



HAL
open science

Étude de nouveaux facteurs pronostiques de la survie des patients atteints de glioblastome : mutation IDH et invasivité radiologique estimée par modélisation biophysique

Aymeric Amelot

► **To cite this version:**

Aymeric Amelot. Étude de nouveaux facteurs pronostiques de la survie des patients atteints de glioblastome : mutation IDH et invasivité radiologique estimée par modélisation biophysique. Médecine humaine et pathologie. 2016. dumas-01664064

HAL Id: dumas-01664064

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01664064v1>

Submitted on 14 Dec 2017

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

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

AVERTISSEMENT

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

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

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

Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 122.4

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

UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES
Faculté de Médecine PARIS DESCARTES

Année 2016

N° 69

THÈSE
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE
DOCTEUR EN MÉDECINE

Étude de nouveaux facteurs pronostiques de la survie des patients atteints
de glioblastome : mutation IDH et invasivité radiologique estimée
par modélisation biophysique

Présentée et soutenue publiquement
le 6 juin 2016

Par

Aymeric AMELOT
Né le 26 mars 1979 à Nantes (44)

Dirigée par M. Le Professeur Emmanuel Mandonnet, PU-PH

Jury :

M. Le Professeur Johan Pallud, PU-PH Président

M. Le Professeur Michel Kalamarides, PU-PH

M. Le Professeur Antoine Carpentier, PU-PH

M. Le Professeur Nicholas Ayache, Directeur de Recherche à l'INRIA



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

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Johan Pallud, je suis très heureux que vous ayez accepté d'enrichir cette thèse de votre expertise. Veuillez trouver ici la gratitude et les remerciements pour avoir accepté de présider ma thèse en neurooncologie, spécialité rigoureuse, dont vous faites parti des références. Que cette thèse soit l'occasion de témoigner ma reconnaissance envers un expert des tumeurs gliales.

A Monsieur le Professeur Emmanuel Mandonnet, qui a dirigé l'ensemble des travaux réalisés au cours de cette thèse. Saint patron de la neuronavigation, Jedi de la chirurgie éveillée, j'ai pu découvrir, apprécier, admirer, rire et progresser jour après jour à ton contact, que ce soit dans un bloc, dans un congrès, sur un terrain de foot porte de Vincennes, ou dans un resto gare du Nord.

Pour ta perpétuelle bonne humeur, tes sempiternelles idées et re-idées pour avancer et progresser, ta bienveillance et ta confiance dans tout ce que l'on entreprenait, ta formation, ta disponibilité et tant encore. Merci pour cet héritage que tu me transmets, compromis de compétences chirurgicales, de grande rigueur scientifique, et d'un plaisir simple pour une passion compliquée, la neurochirurgie.

Certes j'ai opté pour une chirurgie plus médullaire qu'éveillée, mais je pars dans ce domaine avec des valises pleines de bonnes idées et de bonnes pratiques « *made in Mandonnet* ». Des longues soirées d'hiver devant une métastase cérébrale ou un gliome capricieux aux aurores estivales d'une fin de grande garde ou j'attendais et parfois redoutais tes « *J'ai une idée !* »... ☺ il y en a eu de belles pages écrites, et j'en suis immensément content. Trouve en cette thèse le témoignage de ma reconnaissance pour la confiance que tu m'as accordée, le bagage scientifique et chirurgical que tu m'as transmis. Merci pour tout Manu.

A Monsieur le Professeur Michel Kalamarides, que j'ai découvert lors de mes premiers pas d'interne dans le service de neurochirurgie de l'hôpital Beaujon. De ta simplicité et ta spontanéité à l'angle d'un couloir à ta dextérité et ta patte chirurgicale à l'angle ponto-cérébelleux, j'ai pu apprécier tes qualités chirurgicales et humaines. Je ne prétends pas faire danser le facial et le paquet accoustico-vestibulaire au bout de mon dissecteur comme toi, mais j'espère au moins un jour approcher ton savoir faire. Je tiens à t'exprimer ma plus profonde et chaleureuse gratitude pour avoir accepté d'évaluer mon travail. Que cette thèse soit l'occasion de te témoigner ma reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Antoine Carpentier, pour me faire l'honneur de juger ce travail. Je vous remercie très sincèrement d'y apporter vos connaissances, votre très grande expérience en neurooncologie et votre temps. Recevez le témoignage de ma gratitude.

A Monsieur le Professeur Nicholas Ayache, vous me faites l'honneur de venir de loin pour examiner mon travail de thèse. Merci d'apporter votre expertise et votre rigueur scientifique à ce travail. J'espère à mon tour vous avoir fait partager mon intérêt pour la recherche et l'avancée dans la neurooncologie du glioblastome. Je vous prie de croire en mon plus profond respect.

A Monsieur le Professeur Philippe Cornu, pour votre soutien, vos conseils, votre humanité et votre générosité, votre écoute, votre bonne humeur perpétuelle, et surtout votre rôle décisif dans le choix de mon clinat. Pour votre disponibilité, vos diagnostics avisés cliniques et humains. Trouvez en cette thèse le témoignage de ma reconnaissance pour la confiance que vous m'avez accordée, l'éducation humaine et scientifique que vous m'avez laissée. Merci Mr Cornu

A Monsieur le Professeur Christian Mazel, pour vos enseignements chirurgicaux et humains. Vous avez eu la chance d'être un des derniers disciples du Pr Raymond Roy-Camille, j'ai eu la chance d'être un de vos élèves. En espérant qu'un jour je réussisse à manier comme vous la Stagnara et la scie à os! Que cette thèse soit l'occasion de témoigner ma reconnaissance envers un maître Jedi du Rachis et de l'arthrodèse.

A vous Tous, maîtres, collègues, amis, croisés dans un service de neurochirurgie, un Relay-H, la salle 2 ou dans un couloir AP-HP....pour vos enseignements, vos conseils, vos critiques, votre accueil, vos encouragements, vos enseignements et surtout pour votre patience et cette inépuisable tolérance pour me supporter....

Au Dr Clemenceau Stephane, le p'tit Patron, le Zlatan de Babinski, pour vos volets pièce de un euros, votre vision de la chirurgie, votre patte légendaire de gaucher, pour votre bonne humeur, pour ces pizzas et ces mojitos au p'tit gros, pour tous ces moments et ces soutiens que vous m'avez apportés dans les moments délicats et difficiles de la vie d'un interne, merci pour toutes ces pages écrites ensemble, en espérant qu'il nous reste encore beaucoup de chapitres à dérouler. Je souhaite ici vous exprimer toute ma gratitude de Phocéén.

Au Dr Thierry Faillot, par qui tout a commencé.... Pour m'avoir aidé à faire le grand saut dans le monde de la neurochirurgie, pour m'avoir enseigné l'art du trepan, de la DVE, du sous-dural chronique nocturne avec gentillesse, patience, et disponibilité. Pour ton Humanité et ta tolérance encore jamais égalées, pour ta sempiternelle bonne-humeur, j'espère que nos chemins se croiseront encore très souvent. Merci Thierry

Au Dr Damien Bresson, pour ta gentillesse, ta disponibilité les diners chez toi « internes-famille Bresson » et surtout ta patte folle de chirurgien qui m'a permis de comprendre enfin le Key-hole et de réaliser ma première cranioplastie (ça marque ça....!) lors de mon jeune passage à Lariboisière....Ne change pas Le Bresson, tu es parfait, et surtout.....met ton casque sur ta trottinette

Au Dr Anne-Laure Boch, pour ta patience, ton écoute, ta disponibilité, ton aide, tes enseignements chirurgicaux, humains et géographiques du massif alpin. Pour ton approche philosophique, sociale et éthique enseignée à chaque drames que le métier de neurochirurgien nous amène à prendre en charge.

Au Dr Dorian chauvet, dis moi Chauvet !!! pour ton enseignement entrepris à Babinski et continué à Rothschild, pour ce film à petit budget et gros fracas tourné lors d'une nuit de grande garde, pour tous ces volets et ces CLE que tu m'as laissés....mille mercis

Au Dr Vincent Reina, merci pour ton aide et tes précieux conseils en rachis. Encore pardon pour le O-ARM, ça ne se reproduira plus. J'espère de tout cœur bientôt partager les visées pédiculaires et autres spine « Art » à tes cotés. Et arrête de soutenir ces loosers du PSG !

Au Dr Aurelien Nouet, pour ta patte chirurgicale, ta façon de faire valser la Sylvienne et de zooker la pericalleuse, ta disponibilité, et ton talent de tordeur d'aspiration métallique que je ne saurais un jour égaler.. ☺ J'espère qu'il y aura encore de nombreuses fois où je pourrai suivre tes enseignements vasculaires chirurgicaux. En attendant, garde dans ton casier ces cadeaux de patients dont tu as le secret.

Au Dr Laurent Balabaud, merci de tout cœur pour toute ta gentillesse, ta patience, tes conseils, ton enseignement et ta tolérance pour mes blagues nulles très orthopédistes lors de nos séances estivales rachis 8-21h de l'IMM. J'espère que le soleil du Morbihan sera pour toi comme il l'est pour moi un moteur de bonheur et de bon vivre.

Au Dr Bertrand Mathon, esso Connardo, mon ami, voisin et co-interne (ça fait beaucoup là!), pour tous ces moments en grande garde, à Babinski, et notre passion commune Tchadienne, que les années à venir soient Babinskiennes et productives.

Au Dr Kevin Beccaria, toi aussi le kevinou esso connardo merci pour ce stage de Necker, ta gentillesse, ta disponibilité et tous ces petits loulous qu'on a sauvés !!!....ou pas!

A mes 2 compères de l'Hôtel Dieu; le Corsico-Parigo-Nantais **Joseph Cristini** pour ton soutien, ces cafés-moral, nos épopées Rachidiennes, et ta présence, et le Poitevin-Nantais **Alexis Moles**, pour ton aide et ton soutien lors de mon séjour clandestin dans la ville des petits beurres.

A toute ma famille, Alix, Arnaud et Céline, les gremlins Amandine et Alesqui

A tous mes proches, Les Trikards un jour, trikards toujours (même si vous êtes rangés des bagnoles maintenant), Malvi la Carbo, Aurélien et Julie, Juliette Trikarde, les Tchouchous Eric et Betty, les yes kez siroum em Bruno et Louise, Mama (et oui 13 ans déjà...), Guillemette et Arnaud.

Et enfin, le meilleur pour la fin.....**A mon Papa et ma Maman préférés**, 19 ans après ce baccalauréat dont on se souvient (surtout toi maman), 19 cartes d'étudiants, 7 déménagements, 2 scooters, des litres de COCA-Zero et un abandon il y a un an, drame ! Pour avoir encouragé, supporté, réconforté et porté dans ces moments de dur labeur, le « Oh moi vous savez »

Votre Tanguy qui vous aime toujours autant

Merci à tous

A Tahar, parti trop vite sans voir la fin de cette épopée post U428

Table des matières

REMERCIEMENTS.....	2
INTRODUCTION.....	10
1 Histogenèse des cellules gliales.....	11
2 Histopathologie et classification des tumeurs gliales.....	11
3. Epidémiologie.....	12
4. Classification OMS.....	13
5. Classification de Saint-Anne.....	15
6. Altérations moléculaires conduisant aux GBM.....	17
7. Facteurs de risque des glioblastomes	18
8. Survie.....	19
9. Facteurs pronostics cliniques.....	19
10. Facteur pronostic de l'imagerie.....	19
11. Facteurs pronostics moléculaire des GBMs.....	22
11.1 MGMT.....	22
11.2 IDH1/2.....	23
11.2.1 IDH physiologique.....	23
11.2.2 Fonction d'IDH.....	25
11.2.3 Implication des mutations IDH dans le GBM.....	26
11.2.4 IDH et les longs survivants.....	28
12. Traitement des GBMs.....	29
12.1 Chirurgie et biopsie stéréotaxique.....	29
12.2 Radiothérapie.....	29
12.3 Chimiothérapie.....	30
12.4 Thérapies ciblées.....	31
13. Diffusion et prolifération gliale.....	32
14 Modélisation mathématique.....	32
15. Atlas cérébral : support de la simulation tumorale.....	35
PREMIERE PARTIE: METHODOLOGIE.....	38
Chapitre 1: Considérations Ethiques.....	39

Chapitre 2: Patients et données cliniques.....	39
Chapitre 3: Longs survivants.....	40
Chapitre 4: Marquage IDH1 par immunohistochimie.....	40
Chapitre 5: La détection de mutations IDH1 et IDH2.....	40
Chapitre 6: Détermination du statut de méthylation du promoteur MGMT.....	41
Chapitre 7: Modélisation Mathématique de la migration et de la prolifération..	41
Chapitre 8: Segmentation IRM.....	42
Chapitre 9: Analyses Statistiques.....	42
<u>DEUXIEME PARTIE: TRAVAUX PERSONNELS.....</u>	43
Chapitre 1: Préambule.....	44
Chapitre 2: Article I.....	46
Chapitre 3: Article II.....	47
Chapitre 4: Article III.....	48
<u>DISCUSSION.....</u>	49
<u>CONCLUSIONS et PERSPECTIVES.....</u>	57
<u>BIBLIOGRAPHIE.....</u>	59
<u>ANNEXES 1 (ARTICLE I).....</u>	77
<u>ANNEXES 2 (ARTICLE II).....</u>	91
<u>ANNEXES 3 (ARTICLE III).....</u>	116

Liste des figures et tables

Figure 1 : Les différentes cellules gliales (d'après Sylvie Dessert).....	11
Figure 2 : IRM T1-gado de GBM.....	20
Figure 3 : Simulation IRM de la répartition des cellules gliomales.....	21
Figure 4 : Structure IVaire d'IDH	23
Figure 5 : Homodimère IDH avec 2 sites actifs, conformation régulationnelle	24
Figure 6 : Réactions métaboliques catalysées par des enzymes de la famille IDH	25
Figure 7 : Rôle du NADPH pour la réduction de glutathion	26
Figure 8 : Mutations affectants IDH1 et IDH2	27
Figure 9 : Exemples de tumeurs diffuse (ρ/D bas) et nodulaire (ρ/D élevé).....	33
Figure 10 : Simulation IRM de la répartition des cellules gliomales.....	34
Figure 11 : Atlas cérébral INM: masque matière (A et C), masque LCR (B)	36
Figure 12 : Graphique de dispersions RT1-gado et RT2-Flair.....	53
Figure 13 : Glioblastome Frontal droit en T1-gado et T2-Flair.....	54
Table 1 : Classification selon l'OMS 2000.....	14
Table 2 : Classification de Saint-Anne. Daumas-Duport et al. 1997.....	16
Table 3 : Comparaison des classifications de Saint-Anne et de l'OMS.....	16

Abréviations utilisées

GBM	Glioblastome
SNC	Système nerveux central
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
HTIC	Hyper tension intra cranienne
MGMT	O6-méthylguanine-DNA méthyltransférase
TMZ	Témazolomide
RT	Radiothérapie
IDH1,2,3	Isocitrate déshydrogénase 1, 2 ou 3
IRM	Imagerie par résonance magnétique
KPS	Karnofsky personal status
T2-Flair	IRM en séquence T2 Flair
T1-gado	IRM en séquence T1 injectée avec du gadolinium

INTRODUCTION

1. Histogenèse des cellules gliales

La glie est un terme qui rassemble l'ensemble des cellules de soutien des neurones c'est à dire les astrocytes, les oligodendrocytes, les cellules microgliales, et les cellules épendymaires (figure 1). Une cellule souche neuro-épithéliale présente au niveau du tube neural, peut donner par différenciation 3 types de cellules : les neuroblastes qui seront à l'origine des neurones; les glioblastes qui donneront les astrocytes et les oligodendrocytes; et enfin les épendymoblastes qui donneront les cellules épendymaires. Les cellules microgliales dérivent quant à elles des microgliocytes, qui sont d'origine mésodermique.

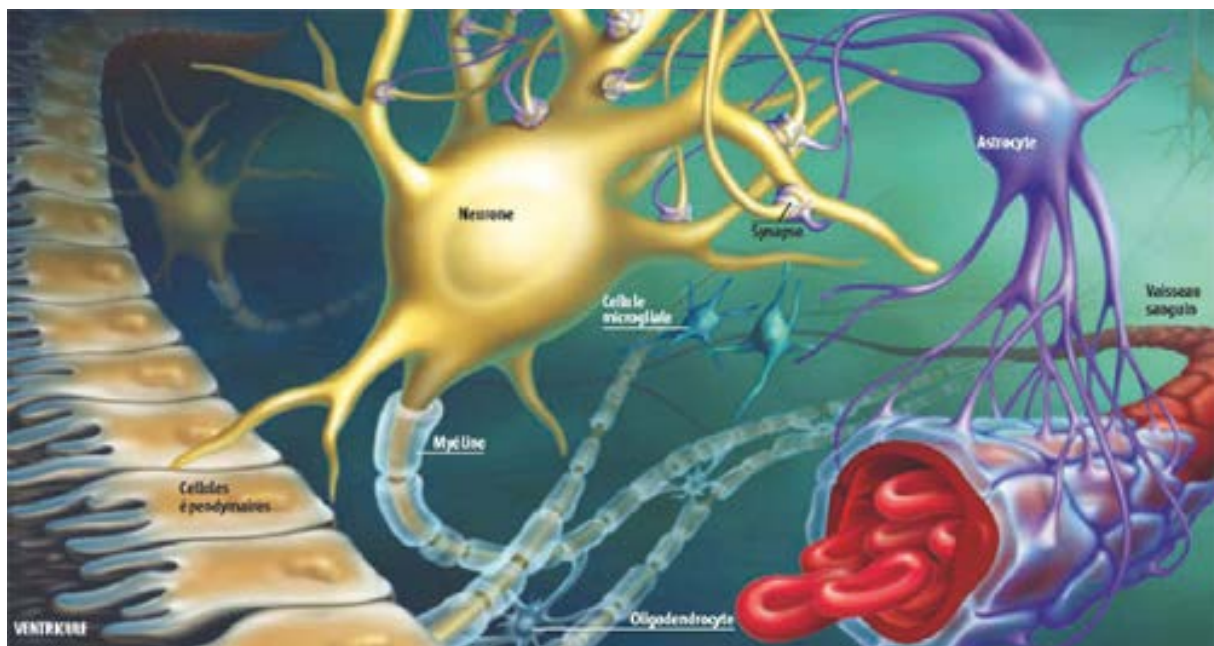


Figure 1: Les différentes cellules gliales (d'après Sylvie Dessert).

2. Histopathologie et classification des tumeurs gliales

Histologiquement, parmi les descendants des glioblastes, on distingue :

- Les astrocytes : cellules de petite taille en forme étoilée présentes dans tout le système nerveux avec de nombreux prolongements terminés par des renflements formant les pieds astrocytaires. Ils sont en contact avec plusieurs régions neuronales et participent à plusieurs fonctions dont la conduction nerveuse des potentiels d'actions (dépolérisation transitoire de la membrane des neurones), la recapture des neurotransmetteurs, le développement du cerveau et un rôle de Cellule Présentatrice d'Antigène (CPAg) dans le SNC.

- Les oligodendrocytes, présents dans tout le système nerveux centrale (SNC), assurent la myélinisation des axones.

A l'état physiologique, les cellules progénitrices et les cellules adultes n'ont qu'une activité mitotique très faible, uniquement limitée au renouvellement des cellules gliales lésées. La reprise d'une prolifération plus soutenue au sein de ces populations cellulaires normalement quiescentes pourrait être à l'origine de la tumorigénèse.

3. Epidémiologie

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), les tumeurs cérébrales peuvent être classées en :

- Tumeurs du tissu neuro-épithélial : gliomes et autres
- Tumeur méningée primitive
- Lymphome primitif du SNC
- Tumeur de la région sellaire
- Métastases intracrâniennes

Les gliomes représentent la catégorie la plus fréquente de tumeur cérébrale primitive. Les glioblastomes (GBM) représentent environ 25% des tumeurs du système nerveux (1,2). On compte 3000 nouveaux cas de gliomes par an en France (3). En ne représentant que 2% des affections tumorales, les gliomes sont cependant considérés comme rares chez l'adulte. L'incidence annuelle est de 5 à 7 sur 100 000 (4). Les gliomes peuvent se manifester à tout âge avec une pointe d'incidence à la trentaine pour les gliomes de bas grade et une pointe à la cinquantaine pour les GBM (5,6). L'incidence des GBM, très faible chez l'enfant, augmente de façon linéaire jusqu'à 75 ans pour diminuer ensuite (7). Les GBM restent des tumeurs relativement rares ; en Europe et aux Etats-Unis, l'incidence des GBM est respectivement à 2 et 3 sur 100 000. Cette incidence a cependant augmenté au cours des 30 dernières années (1). Ceci s'explique par le vieillissement de la population avec un accroissement du nombre de cas au-delà de 70 ans.

L'amélioration de l'accès à l'imagerie et des moyens diagnostiques (radiologiques, histologiques) peuvent aussi expliquer cette augmentation (8).

4. Classification OMS

La classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (Table 1), actuellement utilisée internationalement, subdivise les tumeurs gliales selon leur aspect histologique et leur degré de ressemblance à la cellule originelle dont elles sont supposées dériver (9). La deuxième notion de cette classification est représentée par le grading histopronostique : à chaque tumeur est attribué un grade de gravité allant de I à IV. Les grades sont définis par une évolution successive vers une perte de l'état différencié, une élévation de la densité cellulaire, des atypies nucléaires, une activité mitotique, de la nécrose et de la prolifération vasculaire. Ainsi cette classification distingue, parmi les gliomes astrocytaires, les grades I qui sont des gliomes circonscrits (astrocytome pilocytique, astrocytome à cellules géantes sous épendymaires), des grades II, III et IV observés essentiellement dans le cadre des astrocytomes diffus. Les gliomes diffus de l'adulte se caractérisent par un grand pouvoir invasif et par un passage inéluctable à l'anaplasie. La notion de bénignité et de malignité histologique, telle qu'elle est envisagée dans d'autres organes ne peut s'appliquer dans le cas des gliomes diffus.

Astrocytomes	Différenciation	Densité cellulaire	Atypies nucléaires	Activité mitotique	Nécrose	Prolifération vasculaire
Astrocytomes diffus de grade II <ul style="list-style-type: none"> • Fibrillaires • Gemistocytiques • Protoplasmiques 	Haut degrés	Modérée	Occasionnelle	Absente ou une mitose	Absente	Absente
Astrocytomes anaplasiques de grade III	Anaplasie focale ou dispersée	Augmentée diffusément ou focalement	Présente	Présente	Absente	Absente
Glioblastomes de grade IV	Faible	Elevée	Marquées	Marquée	Présente	Présente

Oligodendrogliomes et gliomes	Différenciation	Densité cellulaire	Atypies nucléaires	Activité mitotique	Nécrose	Prolifération vasculaire
Oligodendrogliomes de grade II	Bien différencié	Modérée	Possiblement marquées	Absente ou occasionnelle	Absente ou peu conséquente	Non proéminente
Oligo-astrocytomes de grade II	Bien différencié	Faible ou modérée	?	Absente ou faible	Absente	Absente
Oligodendrogliomes anaplasiques de grade III	Anaplasie focale ou diffuse	Eventuellement augmentée	Eventuellement marquées	Eventuellement forte	Possible	Possible
Oligo-astrocytomes anaplasiques de grade III	?	Eventuellement forte	Eventuellement présentes	Eventuellement forte	Possible	Possible

Table 1: Classification des des astrocytomes diffus, oligodendrogliomes et gliomes mixtes selon l'OMS 2000

Selon la classification de l'OMS, les oligodendrogliomes sont divisés en deux grades : II et III, et sont composés de cellules normales arrondies à noyaux réguliers, présentant souvent un halo clair périnucléaire et un cytoplasme clarifié avec un aspect caractéristique dit en nid d'abeille. Ils comportent généralement des zones microkystiques, des calcifications et leur vascularisation est représentée par un réseau dense de capillaires fins et branchés (2).

Les principaux critères de diagnostic des astrocytomes diffus, oligodendrogliomes et gliomes mixtes sont rapportés dans la table 1. La forme la plus sévère est le glioblastome (GBM) primitif ou les oligoastrocytomes et oligodendrogliomes évoluant vers le stade GBM. Cette classification ne tient que très peu compte des données de la clinique et de l'imagerie. C'est pour partiellement répondre à ce manque que la classification de St Anne a été réalisée.

5. Classification de Saint-Anne

Cette classification repose essentiellement sur les concepts suivants (10–12):

- Les gliomes communs ont une structure spatiale infiltrante solide ou mixte.
- La forme infiltrante est composée de cellules tumorales isolées au sein d'un parenchyme nerveux présent tant sur le plan fonctionnel que morphologique,
- La forme solide est constituée de cellules tumorales en contact les unes avec les autres sans parenchyme résiduel
- Le passage d'une forme infiltrante à une forme solide s'accompagne d'une microangiogénèse qui constitue l'élément clé du grading de cette classification. Le marqueur histologique de la micro-angiogénèse est représenté par l'hyperplasie endothéliale et constitue l'unique paramètre histologique du grading. Sa traduction radiologique est la prise de contraste en imagerie (scanner ou IRM). Ainsi le grading de Saint-Anne est historadiologique et son utilisation ne peut s'envisager que si l'on dispose du dossier radiologique du patient. Il s'agit d'un système simple d'application et reproductible.

Oligodendrogliome et oligoastrocytome de grade A	Absence d'hyperplasie endothéliale et de prise de contraste en imagerie
Oligodendrogliome et oligoastrocytome de grade B	Présence d'hyperplasie endothéliale et/ou de prise de contraste en imagerie

Table 2: *Classification de Saint-Anne (10–12)*

Le grading distingue 2 catégories (Table 2) :

- L'oligodendrogliome et l'oligoastrocytome de grade A définis par l'absence d'hyperplasie endothéliale et de prise de contraste,
- L'oligodendrogliome et l'oligoastrocytome de grade B définis par la présence d'une hyperplasie endothéliale et/ou d'une prise de contraste.

Les tumeurs astrocytaires diffuses classées dans la classification de l'OMS en grade II ou grade III (astrocytome anaplasique) ne sont pas reconnues par le système de Saint-Anne et sont considérées comme des tumeurs oligoastrocytaires ou oligodendrogliales. Les seules tumeurs astrocytaires reconnues comme telles sont les glioblastomes (Table 3). Un sous- groupe particulier de tumeurs malignes, caractérisé par une double différenciation gliale et neuronale, est dénommé tumeur glio-neuronale maligne.

Grade OMS	Désignation OMS	Désignation Saint-Anne	Critères histologiques
I	Astrocytome pilocytique		
II	Astocytome diffus	Astrocytome grade 2	1 critère : atypies nucléaires
III	Astrocytome anaplasique	Astrocytome grade 3	2 critères : atypies nucléaires et activité mitotique
IV	Glioblastome	Astrocytome grade 4	3 critères : atypies nucléaires, prolifération endothéliale et/ou nécrose, mitoses,

Table 3: *Comparaison des classifications de Saint-Anne et de l'OMS*

6. Altérations moléculaires conduisant aux GBM

On distingue deux types de GBMs: les primaires et les secondaires sur la base de leurs différences biologiques et génétiques. Les GBMs primaires sont les plus fréquents puisqu'ils représentent plus de 90% des GBMs.

Au cours des dernières années, des progrès importants ont été réalisés dans le recensement des altérations moléculaires retrouvées qui permettent la dégénérescence de la glie au glioblastome. L'élaboration de certains profils d'altérations et leur mise en relation avec les critères histologiques et cliniques contribuent à l'amélioration de la classification histopronostique des gliomes.

Les GBMs primaires apparaissent chez les patients de plus de 50 ans et sont caractérisés par des mutations et amplifications géniques du proto-oncogène EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor), une perte d'hétérozygotie du chromosome 10q, et une délétion de PTEN et p16 (13–16). Ce sous type de GBM se caractérise par une clinique d'apparition rapide et souvent bruyante (HTIC, hydrocéphalie ...).

Les GBMs secondaires sont beaucoup plus rares et résultent de la transformation anaplasique d'un gliome infiltrant de grade inférieur (grade II ou III). Cette transformation se produit sur plusieurs années contrairement aux GBMs primaires. Les GBMs secondaires se retrouvent chez des patients plus jeunes (< 45 ans) et présente un meilleur pronostic que les autres GBMs (15). Ces GBMs sont moléculairement caractérisés par des altérations par mutation du gène p53 et/ou accumulation de la protéine p53 (17,18), une surexpression du PDGFR, des aberrations au niveau des voies de signalisation de p16 et de Rb et enfin une perte du chromosome 10q (18–22).

Grâce à des profils génomique tumoraux, de nombreuses mutations/aberrations chromosomiques ont été identifiées comme des potentielles cibles thérapeutiques telles que les altérations homozygotes du gène suppresseur de tumeur P16/CDKN2A, nouvelles mutations ponctuelles des gènes suppresseurs Rb (20,23), PTEN/MMAC1 (24) des méthylations de la région promotrice de P14ARF (25), une amplification des proto-oncogènes PDGFRA (26), CDK4 et MDM2 (27).

Le fait que l'amplification d'EGFR soit quasi-exclusivement observée dans les glioblastomes suggère qu'il s'agit d'un événement tardif dans la progression tumorale (28). A l'inverse, les altérations de p53, observées dans tous les grades de malignité indiquent qu'elles ont lieu plus précocement dans la tumorigénèse. Ainsi plusieurs auteurs ont émis l'hypothèse de l'existence d'au moins deux voies de tumorigénèse au sein des tumeurs astrocytaires conduisant au glioblastome primaire ou bien au glioblastome secondaire (22,29).

Il est maintenant bien démontré que les mutations/substitutions des gènes de l'isocitrate deshydrogénase (IDH), (enzymes qui catalysent la décarboxylation de l'isocitrate en alpha-kétoglutarate, et source principale de NADPH) concernent les gliomes de grade II et III de tout type histologique (astrocytome, oligodendrogliome, oligoastrocytome), ainsi que les glioblastomes secondaires et les glioblastomes du sujet jeune (30). C'est un événement survenant précocement dans la gliomagénèse. Elle est inversement associée au grade et est retrouvée dans 77% grade II, 55% grade III et 6% grade IV secondaire (31).

7. Facteurs de risque des glioblastomes

Les GBM surviennent plus fréquemment chez l'homme avec un sexe- ratio homme / femme entre 1.5 et 1.8 / 1 selon les études (32,33). Cette différence est probablement due aux hormones sexuelles féminines car l'apparition des GBMs augmente à partir de la ménopause suggérant un rôle protecteur des oestrogènes (34). Il existerait aussi une plus forte incidence des GBM dans les populations caucasiennes (35,36). Dans près de 95% des cas, la cause des GBM reste inconnue ; certaines phacomatoses (principalement neurofibromatose) sont impliquées dans les 5% de cas familiaux de tumeurs (33,37). De plus, les syndromes héréditaires connus qui conduisent à la survenue de GBM ne rendraient compte que de 1% des cas (33). En ce qui concerne l'association possible avec d'autres cancers, le GBM n'augmente pas le risque de cancers dans la famille du patient (38). Il existerait en revanche un lien positif entre la survenue de mélanome et la survenue de GBM (39).

Le risque d'apparition d'un GBM serait réduit chez les personnes ayant un terrain atopique ou allergique (40–43) ou étant atteints d'une maladie auto-immune (44,45).

La part des facteurs environnementaux (composés nitrosés, métaux, pesticides ou radiations électromagnétiques) reste à déterminer; les résultats actuels étant discordants ou non confirmés (46–48). En effet l'identification de l'implication de ces différents facteurs dans la survenue des GBM se heurte à des difficultés d'estimation d'exposition et de multiplicité des sources d'exposition.

8. Survie

La médiane de survie globale des GBMs tout type de prise en charge confondu varie entre 4,9 et 9,4 mois selon les études (6,15,49). Cependant la médiane de survie rapportée dans les études cliniques est plus importante. En 2005, il a été rapporté dans l'étude Stupp et al. une survie médiane de 12,1 mois pour les patients traités par radiothérapie et de 14,6 pour ceux traités par l'association Radio/chimiothérapie concomitante (50,51).

9. Facteurs pronostics cliniques

L'âge est le facteur pronostic le plus fréquemment retrouvé dans les études concernant les GBMs (15,52,53). Il s'agit d'un facteur pronostic indépendant en analyses multivariées. L'âge considéré comme seuil de mauvais pronostic varie selon les études, mais se situe le plus souvent autour de 60 ans (15). L'autre facteur pronostic clinique est le score fonctionnel de Karnofsky (KPS) au diagnostic. L'existence d'un déficit neurologique est un facteur péjoratif. Ainsi un KPS supérieur à 80 est corrélé à une survie plus longue (53).

10. Facteur pronostic de l'imagerie

Très tôt, certaines équipes s'étaient déjà penchées sur une éventuelle concordance entre le pronostic de survie du patient et l'imagerie initiale. Mais elles n'ont généralement rapporté aucune association significative entre le volume de la tumeur sur l'imagerie et la survie des patients (54,55). Plus récemment, certains auteurs ont démontré une correspondance entre l'IRM préopératoire (qui joue un rôle important dans la neuro-oncologie pour le diagnostic initial et l'évaluation de la réponse au traitement) avec la survie (figure 2) (56,57).

Depuis déjà 2 décennies des études ont analysé des échantillons de tissu cérébral prélevés en per-opératoire à partir de régions cartographiées au préalable

grâce à l'imagerie chez les patients GBMs. Le contraste (T1-gado) et l'oedème (T2-Flair) étaient de bons marqueurs indirects pour successivement la présence de tissu tumoral solide avec néovascularisation (T1-gado) et des cellules tumorales isolées envahissantes (T2-Flair), tandis que les zones d'hypodensité centrale représentent la nécrose tumorale (58,59).

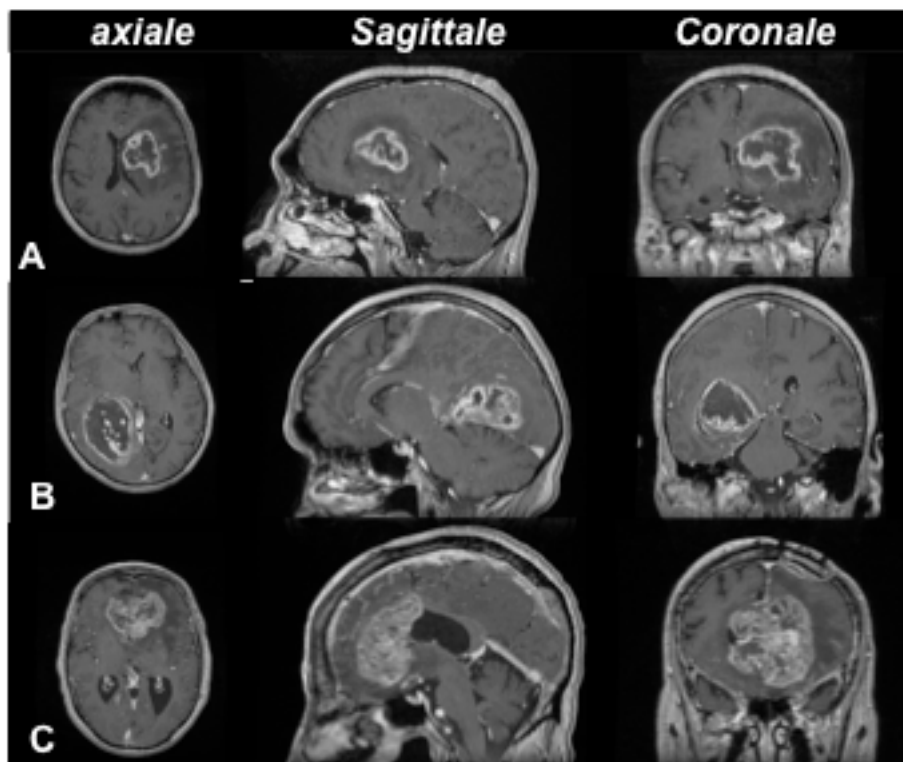


Figure 2: IRM T1-gado en coupes (axiale, sagittale et coronale) de GBM en localisation A: frontale, B: Pariétale, C: Fronto-calleux

On sait ainsi et cela depuis la démocratisation de l'IRM, que la prise de contraste de gadolinium reflète la rupture de la barrière hémato-encéphalique (figure 2) (60). Grâce aux séquences de perfusion-IRM, on peut mesurer la vascularisation tissulaire tumorale et des environnements (61), et les séquences de diffusions répétées retravaillées permettent d'appréhender la cellularité des tissus envahis (62).

Selon Mazurowski et al., depuis une dizaine d'années l'inclusion de ces fonctions d'imagerie améliore la prédiction de la survie par rapport à l'utilisation des seules caractéristiques cliniques (KPS, âge, sexe) (63). En effet, l'analyse des séquences IRM a identifié des variables telles que le rapport du volume tumorale T2 Flair sur le volume de la tumeur (VT2-Flair/VT1), la variation du signal de réhaussement de la tumeur au gadolinium (64) ainsi que le volume de tumeur réhaussée (65,66), et le

volume de tumeur réhaussée atteignant le corps calleux comme fortement corrélés avec la survie (56).

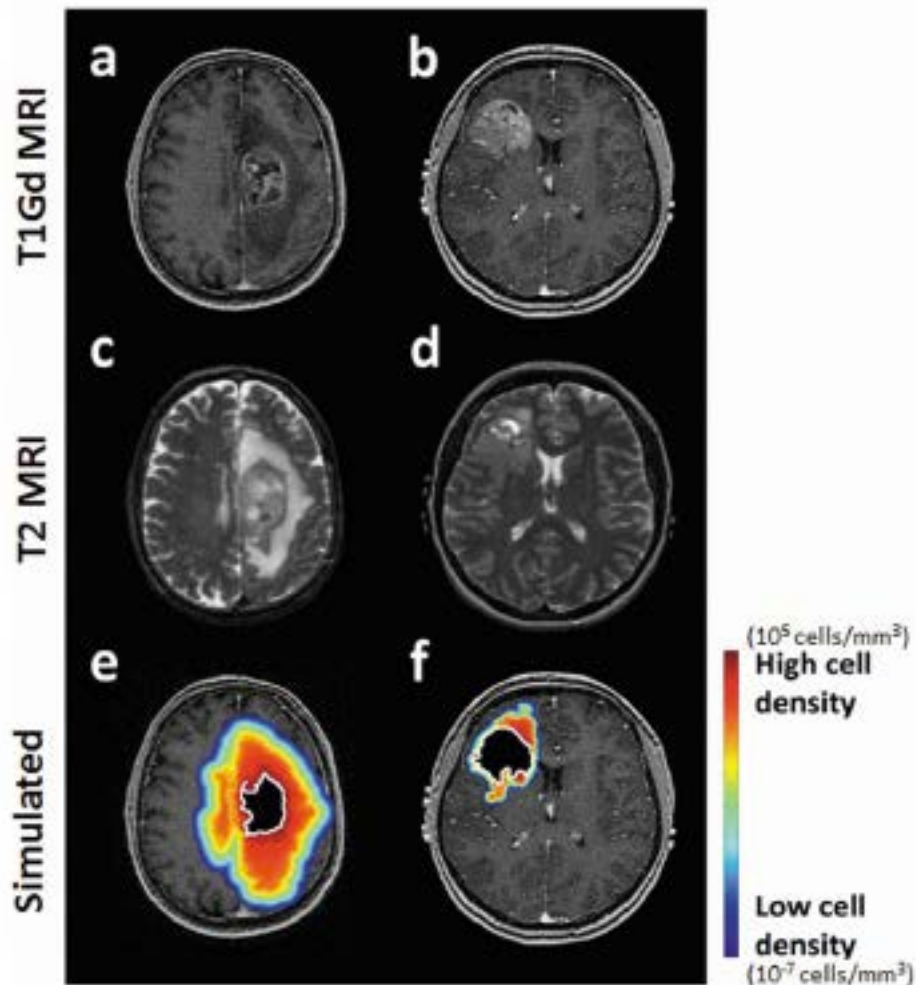


Figure 3: Simulation IRM de la répartition des cellules gliomales selon les densités pour un GBM diffus (a, c) et nodulaire (b,d), Baldock et al. (67)

Il a été ainsi déterminé que le volume de l'oedème péri-lésionnel, le volume tumoral non- et réhaussé au gadolinium, étaient plus grands chez les courts survivants que les longs survivants. Avec les progrès des séquences d'acquisition et d'analyse de l'IRM, notamment les IRM dynamiques de contraste de sensibilité magnétique (DSC-IRM), les modèles analytiques de l'envahissement et de la prolifération gliale chez les patients GBM se sont développés et affinés (68–70) (figure 3).

11. Facteurs pronostics moléculaires des GBMs

De nombreuses altérations moléculaires ont été étudiées pour établir leur éventuel rôle pronostique ou prédictif. Les deux marqueurs les plus importants dans ce contexte sont l'hyperméthylation du promoteur du gène du MGMT (O6-méthylguanine-DNA méthyltransférase) et les mutations IDH1/2.

11.1 MGMT

Le gène O6-méthylguanine-DNA méthyltransférase (*MGMT*) situé en 10q26, code pour la protéine de réparation MGMT, encore appelée O6-alkylguanine-DNA alkyltransférase (AGT). Cette enzyme a pour fonction de surveiller l'ADN en éliminant les groupements alkyls trouvés en position O6 sur les guanines et, dans une moindre mesure, ceux situés en position O4 sur les thymines (15,71,72).

Différentes équipes se sont intéressées à la MGMT comme facteur prédictif potentiel de réponse aux agents alkylants, drogues fréquemment utilisées dans le traitement du GBM (73). De nombreuses études ont maintenant montré l'intérêt de ce marqueur pour prévoir la réponse des patients atteints d'un GBM traités en première intention par l'association de témozolomide (TMZ) et d'une radiothérapie (RT)(74,75). Chez les patients porteurs de GBM avec un promoteur MGMT méthylé sous traitement combiné radiothérapie et témozolamide la survie moyenne observée est de 21,7 mois vs 12,7 mois pour les patients sans méthylation du promoteur MGMT (51,76). La méthylation du promoteur du gène *MGMT*, méthode fréquemment utilisée pour déterminer le statut MGMT, aurait de plus un intérêt pronostique dans les gliomes de haut grade, qui ne serait en aucun cas lié à la réponse aux agents alkylants, et qui pourrait être le reflet d'un phénotype moléculaire particulier. Ainsi les patients porteurs d'un GBM avec peu d'expression de MGMT ont un meilleur pronostic que celles dont le GBM contient plus de MGMT(77). Les GBM produisant moins de MGMT ont une meilleure survie à la suite d'une récurrence de GBM traité par une association de chirurgie et de chimiothérapie à base de carmustine (BiCNU, BCNU) (78–80). Plus récemment certains défendent des mécanismes semblables au niveau du promoteur MGMT pour les oligodendrogliomes anaplasiques (81,82).

11.2 IDH1/2

11.2.1 IDH physiologique

L'isocitrate déshydrogénase (IDH) est une enzyme oxydo-réductase présente dans toutes les cellules humaines (figure 4), avec une K_M de $2,6 \mu M$. L'IDH est composé de 425 acides aminés organisés en 3 sous-unités (83), réglementé allostérique, et nécessitant un ion Mg^{2+} ou Mn^{2+} pour son fonctionnement catalytique. Chez l'homme, cinq gènes codent pour trois isoformes de IDH. Ces enzymes se distinguent par leur cofacteur NADP ou NAD (84)

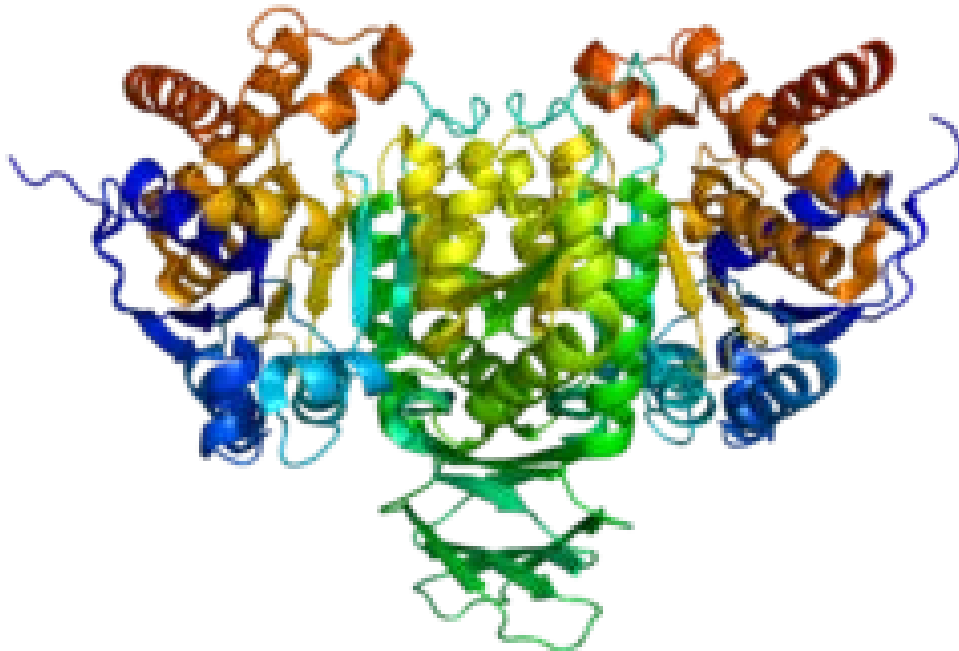


Figure 4: Structure IV^{aire} d'IDH

- IDH1 (chromosome 2q33.3) et IDH2 (chromosome 15q26.1) ont besoin du cofacteur NADP⁺. Ce sont des homodimères de structure très proche, chacun avec deux sites actifs identiques par homodimère (figure 5).

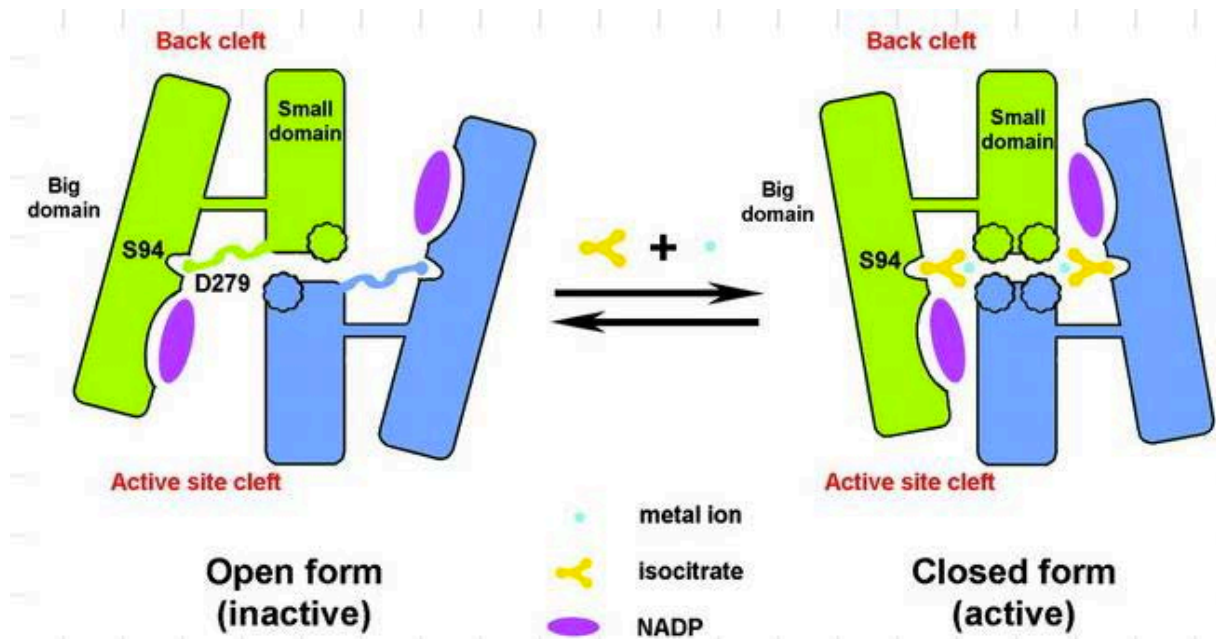


Figure 5: Homodimère IDH avec 2 sites actifs, conformation régulatoire (85)

Elles catalysent les réactions réversibles dans le cycle de l'acide tricarboxylique (TCA) (85). IDH1 se trouve dans le cytoplasme et les peroxysomes; il est fortement exprimé dans le foie et modérément exprimée dans d'autres tissus. IDH2 est exclusivement localisée dans la mitochondrie et fortement exprimé dans le cœur, les muscles, les lymphocytes activés et à un niveau moins élevé dans d'autres tissus (68).

- IDH3 est une enzyme NAD⁺ dépendante hétérotétramère composé de deux sous-unités alpha, qui contiennent les deux sites actifs, avec deux sous-unités régulatrices, bêta et gamma (sous-unité alpha chromosome 15q25.1-q25.2; sous-unité bêta chromosome 20p13; la sous-unité gamma chromosome Xq28). IDH3 est également localisée dans les mitochondries et joue un rôle central dans le cycle de Krebs. La réaction catalysée par IDH3 est irréversible (86).

11.2.2 Fonction d'IDH

Les enzymes IDH sont des enzymes du cycle de Krebs catalysant la conversion de l'isocitrate en α -cétoglutarate (α KG). α KG est co-substrat d'un certain nombre d'enzymes. L' α KG est le substrat notamment d'une enzyme, le HIF-prolyl hydroxylase (HIF-Phd) qui induit l'hydroxylation et la dégradation du facteur inductible par l'hypoxie 1 (HIF-1 α) par la protéine de von Hippel Lindau (VHL) (87). L' α KG est un co-substrat très important pour les enzymes dioxygénases qui favorisent la déméthylation de l'ADN et des protéines histones, et donnent lieu à la dégradation de HIF-1 dans des conditions non anoxiques (88).

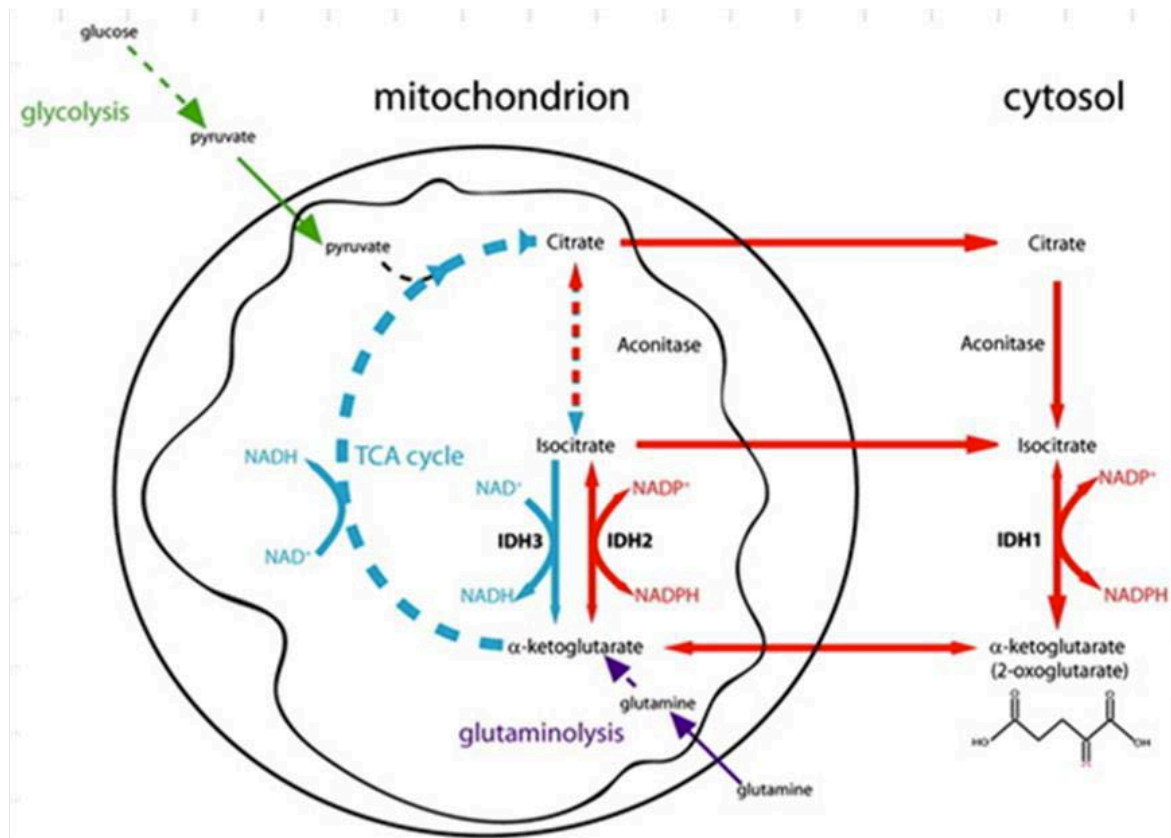


Figure 6: Réactions métaboliques catalysées par des enzymes de la famille IDH (89)

Plus spécifiquement, IDH1 catalyse la réaction de décarboxylation oxydative dans le cytosol et les peroxysomes avec la production du NADPH (figure 6). IDH1 est également impliqué dans la synthèse des lipides et du cholestérol en fournissant NADP sous forme réduite (90). NADPH peut aussi protéger le statut réduit du glutathion (91). Les isoformes IDH2 et IDH3 catalysent quant à eux une étape dans

le cycle de l'acide tricarboxylique (TCA), et leur permet donc de jouer un rôle central dans la production d'énergie aérobie, comme la respiration oxydative, et la transduction de signal (86).

Plus généralement les IDHs sont un grand fournisseur de NADPH, qui est essentielle pour la réduction du glutathion en glutathion réductase et le système antioxydant thiorédoxine, qui protège à la fois de cellules contre les dommages oxydatifs des lipides, des protéines et de l'ADN (figure 7) (92,93).

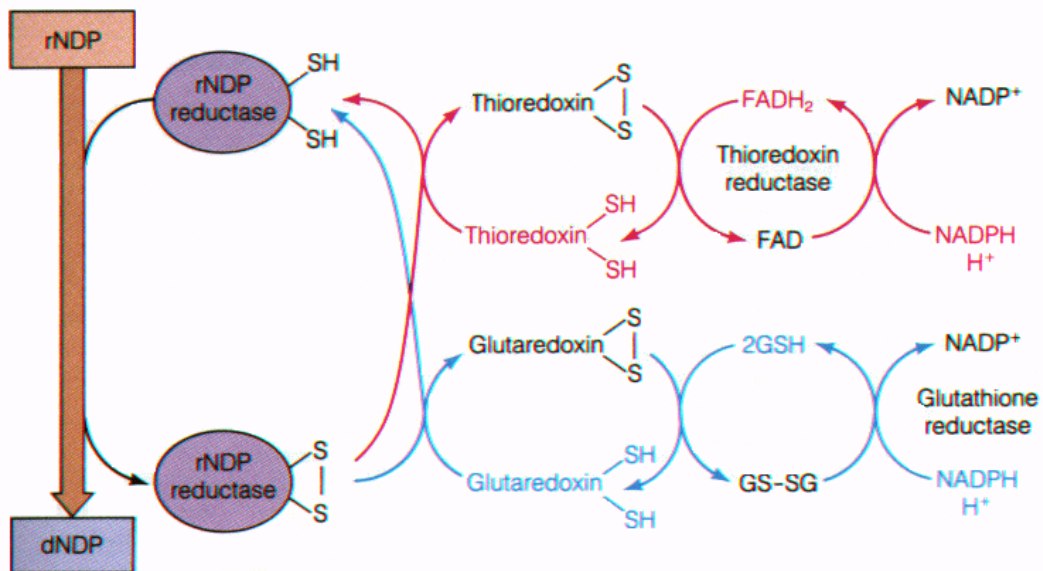


Figure 7: Rôle du NADPH pour la réduction de glutathion et du système antioxydant thiorédoxine

11.2.3 Implication des mutations IDH dans le GBM

Les mutations IDH correspondent essentiellement à des mutations hétérozygotes faux-sens affectant le site catalytique de ces enzymes. Historiquement c'est en 2008, avec le séquençage génomique à haut débit, dans une série de 22 GBM qu'à été révélé pour la première fois l'existence de mutations somatiques du gène IDH1, localisé sur le chromosome 2 (94). Dans plus de 90% des cas, il s'agit de mutations ponctuelles hétérozygotes de type substitution conduisant au changement d'un résidu arginine en histidine au niveau du codon 132, d'ou l'appellation RT132H (95)

(Figure 8). Depuis il a été montré qu'il existait 5 autres mutations affectant le codon 132 et conduisant le remplacement de l'arginine par d'autres acides aminés (96–101).

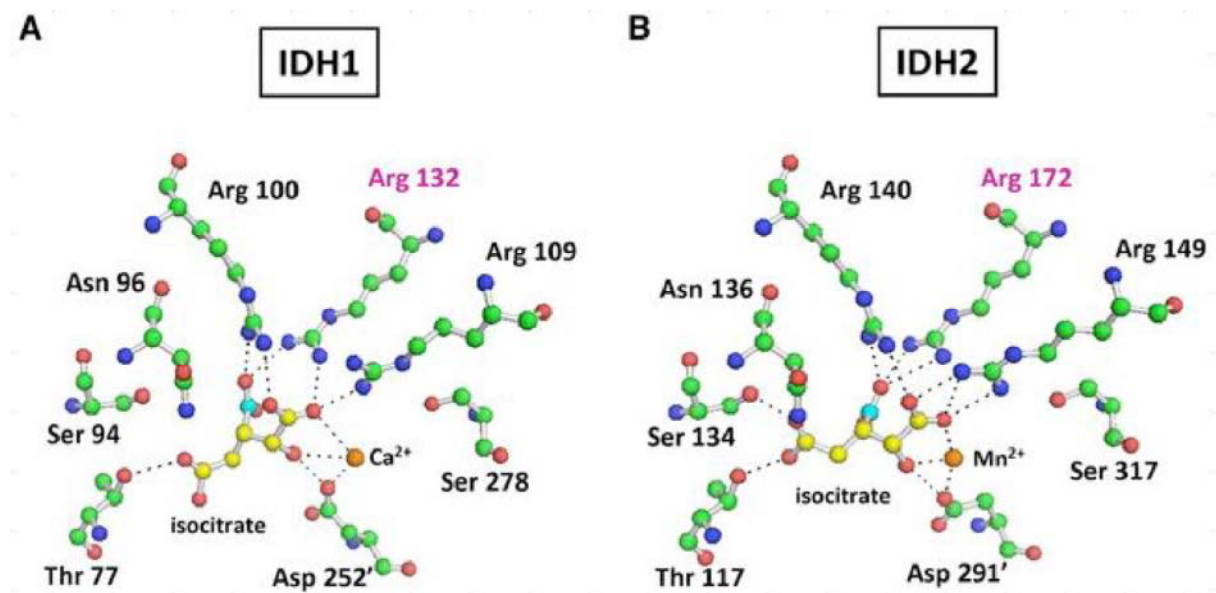


Figure 8: Mutations affectants IDH1 et IDH2 (102)

Ces mutations hétérozygotes altèrent l'affinité de l'enzyme pour le complexe substrat isocitrate- Mg^{2+} et donc l'activité enzymatique. De plus, ces mutations modifient l'activité des enzymes IDH en induisant la production « néomorphique » d'un métabolite, le 2-hydroxyglutarate (2HG) produit à partir de l' α KG (103,104). Ce néo-métabolite, le 2HG a des effets dramatiques sur la cellule gliale. En effet, de part sa similitude structurale proche de l' α KG, l'HG par inhibition compétitive inhibe la HIF-prolyl hydroxylase (HIF-Phd) augmentant de ce fait la demi-vie du HIF-1 α (88,105). Néanmoins, les mécanismes physiopathologiques des mutations IDH1/2 associées à la réponse HIF-1 α /stress oxydant et ses conséquences ne sont encore pas totalement établis.

En effet, l'accumulation du 2HG dans les cellules porteuses d'une mutation IDH inhibe l'activité des di-oxygénases, notamment celles impliquées dans le contrôle épigénétique de l'expression de gènes régulateurs de la familles des 5-methylcytosine hydroxylases TET et des histones déméthylases. Les cellules porteuses de mutations IDH présentent donc une hyper-méthylation du génome et

un profil aberrant de méthylation des histones, influant sur la transcription (88,106–108). La neurotoxicité du glutamate joue un rôle important dans la pathogenèse de nombreuses maladies dégénératives neurologiques (109). Ainsi, de manière moins investiguée, il a également été montré que l'homologie structurale entre le D-2HG et le glutamate pourrait conduire à une toxicité directe supplémentaire par activation du récepteur neuronale du glutamate (N-méthyl-D-aspartique-récepteur de NMDA) dans les neurones (110).

11.2.4 IDH et les longs survivants

La définition d'un long survivant n'est pas la même selon les équipes et les travaux. Même si certains auteurs défendent une définition du long survivant GBM avec une survie > 2,5 années (111), la définition classiquement admise mais non consensuelle du GBM long-survivant est une survie > 3 ans. En dépit du pronostic effroyable des GBMs, on trouve selon les auteurs et les travaux 3 à 5% de longs survivants dans les séries (112–114). Plus récemment apparus et encore isolés, on définit également les très longs-survivants GBM comme les patients avec une survie > 5 ans (115).

Comme nous l'avons évoqué précédemment des mutations dans les gènes de l'isocitrate déshydrogénase isoforme 1 (IDH1) ou 2 (IDH2) ont été fréquemment identifiées dans les GBMs (116). Les mutations de IDH1 et IDH2 sont limitées à l'exon 4, au niveau du codon 132 pour IDH1 et au niveau du codon 172 pour IDH2. Depuis déjà plusieurs années, beaucoup ont évoqué le rôle prédictif des mutations d'IDH1 et IDH2 sur la survie des patients atteint d'un GBM (98,116). L'équipe de Weller et al. dans une série allemande de GBMs avait isolé 69 patients GBM > 3 ans dont 33 > 5 ans de survie. Ils ont déterminés que pour les patients > 3 ans le statut IDHm n'était pas associé à une survie plus longue. Par contre pour les GBMs > 5 ans de survie, IDHm était présent significativement (117,118). Inspiré de ce travail, une étude récente témoigne d'une forte proportion de GBM IDHm parmi les longs survivants (34% contre 4,3% chez les témoins) défini par un taux de survie > 3 ans (117). Au sein d'une série tirée de la cohorte du réseau allemand du GBM, Wick et al. ont montré que la méthylation MGMT était un bon facteur prédictif de réponse au traitement par la chimiothérapie chez les GBMs IDH non mutés, mais pas dans la population GBM IDHm (119).

A contre sens, une étude new yorkaise très récente a affirmé que des longs-survivants défini par une survie > 4 ans, ne sont pas IDH-mutés (120).

12. Traitement des GBMs

Le traitement actuel des GBMs nouvellement diagnostiqués repose sur la chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie. Même lors d'une résection dite « complète » au niveau de l'imagerie, celle-ci est associée à une radiochimiothérapie concomitante suivie d'une chimiothérapie adjuvante au Témazolomide (Temodal®).

12.1 Chirurgie et biopsie stéréotaxique

La résection totale ou maximale de la tumeur sans nuire aux fonctions supérieures et/ ou fonctionnelles du patient est toujours recherchée. Devant le caractère infiltrant de ces lésions diffuses de haut grade, la qualité de la résection est guidée par l'oeil du chirurgien en per-opératoire aidé par l'imagerie pré/per et post opératoire. Il est clairement établi maintenant que la qualité de l'exérèse est un facteur pronostic pour la survie du patient (121–124). Ainsi dans leur fameuse cohorte de GBMs, Gorlia et Stupp ont montrés en 2005 que la qualité de la résection constituait un facteur pronostique indiscutable avec une médiane de survie augmentée de 5,2 mois par rapport à une exérèse partielle et augmentée de 9,4 mois par rapport à une simple biopsie stéréotaxique (125). La qualité de l'exérèse dépend de manière certaine de la localisation de la lésion, du chirurgien et du terrain du patient entre autre. Lorsque la localisation, l'âge ou l'état général du patient rend impossible la chirurgie, une simple biopsie stéréotaxique est réalisée afin d'obtenir au moins un diagnostic anatomopathologique certain. En effet certaines lésions comme les abcès peuvent très facilement mimer un GBM.

12.2 Radiothérapie

Le traitement par rayonnements ionisants suite à l'exérèse tumorale permet une augmentation de la survie des patients qui passe de 3-4 mois à 7-12 mois (50). Les premiers bénéfices apportés par la radiothérapie dans le traitement des GBM ont été établi il y a plus de 30 ans (126). Il a été montré que le traitement des GBMs par

radiothérapie vs traitement palliatif seul permettait chez les patients > 70 ans un gain de 12 semaines en terme de survie (127). Le fractionnement classique de référence est une radiothérapie conformationnelle à la dose totale de 60 Gy en 6 semaines délivrée en 5 jours par semaine à raison de 30-35 fractions de 1.8 à 2 Gy (50). Différentes méthodes ont été testées afin d'augmenter la quantité d'irradiation au niveau du site tumoral. Ainsi la radiothérapie hyper-fractionnée permet de délivrer des doses totales d'irradiation élevées par des doses réduites réitérées plusieurs fois par jour (128). Cette dernière n'a pas montré son efficacité par rapport au schéma classique (129). Depuis une dizaine d'années, la mise au point de la technique de radiothérapie conformationnelle permet de réduire l'irradiation des tissus sains tout en autorisant de bons critères d'homogénéité requis à l'intérieur du volume cible (130).

Plus récemment les techniques de radiothérapie stéréotaxique, qui soumettent le lit tumoral à une dose unique entre 15 et 20 Gy n'a pas montré de supériorité sur les taux de récurrences.

12.3 Chimiothérapie

Les progrès de la chimiothérapie ont soulevé, dès le début des années 1990, la question de son intérêt dans le traitement des GBM. Le traitement de référence des GBM associe l'exérèse chirurgicale et la radiothérapie. La chimiothérapie se fait après la chirurgie, en complément de la radiothérapie ou seule, mais son efficacité reste limitée devant la difficulté de franchissement de la barrière hématoencéphalique.

Le manque d'effet significatif a justifié différentes stratégies pour l'administration de la chimiothérapie. Celle-ci peut être réalisée immédiatement après la chirurgie et la radiothérapie en adjuvante, ou alors avant la radiothérapie en néo-adjuvante. Jusqu'à très récemment les agents les plus utilisés en conditions adjuvantes étaient les nitroso-urées BCNU et PCV (CCNU procarbazine-vincristine). Les médianes de survie des patients n'étaient pas augmentées de manière significative ou bien seulement dans des proportions modestes (131,132).

Le grand progrès de ces dernières années dans la prise en charge thérapeutique des GBM a été réalisé en 2005 avec un essai clinique à base de témozolomide (Temodal®), agent alkylant de dernière génération, associé à une radiothérapie concomitante. Le Temodal® a une biodisponibilité proche de 100%. Son absorption est très rapide au niveau gastro-intestinal et il atteint une concentration élevée dans le LCR. Cet essai multicentrique de phase III a confirmé l'efficacité de l'association témozolomide et radiothérapie. Stupp et al. ont inclus 573 patients, âgés de 18 à 70 ans avec un diagnostic de GBM. Ils ont été randomisés après le traitement chirurgical en deux groupes. Les patients du premier groupe ont reçu une radiothérapie seule à raison de 60 grays en 30 fractions, ceux du second la même radiothérapie concomitamment à du témozolomide à 75 mg/m²/jour, suivie d'une interruption d'un mois puis de 6 cycles de témozolomide à 150-200 mg/m²/jour à raison de 5 jours par mois. Cette étude princeps a montré que quel que soit l'âge, le taux de survie à 2 ans est plus élevé dans le groupe combinant les deux traitements, 26,5 versus 10,4%. La survie médiane est de 14,6 versus 12,1 mois pour une même qualité de vie (50,51). Certains agents de chimiothérapie plus modestes et plus anciens comme la carmustine (BCNU) ou encore une association de procarbazine, vincristine et de lomustine (CCNU) sont parfois utilisés en association au sein de protocole pour les GBM récidivants (133–135).

12.4 Thérapies ciblées

On assiste à l'émergence de nouvelles stratégies anticancéreuses dans les GBM. Le déchiffrement et la compréhension des voies de signalisation et de transduction impliquées dans les processus oncogènes des GBM ont permis d'identifier de nouvelles cibles potentielles. L'importance de la néo-angiogénèse tumorale et la forte expression intra-tumorale du VEGF qui caractérisent les GBM justifient tout particulièrement les approches thérapeutiques du blocage de la voie du VEGF. Les premiers travaux de Kim et al. en 1993 chez un modèle murin de GBM abondaient en ce sens (136). Dans un premier temps recommandé pour les GBM en récurrence, les anti-VEGF, à l'instar des travaux de Lai et al. sont actuellement essayés en thérapies concomitantes avec une radio-chimiothérapie dans les GBM en primo diagnostic avec des résultats significatifs sur la survie sans progression (137–139).

Toutefois la complexité de ces voies de régulation, de prolifération ainsi que les mécanismes d'envahissement tumoral rend l'identification des cibles thérapeutiques longue et difficile. Actuellement plusieurs acteurs comme les protéines EGFR, mTOR, PDGF, VEGF, PKC, intégrines $\alpha V\beta 3$ et $\alpha V\beta 5$ ont été identifiés et sont sujet à différents essais cliniques (140–142). Plus récemment le récepteur de EGFR (R-EGFR) a été identifié comme une des nouvelles voies thérapeutiques prometteuses. C'est à partir des travaux de Bredel et al. au sein de leur série de 790 GBMs qu'a été identifié cette voie (143).

13. Diffusion et prolifération gliale

Le "degré de malignité" gliale est caractérisé biologiquement par deux paramètres: le taux de prolifération net et l'envahissement. Ces indices histologiques se mesurent in vitro opératoire au laboratoire avec des techniques avancées (144,145). Malheureusement, il n'y a pas actuellement de méthode de routine pour estimer ces paramètres à partir de l'échantillon histologique. L'indice immunohistochimique Ki67 rend compte du pourcentage de cellules en cycle, mais la détermination du taux de prolifération net exigerait également de connaître la période du cycle cellulaire (146). Pour l'invasion parenchymateuse des cellules GBM, un modèle in vitro a été proposé, mais les données sont difficiles à extrapoler et à interpréter dans la pratique clinique quotidienne (147,148). Par conséquent, on assiste depuis plus de 10 ans dans les différentes équipes qui travaillent sur la pathologie gliale à des efforts considérables pour estimer les paramètres de prolifération et d'envahissement à partir des techniques d'imagerie non invasives telles que l'IRM.

14. Modélisation mathématique

Même si les auteurs prétendent à partir des données de l'imagerie pouvoir déterminer quels patients peuvent présenter un meilleur pronostic, le défi reste la difficulté d'évaluer la pathogénicité de la prolifération et de l'infiltration à partir d'une imagerie IRM initiale. Une question se pose: quelle est la bonne façon de quantifier l'invasivité en séquences IRM?

Pour résoudre ce problème, il y avait eu dans la dernière décennie des efforts considérables pour développer la modélisation biophysique de la croissance des gliomes à partir de l'IRM. L'objectif de cette approche de modélisation était d'estimer, à partir d'IRM longitudinales, les paramètres avec une interprétation biologique et biophysique directe. Parmi les différents modèles, la prolifération de diffusion est le plus populaire, lancé dans les années 90 par le groupe du professeur JD Murray qui a décrit et modélisé la diffusion des cellules tumorales (D), et le taux de prolifération net des cellules tumorales (ρ) (149–152). Le produit ρD contrôle la vitesse à laquelle le front de la tumeur se développe, tandis que le rapport ρ/D contrôle l'étendue de la partie de la tumeur qui ne se voit pas à l'IRM (par exemple les régions où la densité des cellules tumorales est trop faible pour induire un changement de signal IRM) (153–155).

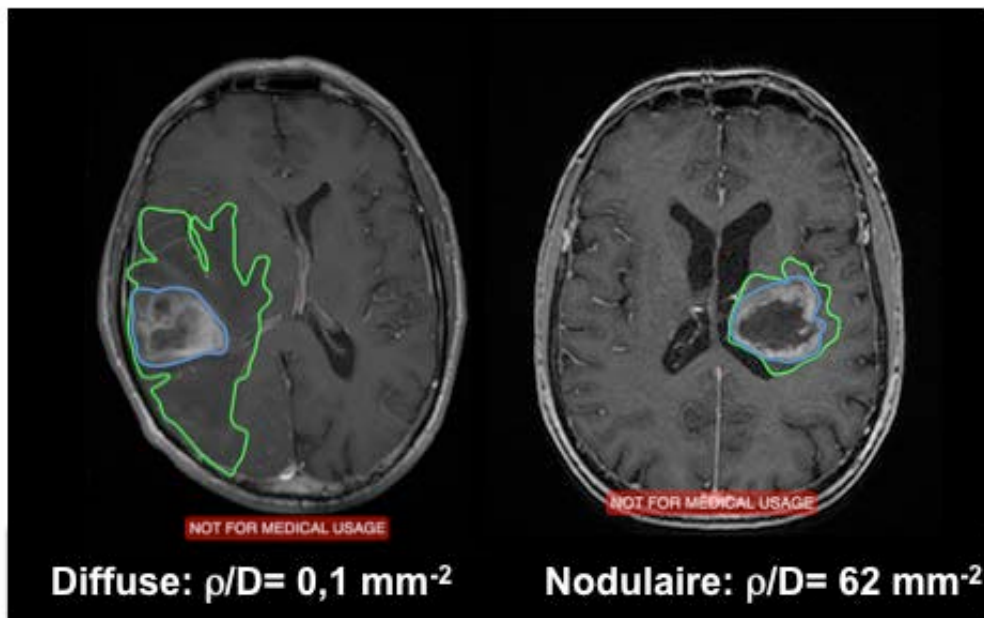


Figure 9: Exemples de tumeurs diffuse (ρ/D bas) et nodulaire (ρ/D élevé)

Par conséquent, les tumeurs à haute valeur de ρ/D sont dites nodulaires, alors que les tumeurs à faible valeur de ρ/D sont dites diffuses (figure 9). Ce modèle a révélé un certain succès et il a permis de montrer par exemple que ρ/D avait une valeur pronostique dans une série de 32 patients GBMs (55,57) (figure 10). Grâce à la même modélisation mathématique, Swanson et al., puis Wang et al. dans deux petites séries successives de patients GBM, déterminent que les paramètres tumoraux d'agressivité et d'invasion gliale sont significativement associés avec le

prognostic du patient associated with prognosis. ρ/D (55,156). Ils en concluent que ρ/D pourrait guider les indications opératoires.

De manière identique mais de constat opposé, il a été suggéré pour la thérapie des gliomes de bas grade que la chirurgie n'influençait pas la cinétique et que les croissance gliale étaient similaires avant et après la chirurgie (157). En outre, il semble être prématuré de conclure que la modélisation mathématique des paramètres ρ , D , ρD , et ρ/D à partir de l'imagerie IRM puisse guider la résection.

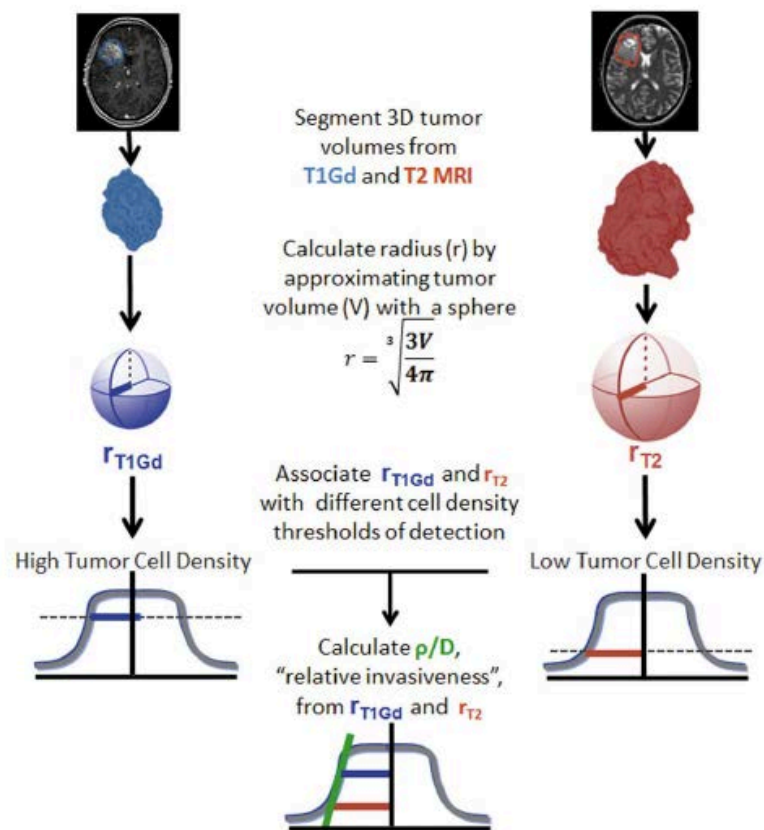


Figure 10: Calcul de l'infiltration/invasion ρ/D d'une tumeur gliale à partir des séquences IRMs T1gado et T2flair initiales (67)

Plus récemment, Baldock et al. dans leurs travaux ont quantifié l'envahissement glial à l'aide de la modélisation mathématique avec une IRM pré-opératoire au sein d'une grande série de 220 patients atteints d'un glioblastome. Ils ont conclu que les GBM à faible invasivité (valeurs élevées de ρ/D) étaient les plus susceptibles de bénéficier d'une exérèse totale devant une remarquable amélioration de 80% de la survie par rapport aux patients bénéficiant d'une exérèse partielle ou d'une biopsie.

Au contraire, la survie des patients avec de faibles valeurs de p/D n'était pas différente selon le type de chirurgie.

15. Atlas cérébral : support de la simulation de croissance tumorale

L'Atlas cérébral est une collecte d'informations anatomiques de référence qui a été construit pour représenter l'entité cérébrale, sa structure, son fonctionnement et son organisation. Cet atlas est utilisé pour tous les travaux de simulation des mécanismes de diffusion et de modélisation de la croissance tumorale.

Ces atlas du cerveau créent une référence normalisée du système dans lequel des cartes cérébrales individuelles peuvent être transformés en un système de coordonnées. Très tôt, Talairach proposait l'un des systèmes de référence pionniers, qui devint plus tard la référence standard dans la cartographie du cerveau (158). Cependant, cet atlas de Talairach avait été créé à partir d'un sujet unique et les coupes anatomiques variaient dans la finesse et la standardisation. Dans les années 90, le « Surgical Planning Laboratory » et l'Institut Neurologique de Montréal (INM) ont contribué à la création d'un atlas-sujet cérébral amélioré avec une meilleure résolution anatomique et de coupes (159,160).

Puisqu'en dépit des nombreux travaux réalisés, les atlas-sujet n'étaient pas représentatifs de la population et introduisaient des biais lors des modélisations de croissance tumorale, des atlas de population ont été élaborées à partir de groupe de patients. L'INM et le Laboratoire de Neuro-Imagerie de l'Université Californienne de Los Angeles (UCLA) ont développé un atlas structurel de 305 sujets (hommes et femmes d'âge moyen de 23 ans) (161). Toutes les images ont dès lors été enregistrées dans l'espace de Talairach, les intensités d'image normalisées, un étalement des voxels des intensités et des volumes ont été effectués. Concomitamment de meilleurs atlas structuraux avec 152 et 452 sujets ont été affinés (162,163). Ces atlas probabilistes approchent plus précisément la répartition spatiale des tissus cérébraux par la segmentation de la substance blanche, de la matière grise, ainsi que le LCR en moyennant les données anatomiques des différents sujets. Après plusieurs décennies de travail et d'amélioration, ces atlas reposent *in fine* sur une segmentation cérébrale selon 3 « masques » probabilistes anatomiques selon 1) la substance blanche, 2) la matière grise, et 3) les régions de

LCR. La modélisation de la croissance tumorale repose ainsi sur ce référentiel à 3 masques.

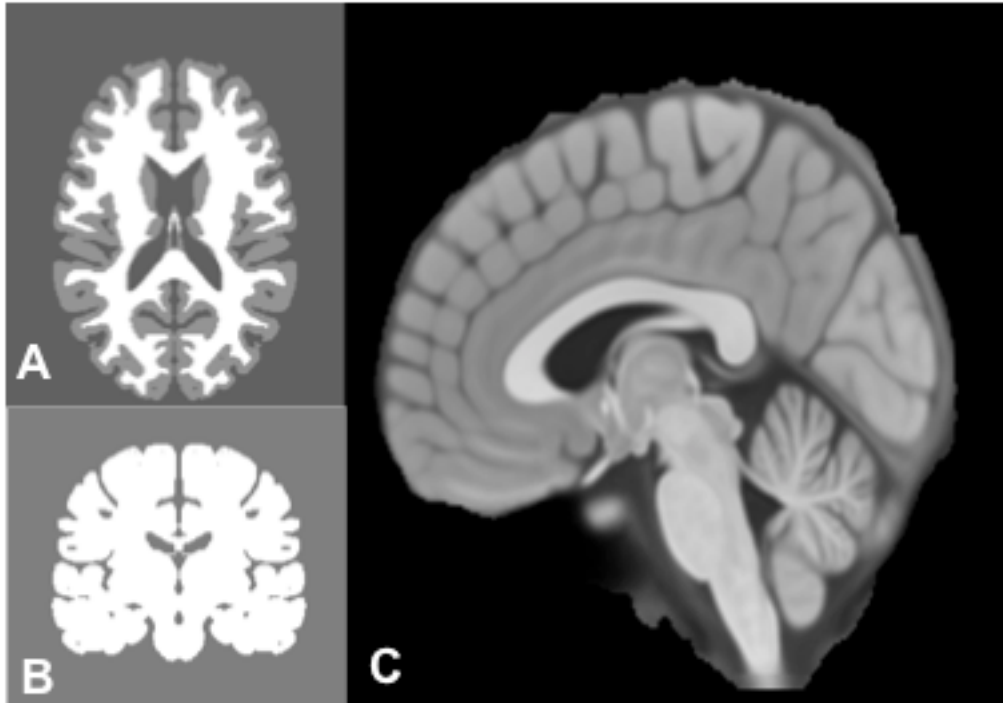


Figure 11: *Atlas cérébral INM: masque substance blanche et grise (A et C), masque LCR (B)*

Alors que les premiers modèles d'atlas dans les années 90 ont été construits à partir d'un 2D-CT scanner (149,150) décrivant juste la surface du cerveau et les ventricules, les travaux suivants ont été basés sur des atlas 3D-IRM avec séquence de flux (164) ou des séquences DTI-IRM (165–167). Lorsqu'un patient présente donc une lésion gliale expansive, les simulations tumorales de croissance sont ainsi effectuées soit à partir de l'IRM du patient sur lequel les connaissances anatomiques des atlas peuvent être adaptées (168), soit dans une référence espace-général de l'atlas de l'INM - sur lequel toutes les images du patient sont enregistrés (162).

Idéalement pour stimuler la croissance tumorale il faudrait pouvoir avoir une IRM cérébrale du patient lui-même avant l'apparition du processus tumorale. En effet, Lors d'un processus expansif tumorale intra-axial, la destruction du parenchyme et notamment de la substance blanche entraîne le déplacement des repères anatomiques et rend de ce fait difficile la simulation de la croissance tumorale.

C'est pour pallier à ces modifications anatomiques pathologiques que l'on utilise ces Atlas anatomiques.

La base de la segmentation et de la précision des Atlas repose en partie sur les espaces sous arachnoidiens de LCR. En effet, ces espaces de LCR sont d'une importance capitale pour la réalisation des schémas de croissance de gliome, car ils constituent des obstacles anatomiques qui ne peuvent pas être traversés par les cellules tumorales.

Cependant la précision anatomique de ces atlas et notamment de ces espaces de LCR n'a jamais été contrôlé par des experts de l'anatomie cérébrale.

METHODOLOGIE

1. Considérations Ethiques

Ces études ont été approuvées par le comité d'éthique local du Pôle neurosciences de l'Hôpital Lariboisière. Le consentement écrit a été obtenu et consigné dans le dossier médical de chaque patient.

2. Patients et données cliniques

Nous avons étudié consécutivement et rétrospectivement tous les patients avec un diagnostic de GBM intracrânien à l'hôpital Lariboisière, entre janvier 2005 et mai 2012. Nous avons constitué une série initiale de 321 patients sélectionnés selon les critères de diagnostic histopathologique de GBM primaire et un âge > 18 ans. Toutes les tumeurs ont été analysées au centre Lariboisière par le département d'anatomopathologie et ont été classées selon la classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) des tumeurs du système nerveux central (169). Tous ces patients avaient en préthérapeutique une imagerie IRM en séquence T2-FLAIR et T1-gado. La qualité de la résection a été définie comme une résection totale, une résection partielle, ou une biopsie stéréotaxique à partir du compte rendu de l'IRM postopératoire de radiologie (N = 234).

Pour l'étude des longs survivants, l'inclusion des patients s'est arrêtée en 2010, permettant d'avoir un recul nécessaire de 3 ans et ainsi d'identifier les longs survivants. Ainsi de 2005 à 2010, 213 patients répondants aux mêmes critères de sélections définis précédemment ont pu être étudiés. Les renseignements démographiques et les données médicales (régime de traitement, grade de la tumeur, localisation, visites de suivi) ont été recueillis à l'aide des dossiers et IRM des patients. L'étendue de la chirurgie a été évaluée grâce à l'IRM post-opératoire, et classée comme totale (suppression complète de la prise de contraste en T1-gado) ou partielle (chaque fois que l'hyper T1-gado persistait en postopératoire). Le statut définitif du patient (mort ou vivant) a été déterminé sur la base du registre de l'état civil, en consultant les centres de soins palliatifs ou en contactant les médecins généralistes, la famille ou les proches.

3. Longs survivants

Nous avons identifiés 17 longs survivants définis par une survie supérieure à 3 ans à partir de l'IRM initiale. Pour ces 17 longs survivants, le diagnostic de GBM a été confirmé en anathomopathologies par lecture direct et marquage immunohistochimique.

4. Marquage IDH1 par immunohistochimie

Les prélèvements chirurgicaux ont été fixés dans le zinc-formol, inclus en paraffine, systématiquement colorées par hématoxyline-éosine-safran (HES) et le trichrome de Masson. Des analyses immunohistochimiques ont été réalisées sur des échantillons en paraffine intégrés selon la méthode complexe avidine-biotine marqué avec la DAB comme chromogène, en utilisant un anticorps monoclonal de souris dirigé contre IDH1 (R132H / DIA-H09) (Dianova, Hambourg, Allemagne), dilué au 1/70, sur un Ventana Benchmark plateforme BX. Tous les marquages IDH1 par immunohistochimie ont été effectués et répétés par deux experts différents.

5. La détection de mutations IDH1 et IDH2

Des blocs de tumeur ont été examinés et sélectionnés par le pathologiste afin d'avoir des concentrations cellulaires tumorales > à 40%. L'ADN a été extraite à partir de lames de tumeur cérébrale primaire de 10 µm, fixées au formol et incluses en paraffine en utilisant un protocole basé sur colonne d'affinité (kit QIAmp ADN tissulaire, Qiagen, Courtaboeuf, France) selon les instructions du fabricant.

La quantité d'ADN isolé a été évaluée en utilisant un spectrophotomètre NanoDrop 1000 (ThermoScientific, France). Un fragment d'exon 4 de IDH1 couvrant la mutation R132 de IDH1, et l'ensemble de l'exon 4 d'IDH2 ont été amplifiés à partir d'ADN génomique par réaction en chaîne par polymérase (PCR).

Les mutations ont été criblées par la technique de courbes de fusion à haute résolution, suivie par séquençage direct. A 122 paires de bases (bp) de longueur des fragments couvrant IDH1, le codon 113 à 138 a été amplifié en utilisant les amorces précédemment publiées par Loussouarn (170). Un fragment de la longueur des fragments de 290 pb couvrant la totalité de IDH2 exon 4 a été amplifié en utilisant les amorces précédemment publiées par Frenel et al. (171). Les courbes de fusion à haute résolution ont été effectuées sur un Cycler 480 Light (Roche, Diagnostics,

Meylan, France). Les courbes de fusion fluorescentes ont été évaluées en utilisant la lumière Cycler 480 version logicielle 1.5.0 SP4 (Roche). Après les courbes de fusion à haute résolution, les échantillons et les séquences bidirectionnelles ont été purifiés en utilisant les mêmes amorces et le kit de séquençage Big Dye Terminator v1.1 (Applied Biosystems, par Life Technologies). Toutes les séquences ont été analysées pour les mutations somatiques en utilisant le logiciel de seqscape (Applied Biosystems).

6. Détermination du statut de méthylation du promoteur MGMT

La détermination a pu être réalisée grâce à l'équipe du Dr Véronique Quillien du laboratoire d'anatomopathologie de Rennes. Le pyroséquençage de cinq sites CpG du promoteur MGMT a été réalisée avec le kit de MGMT PyroMark Q24 CpG (réf. 970032) (Qiagen, France) sur un système PyroMarkQ24 (Qiagen), selon les recommandations du fabricant. Lorsque le pourcentage de méthylation de MGMT (à savoir la valeur moyenne des cinq sites CpG testés) était supérieure à 8%, l'échantillon a été classé comme méthylé (172,173).

7. Modélisation Mathématique de la migration et de la prolifération

Mathématiquement, l'équation d'évolution pour les gliomes non traités (152) peut être raisonnablement quantifiée par une équation différentielle partielle unique

$\frac{\partial c}{\partial t} = \nabla \cdot j + \rho c \left(1 - \frac{c}{K}\right)$ dans laquelle $c(x,t)$ désigne la concentration des cellules

tumorales à l'emplacement x et le temps t , r désigne le taux de prolifération net, K désigne le tissu capacité de charge, et ∇ définit l'opérateur de gradient spatial. Dans l'hypothèse de la diffusion définie par le gradient de Fick $j = D\nabla c$, le modèle peut être

écrit $\frac{\partial c}{\partial t} = \nabla \cdot (D\nabla c) + \rho c \left(1 - \frac{c}{K}\right)$, où D est le coefficient de diffusion représentant la

mobilité active des cellules de gliome. Après une période de régime transitoire, en partant d'une situation dans laquelle la concentration de cellules est positive dans une petite région et de croissance vers l'extérieur, le profil de la densité des cellules tumorales progresse selon un front qui grandit à une vitesse constante $2\sqrt{\rho D}$. Le front de croissance a une forme stable et une largeur constante régi par le rapport

$\frac{D}{\rho}$ (152). En particulier, la distance entre les deux surfaces S_1 et S_2 où les concentrations cellulaires sont respectivement 80% et 16%, la capacité de charge qui est constante, égale à $6.106\sqrt{\frac{D}{\rho}}$. Supposant que les limites des anomalies de signal en séquences IRM T1 injectées de gadolinium (T1Gd) et en séquence IRM T2 FLAIR sont des surfaces S_1 et S_2 respectivement (156), qui est débattu (174), le rapport peut être mesuré pour chaque patient à partir de l'IRM préopératoire selon la méthode suivante (67). L'approximation de S_1 et S_2 comme des sphères de rayons r_1 et r_2 et de volume $V_i = \frac{4}{3}\pi r_i^3$, $\frac{D}{\rho}$ est égale à $\frac{(r_2 - r_1)^2}{6.106}$, donc $\frac{\rho}{D} = \left(\frac{4}{3}\pi\right)^{2/3} \frac{6.106}{V_{T_2}^{1/3} - V_{T_1}^{1/3}}$ où V_{T_2} et V_{T_1} étaient successivement les volumes de la zone hypersignal en IRM T2-Flair et la zone en hypersignal IRM T1-Gadolinium

8. Segmentation IRM

Pour chaque patient, le rapport ρ/D du modèle de cinétique de croissance de la tumeur a été calculé à partir de l'IRM pré-thérapeutique, comme décrit précédemment, à partir de volumes tumoraux définis sur les séquences T1-gado et T2-Flair par le logiciel OsiriX®

9. Analyses Statistiques

Les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant STATA la version 11 (StataCorp, Texas, USA). Les associations entre les différents groupes de paramètres ou les groupes de patients ont été analysés par le test de Fisher. Le test du chi carré pour la variance dans une population normale a été réalisée pour étudier l'indépendance des paramètres. Le test exact de Fisher a été appliqué lorsque les échantillons étaient trop petits. Enfin, le modèle proportionnel de Cox a été utilisé dans une analyse multivariée. Le sexe, la symptomatologie clinique initiale et l'étendue de la chirurgie étaient apparentés à des variables de catégories, l'âge et le KPS comme des variables continues. Toutes les p-valeurs inférieures à 0,05 ont été considérées comme significantes

TRAVAUX
PERSONNELS

Le premier travail (Annexe 1), s'intitulant « **IDH-Mutation is a weak predictor of long-term survival in glioblastoma patients** » à été réalisé à partir d'une série de 207 patients à qui l'on a diagnostiqué un GBM entre 2005 et 2010 à l'hôpital de Lariboisière. Initialement 274, les patients inclus étaient ceux qui avaient une imagerie diagnostique type IRM, un suivi minimum de 3 mois, ainsi qu'un statut récent (décès ou vivant). Cette série de GBMs réalisée à partir de 2005 est consécutive et uniforme, tous les patients ayant bénéficié du traitement de radio-chimiothérapie selon le protocole Stupp (50).

Le statut de marqueur de bon pronostic d'IDH1 dans les GBM est actuellement débattu pour son utilité, c'est pour cela qu'il nous semblait important au sein de notre série monocentrique de GBMs d'identifier les longs survivants et surtout de compléter l'immunomarquage initialement réalisés en routine à Lariboisière par un screening moléculaire en courbe de fusion. Les recherches moléculaires de la mutation IDH ont pu être réalisés sur les 17 longs survivants et seulement sur 172 courts survivants, dû à un manque de matériel biologique ou une altération des blocs de paraffine pour les plus anciens. La recherche de la méthylation du promoteur de MGMT ne se faisant pas en routine, étant également honéreuse, il nous a été uniquement possible de la rechercher chez les longs survivants.

Outre le statut MGMT et la mutation IDH, il existe d'autres facteurs de meilleur pronostic dans le GBM. En effet, comme nous l'avons évoqué dans l'introduction, l'âge jeune du patient, le KPS sont corrélés à une meilleure survie (125,175). Les traitements, et notamment la qualité de l'exérèse sont connus pour être corrélés à la survie. Recemment grâce à un modèle mathématique, Baldock et al., ont suggérés qu'à partir de l'imagerie IRM de diagnostic d'un GBM, on pouvait selon l'infiltration et la prolifération gliale, déterminer quel patient avait un bénéfice à subir une chirurgie d'exérèse.

C'est à partir de ce constat que nous avons élaboré notre 2ème travail (annexe 2), s'intitulant « **IDH-Mutation is a weak predictor of long-term survival in glioblastoma patients** ». En effet, nous avons au sein de notre série, isolé 234 patients glioblastomes présentant une IRM préopératoire sur laquelle nous avons déterminé les paramètres d'invasivité p/D. L'obtention de la qualité de l'exérèse a été possible grâce à une IRM postopératoire. La présente étude a été entreprise afin de

comparer ces données et de déterminer si dans notre série de 234 patients atteints d'un glioblastome, l'estimation des paramètres d'envahissement à partir de l'IRM préopératoire devait guider l'indication chirurgicale.

Comme vu précédemment, un des éléments les plus important dans l'élaboration d'un atlas de segmentation permettant des simulations de croissance tumorale de qualité, reste la délimitation des espaces de LCR. Ce séquençage est généralement obtenu par un seuillage automatique de l'atlas, sans aucune validation expert de sa précision anatomique. Par exemple, les modèles actuels contiennent des ponts de matière cérébrale non physiologiques entre l'opercule frontal et temporal qui devraient normalement être séparés par les espaces sous-arachnoïdienne du sillon latéral (166). Par conséquent, avec des erreurs comme celle là, lors de simulation la tumeur peut croître virtuellement directement à partir de l'opercule vers le lobe temporal, et réciproquement, ce qui entraîne dans les simulations des croissance irréalistes par rapport à celles rapportés sur le plan clinique (176). Dans le troisième travail intitulé « **Expert-validated CSF segmentation of MNI atlas enhances accuracy of virtual glioma growth patterns** » (Annexe 3), nous avons révisé l'atlas du cerveau de l'INM en redéfinissant la segmentation du LCR. Nous avons ensuite analysé comment ces corrections influençaient la croissance de la tumeur, en comparant des simulations obtenues en utilisant les modèles original et corrigé.

Article 1 : (en annexe 1, page 77)

IDH-Mutation is a weak predictor of long-term survival in glioblastoma patients.

Amelot A, De Cremoux P, Quillien V, Marc Polivka M, Homa Adle-Biassette H, Lehmann-Che J, Françoise L, Carpentier AF, George B, Mandonnet E, Froelich S

Plos One. 2015 Jul 9;10(7):e0130596. doi:10.1371/ journal.pone.0130596.eCollection 2015.

Article II: (en annexe 2, page 91)

Surgical decision making from image-based biophysical modeling of glioblastoma: not ready for primetime.

Amelot A, Deroulers C, Badoual M, Polivka M, Adle-Biassette H, Houdart E, Carpentier A, Froelich S, Mandonnet E.

Article III: (en annexe 3, page 116)

Expert-validated CSF segmentation of MNI atlas enhances accuracy of virtual glioma growth patterns.

Amelot A, Stretton E, Delingette H, Ayache N, Froelich S, Mandonnet E.

J Neurooncol. 2015 Jan;121(2):381-7. doi: 10.1007/s11060-014-1645-5. Epub 2014 Nov 5.

DISCUSSION

En dépit de l'amélioration et des progrès dans le traitement et la prise en charge des GBMs par la radio-chimiothérapie +/- chirurgie, le pronostic reste dramatique, avec une médiane de survie de 9 à 13 mois selon les études. Depuis 2005, avec la systématisation du protocole Stupp, la survie a évolué de manière significative, passant de quelques mois à > 1 an (50). Il est maintenant bien établi que l'association de la chirurgie la plus totale quand elle est possible, conjuguée avec un protocole Stupp reste le meilleur traitement en terme de contrôle de la maladie (177,178).

Même si la survie moyenne à court terme s'est améliorée avec les avancées thérapeutiques, dès les années 1980 on constate au travers de la littérature et dans les séries cliniques une proportion de patients GBM qui présentent des survies > 1,5 ans. De sorte qu'il a été défini une entité de patients GBM appelés « longs survivants » avec des survies entre 1,5 et 5 ans selon les études (177–179).

Plus récemment la définition des longs survivants a semblerait-il été quelque peu redéfinis mais toujours de manière non consensuelle, pour tous patients survivant > 3 ans (180). Ces patients représentent en moyenne entre 2,5-10% des patients GBMs (112,114,181). Selon certaines séries, il existe même dans une proportion < 5%, des patients GBMs identifiés comme très longs survivants avec des survies > 5 ans (182). Au sein de notre première série de 207 GBMs, 8,2% des patients ont survécues > 3 ans, ce qui est en accord avec la littérature internationale (117,118,180).

Même s'il existe de nombreux facteurs chirurgicaux, cliniques et moléculaires identifiés comme favorisant la longue survie, actuellement ils ne suffisent pas encore à expliquer et à prédire quel patient sera un long survivant. Il a clairement été établi que la méthylation du promoteur MGMT était un facteur de meilleur pronostic, car prédictif de la réponse au traitement alkylant comme le témozolomide (76,81,183,184). Tous les longs survivants au sein de différentes séries internationales ont bénéficié du protocole Stupp. En ce sens, nous identifions et illustrons notre premier travail avec un patient atteint d'un volumineux GBM fronto-calleux, âgé > 70 ans, KPS à 60, MGMT muté, IDH1 non muté, qui avec un simple protocole de radio-chimiothérapie et du témozolomide en entretien a pu être long survivant > 4 ans. Dans notre série nous avons identifié 62,5% de méthylation du promoteur MGMT au sein des longs survivants, ce qui est en concordance avec les données de la littérature allant de 60 (117), 71 (185), et 77,8% (186). Le taux moyen

de méthylation du promoteur de MGMT chez les GBMs non long-survivants est de 45% en moyenne (186). Au final la seule présence de cette méthylation ne peut expliquer ou permettre d'identifier les patients qui seront longs survivants (LS).

Depuis plus de 10 ans, la mutation IDH1/2 a été évoquée pour tenter d'expliquer les différences entre longs et courts survivants. Pour le statut et le rôle joués par la mutation IDH1, les constats ne sont pas si clairs. Certaines séries identifient significativement la présence d'IDH1/2 mutés chez les longs survivants (114,117,187,188), quand d'autres (120), à l'instar de notre série (5,9% IDH1 mutés chez LS) (189) qualifient de plus complexe le rôle de marqueur joué par IDH1/2. Initialement identifié comme facteurs de bons pronostics, il devient plus nuancé à ce jour dans les glioblastomes. Certains évoquent IDH1 comme marqueur de bon pronostic pour identifier les patients non courts survivants mais non nécessaire et non significativement retrouvés chez les survivants > 4 ans (185). Ainsi Molenaar et al. défendent plutôt un rôle associatif entre IDH1 muté/ MGMT comme facteur de bon pronostic (190).

Lorsque l'on compare nos résultats avec ceux des équipes allemandes et des séries TCGA sur les taux d'IDH1 au sein des LS, on constate des taux IDH1 mutés plus bas. Nous avons une série assez conséquente, alors même si l'on peut envisagé un éventuel biais d'échantillonnage, nous avons de part le nombre de notre série une puissance raisonnable.

Nous avons plutôt envisagé qu'au sein de la série allemande il existerait peut être plus de GBM secondaire d'une part, et évoqué d'autre part le fait que les séries allemande et TCGA ne soient pas consécutives: les longs survivants sont recrutés dans certains centres et les courts survivants dans d'autres. De plus le diagnostic de GBM étant anatomopathologique, on pourrait aussi évoquer la variabilité bien connue de l'expertise anatomopathologiste.

Ainsi pour nos 207 patients, nous avons confirmé que les LS avaient significativement plus de méthylation du promoteur MGMT, mais nous n'avons pas identifié qu'IDH1/2 mutés étaient des marqueurs de bon pronostic. Devant ce constat, il est important d'identifier de nouveaux marqueurs pronostics pour identifier quels seront les longs survivants.

Ainsi nous avons réalisé ce 2ème travail à partir de l'imagerie pré et postopératoire de patient GBMs où nous voulions déterminer si la vitesse de

croissance et l'agressivité tumorale avant traitement pouvaient être un facteur pronostic sur la survie.

L'apport de l'outil mathématique à travers la modélisation de la croissance tumorale gliale dans les années 90 a permis significativement de mieux comprendre et d'appréhender l'histoire naturelle de ces lésions. A partir des volumes lésionnels calculés sur l'imagerie initiale, le modèle permet de déterminer un indice de prolifération (ρ) et un potentiel de migration (D). On en déduit les vitesses d'expansion tumorale à partir du produit (ρ/D) alors que le rapport ρ/D traduit l'invasion tumorale non visible sur l'imagerie. Ainsi grâce à cette modélisation, il a été évoqué que selon la valeur des rapports ρ/D pour chaque patient, une exérèse plus ou moins agressive et totale n'était pas toujours bénéfique en terme de survie (121). Ainsi pour les hauts rapports ρ/D , appelés aussi lésion "nodulaire", il serait salvateur de réaliser une exérèse la plus totale possible, tandis que les patients présentant des lésions plus diffuses (bas rapport ρ/D) ne présenteraient aucun bénéfice en survie à une exérèse totale.

Ce constat nous avait quelque peu étonné puisque les premières données que l'on obtenait dans notre série n'abondaient pas dans le sens de ces résultats. Nous nous sommes donc attachés à rechercher et à retrouver les IRMs post-opératoires immédiates ou pré-Stupp. Nos résultats ne confirment nullement l'étude réalisée par l'équipe de Baldock et al. (67). Quelque soit la valeur de ρ/D , quelque soit le degré d'invasion de la tumeur, l'exérèse totale est toujours associée à une meilleure survie chez les patients GBMs par rapport à une exérèse partielle ou une simple biopsie.

Cette différence de conclusion revête son importance, puisque nous démontrons dans nos travaux, à l'encontre des derniers travaux de Baldock que quelque soit le degrés d'infiltration et d'invasion, la chirurgie totale est toujours préférable en terme de survie. Pour la chirurgie subtotale (exérèse >90%) le faible nombre de patient ($n=13$) que nous avons ne nous permet pas de conclure selon l'invasion tumorale (nodulaire, moyen ou diffuse ρ/D). Par contre pour des chirurgies partielles (exérèse <90%) nous n'avons pas trouvé de supériorité en terme de survie par rapport à la BST. Ces différences peuvent être expliquées par différentes approches.

En effet, premièrement dans notre série, les 234 GBMs ont tous reçu un protocole Stupp, contre seulement 1/3 des patients dans la série de Baldock et al.,

ce qui biensûr explique pourquoi nos moyennes de survies, quelque soit le % d'exérèse, soient plus longues. De plus la distribution des valeurs de ρ/D entre les 2 séries diffère: l'ordre de grandeur des tailles de tumeurs reste similaire mais en regardant les catégories « nodular, low et diffuse » on se rend compte que celles de Baldock et al. sont systématiquement plus grandes, ou bien les rayons sont sur-estimés. Par conséquent, il est normal que les valeurs ρ/D de Baldock et al. soient un peu plus grandes que les nôtres (67). L'explication tient-elle à la différence de méthode de segmentation? Au fait que leurs patients seraient pris en charge plus tard et par conséquent avec des dimensions plus importantes?

Pour essayer de comprendre indépendamment de la différence entre les 2 séries ce que sont les tumeurs avec un bas ρ/D par rapport aux autres, on pourrait représenter sur un graphe les dispersions des rayons, c'est à dire les rayons mesurés sur l'imagerie (RT1-gado ou RT2-Flair) en fonction de la différence (RT2Flair-RT1-gado en abscisse).

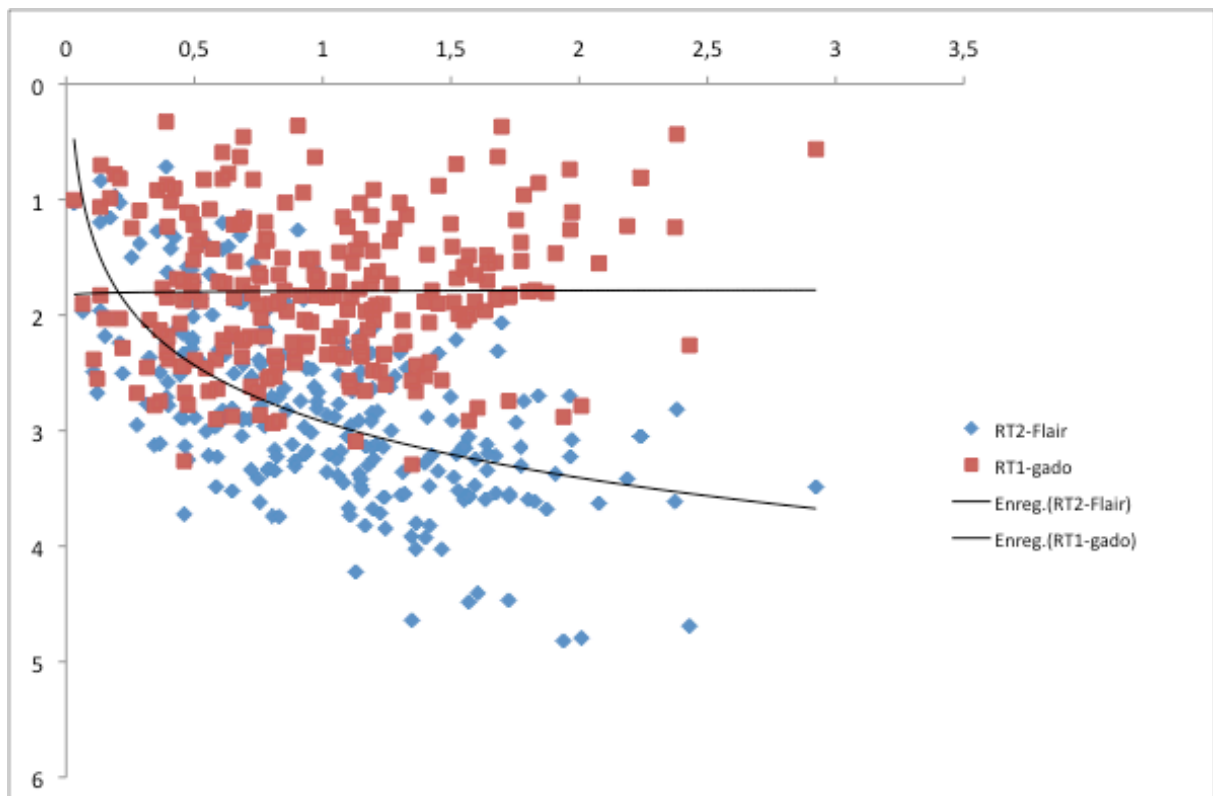


Figure 12: Graphique de dispersions RT1-gado et RT2-Flair en fonction de RT2Flair-RT1gado

Ne disposant pas des valeurs des rayons T1/T2 du travail de Baldock et al., nous ne pouvons pas comparer. Mais dans notre série, RT2Flair a tendance à atteindre une valeur limite vers 3,5 cm quand R2-R1 dépasse 1,3cm. Autrement dit, si une tumeur est «très diffuses», c'est-à-dire qu'elle a un bas ρ/D donc un RT2-RT1 supérieur à 1,3cm, ce n'est pas parce qu'elle a un grand RT2-Flair (il plafonne à 3.5 cm), mais parce qu'elle a un RT1-gado petit. De fait, dans le tracé en fonction de RT2-RT1, RT1 a tendance à diminuer quand RT2-RT1 dépasse 1,3cm. Donc les tumeurs à bas ρ/D seraient des tumeurs dont la zone de prise de contraste en T1-gado est comparativement petite, et non pas des tumeurs dont la zone d'infiltration en T2-FLAIR est très très étendue.

La seconde explication pourrait venir du modèle mathématique employé. En effet, le signal obtenu par la séquence preoperative T2-Flair est autant dû à une infiltration gliale (16% de la densité maximale) qu'à l'oedème lésionnel, inflammatoire et vasogenic (174,191).

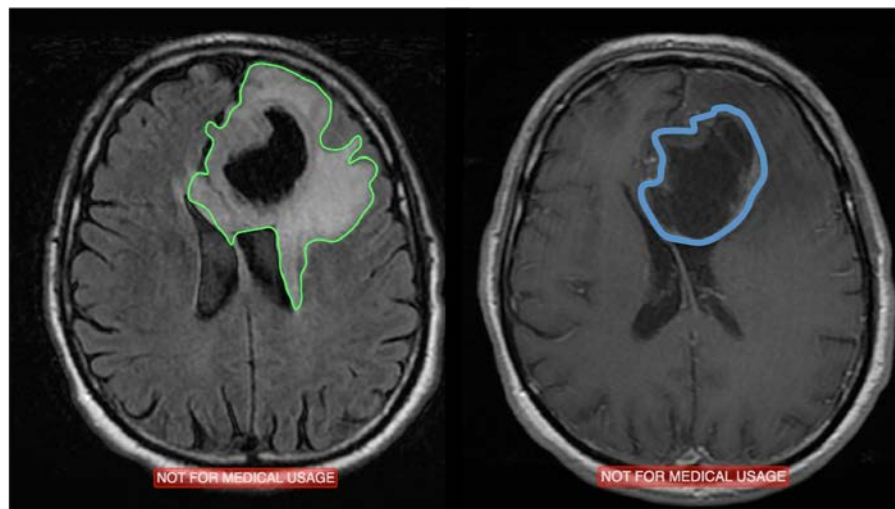


Figure 13: Glioblastome Frontal droit, infiltration cellulaire (16%)/œdème/inflammation (vert) séquence T2-Flair et lésion à forte densité cellulaire (80%) réhaussée en T1-gado (bleu)

Ainsi en pré- comme en postopératoire, les corticoïdes par leur action anti-inflammatoire et anti-oedémateuse diminuent donc de manière assez significative le signal T2-Flair et donc les volumes mesurés. Ainsi afin d'optimiser le modèle

biomathématique il serait primordial de déterminer des modalités d'imagerie capables de déterminer l'infiltration gliale de manière plus précise.

Parallèlement et complémentirement à la modélisation mathématique précédemment décrite, la modélisation informatique de la croissance de gliome a récemment émergé comme un champ actif des biomathématiques. L'objectif reste de construire une tumeur virtuelle spécifique à chaque patient, dont l'évolution et la croissance est le plus près possible de la tumeur du patient réel.

Sur cette parfaite copie virtuelle, plusieurs séquences de traitement pourraient être simulées, en aidant à sélectionner le traitement optimal que ce soit chirurgical ou prévisionnel. Cependant, il y a actuellement un énorme fossé entre les progrès de simulations numériques et leur utilisation efficace dans la pratique clinique. Avant notre travail, très peu d'études ont tenté d'évaluer la véracité des modèles virtuels de croissance de gliomes (166,192).

Dans le 3ème travail, nous avons montré la différence de simulation de croissance tumorale lors de l'utilisation de deux modèles différents d'espaces de LCR segmentés, obtenus à partir d'une base de référence et une version expert-révisé des INM 152 atlas. L'inadéquation entre les tumeurs réelles et simulées était améliorée et minime quand on utilisait le modèle d'experts-révisé.

Ce résultat souligne que l'anatomie détaillée doit être prise en compte dans les modèles informatiques. Ces défauts permettent par exemple aux gliomes virtuels de traverser un sillon qui ne devrait normalement pas être franchissable par les cellules gliales conduisant à des formes irréalistes de tumeurs simulées. Bien sûr, la différence est d'autant plus grande pour les tumeurs avec un point de départ proche d'un sillon. Nos conclusions de ce travail renforcent l'idée que les simulations de gliome ne peut pas être purement être basé sur les images des patients et nécessitent les informations anatomiques à partir des atlas. Et cela jusqu'à ce que les progrès des outils d'analyse d'image permettent une identification fiable et automatisée des circonvolutions et sillons cérébraux: il est en effet irréaliste d'effectuer une segmentation manuelle des espaces de LCR pour chaque patient.

La façon la plus simple pour résoudre ce problème consiste à enregistrer toutes les images du patient dans l'espace de référence, effectuer les simulations dans

l'espace de référence, et de projeter les résultats dans l'espace patient. La méthode inverse d'enregistrer l'atlas sur l'espace patient est une alternative, mais il présente le risque de recréer des ponts artificiels de matière grise entre les deux berges des sillons. Ce travail a donc des conséquences importantes en ce qui concerne l'élaboration d'un processus efficace pour la simulation de croissance tumorale spécifique du patient.

Ainsi les travaux plus antérieurs qui n'ont pas utilisé un atlas révisé pour la segmentation des espaces de LCR pourraient être d'une utilité limitée.

Dans un soucis d'optimiser et d'affiner encore un peu plus les simulations, il a été proposé d'utiliser les modèles de prolifération-diffusion pour déterminer le point de départ tumoral pour chaque patient (193). Le point de départ est en effet une des informations clés qui peut être utilisée pour trouver des groupes cellulaires distincts au sein du gliome (192) provenant de différentes cellules d'origine, avec des foyers privilégiés de récurrence et donc de pronostic différents (194,195).

Ce dernier travail montre que la détermination des points de départ tumoraux grâce à l'équation de prolifération-diffusion n'est pas acceptable et applicable si la segmentation et la définition des espaces de LCR n'a pas été soigneusement conçue en tenant compte de l'anatomie précise des sillons.

CONCLUSIONS

Les conclusions de ce travail s'inscrivent finalement dans un constat d'échec, ou du moins de faillite partielle. En effet, ce travail avait pour but de déterminer, grâce à la biologie moléculaire ou la modélisation mathématique, des facteurs pronostiques de survie pour la prise en charge des glioblastomes. Mais force est de constater que l'on n'a pas réussi à progresser dans cette identification.

En faisant preuve de rigueur dans le diagnostic histologique, il est très rare de trouver des GBM IDH mutés sur notre série de 234 patients. Même si le rôle pronostique d'IDH est reconnu dans les gliomes de bas grades, il n'est pas acté et reste inconstant dans les GBMs. En conséquence, la grande majorité des longs survivants de notre série ne présentent pas la mutation IDH. Ainsi cette mutation ne permet pas en pratique d'identifier les longs survivants. Prédire les longs survivants au moment du diagnostic est donc toujours un défi.

L'application d'un modèle mathématique aux données d'IRM T1/T2 pour déterminer le caractère "bulky" versus "diffus" d'un GBM n'a pas fait la preuve de son intérêt sur notre série pour identifier les patients qui profiteraient le plus d'une chirurgie d'exérèse complète. L'identification des patients pour lesquels l'exérèse complète changerait radicalement la survie n'est donc pour le moment toujours pas possible. Le problème majeur, actuellement limitant l'intérêt du modèle mathématique, reste l'impossibilité d'évaluer la densité cellulaire tumorale de l'infiltration visible en T2-flair (et donc de faire la distinction œdème vasogénique ou inflammatoire vs cellules tumorales).

Perspectives

Il est intéressant de tirer de ces conclusions des enseignements et des perspectives. Ainsi pour l'apport et l'identification de facteurs moléculaires, dorénavant les espoirs se tournent vers des nouveaux acteurs, et notamment par le biais des nouvelles thérapies telles que l'immunothérapie. En effet lors des invasions tumorales quelles qu'elles soient, les processus de défense immunitaire humorale (lymphocytes CD4, CD8) sont éteints par des protéines membranaires cellulaires cancéreuses (PD-L1). Il a été montré très récemment dans les mélanomes métastatiques et les cancers du poumon que l'immunothérapie allonge significativement la survie (196). Les tumeurs gliales ne dérogent pas à la règle, et expriment elle aussi de grandes quantités de ces protéines (TILS et PD-L1) (197). Ainsi de nombreux projets prospectifs sont en train d'être élaborés dans ce sens.

Pour l'apport de l'imagerie comme facteur pronostic, les progrès de l'imagerie multimodale, voire du PET, pourraient partiellement répondre à ce besoin. Ainsi dans ce sens, très récemment akbari et al, décrivent une méthode d'analyse des séquences multimodales d'IRM par des algorithmes de « support vector machine » qui permet de cartographier les zones à risques de récurrences sur l'IRM initiale, et donc sur lesquelles il semblerait naturel de cibler les traitements focaux que sont la chirurgie et la radiothérapie (198).

BIBLIOGRAPHIE

1. Brandes AA, Tosoni A, Franceschi E, Reni M, Gatta G, Vecht C. Glioblastoma in adults. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2008 Aug;67(2):139–52.
2. Figarella-Branger D, Bouvier C. [Histological classification of human gliomas: state of art and controversies]. *Bull Cancer (Paris)*. 2005 Apr;92(4):301–9.
3. Psimaras D, Delattre J-Y. [Perspectives in diagnosis and management of malignant gliomas]. *Cancer Radiothérapie J Société Fr Radiothérapie Oncol*. 2008 Nov;12(6-7):695–700.
4. Stupp R, Pica A, Mirimanoff RO, Michielin O. [A practical guide for the management of gliomas]. *Bull Cancer (Paris)*. 2007 Sep;94(9):817–22.
5. Hottinger AF, Stupp R. [Therapeutic strategies for the management of gliomas]. *Rev Neurol (Paris)*. 2008 Jul;164(6-7):523–30.
6. Bauchet L, Zouaoui S, Darlix A, Menjot de Champfleury N, Ferreira E, Fabbro M, et al. Assessment and treatment relevance in elderly glioblastoma patients. *Neuro-Oncol*. 2014 May 2;
7. Ostrom QT, Bauchet L, Davis FG, Deltour I, Fisher JL, Langer CE, et al. The epidemiology of glioma in adults: a “state of the science” review. *Neuro-Oncol*. 2014 May 19;
8. Romero-Rojas AE, Diaz-Perez JA, Ariza-Serrano LM, Amaro D, Lozano-Castillo A. Primary gliosarcoma of the brain: radiologic and histopathologic features. *Neuroradiol J*. 2013 Dec;26(6):639–48.
9. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvet A, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol (Berl)*. 2007 Aug;114(2):97–109.
10. Daumas-Duport C, Beuvon F, Varlet P, Fallet-Bianco C. [Gliomas: WHO and Sainte-Anne Hospital classifications]. *Ann Pathol*. 2000 Oct;20(5):413–28.
11. Daumas-Duport C, Varlet P, Tucker ML, Beuvon F, Cervera P, Chodkiewicz JP. Oligodendrogliomas. Part I: Patterns of growth, histological diagnosis, clinical and imaging correlations: a study of 153 cases. *J Neurooncol*. 1997 Aug;34(1):37–59.
12. Daumas-Duport C, Tucker ML, Kolles H, Cervera P, Beuvon F, Varlet P, et al. Oligodendrogliomas. Part II: A new grading system based on morphological and imaging criteria. *J Neurooncol*. 1997 Aug;34(1):61–78.
13. Gerosa MA, Talarico D, Fognani C, Raimondi E, Colombatti M, Tridente G, et al. Overexpression of N-ras oncogene and epidermal growth factor receptor gene in human glioblastomas. *J Natl Cancer Inst*. 1989 Jan 4;81(1):63–7.
14. Mauro A, Bulfone A. Oncogenes and growth factors in gliomas. *J Neurosurg Sci*. 1990 Dec;34(3-4):171–3.

15. Ohgaki H. Genetic pathways to glioblastomas. *Neuropathol Off J Jpn Soc Neuropathol*. 2005 Mar;25(1):1–7.
16. Sun Y, Zhang W, Chen D, Lv Y, Zheng J, Lilljebjörn H, et al. A glioma classification scheme based on coexpression modules of EGFR and PDGFRA. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014 Mar 4;111(9):3538–43.
17. Sidransky D, Mikkelsen T, Schwechheimer K, Rosenblum ML, Cavanee W, Vogelstein B. Clonal expansion of p53 mutant cells is associated with brain tumour progression. *Nature*. 1992 Feb 27;355(6363):846–7.
18. Fults D, Brockmeyer D, Tullous MW, Pedone CA, Cawthon RM. p53 mutation and loss of heterozygosity on chromosomes 17 and 10 during human astrocytoma progression. *Cancer Res*. 1992 Feb 1;52(3):674–9.
19. Reifenberger J, Ring GU, Gies U, Cobbers L, Oberstrass J, An HX, et al. Analysis of p53 mutation and epidermal growth factor receptor amplification in recurrent gliomas with malignant progression. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1996 Jul;55(7):822–31.
20. 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 Jan 1;56(1):150–3.
21. Bouvier-Labit C, Chinot O, Ochi C, Gambarelli D, Dufour H, Figarella-Branger D. Prognostic significance of Ki67, p53 and epidermal growth factor receptor immunostaining in human glioblastomas. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 1998 Oct;24(5):381–8.
22. Shapiro WR, Shapiro JR. A changing paradigm of glioma biology. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2006 Dec;20(6):1171–91.
23. Schmidt EE, Ichimura K, Messerle KR, Goike HM, Collins VP. Infrequent methylation of CDKN2A(MTS1/p16) and rare mutation of both CDKN2A and CDKN2B(MTS2/p15) in primary astrocytic tumours. *Br J Cancer*. 1997;75(1):2–8.
24. Zhou XP, Li YJ, Hoang-Xuan K, Laurent-Puig P, Mokhtari K, Longy M, et al. Mutational analysis of the PTEN gene in gliomas: molecular and pathological correlations. *Int J Cancer J Int Cancer*. 1999 Apr 20;84(2):150–4.
25. Nakamura M, Watanabe T, Klangby U, Asker C, Wiman K, Yonekawa Y, et al. p14ARF deletion and methylation in genetic pathways to glioblastomas. *Brain Pathol Zurich Switz*. 2001 Apr;11(2):159–68.
26. Aldape K, Zadeh G, Mansouri S, Reifenberger G, von Deimling A. Glioblastoma: pathology, molecular mechanisms and markers. *Acta Neuropathol (Berl)*. 2015 Jun;129(6):829–48.
27. Daniele S, Costa B, Zappelli E, Da Pozzo E, Sestito S, Nesi G, et al. Combined inhibition of AKT/mTOR and MDM2 enhances Glioblastoma Multiforme cell apoptosis and differentiation of cancer stem cells. *Sci Rep*. 2015;5:9956.

28. Canute GW, Longo SL, Longo JA, Winfield JA, Nevaldine BH, Hahn PJ. Hydroxyurea accelerates the loss of epidermal growth factor receptor genes amplified as double-minute chromosomes in human glioblastoma multiforme. *Neurosurgery*. 1996 Nov;39(5):976–83.
29. Hoang-Xuan K, Idbaih A, Mokhtari K, Sanson M. [Towards a molecular classification of gliomas]. *Bull Cancer (Paris)*. 2005 Apr;92(4):310–6.
30. Riemenschneider MJ, Reifenberger G. Molecular neuropathology of gliomas. *Int J Mol Sci*. 2009 Jan;10(1):184–212.
31. Van den Bent MJ, Dubbink HJ, Marie Y, Brandes AA, Taphoorn MJB, Wesseling P, et al. IDH1 and IDH2 mutations are prognostic but not predictive for outcome in anaplastic oligodendroglial tumors: a report of the European Organization for Research and Treatment of Cancer Brain Tumor Group. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2010 Mar 1;16(5):1597–604.
32. Chakrabarti I, Cockburn M, Cozen W, Wang Y-P, Preston-Martin S. A population-based description of glioblastoma multiforme in Los Angeles County, 1974-1999. *Cancer*. 2005 Dec 15;104(12):2798–806.
33. Baldi I, Huchet A, Bauchet L, Loiseau H. [Epidemiology of glioblastoma]. *Neurochirurgie*. 2010 Dec;56(6):433–40.
34. McKinley BP, Michalek AM, Fenstermaker RA, Plunkett RJ. The impact of age and sex on the incidence of glial tumors in New York state from 1976 to 1995. *J Neurosurg*. 2000 Dec;93(6):932–9.
35. Barnholtz-Sloan JS, Maldonado JL, Williams VL, Curry WT, Rodkey EA, Barker FG, et al. Racial/ethnic differences in survival among elderly patients with a primary glioblastoma. *J Neurooncol*. 2007 Nov;85(2):171–80.
36. Kitahara CM, Wang SS, Melin BS, Wang Z, Braganza M, Inskip PD, et al. Association between adult height, genetic susceptibility and risk of glioma. *Int J Epidemiol*. 2012 Aug;41(4):1075–85.
37. Sadetzki S, Bruchim R, Oberman B, Armstrong GN, Lau CC, Claus EB, et al. Description of selected characteristics of familial glioma patients - results from the Gliogene Consortium. *Eur J Cancer Oxf Engl 1990*. 2013 Apr;49(6):1335–45.
38. Egan KM, Thompson RC, Nabors LB, Olson JJ, Brat DJ, Larocca RV, et al. Cancer susceptibility variants and the risk of adult glioma in a US case-control study. *J Neurooncol*. 2011 Sep;104(2):535–42.
39. Scarbrough PM, Akushevich I, Wrensch M, Il'yasova D. Exploring the association between melanoma and glioma risks. *Ann Epidemiol*. 2014 Jun;24(6):469–74.
40. Schwartzbaum J, Ahlbom A, Malmer B, Lönn S, Brookes AJ, Doss H, et al. Polymorphisms associated with asthma are inversely related to glioblastoma multiforme. *Cancer Res*. 2005 Jul 15;65(14):6459–65.

41. Blakely J. Polymorphisms associated with asthma are inversely related to glioblastoma multiforme. *Cancer Res.* 2006 Mar 1;66(5):2878; author reply 2878–9.
42. Scheurer ME, Amirian E, Cao Y, Gilbert MR, Aldape KD, Kornguth DG, et al. Polymorphisms in the interleukin-4 receptor gene are associated with better survival in patients with glioblastoma. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 2008 Oct 15;14(20):6640–6.
43. Wiemels JL, Wilson D, Patil C, Patoka J, McCoy L, Rice T, et al. IgE, allergy, and risk of glioma: update from the San Francisco Bay Area Adult Glioma Study in the temozolomide era. *Int J Cancer J Int Cancer.* 2009 Aug 1;125(3):680–7.
44. Kast RE. Glioblastoma invasion, cathepsin B, and the potential for both to be inhibited by auranofin, an old anti-rheumatoid arthritis drug. *Cent Eur Neurosurg.* 2010 Aug;71(3):139–42.
45. Loiseau H, Huchet A, Rué M, Cowppli-Bony A, Baldi I. [Epidemiology of primary brain tumor]. *Rev Neurol (Paris).* 2009 Sep;165(8-9):650–70.
46. Smith-Rooker JL, Garrett A, Hodges LC, Shue V. Prevalence of glioblastoma multiforme subjects with prior herbicide exposure. *J Neurosci Nurs J Am Assoc Neurosci Nurses.* 1992 Oct;24(5):260–4.
47. Austin SG, Schnatter AR. A cohort mortality study of petrochemical workers. *J Occup Med Off Publ Ind Med Assoc.* 1983 Apr;25(4):304–12.
48. Kunkle B, Yoo C, Roy D. Discovering gene-environment interactions in glioblastoma through a comprehensive data integration bioinformatics method. *Neurotoxicology.* 2013 Mar;35:1–14.
49. Ostrom QT, Gittleman H, Liao P, Rouse C, Chen Y, Dowling J, et al. CBTRUS statistical report: primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2007-2011. *Neuro-Oncol.* 2014 Oct;16 Suppl 4:iv1–63.
50. Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJB, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med.* 2005 Mar 10;352(10):987–96.
51. Stupp R, Hegi ME, Mason WP, van den Bent MJ, Taphoorn MJB, Janzer RC, et al. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *Lancet Oncol.* 2009 May;10(5):459–66.
52. Laws ER, Parney IF, Huang W, Anderson F, Morris AM, Asher A, et al. Survival following surgery and prognostic factors for recently diagnosed malignant glioma: data from the Glioma Outcomes Project. *J Neurosurg.* 2003 Sep;99(3):467–73.
53. Weller M, Felsberg J, Hartmann C, Berger H, Steinbach JP, Schramm J, et al. Molecular predictors of progression-free and overall survival in patients with newly diagnosed glioblastoma: a prospective translational study of the German

- Glioma Network. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2009 Dec 1;27(34):5743–50.
54. Hammoud MA, Sawaya R, Shi W, Thall PF, Leeds NE. Prognostic significance of preoperative MRI scans in glioblastoma multiforme. *J Neurooncol*. 1996 Jan;27(1):65–73.
 55. Wang CH, Rockhill JK, Mrugala M, Peacock DL, Lai A, Jusenius K, et al. Prognostic significance of growth kinetics in newly diagnosed glioblastomas revealed by combining serial imaging with a novel biomathematical model. *Cancer Res*. 2009 Dec 1;69(23):9133–40.
 56. Ramakrishna R, Barber J, Kennedy G, Rizvi A, Goodkin R, Winn RH, et al. Imaging features of invasion and preoperative and postoperative tumor burden in previously untreated glioblastoma: Correlation with survival. *Surg Neurol Int*. 2010;1.
 57. Macyszyn L, Akbari H, Pisapia JM, Da X, Attiah M, Pigrish V, et al. Imaging patterns predict patient survival and molecular subtype in glioblastoma via machine learning techniques. *Neuro-Oncol*. 2015 Jul 16;
 58. Kelly PJ, Dumas-Duport C, Kispert DB, Kall BA, Scheithauer BW, Illig JJ. Imaging-based stereotaxic serial biopsies in untreated intracranial glial neoplasms. *J Neurosurg*. 1987 Jun;66(6):865–74.
 59. Kelly PJ. Computed tomography and histologic limits in glial neoplasms: tumor types and selection for volumetric resection. *Surg Neurol*. 1993 Jun;39(6):458–65.
 60. Kalpathy-Cramer J, Gerstner ER, Emblem KE, Andronesi OC, Rosen B. Advanced magnetic resonance imaging of the physical processes in human glioblastoma. *Cancer Res*. 2014 Sep 1;74(17):4622–37.
 61. Hu LS, Baxter LC, Smith KA, Feuerstein BG, Karis JP, Eschbacher JM, et al. Relative cerebral blood volume values to differentiate high-grade glioma recurrence from posttreatment radiation effect: direct correlation between image-guided tissue histopathology and localized dynamic susceptibility-weighted contrast-enhanced perfusion MR imaging measurements. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2009 Mar;30(3):552–8.
 62. Beppu T, Inoue T, Shibata Y, Yamada N, Kurose A, Ogasawara K, et al. Fractional anisotropy value by diffusion tensor magnetic resonance imaging as a predictor of cell density and proliferation activity of glioblastomas. *Surg Neurol*. 2005 Jan;63(1):56–61; discussion 61.
 63. Mazurowski MA, Desjardins A, Malof JM. Imaging descriptors improve the predictive power of survival models for glioblastoma patients. *Neuro-Oncol*. 2013 Oct;15(10):1389–94.
 64. Zhang Z, Jiang H, Chen X, Bai J, Cui Y, Ren X, et al. Identifying the survival subtypes of glioblastoma by quantitative volumetric analysis of MRI. *J Neurooncol*. 2014 Aug;119(1):207–14.

65. Gutman DA, Cooper LAD, Hwang SN, Holder CA, Gao J, Aurora TD, et al. MR imaging predictors of molecular profile and survival: multi-institutional study of the TCGA glioblastoma data set. *Radiology*. 2013 May;267(2):560–9.
66. Mazurowski MA, Zhang J, Peters KB, Hobbs H. Computer-extracted MR imaging features are associated with survival in glioblastoma patients. *J Neurooncol*. 2014 Dec;120(3):483–8.
67. Baldock AL, Ahn S, Rockne R, Johnston S, Neal M, Corwin D, et al. Patient-specific metrics of invasiveness reveal significant prognostic benefit of resection in a predictable subset of gliomas. *PLoS One*. 2014;9(10):e99057.
68. Chaskis C, Stadnik T, Michotte A, Van Rompaey K, D'Haens J. Prognostic value of perfusion-weighted imaging in brain glioma: a prospective study. *Acta Neurochir (Wien)*. 2006 Mar;148(3):277–85; discussion 285.
69. Hirai T, Murakami R, Nakamura H, Kitajima M, Fukuoka H, Sasao A, et al. Prognostic value of perfusion MR imaging of high-grade astrocytomas: long-term follow-up study. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2008 Sep;29(8):1505–10.
70. Bonekamp D, Deike K, Wiestler B, Wick W, Bendszus M, Radbruch A, et al. Association of overall survival in patients with newly diagnosed glioblastoma with contrast-enhanced perfusion MRI: Comparison of intraindividually matched T1 - and T2 (*) -based bolus techniques. *J Magn Reson Imaging JMRI*. 2015 Jul;42(1):87–96.
71. Soejima H, Zhao W, Mukai T. Epigenetic silencing of the MGMT gene in cancer. *Biochem Cell Biol Biochim Biol Cell*. 2005 Aug;83(4):429–37.
72. Kokkinakis DM. Methionine-stress: a pleiotropic approach in enhancing the efficacy of chemotherapy. *Cancer Lett*. 2006 Feb 28;233(2):195–207.
73. Beier D, Schulz JB, Beier CP. Chemoresistance of glioblastoma cancer stem cells--much more complex than expected. *Mol Cancer*. 2011;10:128.
74. Dunn J, Baborie A, Alam F, Joyce K, Moxham M, Sibson R, et al. Extent of MGMT promoter methylation correlates with outcome in glioblastomas given temozolomide and radiotherapy. *Br J Cancer*. 2009 Jul 7;101(1):124–31.
75. Minniti G, Salvati M, Arcella A, Buttarelli F, D'Elia A, Lanzetta G, et al. Correlation between O6-methylguanine-DNA methyltransferase and survival in elderly patients with glioblastoma treated with radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide. *J Neurooncol*. 2011 Apr;102(2):311–6.
76. Hegi ME, Diserens A-C, Gorlia T, Hamou M-F, de Tribolet N, Weller M, et al. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N Engl J Med*. 2005 Mar 10;352(10):997–1003.
77. Kim YS, Kim SH, Cho J, Kim JW, Chang JH, Kim DS, et al. MGMT gene promoter methylation as a potent prognostic factor in glioblastoma treated with temozolomide-based chemoradiotherapy: a single-institution study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2012 Nov 1;84(3):661–7.

78. Anda T, Shabani HK, Tsunoda K, Tokunaga Y, Kaminogo M, Shibata S, et al. Relationship between expression of O6-methylguanine-DNA methyltransferase, glutathione-S-transferase pi in glioblastoma and the survival of the patients treated with nimustine hydrochloride: an immunohistochemical analysis. *Neurol Res.* 2003 Apr;25(3):241–8.
79. Metellus P, Coulibaly B, Nanni I, Fina F, Eudes N, Giorgi R, et al. Prognostic impact of O6-methylguanine-DNA methyltransferase silencing in patients with recurrent glioblastoma multiforme who undergo surgery and carmustine wafer implantation: a prospective patient cohort. *Cancer.* 2009 Oct 15;115(20):4783–94.
80. Lechapt-Zalcman E, Levallet G, Dugué AE, Vital A, Diebold M-D, Menei P, et al. O(6) -methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) promoter methylation and low MGMT-encoded protein expression as prognostic markers in glioblastoma patients treated with biodegradable carmustine wafer implants after initial surgery followed by radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide. *Cancer.* 2012 Sep 15;118(18):4545–54.
81. Van den Bent MJ, Dubbink HJ, Sanson M, van der Lee-Haarloo CR, Hegi M, Jeuken JWM, et al. MGMT promoter methylation is prognostic but not predictive for outcome to adjuvant PCV chemotherapy in anaplastic oligodendroglial tumors: a report from EORTC Brain Tumor Group Study 26951. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2009 Dec 10;27(35):5881–6.
82. Van den Bent MJ, Gravendeel LA, Gorlia T, Kros JM, Lapre L, Wesseling P, et al. A hypermethylated phenotype is a better predictor of survival than MGMT methylation in anaplastic oligodendroglial brain tumors: a report from EORTC study 26951. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 2011 Nov 15;17(22):7148–55.
83. Rendina AR, Pietrak B, Smallwood A, Zhao H, Qi H, Quinn C, et al. Mutant IDH1 enhances the production of 2-hydroxyglutarate due to its kinetic mechanism. *Biochemistry (Mosc).* 2013 Jul 2;52(26):4563–77.
84. Krell D, Assoku M, Galloway M, Mulholland P, Tomlinson I, Bardella C. Screen for IDH1, IDH2, IDH3, D2HGDH and L2HGDH mutations in glioblastoma. *PLoS One.* 2011;6(5):e19868.
85. Xu X, Zhao J, Xu Z, Peng B, Huang Q, Arnold E, et al. Structures of human cytosolic NADP-dependent isocitrate dehydrogenase reveal a novel self-regulatory mechanism of activity. *J Biol Chem.* 2004 Aug 6;279(32):33946–57.
86. Reitman ZJ, Yan H. Isocitrate dehydrogenase 1 and 2 mutations in cancer: alterations at a crossroads of cellular metabolism. *J Natl Cancer Inst.* 2010 Jul 7;102(13):932–41.
87. King A, Selak MA, Gottlieb E. Succinate dehydrogenase and fumarate hydratase: linking mitochondrial dysfunction and cancer. *Oncogene.* 2006 Aug 7;25(34):4675–82.

88. Xu W, Yang H, Liu Y, Yang Y, Wang P, Kim S-H, et al. Oncometabolite 2-hydroxyglutarate is a competitive inhibitor of α -ketoglutarate-dependent dioxygenases. *Cancer Cell*. 2011 Jan 18;19(1):17–30.
89. Dang L, Jin S, Su SM. IDH mutations in glioma and acute myeloid leukemia. *Trends Mol Med*. 2010 Sep;16(9):387–97.
90. Koh H-J, Lee S-M, Son B-G, Lee S-H, Ryoo ZY, Chang K-T, et al. Cytosolic NADP⁺-dependent isocitrate dehydrogenase plays a key role in lipid metabolism. *J Biol Chem*. 2004 Sep 17;279(38):39968–74.
91. Jo S-H, Lee S-H, Chun HS, Lee SM, Koh H-J, Lee S-E, et al. Cellular defense against UVB-induced phototoxicity by cytosolic NADP(+)-dependent isocitrate dehydrogenase. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002 Mar 29;292(2):542–9.
92. Winkler BS, DeSantis N, Solomon F. Multiple NADPH-producing pathways control glutathione (GSH) content in retina. *Exp Eye Res*. 1986 Nov;43(5):829–47.
93. Novo E, Parola M. Redox mechanisms in hepatic chronic wound healing and fibrogenesis. *Fibrogenesis Tissue Repair*. 2008;1(1):5.
94. Parsons DW, Jones S, Zhang X, Lin JC-H, Leary RJ, Angenendt P, et al. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science*. 2008 Sep 26;321(5897):1807–12.
95. Labussiere M, Sanson M, Idhah A, Delattre J-Y. IDH1 gene mutations: a new paradigm in glioma prognosis and therapy? *The Oncologist*. 2010;15(2):196–9.
96. Balss J, Meyer J, Mueller W, Korshunov A, Hartmann C, von Deimling A. Analysis of the IDH1 codon 132 mutation in brain tumors. *Acta Neuropathol (Berl)*. 2008 Dec;116(6):597–602.
97. Bleeker FE, Lamba S, Leenstra S, Troost D, Hulsebos T, Vandertop WP, et al. IDH1 mutations at residue p.R132 (IDH1(R132)) occur frequently in high-grade gliomas but not in other solid tumors. *Hum Mutat*. 2009 Jan;30(1):7–11.
98. Sanson M, Marie Y, Paris S, Idhah A, Laffaire J, Ducray F, et al. Isocitrate dehydrogenase 1 codon 132 mutation is an important prognostic biomarker in gliomas. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2009 Sep 1;27(25):4150–4.
99. Watanabe T, Nobusawa S, Kleihues P, Ohgaki H. IDH1 mutations are early events in the development of astrocytomas and oligodendrogliomas. *Am J Pathol*. 2009 Apr;174(4):1149–53.
100. Yan H, Parsons DW, Jin G, McLendon R, Rasheed BA, Yuan W, et al. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *N Engl J Med*. 2009 Feb 19;360(8):765–73.
101. Kang MR, Kim MS, Oh JE, Kim YR, Song SY, Seo SI, et al. Mutational analysis of IDH1 codon 132 in glioblastomas and other common cancers. *Int J Cancer J Int Cancer*. 2009 Jul 15;125(2):353–5.

102. Ward PS, Patel J, Wise DR, Abdel-Wahab O, Bennett BD, Collier HA, et al. The common feature of leukemia-associated IDH1 and IDH2 mutations is a neomorphic enzyme activity converting alpha-ketoglutarate to 2-hydroxyglutarate. *Cancer Cell*. 2010 Mar 16;17(3):225–34.
103. Dang L, White DW, Gross S, Bennett BD, Bittinger MA, Driggers EM, et al. Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate. *Nature*. 2009 Dec 10;462(7274):739–44.
104. Ohka F, Ito M, Ranjit M, Senga T, Motomura A, Motomura K, et al. Quantitative metabolome analysis profiles activation of glutaminolysis in glioma with IDH1 mutation. *Tumour Biol J Int Soc Oncodevelopmental Biol Med*. 2014 Jun;35(6):5911–20.
105. Zhao S, Lin Y, Xu W, Jiang W, Zha Z, Wang P, et al. Glioma-derived mutations in IDH1 dominantly inhibit IDH1 catalytic activity and induce HIF-1alpha. *Science*. 2009 Apr 10;324(5924):261–5.
106. Frezza C, Tennant DA, Gottlieb E. IDH1 mutations in gliomas: when an enzyme loses its grip. *Cancer Cell*. 2010 Jan 19;17(1):7–9.
107. Lu C, Ward PS, Kapoor GS, Rohle D, Turcan S, Abdel-Wahab O, et al. IDH mutation impairs histone demethylation and results in a block to cell differentiation. *Nature*. 2012 Mar 22;483(7390):474–8.
108. Turcan S, Rohle D, Goenka A, Walsh LA, Fang F, Yilmaz E, et al. IDH1 mutation is sufficient to establish the glioma hypermethylator phenotype. *Nature*. 2012 Mar 22;483(7390):479–83.
109. Choi DW. Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system. *Neuron*. 1988 Oct;1(8):623–34.
110. Ahlemeyer B, Kölker S, Zhu Y, Hoffmann GF, Kriegstein J. Increase in glutamate-induced neurotoxicity by activated astrocytes involves stimulation of protein kinase C. *J Neurochem*. 2002 Aug;82(3):504–15.
111. Adeberg S, Bostel T, König L, Welzel T, Debus J, Combs SE. A comparison of long-term survivors and short-term survivors with glioblastoma, subventricular zone involvement: a predictive factor for survival? *Radiat Oncol Lond Engl*. 2014 Apr 23;9:95.
112. Scott JN, Rewcastle NB, Brasher PM, Fulton D, MacKinnon JA, Hamilton M, et al. Which glioblastoma multiforme patient will become a long-term survivor? A population-based study. *Ann Neurol*. 1999 Aug;46(2):183–8.
113. Burton EC, Lamborn KR, Forsyth P, Scott J, O'Campo J, Uyehara-Lock J, et al. Aberrant p53, mdm2, and proliferation differ in glioblastomas from long-term compared with typical survivors. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2002 Jan;8(1):180–7.

114. Krex D, Klink B, Hartmann C, von Deimling A, Pietsch T, Simon M, et al. Long-term survival with glioblastoma multiforme. *Brain J Neurol.* 2007 Oct;130(Pt 10):2596–606.
115. Fukushima S, Narita Y, Miyakita Y, Ohno M, Takizawa T, Takusagawa Y, et al. A case of more than 20 years survival with glioblastoma, and development of cavernous angioma as a delayed complication of radiotherapy. *Neuropathol Off J Jpn Soc Neuropathol.* 2013 Oct;33(5):576–81.
116. Kloosterhof NK, Bralten LBC, Dubbink HJ, French PJ, van den Bent MJ. Isocitrate dehydrogenase-1 mutations: a fundamentally new understanding of diffuse glioma? *Lancet Oncol.* 2011 Jan;12(1):83–91.
117. Hartmann C, Hentschel B, Simon M, Westphal M, Schackert G, Tonn JC, et al. Long-term survival in primary glioblastoma with versus without isocitrate dehydrogenase mutations. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 2013 Sep 15;19(18):5146–57.
118. Weller M, Bettina, Hentschel, Matthias Simon, Manfred Westphal, Gabriele Schackert, Joerg Christian Tonn, Markus Loeffler, Guido Reifenberger, Torsten Pietsch, Andreas von Deimling, Christian Hartmann, German Glioma Network; University Hospital, Zurich, Switzerland; University of Leipzig, Leipzig, Germany; Department of Neurosurgery, University of Bonn, Bonn, Germany; Department of Neurosurgery, UKE Hamburg, Hamburg, Germany; Department of Neurosurgery, University Dresden, Dresden, Germany; Department of Neurosurgery, LMU Munich, Munich, Germany; Institute for Medical Informatics, Statistics and Epidemiology, Leipzig University, Leipzig, Germany; Institute of Neuropathology, University of Duesseldorf, Duesseldorf, Germany; Institute of Neuropathology, University of Bonn, Bonn, Germany; Neuropathology, University Hospital of Heidelberg, Heidelberg, Germany; Neuropathology, German Cancer Research Center, Heidelberg, Germany. Long-term survival in primary glioblastoma revisited: The contribution of isocitrate dehydrogenase mutations. *J Clin Oncol* 31, 2013 (suppl; abstr 2027);
119. Wick W, Meisner C, Hentschel B, Platten M, Schilling A, Wiestler B, et al. Prognostic or predictive value of MGMT promoter methylation in gliomas depends on IDH1 mutation. *Neurology.* 2013 Oct 22;81(17):1515–22.
120. Gerber NK, Goenka A, Turcan S, Reyngold M, Makarov V, Kannan K, et al. Transcriptional diversity of long-term glioblastoma survivors. *Neuro-Oncol.* 2014 Sep;16(9):1186–95.
121. Keles GE, Anderson B, Berger MS. The effect of extent of resection on time to tumor progression and survival in patients with glioblastoma multiforme of the cerebral hemisphere. *Surg Neurol.* 1999 Oct;52(4):371–9.
122. Chaichana KL, Halthore AN, Parker SL, Olivi A, Weingart JD, Brem H, et al. Factors involved in maintaining prolonged functional independence following supratentorial glioblastoma resection. Clinical article. *J Neurosurg.* 2011 Mar;114(3):604–12.

123. Dea N, Fournier-Gosselin M-P, Mathieu D, Goffaux P, Fortin D. Does extent of resection impact survival in patients bearing glioblastoma? *Can J Neurol Sci J Can Sci Neurol*. 2012 Sep;39(5):632–7.
124. Chaichana KL, Zadnik P, Weingart JD, Olivi A, Gallia GL, Blakeley J, et al. Multiple resections for patients with glioblastoma: prolonging survival. *J Neurosurg*. 2013 Apr;118(4):812–20.
125. Gorlia T, van den Bent MJ, Hegi ME, Mirimanoff RO, Weller M, Cairncross JG, et al. Nomograms for predicting survival of patients with newly diagnosed glioblastoma: prognostic factor analysis of EORTC and NCIC trial 26981-22981/CE.3. *Lancet Oncol*. 2008 Jan;9(1):29–38.
126. Walker MD, Green SB, Byar DP, Alexander E, Batzdorf U, Brooks WH, et al. Randomized comparisons of radiotherapy and nitrosoureas for the treatment of malignant glioma after surgery. *N Engl J Med*. 1980 Dec 4;303(23):1323–9.
127. Keime-Guibert F, Chinot O, Taillandier L, Cartalat-Carel S, Frenay M, Kantor G, et al. Radiotherapy for glioblastoma in the elderly. *N Engl J Med*. 2007 Apr 12;356(15):1527–35.
128. Azoulay M, Santos F, Souhami L, Panet-Raymond V, Petrecca K, Owen S, et al. Comparison of radiation regimens in the treatment of Glioblastoma multiforme: results from a single institution. *Radiat Oncol Lond Engl*. 2015;10(1):106.
129. Simon J-M, Toubiana T, Lang P, Taillibert S, Mazeron J-J. [Radiotherapy for glioblastomas: from radiobiology to concomitant chemotherapy]. *Cancer Radiothérapie J Société Fr Radiothérapie Oncol*. 2005 Sep;9(5):322–31.
130. Omuro A, Beal K, Gutin P, Karimi S, Correa DD, Kaley TJ, et al. Phase II study of bevacizumab, temozolomide, and hypofractionated stereotactic radiotherapy for newly diagnosed glioblastoma. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2014 Oct 1;20(19):5023–31.
131. Brandes AA, Rigon A, Zampieri P, Ermani M, Carollo C, Altavilla G, et al. Carboplatin and teniposide concurrent with radiotherapy in patients with glioblastoma multiforme: a phase II study. *Cancer*. 1998 Jan 15;82(2):355–61.
132. Grossman SA, O'Neill A, Grunnet M, Mehta M, Pearlman JL, Wagner H, et al. Phase III study comparing three cycles of infusional carmustine and cisplatin followed by radiation therapy with radiation therapy and concurrent carmustine in patients with newly diagnosed supratentorial glioblastoma multiforme: Eastern Cooperative Oncology Group Trial 2394. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2003 Apr 15;21(8):1485–91.
133. Rajan B, Ross G, Lim CC, Ashley S, Goode D, Traish D, et al. Survival in patients with recurrent glioma as a measure of treatment efficacy: prognostic factors following nitrosourea chemotherapy. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. 1994;30A(12):1809–15.

134. Milano MT, Okunieff P, Donatello RS, Mohile NA, Sul J, Walter KA, et al. Patterns and timing of recurrence after temozolomide-based chemoradiation for glioblastoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2010 Nov 15;78(4):1147–55.
135. Reithmeier T, Graf E, Piroth T, Trippel M, Pinsker MO, Nikkhah G. BCNU for recurrent glioblastoma multiforme: efficacy, toxicity and prognostic factors. *BMC Cancer*. 2010;10:30.
136. Kim KJ, Li B, Winer J, Armanini M, Gillett N, Phillips HS, et al. Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumour growth in vivo. *Nature*. 1993 Apr 29;362(6423):841–4.
137. Lai A, Tran A, Nghiemphu PL, Pope WB, Solis OE, Selch M, et al. Phase II study of bevacizumab plus temozolomide during and after radiation therapy for patients with newly diagnosed glioblastoma multiforme. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2011 Jan 10;29(2):142–8.
138. Addeo R, Perri F, Parlato C, Della Vittoria G. ASCO 2013: bevacizumab and glioblastoma--a marriage dissolution? *Curr Med Res Opin*. 2014 Sep;30(9):1871–3.
139. Taphoorn MJB, Henriksson R, Bottomley A, Cloughesy T, Wick W, Mason WP, et al. Health-Related Quality of Life in a Randomized Phase III Study of Bevacizumab, Temozolomide, and Radiotherapy in Newly Diagnosed Glioblastoma. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2015 May 26;
140. Mladkova N, Chakravarti A. Molecular profiling in glioblastoma: prelude to personalized treatment. *Curr Oncol Rep*. 2009 Jan;11(1):53–61.
141. Ruan Y, Huang S, He D, Gopaul R, Li Z, Chen G. Effect of TNFRSF6B neutralization antibody on cell growth suppression and apoptosis induction in glioma cells. *Neoplasma*. 2015 May 22;
142. Yao T-W, Zhang J, Prados M, Weiss WA, James CD, Nicolaidis T. EGFR blockade prevents glioma escape from BRAFV600E targeted therapy. *Oncotarget*. 2015 May 22;
143. Bredel M, Scholtens DM, Yadav AK, Alvarez AA, Renfrow JJ, Chandler JP, et al. NFKBIA deletion in glioblastomas. *N Engl J Med*. 2011 Feb 17;364(7):627–37.
144. Amar AP, DeArmond SJ, Spencer DR, Coopersmith PF, Ramos DM, Rosenblum ML. Development of an in vitro extracellular matrix assay for studies of brain tumor cell invasion. *J Neurooncol*. 1994;20(1):1–15.
145. Zhao H, Tang C, Cui K, Ang B-T, Wong STC. A screening platform for glioma growth and invasion using bioluminescence imaging. Laboratory investigation. *J Neurosurg*. 2009 Aug;111(2):238–46.
146. Yan R, Haopeng P, Xiaoyuan F, Jinsong W, Jiawen Z, Chengjun Y, et al. Non-Gaussian diffusion MR imaging of glioma: comparisons of multiple diffusion parameters and correlation with histologic grade and MIB-1 (Ki-67 labeling) index. *Neuroradiology*. 2015 Oct 22;

147. Palfi S, Swanson KR, De Boüard S, Chrétien F, Oliveira R, Gherardi RK, et al. Correlation of in vitro infiltration with glioma histological type in organotypic brain slices. *Br J Cancer*. 2004 Aug 16;91(4):745–52.
148. Rao SS, Lannutti JJ, Viapiano MS, Sarkar A, Winter JO. Toward 3D biomimetic models to understand the behavior of glioblastoma multiforme cells. *Tissue Eng Part B Rev*. 2014 Aug;20(4):314–27.
149. Tracqui P, Cruywagen GC, Woodward DE, Bartoo GT, Murray JD, Alvord EC. A mathematical model of glioma growth: the effect of chemotherapy on spatio-temporal growth. *Cell Prolif*. 1995 Jan;28(1):17–31.
150. Woodward DE, Cook J, Tracqui P, Cruywagen GC, Murray JD, Alvord EC. A mathematical model of glioma growth: the effect of extent of surgical resection. *Cell Prolif*. 1996 Jun;29(6):269–88.
151. Burgess PK, Kulesa PM, Murray JD, Alvord EC. The interaction of growth rates and diffusion coefficients in a three-dimensional mathematical model of gliomas. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1997 Jun;56(6):704–13.
152. Murray J. *Mathematical Biology*. In: 3rd ed. New York, NY. Springer-Verlag; 2002.
153. Swanson KR, Alvord EC, Murray JD. Virtual brain tumours (gliomas) enhance the reality of medical imaging and highlight inadequacies of current therapy. *Br J Cancer*. 2002 Jan 7;86(1):14–8.
154. Swanson KR, Bridge C, Murray JD, Alvord EC. Virtual and real brain tumors: using mathematical modeling to quantify glioma growth and invasion. *J Neurol Sci*. 2003 Dec 15;216(1):1–10.
155. Gooya A, Biros G, Davatzikos C. Deformable registration of glioma images using EM algorithm and diffusion reaction modeling. *IEEE Trans Med Imaging*. 2011 Feb;30(2):375–90.
156. Swanson KR, Rostomily RC, Alvord EC. A mathematical modelling tool for predicting survival of individual patients following resection of glioblastoma: a proof of principle. *Br J Cancer*. 2008 Jan 15;98(1):113–9.
157. Mandonnet E, Pallud J, Fontaine D, Taillandier L, Bauchet L, Peruzzi P, et al. Inter- and inpatients comparison of WHO grade II glioma kinetics before and after surgical resection. *Neurosurg Rev*. 2010 Jan;33(1):91–6.
158. Talairach J, Tournoux P. *Co-Planar stereotaxic Atlas of the human brain*. New York. 1988. (Thieme Medical Publishers).
159. Iosifescu DV, Shenton ME, Warfield SK, Kikinis R, Dengler J, Jolesz FA, et al. An automated registration algorithm for measuring MRI subcortical brain structures. *NeuroImage*. 1997 Jul;6(1):13–25.

160. Holmes CJ, Hoge R, Collins L, Woods R, Toga AW, Evans AC. Enhancement of MR images using registration for signal averaging. *J Comput Assist Tomogr.* 1998 Apr;22(2):324–33.
161. Collins DL, Neelin P, Peters TM, Evans AC. Automatic 3D intersubject registration of MR volumetric data in standardized Talairach space. *J Comput Assist Tomogr.* 1994 Apr;18(2):192–205.
162. Fonov V, Evans AC, Botteron K, Almli CR, McKinstry RC, Collins DL, et al. Unbiased average age-appropriate atlases for pediatric studies. *NeuroImage.* 2011 Jan 1;54(1):313–27.
163. Mazziotta J, Toga A, Evans A, Fox P, Lancaster J, Zilles K, et al. A probabilistic atlas and reference system for the human brain: International Consortium for Brain Mapping (ICBM). *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2001 Aug 29;356(1412):1293–322.
164. Swanson K, Alvord EJ, Murray J. A quantitative model for differential motility of gliomas in grey and white matter. 2000 Oct;317–29.
165. Clatz O, Sermesant M, Bondiau P-Y, Delingette H, Warfield SK, Malandain G, et al. Realistic simulation of the 3-D growth of brain tumors in MR images coupling diffusion with biomechanical deformation. *IEEE Trans Med Imaging.* 2005 Oct;24(10):1334–46.
166. Jbabdi S, Mandonnet E, Duffau H, Capelle L, Swanson KR, Pélégriani-Issac M, et al. Simulation of anisotropic growth of low-grade gliomas using diffusion tensor imaging. *Magn Reson Med.* 2005 Sep;54(3):616–24.
167. Stretton E, Geremia E, Menze B, Delingette H, Ayache N. Importance of patient DTI's to accurately model glioma growth using the reaction diffusion equation. *ISBI.* 2013;
168. Stretton E, Mandonnet E, Geremia E, Menze B, Delingette h, Ayache N. Predicting the location of glioma recurrence after a resection surgery. *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention.* 2012;
169. Kleihues P, Louis DN, Scheithauer BW, Rorke LB, Reifenberger G, Burger PC, et al. The WHO classification of tumors of the nervous system. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2002 Mar;61(3):215–25; discussion 226–9.
170. Loussouarn D, Le Loupp A-G, Frenel J-S, Leclair F, Von Deimling A, Aumont M, et al. Comparison of immunohistochemistry, DNA sequencing and allele-specific PCR for the detection of IDH1 mutations in gliomas. *Int J Oncol.* 2012 Jun;40(6):2058–62.
171. Frenel JS, Leux C, Loussouarn D, Le Loupp A-G, Leclair F, Aumont M, et al. Combining two biomarkers, IDH1/2 mutations and 1p/19q codeletion, to stratify anaplastic oligodendroglioma in three groups: a single-center experience. *J Neurooncol.* 2013 Aug;114(1):85–91.

172. Quillien V, Lavenu A, Karayan-Tapon L, Carpentier C, Labussière M, Lesimple T, et al. Comparative assessment of 5 methods (methylation-specific polymerase chain reaction, MethyLight, pyrosequencing, methylation-sensitive high-resolution melting, and immunohistochemistry) to analyze O6-methylguanine-DNA-methyltransferase in a series of 100 glioblastoma patients. *Cancer*. 2012 Sep 1;118(17):4201–11.
173. Quillien V, Lavenu A, Sanson M, Legrain M, Dubus P, Karayan-Tapon L, et al. Outcome-based determination of optimal pyrosequencing assay for MGMT methylation detection in glioblastoma patients. *J Neurooncol*. 2014 Feb;116(3):487–96.
174. Gerin C, Pallud J, Deroulers C, Varlet P, Oppenheim C, Roux F-X, et al. Quantitative characterization of the imaging limits of diffuse low-grade oligodendrogliomas. *Neuro-Oncol*. 2013 Oct;15(10):1379–88.
175. Mineo J-F, Bordron A, Baroncini M, Ramirez C, Maurage C-A, Blond S, et al. Prognosis factors of survival time in patients with glioblastoma multiforme: a multivariate analysis of 340 patients. *Acta Neurochir (Wien)*. 2007 Mar;149(3):245–52; discussion 252–3.
176. Mandonnet E, Capelle L, Duffau H. Extension of paralimbic low grade gliomas: toward an anatomical classification based on white matter invasion patterns. *J Neurooncol*. 2006 Jun;78(2):179–85.
177. Johnson DR, O'Neill BP. Glioblastoma survival in the United States before and during the temozolomide era. *J Neurooncol*. 2012 Apr;107(2):359–64.
178. Rønning PA, Helseth E, Meling TR, Johannesen TB. A population-based study on the effect of temozolomide in the treatment of glioblastoma multiforme. *Neuro-Oncol*. 2012 Sep;14(9):1178–84.
179. Vertosick FT, Selker RG. Long-term survival after the diagnosis of malignant glioma: a series of 22 patients surviving more than 4 years after diagnosis. *Surg Neurol*. 1992 Nov;38(5):359–63.
180. Johnson DR, Ma DJ, Buckner JC, Hammack JE. Conditional probability of long-term survival in glioblastoma: a population-based analysis. *Cancer*. 2012 Nov 15;118(22):5608–13.
181. Shinojima N, Kochi M, Hamada J, Nakamura H, Yano S, Makino K, et al. The influence of sex and the presence of giant cells on postoperative long-term survival in adult patients with supratentorial glioblastoma multiforme. *J Neurosurg*. 2004 Aug;101(2):219–26.
182. McLendon RE, Halperin EC. Is the long-term survival of patients with intracranial glioblastoma multiforme overstated? *Cancer*. 2003 Oct 15;98(8):1745–8.
183. Shah N, Lin B, Sibenaller Z, Ryken T, Lee H, Yoon J-G, et al. Comprehensive analysis of MGMT promoter methylation: correlation with MGMT expression and clinical response in GBM. *PLoS One*. 2011;6(1):e16146.

184. Gilbert MR, Wang M, Aldape KD, Stupp R, Hegi ME, Jaeckle KA, et al. Dose-dense temozolomide for newly diagnosed glioblastoma: a randomized phase III clinical trial. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2013 Nov 10;31(32):4085–91.
185. Gerber NK, Goenka A, Turcan S, Reyngold M, Makarov V, Kannan K, et al. Transcriptional diversity of long-term glioblastoma survivors. *Neuro-Oncol*. 2014 Sep;16(9):1186–95.
186. Zhang K, Wang X, Zhou B, Zhang L. The prognostic value of MGMT promoter methylation in Glioblastoma multiforme: a meta-analysis. *Fam Cancer*. 2013 Sep;12(3):449–58.
187. Cheng H-B, Yue W, Xie C, Zhang R-Y, Hu S-S, Wang Z. IDH1 mutation is associated with improved overall survival in patients with glioblastoma: a meta-analysis. *Tumour Biol J Int Soc Oncodevelopmental Biol Med*. 2013 Dec;34(6):3555–9.
188. Reifenberger G, Weber RG, Riehm V, Kaulich K, Willscher E, Wirth H, et al. Molecular characterization of long-term survivors of glioblastoma using genome- and transcriptome-wide profiling. *Int J Cancer J Int Cancer*. 2014 Oct 15;135(8):1822–31.
189. Amelot A, De Cremoux P, Quillien V, Polivka M, Adle-Biassette H, Lehmann-Che J, et al. IDH-Mutation Is a Weak Predictor of Long-Term Survival in Glioblastoma Patients. *PloS One*. 2015;10(7):e0130596.
190. Molenaar RJ, Verbaan D, Lamba S, Zanon C, Jeuken JWM, Boots-Sprenger SHE, et al. The combination of IDH1 mutations and MGMT methylation status predicts survival in glioblastoma better than either IDH1 or MGMT alone. *Neuro-Oncol*. 2014 Sep;16(9):1263–73.
191. Kelly PJ. Gliomas: Survival, origin and early detection. *Surg Neurol Int*. 2010;1:96.
192. Konukoglu E, Clatz O, Bondiau P-Y, Delingette H, Ayache N. Extrapolating glioma invasion margin in brain magnetic resonance images: suggesting new irradiation margins. *Med Image Anal*. 2010 Apr;14(2):111–25.
193. Konukoglu E, Clatz O, Menze BH, Stieltjes B, Weber M-A, Mandonnet E, et al. Image guided personalization of reaction-diffusion type tumor growth models using modified anisotropic eikonal equations. *IEEE Trans Med Imaging*. 2010 Jan;29(1):77–95.
194. Bohman L-E, Swanson KR, Moore JL, Rockne R, Mandigo C, Hankinson T, et al. Magnetic resonance imaging characteristics of glioblastoma multiforme: implications for understanding glioma ontogeny. *Neurosurgery*. 2010 Nov;67(5):1319–27; discussion 1327–8.
195. Lim DA, Cha S, Mayo MC, Chen M-H, Keles E, Vandenberg S, et al. Relationship of glioblastoma multiforme to neural stem cell regions predicts invasive and multifocal tumor phenotype. *Neuro-Oncol*. 2007 Oct;9(4):424–9.

196. Hamid O, Robert C, Daud A, Hodi FS, Hwu W-J, Kefford R, et al. Safety and tumor responses with lambrolizumab (anti-PD-1) in melanoma. *N Engl J Med*. 2013 Jul 11;369(2):134–44.
197. Berghoff AS, Kiesel B, Widhalm G, Rajky O, Ricken G, Wöhrer A, et al. Programmed death ligand 1 expression and tumor-infiltrating lymphocytes in glioblastoma. *Neuro-Oncol*. 2015 Aug;17(8):1064–75.
198. Akbari H, Macyszyn L, Da X, Bilello M, Wolf RL, Martinez-Lage M, et al. Imaging Surrogates of Infiltration Obtained Via Multiparametric Imaging Pattern Analysis Predict Subsequent Location of Recurrence of Glioblastoma. *Neurosurgery*. 2016 Apr;78(4):572–80.

Annexe 1: article I

IDH-Mutation is a weak predictor of long-term survival in glioblastoma patients.

Amelot A, De Cremoux P, Quillien V, Marc Polivka M, Homa Adle-Biassette H, Lehmann-Che J, Françoise L, Carpentier AF, George B, Mandonnet E, Froelich S

Plos One. 2015 Jul 9;10(7):e0130596. doi:10.1371/ journal.pone.0130596.eCollection 2015.