacologie (HP2)
BUDAYOVA SPANO	Monika	Biophysique (I.B.S)
CAVAILLES	Pierre	Biologie Cellulaire et génétique (L.A.P.M)
CHOISNARD	Luc	Pharmacotechnie (D.P.M)
DELETRAZ-DELPORTE	Martine	Droit Pharmaceutique
DEMEILLIERS	Christine	Biochimie (L.B.F.A)
DURMORT-MEUNIER	Claire	Biotechnologies (I.B.S)
GEZE	Annabelle	Pharmacotechnie (D.P.M)
GERMI	Raphaëlle	Microbiologie (U.V.H.C.I / MCU-PH)
GILLY	Catherine	Chimie Thérapeutique (D.P.M)
GROSSET	Catherine	Chimie Analytique (D.P.M)
GUIEU	Valérie	Chimie Analytique (D.P.M)
HININGER-FAVIER	Isabelle	Biochimie (L.B.F.A)
JOYEUX-FAURE	Marie	Physiologie - Pharmacologie (HP2)
KHALEF	Nawel	Pharmacie Galénique (TIMC-IMAG)
KRIVOBOK	Serge	Biologie Végétale et Botanique (L.C.B.M)
MOUHAMADOU	Bello	Cryptogamie, Mycologie Générale (L.E.C.A)
MORAND	Jean-Marc	Chimie Thérapeutique (D.P.M)
MELO DE LIMA	Christelle	Biostatistiques (L.E.C.A)
NICOLLE	Edwige	Chimie Thérapeutique (D.P.M)
PERES	Basile	Pharmacognosie (D.P.M)
PEUCHMAUR	Marine	Chimie Organique (D.P.M.)
PINEL	Claudine	Parasitologie - Mycologie Médicale (GIN / MCU-PH)
RACHIDI	Walid	Biochimie (L.C.I.B)
RAVEL	Anne	Chimie Analytique (D.P.M)
RAVELET	Corinne	Chimie Analytique (D.P.M)
SOUARD	Florence	Pharmacognosie (D.P.M)
TARBOURIECH	Nicolas	Biophysique (U.V.H.C.I.)
VANHAVERBEKE	Cécile	Chimie Organique (D.P.M.)
VILLET	Annick	Chimie Analytique (VP Form Adjoint UJF, D.P.M.)

Dernière mise à jour : 08/09/2011 08/09/2011

Rédacteur : L.FAURE; Secrétaire du Doyen

ASSISTANTS HOSPITALO-UNIVERSITAIRES (AHU) (n=2)

BUSSER	Benoît	Biochimie (IAB, AHU-Biochimie)
VAN NOOLEN	Laëtitia	Biochimie (HP2, AHU-Biochimie, à partir du 1 ^{er} novembre)

ENSEIGNANTS ANGLAIS (n=3)

FITE	Andrée	Professeur Certifié
GOUBIER	Laurence	professeur Certifié

ATER (n= 6)

BIROS Camille	ATER	Anglais Master ISM (JR)
DEFENDI Frédérica	ATER	Immunologie Médicale (GREPI-TIMC)
EL BAKKALI Abdellatif	ATER	Pharmacie Galénique (Therex/TIMC, La serve)
HENRI Marion	ATER	Physiologie (HP2,LER)
NGO TOM Esther	½ ATER	Pharmacologie (HP2,LER)
REGENT Myriam	½ ATER	Biochimie Biotechnologie (IAB)

MONITEUR ET DOCTORANTS CONTRACTUELS (n=8)

BOUCHET	Audrey	(01-10-2009 au 30-09-2012)	Biotechnologie (GIN, ESRF)
CAVAREC	Fanny	(01-10-2011 au 30-09-2014)	Laboratoire HP2 (JR)
FAVIER	Mathieu	(01-10-2009 au 30-09-2012)	Laboratoire HP2 (JR)
GRAS	Emmanuelle	(01-10-2010 au 30-09-2013)	Laboratoire HP2 (JR)
HAUDECOEUR	Romain	(01-10-2008 au 30-09-2011)	Chimie Thérapeutique (DPM)
LESART	Anne-Cécile	(01-10-2009 au 30-09-2013)	Informatique C2i
POULAIN	Laureline	(01-10-2009 au 30-09-2012)	Laboratoire HP2 (JR)
THOMAS	Amandine	(01-10-2011 au 30-09-2014)	Laboratoire HP2 (JR)

ATER : Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherches
CHU : Centre Hospitalier Universitaire
CIB : Centre d'Innovation en Biologie
DPM : Département de Pharmacochimie Moléculaire
HP2 : Hypoxie Physiopathologie Respiratoire et Cardiovasculaire
IAB : Institut Albert Bonniot, Centre de Recherche « Oncogenèse et Ontogenèse »
IBS : Institut de Biologie Structurale
JR : Jean Roget
LAPM : Laboratoire Adaptation et Pathogenèse des Microorganismes
LBFA : Laboratoire Bioénergétique Fondamentale et Appliquée
LCBM : Laboratoire Chimie et Biologie des Métaux
LCIB : Laboratoire de Chimie Inorganique et Biologie
LECA : Laboratoire d'Ecologie Alpine
LR : Laboratoire des Radio pharmaceutiques
PAST : Professeur Associé à Temps Partiel
PRAG : Professeur Agrégé
TIMC-IMAG : Laboratoire Technique de l'Imagerie, de la Modélisation et de Cognition
UVHCI : Unit of Virus Host Cell Interactions

Dernière mise à jour : 08/09/201108/09/2011

Rédacteur : L.FAURE; Secrétaire du Doyen

DOMAINE DE LA MERCI – 38706 LA TRONCHE CEDEX – France - TEL : +33 (0)4 75 63 71 00 – FAX : +33 (0)4 75 63 71 70

REMERCIEMENTS

A Michel SEVE,

Pour avoir accepté de présider ce jury de thèse et m'avoir ouvert les portes de la filière biotechnologie. C'est un peu grâce à vous que je suis là aujourd'hui. Merci également pour le savoir que vous m'avez transmis et de m'avoir conseillée dans mes choix d'orientation.

A Jean-Luc LENORMAND,

Pour votre soutien et le temps que vous m'avez accordé durant la rédaction de cette thèse. Mais également de m'avoir accueillie au sein de votre Master 2 et de votre laboratoire durant mon stage. Vous avez toujours fait preuve de gentillesse et de patience.

A Jean BRETON,

Merci d'avoir accepté de participer au jury, mais également pour vos enseignements au cours du cursus de pharmacie et votre bonne humeur.

A Sandra CORTES,

Pour avoir accepté de prendre part au jury. Merci pour tous les bons moments passés lors de mon stage et tous tes précieux conseils. Je te souhaite une belle continuation personnelle et professionnelle.

A toute l'équipe du laboratoire Therex, dans lequel j'ai effectué mon stage de Master 2, grâce à vous tous, il fut enrichissant et plaisant.

A Bruno TILLIER et l'équipe de Synthelis, mes sincères remerciements pour m'avoir accueillie et aiguillée durant mon stage.

.../...

A mes parents Béatrice et Dominique,

Vous m'avez permis de m'accomplir et d'arriver où j'en suis aujourd'hui grâce à votre soutien et vos encouragements permanents. Vous m'avez également appris les valeurs essentielles de la vie comme l'honnêteté, la générosité, et le courage.

Je vous en serai éternellement reconnaissante.

A mon frère Mickaël,

Tu fais preuve d'une telle force de caractère, malgré toutes les épreuves que tu as traversées, tu as toujours le sourire et une volonté d'avancer hors du commun. Pour cela je t'admire. Sache que je serai toujours là pour toi.

A toute ma famille,

Vous avez toujours été là pour moi et m'avez toujours soutenue dans les bons et les mauvais moments.

Une pensée émue pour ma grand-mère Jeanne qui nous a quitté en mars dernier et à qui je dois beaucoup également. J'aurais aimé que tu sois là.

A Rémi,

Merci d'être à mes côtés jour après jour et de m'avoir aidée et supportée pendant la rédaction. Tu me rends heureuse et tu participes à mon épanouissement.

A mes amis d'enfance, les Saint-Pierrains, Marie, Loic, John, Teddy, Annabelle, Françoise et Sabrina,

Malgré nos parcours différents, nous nous voyons moins souvent mais je sais que je pourrais toujours compter sur vous. Et en souvenir de toutes les fêtes, vacances et voyages que nous avons passés ensemble.

.../...

A mes amis pharmaciens (ou presque) : Aurélie, Gwenaël, Wissem et Amandine mes colocataires ibériques, les 3 fantastiques (Nawfel, Nicolas et Thibault), Camille, Chloé, Marguerite, Marine ma binôme, Mélanie, Antoine, César, Julien, Maxime, Pierre-Olivier, et tous les autres que je ne cite pas,
Nous avons formé une belle équipe pendant toutes ces années et nous sommes toujours soutenus, au temps des révisions et des examens qui ont donné parfois de grands moments, mais aussi et surtout pour profiter des ces merveilleuses années emplies de soirées, week-ends, vacances...

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS	5
SOMMAIRE	8
LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES	10
ABREVIATIONS	12
INTRODUCTION	14
Partie 1. Historique et bibliographie : le glioblastome	15
1. Le glioblastome	15
1.1. Définition	15
1.2. Origine des glioblastomes	16
1.3. Epidémiologie	17
1.4. Caractéristiques cliniques	21
1.4.1. Symptômes	21
1.4.2. Diagnostic	21
1.5. Génétique	24
1.6. Facteurs pronostiques	26
2. Traitements actuels	27
2.1. Chirurgie	27
2.2. Radiothérapie	30
2.3. Chimiothérapie	31
2.4. Nouvelles thérapies	34
Partie 2. Thérapies ciblées et biothérapies	36
1. Cibler les récepteurs de tyrosine kinase	36
1.1. Cibler EGFR	36
1.1.1. Inhibiteurs de EGFR ou inhibiteurs de tyrosine kinase	37
1.1.2. Anticorps anti-EGFR	37
1.2. Cibler PDGFR	38
1.3. Cibler VEGFR	38
2. Cibler les voies de signalisation	39
2.1. Voie Ras/MAPK	39
2.2. Protéine kinase C	40
2.3. Voie PI3K/Akt	40
2.4. Inhibiteurs de mTOR	41
3. Cibler l'angiogenèse	41
3.1. Cibler VEGFR	42
3.1.1. Inhibiteurs de VEGFR	42
3.1.2. Anticorps anti-VEGF	43
3.2. Thalidomide et dérivés	44

3.3. Inhibiteurs d'intégrines.....	45
3.4. Interférons α et β	46
3.5. Inhibiteurs de COX-2	47
3.6. Endothélines	47
4. Autres thérapies moléculaires ciblées.....	48
4.1. Inhibiteurs d'histone désacétylase.....	48
4.2. Inhibiteurs du protéasome	49
5. Thérapies combinées.....	49
6. Thérapie génique	49
7. Immunothérapie	50
7.1. Vaccination	50
7.2. Stimulation du système immunitaire.....	51
8. Traitements locaux.....	52

Partie 3 : Exemple du développement d'une protéine pro-apoptotique et complexités de production.

1. Développement de la protéine Bak.....	55
1.1. La protéine Bak.....	55
1.2. Apoptose.....	56
1.3. Protéoliposomes Bak.....	57
2. Résultats obtenus au laboratoire	59
2.1. Résultats in vitro	59
2.2. Résultats in vivo.....	60
3. Perspectives.....	61
4. Développement des nouvelles thérapies et obstacles	63

DISCUSSION	67
CONCLUSION	72
BIBLIOGRAPHIE.....	74
SERMENT DE GALIEN	74
RESUME	95

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

Tableau I : Epidémiologie et profil d'expression des glioblastomes primaires et secondaires. D'après Oghaki *et al.*, 2007.

Tableau II : Coûts de différents traitements des glioblastomes.

Figure 1 : Développements normal et cancéreux des cellules souches neuronales. D'après Wen *et al.*, 2008.

Figure 2 : IRM d'un glioblastome pariétal droit.

Figure 3 : Coloration éosine-hématoxyline de coupes de glioblastomes. (A) Nécroses en pseudo-palissades (astérisque). (B) Prolifération vasculaire (astérisque) et mitoses (flèches). D'après Wen *et al.*, 2008.

Figure 4 : Immunohistochimie d'une coupe de glioblastome. D'après Wen *et al.*, 2008.

Figure 5 : Fréquences des altérations génétiques dans les glioblastomes primaires et secondaires. D'après Oghaki *et al.*, 2007.

Figure 6 : Effet du pourcentage de résection sur la survie des patients. D'après Keles *et al.*, 2004.

Figure 7 : Taux de survie globale des patients traités par radiothérapie seule ou par radiothérapie et témozolomide. D'après Stupp *et al.*, 2009.

Figure 8 : Médicaments biologiques actuellement en développement.

Figure 9 : Voies de signalisation impliquées dans la pathogénèse du glioblastome et thérapies ciblées associées. D'après Dedjid *et al.*, 2009.

Figure 10 : IRM d'un patient atteint d'un glioblastome multiforme et traité par bévacizumab et irinotécan. D'après Vredenburgh *et al.*, 2007.

Figure 11 : Courbes de survie globale de tous les patients (A) et en fonction du statut MGMT (B). D'après Stupp *et al.*, 2005.

Figure 12 : Schéma récapitulatif des nouvelles approches thérapeutiques dans le traitement du glioblastome et leurs cibles associées. D'après Sathornsumetee *et al.*, 2007.

Figure 13 : Régulation de l'apoptose. D'après de Ségal-Bendirdjian *et al.*, 2005.

Figure 14 : Production des protéoliposomes Bak (A) et activité sur la viabilité cellulaire (B)(C).

Figure 15 : Cinétique de croissance des tumeurs après injection de cellules de glioblastome chez des souris traitées par protéoliposome Bak (LBak) ou BH3 seul (LBH3) (A). Pourcentage de survie des souris après injection de protéoliposomes Bak ou Bak sans BH3 (L Δ BH3) (B).

Figure 16 : Etapes du développement d'une molécule biologique de la découverte jusqu'à la mise sur le marché et chances d'atteindre la commercialisation.

ABREVIATIONS

5-ALA : acide 5-aminolévulinique

ADN : acide désoxyribonucléique

Akt : protéine kinase B

ARN : acide ribonucléique

ARNm : ARN messenger

ARNsi : petit ARN interférent

BCNU : bis-chloroethylnitrosourea

BHE : barrière hémato-encéphalique

CD : cellule dendritique

CED : convection-enhanced delivery

CMH : complexe majeur d'histocompatibilité

COX : cyclo-oxygénase

CPA : cellule présentatrice d'antigène

EGF : facteur de croissance épidermique (epidermal growth factor, en anglais)

EGFR : récepteur du facteur de croissance épidermique (epidermal growth factor receptor, en anglais)

EPR : enhanced permeability and retention

ET : endothéline

FLAIR : fluid-attenuated inversion recovery

GBM : glioblastome multiforme

GBM I : glioblastome primaire

GBM II : glioblastome secondaire

GM : gliome malin

HAT : histone acétyltransférase

HDAC : histone désacétylase

HDACi : inhibiteur d'histone désacétylase

ICD-O : classification internationale des maladies oncologiques (International Classification of Diseases for Oncology)

IFN : interféron

IRM : imagerie par résonance magnétique

IV : intraveineuse
KTI : inhibiteur de tyrosine kinase (kinase tyrosine inhibitor, en anglais)
LB : protéoliposome Bak
LOH : perte d'hétérozygotie (loss of heterozygosity, en anglais)
LT : lymphocyte T
MDM2 : mouse double minute 2
MEK : mitogen-activated protein kinase kinase
MGMT : O6-méthylguanine-ADN-méthyltransferase
mTOR : mammalian target of rapamycin
OMS/WHO : organisation mondiale de la santé/world health organization
PEG : polyéthylène glycol
PFS-12 : survie dans progression à 12 mois
PFS-6 : survie dans progression à 6 mois (progression-free survival, en anglais)
PIP2 : phosphatidylinositol 4,5-biphosphate
PIP3 : phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate
PKC : protéine kinase C
PTEN : phosphatase-tensin homolog
RCMI : radiothérapie conformationnelle avec modulation d'intensité
RT : radiothérapie
SAHA : acide hydroxamique suberoylanilide
TMZ : témozolomide
USA : Etats-Unis d'Amérique
VEGF : vascular endothelial growth factor
VEGFR : vascular endothelial growth factor receptor

INTRODUCTION

Le glioblastome est une tumeur du cerveau. Elle est la plus courante et agressive de toutes celles du système nerveux central. L'espérance de vie actuelle des patients est très mauvaise, de seulement quelques mois, et la récurrence quasi-systématique. Des traitements standards sont utilisés pour tenter de lutter contre ce cancer comme la chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie. Cependant ces traitements ne permettent de prolonger la durée de vie des patients que de quelques mois, voire, plus récemment, de quelques années. La découverte et la compréhension des mécanismes permettant le développement des glioblastomes sont à l'origine de l'émergence de nouvelles molécules de thérapies ciblées.

Afin d'apporter un élément de réponse sur le potentiel réel de ces futurs médicaments, les objectifs de cette thèse seront de définir les nouvelles approches de traitement contre le glioblastome ainsi que leur efficacité. Ensuite, il sera question de comprendre les difficultés de développement d'un médicament biologique de thérapie ciblée en l'illustrant d'un exemple concret, étudié lors du stage de Master 2 que j'ai effectué au sein du laboratoire HumProTher. Le dernier objectif sera d'évaluer le coût de quelques uns de ces traitements.

Partie 1. Historique et bibliographie : le glioblastome

1. Le glioblastome

1.1. Définition

Les cellules gliales sont des cellules du cerveau présentes à côté des neurones. Il en existe trois types : les astrocytes, les oligodendrocytes et les microgliaocytes. Les gliomes malins (GM) ou tumeurs gliales sont les tumeurs du cerveau les plus communes, issus d'une prolifération anarchique des cellules gliales. Ils représentent 70% des nouveaux cas de tumeurs primaires malignes du cerveau diagnostiquées chaque année aux Etats-Unis. Plus de la moitié des gliomes malins sont des glioblastomes multiformes (GBM), le sous-type le plus agressif.

Les GM sont des tumeurs infiltrantes. Les astrocytomes ont été classés en différents grades par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) en fonction de leur histologie. Les gliomes de grade I ou astrocytomes pilocytiques ont un potentiel de prolifération faible et sont en général curables avec une chirurgie. Ils apparaissent en général chez les enfants. Les gliomes de grade II ou astrocytomes diffus sont des tumeurs de l'adulte jeune, ils évoluent dans les 7 à 8 ans en tumeurs anaplasiques puis en GBM. Les gliomes de grade III ou astrocytomes anaplasiques sont des tumeurs malignes évoluant en GBM dans les 2 ans. Enfin les glioblastomes de grade IV ou glioblastomes sont les tumeurs les plus agressives et avec le plus mauvais pronostic (1). Ces tumeurs ont une évolution rapide, entre 2 et 3 mois après le diagnostic sans traitement. Même avec un traitement standard, le taux de récurrence des glioblastomes est très élevé et quasiment inévitable (plus de 90% des cas). Cela est dû au fait que les cellules cancéreuses peuvent s'infiltrer dans le cerveau et progressent de nouveau quelques mois après chirurgie, en général dans un périmètre de 2 cm autour de la tumeur d'origine. La survie moyenne d'un patient recevant un traitement est de 9 à 12 mois sans chimiothérapie et peut aller jusqu'à 15 mois

avec. La survie sans progression de la tumeur après traitement est en général inférieure ou égale à 6 mois (2).

Les glioblastomes peuvent être séparés en 2 sous types principaux : les glioblastomes primaires (GBM I) ou *de novo* (représentant 95 % de la totalité des GBM) et les glioblastomes secondaires (GBM II) qui sont des gliomes de stade II ou III ayant évolué en GBM ou gliomes de stade IV. Cependant leurs caractéristiques histopathologiques ne sont pas différentes (3).

Plusieurs types de GBM moins communs ont été décrits : GBM à cellule géante, gliosarcome, GBM à petite cellule et GBM avec des caractéristiques d'oligodendrogliome (1).

1.2. Origine des glioblastomes

L'origine cellulaire des GBM est encore mal connue mais il semble que les cellules souches neuronales aient un rôle dans la pathogénèse et dans la résistance des GBM aux différents traitements. Le système nerveux central contient des cellules souches neuronales capables de se renouveler par elles-mêmes, de proliférer et de se différencier en plusieurs types cellulaires matures (4).

Des études ont prouvé que les cellules souches neuronales ou progéniteurs cellulaires relatifs pouvaient se transformer en cellules souches cancéreuses et provoquer une augmentation de gliomes malins en échappant aux mécanismes de contrôles de prolifération et de différenciation (cf. figure 1) (5, 6). De plus, d'autres études ont montré que ces cellules souches cancéreuses contribuent à la résistance des gliomes malins aux thérapies standards (7, 8).

Cependant nous ne savons toujours pas quel type de cellule ni quelle voie de signalisation principale initie la transformation en cellules tumorales. Cette

transformation est due à une dérégulation des facteurs épigénétiques et génétiques des cellules souches.

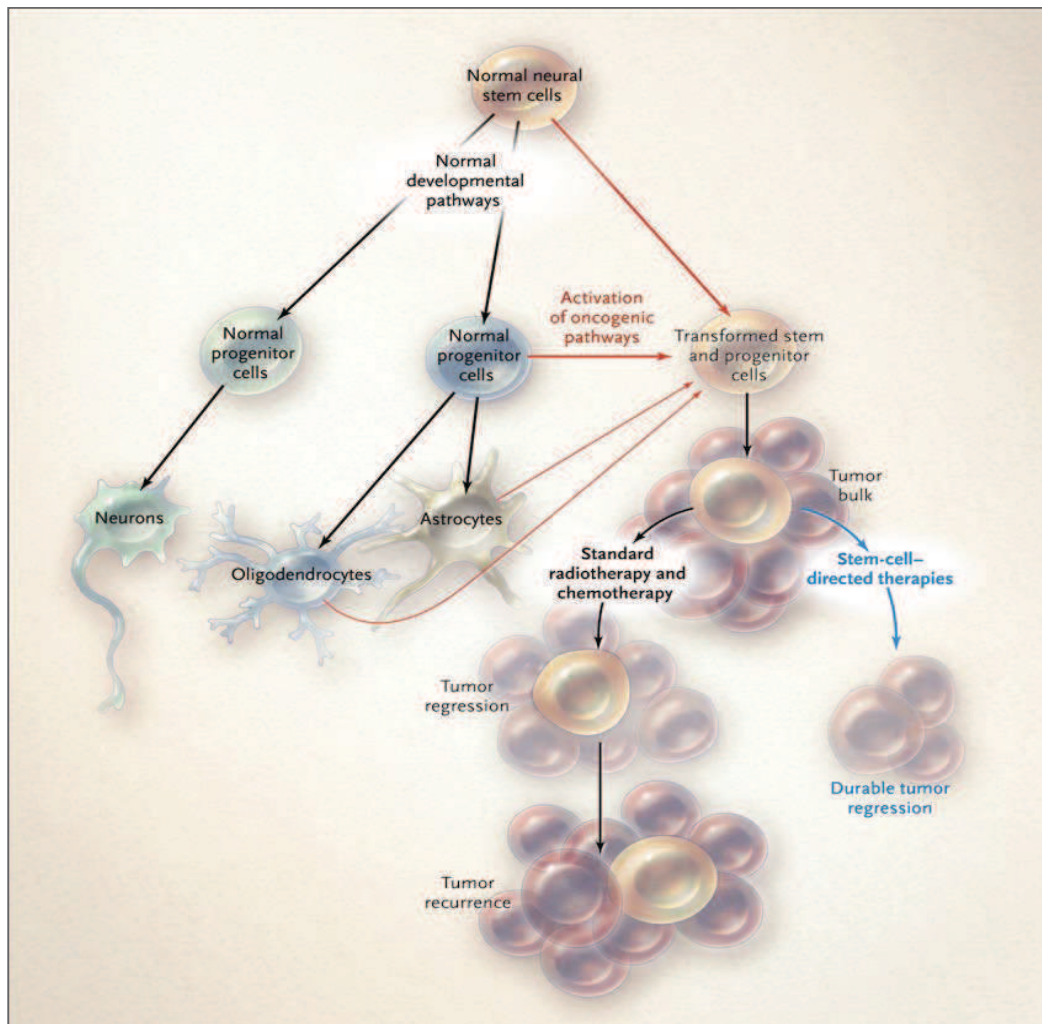


Figure 1 : Développements normal et cancéreux des cellules souches neuronales. D'après Wen *et al.*, 2008 (9).

1.3. Epidémiologie

Le glioblastome est une tumeur rare. Il est codé comme 9440-3 selon la classification internationale des maladies oncologiques (ICD-O en anglais). Le premier chiffre indique la morphologie de la tumeur et le deuxième chiffre sa topographie, /0 pour les tumeurs bénignes, /3 pour les tumeurs malignes et /1 pour les tumeurs dont on ne connaît pas exactement le comportement (1).

L'incidence annuelle du GBM est de 2 à 3 cas pour 100 000 personnes en

Europe et aux Etats-Unis respectivement (10). Il représente 25% de toutes les tumeurs du système nerveux et 50% de toutes les tumeurs gliales (11).

Le taux d'incidence du glioblastome est supérieur dans les pays développés comme l'Australie ou les Etats-Unis au même taux dans les pays en voie de développement comme l'Inde (11). Le seul facteur de risque clairement établi est l'exposition aux radiations ionisantes, thérapeutiques ou non. D'autres facteurs ont été mis en cause comme la pratique de certains métiers tels que les physiciens ou les pompiers, de même que l'exposition professionnelle à des agents carcinogènes, la nourriture contenant des nitrites ou l'utilisation des téléphones mobiles. Cependant, les études menées sur ces critères n'ont pas permis de faire de lien avec l'incidence des GBM (12). L'incidence des GBM a tendance à augmenter chez les jeunes adultes et les adolescents. Une relation entre ce taux d'incidence et l'utilisation croissante des téléphones mobiles ces dernières années a été supposée, mais l'étude INTERPHONE menée par l'Agence Internationale de Recherche sur le Cancer (IARC) n'a pas établi de lien entre les deux (13).

Il existe une différence d'âge moyen entre les deux tumeurs (cf. Tableau I). Les GBM primaires apparaissent tardivement avec une moyenne d'âge située à 62 ans alors que les glioblastomes secondaires se développent chez des patients plus jeunes, la moyenne d'âge étant de 45 ans (14, 15).

Il existe également une différence de prévalence en fonction du sexe du patient, les GBM primaires apparaissent plus fréquemment chez les hommes avec un ratio homme/femme de 1,33. En revanche, la tendance est inversée dans les GBM secondaires avec un ratio homme/femme de 0,65 (14). Plusieurs études montrent également un ratio homme/femme plus élevé dans les GBM I que dans les GBM II (16-18).

La médiane de survie (durée au bout de laquelle la moitié des patients de l'étude sont décédés) des patients avec un glioblastome secondaire est de 7,8 mois, elle est plus longue que pour les patients avec un glioblastome primaire qui est de 4,7 mois. Cela est probablement dû au fait que les patients avec un

glioblastome secondaire sont aussi plus jeunes (14, 15). De plus le pronostic est faible, dans une méta-analyse de 12 essais cliniques randomisés, le taux de survie globale des patients étant atteints d'un glioblastome était inférieur à 30% à un an et égal 5% à 3 ans (19).

	Primary glioblastoma	Secondary glioblastoma
Incidence rate*	3.531	0.199
Incidence rate†	2.575	0.167
Mean age	62 years	45 years
M/F ratio	1.33	0.65
Clinical history	<3 months: 68% 3 to 6 months: 16% >6 months: 16% (mean, 6.3 months)	From grade II: 5.3 years From grade III: 1.4 years
Survival	Median, 4.7 months	Median, 7.8 months
Genetic alterations		
TP53 mutations	28%	65%
EGFR amplification	36%	8%
PTEN mutations	25%	4%
p16 ^{INK4a} deletion	31%	19%
LOH 1p	12%	15%
LOH 10p	47%	8%
LOH 10q	47%	54%
	70%	63%
LOH 13q	12%	38%
LOH 19q	6%	54%
LOH 22q	41%	82%
Promoter methylation		
p14 ^{ARF}	6%	31%
p16 ^{INK4a}	3%	19%
RB1	14%	43%
MGMT	36%	75%
TIMP-3	28%	71%
Expression profiles		
Fas (APO-1/CD95) ^a	100%	21%
Survivin ^a	83%	46%
MMP-9 ^a	89%	14%
EGFR ^a	63%	10%
EGFR ^b	High	Low
MDM2 ^a	31%	0%
VEGF ^c	High	Low
VEGF fms-related tyrosine kinase 1 ^d	High	Low
IGFBP2 ^d	High	Low
Tenascin-X-precursor ^b	High	Low
Enolase 1 ^b	High	Low
Centrosome-associated protein 350 ^b	High	Low
TP53 ^a	37%	97%
ASCL1 ^e	33%	88%
Loss of TIMP-3 ^a	17%	64%
PDGF-AB ^c	Low	High
ERCC6 ^b	Low	High
DUOX2 ^b	Low	High
HNRPA3 ^b	Low	High
WNT-11 protein precursor ^b	Low	High
Cadherin-related tumor suppressor homolog precursor ^b	Low	High
ADAMTS-19 ^b	Low	High

Tableau 1: Epidémiologie et profil d'expression des glioblastomes primaires et secondaires. D'après Oghaki *et al.*, 2007 (3).

M/F, male/female; PDGF-AB, platelet-derived growth factor AB.

*Adjusted to the European Standard Population (per 100,000 persons per year).

†Adjusted to the World Standard Population (per 100,000 persons per year).

^aimmunohistochemistry, ^b2-DGE, ^cenzyme-linked immunosorbent assay, ^dcDNA array, ^ereverse transcriptase-polymerase chain reaction.

1.4. Caractéristiques cliniques

1.4.1. Symptômes

Les symptômes peuvent être différents en fonction de la localisation et de la taille de la tumeur. Il existe des symptômes généraux comme des maux de tête, des nausées et des vomissements qui traduisent une tension intracrânienne due à l'œdème. Des déficits neurologiques progressifs, une faiblesse musculaire et des changements d'humeur peuvent également apparaître. Enfin, des symptômes plus spécifiques de la localisation du glioblastome dans le cerveau comme par exemple l'hémiplégie ou l'aphasie, des convulsions ainsi que des pertes de mémoire sont possibles.

Le plus souvent, le diagnostic de tumeur cérébrale est établi plusieurs mois après l'apparition des premiers symptômes, surtout chez les patients avec des maux de tête intermittents ou avec des troubles neurologiques ou moteurs non spécifiques.

1.4.2. Diagnostic

1.4.2.1. Imagerie

Le diagnostic est établi par rapport aux symptômes mais la preuve est apportée par l'imagerie, IRM ou scanner.

L'IRM associée au gadolinium (produit de contraste) donne une image des tumeurs très précise. L'aspect radiologique au scanner ou à l'IRM est évocateur, avec une lésion infiltrant le parenchyme cérébral associée à une prise de contraste hétérogène. Les contours fixent le produit de contraste, alors que le centre de la tumeur, correspondant à une zone de nécrose, ne le fixe pas.

La tumeur apparaît hypointense en pondération T1 après injection de gadolinium et hyperintense en pondération T2 et en séquences FLAIR (Fluid Attenuated Inversion Recovery) (cf. figure 2) (20).

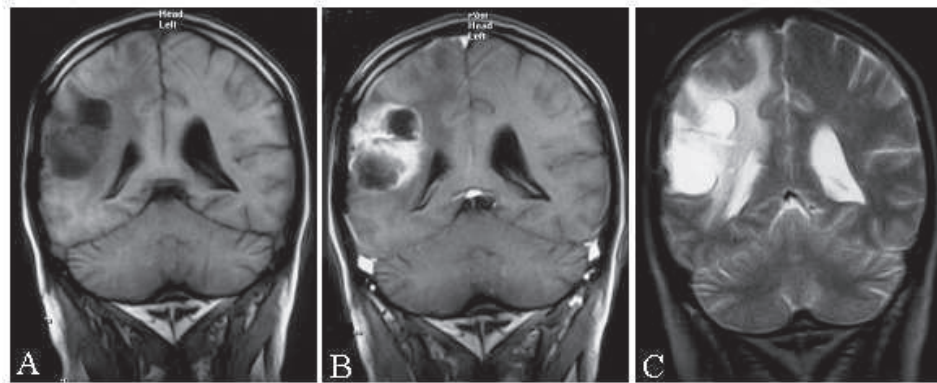


Figure 2. IRM d'un glioblastome pariétal droit. (A) IRM en pondération T1 sans injection d'agent de contraste (masse tumorale hypointense). (B) Pondération T1 avec agent de contraste. (C) IRM en pondération T2 (masse tumorale hyperintense).

Le diagnostic de GBM I est établi en présence d'une tumeur avérée, sans preuve clinique (imagerie), radiologique ou histopathologique (biopsie) d'une lésion provenant d'un gliome précurseur. De même, le diagnostic de glioblastome secondaire requiert une preuve clinique ou histologique provenant de l'évolution d'un astrocytome malin de grade inférieur (14).

1.4.2.2. Biopsie

Les images obtenues par IRM permettent d'apporter des preuves au diagnostic mais il ne peut être clairement établi que par une biopsie permettant l'examen des tissus de la tumeur.

Elle est réalisée pendant la chirurgie de résection ou, si la tumeur est inopérable, une biopsie stéréotaxique sera effectuée.

1.4.2.3. Histopathologie

Les GBM sont caractérisées par une nécrose tissulaire et des zones de prolifération microvasculaire importantes. Le fait que ces tumeurs soient très hétérogènes ne facilite pas le diagnostic, il doit être posé après observation générale du tissu qui doit montrer la présence de cellules gliales anaplasiques avec une activité mitotique forte en plus des zones de nécrose ou de vascularisation (cf. figure 3).

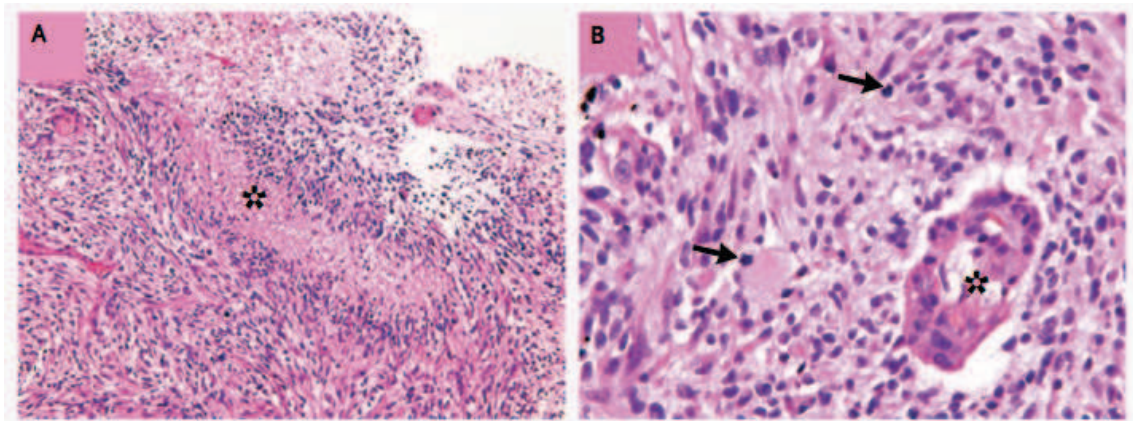


Figure 3 : Coloration éosine-hématoxyline de coupes de glioblastomes. (A) Nécroses en pseudo-palissades (astérisque). (B) Prolifération vasculaire (astérisque) et mitoses (flèches). D'après Wen *et al.*, 2008 (9).

Il est également possible de quantifier le taux de prolifération des glioblastomes par immunohistochimie, au moyen du marquage de la protéine Ki67, absente des cellules quiescentes (cf. figure 4).

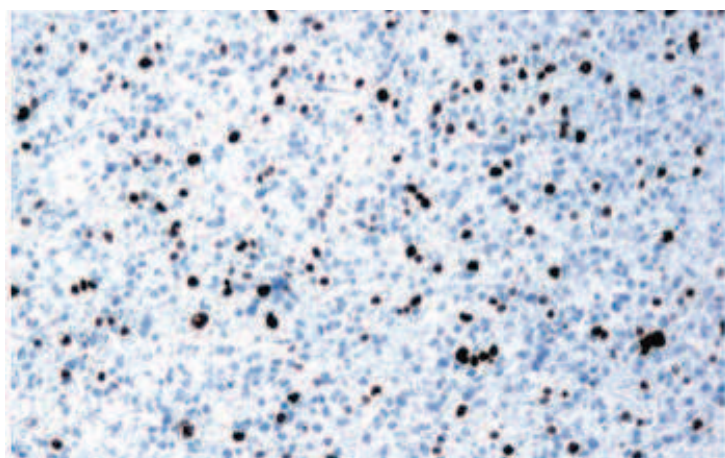


Figure 4 : Immunohistochimie d'une coupe de glioblastome. En noir, ressortent les cellules en division. D'après Wen *et al.*, 2008 (9).

1.5. Génétique

Nous avons vu que les glioblastomes primaires et secondaires ont des caractéristiques épidémiologiques et cliniques différentes. Ces différences sont également présentes au niveau génétique. En effet, les modifications génétiques spécifiques du glioblastome peuvent être différentes ou varier en proportion en fonction du sous-type de GBM.

L'altération génétique la plus fréquente retrouvée dans le GBM est la perte d'hétérozygotie sur le chromosome 10q ou LOH 10q en anglais (Loss Of Heterozygosity). Elle apparaît dans 63 à 70% des GBM II et I respectivement (21-23). L'amplification du récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR, en anglais) ainsi que la mutation du gène PTEN (Phosphatase-TENSine homolog) sont des modifications génétiques typiques des GBM I (24). Alors que la mutation du gène p53 est spécifique des GBM II (cf. figure 5).

Ces modifications génétiques provoquent des altérations dans trois voies de signalisation impliquées dans le développement du glioblastome :

- la voie EGFR/PTEN/Akt/mTOR : cette voie est importante pour le développement des GBM I. EGFR est activé par la liaison de facteurs de croissance comme EGF à son domaine extracellulaire. Cette activation provoque la phosphorylation de PIP2 (phosphatidylinositol 4,5-biphosphate) en PIP3 (phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate) par l'intermédiaire de la kinase PI3K. Ceci permet l'activation de molécules effectrices comme Akt (protéine kinase B) et mTOR (mammalian Target Of Rapamycin, en anglais) ce qui déclenche la prolifération cellulaire et augmente la survie des cellules en bloquant l'apoptose. La protéine PTEN peut inhiber PIP3. Mais le gène codant pour cette protéine est situé sur le chromosome 10 qui est délété dans plus de 60% des GBM. Le gène PTEN peut être muté dans 15 à 40% des GBM I (24). De plus, EGFR est amplifié dans 40 % des GBM I et surexprimé dans plus de 60 % des cas, ce qui accroît encore le blocage de l'apoptose (14, 17). Plusieurs mutants de l'EGFR sont connus, la forme la plus commune est

appelée EGFRvIII. L'amplification ou la surexpression de ce mutant est corrélée à un faible pronostic.

- la voie TP53/MDM2/p14^{ARF} : cette voie est fortement impliquée dans le développement des GBM II. La protéine p53 régule plusieurs processus cellulaires dont le cycle cellulaire, l'apoptose, la réponse des cellules aux lésions de l'ADN, la différenciation cellulaire et la néovascularisation. Dans la cellule normale, cette protéine n'est presque pas exprimée et est régulée par la protéine MDM2 (Mouse Double Minute 2, en anglais). L'activité de cette dernière est contrôlée par la protéine p14^{ARF}. En cas de stress cellulaire, des modifications post-traductionnelles engendrent la dissociation de MDM2 et de p53 qui va pouvoir réguler la transcription. Des mutations du gène p53 ou la perte d'expression de p14^{ARF} peuvent entraîner une perte de fonctionnalité de la protéine p53.

Dans les GBM II, le gène codant pour la protéine p53 est muté dans 65% des cas et dans moins de 30% des GBM I (14, 17). De plus, une perte d'expression de p14^{ARF} est reportée dans 76 % des GBM (25).

- la voie p16^{INK4a}/Rb1 : elle joue un rôle important pour les deux sous-types de GBM. La protéine Rb1 contrôle la progression du cycle cellulaire de la phase G1 à la phase S par l'intermédiaire de la protéine p16^{INK4a} (26). Des délétions homozygotes ainsi qu'une méthylation de la zone promoteur du gène Rb1 sont retrouvées fréquemment dans les GBM I et II (27).

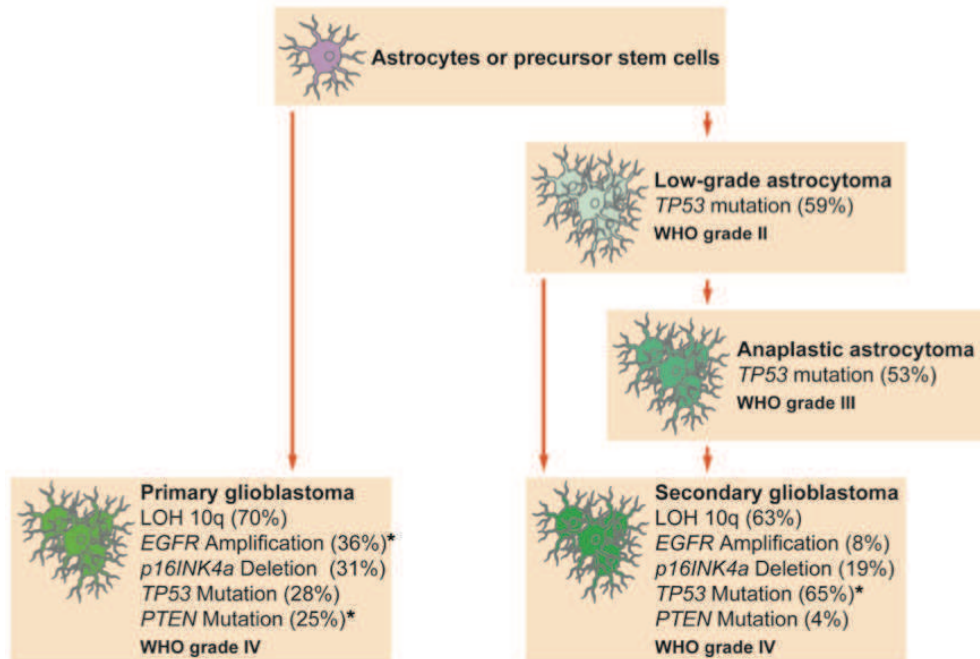


Figure 5 : Fréquences des altérations génétiques dans les glioblastomes primaires et secondaires. D'après Oghaki *et al.*, 2007. (3)

1.6. Facteurs pronostiques

Les facteurs pronostiques concernant le glioblastome ont été identifiés tout au long des études et essais cliniques dont il a fait l'objet. Une étude a permis de faire un classement des patients avec une estimation de leur survie médiane en fonction de ces facteurs (28).

L'âge a tout d'abord été mis en évidence, les patients jeunes ont une médiane de survie supérieure aux patients âgés (29). L'état général du patient est également à prendre en compte. De même, il a été vu précédemment que les hommes développaient plus de glioblastomes que les femmes (cf. paragraphe 1.3 Epidémiologie).

Au niveau de la tumeur, sa taille et sa localisation sont des facteurs importants. Ainsi que ses caractéristiques histologiques, par exemple, la forte présence de nécroses est signe d'un mauvais pronostic (29). Enfin, l'étendue de la chirurgie de résection, quand elle est possible, est également un élément à considérer.

2. Traitements actuels

Trois axes de traitement sont actuellement utilisés pour tenter de prolonger la survie des patients tout en leur garantissant une qualité de vie acceptable. Il s'agit tout d'abord de réaliser une chirurgie la plus large possible. Ensuite le patient est traité par radiothérapie associée à une chimiothérapie concomitante et adjuvante. Le cytotoxique le plus utilisé en référence est le témozolomide (Temodal®).

2.1. Chirurgie

Le traitement par chirurgie est le traitement de première intention pour les patients atteints de GBM, cependant contrairement à d'autres tumeurs, la chirurgie ne peut pas être curative. Cela est tout d'abord dû à sa localisation, le cerveau est un organe complexe et la moindre erreur peut engendrer des dommages neurologiques graves et irréversibles. Ensuite, le caractère infiltrant de ces tumeurs empêche, la plupart du temps, la résection totale. À défaut d'être curative, la chirurgie cytoréductrice la plus large possible de la tumeur permet en premier lieu de réduire les symptômes dus à la surpression intracrânienne induite par la tumeur. Ce qui permet d'améliorer la qualité de vie des patients et, dans certains cas, d'augmenter le taux de survie. De plus, le fait de retirer du tissu néoplasique augmente la probabilité de réponse aux autres traitements (radiothérapie, chimiothérapie). Keles GE *et al.* le prouvent dans une étude menée en 2004 sur 119 patients atteints de GBM récurrents (cf. figure 6). Plus le volume résiduel de la tumeur est faible, plus la réponse au traitement par témozolomide est importante et le taux de survie est amélioré (30).

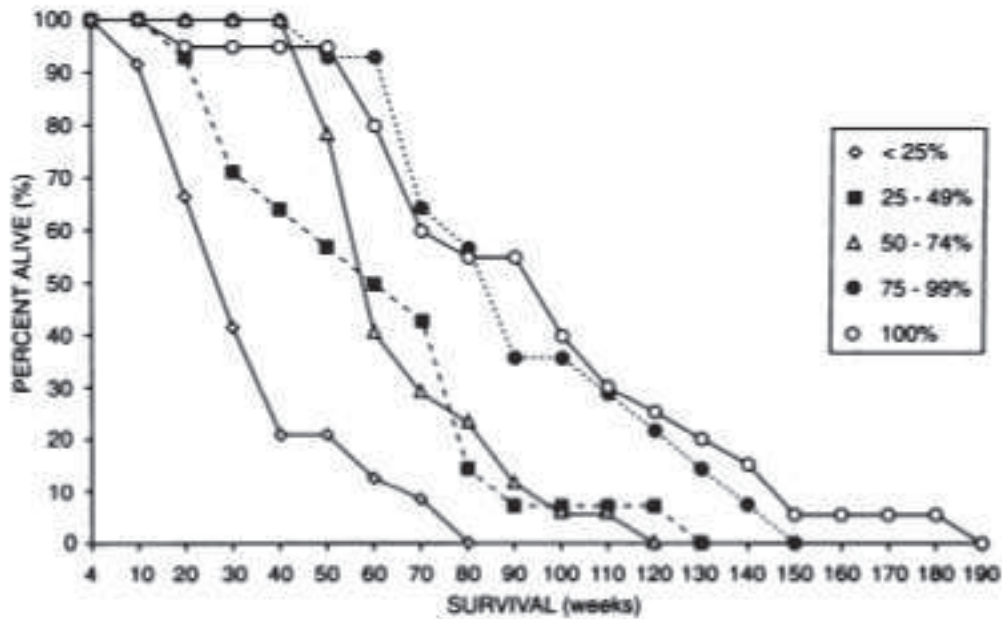


Figure 6 : Effet du pourcentage de résection sur la survie des patients. D'après Keles et al., 2004 (30).

Enfin, la chirurgie ou la biopsie stéréotaxique (si la craniotomie n'est pas possible) permet d'extraire une partie de la tumeur afin qu'elle soit analysée par un anatomopathologiste. Ceci dans le but de confirmer le diagnostic et de mettre en place un traitement adapté au patient.

Selon le type histologique, la taille et la localisation de la tumeur, la chirurgie peut aboutir soit à une résection totale de la tumeur, soit à une résection partielle ou seulement à une biopsie dans les cas les plus difficiles. Ces résultats impactent directement sur la qualité de vie et la survie du patient.

Néanmoins, l'efficacité de la chirurgie a été controversée car certaines études ont montré des résultats modestes sur la prolongation de la durée de vie des patients (31-33). Il n'existe pas d'étude comparant des patients atteints de glioblastome ou gliome malin traités par chirurgie *versus* des patients non traités par chirurgie pour des raisons éthiques évidentes. Cependant des essais cliniques ont été réalisés, comparant l'approche chirurgicale classique *versus* deux nouvelles approches innovantes.

La première est une chirurgie guidée par fluorescence avec l'acide 5-aminolévulinique (5-ALA en anglais) commercialisé sous le nom de Gliolan® en France. Le 5-ALA est un précurseur biochimique naturel de l'hémoglobine capable de s'accumuler dans les gliomes malins. Il permet d'augmenter la probabilité d'exérèse complète des tumeurs en aidant la visualisation de celles-ci après injection et sous lumière bleue (34).

La deuxième approche est l'utilisation d'implants imprégnés de carmustine (ou BCNU pour bis-chloroethylnitrosourea) commercialisé sous le nom de Gliadel® en France. La carmustine est un agent alkylant utilisé en chimiothérapie. Il est ici imprégné sur des sondes directement implantées dans la cavité de résection suivant une chirurgie cytoréductive (35).

Ces deux études ont montré des résultats satisfaisants. En effet, l'étude 1 met en évidence une augmentation du taux de résection complète de la tumeur (65% dans le groupe 5-ALA contre 36% dans le groupe de chirurgie sous lumière blanche). Ceci a pour conséquence une augmentation du taux de survie sans progression à 6 mois (41% contre 21%) ainsi qu'une légère progression du taux de survie globale (15,2 mois contre 13,5 mois). D'une manière plus générale, une différence sur la survie globale selon la résection complète ou partielle de la tumeur a été démontrée sur la totalité des patients de l'étude. Pour les patients dont la tumeur a été enlevée totalement, la durée de survie moyenne est de 17,9 mois alors qu'elle est de 12,9 mois pour les patients avec une résection partielle (34).

L'étude 2 comparant l'utilisation d'implants de carmustine *versus* des implants placebo chez des patients atteints d'un gliome malin primaire, montre une survie moyenne supérieure dans le groupe traité avec les implants imprégnés que dans le groupe placebo. Plus spécifiquement, dans le groupe des patients ayant un glioblastome, la survie moyenne est de 14,5 mois contre 12,4 mois pour ceux avec résection complète de la tumeur ; et de 11,7 contre 10,6 mois pour le groupe avec résection partielle (35).

Ces 2 études montrent d'une part la relation entre étendue de la chirurgie et survie globale et, d'autre part, les résultats et bénéfices des nouvelles approches en chirurgie. En plus de ces nouvelles approches, il existe aujourd'hui des aides techniques, comme l'IRM intra-opératoire, la neuronavigation et l'échographie qui permettent d'optimiser l'exérèse de la tumeur en la rendant la plus large possible.

2.2. Radiothérapie

Aujourd'hui, la radiothérapie (RT) fait partie du traitement de référence pour les patients atteints d'un glioblastome. Elle est réalisée après la chirurgie ou la biopsie. Le délai optimal entre ces deux traitements n'a pas été défini de façon certaine mais a été évalué dans plusieurs études. Certaines concluent à un effet délétère si ce délai augmente (36, 37), alors que d'autres études ont montré que ce délai n'avait pas d'influence ou pouvait être bénéfique sur l'évolution de la tumeur (38, 39). Le délai entre la chirurgie et la RT doit être compris entre 4 et 6 semaines pour obtenir des résultats optimaux (40).

Malgré cette controverse sur le délai d'initiation de la radiothérapie, son efficacité a été largement démontrée (41-43). Dans certaines études, le taux de survie globale des patients traités par RT comparé à des patients traités par chimiothérapie ou par des soins palliatifs peut doubler (44, 45).

Une revue systématique a comparé en 2002 les études mesurant l'efficacité de la RT classique *versus* d'autres approches de radiothérapie afin de déterminer le rôle de la radiothérapie conventionnelle chez les patients adultes avec un gliome malin nouvellement diagnostiqué, ainsi que les lignes directrices pour un traitement optimal des patients (46). Cette revue confirme qu'aucune autre approche ne démontre d'amélioration significative sur la survie globale des patients par rapport à la RT conventionnelle. Ceci pour des techniques incluant une augmentation de la dose administrée ou l'utilisation de radiosensibilisants, mais aussi pour des techniques très prometteuses comme la radiothérapie conformationnelle avec modulation d'intensité (RCMI) (47). La

RCMI était considérée par la Haute Autorité de Santé en 2006 comme la façon la plus perfectionnée de délivrer une irradiation externe par photons (48).

De plus, les auteurs de cette revue concluent que la RT post-opératoire doit être utilisée dans les conditions suivantes pour être optimale : la dose maximale administrée ne doit pas être supérieure à 50-60 Gy, elle doit être fractionnée en doses de 1,8 à 2 Gy par séance, 5 jours par semaine. Le volume irradié comprend le volume de la tumeur de départ plus 2 cm de marge autour de cette tumeur. Pour les patients âgés de plus de 70 ans, le fait de raccourcir la durée de traitement peut avoir un effet positif.

2.3. Chimiothérapie

L'agent le plus utilisé aujourd'hui dans la chimiothérapie des glioblastomes est le témozolomide ou Temodal®. Il est utilisé comme traitement de référence de façon concomitante et adjuvante à la radiothérapie depuis qu'une étude internationale menée par Stupp *et al.* en 2005 ait prouvé son efficacité. Un essai randomisé de phase III, incluant 573 patients de 15 pays différents, a comparé un groupe de patients traité par radiothérapie (60 Gy en 30 séances) et un groupe traité par RT et témozolomide (TMZ) pendant et après la RT. La dose de TMZ administrée était de 75 mg/m² de surface corporelle par jour pendant six semaines pendant la phase concomitante, suivie d'une phase adjuvante de six cycles d'une durée de 5 jours à une dose de 150 à 200 mg/m² de surface corporelle par jour, répétée tous les 28 jours. Les résultats ont montré un taux de survie à 2 ans de 10,4 % avec la RT seule et de 26,5 % avec RT et TMZ (cf. figure 7), ainsi qu'une médiane de survie de 12,1 et 14,6 mois respectivement. Ces différences significatives ont fait du TMZ le traitement de référence pour les GBM (2).

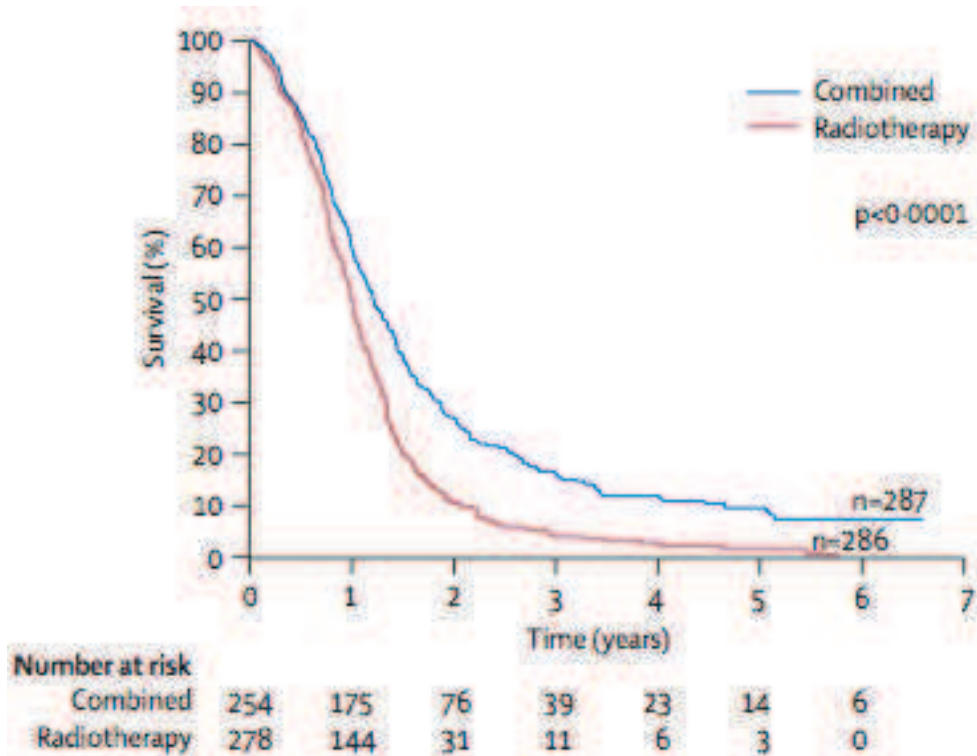


Figure 7 : Taux de survie globale des patients traités par radiothérapie seule (courbe rouge) ou par radiothérapie et témozolomide (courbe bleue). D'après Stupp *et al.*, 2005. (2)

Le témozolomide est un agent alkylant de l'ADN administré par voie orale. Il provoque une alkylation de la guanine en position O6 et N7 de l'ADN ce qui déclenche l'apoptose des cellules (49). Un enzyme de réparation de l'ADN, le O6-méthylguanine-ADN-méthyltransferase (MGMT) permet de réparer ces lésions cytotoxiques en enlevant le groupement alkyl en position O6 de la guanine. Cette enzyme est associée à la résistance de la tumeur aux agents alkylants (50-53). En effet, il a été prouvé qu'une méthylation dans la région du promoteur MGMT entraînant une inactivation du gène MGMT (54) entraîne de meilleurs résultats sur la survie des patients traités par RT+TMZ. Hegi *et al.* a déterminé le statut méthylé ou non du promoteur MGMT des patients inclus dans l'essai de Stupp *et al.* (2) puis les a divisés en deux groupes. Les patients avec le promoteur MGMT méthylé et traités par radiothérapie et témozolomide avaient une survie médiane de 22 mois et un taux de survie à deux ans de 46 %, alors qu'ils n'étaient que de 15 mois et 23 % respectivement pour ceux traités avec la RT seule. Dans les groupes de patients avec le promoteur MGMT non méthylé et traités par RT+TMZ, la médiane de survie était de 13 mois et le taux de survie à deux ans de 14 %, ceux traités par RT seule avaient

une survie médiane de 12 mois et un taux de survie à deux ans inférieur à 2 % (55).

Le TMZ possède une toxicité hématologique imposant une surveillance durant toute la durée du traitement, il provoque aussi des nausées, des vomissements et de la fatigue.

Avant la découverte du TMZ, une méta-analyse réalisée en 2002 sur 12 essais randomisés a montré l'efficacité de la chimiothérapie (associant une nitrosourée plus ou moins une autre substance) par rapport à la RT seule (augmentation du taux de survie à 1 an de 6 % et de la durée de survie médiane de 2 mois). De plus les bénéfices de la chimiothérapie étaient indépendants de l'âge, du sexe, de l'histologie, de l'indice de performance et de l'étendue de la chirurgie. Cependant, les patients dont la tumeur n'était pas opérable et avec un indice de performance faible n'ont pas montré d'amélioration significative de la survie (19). Ce qui signifie que la chimiothérapie donne des résultats satisfaisants chez les patients dont la résection partielle ou totale est possible et avec un bon état général. Dans le cas contraire et chez les patients trop âgés, des soins palliatifs sont préférés à la chimiothérapie.

Malgré les résultats obtenus avec le témozolomide, des progrès restent à faire car la durée de vie reste modeste. D'autres cytotoxiques sont en phases d'essais cliniques comme les nitrosourées dont la carmustine (BCNU), la lomustine (CCNU) et la nimustine (ACNU) ou des inhibiteurs de topoisomérase I comme le topotécane ou l'irinotécane, utilisés seuls ou en association avec d'autres médicaments comme le bévacizumab (19, 57).

2.4. Nouvelles thérapies

Les progrès réalisés notamment en chirurgie ainsi que les résultats obtenus jusqu'à présent n'étant pas suffisants et les biotechnologies étant en plein essor, les chercheurs se tournent désormais vers des thérapeutiques ciblées.

Cela est également vrai pour tous les autres types de pathologies. Actuellement, plus de 800 médicaments biologiques sont en développement (cf. figure 8) ciblant plus de 100 maladies. Parmi ces produits biologiques en développement, 352 concernent le cancer, dont 11 ont comme indication le glioblastome et 7 le gliome.

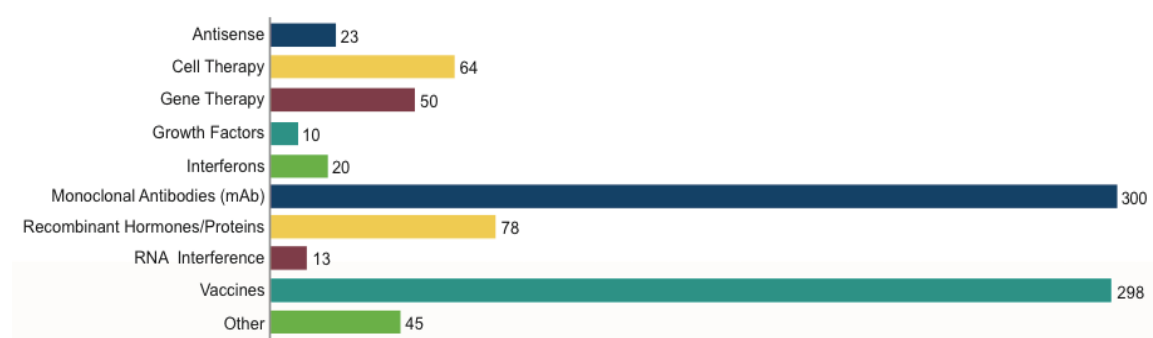


Figure 8 : Médicaments biologiques actuellement en développement.

De nombreux mécanismes sont en cause dans la résistance des glioblastomes à la chimiothérapie. L'un d'entre eux ayant déjà été cité est la non-méthylation de la zone promoteur du gène codant pour la protéine MGMT. Les voies de signalisation du GBM entrent également en jeu et sont les cibles de la plupart de ces molécules (cf. figure 9). Ces cibles et les molécules thérapeutiques associées seront développées dans la partie suivante.

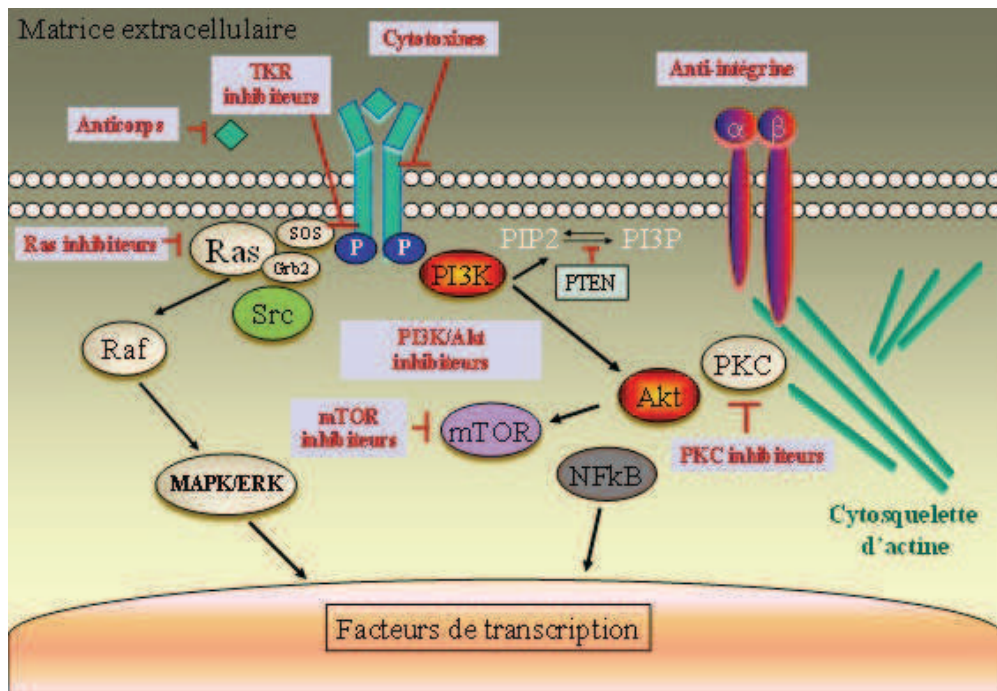


Figure 9 : Voies de signalisation impliquées dans la pathogénèse du glioblastome et thérapies ciblées associées. D'après Dedjid *et al.*, 2009 (58).

Les médicaments de thérapie ciblée ne sont pas utilisés seuls mais en combinaison avec le traitement standard. Ils ne font pas (encore) partie de ce schéma mais l'espérance de vie restant faible, les patients sont, en général, encouragés à participer à des essais cliniques innovants.

Partie 2. Thérapies ciblées et biothérapies

Malgré des années de recherche, le schéma de traitement standard des glioblastomes donne toujours des résultats insuffisants puisque ce cancer reste incurable. Cependant ces recherches ont permis d'identifier les altérations génétiques conduisant au dérèglement de plusieurs processus comme une dérégulation de la croissance et de la prolifération cellulaire ainsi qu'une résistance à l'apoptose. Plusieurs voies de signalisation et leurs récepteurs sont en cause. Leur détermination a permis de mieux comprendre le développement des GBM primaires et secondaires.

Les médicaments émergents (biologiques ou non) ciblent des composants spécifiques de ces voies de signalisation, d'où le nom de thérapie ciblée. Ces nouvelles molécules permettent d'agir de façon spécifique sur les cellules de GBM en limitant les effets indésirables et toxiques rencontrés lors de traitements par chimiothérapie par exemple. Actuellement, près de 700 essais cliniques sont en cours, évaluant des traitements contre le glioblastome sur clinicaltrials.gov (avril 2012).

1. Cibler les récepteurs de tyrosine kinase

1.1. Cibler EGFR

L'EGFR est une des cibles les plus étudiées à l'heure actuelle puisque il est à l'origine de l'activation de voies de signalisation en cause dans la tumorigenèse du GBM. De plus son gène est muté dans 40 à 50 % des cas, il est amplifié dans 40 à 60 % des GBM. Ces mutations sont surtout observées dans les GBM I. Il s'agit d'un récepteur de tyrosine kinase, membre de la famille des protéines Her/Erb.

1.1.1. Inhibiteurs de EGFR ou inhibiteurs de tyrosine kinase (KTI)

Les premières molécules développées et dirigées contre l'EGFR sont des inhibiteurs spécifiques de ce récepteur. Elles agissent en bloquant un domaine intracellulaire ATP. Les deux molécules les plus étudiées sont l'erlotinib (Tarceva®) et le gefitinib (Iressa®). Elles ont été étudiées dans des essais de phases I et II.

Seulement 10 à 20 % des patients répondent à ce traitement, il semblerait que l'efficacité de ces molécules soit associée à un profil moléculaire particulier avec coexpression de EGFRvIII et de PTEN par la tumeur. Plusieurs études ont tenté de montrer un lien avec l'efficacité des traitements, le statut de EGFR (sauvage ou muté EGFRvIII), la surexpression ou amplification de EGFR et la présence de PTEN intact mais sans réponse claire (59-61), avec des résultats parfois contradictoires (62, 63). De plus, les résultats de ces études ne sont pas encourageants avec un taux de survie sans progression à 6 mois inférieur au traitement par témozolomide ou carmustine, 11,4 % avec erlotinib contre 24 % avec TMZ ou BCNU dans l'étude de van den Bent *et al.* (59).

Vingt-quatre essais cliniques sont en cours évaluant l'erlotinib seul ou en combinaison dans des études de phase I et II et dix pour le gefitinib. Ces deux molécules sont prises oralement (clinicaltrials.gov, avril 2012).

1.1.2. Anticorps anti-EGFR

Deux anticorps anti-EGFR principaux sont en phases I à III d'étude, le nimotuzumab (Theraloc®) et le cetuximab (Erbix®). Le nimotuzumab est une immunoglobuline G1 (IgG1) humanisée capable de se lier avec spécificité et une haute affinité à l'EGFR et de bloquer la liaison des facteurs de croissance, inhibant ainsi l'activation des voies de signalisation sous-jacentes. Le cetuximab est un anticorps chimérique ayant les mêmes propriétés. Ils sont administrés par voie intraveineuse, le cetuximab à une posologie de 400 mg/m² à la première injection puis 250 mg/m² chaque semaine.

L'avantage est que les anticorps sont bien tolérés mais leur activité reste limitée (64). Une étude clinique de phase III comparant un traitement standard avec radiothérapie, témozolomide et nimotuzumab à un traitement standard sans nimotuzumab est actuellement en cours (NCT00753246, clinicaltrials.gov). Quatre autres essais cliniques de phases I et II évaluent le cetuximab, seul ou en combinaison avec d'autres médicaments.

1.2. Cibler PDGFR (Platelet-derived Growth Factor Receptor)

PDGFR est un récepteur cellulaire ayant un rôle dans la croissance cellulaire et l'angiogenèse (65). Son activation et surexpression sont impliquées dans la pathogénicité des GBM.

Des inhibiteurs de PDGFR ont été synthétisés et testés. Le mésylate d'imatinib (Gleevec®) est l'inhibiteur de tyrosine kinase pour lequel le plus d'informations sont disponibles. Il est très bien toléré, administré par voie orale et possède une activité plus intéressante en association avec le témozolomide qu'en monothérapie (66). Une étude de phase II a montré que l'imatinib en association avec le TMZ donnait une médiane de survie sans progression (PFS en anglais) de 14 semaines et un taux de PFS à 6 mois de 24 % (67).

Un essai de phase III a été mené et n'a pas été probant quant à l'efficacité de l'imatinib (NCT00290771, clinicaltrials.gov). Treize autres essais incluant cette molécule sont encore actuellement en cours.

1.3. Cibler VEGFR (Vascular Endothelial Growth Factor Receptor)

Cette partie sera traitée dans le paragraphe 3. Cibler l'angiogenèse car le VEGFR est aussi un récepteur des facteurs de croissance mais impliqué dans l'angiogenèse.

2. Cibler les voies de signalisation

La liaison des facteurs de croissance à leurs récepteurs vus précédemment implique l'activation de ces derniers et de plusieurs voies de signalisation (cf. paragraphe 1.5. Génétique de la partie 1). La transmission du signal intervient par le recrutement de nombreux effecteurs et aboutit à la dérégulation de la prolifération cellulaire, de la différenciation et de la croissance cellulaire. Tous ces effecteurs sont donc des cibles potentielles pour de nouvelles thérapies (cf. figure 9).

2.1. Voie Ras/MAPK

Une surexpression de Ras est observée dans la majorité des GBM. (68) Elle est activée par une farnesyl transférase en Raf activée (kinase sérine/thréonine). Raf phosphoryle une kinase MEK (mitogen-activated protein kinase kinase) qui active MAPK (ou ERK) et induit des facteurs de transcription nucléaires et donc une dérégulation des processus cités précédemment (69).

Des inhibiteurs de farnesyl transférase comme le tipifarnib (Zarnestra®) et le lonafarnib (Sarasar®) ont été développés mais ils ne montrent qu'une faible activité (70, 71).

Le sorafenib, un inhibiteur de Raf et de PDGFR, ayant également des propriétés antiangiogéniques par inhibition de VEGFR, donne des résultats encourageants *in vitro* et chez l'animal. Une médiane de survie de 44 jours a été observée chez des souris ayant été implantées avec des tumeurs intracrâniennes et traitées par sorafenib administré oralement, alors que dans le groupe de souris non traitées, elle n'est que de 12 jours (72, 73).

Une douzaine d'études cliniques de phases I et II sont actuellement en cours concernant le sorafenib, six pour le tipifarnib et quatre pour de lonafarnib, ils sont évalués seuls ou en association.

2.2. Protéine kinase C (PKC)

L'activation des PKC permet la phosphorylation d'effecteurs comme Raf, ce qui active la voie MAPK citée au-dessus (74). La prolifération des gliomes malins est corrélée à l'activité des PKC (75).

Deux molécules ciblant les PKC sont étudiées, le tamoxifène, et l'aurine. Le tamoxifène est un anti-œstrogène synthétique déjà utilisé pour traiter le cancer du sein. Outre son effet sur les récepteurs aux œstrogènes, il peut entre autre inhiber les PKC (76). Cependant les résultats des études ne sont pas encourageants car l'efficacité du tamoxifène n'a pas été prouvée. L'étude clinique de phase II menée par Spence *et al.* a été stoppée, faute d'efficacité du traitement (77, 78).

L'enzastaurine interfère également avec les PKC. Des études précliniques ont démontré les effets antiprolifératifs et anti-angiogéniques sur des gliomes malins (79). Il est bien toléré (80) et a montré des résultats prometteurs dans des études de phase II. Cependant une étude de phase III a montré que l'efficacité de l'enzastaurine n'était pas supérieure à celle de la lomustine seule. (81)

Quatre études cliniques de phase II sont en cours (clinicaltrials.gov) pour le tamoxifène et six pour l'enzastaurine dont un en phase III évaluant l'enzastaurine seule contre la lomustine (NCT00295815).

2.3. Voie PI3K/Akt

Comme nous l'avons vu précédemment (cf. Partie 1, paragraphe 1.5. Génétique), la voie PI3K est une voie importante dans le développement malin des gliomes, par le biais d'altérations génétiques (mutation de PTEN). De plus, l'activation de cette voie conférerait une résistance des GBM à la radiothérapie et au temozolomide. PI3K et Akt ont donc fait l'objet de recherches en tant que cibles potentielles.

Les études menées sur des inhibiteurs potentiels de Akt (perifosine et nelfinavir) ou de PI3K (LY294002) sont controversées. Certaines montrent une augmentation de la sensibilité à la RT et au TMZ (82, 83) alors que d'autres prouvent le contraire (84).

Trois essais phases I et II sont en cours pour le nelfinavir associé au traitement standard (RT+TMZ), un pour la perifosine en phase I/II en association avec le temsirolimus.

2.4. Inhibiteurs de mTOR

mTOR est un effecteur activé par Akt, il permet la phosphorylation de la protéine ribosomale S6 par la protéine kinase S6. Ceci permet d'initier la traduction.

Plusieurs inhibiteurs de mTOR ont été développés, dont les trois plus importants sont le sirolimus (Rapamune®), le temsirolimus (Torisel®) et l'everolimus (Afinitor®). Cependant les résultats n'ont pas montré de prolongation de durée de vie pour les patients comparativement au traitement standard, malgré une bonne tolérance au traitement (85-88).

Quatorze études cliniques de phases I et II sont en cours pour le temsirolimus, dix pour l'everolimus et quatre pour le sirolimus. Ils sont évalués seuls ou en association.

3. Cibler l'angiogenèse

L'angiogenèse est une cible de choix pour ces nouvelles thérapies ciblées car le GBM est l'une des tumeurs les plus vascularisées.

3.1. Cibler VEGFR (Vascular Endothelial Growth Factor Receptor)

Le VEGF est impliqué dans la pathogenèse du GBM où il est généralement exprimé mais pas dans les gliomes de bas grade (89). Des études ont prouvé que l'inhibition de VEGF inhibait la croissance des gliomes et permettait une régression des vaisseaux sanguins (90, 91). L'angiogenèse est induite par l'activation de VEGFR suite à la liaison de VEGF.

La synthèse de VEGF est activée et régulée par deux voies. La première est celle de l'hypoxie, présente dans le microenvironnement des tumeurs et induisant la production de VEGF (92). La deuxième est la voie de l'EGFR qui active la voie PI3K/Akt/mTOR, ce qui induit la production de VEGF (93). Cette production peut également être augmentée en induisant la transcription d'ARNm par activation de la zone promoteur VEGF par l'EGFR (94).

3.1.1. Inhibiteurs de VEGFR

Plusieurs inhibiteurs de tyrosine kinase ont été testés, dont le cediranib (Recentin® ou AZD2171), le vandetanib (Zactima® ou ZD6474) et le vatalanib (PTK787/ZK22584). Ces inhibiteurs sont bien tolérés (95, 96). Une étude de phase II évaluant le cediranib en monothérapie a montré des résultats encourageants avec une survie sans progression à 6 mois (PFS-6) de 25,8% contre 9 à 12 % avec un traitement standard (97).

Des essais cliniques sont en cours afin d'évaluer l'efficacité de ces inhibiteurs dont dix essais pour le cediranib (un en phase III), cinq pour le vandetanib et trois pour le vatalanib. Ils sont évalués seuls ou en association.

Des KTI de l'EGFR ont également montré leur efficacité en diminuant l'angiogenèse : le sorafenib (Nexavar®) cité précédemment (cf. paragraphe 2.1 Voie Ras/MAPK) et le sunitinib (Sutent®). Le sunitinib a montré une efficacité limitée dans un essai de phase I en combinaison avec l'irinotécan avec un taux de PFS-6 à 24 % (98).

Douze essais cliniques de phases I et II sont en cours pour le sorafenib et dix pour le sunitinib. Ils sont évalués seuls (le plus souvent pour le sunitinib) ou en association avec le traitement standard ou d'autres molécules.

3.1.2. Anticorps anti-VEGF

Le bevacizumab (Avastin®) est le médicament de thérapie ciblée le plus évalué et utilisé actuellement en association avec le traitement standard. Il a été reconnu par les autorités de santé américaines (Food and Drug Administration) comme traitement dans les GBM récurrents.

Le bevacizumab est un anticorps monoclonal humanisé de type IgG1 qui se lie spécifiquement à VEGF et l'empêche d'activer VEGFR et donc l'angiogenèse.

Vredenburgh *et al.* ont mené la première étude évaluant l'efficacité du bevacizumab en association avec l'irinotécan. Cette étude a montré une PFS-6 de 36 % (99). Les résultats de l'imagerie médicale sont encourageants (cf. figure 10). Cependant, la légitimité de l'irinotécan en association avec le bevacizumab a été mise en cause. Dans une étude, Prados *et al.* ont conclu à une efficacité limitée de l'irinotécan utilisé seul avec une PFS-6 de 15,7 % et une toxicité importante (100). De plus, Kreils *et al.* ont montré des résultats similaires à Vredenburgh mais en évaluant le bevacizumab seul (PFS-6 de 29 %) (101).

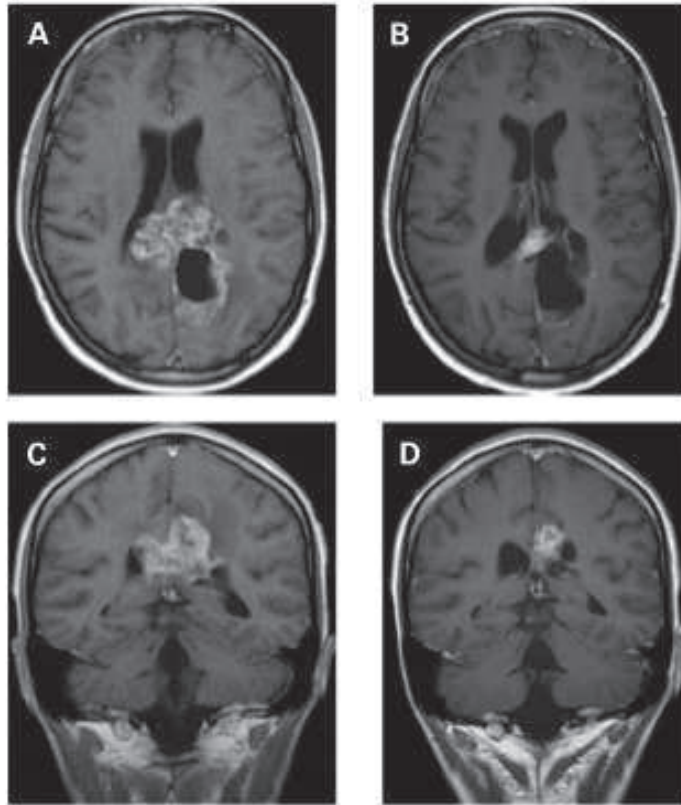


Figure 10 : IRM d'un patient atteint d'un glioblastome multiforme et traité par bévacicumab et irinotécan. IRM en pondération T1 après injection de produit de contraste avant traitement (A et C) et après 4 cycles de traitement (B et D). D'après Vredenburgh *et al.*, 2007 (99).

Soixante dix-sept essais cliniques dont un en phase III (NCT00884741) sont actuellement menés, évaluant le bévacicumab seul ou en association avec le traitement standard, l'irinotécan ou d'autres molécules.

3.2. Thalidomide et dérivés

Le thalidomide a des propriétés anti-angiogéniques et anti-tumorales (102-103).

Le thalidomide en combinaison avec le TMZ a montré une tolérance acceptable et une bonne efficacité avec une survie médiane de 73 semaines (104).

Un dérivé du thalidomide, le lénalidomide (Revlimid®) montre également des résultats encourageants.

Onze études sont en cours pour le thalidomide et cinq pour le lénalidomide.

3.3. Inhibiteurs d'intégrines

Les intégrines sont des récepteurs d'adhésion cellulaire avec un domaine transmembranaire. Elles sont composées d'une sous-unité α et d'une sous-unité β . Il en existe 24 différentes se distinguant par leur spécificité de liaison et la taille de leurs sous-unités. Les intégrines spécifiques $\alpha V\beta 3$ et $\alpha V\beta 5$ sont présentes à la fois sur les cellules endothéliales et tumorales et impliquées dans l'angiogenèse. Les intégrines sont également impliquées dans la migration, la prolifération, la différenciation et la survie cellulaire.

Le cilengitide est un inhibiteur des intégrines $\alpha V\beta 3$ et $\alpha V\beta 5$, il est administré par voie intraveineuse (IV). Les résultats des études cliniques se sont révélés prometteurs en combinaison avec le témozolomide avec un taux de PFS-6 de 69% et de PFS-12 de 33 %. La médiane de survie globale était de 16,1 mois (105). Dans cette étude également, les patients avec la zone promoteur du gène MGMT méthylée avaient une espérance de survie supérieure aux autres patients (cf. figure 11).

Une étude clinique de phase III (NCT00689221) est en cours ainsi que onze autres évaluant le cilengitide seul ou, dans le plus grand nombre d'études, en combinaison avec d'autres traitements.

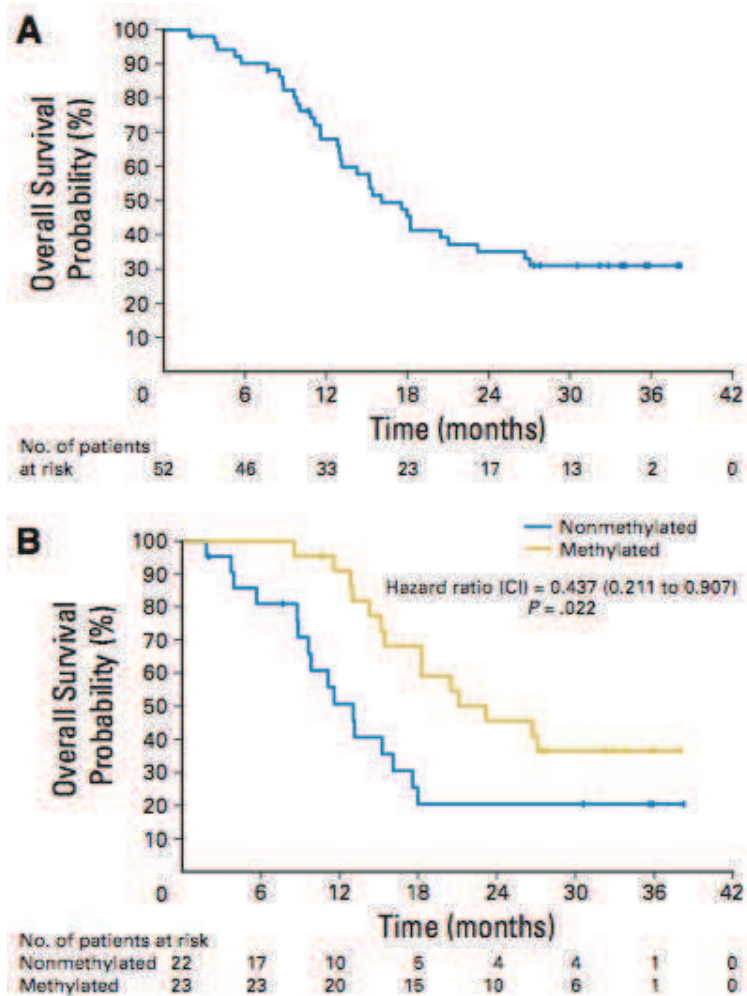


Figure 11 : Courbes de survie globale de tous les patients (A) et en fonction du statut MGMT (B). D'après Stupp *et al.*, 2005 (105).

3.4. Interférons (IFN) α et β

L'interféron α a été testé dans une étude de phase III en combinaison avec la carmustine (BCNU) (106), après avoir prouvé son efficacité dans des études précédentes (107-108). Cependant les résultats de l'essai de phase III mené par Buckner *et al.* n'ont pas été concluants puisque l'IFN- α n'a pas prouvé d'augmentation de la durée avant progression ou de la survie globale des patients. L'IFN- α a également été testé en combinaison avec d'autres agents, mais sans prouver son efficacité.

Plusieurs études de phase I et II ont prouvé l'absence de toxicité et l'efficacité de l'IFN- β (109, 110). Deux essais de phase I sont en cours pour IFN- β et un essai en phase II pour l'IFN- α .

3.5. Inhibiteurs de COX-2

La cyclo-oxygénase 2 (COX-2) est une enzyme capable d'induire la formation de prostaglandines. Le fait qu'elle soit exprimée dans les gliomes est corrélé avec leur degré de malignité et est associée à une durée de survie plus faible (111). Les inhibiteurs de la COX-2 dont le celecoxib (Celebrex®), généralement utilisé pour leurs propriétés anti-inflammatoires, ont des propriétés anti-angiogéniques et anti-tumorales (112-113).

Les résultats obtenus au cours de deux études de phase II sont mitigés. Une première étude a montré que l'addition de celecoxib au TMZ et thalidomide n'apportait pas de bénéfice au traitement (114). Alors que Reardon *et al.* ont obtenu des résultats encourageants en associant le celecoxib à l'irinotécan (PFS-6 de 25,1% et médiane de survie globale de 31,5 mois) (115).

Le celecoxib est actuellement en cours d'évaluation dans quatre essais cliniques de phase II.

3.6. Endothélines

Les récepteurs endothéline-A (ET-A), spécifiques aux endothélines 1 (ET-1) sont très présents dans les glioblastomes (116). L'ET-1 est un facteur de croissance cellulaire important, elle est impliquée dans la régulation de la prolifération cellulaire.

Atrasentan est un inhibiteur sélectif du récepteur ET-A développé pour bloquer la liaison de l'ET-1 à l'ET-A, inhibant ainsi la prolifération cellulaire et l'angiogenèse durant la croissance des gliomes (117).

Une étude de phase I a montré que l'atrasentan était bien toléré mais son efficacité n'a pas été prouvée (médiane de survie égale à 6 mois) (118). Un essai de phase I est actuellement en cours.

4. Autres thérapies moléculaires ciblées

4.1. Inhibiteurs d'histone désacétylase (HDACI)

Les histones sont des protéines qui permettent l'organisation de l'ADN dans le nucléosome (sous-unité composée de huit histones enroulée de chromatine). L'acétylation ou non des histones se fait par deux enzymes, l'histone désacétylase (HDAC) et l'histone acétyltransférase (HAT). La structure de la chromatine et l'expression des gènes sont régulées par ce phénomène. L'inhibition de HDAC conduit à une hyperacétylation des histones, ce qui relaxe la chromatine et permet l'expression sélective de gènes suppresseurs de tumeurs (119).

Dans cette optique, plusieurs HDACI dont le SAHA (acide hydroxamique suberoylanilide ou Vorinostat®) ont été évalués. Une étude de phase II sur le SAHA administré seul a montré une absence majeure de toxicité mais une efficacité modérée (PFS-6 de 23%) (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). En revanche, associé à d'autres agents tels que le témozolomide, il semblerait être efficace mais cela reste à démontrer (121).

D'autres HDACI comme l'acide valproïque (Depakote®), traditionnellement utilisé comme antiépileptique ou thymorégulateur, et le phénylbutyrate (Ammonaps®) sont également en cours d'évaluation mais leur efficacité reste à prouver lors d'essais cliniques.

Actuellement onze essais de phases I et II sont en cours pour le SAHA dont six en combinaison avec le TMZ et deux pour l'acide valproïque.

4.2. Inhibiteurs du protéasome

Il existe également des inhibiteurs du protéasome. Le bortezomib est capable d'inhiber la sous-unité 20S du protéasome. Une étude de phase I a montré une PFS-6 de 15 %, ce qui n'est pas très encourageant (122) mais des études sont en cours pour l'étudier en combinaison avec d'autres médicaments comme le TMZ, le vorinostat ou le bévacizumab (six en cours).

5. Thérapies combinées

Les molécules inhibant les récepteurs à tyrosine kinase précédemment cités n'ont pas montré d'efficacité ou une efficacité mineure utilisées en monothérapie. Le fait de les combiner entre elles ou à d'autres molécules avec un mécanisme d'action différent pourrait surmonter cette résistance au traitement.

De plus, l'utilisation d'inhibiteurs de cibles multiples comme le sorafenib inhibant Raf, le PDGFR et le VEGFR ou le sunitinib inhibant le PDGFR et le VEGFR montre des résultats prometteurs. Ces inhibiteurs sont également combinés au traitement standard ou à d'autres molécules comme le bevacizumab, l'erlotinib ou l'irinotécan.

6. Thérapie génique

Dans le cadre des cancers, le but de la thérapie génique est de remplacer un gène suppresseur muté ou délété ou d'insérer un nouveau gène oncogène au sein des tumeurs. Dans le cas des GBM, les gènes principalement ciblés sont les gènes p53 et PTEN. Ils sont généralement introduits dans les cellules grâce à des virus servants de vecteurs. Des études prouvent leur efficacité *in vitro* ou chez l'animal mais les résultats chez l'homme sont encore décevants. Un essai de phase I a montré que la transduction de p53 avec un adénovirus

ne montrait pas de toxicité mais les virus restaient près du point d'injection et les cellules tumorales n'intégraient pas le gène (123).

7. Immunothérapie

7.1. Vaccination

Des antigènes associés aux tumeurs (TAAs) sont maintenant connus et caractérisés. Ils peuvent être reconnus par notre système immunitaire. En les injectant chez les patients, il est donc possible de provoquer une réponse immunitaire, mais de faible niveau, chez les patients atteints de GBM. Ces TAA se lient aux molécules du CMH (Complexe Majeur d'Histocompatibilité) et sont alors reconnus par les lymphocytes T.

Plusieurs types de vaccins ont été et sont évalués, des vaccins de lysats de cellules tumorales ou à base de peptides mais également des vaccins de cellules dendritiques que nous allons développer. Les cellules dendritiques sont les cellules présentatrices d'antigène (CPA) les plus efficaces pour l'activation des lymphocytes T (LT). Elles expriment des molécules du CMH I et II en grande quantité. (124)

Des techniques de pulsation des cellules dendritiques avec des antigènes ou des protéines permettent d'induire une réponse primaire T spécifique impliquant les cellules T naïves au repos ainsi que les cellules CD4+ (LT helpers) et CD8+ (LT cytotoxiques). Cela se fait *in vitro*, avant injection intradermique. Au travers de deux études de phase I, Yu *et al.* ont testé des cellules dendritiques ayant subi une pulsation avec des peptides du CMH I. Les patients ont montré une réponse médiée par les CD8+ dans 57% des cas. Dans la seconde étude, ils ont utilisé des lysats de cellules tumorales pour la pulsation des cellules dendritiques et 60 % des patients montraient une réponse des CD8+. La médiane de survie globale était de 133 semaines contre

30 semaines pour les patients dans le groupe traité par chirurgie et radiothérapie uniquement (125, 126).

Les résultats de ces études étant encourageants, d'autres études ont cherché à déterminer la localisation optimale du point d'injection et un schéma d'injection induisant la meilleure réponse immunitaire. Une étude de phase I a montré que les patients avec des injections intratumorale et intradermique avaient une survie plus longue que les patients avec injections intradermiques seules (127). Dans une autre étude de phase I évaluant trois schémas vaccinaux, les patients avec le schéma le plus rapide avaient une survie sans progression supérieure aux autres groupes (128). Le rindopepimut (ou CDX-110) est un vaccin peptidique dirigé contre le mutant EGFRvIII de EGFR qui a montré son efficacité en augmentant les durées de survie sans progression et de survie globale des patients (129). Il est actuellement évalué dans un essai clinique phase II en association avec le bévacizumab et dans un essai de phase III.

Toutes ces études ont montré un réel bénéfice sur la survie des patients sans toxicité. Actuellement seize essais cliniques évaluent l'efficacité de la vaccination par les cellules dendritiques dont sept en phase II et une en phase III.

7.2. Stimulation du système immunitaire

De même, des molécules destinées à stimuler le système immunitaire ont fait l'objet de nombreuses recherches, comme par exemple le tarbedersen (AP 12009), un inhibiteur de TGF- β 2 (Transforming Growth Factor en anglais).

TGF- β 2 est une cytokine qui diminue la stimulation des lymphocytes B et T, elle inhibe également les cellules LAK (Lymphokine Activate Killer en anglais) et augmente la production d'IL-10 par les macrophages. Le taux de cette cytokine est fortement augmenté dans les gliomes de haut grade, sa présence est corrélée à un mauvais pronostic. (130-132)

Le trabedersen inhibe la production de TGF- β 2. Une étude de phase II a montré des résultats encourageants puisque le trabedersen est la première molécule de thérapie ciblée à montrer une efficacité équivalente au témozolomide (133, 134). Une étude de phase III est actuellement en cours (NCT00761280).

8. Traitements locaux

Des traitements locaux administrés après la chirurgie sont envisageables afin de minimiser ou de retarder les risques de récives qui sont supérieurs à 90%. Actuellement, un traitement par chimiothérapie locale existe déjà et est utilisé, il s'agit du Gliadel® constitué de gaufrettes imprégnées de carmustine qui sont insérées dans la cavité lors de la chirurgie (cf. paragraphe 2.1 Chirurgie, de la partie 1).

Un autre système de délivrance est en cours d'essai, il s'agit d'un système de délivrance par convection (CED en anglais). Un gradient de pression continu permet d'administrer un médicament dans le parenchyme cérébral en évitant le passage de la barrière hémato-encéphalique (BHE). Cela est souvent utilisé pour les molécules de taille importante (135).

La cintredexine besudotox (CB ou IL13-PE38QQR) est actuellement testée avec cette technique. Il s'agit d'une cytotoxine chimérique recombinante composée d'interleukine-13 fusionnée avec une forme mutée d'exotoxine A de *Pseudomonas aeruginosa*. Cette protéine peut se fixer sur les récepteurs de l'IL-13 présents uniquement sur les cellules de gliomes, ce qui permet à l'exotoxine d'entrer dans ces cellules et d'induire leur apoptose (136, 137). Une étude de phase III comparant la cintredexine au Gliadel® a montré une efficacité équivalente entre les deux approches, ce qui est très prometteur pour ce système de délivrance qui pourra être utilisé avec d'autres agents de thérapie ciblée (138).

En résumé, la découverte et la compréhension des mécanismes entrant en jeu dans la pathogénèse de glioblastomes ont permis de développer des médicaments ciblant directement ces mécanismes et leurs acteurs (cf. figure 12). Cependant de nombreuses molécules issues de ces recherches se sont avérées inefficaces, certainement car tous les mécanismes et interactions influant sur la malignité des GBM n'ont pas été découverts.

Il semblerait que la combinaison de ces molécules entre elles soit un des éléments de réponse aux résistances des GBM aux traitements rencontrés actuellement.

Parmi tous les médicaments de thérapie ciblée cités dans cette partie, seul le bevacizumab a été reconnu comme traitement contre le glioblastome. Les autres sont tous encore dans différentes étapes de la recherche clinique, de la phase I à la phase III. Sept autres médicaments donnent des résultats satisfaisants et sont actuellement en phase III, à savoir le cediranib, l'enzastaurine, le cilengitide, l'imatinib, le nimotuzumab, le rindopepimut et le trabedersen.

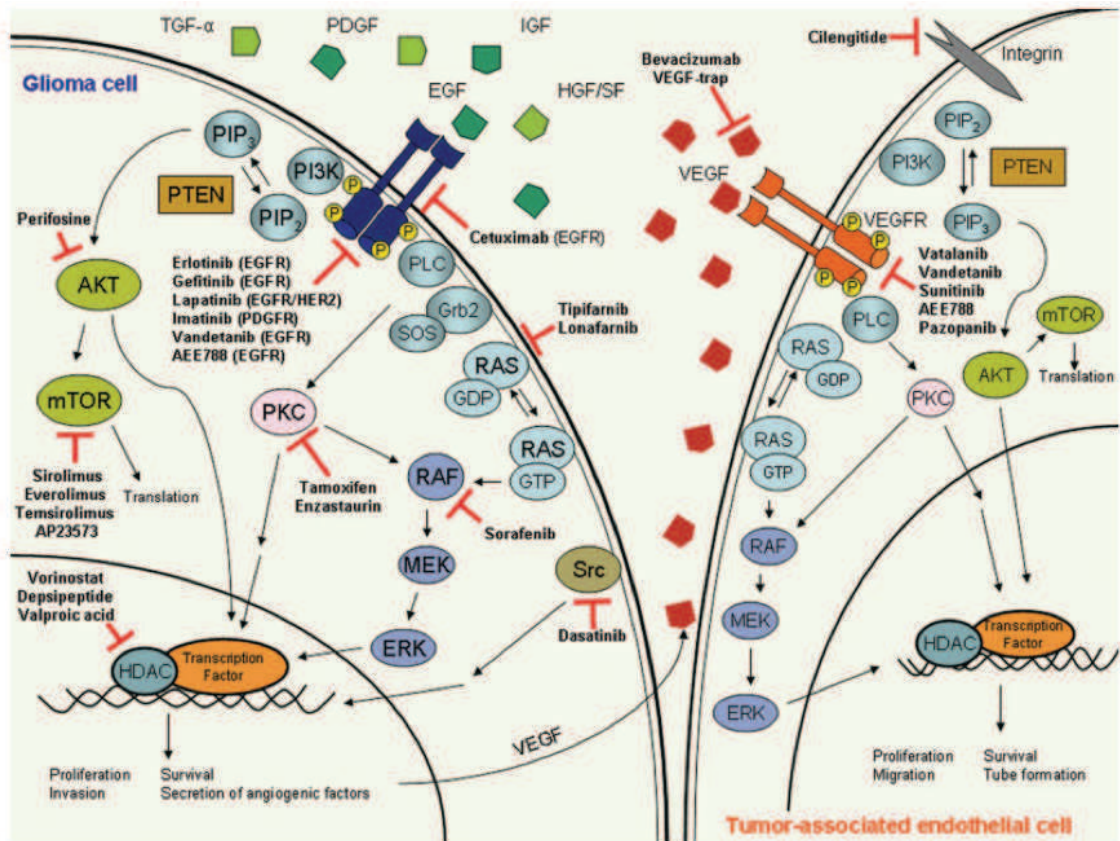


Figure 12 : Schéma récapitulatif des nouvelles approches thérapeutiques dans le traitement du glioblastome et leurs cibles associées. D'après Sathornsumetee *et al.*, 2007. Abréviations : EGF, epidermal growth factor; ERK, extracellular regulated kinase; GDP, guanine diphosphate; GTP, guanine triphosphate; HDAC, histone deacetylase; TGF- α , transforming growth factor; HGF/SF, hepatocyte growth factor/scatter factor; IGF, insulin-like growth factor; MEK, mitogen-activated protein extracellular regulated kinase; mTOR, mammalian target of rapamycin; PDGF, platelet-derived growth factor; PIP₂, phosphatidylinositol (4,5) bisphosphate; PIP₃, phosphatidylinositol (3,4,5) tri- sphosphate; PI3K, phosphatidylinositide-3-kinase; PKC, protein kinase C; PLC, phospholipase C; PTEN, phosphatase and tensin homolog. D'après Sathornsumetee *et al.*, 2007 (139).

Partie 3 : Exemple du développement d'une protéine pro-apoptotique et complexités de production.

Comme nous l'avons vu précédemment, la dégradation des voies de signalisation conduit au dérèglement de l'apoptose au sein des glioblastomes et à une résistance aux médicaments induisant l'apoptose. De nombreuses recherches sont actuellement menées afin de trouver des thérapies pouvant induire de nouveau l'apoptose. Cela est vrai pour tous les types de cancer, dont la principale cause de malignité est la prolifération cellulaire sans apoptose.

Dans cette optique, des travaux sont actuellement menés sur la protéine pro-apoptotique Bak au sein du laboratoire HumProTher. Cette protéine est produite en système acellulaire et a été testée sur des lignées tumorales et plus récemment sur des animaux.

1. Développement de la protéine Bak

1.1. La protéine Bak

La protéine Bak est une protéine pro-apoptotique qui induit la mort cellulaire. Elle appartient à la famille des protéines Bcl-2 (environ 30), impliquées soit dans la survie cellulaire soit dans la mort cellulaire.

Les protéines de cette famille contiennent 4 domaines d'homologie appelés BH (Bcl2 Homology domain) : BH1, BH2, BH3 et BH4. Les protéines anti-apoptotiques incluant Bcl-2, Bcl-xL et Mcl-1 possèdent 2 ou 4 domaines BH et inhibent la perméabilisation de la membrane mitochondriale. Les protéines pro-apoptotiques quant à elles peuvent être divisées en deux groupes : celles qui contiennent 2 ou 3 domaines BH, dont Bax et Bak, et celles ne possédant que le domaine BH3 en commun comme Bim, Bid et Bad, elles sont appelées

BH3-only (140). Elles ont, grâce à ces domaines, la capacité de se lier entre elles (dimérisation). Certaines de ces protéines sont localisées sur les membranes externes du noyau, de la mitochondrie et du réticulum endoplasmique grâce à leur domaine transmembranaire.

1.2. Apoptose

Il existe deux voies de signalisation moléculaire de l'apoptose : la voie extrinsèque et la voie intrinsèque. Dans les deux voies, il y a relargage du cytochrome c, protéine résidant dans l'espace inter-membranaire mitochondrial. Dans le cytoplasme, le cytochrome c, en association avec d'autres facteurs comme l'endonucléase G, le facteur d'induction de l'apoptose (AIF) et de la protéine smac/DIABLO, active la caspase 9 conduisant à une activation de la pro-caspase 3 en caspase 3 effectrice (141).

Les protéines de la famille Bcl-2 (dont Bak) sont des régulateurs majeurs de la voie intrinsèque de l'apoptose. En effet, ces protéines régulent l'apoptose en contrôlant le relargage de cytochrome c par la mitochondrie. Bak, qui est une protéine pro-apoptotique, favorise le relargage de cytochrome c (cf. figure 13). Le niveau d'expression entre les protéines pro et anti-apoptotiques détermine la sensibilité de la cellule à l'apoptose. Ainsi, une surexpression de Bak conduit à une augmentation de la sensibilité de la cellule à l'apoptose.

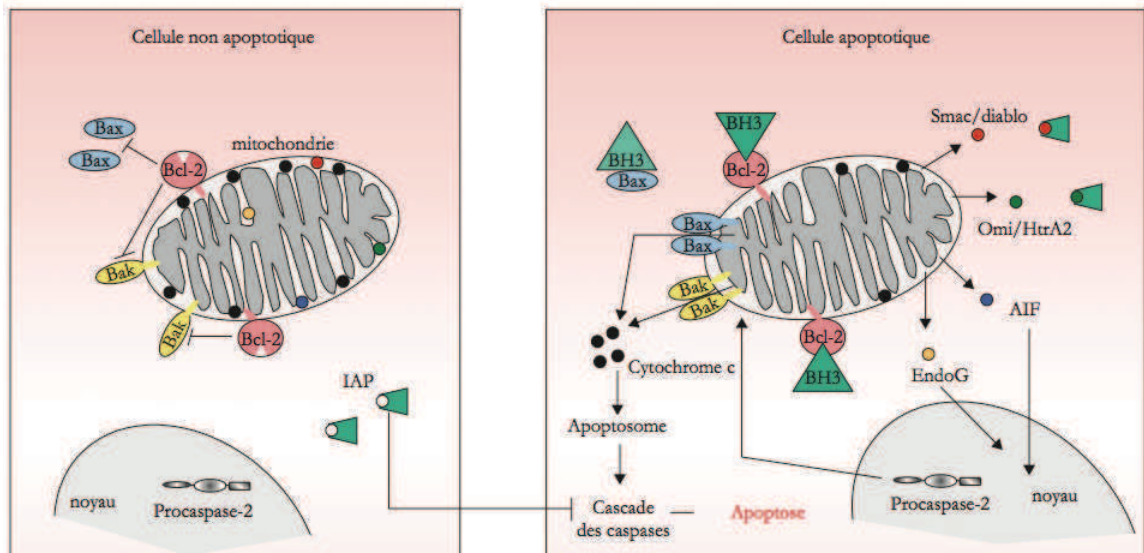


Figure 13 : Régulation de l'apoptose. D'après de Ségal-Bendirdjian *et al.*, 2005.

En présence de mitogènes ou de facteurs de croissance, Bad est phosphorylée par Akt à la protéine cytosolique 14-3-3. Lorsqu'un stimulus apoptotique atteint la cellule, cela entraîne l'activation des protéines pro-apoptotiques BH3-like dont Bad qui n'est plus retenue à la protéine 14-3-3 et peut alors se lier à des protéines anti-apoptotiques comme Bcl-xL (142, 143). Cela entraîne l'homodimérisation de Bak et Bax, permettant la formation de pores dans la membrane mitochondriale, la libération du cytochrome c et donc l'activation de la cascade des caspases conduisant à l'apoptose. Il a été démontré qu'une restauration de l'apoptose dans des cellules cancéreuses était possible en activant Bak (144).

1.3. Protéoliposomes Bak

Bak est une protéine membranaire. Ces protéines représentent 30% des protéines totales de l'organisme et sont impliquées dans des processus biologiques essentiels. Cependant leur étude est difficile car ce sont des protéines hydrophobes formant des agrégats ou se repliant de façon incorrecte lors de leur expression en système de production dit classique : systèmes cellulaires procaryotes ou eucaryotes (cellules de mammifères, de levures ou d'insectes). Leur production ainsi que leur administration est donc délicate et

nécessite des systèmes innovants afin d'obtenir des rendements satisfaisants pour envisager des études fonctionnelles ou structurales.

Cela peut être envisagé grâce à des vecteurs de type liposomes ayant montré un potentiel intéressant. En effet, ils ne sont pas toxiques, des ligands spécifiques peuvent être attachés à leur surface afin de cibler les tissus ou organes désirés. Enfin, ils peuvent protéger les molécules de la dégradation, par des enzymes par exemple et augmenter leur concentration au sein de la cible, ainsi que leur temps de circulation (145). Cette augmentation du temps de circulation peut être faite en greffant soit des immunoglobulines de type IgG (immunoliposomes), soit des polymères biocompatibles comme le polyéthylène glycol (PEG) (146).

Un autre argument en faveur des liposomes est que les tumeurs ont une caractéristique spécifique appelée phénomène de perméabilité et rétention tissulaire (EPR en anglais) augmentant la perméabilité vasculaire autour de la tumeur. Cela permet initialement une croissance plus rapide de celle-ci, ce qui facilite aussi le passage de macromolécules et d'agents lipidiques (147). Les liposomes s'accumulent donc plus facilement dans la tumeur que dans les autres tissus ou organes, ce qui permet une délivrance plus importante à l'intérieur de la tumeur et une diminution de la toxicité et de potentiels effets secondaires dans les autres tissus.

L'utilisation des liposomes dans la formulation de la protéine Bak permettrait donc de faciliter son administration, d'éviter sa dégradation, d'augmenter sa durée de vie ainsi que le temps de circulation et enfin d'optimiser sa concentration en ciblant spécifiquement les glioblastomes.

Cependant, il reste le problème de la production de cette protéine membranaire, difficile dans les systèmes d'expression classiques car les rendements sont faibles et des agrégats peuvent être présents.

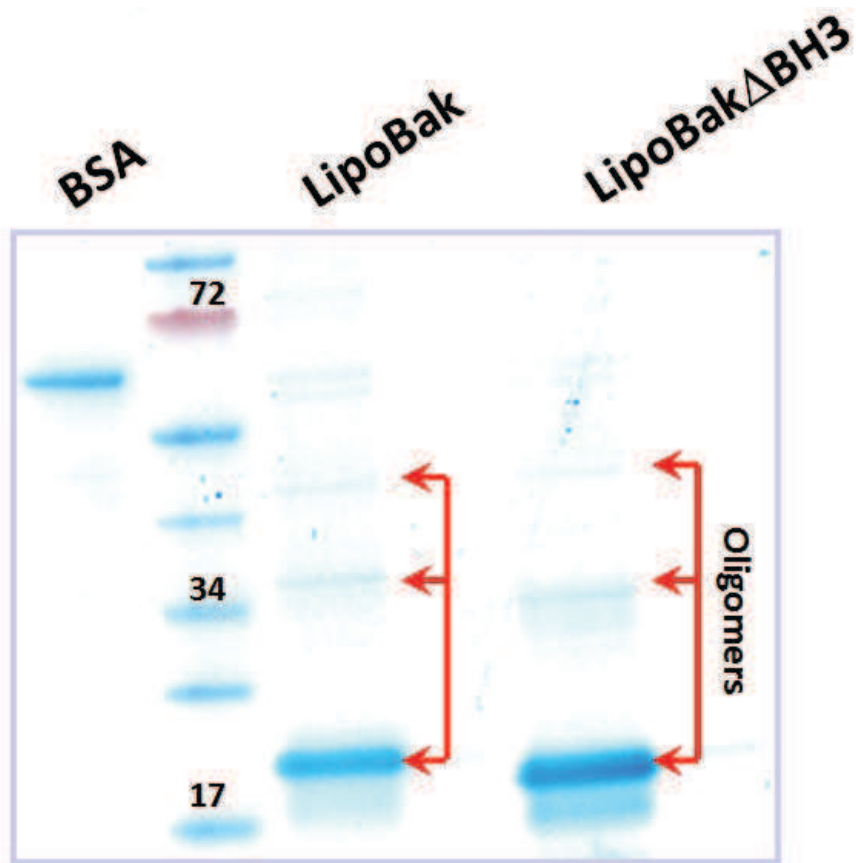
Pour se faire, une technologie innovante (brevet n° WO 2008152262) a été développée reposant sur la surexpression acellulaire. La synthèse des

protéines se fait *in vitro* à l'aide d'un système commercialisé par la société Roche, le kit RTS (Rapid Translation System 100 et 500). Des liposomes synthétiques pégylés sont ajoutés au mélange réactionnel afin que la protéine conserve son environnement naturel et soit repliée correctement ; le produit final est appelé protéoliposome (148). De plus, des peptides d'adressage spécifiques des glioblastomes sont greffés sur les liposomes.

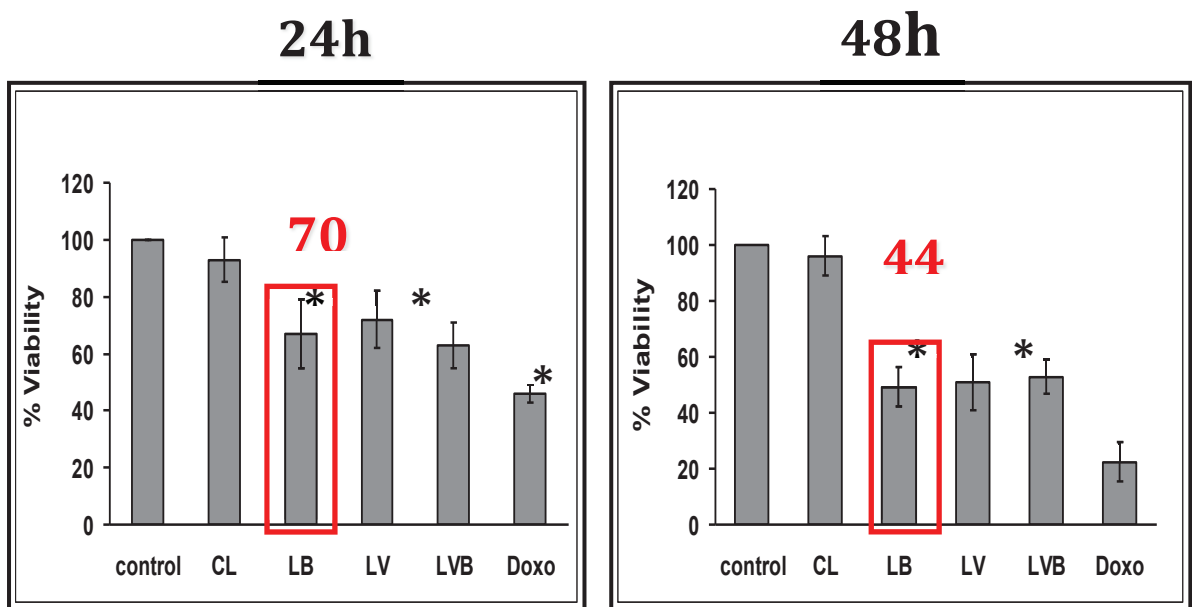
2. Résultats obtenus au laboratoire

2.1. Résultats *in vitro*

Au laboratoire les LB sont donc produits grâce au système RTS (cf. figure 14, A). Les LB ainsi obtenus sont efficaces sur plusieurs lignées de cellules incluant les GL26 (glioblastomes de souris), les HCT116 (carcinomes humains) et les Saos2 (ostéosarcomes humains). En effet, ils sont capables de diminuer la viabilité cellulaire des ces différentes lignées (cf. figure 14, B et C).



(A)



(B) et (C)

Figure 14 : Production des protéoliposomes Bak (A) et activité sur la viabilité cellulaire (B)(C).

2.2. Résultats *in vivo*

Suite aux résultats obtenus *in vitro*, des tests ont été menés chez l'animal. Les résultats ci-dessous montrent les effets des protéoliposomes Bak (LB) sur des souris qui ont développé une tumeur après injection de cellules de glioblastome (GL26) (Liguori et al., *In Preparation*). On peut voir une régression totale de la taille des tumeurs 35 jours après le développement de celle-ci, et cela chez 4 souris sur 7 (figure 15, A). On constate également une amélioration très nette de la survie des souris (figure 15, B).

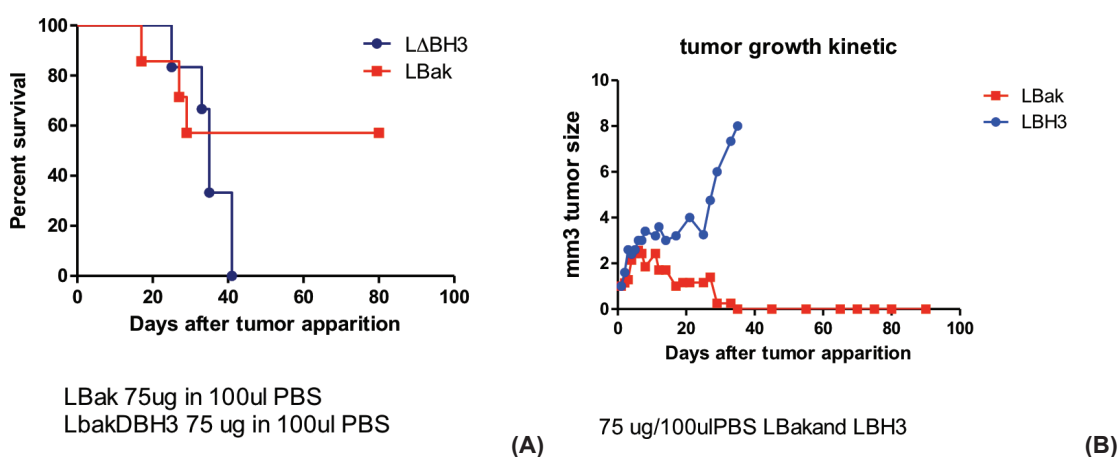


Figure 15 : Cinétique de la croissance des tumeurs après injection de cellules de glioblastome, développement de la tumeur et injection de protéoliposomes Bak (LBak) ou BH3 seul (LBH3) (A). Pourcentage de survie des souris après injection de protéoliposomes Bak ou Bak sans BH3 (LABH3) (B).

3. Perspectives

Une nouvelle évaluation sur l'efficacité des LB a été effectuée sur des souris et un dossier a été constitué afin d'entrer dans des phases précliniques de développement. Cela permettra de déterminer la dose efficace et la toxicité éventuelle chez l'animal. L'objectif étant d'amener cette protéine en phases cliniques sous 4 à 5 ans.

Cependant, il reste un problème majeur à résoudre avant d'atteindre ces prochaines étapes qui est la production des LB. Comme vu précédemment, au sein du laboratoire HumProTher, celle-ci est réalisée avec un kit commercial de la société Roche.

Ce kit contient un lysat bactérien à base d'*E. coli*, un mélange réactionnel, des acides aminés et de la méthionine, tous sous forme de lyophilisat. Lors de la réaction de synthèse du LB, il faut ajouter au mélange de ces composants les liposomes ainsi que le plasmide contenant le vecteur codant pour la protéine Bak. Les liposomes sont issus d'un mélange de quatre lipides synthétiques.

Les LB obtenus sont ensuite purifiés sur un gradient discontinu de sucrose. Une ultracentrifugation permet de séparer les protéoliposomes des liposomes seuls et des protéines agrégées n'ayant pas été insérées dans les liposomes. Cette méthode de production donne un rendement final de l'ordre du milligramme de protéoliposomes Bak par mL de réaction. Le kit de la société Roche permet de réaliser environ 96 réactions de 50 µL soit un volume maximal de 4,8 mL.

Ce taux de production n'est évidemment pas adapté. Dans ce cadre-là, il est nécessaire de passer à un niveau supérieur en réalisant une ligne de production pilote intégrant en partie les exigences des autorités de santé.

Cependant cette ligne de production serait basée sur un système innovant qui n'a jamais été utilisé pour la production de biomédicaments. Il faut donc imaginer ce procédé sur des aspects nouveaux en se basant sur les lignes plus classiques de production de médicaments biologiques de sorte à ce qu'elle soit approuvée par les instances réglementaires, à savoir l'AFSSAPS (Agence Française de Sécurité Sanitaire) et l'EMA (European Medicines Agency).

La société Synthelis est une start-up née des recherches du laboratoire en système acellulaire, dont l'offre de service est la production de protéines membranaires à façon. Elle produit, en collaboration avec le laboratoire, des protéoliposomes Bak grâce à un système acellulaire innovant développé et optimisé au sein de la start-up. Le principe est le même qu'avec le kit RTS® de la société Roche sauf que le lysat, le mélange énergétique ainsi que les acides aminés sont préparés au sein de la société.

Le volume maximum de réaction est de 30 mL (contre 5 avec le kit RTS) avec le matériel dont la société dispose actuellement, cependant ce système de production acellulaire peut être adapté en fonction des besoins et surtout il peut être transposé à plus grande échelle afin de produire des quantités de LB beaucoup plus conséquentes. Il existe notamment à San Francisco une société nommée Sutro Biopharma, dont le principe de production *in vitro* est identique, capable de produire jusqu'à 100L de volume réactionnel. (149) Ce procédé permet actuellement une production de plusieurs milligrammes de protéoliposomes et de façon reproductible.

La société s'est récemment équipée de matériel permettant de produire des lots de lysat cellulaire de façon plus reproductible et en plus grande quantité, ceci dans le but d'obtenir des lots précliniques de protéoliposomes Bak répondant partiellement aux exigences de qualité des autorités de santé.

Cependant de nombreuses étapes restent à franchir avant d'accéder aux phases cliniques. La première étape importante étant de prouver l'efficacité et l'absence de toxicité des protéoliposomes Bak durant les études précliniques.

Cela passe par :

- la démonstration de l'activité anti-tumorale (pharmacodynamie),
- la détermination de la dose initiale, du schéma d'administration et de la voie d'administration chez l'homme
- l'étude des aspects toxicologiques des LB (téatogénicité, génotoxicité...).

Ensuite il s'agira de produire des lots reproductibles, surs et traçables.

4. Développement des nouvelles thérapies et obstacles

Cet exemple montre à quel point les processus de développement des molécules biologiques à visée thérapeutique sont longs et compliqués à mettre en place. Le schéma suivant illustre les différentes phases et durées de développement d'un médicament biologique (cf. figure 16).

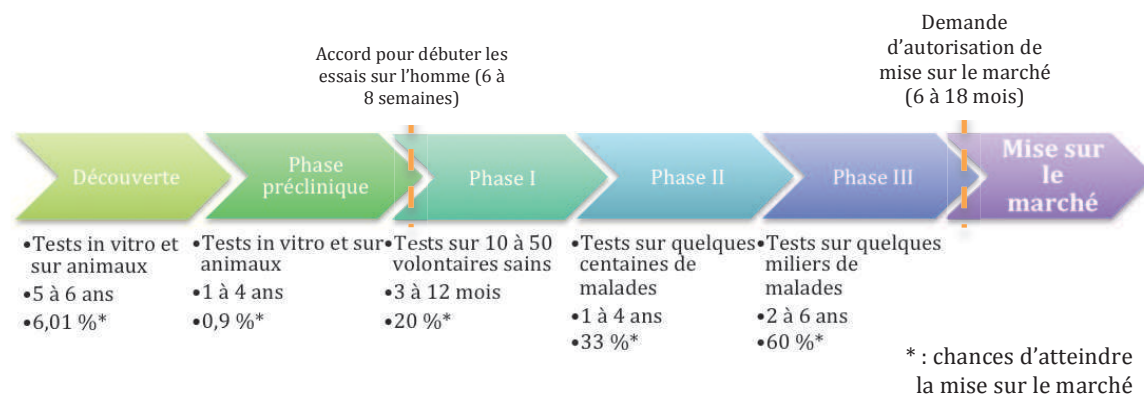


Figure 16 : Etapes du développement d'une molécule biologique de la découverte jusqu'à la mise sur le marché et chances d'atteindre la commercialisation.

Parmi tous les médicaments cités dans la partie 3, seulement sept sont en phase III de développement clinique. Il faut savoir que sur 10 000 molécules identifiées en phase de découverte, seulement une sera mise sur le marché, les autres ayant échoué aux précédentes étapes.

Les coûts de production sont complexes à estimer pour chacun de ces médicaments. D'une part, certains sont en phase de développement et d'essais cliniques ou possèdent une autorisation temporaire d'utilisation (ATU). Il n'existe pas encore de chaîne de production définie sur laquelle des coûts peuvent être calculés. De plus, on ne peut pas connaître le montant total de la thérapie puisque le médicament n'est pas encore commercialisé, nous ignorons donc son prix. D'autre part, pour les médicaments existants sur le marché, ils ne sont pas nécessairement indiqués dans le traitement des GBM, la posologie n'est donc pas officiellement définie et peut varier d'un essai à l'autre.

Dans tous les cas, les dépenses engagées dans la recherche, le développement et la production des médicaments biologiques sont incontestablement supérieures à celles des médicaments plus classiques, de

synthèse chimique. La répercussion est engendrée directement sur les prix de vente des médicaments innovants.

Nous allons prendre l'exemple des médicaments les plus utilisés actuellement dans le traitement des glioblastomes et ceux étant en phase III, soit le témozolomide, le bévacizumab, le cediranib, le cilengitide, l'enzastaurine, l'imatinib, l'irinotécan et le nimotuzumab. L'évaluation du coût de ces traitements est réalisée pour un seul traitement et pour une durée de six mois, en se basant sur les doses administrées dans les essais cliniques. La surface corporelle utilisée est de 1,7 m², il s'agit de la surface corporelle moyenne d'un adulte, pour un patient de 70 kg.

Les prix officiels concernant le cediranib, le cilengitide, l'enzastaurine et le nimotuzumab ne sont pas connus car ce sont des médicaments en phase de développement, ils ne sont pas commercialisés. Le cilengitide et le nimotuzumab peuvent faire l'objet d'autorisation temporaire d'utilisation.

Les posologies suivantes ont été utilisées :

- témozolomide :
 - chimiothérapie (CT) concomitante : 75mg/m²/prise pendant 42 à 49 jours (durée de la radiothérapie),
 - CT adjuvante initiale : 150 mg/m²/prise pendant 5 jours sur 28 jours (1^{er} cycle),
 - CT adjuvante d'entretien : 200 mg/m²/prise pendant 5 jours tous les 28 jours, la dose est à réévaluer et/ou diminuer en fonction des effets indésirables,
- bévacizumab : 10 mg/kg/prise toutes les 2 semaines pendant 6 semaines,
- imatinib : la dose d'imatinib est différente chez les patients prenant des anti-épileptiques induisant des enzymes (EIEAD pour enzyme-inducing antiepileptic drugs, en anglais) du cytochrome P450 comme le CYP3A4. Le métabolisme du foie de ces patients permet de dégrader plus rapidement l'imatinib ou l'irinotécan, nécessitant alors des doses

supérieures pour être efficace. Les EIEAD incluent la carbamazépine, l'oxcarbazépine, la phénytoïne, le phénobarbital et la primidone.

- Sans EIAED : 400 mg par jour pendant 28 jours,
- Avec EIAED : 500 mg/prise, 2 fois par jour pendant 28 jours.
- irinotécan :
 - Sans EIAED : 125 mg/m²/prise toutes les 2 semaines pendant 6 semaines
 - Avec EIAED : dose de 340 mg au lieu de 125 mg.

	Prix TTC au mg (€)	Coût CT concomitante (€)	Coût CT adjuvante (1er cycle) (€)	Coût CT adjuvante (5 cycles suivants) (€)	Total CT concomitante et adjuvante (€)
Témozolomide	0,176	1.009,8	224,4	1.496	2.730,2

	Prix TTC au mg (€)	Coût de la 1ère prise (€)	Coût pour un cycle de 28 jours (€)	Coût pour 6 cycles (€)
Bévacizumab	2,78	1.946	3.892	23.352
Imatinib	0,198	Non EIAED : 79,2	2.217,6	13.305,6
		EIAED : 198	5.544	33.264
Irinotécan	1,66	Non EIAED : 352,75	705,5	4.233
		EIAED : 959,48	1.918,96	11.513,76

Tableau II : Coûts de différents traitements des glioblastomes.

Le tableau II montre les différents coûts de traitement engendrés d'une part par la chimiothérapie par témozolomide, d'autre part par trois molécules de thérapie ciblée. Le deuxième axe de traitement est de 2 à 20 plus cher que la chimiothérapie si l'on compare le schéma de traitement classique à l'association de l'irinotécan et du bévacizumab. Cependant l'efficacité des thérapies innovantes ne peut pas être comparée en ces proportions à la CT mais elle promet quand même une qualité de vie supérieure avec une toxicité moindre.

DISCUSSION

Depuis la découverte du glioblastome, de nombreux traitements ont été mis en place pour tenter de faire reculer ce cancer au pronostic très mauvais. Cependant les résultats de ces traitements ont été décevants, ne prolongeant pas ou peu la survie globale des patients et n'améliorant pas le taux de récurrences des glioblastomes (85 % des cas). La dernière décennie a été marquée par deux choses dans la prise en charge du glioblastome. La première étant les progrès réalisés en chirurgie et en radiothérapie et la deuxième étant la découverte du témozolomide. En effet, l'utilisation, sous lumière fluorescente, de l'acide 5 aminolévulinique pour assister les chirurgiens, a permis d'améliorer de façon significative l'étendue de résection de la tumeur. Par conséquent, la durée de vie des patients a augmenté. (150)

En ce qui concerne la radiothérapie, un certain nombre de techniques visant à augmenter la dose d'irradiation comme la brachythérapie et l'hyperfractionnement ou à utiliser des radiosensibilisants ont été évaluées sur des patients ayant un GBM. Nonobstant, aucune de ces approches n'a fait ses preuves par rapport à la thérapie conventionnelle déjà utilisée. La radiothérapie avec modulation d'intensité n'a pas montré d'amélioration significative sur la survie des patients mais pourrait permettre de diminuer la dose d'irradiation, ce qui diminuerait la toxicité due aux rayons. (151)

La découverte du témozolomide et son utilisation pour le traitement des glioblastomes ont permis de prolonger la survie globale des patients de façon significative. Ce qu'avaient démontré les autres cytotoxiques précédents mais dans une moindre mesure. (19) Stupp *et al.* ont également mis en évidence le phénomène de résistance des GBM au témozolomide en fonction du statut de la zone promoteur du gène MGMT. (2) Ce phénomène est également observé pour les autres agents alkylants utilisés en chimiothérapie. Hegi *et al.* ont prouvé que les patients n'exprimant pas la protéine MGMT (zone du promoteur méthylée) avaient une espérance de vie plus longue que ceux qui l'exprimaient. La méthylation du promoteur MGMT est donc un des premiers biomarqueurs prédictifs de la réponse à la chimiothérapie identifié dans les glioblastomes et

les gliomes malins en général. La première stratégie pour tenter de lutter contre ce phénomène a été de changer le schéma d'administration du TMZ. Deux plans de traitement ont été testés dans une étude de phase II, un premier schéma « dose-dense » soit 150 mg/m² de TMZ pendant 7 jours la première et la troisième semaine d'un cycle de 28 jours, réalisé sur 6 cycles et un deuxième schéma, dit métronomique, consistant en une prise de 75 mg/m² de TMZ toute la durée du cycles soit 28 jours pendant 6 cycles. Ces deux schémas d'administration ont montré des résultats satisfaisants avec une médiane de survie à 17,1 et 15,1 mois pour chaque groupe, un taux survie globale à un an de 80 et 69 % et une durée de survie sans progression de 6,6 et 5 mois (152). Cependant le lien entre la méthylation de MGMT et la réponse des patients au traitement n'a pas été effectué dans cette étude.

Une deuxième stratégie a été d'utiliser des inhibiteurs spécifiques de l'enzyme MGMT comme le O6-benzylguanine, ou des inhibiteurs de la poly (ADP-ribose) polymérase 1 (PARP-1), une enzyme de réparation des cassures de brin impliquée dans la réparation de l'ADN et la voie de signalisation de p53. Alors que le O6-benzylguanine n'a pas montré d'amélioration significative sur la survie des patients avec un GBM récurrent (153), les inhibiteurs de PARP-1 ont prouvé leur activité anticancéreuse dans plusieurs types de cancer (154).

Plus récemment, des chercheurs ont testé *in vitro* et *in vivo*, l'utilisation de petits ARN interférents (ARNsi) encapsulés dans des liposomes cationiques servant de vecteurs. Ils ont montré que l'administration de ces liposomes en combinaison avec du TMZ diminuait la résistance des tumeurs au TMZ avec une réduction des tumeurs supérieure à l'administration de TMZ seul (155).

De même, il semble que l'interféron β (IFN- β) améliore visiblement la chimiosensibilité du TMZ. Dans une étude clinique récente de phase I, l'IFN- β en combinaison avec le TMZ est bien toléré et semble améliorer la survie des patients, une étude de phase II est en cours pour confirmer cela. (156)

L'émergence actuelle des thérapies ciblées et des biothérapies sera sans doute à l'origine des futurs événements majeurs de la prise en charge des

glioblastomes. En effet, La thérapie ciblée a déjà fait ses preuves, par exemple dans les cancers du sein et du colon. Le trastuzumab (Herceptin ®) est un anticorps monoclonal qui inhibe les récepteurs HER2, il est utilisé dans les cancers du sein pour lesquels ses récepteurs sont activés. De même, le cetuximab qui est aujourd'hui évalué comme traitement contre le glioblastome, est généralement utilisé dans les cancers colorectaux métastatiques chez les patients qui portent le gène KRAS de type sauvage exprimant le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR). De plus, la compréhension des mécanismes moléculaires induisant la pathogenèse des GBM, et des modifications génétiques associées a permis le développement de nouvelles molécules ciblant les voies de signalisation impliquées, comme les voie des facteurs de croissance et de l'angiogenèse. Cependant, les molécules, notamment des inhibiteurs de tyrosine kinase, utilisées jusqu'ici en monothérapie ont montré une efficacité thérapeutique limitée. Les mutations génétiques observées dans ces tumeurs les rendent hétérogènes et résistantes à ces thérapies ciblées. L'association de plusieurs molécules entre elles ou l'utilisation de molécules ayant plusieurs cibles semblent prometteuses mais le risque associé est d'augmenter les effets indésirables et toxiques.

Une seule de ces molécules a actuellement été approuvée pour le traitement des GBM par les autorités de santé américaines, le bévacizumab. Néanmoins cet anticorps fait l'objet d'une controverse sur son efficacité thérapeutique. Il a été approuvé en combinaison avec l'irinotécan car cette association a montré son efficacité dans le traitement des cancers colorectaux. L'efficacité de l'irinotécan contre le glioblastome est fortement remise en cause et plusieurs études ne montre pas d'amélioration de la survie des patients et une forte toxicité avec l'irinotécan utilisé en monothérapie. (100, 157, 158)

Malgré les résultats décevants de la thérapie ciblée, il existe encore de nombreuses molécules en développement, notamment le cediranib, le cilengitide, l'enzastaurine, l'imatinib, le nimotuzumab, le rindopepimut et le trabedersen qui sont évalués dans des études cliniques de phase III et dont les résultats ne sont pas encore connus. De plus, d'autres approches telles que la thérapie génique ou l'immunothérapie sont encore en phase de développement

mais semblent très encourageantes.

L'absence de réponse aux traitements de thérapie ciblée est observée chez la majorité des patients mais il existe quelques cas particuliers où la réponse peut-être positive. Cela est le cas pour l'erlotinib, pour lequel son efficacité a été démontrée chez des patients avec un profil moléculaire particulier : EGFR est activé mais PTEN ne l'est pas (63). A l'instar de l'erlotinib, et toujours dans le but de traiter le GBM efficacement, des profils moléculaires personnalisés pourrait permettre de décider du traitement (monothérapie ou association) à administrer. La détermination du statut de la zone promoteur du gène MGMT permet déjà de déterminer si le TMZ sera efficace chez les patients et est actuellement un critère d'inclusion pour les essais cliniques récents. Mis à part celui-ci, il n'y a pas d'autre marqueur moléculaire validé qui permette de distinguer les patients susceptibles de répondre de ceux qui seront réfractaires aux traitements. Le développement d'un profil d'expression génétique et moléculaire type permettant de prédire la réponse des patients au traitement standard serait un premier pas vers une thérapie personnalisée et une prise en charge plus efficace des patients. Tout d'abord, cela permettrait d'identifier les patients réfractaires et de leur proposer de participer à des essais cliniques évaluant d'autres approches plus tôt, ceci afin d'augmenter leur chance de survie. Enfin, la connaissance de ce profil d'expression pourrait être utilisée dans des études cliniques innovantes avec des critères d'inclusion moléculaires (159). D'autres facteurs pronostics sont également à prendre en compte dans la malignité des glioblastomes tels que l'âge, le sexe du patient mais également la taille et la localisation de la tumeur. Ces facteurs sont plus faciles à identifier que le profil moléculaire mais ils permettent de prédire la durée de vie des patients.

L'exemple de la recherche sur les protéoliposomes bak montre les difficultés rencontrées lors du développement et de la production des molécules biologiques à visée thérapeutique en général. De plus, la production des LB est un pari très risqué car il s'agit d'une molécule totalement innovante sur plusieurs plans. Tout d'abord, Bak est une protéine membranaire visant à restaurer l'apoptose, aucune protéine de ce type n'est actuellement utilisée

dans le traitement des glioblastomes. Ensuite elle est produite grâce à un système de production acellulaire n'ayant encore jamais servi à des fins thérapeutiques. Enfin le vecteur utilisé est lui aussi innovant puisque il s'agit d'un liposome. Ces LB ont un potentiel exceptionnel avec de nombreuses perspectives thérapeutiques. A l'image de ce qu'ont apporté les anticorps monoclonaux produits aujourd'hui à grande échelle. Toutefois, cela ne sera possible que si les problèmes de production et d'administration sont résolus.

Pour finir, les exigences des autorités de santé sont contraignantes mais visent à garantir la qualité et l'efficacité du médicament ainsi que la sécurité des patients. Les coûts engendrés pour la recherche, le développement et la production sont considérables, ce qui se répercute sur le coût élevé des thérapies innovantes pour le traitement des glioblastomes.

THESE SOUTENUE PAR : Aurélie MARTINS-GOMES

TITRE : Nouvelles approches thérapeutiques pour le traitement du glioblastome. Exemple du développement d'une protéine pro-apoptotique.

CONCLUSION

Les glioblastomes sont les tumeurs les plus communes et les plus agressives du système nerveux central et de mauvais pronostic. Du fait de son caractère agressif et infiltrant, le glioblastome est un des cancers pour lequel nous sommes le plus démunis sur le plan thérapeutique. Le schéma de traitement standard actuel comprend une chirurgie de résection la plus large possible, suivie d'une radiothérapie et d'une chimiothérapie concomitante et adjuvante par témozolomide. Les progrès réalisés dans les traitements standards notamment en chirurgie et l'arrivée du témozolomide en 2005 n'ont pas été satisfaisants. En effet, l'espérance de vie reste médiocre pour les patients atteints de glioblastome, allant de quelques mois à quelques années.

La dérégulation des mécanismes moléculaires conduisant à l'apoptose est un phénomène récurrent dans les cancers et plus spécifiquement dans les glioblastomes. L'angiogenèse joue également un rôle prédominant dans le développement de ces tumeurs. La compréhension de ces dérèglements moléculaires et génétiques a permis, d'une part, l'apparition de nombreuses molécules de thérapies ciblées permettant d'augmenter la durée de vie des patients. Ces thérapies ciblées sont très variées et vont des molécules synthétiques aux médicaments biologiques comme des vaccins recombinants ou des anticorps monoclonaux. L'association de ces nouvelles thérapies avec les thérapies conventionnelles semble être une nouvelle approche très prometteuse dans le traitement des glioblastomes. Malgré une réponse mitigée aux traitements, certaines molécules sont en bonne voie de développement avec quelques essais cliniques en phase III et le bévacicumab, en association avec l'irinotécan, est désormais reconnu comme traitement des récidives.

D'autre part, la notion de traitement biologique ciblé en fonction d'un profil moléculaire et génétique tumoral particulier a émergé de la connaissance de

ces mécanismes. Il est possible, dans un avenir proche de voir se développer une thérapie personnalisée spécifique d'une tumeur donnée, chez un patient donné. Cela est déjà appliqué pour le statut du gène MGMT servant de facteur de pronostic et de critère d'inclusion dans les essais cliniques récents. La méthylation de ce gène est un facteur de réponse au témozolomide.


Malgré l'avancée considérable que représentent ces nouvelles molécules, le coût de certaines de ces thérapies innovantes représente un frein pour les patients, surtout aux USA où le système de santé est très différent de celui de la France. Il se pose alors un vrai problème d'éthique, à savoir si la classe sociale doit déterminer l'accès aux soins. Il se pose également le problème de la balance coût/efficacité, le bévacizumab a montré que la prolongation de la survie valait le coût du traitement mais nous ne savons pas encore ce qu'il en est des autres traitements émergents.

En conclusion, le nombre croissant de nouvelles thérapies rentrant en phases cliniques, combinées ou non avec des molécules biologiques ciblées, vont certainement permettre d'apporter rapidement des solutions pour le traitement du glioblastome et un meilleur confort de vie pour les patients.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Grenoble, le 10/4/2012

LE DOYEN


U.F.R. DE PHARMACIE
Professeur Christophe RIBUOT
UNIVERSITÉ JOSEPH FOURIER
GRENOBLE I

LE PRESIDENT DE LA THESE


UFR Pharmacie
Département Mécanismes et Traitement
des Maladies et Traitements
Université Joseph Fourier
Grenoble

BIBLIOGRAPHIE

1. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, *et al.* The 2007 WHO classification of tumors of the central nervous system. Lyon, France: IARC Press;2007.
2. Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJ, *et al.* Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med* 2005;352:987–996.
3. Ohgaki H, Kleihues P. Genetic pathways to primary and secondary glioblastoma. *Am J Pathol* 2007;170(5):1445-53.
4. Reynolds BA, Weiss S. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system. *Science* 1992;255:1707-1032.
5. Assanah M, Lochhead R, Ogden A, Bruce J, Goldman J, Canoll P. Glial pro-genitors in adult white matter are driven to form malignant gliomas by platelet-derived growth factor-expressing retroviruses. *J Neurosci* 2006;26:6781-90.
6. Beier D, Hau P, Proescholdt M, *et al.* CD133(+) and CD133(-) glioblastoma derived cancer stem cells show differential growth characteristics and molecular profiles. *Cancer Res* 2007;67:4010-5.
7. Bao S, Wu Q, McLendon RE, *et al.* Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response. *Nature* 2006;444:756-60.
8. Dean M, Fojo T, Bates S. Tumour stem cells and drug resistance. *Nat Rev Cancer* 2005;5:275-84.

9. Patrick Y. Wen, and Santosh Kesari. Malignant Gliomas in Adults. *N Engl J Med* 2008;359:492-507.
10. CBTRUS Statistical Report. Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2004-2007.
11. Brandes AA, Tosoni A, Franceschi E, Reni M, Gatta G, *et al.* Glioblastoma in adults. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2008;67:139-152.
12. Ohgaki H, Kleihues P. Epidemiology and etiology of gliomas. *Acta Neuropathol* Jan 2005;109(1):93-108.
13. INTERPHONE Study Group. Brain tumour risk in relation to mobile telephone use: results of the INTERPHONE international case-control study. *Int J Epidemiol.* 2010 Jun;39(3):675-94.
14. Ohgaki H, Dessen P, Jourde B, Horstmann S, Nishikawa T, Di Patre PL, *et al.* Genetic pathways to glioblastoma : a population-based study. *Cancer Res* 2004;64:6892-6899.
15. Ohgaki H, Kleihues. Population-based studies on incidence, survival rates, and genetic alterations in astrocytic and oligodendroglial gliomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 2005;64:479-489.
16. Xie D, Zeng YX, Wang HJ, Wen JM, Tao Y, Sham JS, *et al.* Expression of cytoplasmic and nuclear survivin in primary and secondary human glioblastoma. *Br J Cancer* 2006;94:108–114.
17. Watanabe K, Tachibana O, Sato K, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki. Overexpression of the EGF receptor and p53 mutations are mutually exclusive in the evolution of primary and secondary glioblastomas. *Brain Pathol* 1996; 6:217-224.

18. Karcher S, Steiner HH, Ahmadi R, Zoubaa S, Vasvari G, Bauer H, *et al.* Different angiogenic phenotypes in primary and secondary glioblastomas. *Int J Cancer* 2006;118:2182-2189.
19. Stewart LA. Chemotherapy in adult high-grade glioma : a systematic review and meta-analysis of individual patient data from 12 randomised trials. *Lancet* 2002;359:1011-18.
20. Wong JC, Provenzale JM, Petrella JR. Perfusion MR imaging of brain neoplasms. *Am J Roentgenol.* 2000 Apr;174(4):1147-57.
21. Fujisawa H, Reis RM, Nakamura M, Colella S, Yonekawa Y, Kleihues P, *et al.* Loss of heterozygosity on chromosome 10 is more extensive in primary (de novo) than in secondary glioblastomas. *Lab Invest* 2000;80:65-72.
22. Rasheed BK, McLendon RE, Friedman HS, Friedman AH, Fuchs HE, Bigner DD, *et al.* Chromosome 10 deletion mapping in human gliomas: a common deletion region in 10q25. *Oncogene* 1995;10:2243-2246.
23. Ichimura K, Schmidt EE, Miyakawa A, Goike HM, Collins VP. Distinct patterns of deletion on 10p and 10q suggest involvement of multiple tumor suppressor genes in the development of astrocytic gliomas of different malignancy grades. *Genes Chromosom Cancer* 1998;22:9-15.
24. Tohma Y, Gratas C, Biernat W, Peraud A, Fukuda M, Yonekawa Y, *et al.* PTEN (MMAC1) mutations are frequent in primary glioblastomas (de novo) but not in secondary glioblastomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 1998;57:684-689.
25. Nakamura M, Watanabe T, Klangby U, Asker CE, Wiman KG, Yonekawa Y, *et al.* P14Arf deletion and methylation in genetic pathways to glioblastomas. *Brain Pathol* 2001;11:159-168.

26. Ueki K, Ono Y, Henson JW, Efird JT, Von Deimling A, Louis DN. CDKN2/p16 or RB alterations occur in the majority of glioblastomas and are inversely correlated. *Cancer Res* 1996;56:150-153.
27. Biernat W, Tohma Y, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H. Alterations of cell cycle regulatory genes in primary (de novo) and secondary glioblastomas. *Acta Neuropathol* 1997;94:303-309.
28. Curran WJ Jr, Scott CB, Horton J *et al.* Recursive partitioning analysis of prognostic factors in three Radiation Therapy Oncology Group malignant glioma trials. *J Natl Cancer Inst* 1993, 85:704–710
29. Barker FG 2ND, Chang SM, Larson DA, Sneed PK, Wara WM, Wilson CB, Prados MD. Age and radiation response in glioblastoma multiforme. *Neurosurgery* 2001;49:1288-1298.
30. Keles GE, Lamborn KR, Chang SM, Prados MD, Berger MS. Volume of residual disease as a predictor of outcome in adult patients with recurrent supratentorial glioblastomas multiforme who are undergoing chemotherapy. *J Neurosurg* 2004;100:41–6.
31. Kowalczyk A, Macdonald RL, Amidei C, Dohrmann G 3rd, Erickson RK, Hekmatpanah J, *et al.* Quantitative imaging study of extent of surgical resection and prognosis of malignant astrocytomas. *Neurosurgery*. 1997 Nov;41(5):1028-36; discussion 1036-8.
32. Quigley MR, Maroon JC. *Neurosurgery*. The relationship between survival and the extent of the resection in patients with supratentorial malignant gliomas. 1991 Sep;29(3):385-8; discussion 388-9.
33. Vuorinen V, Hinkka S, Färkkilä M, Jääskeläinen J. Debulking or biopsy of malignant glioma in elderly people - a randomised study. *Acta Neurochir (Wien)*. 2003 Jan;145(1):5-10.

34. Stummer W, Pichlmeier U, Meinel T, Wiestler OD, Zanella F, Reulen HJ Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of malignant glioma: a randomised controlled multicentre phase III trial. *Lancet Oncol* 7:392–401
35. Westphal M, Hilt DC, Bortey E, Delavault P, Olivares R, Warnke PC, *et al.* A phase 3 trial of local chemotherapy with biodegradable carmustine (BCNU) wafers (Gliadel wafers) in patients with primary malignant glioma. *Neuro Oncol* 5:79–88
36. Irwin C, Hunn M, Purdie G, Hamilton D. Delay in radiotherapy shortens survival in patients with high grade glioma. *J Neurooncol.* 2007; 85:339-43.
37. Do V, Gebiski V, Barton MB The effect of waiting for radiotherapy for grade III/IV gliomas. *Radiother Oncol* 2000;57:131–136
38. Lai R *et al.* The timing of cranial radiation in elderly patients with newly diagnosed glioblastoma multiforme. *Neuro-oncology* 2000;12:190–198
39. Blumenthal DT *et al.* Short delay in initiation of radio-therapy may not affect outcome of patients with glioblastoma: a secondary analysis from the radiation therapy oncology group database. *J Clin Oncol* 2009;27:733–739
40. Lawrence Y, Blumenthal D, Matcyevesky D, Kanner A, *et al.* Delayed initiation of radiotherapy for glioblastoma : how important is it to push to the front (or the back) of the line? *J Neuro-oncology* 2011.
41. Andersen AP. Postoperative irradiation of glioblastomas. Results in a randomized series. *Acta Radiol Oncol* 1978;17:475–484.
42. Sandberg-Wollheim M, Malmstrom P, Stromblad LG, *et al.* A randomized study of chemotherapy with procarbazine, vincristine, and lomustine with and without radiation therapy for astrocytoma grades 3 and/or 4. *Cancer* 1991;68:22–29.

43. Walker MD, Green SB, Byar DP, *et al.* Randomized comparisons of radiotherapy and nitrosoureas for the treatment of malignant glioma after surgery. *N Engl J Med* 1980;303:1323–1329.
44. Kristiansen K, Hagen S, Kollevold T, *et al.* Combined modality therapy of operated astrocytomas grade III and IV. Confirmation of the value of postoperative irradiation and lack of potentiation of bleomycin on survival time: a prospective multicenter trial of the Scandinavian Glioblastoma Study Group. *Cancer* 1981;47:649–652.
45. Walker MD, Alexander Jr E, Hunt WE, *et al.* Evaluation of BCNU and/or radiotherapy in the treatment of anaplastic gliomas. A cooperative clinical trial. *J Neurosurg* 1978;49:333–343.
46. Laperriere N, Zuraw L, Cairncross G Radiotherapy for newly diagnosed malignant glioma in adults: a systematic review. *Radiother Oncol* 2002;64(3):259–273
47. Chan JL, Lee SW, Fraass BA, Normolle DP, Greenberg HS, Junck LR, *et al.* Survival and failure patterns of high-grade gliomas after three-dimensional conformal radiotherapy. *J Clin Oncol* 2002;20:1635–42.
48. Rapport HAS, RCMI, Aout 2006.
49. Ochs K, Kaina B. Apoptosis induced by DNA damage O6-methylguanine is Bcl-2 and caspase-9/3 regulated and Fas/caspase-8 independent. *Cancer Res* 2000;60:5815- 24.
50. Gerson SL. MGMT: its role in cancer aetiology and cancer therapeutics. *Nat Rev Cancer* 2004;4:296-307.

51. Belanich M, Pastor M, Randall T, *et al.* Retrospective study of the correlation between the DNA repair protein alkyltransferase and survival of brain tumor patients treated with carmustine. *Cancer Res* 1996;56:783-8.
52. Jaeckle KA, Eyre HJ, Townsend JJ, *et al.* Correlation of tumor O6 methylguanine-DNA methyltransferase levels with survival of malignant astrocytoma patients treated with bis-chloroethylnitrosourea: a South-west Oncology Group study. *J Clin Oncol* 1998;16:3310-5.
53. Friedman HS, McLendon RE, Kerby T, *et al.* DNA mismatch repair and O6-alkyl-guanine-DNA alkyltransferase analysis and response to Temodal in newly diagnosed malignant glioma. *J Clin Oncol* 1998;16:3851-7.
54. Uno M, Oba-Shinjo SM, Camargo AA, Moura RP, Aguiar PH, Cabrera HN, *et al.* Correlation of MGMT promoter methylation status with gene and protein expression levels in glioblastoma. *Clinics (Sao Paulo)* 2011;66(10):1747-55.
55. Hegi ME, Diserens AC, Gorlia T, *et al.* MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N Engl J Med* 2005;352:997–1003.
56. Glas M, Hundsberger T, Stuplich M, Wiewrodt D, Kurzwelly D, Nguyen-Huu B, *et al.* Nimustine (ACNU) plus teniposide (VM26) in recurrent glioblastoma. *Oncology* 2009;76(3):184-9.
57. Herrlinger U, Rieger J, Koch D, Loeser S, Blaschke B, Kortmann RD, *et al.* Phase II trial of lomustine plus temozolomide chemotherapy in addition to radiotherapy in newly diagnosed glioblastoma: UKT-03. *J Clin Oncol* 2006;24:4412-7.
58. Djedid R, Tomasi O, Haidara A, Rynkowski M, Lefranc F. Glioblastoma treatment in 2010. *Rev Med Brux.* 2009 ;30(5):496-505.
59. Van Den Bent MJ, Brandes AA, Rampling R, Kouwenhoven M *et al.* : Randomized Phase II trial of erlotinib (E) versus temozolomide (TMZ) or BCNU

in recurrent glioblastoma multiforme (GBM) : EORTC 26034. J Clin Oncol. 2009;27(8):1268-74.

60. Franceschi E, Cavallo G, Lonardi S *et al.* Gefitinib in patients with progressive high-grade gliomas : a multicentre Phase II study by Gruppo Italiano Cooperativo di Neuro-Oncologia (GICNO). Br J Cancer 2007;96:1047-51.

61. Brown PD KS, Sarkaria J, Wu W *et al.* : A Phase II trial (N0177) of erlotinib and temozolomide (TMZ) combined with radiation therapy (RT) in glioblastoma multiforme (GBM). J Clin Oncol. 2008;26.

62. Mellinghoff IK, Wang MY, Vivanco I, *et al.* Molecular determinants of the response of glioblastomas to EGFR kinase inhibitors. N Engl J Med. 2005;353(19):2012–2024.

63. Haas-Kogan DA, Prados MD, Tihan T, *et al.* Epidermal growth factor receptor, protein kinase B/Akt, and glioma response to erlotinib. J Natl Cancer Inst. 2005;97(12):880–887.

64. Neyns B, Sadones J, Joosens E, *et al.* Stratified Phase II trial of cetuximab in patients with recurrent high-grade glioma. Ann. Oncol. 2009;20(9):1596–1603.

65. Ostman A. PDGF receptors-mediators of autocrine tumor growth and regulators of tumor vasculature and stroma. Cytokine Growth Factor Rev.2004 ;15(4):275–86.

66. Dresemann G. Imatinib and hydroxyurea in pretreated progressive glioblastoma multiforme: a patient series. Ann Oncol.2005;16(10):1702–8.

67. Reardon DA, Egorin MJ, Quinn JA, *et al.* Phase II study of imatinib mesylate plus hydroxyurea in adults with recurrent glioblastoma multiforme. J Clin Oncol.2005;23(36):9359–68.

68. Knobbe CB, Reifenberger J, Reifenberger G. Mutation analysis of the Ras pathway genes NRAS, HRAS, KRAS and BRAF in glioblastomas. *Acta Neuropathol* 2004 Dec;108(6):467–70.
69. Howe L, Leever S, Gómez N, Nakielny S, Cohen P, Marshall C. Activation of the MAP kinase pathway by the protein kinase raf. *Cell*. 1992;71:335–342.
70. Rao S, Cunningham D, de Gramont A, *et al.* Phase III double-blind placebo-controlled study of farnesyl transferase inhibitor R115777 in patients with refractory advanced colorectal cancer. *J. Clin. Oncol* 2004;22:3950–3957.
71. Van Cutsem E, van de Velde H, Karasek P, *et al.* Phase III trial of gemcitabine plus tipifarnib compared with gemcitabine plus placebo in advanced pancreatic cancer. *J. Clin. Oncol* 2004;22:1430–1438.
72. Jane EP, Premkumar DR, Pollack IF. Coadministration of sorafenib with rottlerin potently inhibits cell proliferation and migration in human malignant glioma cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther* 2006;319:1070–1080.
73. Sathornsumetee S, Hjelmeland AB, Keir ST, *et al.* AAL881, a novel small molecule inhibitor of RAF and vascular endothelial growth factor receptor activities, blocks the growth of malignant glioma. *Cancer Res* 2006;66:8722–8730.
74. Kolch W, Heidecker G, Kochs G, *et al.* Protein kinase C α activates RAF-1 by direct phosphorylation. *Nature* 1993;364:249–252.
75. Couldwell WT, Uhm JH, Antel JP, Yong VW. Enhanced protein kinase C activity correlates with the growth rate of malignant gliomas in vitro. *Neurosurgery* 1991;29:880–887.

76. Couldwell WT, Hinton DR, He S, Chen TC, Sebat I, Weiss MH, *et al.* Protein kinase C inhibitors induce apoptosis in human malignant glioma cell lines. *FEBS Lett.* 1994;345:43–46.
77. Spence AM, Peterson RA, Scharnhorst JD, Silbergeld DL, Rostomily RC. Phase II study of concurrent continuous temozolomide (TMZ) and tamoxifen (TMX) for recurrent malignant astrocytic gliomas. *J. Neuro-oncol.* 2004;70:91–95.
78. Muanza T, Shenouda G, Souhami L, Leblanc R, Mohr G, Corns R, *et al.* High dose tamoxifen and radiotherapy in patients with glioblastoma multiforme: a phase IB study. *Can J Neurol Sci.* 2000;27(4):302-6.
79. Keyes K, Mann L, Sherman M, *et al.* LY317615 decreases plasma VEGF levels in human tumor xenograft-bearing mice. *Cancer Chemother. Pharmacol* 2004;53:133–140.
80. Butowski N, Chang SM, Lamborn KR, Polley MY, Parvataneni R, Hristova-Kazmierski M, *et al.* Enzastaurin plus temozolomide with radiation therapy in glioblastoma multiforme: a phase I study. *Neuro Oncol.* 2010;12(6):608-13.
81. Wick W, Puduvalli VK, Chamberlain MC, van den Bent MJ, Carpentier AF, Cher LM, *et al.* Phase III study of enzastaurin compared with lomustine in the treatment of recurrent intracranial glioblastoma. *J Clin Oncol.* 2010;28(7):1168-74.
82. Nakamura JL, Karlsson A, Arvold ND, *et al.* PKB/Akt mediates radiosensitization by the signaling inhibitor LY294002 in human malignant gliomas. *J Neurooncol* 2005;71:215–22.
83. Jiang Z, Pore N, Cerniglia GJ, Mick R, Georgescu MM, Bernhard EJ, *et al.* Phosphatase and tensin homologue deficiency in glioblastoma confers resistance to radiation and temozolomide that is reversed by the protease inhibitor nelfinavir. *Cancer Res.* 2007;67(9):4467-73.

84. De la Pena L, Burgan WE, Carter DJ, *et al.* Inhibition of Akt by the alkylphospholipid perifosine does not enhance the radiosensitivity of human glioma cells. *Mol Cancer Ther* 2006;5:1504–10.
85. Reardon DA, Desjardins A, Vredenburgh JJ, Gururangan S, Friedman AH, Herndon JE 2nd, *et al.* Phase 2 trial of erlotinib plus sirolimus in adults with recurrent glioblastoma. *J Neurooncol.* 2010;96(2):219-30.
86. Galanis E, Buckner JC, Maurer MJ, *et al.* Phase II trial of temsirolimus (CCI-779) in recurrent glioblastoma multiforme: a North Central Cancer Treatment Group study. *J Clin Oncol.* 2005;23(23):5294–5304.
87. Chang SM, Wen P, Cloughesy T, *et al.* Phase II study of CCI-779 in patients with recurrent glioblastoma multiforme. *Invest New Drugs.* 2005;23(4):357–361.
88. Kreisl TN, Lassman AB, Mischel PS, Rosen N, Scher HI, Teruya-Feldstein J, *et al.* A pilot study of everolimus and gefitinib in the treatment of recurrent glioblastoma (GBM). *J Neurooncol.* 2009;92(1):99-105.
89. Plate KH, Breier G, Weich HA, Risau W. Vascular endothelial growth factor is a potential tumour angiogenesis factor in human gliomas in vivo. *Nature (Lond.)* 1992;359:845–848.
90. Kim KJ, Li B, Winer J, Armanini M, Gillett N, Phillips HS *et al.* N. Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumour growth in vivo. *Nature (Lond.)*, 1993 362:841–844.
91. Cheng SY, Huang HJ, Nagane M, Ji XD, Wang D, Shih CC, *et al.* Suppression of glioblastoma angiogenicity and tumorigenicity by inhibition of endogenous expression of vascular endothelial growth factor. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1996;93:8502–8507.

92. Shweiki D, Itin A, Soffer D, Keshet E. Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. *Nature (Lond.)*.1992;359:843–845.
93. Zhong H, Chiles K, Feldser D, Laughner E, Hanrahan C, Georgescu MM, *et al*. Modulation of hypoxia-inducible factor 1alpha expression by the epidermal growth factor/phosphatidylinositol 3-kinase/PTEN/AKT/FRAP pathway in human prostate cancer cells: implications for tumor angiogenesis and therapeutics. *Cancer Res*. 2000;60(6):1541-5.
94. Maity A, Pore N, Lee J, Solomon D, O'Rourke DM. Epidermal growth factor receptor transcriptionally up-regulates vascular endothelial growth factor expression in human glioblastoma cells via a pathway involving phosphatidylinositol 3'-kinase and distinct from that induced by hypoxia. *Cancer Res*. 2000 Oct 15;60(20):5879-86.
95. Conrad C, Friedman H, Reardon D, *et al*. A Phase I/II trial of PTK787/ZK222584 (PTK/ZK), a novel, oral angiogenesis inhibitor, in combination with either temozolomide or lomustine for patients with recurrent glioblastoma multiforme (GBM). *J. Clin. Oncol* 2004;22:1512.
96. Drappatz J, Norden AD, Wong ET, Doherty LM, Lafrankie DC, Ciampa A, *et al*. Phase I study of vandetanib with radiotherapy and temozolomide for newly diagnosed glioblastoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*.2010;78(1):85-90.
97. Batchelor TT, Duda DG, di Tomaso E, Ancukiewicz M, Plotkin SR, Gerstner E, *et al*. Phase II study of cediranib, an oral pan-vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, in patients with recurrent glioblastoma. *J Clin Oncol*.2010;28(17):2817-23.
98. Reardon DA, Vredenburgh JJ, Coan A, Desjardins A, Peters KB, Gururangan S, *et al*. Phase I study of sunitinib and irinotecan for patients with recurrent malignant glioma. *J Neurooncol*.2011;105(3):621-7.

99. Vredenburgh JJ, Desjardins A, Herndon JE 2nd, Dowell JM, Reardon DA, Quinn JA, *et al.* Phase II trial of bevacizumab and irinotecan in recurrent malignant glioma. *Clin Cancer Res.*2007;13(4):1253-9.
100. Prados MD, Lamborn K, Yung WK, Jaeckle K, Robins HI, Mehta M, *et al.* North American Brain Tumor Consortium. A phase 2 trial of irinotecan (CPT-11) in patients with recurrent malignant glioma: a North American Brain Tumor Consortium study. *Neuro Oncol.*2006;8(2):189-93.
101. Kreisl TN, Kim L, Moore K, Duic P, Royce C, Stroud I, *et al.* Phase II trial of single-agent bevacizumab followed by bevacizumab plus irinotecan at tumor progression in recurrent glioblastoma. *J Clin Oncol.*2009;27(5):740-5.
102. D'Amato RJ, Loughnan MS, Flynn E, Folkman J. Thalidomide is an inhibitor of angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.*1994;91(9):4082–4085.
103. Sampaio EP, Sarno EN, Galilly R, Cohn ZA, Kaplan G. Thalidomide selectively inhibits tumor necrosis factor alpha production by stimulated human monocytes. *J Exp Med.*1991;173(3):699–703.
104. Chang SM, Lamborn KR, Malec M, Larson D, Wara W, Sneed P, *et al.* Phase II study of temozolomide and thalidomide with radiation therapy for newly diagnosed glioblastoma multiforme. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*2004;60(2):353-7.
105. Stupp R, Hegi ME, Neyns B, Goldbrunner R, Schlegel U, Clement PM, *et al.* Phase I/IIa study of cilengitide and temozolomide with concomitant radiotherapy followed by cilengitide and temozolomide maintenance therapy in patients with newly diagnosed glioblastoma. *J Clin Oncol.*2010;28(16):2712-8.
106. Buckner JC, Schomberg PJ, McGinnis WL, Cascino TL, Scheithauer BW, O'Fallon JR, *et al.* A phase III study of radiation therapy plus carmustine with or without recombinant interferon-alpha in the treatment of patients with newly diagnosed high-grade glioma. *Cancer.* 2001;92(2):420-33.

107. Rajkumar SV, Buckner JC, Schomberg PJ, Cascino TL, Burch PA, Dinapoli RP. Phase I evaluation of radiation combined with recombinant interferon alpha-2a and BCNU for patients with high-grade glioma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*1998;40(2):297-302.
108. Brandes AA, Scelzi E, Zampieri P, Rigon A, Rotilio A, Amista P, *et al.* Phase II trial with BCNU plus alpha-interferon in patients with recurrent high-grade gliomas. *Am J Clin Oncol.*1997;20(4):364-7.
109. Wakabayashi T, Kayama T, Nishikawa R, Takahashi H, Hashimoto N, Takahashi J, *et al.* A multicenter phase I trial of combination therapy with interferon- β and temozolomide for high-grade gliomas (INTEGRA study): the final report. *J Neurooncol.*2011;104(2):573-7.
110. Colman H, Berkey BA, Maor MH, Groves MD, Schultz CJ, Vermeulen S, *et al.* Phase II Radiation Therapy Oncology Group trial of conventional radiation therapy followed by treatment with recombinant interferon-beta for supratentorial glioblastoma: results of RTOG 9710. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*2006;66(3):818-24.
111. Shono T, Tofilon PJ, Bruner JM, Owolabi O, Lang FF. Cyclooxygenase-2 expression in human gliomas: prognostic significance and molecular correlations. *Cancer Res.*2001;61(11):4375-81.
112. Joki T, Heese O, Nikas DC, *et al.* Expression of cyclooxygenase 2 (COX-2) in human glioma and in vitro inhibition by a specific COX-2 inhibitor, NS-398. *Cancer Res.*2000;60:4926–4931.
113. Masferrer JL, Leahy KM, Koki AT, *et al.* Antiangiogenic and antitumor activities of cyclooxygenase-2 inhibitors. *Cancer Res.*2000;60:1306–1311.

114. Kesari S, Schiff D, Henson JW, Muzikansky A, Gigas DC, Doherty L, *et al.* Phase II study of temozolomide, thalidomide, and celecoxib for newly diagnosed glioblastoma in adults. *Neuro Oncol.*2008;10(3):300-8.
115. Reardon DA, Quinn JA, Vredenburgh J, Rich JN, Gururangan S, Badruddoja M, *et al.* Phase II trial of irinotecan plus celecoxib in adults with recurrent malignant glioma. *Cancer.*2005;103(2):329-38.
116. Harland SP, Kuc RE, Pickard JD, Davenport AP. Characterization of endothelin receptors in human brain cortex, gliomas, and meningiomas. *J Cardiovasc Pharmacol.*1995;26 Suppl 3:S408-11.
117. Stiles JD, Ostrow PT, Balos LL, Greenberg SJ, Plunkett R, Grand W, *et al.* Correlation of endothelin-1 and transforming growth factor beta 1 with malignancy and vascularity in human gliomas. *J Neuropathol Exp Neurol.*1997;56(4):435-9.
118. Phuphanich S, Carson KA, Grossman SA, *et al.* Phase I safety study of escalating doses of atrasentan in adults with recurrent malignant glioma. *Neuro Oncol.*2008;10(4):617–623.
119. Johnstone RW. Histone-deacetylase inhibitors: novel drugs for the treatment of cancer. *Nat Rev Drug Discov.*2002;1(4):287-99.
120. Galanis E, Jaeckle KA, Maurer MJ, Reid JM, Ames MM, Hardwick JS, *et al.* Phase II trial of vorinostat in recurrent glioblastoma multiforme: a north central cancer treatment group study. *J Clin Oncol.* 2009;27(12):2052-8.
121. Chinnaiyan P, Chowdhary S, Potthast L, Prabhu A, Tsai YY, Sarcar B, *et al.* Phase I trial of vorinostat combined with bevacizumab and CPT-11 in recurrent glioblastoma. *Neuro Oncol.*2012;14(1):93-100.
122. Phuphanich S, Supko J, Carson KA, *et al.* Phase I trial of bortezomib in adults with recurrent malignant glioma. *Proc Am Soc Clin Oncol.*2006;24:1567.

123. Lang FF, Yung WK, Sawaya R, Tofilon PJ. Adenovirus-mediated p53 gene therapy for human gliomas. *Neurosurgery* 1999;45(5):1093–1104.
124. Steinman RM. The dendritic cell system and its role in immunogenicity. *Annu Rev Immunol* 1991;9:271–296
125. Yu JS, Liu G, Ying H, Yong WH, Black KL, Wheeler CJ. Vaccination with Tumor Lysate-Pulsed Dendritic Cells Elicits Antigen-Specific, Cytotoxic T-Cells in Patients with Malignant Glioma. *Cancer Res* 2004;64(14):4973–4979.
126. Yu JS, Wheeler CJ, Zeltzer PM, Ying H, Finger DN, Lee PK, *et al.* Vaccination of Malignant Glioma Patients with Peptide-pulsed Dendritic Cells Elicits Systemic Cytotoxicity and Intracranial T-cell Infiltration. *Cancer Res* 2001;61(3):842–847.
127. Yamanaka R, Homma J, Yajima N, Tsuchiya N, Sano M, Kobayashi T, *et al.* Clinical evaluation of dendritic cell vaccination for patients with recurrent glioma: results of a clinical phase I/II trial. *Clin Cancer Res.*2005;11(11):4160-7.
128. De Vleeschouwer S, Fieuws S, Rutkowski S, Van Calenbergh F, Van Loon J, Goffin J, *et al.* Postoperative adjuvant dendritic cell-based immunotherapy in patients with relapsed glioblastoma multiforme. *Clin Cancer Res.*2008;14(10):3098-104.
129. Del Vecchio CA, Wong AJ. Rindopepimut, a 14-mer injectable peptide vaccine against EGFRvIII for the potential treatment of glioblastoma multiform. *Curr Opin Mol Ther.*2010;12:741-54.
130. Kehrl JH, Roberts AB, Wakefield LM, Jakowlew S, Sporn MB, Fauci AS. Transforming growth factor beta is an important immunomodulatory protein for human B lymphocytes. *J Immunol* 1986;137 (12):3855–3860.
131. Kehrl JH, Wakefield LM, Roberts AB, Jakowlew S, Alvarez-Mon M, Derynck R, *et al.* Production of transforming growth factor beta by human T

lymphocytes and its potential role in the regulation of T cell growth. *J Exp Med* 1986;163 (5):1037–1050.

132. Maeda H, Kuwahara H, Ichimura Y, Ohtsuki M, Kurakata S, Shiraishi A. TGF-beta enhances macrophage ability to produce IL-10 in normal and tumor-bearing mice. *J Immunol*. 1995;155(10):4926-32.

133. Bogdahn U, Mahapatra AK, Olyushin V, Parfenov V, Stockhammer G, Ludwig S, *et al*. Results of a phase I/II active-controlled study with AP 12009 for patients with recurrent or refractory anaplastic astrocytoma. *ASCO Meeting Abstracts* 2008;26(15):2076.

134. Bogdahn U, Hau P, Stockhammer G, Venkataramana NK, Mahapatra AK, Suri A, *et al*. Trabectedin Glioma Study Group. Targeted therapy for high-grade glioma with the TGF- β 2 inhibitor trabectedin: results of a randomized and controlled phase IIb study. *Neuro Oncol*.2011;13(1):132-42.

135. Bobo RH, Laske DW, Akbasak A, Morrison PF, Dedrick RL, Oldfield EH. Convection-enhanced delivery of macromolecules in the brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*.1994;91(6):2076-80.

136. Debinski W, Gibo DM, Hulet SW, Connor JR, Gillespie GY. Receptor for interleukin 13 is a marker and therapeutic target for human high-grade gliomas. *Clin Cancer Res*.1999;5(5):985-90.

137. Kawakami M, Kawakami K, Puri RK. Intratumor administration of interleukin 13 receptor-targeted cytotoxin induces apoptotic cell death in human malignant glioma tumor xenografts. *Mol Cancer Ther*.2002;1(12):999-1007.

138. Kunwar S, Chang S, Westphal M, Vogelbaum M, Sampson J, Barnett G, *et al*. Phase III randomized trial of CED of IL13-PE38QQR vs Gliadel wafers for recurrent glioblastoma. *Neuro Oncol*.2010;12(8):871-81.

139. Sathornsumetee S, Reardon DA, Desjardins A, Quinn JA, Vredenburgh JJ, Rich JN. Molecularly targeted therapy for malignant glioma. *Cancer*. 2007;110(1):13-24.
140. Chao DT, Korsmeyer SJ. BCL-2 family: regulators of cell death. *Annu Rev Immunol*. 1998;16:395-419.
141. Li P, Nijhawan D, Budihardjo I, Srinivasula SM, Ahmad M, Alnemri ES, *et al*. Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade. *Cell*.1997;91(4):479-89.
142. Kelekar A, Chang BS, Harlan JE, Fesik SW, Thompson CB. Bad is a BH3 domain-containing protein that forms an inactivating dimer with Bcl-XL. *Mol Cell Biol*.1997;17:7040-6.
143. Zha J, Harada H, Osipov K, Jockel J, Waksman G, Korsmeyer SJ. BH3 domain of BAD is required for heterodimerization with BCL-XL and pro-apoptotic activity. *J Biol Chem*.1997;272:24101-4.
144. Walensky LD. BCL-2 in the crosshairs: tipping the balance of life and death. *Cell Death Differ*.2006;13(8):1339-50.
145. Torchilin VP. Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers. *Nat.Rev. Drug Discov*.2005;4:145–160.
146. Klibanov AL, Maruyama K, Torchilin VP, Huang L. Amphipatic polyethyleneglycols effectively prolong the circulation time of liposomes. *FEBS Lett*.1990;268:235–238.
147. Maeda H, Wu J, Sawa T, Matsumura Y, Hori K. Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review. *J Control Release*.2000;65(1-2):271-84.

148. Liguori L, Lenormand JL. Production of Recombinant Proteoliposomes for Therapeutic Uses. 1st ed. Elsevier Inc.2011.
149. Zawada JF, Yin G, Steiner AR, Yang J, Naresh A, Roy SM, *et al.* Microscale to manufacturing scale-up of cell-free cytokine production-a new approach for shortening protein production development timelines. *Biotechnol. Bioeng.*2011;108(7):1570–1578.
150. Pichlmeier U, Bink A, Schackert G, Stummer W. ALA Glioma Study Group. Resection and survival in glioblastoma multiforme: an RTOG recursive partition- ing analysis of ALA study patients. *Neuro Oncol.*2008;10(6):1025-1034.
151. Narayana A, Yamada J, Berry S, Shah P, Hunt M, Gutin PH, *et al.* Intensity-modulated radiotherapy in high-grade gliomas: clinical and dosimetric results. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*2006;64(3):892-7.
152. Clarke JL, Iwamoto FM, Sul J, Panageas K, Lassman AB, DeAngelis LM, *et al.* Randomized phase II trial of chemoradiotherapy followed by either dose-dense or metronomic temozolomide for newly diagnosed glioblastoma. *J Clin Oncol.*2009;27(23):3861-7.
153. Quinn JA, Jiang SX, Reardon DA, Desjardins A, Vredenburgh JJ, Rich JN, *et al.* Phase II trial of temozolomide plus o6-benzylguanine in adults with recurrent, temozolomide-resistant malignant glioma. *J Clin Oncol.* 2009;27(8):1262-7.
154. Javle M, Curtin NJ. The potential for poly (ADP-ribose) polymerase inhibitors in cancer therapy. *Ther Adv Med Oncol.* 2011;3(6):257-67.
155. Kato T, Natsume A, Toda H, Iwamizu H, Sugita T, Hachisu R, *et al.* Efficient delivery of liposome-mediated MGMT-siRNA reinforces the cytotoxicity of temozolomide in GBM-initiating cells. *Gene Ther.* 2010;17(11):1363-71.

156. Wakabayashi T, Kayama T, Nishikawa R, Takahashi H, Hashimoto N, Takahashi J, *et al.* A multicenter phase I trial of combination therapy with interferon- β and temozolomide for high-grade gliomas (INTEGRA study): the final report. *J Neurooncol.*2011;104(2):573-7.
157. Buckner JC, Reid JM, Wright K, Kaufmann SH, Erlichman C, Ames M, *et al.* Irinotecan in the treatment of glioma patients: current and future studies of the North Central Cancer Treatment Group. *Cancer.*2003;97:2352-8.
158. Batchelor TT, Gilbert MR, Supko JG, Carson KA, Nabors LB, Grossman SA, *et al.* Phase 2 study of weekly irinotecan in adults with recurrent malignant glioma: final report of NABTT 97-11. *Neuro Oncol.*2004;6(1):21-7.
159. Colman H, Aldape K. Molecular predictors in glioblastoma: toward personalized therapy. *Arch Neurol.*2008;65(7):877-83.

SERMENT DE GALIEN

Faculté de Pharmacie de Grenoble



Serment des Apothicaires



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

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Nouvelles approches thérapeutiques pour le traitement du glioblastome. Exemple du développement d'une protéine pro-apoptotique.

RESUME

Le glioblastome est la tumeur du cerveau la plus fréquente et la plus agressive. Il n'existe actuellement pas de traitement curatif de ce cancer. Les thérapies standards utilisées actuellement sont la chirurgie de résection macroscopique et la radiothérapie externe en association avec une chimiothérapie concomitante et adjuvante, le plus souvent par témozolomide. Grace à la découverte du témozolomide et des progrès accomplis au niveau de la chirurgie et de la radiothérapie, la durée de vie des patients a été augmentée de façon significative mais pas suffisamment. La compréhension des dérèglements, notamment de l'apoptose et des voies de signalisation, conduisant au développement des glioblastomes est corrélée avec l'essor de nouvelles molécules. Il s'agit de thérapies ciblées agissant, entre autre, sur les effecteurs ou les récepteurs de ces voies de signalisation. Leur nombre est en constante augmentation et les résultats obtenus par certaines de ces molécules sont très prometteurs. Cependant le coût d'un traitement de thérapie ciblée reste élevé et peut-être un frein pour l'accès au traitement des patients. Quoiqu'il en soit, ces potentiels médicaments, en combinaison avec les traitements standards, représentent un espoir dans la prise en charge des glioblastomes.

Mots-clés : glioblastome, traitements, témozolomide, thérapie ciblée, apoptose, essai clinique.

Contact :

- par mail : aurelie.martinsgomes@gmail.com

- par courrier : Chemin des Curies - 73250 St Pierre d'Albigny