



**HAL**  
open science

# Rôle du rs1128503 d'ABCB1 dans la survenue d'une thrombopénie, chez les patients atteints de glioblastome et traités par témozolomide

Clément Ducastel

► **To cite this version:**

Clément Ducastel. Rôle du rs1128503 d'ABCB1 dans la survenue d'une thrombopénie, chez les patients atteints de glioblastome et traités par témozolomide. Médecine humaine et pathologie. 2020. dumas-03134522

**HAL Id: dumas-03134522**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03134522>**

Submitted on 22 Feb 2021

**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.

**UFR DE SANTE DE ROUEN NORMANDIE**

**ANNEE 2020-2021**

**N°**

**THÈSE POUR LE  
DOCTORAT EN MEDECINE**

(Diplôme d'Etat)

Par

DUCASTEL Clément

Né le 02 Juillet 1990 à Mont-Saint-Aignan

PRESENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 01 DÉCEMBRE 2020

**Rôle du rs1128503 d'*ABCB1* dans la survenue d'une  
thrombopénie, chez les patients atteints de glioblastome et traités  
par témozolomide.**

PRESIDENT DU JURY : Madame le Professeur Soumeya BEKRI

DIRECTEUR DE THESE : Monsieur le Docteur Fabien LAMOUREUX

MEMBRES DU JURY : Monsieur le Professeur Loïc FAVENNEC

Monsieur le Docteur Maxime FONTANILLES

Madame le Docteur Marine MALLETER

Monsieur le Docteur Julien WILS

**ANNEE UNIVERSITAIRE 2020 - 2021**

**U.F.R. SANTÉ DE ROUEN**

-----

DOYEN : **Professeur Benoît VEBER**

ASSESEURS : **Professeur Loïc FAVENNEC**  
**Professeur Agnès LIARD**  
**Professeur Guillaume SAVOYE**

**I - MEDECINE**

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS**

Mr Frédéric <b>ANSELME</b>	HCN	Cardiologie
Mme Gisèle <b>APTER</b>	Havre	Pédopsychiatrie
Mme Isabelle <b>AUQUIT AUCKBUR</b>	HCN	Chirurgie plastique
Mr Jean-Marc <b>BASTE</b>	HCN	Chirurgie Thoracique
Mr Fabrice <b>BAUER</b>	HCN	Cardiologie
Mme Soumeya <b>BEKRI</b>	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Ygal <b>BENHAMOU</b>	HCN	Médecine interne
Mr Jacques <b>BENICHOU</b>	HCN	Bio statistiques et informatique médicale
Mr Olivier <b>BOYER</b>	UFR	Immunologie
Mme Sophie <b>CANDON</b>	HCN	Immunologie
Mr François <b>CARON</b>	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Philippe <b>CHASSAGNE</b>	HCN	Médecine interne (gériatrie)
Mr Moïse <b>COEFFIER</b>	HCN	Nutrition
Mr Vincent <b>COMPERE</b>	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mr Jean-Nicolas <b>CORNU</b>	HCN	Urologie
Mr Antoine <b>CUVELIER</b>	HB	Pneumologie
Mr Jean-Nicolas <b>DACHER</b>	HCN	Radiologie et imagerie médicale
Mr Stéfan <b>DARMONI</b>	HCN	Informatique médicale et techniques de communication
Mr Pierre <b>DECHELOTTE</b>	HCN	Nutrition

Mr Stéphane <b>DERREY</b>	HCN	Neurochirurgie
Mr Frédéric <b>DI FIORE</b>	CHB	Cancérologie
Mr Fabien <b>DOGUET</b>	HCN	Chirurgie Cardio Vasculaire
Mr Jean <b>DOUCET</b>	SJ	Thérapeutique - Médecine interne et gériatrie
Mr Bernard <b>DUBRAY</b>	CHB	Radiothérapie
Mr Frank <b>DUJARDIN</b>	HCN	Chirurgie orthopédique - Traumatologique
Mr Fabrice <b>DUPARC</b>	HCN	Anatomie - Chirurgie orthopédique et traumatologique
Mr Eric <b>DURAND</b>	HCN	Cardiologie
Mr Bertrand <b>DUREUIL</b>	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mme Hélène <b>ELTCHANINOFF</b>	HCN	Cardiologie
Mr Manuel <b>ETIENNE</b>	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Thierry <b>FREBOURG</b>	UFR	Génétique
Mr Pierre <b>FREGER</b> ( <i>surnombre</i> )	HCN	Anatomie - Neurochirurgie
Mr Jean François <b>GEHANNO</b>	HCN	Médecine et santé au travail
Mr Emmanuel <b>GERARDIN</b>	HCN	Imagerie médicale
Mme Priscille <b>GERARDIN</b>	HCN	Pédopsychiatrie
M. Guillaume <b>GOURCEROL</b>	HCN	Physiologie
Mr Dominique <b>GUERROT</b>	HCN	Néphrologie
Mme Julie <b>GUEUDRY</b>	HCN	Ophtalmologie
Mr Olivier <b>GULLIN</b>	HCN	Psychiatrie Adultes
Mr Claude <b>HOUDAYER</b>	HCN	Génétique
Mr Fabrice <b>JARDIN</b>	CHB	Hématologie
Mr Luc-Marie <b>JOLY</b>	HCN	Médecine d'urgence
Mr Pascal <b>JOLY</b>	HCN	Dermato – Vénérologie
Mme Bouchra <b>LAMIA</b>	Havre	Pneumologie
Mme Annie <b>LAQUERRIERE</b>	HCN	Anatomie et cytologie pathologiques
Mr Vincent <b>LAUDENBACH</b>	HCN	Anesthésie et réanimation chirurgicale
Mr Hervé <b>LEFEBVRE</b>	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
Mr Thierry <b>LEQUERRE</b>	HCN	Rhumatologie
Mme Anne-Marie <b>LEROI</b>	HCN	Physiologie
Mr Hervé <b>LEVESQUE</b>	HCN	Médecine interne
Mme Agnès <b>LIARD-ZMUDA</b>	HCN	Chirurgie Infantile
Mr Pierre Yves <b>LITZLER</b>	HCN	Chirurgie cardiaque
M. David <b>MALTETE</b>	HCN	Neurologie
Mr Christophe <b>MARGUET</b>	HCN	Pédiatrie
Mme Isabelle <b>MARIE</b>	HCN	Médecine interne

Mr Jean-Paul <b>MARIE</b>	HCN	Oto-rhino-laryngologie
Mr Loïc <b>MARPEAU</b>	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Stéphane <b>MARRET</b>	HCN	Pédiatrie
Mme Véronique <b>MERLE</b>	HCN	Epidémiologie
Mr Pierre <b>MICHEL</b>	HCN	Hépatogastro-entérologie
M. Benoit <b>MISSET</b> ( <i>détachement</i> )	HCN	Réanimation Médicale
Mr Marc <b>MURAINÉ</b>	HCN	Ophthalmologie
Mr Christian <b>PFISTER</b>	HCN	Urologie
Mr Jean-Christophe <b>PLANTIER</b>	HCN	Bactériologie - Virologie
Mr Didier <b>PLISSONNIER</b>	HCN	Chirurgie vasculaire
Mr Gaëtan <b>PREVOST</b>	HCN	Endocrinologie
Mr Jean-Christophe <b>RICHARD</b> ( <i>détachement</i> )	HCN	Réanimation médicale - Médecine d'urgence
Mr Vincent <b>RICHARD</b>	UFR	Pharmacologie
Mme Nathalie <b>RIVES</b>	HCN	Biologie du développement et de la reproduction
Mr Horace <b>ROMAN</b> ( <i>détachement</i> )	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Jean-Christophe <b>SABOURIN</b>	HCN	Anatomie – Pathologie
Mr Mathieu <b>SALAUN</b>	HCN	Pneumologie
Mr Guillaume <b>SAVOYE</b>	HCN	Hépatogastrologie
Mme Céline <b>SAVOYE-COLLET</b>	HCN	Imagerie médicale
Mme Pascale <b>SCHNEIDER</b>	HCN	Pédiatrie
Mr Lilian <b>SCHWARZ</b>	HCN	Chirurgie Viscérale et Digestive
Mr Michel <b>SCOTTE</b>	HCN	Chirurgie digestive
Mme Fabienne <b>TAMION</b>	HCN	Thérapeutique
Mr Luc <b>THIBERVILLE</b>	HCN	Pneumologie
Mr Hervé <b>TILLY</b> ( <i>surnombre</i> )	CHB	Hématologie et transfusion
M. Gilles <b>TOURNEL</b>	HCN	Médecine Légale
Mr Olivier <b>TROST</b>	HCN	Anatomie -Chirurgie Maxillo-Faciale
Mr Jean-Jacques <b>TUECH</b>	HCN	Chirurgie digestive
Mr Benoît <b>VEBER</b>	HCN	Anesthésiologie - Réanimation chirurgicale
Mr Pierre <b>VERA</b>	CHB	Biophysique et traitement de l'image
Mr Eric <b>VERIN</b>	Les Herbiers	Médecine Physique et de Réadaptation
Mr Eric <b>VERSPYCK</b>	HCN	Gynécologie obstétrique
Mr Olivier <b>VITTECOQ</b>	HC	Rhumatologie
Mr David <b>WALLON</b>	HCN	Neurologie
Mme Marie-Laure <b>WELTER</b>	HCN	Physiologie

## MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme Najate <b>ACHAMRAH</b>	HCN	Nutrition
Mme Elodie <b>ALESSANDRI-GRADT</b>	HCN	Virologie
Mme Noëlle <b>BARBIER-FREBOURG</b>	HCN	Bactériologie – Virologie
Mr Emmanuel <b>BESNIER</b>	HCN	Anesthésiologie - Réanimation
Mme Carole <b>BRASSE LAGNEL</b>	HCN	Biochimie
Mme Valérie <b>BRIDOUX HUYBRECHTS</b>	HCN	Chirurgie Vasculaire
Mr Gérard <b>BUCHONNET</b>	HCN	Hématologie
Mme Mireille <b>CASTANET</b>	HCN	Pédiatrie
Mme Nathalie <b>CHASTAN</b>	HCN	Neurophysiologie
M. Vianney <b>GILARD</b>	HCN	Neurochirurgie
Mr Serge <b>JACQUOT</b>	UFR	Immunologie
Mr Joël <b>LADNER</b>	HCN	Epidémiologie, économie de la santé
Mr Jean-Baptiste <b>LATOUCHE</b>	UFR	Biologie cellulaire
M. Florent <b>MARGUET</b>	HCN	Histologie
Mme Chloé <b>MELCHIOR</b>	HCN	Gastroentérologie
M. Sébastien <b>MIRANDA</b>	HCN	Chirurgie Vasculaire
Mr Thomas <b>MOUREZ</b> ( <i>détachement</i> )	HCN	Virologie
Mr Gaël <b>NICOLAS</b>	UFR	Génétique
Mme Muriel <b>QUILLARD</b>	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mme Laëtitia <b>ROLLIN</b>	HCN	Médecine du Travail
Mme Pascale <b>SAUGIER-VEBER</b>	HCN	Génétique
M. Abdellah <b>TEBANI</b>	HCN	Biochimie et Biologie Moléculaire
Mme Anne-Claire <b>TOBENAS-DUJARDIN</b>	HCN	Anatomie
Mr Julien <b>WILS</b>	HCN	Pharmacologie

## PROFESSEUR AGREGE OU CERTIFIE

Mr Thierry <b>WABLE</b>	UFR	Communication
Mme Mélanie <b>AUVRAY-HAMEL</b>	UFR	Anglais

## ATTACHE TEMPORAIRES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE à MI-TEMPS

Mme Justine <b>SAULNIER</b>	UFR	Biologie
-----------------------------	-----	----------

## II - PHARMACIE

### PROFESSEURS DES UNIVERSITES

Mr Jérémy <b>BELLIEN</b> (PU-PH)	Pharmacologie
Mr Thierry <b>BESSON</b>	Chimie Thérapeutique
Mr Jean <b>COSTENTIN</b> (Professeur émérite)	Pharmacologie
Mme Isabelle <b>DUBUS</b>	Biochimie
Mr Abdelhakim <b>EL OMRI</b>	Pharmacognosie
Mr François <b>ESTOUR</b>	Chimie Organique
Mr Loïc <b>FAVENNEC</b> (PU-PH)	Parasitologie
Mr Jean Pierre <b>GOULLE</b> (Professeur émérite)	Toxicologie
Mme Christelle <b>MONTEIL</b>	Toxicologie
Mme Martine <b>PESTEL-CARON</b> (PU-PH)	Microbiologie
Mr Rémi <b>VARIN</b> (PU-PH)	Pharmacie clinique
Mr Jean-Marie <b>VAUGEUIS</b>	Pharmacologie
Mr Philippe <b>VERITE</b>	Chimie analytique

### MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

Mme Cécile <b>BARBOT</b>	Chimie Générale et Minérale
Mr Frédéric <b>BOUNOURE</b>	Pharmacie Galénique
Mr Thomas <b>CASTANHEIRO MATIAS</b>	Chimie Organique
Mr Abdeslam <b>CHAGRAOUI</b>	Physiologie
Mme Camille <b>CHARBONNIER (LE CLEZIO)</b>	Statistiques
Mme Elizabeth <b>CHOSSON</b>	Botanique
Mme Marie Catherine <b>CONCE-CHEMTOB</b>	Législation pharmaceutique et économie de la santé
Mme Cécile <b>CORBIERE</b>	Biochimie
Mme Nathalie <b>DOURMAP</b>	Pharmacologie
Mme Isabelle <b>DUBUC</b>	Pharmacologie
Mme Dominique <b>DUTERTE- BOUCHER</b>	Pharmacologie
Mr Gilles <b>GARGALA</b> (MCU-PH)	Parasitologie
Mme Nejla EL <b>GHARBI-HAMZA</b>	Chimie analytique
Mme Marie-Laure <b>GROULT</b>	Botanique

Mr Chervin <b>HASSEL</b>	Biochimie et Biologie Moléculaire
Mme Maryline <b>LECOINTRE</b>	Physiologie
Mme Hong <b>LU</b>	Biologie
Mme Marine <b>MALLETER</b>	Toxicologie
M. Jérémie <b>MARTINET</b> (MCU-PH)	Immunologie
M. Romy <b>RAZAKANDRAINIBÉ</b>	Parasitologie
Mme Tiphaine <b>ROGEZ-FLORENT</b>	Chimie analytique
Mr Mohamed <b>SKIBA</b>	Pharmacie galénique
Mme Malika <b>SKIBA</b>	Pharmacie galénique
Mme Christine <b>THARASSE</b>	Chimie thérapeutique
Mr Frédéric <b>ZIEGLER</b>	Biochimie

#### **PROFESSEURS ASSOCIES**

Mme Cécile <b>GUERARD-DETUNCQ</b>	Pharmacie officinale
Mme Caroline <b>BERTOUX</b>	Pharmacie

#### **PAU-PH**

M. Mikaël **DAOUPHARS**

#### **PROFESSEUR CERTIFIE**

Mme Mathilde <b>GUERIN</b>	Anglais
----------------------------	---------

#### **ASSISTANTS HOSPITALO-UNIVERSITAIRES**

Mme Alice <b>MOISAN</b>	Virologie
M. Henri <b>GONDÉ</b>	Pharmacie

#### **ATTACHES TEMPORAIRES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE**

Mme Soukaina <b>GUAOUA-ELJADDI</b>	Informatique
Mme Clémence <b>MEAUSOONE</b>	Toxicologie

#### **ATTACHE TEMPORAIRE D'ENSEIGNEMENT**

Mme Ramla <b>SALHI</b>	Pharmacognosie
------------------------	----------------

<b>LISTE DES RESPONSABLES DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES</b>
---

Mme Cécile <b>BARBOT</b>	Chimie Générale et minérale
Mr Thierry <b>BESSON</b>	Chimie thérapeutique
Mr Abdeslam <b>CHAGRAOUI</b>	Physiologie
Mme Elisabeth <b>CHOSSON</b>	Botanique
Mme Marie-Catherine <b>CONCE-CHEMTOB</b>	Législation et économie de la santé
Mme Isabelle <b>DUBUS</b>	Biochimie
Mr Abdelhakim <b>EL OMRI</b>	Pharmacognosie
Mr François <b>ESTOUR</b>	Chimie organique
Mr Loïc <b>FAVENNEC</b>	Parasitologie
Mr Michel <b>GUERBET</b>	Toxicologie
Mme Martine <b>PESTEL-CARON</b>	Microbiologie
Mr Mohamed <b>SKIBA</b>	Pharmacie galénique
Mr Rémi <b>VARIN</b>	Pharmacie clinique
M. Jean-Marie <b>VAUGEOIS</b>	Pharmacologie
Mr Philippe <b>VERITE</b>	Chimie analytique

### III – MEDECINE GENERALE

#### PROFESSEUR MEDECINE GENERALE

Mr Jean-Loup **HERMIL** (PU-MG) UFR Médecine générale

#### MAITRE DE CONFERENCE MEDECINE GENERALE

Mr Matthieu **SCHUERS** (MCU-MG) UFR Médecine générale

#### PROFESSEURS ASSOCIES A MI-TEMPS – MEDECINS GENERALISTE

Mr Pascal **BOULET** UFR Médecine générale

Mr Emmanuel **LEFEBVRE** UFR Médecine Générale

Mme Elisabeth **MAUVIARD** UFR Médecine générale

Mr Philippe **NGUYEN THANH** UFR Médecine générale

Mme Yveline **SEVRIN** UFR Médecine générale

#### MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS – MEDECINS GENERALISTES

Mme Laëtitia **BOURDON** UFR Médecine Générale

Mme Elsa **FAGOT-GRIFFIN** UFR Médecine Générale

Mr Emmanuel **HAZARD** UFR Médecine Générale

Mme Lucile **PELLERIN** UFR Médecine générale

## ENSEIGNANTS MONO-APPARTENANTS

### PROFESSEURS

Mr Paul <b>MULDER</b> (phar)	Sciences du Médicament
Mme Su <b>RUAN</b> (med)	Génie Informatique

### MAITRES DE CONFERENCES

Mr Sahil <b>ADRIOUCH</b> (med)	Biochimie et biologie moléculaire (Unité Inserm 905)
Mme Gaëlle <b>BOUGEARD-DENOYELLE</b> (med)	Biochimie et biologie moléculaire (UMR 1079)
Mme Carine <b>CLEREN</b> (med)	Neurosciences (Néovasc)
M. Sylvain <b>FRAINEAU</b> (med)	Physiologie (Inserm U 1096)
Mme Pascaline <b>GAILDRAT</b> (med)	Génétique moléculaire humaine (UMR 1079)
Mr Nicolas <b>GUEROUT</b> (med)	Chirurgie Expérimentale
Mme Rachel <b>LETELLIER</b> (med)	Physiologie
Mr Antoine <b>OUVRARD-PASCAUD</b> (med)	Physiologie (Unité Inserm 1076)
Mr Frédéric <b>PASQUET</b>	Sciences du langage, orthophonie
Mme Anne-Sophie <b>PEZZINO</b>	Orthophonie
Mme Christine <b>RONDANINO</b> (med)	Physiologie de la reproduction
Mr Youssan Var <b>TAN</b>	Immunologie
Mme Isabelle <b>TOURNIER</b> (med)	Biochimie (UMR 1079)

**DIRECTEUR ADMINISTRATIF** : M. Jean-Sébastien **VALET**

**HCN - Hôpital Charles Nicolle**

**HB - Hôpital de BOIS GUILLAUME**

**CB - Centre Henri Becquerel**

**CHS - Centre Hospitalier Spécialisé du Rouvray**

**CRMPR - Centre Régional de Médecine Physique et de Réadaptation**      **SJ – Saint Julien Rouen**

Par délibération en date du 3 mars 1967, la faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbations.

## Remerciements

**Je tiens à adresser mes sincères remerciements aux membres du jury :**

*Tout particulièrement à Madame le Professeur Soumeya Bekri, pour avoir accepté la présidence de ce jury dans un délai aussi bref. Ainsi que pour avoir été la première à me permettre d'utiliser une technologie de séquençage haut débit. C'est un honneur de disposer de votre expertise pour ce travail.*

*Monsieur le Docteur Fabien Lamoureux, pour m'avoir permis de réaliser ce travail et l'avoir encadré. Pour sa gentillesse, son écoute et tout l'investissement universitaire dont il fait preuve envers les internes de biologie médicale et de pharmacie.*

*Monsieur le Professeur Loïc Favennec, pour avoir accepté de juger ce travail, ainsi que pour ses cours magistraux passionnés et passionnants de parasitologie dont je garde un très bon souvenir.*

*Monsieur le Docteur Maxime Fontanilles, pour m'avoir intégré à ce travail, et convié à l'analyse des données de cette cohorte, ainsi que pour la réassurance témoignée à mon égard.*

*Madame le Docteur Marine Malleter, pour avoir accepté de juger ce travail, et l'efficacité de nos échanges.*

*Monsieur le Docteur Julien Wils, pour l'éthique qu'il a de notre discipline et son souci du devenir de chaque ancien interne de biologie médicale.*

**Je tiens également à remercier deux personnes qui ont beaucoup contribué à ce projet :**

*Monsieur le Docteur Mathieu Jamelot, qui a enduré avec moi le recueil de données et dont le travail de DES m'a précédé.*

*Madame le Docteur Justine Lequesne, pour l'aide précieuse fournie lors de l'analyse des données.*

**Enfin je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à ces 12 années d'études :**

*Les infirmières, internes, médecins, biologistes et techniciens que j'ai pu côtoyer sur mes différents lieux de stages et de remplacements.*

*Mes co-internes, pour les bons et les mauvais moments passés ensemble.*

*Mes amis de fac, avec qui j'ai partagé bien plus que des études et dont l'amitié persiste maintenant au-delà du travail.*

*Mes amis de toujours, qui seront à jamais comme une seconde famille.*

*Ma copine, pour son soutien, sa bienveillance et sa générosité.*

*Ma sœur, pour m'avoir toujours montré l'exemple et tiré vers le haut.*

*Et enfin mes parents, qui ont toujours tout fait pour contribuer à notre bonheur et à notre épanouissement et sans qui je n'aurais pas eu la chance d'exercer ce métier.*

# Table des Matières

<b>REMERCIEMENTS.....</b>	<b>11</b>
<b>TABLE DES MATIERES.....</b>	<b>13</b>
<b>LISTE DES FIGURES .....</b>	<b>15</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX.....</b>	<b>16</b>
<b>LISTE DES ABREVIATIONS.....</b>	<b>17</b>
<b>1. INTRODUCTION.....</b>	<b>18</b>
<b>1.1 Généralités sur le glioblastome .....</b>	<b>18</b>
1.1.1 Epidémiologie .....	18
1.1.1.1 Place au sein des tumeurs du système nerveux central .....	18
1.1.1.2 Incidence.....	19
1.1.1.3 Pronostic.....	19
1.1.2 Présentation clinique.....	22
1.1.2.1 Circonstances du diagnostic.....	22
1.1.2.2 Clinique .....	22
1.1.2.3 Imagerie .....	22
1.1.2.4 Histologie .....	23
1.1.2.5 Biomarqueurs .....	24
1.1.3 Prise en charge thérapeutique .....	25
1.1.3.1 Principe général .....	25
1.1.3.2 Chirurgie.....	26
1.1.3.3 Radiothérapie .....	27
1.1.3.4 Chimiothérapie .....	28
1.1.3.5 Tumor Treating Fields (TTF) .....	29
<b>1.2 Le Témzolomide .....</b>	<b>29</b>
1.2.1 Historique .....	29
1.2.2 Formes galéniques et coût .....	30
1.2.3 Pharmacocinétique et pharmacodynamie .....	30
1.2.4 Toxicité .....	33
1.2.5 Témzolomide et thrombopénie.....	34
<b>1.3 La P-gp.....</b>	<b>36</b>
1.3.1 Historique .....	36
1.3.2 Structure.....	37
1.3.3 Mécanisme d'action .....	38
1.3.4 Expression, substrats et inhibiteurs.....	40
1.3.5 Variants de la P-gp.....	42

<b>2. ÉTUDE DE L'IMPACT DU VARIANT RS1128503 D'<i>ABCB1</i> CHEZ LES PATIENTS TRAITÉS PAR TEMOZOLOMIDE .....</b>	<b>45</b>
<b>2.1 RATIONNEL DE L'ETUDE ET OBJECTIFS .....</b>	<b>45</b>
<b>2.2 MATERIEL ET METHODES.....</b>	<b>45</b>
2.2.1 Description de l'étude .....	46
2.2.2 Critères d'inclusion et de non inclusion .....	46
2.2.3 Déroulement du protocole.....	47
2.2.4 Echantillons .....	48
2.2.5 PCR allèle spécifique.....	49
2.2.6 Logiciels et Analyses Statistiques.....	50
<b>2.3 RÉSULTATS.....</b>	<b>51</b>
2.3.1 Organigramme de l'étude.....	51
2.3.2 Résultats du génotypage .....	51
2.3.3 Description de la population .....	52
2.3.4 Conséquence sur la survenue d'une thrombopénie.....	56
2.3.5 Conséquence sur la survie .....	58
<b>2.4 DISCUSSION.....</b>	<b>63</b>
<b>3. CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>68</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>69</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>74</b>

## Liste des Figures

Figure 1 : Répartition des tumeurs cérébrales aux USA de 2012 à 2016 (2).

Figure 2 : A) IRM séquence T1 + gadolinium d'un glioblastome frontal droit B) Macroscopie post-mortem d'un glioblastome en région thalamique. Images : campus-neurochirurgie.fr.

Figure 3 : Le témozolomide et ses principaux métabolites (31).

Figure 4 : Appariement normal des bases et appariement aberrant thymine-O<sup>6</sup>-methylguanine (35).

Figure 5 : Structure simplifiée des différents transporteurs ABC (50). **NBD** : Nucleotide Binding Domain ; **TMD** : Transmembrane Domain (50).

Figure 6 : Représentation schématique de la P-gp. Les acides aminés en vert sont impliqués dans les structures clés des deux sites de liaison à l'ATP. Les principaux variants sont en rouge. Les variants synonymes sont marqués d'un triangle noir. Le cercle rouge précise la localisation du rs1128503 C1236T (51).

Figure 7 : Exemple de fonctionnement d'un transporteur ABC (52).

Figure 8 : Schéma de prise en charge minimale selon le protocole de Stupp comportant au moins 6 cycles de témozolomide en entretien.

Figure 9 : Organigramme de l'étude.

Figure 10 : Répartition des patients ayant présenté une thrombopénie < 100 G/L au cours de l'étude.

Figure 11 : A) survie globale et thrombopénie B) Survie sans progression et thrombopénie.

Figure 12 : Survie globale selon le génotype du rs1128503.

Figure 13 : Survie sans progression selon le génotype du rs1128503.

Figure 14 : Survie sans progression des patients homozygotes pour l'allèle C versus « porteurs de l'allèle T ».

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Résultats du génotypage du rs1128503 d'*ABCB1*.

Tableau 2 : Caractéristiques démographiques et tumorales de la population.

Tableau 3 : Récapitulatif du suivi du protocole.

Tableau 4 : Risque de thrombopénie et génotype *ABCB1* rs1128503.

Tableau 5 : Analyse univariée des facteurs de risque potentiels de survenue d'une thrombopénie.

Tableau 6 : Facteurs ayant une influence significative sur la survie globale et sans progression

Tableau 7 : Répartition des facteurs pouvant confondre le bon pronostic du génotype C/C

## Liste des Abréviations

**ABC** : *ATP-binding cassette*

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**ADP** : Adénosine Diphosphate

**AIC** : 5-aminoimidazole-4-carboxamide

**ANSM** : Agence Nationale de Sécurité du Médicament

**ARN** : Acide Ribonucléique

**ATP** : Adenosine Triphosphate

**BHE** : Barrière Hémato-Encéphalique

**CTCAE** : *Common Terminology Criteria for Adverse Events*

**EGFR** : *Epidermal Growth Factor Receptor*

**FDA** : *Food and Drug Administration*

**IDH** : Isocitrate Déshydrogénase

**IK** : Indice de Karnofsky

**IMRT** : *Intensity-modulated radiotherapy*

**IRM** : Imagerie par Résonance Magnétique

**LCR** : Liquide Céphalo-Rachidien

**MDR1** : *Multi-Drug resistance 1*

**MGMTp** : promoteur du gène O-6-methylguanine-DNA methyltransferase

**MMR** : *Mismatch repair*

**MMSE** : *Mini Mental State Examination*

**MTIC** : 5-(3-MethylTriazen-1-yl)Imidazole-4-Carbox-amide

**OEM** : Ondes électromagnétiques

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**PCR** : *Polymerase Chain Reaction*

**P-gp** : *Permeability Glycoprotein*

**rs** : *Reference SNP number*

**RT-TMZ** : Radiothérapie et chimiothérapie concomitante par témozolomide

**SNC** : Système nerveux central

**SNP** : *Single Nucleotide Polymorphism*

**TTF** : *Tumor Treating Fields*

**VEGF** : *Vascular Endothelium Groth Factor*

# 1. INTRODUCTION

## 1.1 Généralités sur le glioblastome

### 1.1.1 Epidémiologie

#### 1.1.1.1 Place au sein des tumeurs du système nerveux central

Les tumeurs primitives du système nerveux central (SNC) sont un groupe rare et très hétérogène de pathologies. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) en décrit plus de 140 types et sous types, dont seulement 1/3 sont des tumeurs malignes (Annexe 1). Le glioblastome, se définit comme une tumeur gliale maligne de grade IV (1). C'est de loin le grade le plus répandu, il représente la moitié des tumeurs malignes du SNC (Figure 1), soit un peu moins d'1% de la totalité des nouveaux cas de cancer de l'adulte (2). Ce qui correspond, en France métropolitaine, à 3481 nouveaux cas estimés en 2018 (3).

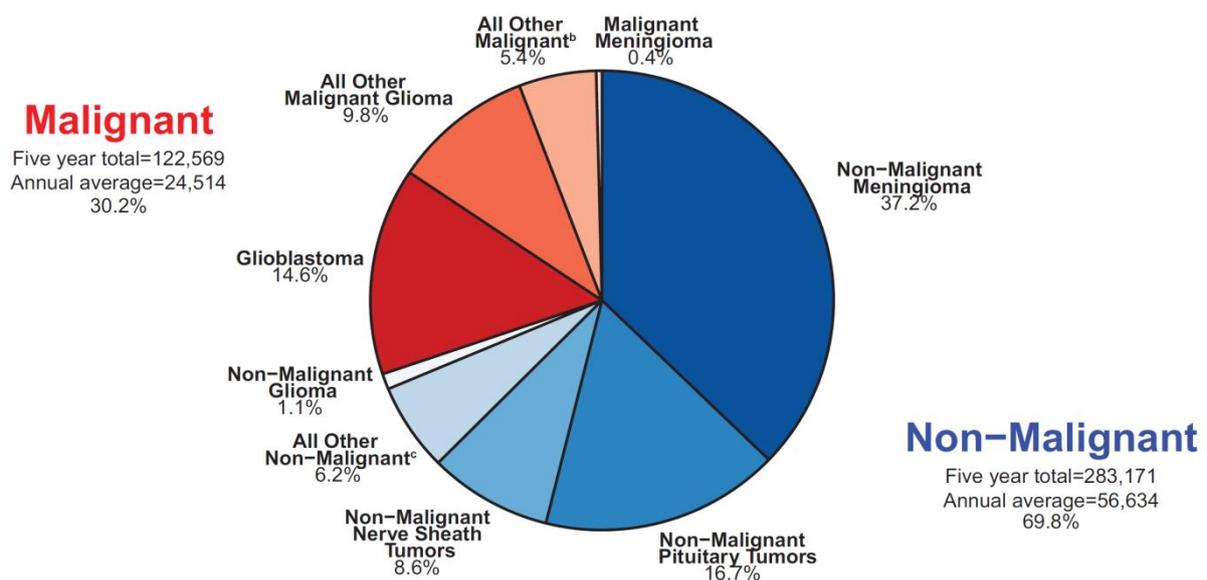


Figure 1 : Répartition des tumeurs cérébrales aux USA de 2012 à 2016 (2).

#### 1.1.1.2 Incidence

L'incidence globale du glioblastome est de 3,22 pour 100000 habitants aux USA (2). Des valeurs similaires sont observées en France, 3,7 pour 100000 chez l'homme et 2,3 pour 100000 chez la femme. Cette incidence croit en moyenne de 3,6% par an depuis 1990 en raison du vieillissement de la population, des progrès en matière d'accès à l'imagerie médicale et du recours plus systématique à un diagnostic histologique par biopsie ou chirurgie (3). C'est probablement pour les mêmes raisons que l'on observe une incidence plus élevée dans les pays à fort niveau socioéconomique, du fait d'un dépistage et d'une longévité accrue.

Il s'agit d'un cancer pouvant survenir à tout âge. Son incidence augmente tout au long de la vie pour atteindre un pic entre 75 et 79 ans. Soit un âge médian au diagnostic de 65 ans chez l'homme et 67 ans chez la femme (3). A noter que les tumeurs primitives du SNC sont la première cause de cancer chez les enfants de 0 à 14 ans, devant les leucémies. Toutefois, il s'agit souvent de tumeurs embryonnaires ou de tumeurs gliales de grade inférieur, les glioblastomes ne représentent que 2,9% des tumeurs du SNC à cette période de la vie avec une incidence de l'ordre de 1 pour un million (2).

#### 1.1.1.3 Pronostic

Le glioblastome est une pathologie de mauvais pronostic avec une survie à 5 ans d'environ 5% (4). La médiane de survie globale lors du traitement actuel est de 16 mois (5) et n'a presque pas évolué en 15 ans : 14,6 mois en 2005 (6), le protocole thérapeutique restant inchangé depuis. Les stratégies thérapeutiques les plus récentes à l'étude comme le *Tumor-Treating Fields* semblent actuellement pouvoir améliorer la médiane de survie jusqu'à 20 mois (5).

#### 1.1.1.4 Facteurs de risque

Très peu de facteurs de risques ont pu être démontrés. Les risques clairement établis sont communs à beaucoup de cancers.

Ainsi, il existe un risque accru lors d'une exposition importante aux rayonnements ionisants. Ces derniers sont susceptibles d'induire des variations de la séquence d'ADN à l'origine d'évènements oncogéniques. Ce risque dose dépendant apparaît lors d'une exposition supérieure à 1 Gy et est d'autant plus important que l'exposition intervient tôt dans l'enfance. Il est particulièrement connu pour les tumeurs cérébrales en raison de l'usage de la radiothérapie comme traitement de la teigne du cuir chevelu dans les années 50 (7). Ce risque a été confirmé par la suite, chez les enfants ayant bénéficié d'une radiothérapie cérébrale dans le cadre d'une première tumeur (8).

De la même manière, certains syndromes génétiques causés par des variants constitutionnels des gènes visant à maintenir la stabilité du génome, sont susceptibles de provoquer des prédispositions familiales aux cancers. Le syndrome de Li-Fraumeni, défini par la présence d'un variant pathologique constitutionnel du gène *TP53*, comprend dans son spectre 14% de tumeurs cérébrales, dont des gliomes de tout grade. L'atteinte fonctionnelle d'un gène du système MMR (*mismatch repair*) conduit au syndrome HNPCC (*hereditary non-polyposis colorectal carcinoma*) aussi appelé syndrome de Lynch. Les patients atteints de ce syndrome sont susceptibles de développer des cancers colorectaux et présentent 3% de risque de développer une tumeur cérébrale. Lorsque ces deux évènements sont associés on parle de syndrome de Turcot. Dans le rarissime syndrome de Turcot de type 1, un variant biallélique d'un gène du MMR est retrouvé, souvent en lien avec une histoire familiale de consanguinité. Le risque de tumeur cérébrale est alors de 51% dont plus du tiers sont des glioblastomes (9). Il existe plusieurs autres syndromes génétiques associés aux tumeurs cérébrales mais dont les types histologiques ne sont qu'exceptionnellement des gliomes, comme la neurofibromatose de type 1 et 2.

Les formes familiales ne représentent que 5% des cas de glioblastomes (10), même si le risque de développer un gliome est 3 fois plus élevé chez les apparentés au 1<sup>er</sup> degré (11). Pour permettre de mieux comprendre la physiopathologie de cette pathologie un consortium international a été mis en place en 2007 sous le nom de GLIOGENE, dont le but est de rechercher par des approches pangénomiques le lien existant entre les différents cas familiaux. A ce jour, la principale découverte est l'implication du gène *POT1* (*Protection of Telomeres 1*) dans un nouveau syndrome génétique Li-Fraumeni-like en lien avec le télosome et la dégradation des télomères, et dont le spectre comporte des gliomes (12).

Le sexe masculin est également un facteur de risque bien établi, le sexe ratio du glioblastome est à 1,6 sans qu'on ne soit parvenu à ce jour à mettre en évidence une cause hormonale, génétique ou environnementale.

Il existe une incidence plus élevée avec un fort niveau socio-économique, en milieu urbain et chez les caucasiens. Cette observation pourrait cependant être associée à des disparités en matière d'accès aux soins selon les populations et leur niveau socio-économique.

*A contrario*, de nombreux facteurs de risques extrinsèques ont été étudiés sans parvenir à établir de résultat significatif, ou être sujet à des études contradictoires. L'étude des facteurs environnementaux étant rendue encore plus difficile par la faible incidence de cette pathologie. Ni l'alcool, le tabac, ou l'exposition à des toxiques professionnels n'ont pu être formellement incriminés.

L'effet des rayons non ionisants, comme les ondes électromagnétiques (OEM) des téléphones portables, wifi ou données mobiles ont été à l'origine de nombreuses études scientifiques et publications. En 2011, L'IARC (*International Agency for Research on Cancer*) avait classé ce type d'onde en catégorie 2B : cancérogènes possibles. La proportion de cas exposés aux OEM dans les cohortes actuelles est de l'ordre de 100% tout comme dans les cas contrôles. Seule l'évolution de l'incidence de ces tumeurs pourrait nous fournir une indication. Or, avec maintenant plus de 20 ans de recul, la très faible augmentation de l'incidence du glioblastome, contraste avec l'importance de l'exposition massive de la population aux OEM et est sûrement d'avantage attribuable aux progrès diagnostiques et à l'amélioration de l'accès aux soins (4).

Les antécédents d'asthme, eczéma et allergies alimentaires sont des facteurs protecteurs avérés. Plusieurs méta-analyses rapportent une réduction de 30 à 40% du risque de gliome chez les patients présentant un terrain atopique (13-14). L'inhibition de la réponse immunitaire cytotoxique dans le micro environnement des gliomes est un mécanisme connu d'échappement tumoral et prépondérant dans le SNC. Les théories biologiques sous jacentes, suggèrent que les patients atopiques présenteraient une « hypervigilance immunitaire » qui s'opposerait à ce phénomène et pourrait diminuer l'incidence des tumeurs cérébrales ou favoriser des formes moins agressives (15).

## 1.1.2 Présentation clinique

### 1.1.2.1 Circonstances du diagnostic

Le diagnostic s'effectue le plus souvent en 3 temps. Un point d'appel clinique motive une imagerie cérébrale, qui retrouve une masse d'aspect pathologique. On procède alors à l'exérèse ou à une biopsie selon l'opérabilité, permettant dans un troisième temps le diagnostic histologique de certitude et le choix d'une stratégie de prise en charge thérapeutique.

### 1.1.2.2 Clinique

Les signes cliniques sont le plus souvent frustrés mais de développement rapide, évoluant depuis moins de 3 mois.

Les céphalées sont fréquentes mais non spécifiques.

On peut observer un syndrome déficitaire central en lien avec la localisation tumorale. Pouvant impliquer un déficit moteur, sensitif, sensoriel ou des fonctions supérieures : aphasie, troubles du comportement, troubles mnésiques, syndrome frontal. Les glioblastomes de l'adulte sont le plus souvent supratentoriels, les syndromes cérébelleux ou les atteintes d'une paire crânienne sont donc plus rares. Ces signes déficitaires sont difficilement réversibles, ils conditionnent fortement le pronostic fonctionnel ainsi que l'opérabilité.

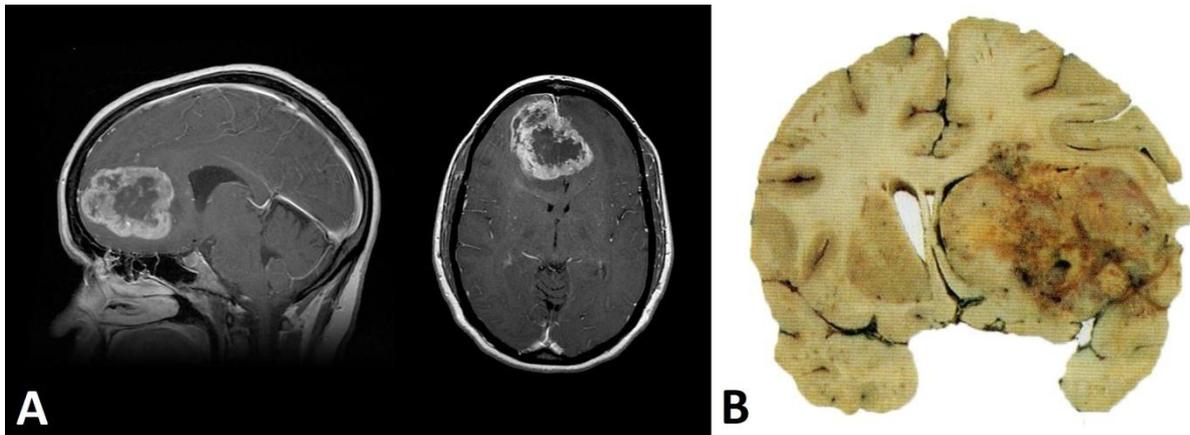
Une crise d'épilepsie peut être révélatrice dans un 1/3 des cas. Il peut s'agir de crises partielles rendant le diagnostic plus difficile.

Dans les formes évoluées, il peut survenir un syndrome d'hyper tension intracrânienne avec céphalées matinales, augmentées par la toux, nausées, avec vomissements faciles en jets, des acouphènes ou des troubles visuels en lien avec l'œdème papillaire.

### 1.1.2.3 Imagerie

L'IRM (Imagerie par Résonance Magnétique) est l'imagerie de référence pour l'étude des structures cérébrales. L'aspect typique d'un glioblastome est un hyposignal T1

intraparenchymateux, hétérogène, mal limité, avec souvent un effet de masse (déviation de la ligne médiane, comblement d'un sillon ou d'un ventricule). En T1 avec injection de gadolinium on observe un halo hyper intense en périphérie de la masse traduisant la rupture de la BHE (barrière hémato-encéphalique) (Figure 2A).



*Figure 2 : A) IRM séquence T1 + gadolinium d'un glioblastome frontal droit B) Macroscopie post-mortem d'un glioblastome en région thalamique. Images : campus-neurochirurgie.fr.*

#### 1.1.2.4 Histologie

Macroscopiquement, il s'agit d'une masse cérébriforme, friable, hétérochrome, parfois kystique (Figure 2B).

L'aspect microscopique permet à l'aide d'une coloration standard, type hématoxyline-éosine, de définir le grade et l'histologie.

Le grade est en lien direct avec le pronostic, il n'existe pas de classification TNM pour les tumeurs cérébrales. On parle de grade I pour une tumeur bénigne circonscrite. Le grade II est donné si les limites de la tumeur sont imprécises ou qu'il existe une extension diffuse pouvant compromettre l'exérèse chirurgicale complète. Les grades III et IV sont dits de haut grade et se caractérisent par la présence d'anaplasie (moindre différenciation cellulaire). Ce sont des tumeurs malignes avec des signes de croissance rapide (forte densité cellulaire, index mitotique élevé). A la différence du grade III où les foyers anaplasiques restent limités, les glioblastomes, qui sont des grades IV, présentent cet aspect dans la majorité, voire la

totalité de la tumeur. On peut également observer une prolifération vasculaire anarchique et des zones de nécroses témoignant de la progression rapide du tissu tumoral.

L'histologie des gliomes s'est construite sur la notion d'équivalent cellulaire physiologique. Le tissu glial, qui exerce un rôle immunitaire et de nutrition des neurones, se compose de trois types cellulaires : les astrocytes, oligodendrocytes et les cellules de la microglie. On parle ainsi d'astrocytome et d'oligodendrogliome. Les glioblastomes sont en général des astrocytomes. Cependant, l'anaplasie est telle qu'il peut-être difficile d'identifier l'histologie réelle. Il est maintenant admis que les cellules cancéreuses composant les glioblastomes dérivent en fait de cellules souches neuronales.

#### 1.1.2.5 Biomarqueurs

Depuis sa révision en 2016 la classification OMS est désormais histo-moléculaire et fait intervenir la recherche des variants des codons 132 du gène *IDH1* et 172 du gène *IDH2* (isocitrate déshydrogénase). Ceci pour des raisons d'ordre pronostiques et nosologiques (1).

*IDH* joue un rôle dans la lutte contre le stress oxydatif. Les glioblastomes *IDH-mutés* sont donc plus sensibles aux effets cytotoxiques de la radio-chimiothérapie, ce qui leur confère un meilleur pronostic. A l'opposé, la capacité des tumeurs *IDH-wildtype* à conserver leur fonction anti-oxydative permettrait de soutenir une synthèse accrue de macromolécules indispensables à l'oncogénèse, rendant ce phénotype plus agressif et moins différencié. La médiane de survie des patients atteints d'un glioblastome *IDH-muté* est de 30 mois contre 15 mois pour les non mutés (16).

Sur le plan nosologique, seul 10% des glioblastomes sont *IDH-mutés* alors que 80% des astrocytomes de grade II et III possèdent un de ces variants. Ce sous type survient chez des patients plus jeunes, avec une médiane au diagnostic de 45 ans. L'histologie de ces tumeurs est en générale mieux différenciée et on observe parfois des sous-types histologiques particuliers (le glioblastome à cellules géantes, le gliosarcome et le glioblastome épithélioïde). Il existe aussi plus fréquemment des variants de *TP53* (81% contre 27% pour les *IDH-wildtype*). Pour toutes ces raisons on considère que l'oncogénèse de ces glioblastomes est différente de celle de la grande majorité des glioblastomes *IDH-wildtype*, et serait plus volontier secondaire à la transformation d'une tumeur de plus bas grade (17).

Sur le plan pratique cela permet de classer, chez les patients de plus de 55 ans, un glioblastome en *IDH-wildtype* sur la simple négativité du marqueur anti-IDH1 R132H en immunohistochimie, sans avoir à pratiquer de recherche moléculaire de variants d'*IDH1/IDH2*.

Un second biomarqueur capital est la méthylation du promoteur du gène *MGMT* (O-6-methylguanine-DNA methyltransferase). Ce gène code pour une protéine dont la fonction est de retirer les groupes alkyls de la position O<sup>6</sup> des guanines. Or, l'alkylation en O<sup>6</sup> des guanines est le principal mécanisme par lequel les agents alkylants induisent l'apoptose. A ce jour, l'agent alkylant témozolomide est la principale chimiothérapie du glioblastome. En diminuant l'expression de *MGMT*, la méthylation de son promoteur a donc un important rôle théranostique.

Environ 45% des glioblastomes présentent une méthylation du promoteur *MGMT* (*MGMTp*). Dans le cadre du traitement standard par témozolomide la médiane de survie de ces patients est de 22 mois contre 15 mois pour les patients présentant une tumeur *MGMTp* non méthylé (18).

Il existe de nombreuses techniques d'études épigénétiques. Leur standardisation ainsi que le *cut-off* d'intérêt clinique fait l'objet de discussions. En France, la technique actuellement recommandée pour l'étude de la méthylation du promoteur de *MGMT* est le pyroséquençage de 4 ilots CpG dans l'exon 1, après traitement au bisulfite (19). Le traitement de l'échantillon au bisulfite convertit les cytosines non méthylées en uraciles, mais laisse les cytosines méthylées en l'état. Après amplification, les cytosines non méthylées laissent place à des thymines dans la séquence. Lors du pyroséquençage, par comparaison avec la séquence de référence, on peut ainsi mesurer le ratio C/T de chaque ilot et en déduire le pourcentage de méthylation de l'échantillon.

### 1.1.3 Prise en charge thérapeutique

#### 1.1.3.1 Principe général

Le traitement du glioblastome fait appel à des recommandations bien établies. Il s'agit de prendre en compte l'état général du patient ainsi que l'atteinte fonctionnelle envisagée à la suite d'une chirurgie d'exérèse la plus large possible.

L'évolution naturelle étant rapidement fatale, l'ANOCEF (Association des Neuro-Oncologies d'Expression Française) recommande que tout patient, avec un indice de performance OMS  $\leq 2$  ou un indice Karnofsky (IK, Annexe 2)  $\geq 60\%$  sans comorbidité hématologique, rénale ou hépatique, ni atteinte cognitive importante évaluée par un score neurologique type MMSE (*Mini Mental State Examination*) soit pris en charge selon le protocole international dit de « Stupp » (6).

Ce protocole établi en 2005, consiste en une chirurgie la plus complète possible, suivie de 6 semaines d'association radiothérapie et chimiothérapie par témozolomide concomitante, complétées par 6 à 12 cycles de chimiothérapie adjuvante par témozolomide en monothérapie à raison de 5 jours tous les 28 jours (voir chapitres 1.1.3.3 et 1.1.3.4).

Pour les patients dont l'indice de performance n'est pas optimum ou présentant une altération cognitive importante (MMSE  $< 27$ ), une radiothérapie à dose moindre peut être proposée. Le statut de méthylation du promoteur *MGMT* décrit précédemment joue alors un rôle important dans le choix d'instaurer en plus de la radiothérapie ou à la place de celle-ci un traitement par témozolomide.

### 1.1.3.2 Chirurgie

Le traitement curatif complet du glioblastome est rendu presque illusoire par sa capacité à infiltrer au niveau microscopique les gaines de myélines, parfois jusqu'à créer des foyers dans l'hémisphère controlatéral. Toutefois, la chirurgie représente un gain de survie avéré au-delà de 70% à 80% de résection selon les séries étudiées. Le pourcentage de résection est également corrélé à la survie (20). Il convient de l'évaluer par IRM dans les 48h après chirurgie.

De nombreuses techniques ont été mises en place pour améliorer la résection. En plus de l'utilisation de microscopes chirurgicaux, et des examens histologiques extemporanés, les techniques de résection guidée par fluorescence au 5-ALA (Acide 5-Amino Levulinique) semblent montrer leur efficacité. Le 5-ALA est un composé entrant physiologiquement dans la chaîne de production de l'hème. Il est métabolisé en protoporphyrine IX, une molécule qui émet une lumière rouge après excitation. Lors d'administration de 5-ALA le tissu tumoral accumule 20 à 50 fois plus de protoporphyrine IX

que le tissu cérébral sain. On peut donc utiliser cette propriété lumineuse pour marquer la tumeur et guider la résection (21).

D'autres techniques visent à limiter les conséquences fonctionnelles. On peut ainsi procéder à une IRM fonctionnelle préopératoire, ou à la cartographie peropératoire par stimulation en chirurgie éveillée.

Enfin la carmustine est un agent alkylant de la famille des nitroso-urées. Il est commercialisé sous le nom Gliadel® et prend la forme de pastilles à usage local, que l'on dispose dans la cavité opératoire. Plusieurs méta-analyses semblent conclure à un gain dans la médiane de survie globale de 3 à 4 mois lors de son utilisation en association au protocole standard, avec une faible augmentation de complications, principalement infectieuses sans retentissement sur la survie (22). Malheureusement il s'agit souvent d'un critère d'exclusion lors des essais cliniques et aucune étude prospective dédiée n'a encore été réalisée.

#### 1.1.3.3 Radiothérapie

La radiothérapie est débutée dès la cicatrisation du scalp. Le délai admis est de 2 à 6 semaines après la chirurgie.

Le protocole standard consiste en une radiothérapie conformationnelle de 60 Gy délivrée en 30 séances de 2 Gy, soit 5 séances par semaine pendant 6 semaines. Avec prise quotidienne de 75 mg/m<sup>2</sup> de témozolomide 1h avant chaque séance. Pour les patients les plus fragiles une radiothérapie dite hypofractionnée peut-être proposée. La dose totale est alors réduite et les séances espacées. L'alternative commune est une dose de 40,5 Gy en 15 séances de 2,7 Gy.

Concernant les avancées en radiothérapie on observe un intérêt pour l'irradiation avec modulation d'intensité (IMRT de l'anglais *Intensity-modulated radiotherapy*). Cette technique semble pouvoir épargner d'avantage les organes à risque et délivrer une dose plus homogène, ce qui permettrait de limiter les complications sans réduire la médiane de survie (23). Elle fera sûrement l'objet d'études prospectives dans les années à venir.

#### 1.1.3.4 Chimiothérapie

La chimiothérapie adjuvante par témozolomide débute 4 semaines après la radiothérapie. La prise se fait sur 5 jours consécutifs, suivis de 23 jours sans traitement. Le premier cycle est administré à 150 mg/m<sup>2</sup>/jour puis la posologie est augmentée à 200 mg/m<sup>2</sup>/jour si la tolérance le permet. Le protocole standard prévoit au moins 6 cycles. En l'absence de progression et si la tolérance clinique et hématologique est bonne, le traitement est poursuivi jusqu'à 12 cycles ou plus. La poursuite au-delà de 6 cycles n'a pas été évaluée par un essai de phase III. Même si sa toxicité est gérable, elle n'apporterait pas de gain de survie sans progression ni de survie globale (24).

Les autres chimiothérapies utilisées pour le traitement des glioblastomes sont également des agents alkylants, principalement de la famille des nitroso-urée (carmustine, fortémustine, bélustine, lomustine) ou des sels de platines (caboplatine). On peut associer ces derniers à un inhibiteur de topoisomérase I (irinotecan) ou II (etoposide). Aucun ne semble présenter une action supérieure au témozolomide. Ils peuvent toutefois être envisagés en seconde ligne.

Les glioblastomes étant des tumeurs agressives très vascularisées, les traitements anti-angiogéniques ont donc suscité dès leur apparition un fort intérêt. Le bévacizumab est un anticorps monoclonal recombinant humanisé anti-VEGF (*Vascular Endothelium Groth Factor*). En neutralisant le VEGF, il empêche sa liaison à son récepteur endothélial, inhibant ainsi la néoangiogénèse supportant la croissance tumorale. Deux essais de phase III, en Europe et aux USA, ont évalué son efficacité en première ligne, en association au traitement standard. Le bras bévacizumab a présenté un gain minime de survie sans progression de 10,7 mois contre 7,3 mois avec placebo, sans gain de survie globale et avec une toxicité plus importante (25). Cette stratégie thérapeutique reste donc actuellement limitée aux rechutes en France.

L'arsenal thérapeutique en oncologie s'est fortement étayé au cours des deux dernières décennies. Depuis l'Imatinib en 2001, plusieurs inhibiteurs des récepteurs à activité tyrosine kinase ont prouvé leur efficacité en hématologie ou dans les tumeurs solides. Dans le glioblastome, la voie la plus ciblée a été celle de l'*EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor)*, responsable d'un signal de prolifération, amplifié ou surexprimé dans 60% des glioblastomes *IDH-wildtypes*. La grande variabilité intra tumorale des glioblastomes

semble toujours permettre un échappement thérapeutique. Aucune thérapie ciblée n'a à ce jour pu faire la preuve d'une efficacité supérieure au traitement standard. Il en est de même pour les thérapies basées sur l'immunologie, comme les inhibiteurs de *checkpoints* (anti-CTLA4, anti-PD1, anti-PD1L), les vaccins ou les CAR T cells (*Chimeric Antigen Receptor T cells*) (26).

#### 1.1.3.5 Tumor Treating Fields (TTF)

Cette nouvelle thérapeutique consiste en l'application, via des électrodes posées sur le scalp, d'un champ électrique capable de perturber la polymérisation des microtubules inhibant ainsi la création du fuseau mitotique et donc la mitose et la prolifération tumorale. Dans un essai de phase III, le bras standard + TTF a obtenu une médiane de survie globale de 20,9 mois contre 16,0 mois pour le traitement standard seul (5).

Malgré ces résultats encourageants, l'adoption de cette technique reste limitée. Le principal frein étant le coût, de l'ordre de 20000 USD/mois aux USA. La qualité de vie des patients est également discutée, le traitement nécessitant l'usage d'un appareil de 3 Kg, 20h par jour, après une tonte complète du cuir chevelu (27).

## 1.2 Le Témzolomide

### 1.2.1 Historique

En 1975, le laboratoire Bayer obtient l'approbation de la FDA (*Food and Drug Administration*) pour commercialiser un nouveau composé anticancéreux : la dacarbazine, encore utilisée dans les mélanomes en rechute et les lymphomes de Hodgkin. Initialement développé comme un inhibiteur de la synthèse d'ADN (Acide Désoxyribonucléique), on comprend dans les années 80, que son activité anticancéreuse est principalement due à sa métabolisation par le foie en un triazène : le MTIC (5-(3-methyltriazen-1-yl)imidazole-4-carbox-amide)(Figure 3) qui exerce un effet alkylant sur l'ADN.

Malcolm Stevens *et al* développent alors la famille des imidazotétrazines, parmi eux le témzolomide en 1987. Ces composés ont la propriété d'aboutir à la formation du MTIC par clivage spontané à PH physiologique, permettant ainsi de s'affranchir des variabilités du métabolisme interindividuelles (28). Dès les essais de phase I, en 1992, la dose maximale

acceptable est fixée à 200 mg/m<sup>2</sup>/jour en raison d'une toxicité médullaire (29). Le 1<sup>er</sup> essai de phase II dans les gliomes de haut grade est publié en 1997 (30). Plusieurs essais auront lieu, avec des résultats mitigés. Le témozolomide semble surtout intéressant comme agent potentialisant la radiothérapie. L'essai de phase III en association avec la radiothérapie contre radiothérapie seule, publié en 2005, confirme le gain significatif apporté par ce traitement avec une survie à 2 ans de 26,5% contre 10,4% en radiothérapie seule. Le témozolomide est alors adopté comme le traitement standard de première ligne du glioblastome (6).

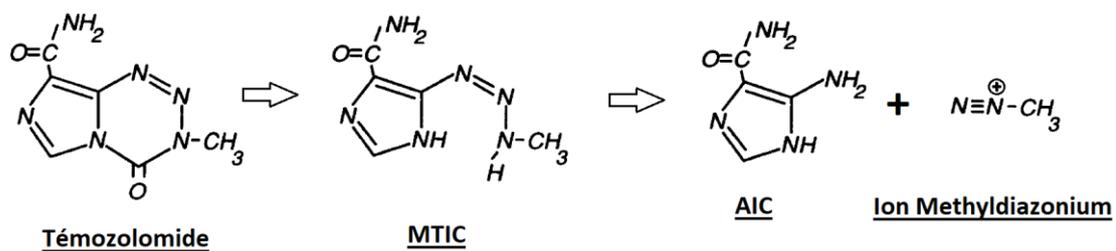


Figure 3 : Le témozolomide et ses principaux métabolites (31).

### 1.2.2 Formes galéniques et coût

Le témozolomide existe sous forme orale ou injectable. La forme orale a initialement été commercialisée en France par les laboratoires Merck Sharp & Dohme BV, sous le nom TEMODAL<sup>®</sup>. Des formes génériques sont maintenant distribuées par les laboratoires, Accord, Mylan et Sun.

Il s'agit d'une chimiothérapie peu onéreuse, vendue 10,4 euros pour 100 mg. A titre d'exemple le coût de traitement d'un patient moyen avec une surface corporelle d'1,8 m<sup>2</sup>, pour 8 mois et demi jusqu'à la fin du 6<sup>ème</sup> cycle, est de 1660 euros.

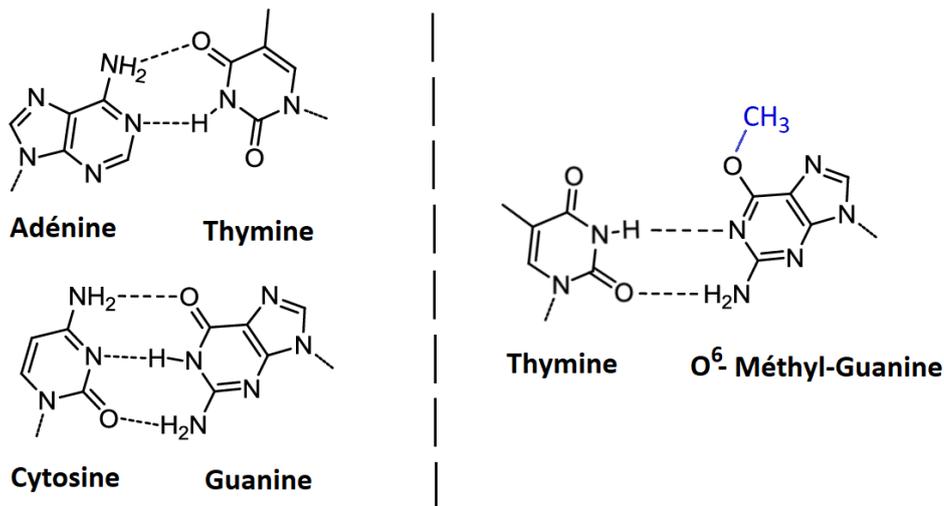
### 1.2.3 Pharmacocinétique et pharmacodynamie

La formule chimique du témozolomide est le 8-carbamoyl-3-méthyl-imidazo[5,1-d]-1,2,3,5-tétrazine-4(3H)-one (Figure 3). Après prise orale, un pic plasmatique est observé en 1,2 h en moyenne. La biodisponibilité est de 99,8%, il n'y a pas de métabolisme hépatique

contrairement à la dacarbazine et très peu de liaison aux protéines plasmatiques (31). Le témozolomide est un petit composé lipophile de 194 Da, permettant un bon passage de la BHE. Sa concentration dans le LCR est d'environ 20 à 35% de celle du plasma et serait favorisée par l'altération de la BHE en situation carcinologique (32). La demi-vie dans le plasma est d'approximativement 1,8 heure, il n'y a donc pas d'accumulation en 24h. Le volume de distribution ainsi que la clairance plasmatique, sont indépendants de la dose. L'élimination se fait par voie urinaire via un métabolite inactif. Environ 5 à 10% de la dose sont excrétés sous forme inchangée.

Le témozolomide est stable en solution aqueuse à PH acide, inférieur à 4, comme dans l'estomac, mais à PH plasmatique soit 7,4, l'hydrolyse spontanée survient et ouvre le cycle tétrazine pour former le triazène linéaire MTIC. Ce dernier pénètre les cellules. A l'inverse du témozolomide le MTIC est stable à PH alcalin, le milieu intracellulaire, légèrement plus acide que le plasma ou le LCR, de l'ordre de PH 7, provoque sa dégradation en AIC (5-aminoimidazole-4-carboxamide) et en ion méthyldiazonium (Figure 3)(31). L'AIC est un composé inactif entrant dans le métabolisme des bases puriques, il est éliminé par voie urinaire. L'ion méthyldiazonium est responsable de l'action alkylante par transfert de son groupe méthyle aux bases guanines, en position O<sup>6</sup> et N<sup>7</sup>.

La méthylation en O<sup>6</sup> de la guanine limite à deux au lieu de trois le nombre de ponts d'hydrogène qu'elle peut former, sa liaison préférentielle lors de la réplication de l'ADN est alors avec une thymine (Figure 4). Le complexe protéique MMR, chargé du contrôle du bon appariement des bases, repère alors cette anomalie et ne parvenant pas à la corriger induit une cassure double-brin. L'accumulation de cassures double-brin, également générés par la radiothérapie, conduit à l'apoptose (33).



**Figure 4 :** Appariement normal des bases et appariement aberrant thymine-O<sup>6</sup>-methylguanine (35)

Les mécanismes par les quels les cassures double-brin induisent ou non l'apoptose sont sources de nombreuses études. Le recrutement de p53, lorsqu'elle est fonctionnelle, induit l'apoptose préférentiellement par la voie des récepteurs Fas. Mais Il a été démontré qu'en l'absence de gène *TP53* fonctionnel, l'apoptose est tout de même induite par la voie mitochondriale (Bcl2/Bax, Caspase9) (33). Le témozolomide provoque aussi, pour une proportion de cellules tumorales, l'arrêt du cycle en phase G2-M sans apoptose. Cette quiescence cellulaire pourrait jouer un rôle dans la réponse au traitement voire dans l'échappement tumoral (34).

Le principal mécanisme s'opposant à l'action du témozolomide fait appel à la protéine MGMT. Cette dernière fait partie des systèmes de préservation de l'ADN, et est ubiquitaire à des niveaux d'expression différents selon les tissus. Elle a la capacité de transférer les groupes alkyls des positions O<sup>6</sup> des guanines et O<sup>4</sup> des thymines sur un de ses résidus cystéine. Elle est ensuite ubiquitinylée pour être dirigée et dégradée dans le protéasome. Cette capacité à restaurer les guanines est donc dépendante de la quantité de protéine MGMT et de la capacité de synthèse de la cellule (35). Comme abordé dans la section biomarqueurs du chapitre présentation clinique (chap. 1.1.2.5), sa synthèse peut-être réprimée par la méthylation du promoteur du gène *MGMT*. Les tumeurs présentant ce phénotype sont de meilleur pronostic, car plus sensibles à l'action du témozolomide.

La compréhension des mécanismes aboutissant à l'apoptose ainsi que ceux régulant les systèmes de réparation de l'ADN pourraient à l'avenir déboucher sur des thérapies visant à potentialiser l'effet des agents alkylants.

#### 1.2.4 Toxicité

Parmi les effets secondaires fréquents, les signes digestifs sont au premier plan. Les nausées et vomissements touchent plus de la moitié des patients traités (30). Un traitement antiémétique par sétron est conseillé au début de la phase de radio-chimiothérapie concomitante avec par la suite un relais par métoclopramide si besoin.

Dans les effets fréquents mais malheureusement communs à beaucoup de chimiothérapies on trouve également, l'asthénie, l'anorexie, la constipation, l'alopécie, les réactions cutanées à type de rashes

La toxicité hématologique est la plus redoutée. On observe une lymphopénie chez près de 90% des patients traités, avec 50% de grades III-IV de la classification CTCAE (*Common Terminology Criteria for Adverse Events*, Annexe 3)(30). Suite à de rares cas de décès par pneumopathie à *Pneumocystis* dans les essais de phases II, le protocole comprend aujourd'hui une antibioprophylaxie par cotrimoxazole.

Les neutropénies et anémies sont plus rares de l'ordre de 20% à 30%, mais avec seulement 4% de neutropénies grade III-IV et moins de 1% pour les anémies (6).

La problématique des thrombopénies fait l'objet d'un paragraphe dédié (chap 1.2.5). Des essais de phase II ont retrouvé une fréquence pouvant aller jusqu'à 50% des patients (30). Les grande cohortes de phases III fournissent d'avantage des données sur les grades III-IV allant de 5 à 12% (5, 6, 25). Des cas de thrombopénie résistantes d'évolution fatale ont également été décrits (36). De 1997 à 2008 la FDA a enregistré 32 cas de décès imputables à un effet indésirable hématologique grave sous témozolomide (37).

En décembre 2013, l'ANSM (Agence Nationale de Sécurité du Médicament) a publié une note, concernant un total de 44 cas répertoriés à travers le monde de cholestases hépatiques graves sous témozolomide avec parfois une issue fatale. Ces rares cas sont apparus dans les 42 à 77 jours suivant l'instauration du traitement, sans qu'on en comprenne le mécanisme (38).

Enfin, la question d'une toxicité au long cours se pose souvent. En effet, l'action même des agents alkylants en font des carcinogènes avérés. On suspecte également le témozolomide de pouvoir aboutir à des états précancéreux comme les syndromes myélodysplasiques, plusieurs cas ayant été décrits (37, 39). Cependant la gravité des patients traités, couplée à la rareté de la maladie, rendent difficile la constitution d'une cohorte prospective à très long terme. Et l'importance du risque à court terme rend caduque la question d'une toxicité survenant dans les 3 à 5 ans.

### 1.2.5 Témzolomide et thrombopénie

La thrombopénie est définie par la mesure d'une concentration plaquettaire sanguine inférieure à 150 G/L (inférieure à 150 000/mm<sup>3</sup>). La classification CTCAE (annexe 3) visant à standardiser les effets indésirables imputables à un traitement, définit en grade I les thrombopénies entre 150 et 75 G/L. Dans la pratique clinique, une concentration inférieure à 100 G/L fait poser la question de différer la prise de témozolomide. Le risque hémorragique reste très limité à cette concentration, il s'agit surtout d'éviter d'exacerber une toxicité débutante. On comprend ainsi qu'une proportion des thrombopénies même de grade I pourraient avoir des conséquences cliniques au moins sur le suivi du protocole et peut-être sur son efficacité.

Le seuil transfusionnel suggéré par la Société Américaine d'Oncologie Clinique ainsi que par la Haute Autorité de Santé est de 10 G/L. Ce seuil doit être revu à la hausse à 20 G/L en cas de lésions hémorragiques ou chez les patients présentant une tumeur à risque de saignement (39). En l'absence de geste invasif, de prise d'anticoagulant, ou d'hémorragie avérée ces cas de figure entrent donc dans les thrombopénies de grade IV (<25 G/L).

Les données des grandes cohortes prospectives de phase III sont le plus souvent regroupées en grades I-II et grades III-IV. Cette classification se prête assez mal à la corrélation avec les critères de jugements cliniques que sont le report d'une cure (en partie dès le grade I) et le besoin transfusionnel (une grande majorité des grades IV). Dans une étude rétrospective menée à Rouen sur 147 patients, la proportion de thrombopénies d'intérêt clinique (<100 G/L), a été estimée à 23% (40).

La raison principale d'arrêt du traitement, toutes cohortes confondues, reste la progression tumorale. On peut cependant concevoir qu'une thrombopénie, même modérée,

pourrait jouer un rôle important dans la discontinuité du protocole et favoriser la progression de la maladie.

Lors de l'essai clinique publié en 2005, Stupp *et al*, avaient évalué à 8% la proportion d'arrêt du traitement pour cause de toxicité plaquettaire (6). Dans une étude rétrospective sur 52 cas menée par la suite et dédiée aux conséquences de ces thrombopénies, ce chiffre est de 17% (41). Toutefois, même si une tendance se dégage, à ce stade aucune étude n'a montré une différence significative sur la survie, probablement par manque de puissance.

Parmi les facteurs de risques évoqués, le sexe féminin ressort presque systématiquement (41-44). On suspecte aussi un lien avec la surface corporelle. Dans l'importante cohorte rétrospective d'Armstrong *et al*,  $n = 680$ , une surface corporelle  $< 2\text{m}^2$  est à risque pour les femmes et une surface corporelle  $> 2\text{m}^2$  est à risque pour les hommes. Une fonction rénale diminuée est également à risque pour les femmes mais pas pour les hommes (42). Ces observations traduisent peut-être le fait que le calcul de dose selon la surface corporelle n'est pas toujours adapté aux variations interindividuelles. La répartition masse maigre masse grasse pouvant varier selon le sexe et dans les états pondéraux extrêmes (obésité et cachexie). Ces situations devraient conduire à la vigilance lors de la prescription, même si aucun de ces facteurs de risque n'est clairement démontré à ce jour.

La dose délivrée est supérieure lors des 5 jours de traitement d'entretien par témozolomide seul. On observe plus de thrombopénies durant cette phase d'entretien que lors de la phase initiale d'association à la radiothérapie (6, 25). Fontanilles *et al*, ont montré qu'une décroissance de 35% des plaquettes au cours des 6 semaines de radiochimiothérapie concomitante pouvait être un indicateur de survenue de thrombopénies en phase d'entretien. Ce test simple est surtout intéressant pour sa valeur prédictive négative de 96%, permettant de rassurer sur le bon déroulement lors de l'augmentation de la dose en phase d'entretien (40). Cependant, les facteurs conduisant à la survenue d'une thrombopénie initiale restent inconnus.

Ce travail de thèse se base sur une partie de la cohorte de l'essai GLIOPLAK visant à confirmer ce dernier résultat par une étude prospective.

## 1.3 La P-gp

### 1.3.1 Historique

Depuis le début des années 60, on constate que lorsqu'on expose des cellules tumorales de mammifères aux agents cytotoxiques de l'époque, tel que l'actinomycine D, la vinblastine, la vincristine ou la daunorubicine, on obtient souvent un faible contingent cellulaire naturellement résistant. On dit que ces cellules disposent d'un phénotype de résistance multiple aux drogues ou multi-résistance.

En 1973, Dano K étudie la cinétique des concentrations intracellulaires de daunorubicine dans des cellules d'Ehrlich exposées à cet agent. Il constate qu'après une phase d'absorption, ces cellules sont capables d'éliminer la daunorubicine, et que les souches qui présentent un phénotype résistant le font bien plus vite. De plus, cette cinétique d'élimination diminue en présence d'autres agents comme la vincristine et la vinblastine. Il émet donc l'hypothèse qu'un transporteur membranaire commun, permet l'efflux de ces substances cytotoxiques (45).

En 1976, Juliano RL et Ling V, étudient des cellules ovariennes de hamsters chinois sélectionnées pour leur résistance à la colchicine. Ils identifient sur ces cellules une glycoprotéine membranaire de 170 kDa, dont la concentration est inversement proportionnelle à la perméabilité membranaire de la colchicine. Ils la nomment P-gp, pour glycoprotéine de perméabilité (46).

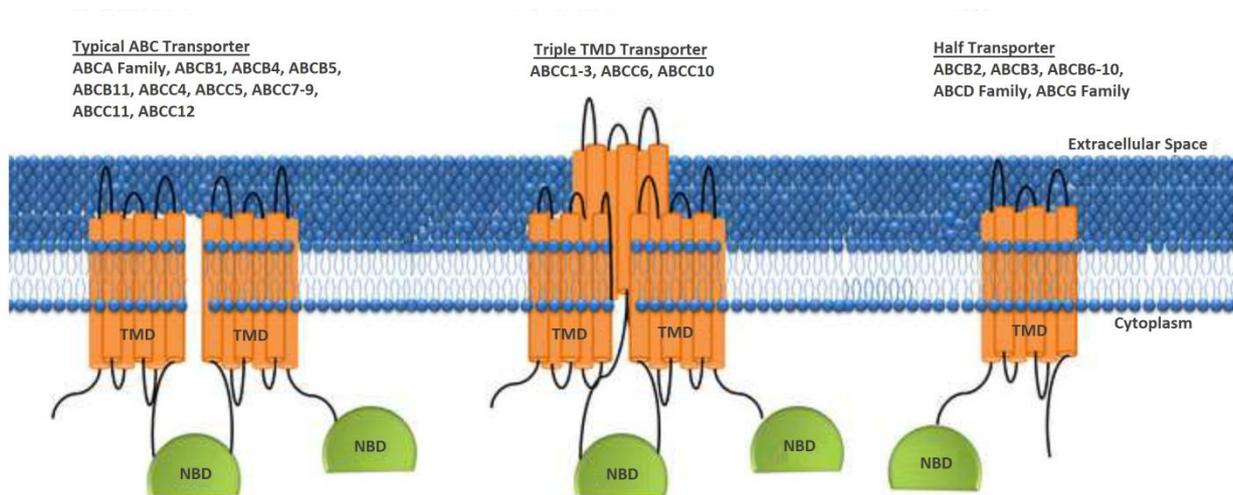
En 1986, Gros P *et al*, identifient le gène correspondant, via l'étude une région amplifiée commune à différentes souches multi-résistantes (47). Ce gène confère le phénotype de multi-résistance lors de sa transfection à une cellule sensible. La même année, Roninson IB *et al*, identifient une séquence homologue dans une lignée cellulaire humaine. Ils baptisent ce gène *MDR1* pour *Multi-Drug Resistant 1* (48).

La P-gp s'avère être un transporteur ABC (Adenosine Triphosphate (ATP)-*binding cassette*). En 1992, Cole *et al*, décrivent un autre transporteur responsable de chimiorésistance sur une lignée de cellules tumorales pulmonaires humaines, sans hyper expression d'*MDR1* (49). La protéine responsable est également un transporteur ABC, dont le gène sera plus tard renommé *ABCC1*. Le très fort engouement pour les transporteurs présentant ce motif va alors permettre, par homologie de séquence, d'identifier jusqu'à ce jour 48 gènes humains et un pseudogène. Ils sont divisés en 7 sous familles de A à G selon

une classification phylogénique. *MDR1* est ainsi renommé *ABCB1*. Ces transporteurs sont très conservés dans le règne animal. Ils peuvent avoir une grande variété de substrats (métabolites endogènes ou exogènes, nutriments, hormones, ions, lipides, toxiques). Leurs implications physiologiques sont très variées et par conséquent, ils sont associés à plus d'une dizaine de maladies métaboliques. La plus connue est la mucoviscidose, le gène *CFTR* codant pour le canal chlore responsable de la maladie est aussi appelé *ABCC7*. Certains de ces transporteurs sont très spécifiques pour leur substrat, à l'inverse d'autres présentent la capacité d'en lier plusieurs. Au moins 20 d'entre eux ont été décrits *in vitro* comme pouvant transporter des molécules de chimiothérapies (50). Les plus étudiés pour leur rôle dans la multi-résistance en oncologie sont *ABCB1 (MDR1)*, *ABCC1* (anciennement *MRP1* pour *multidrug resistant associated protein 1*) et *ABCG2* (anciennement *BCRP* pour *breast cancer resistance protein*).

### 1.3.2 Structure

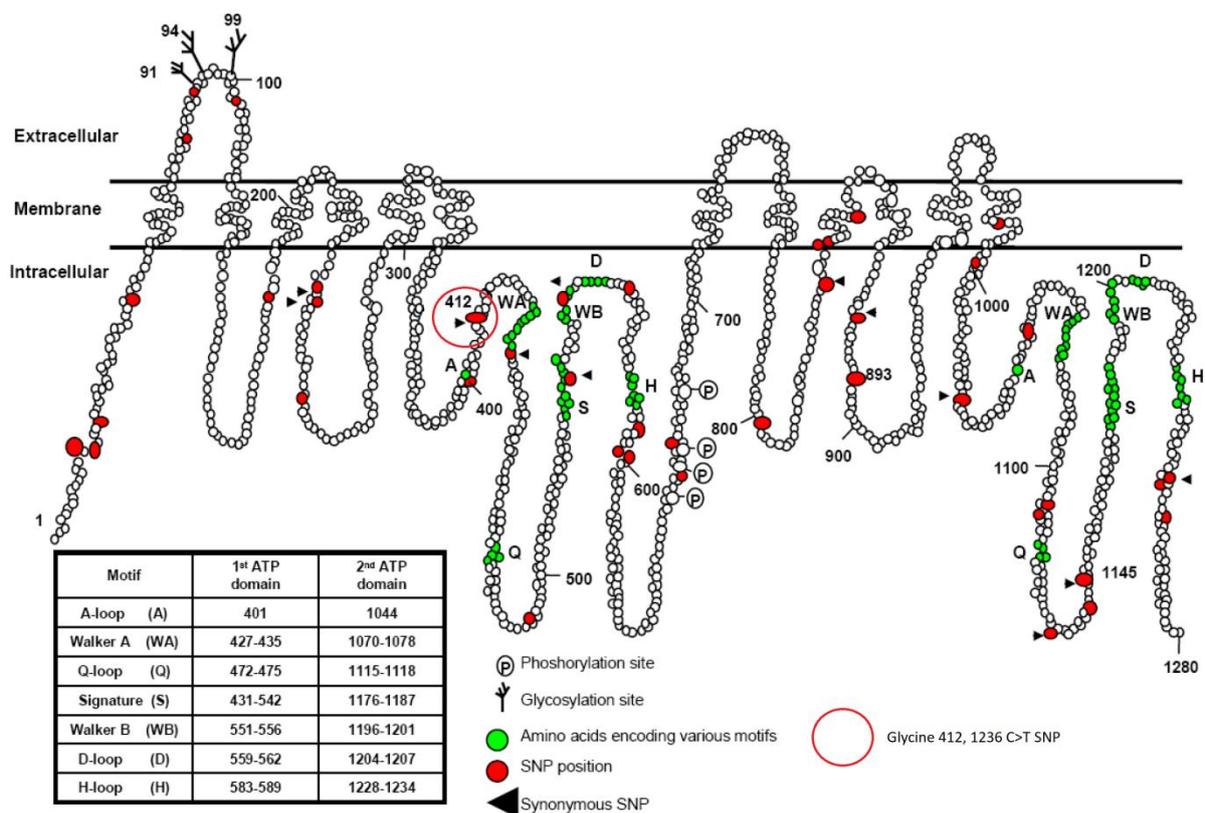
Les transporteurs ABC présentent une structure commune. Ils se composent de deux domaines de liaison à l'ATP intra cytoplasmiques et de deux ou trois domaines transmembranaires. Certains sont des demi-transporteurs qui s'associent en homodimères (Figure 5).



**Figure 5** : Structure simplifiée des différents transporteurs ABC (50). **NBD** : Nucleotide Binding Domain ; **TMD** : Transmembrane Domain (50).

Les domaines de liaison à l'ATP sont caractéristiques de cette famille de transporteurs. Ils se composent d'un motif de Walker A et d'un motif de Walker B. Ces deux motifs sont séparés par 90 à 120 acides aminés, comportant un motif dit de signature, propre à chaque sous famille.

Les domaines transmembranaires se composent d'hélices alpha. La P-gp en contient 12 répartis en deux domaines transmembranaires, ils forment une poche et sont responsables de l'affinité pour les substrats. Les hélices alpha sont reliées par des boucles qui forment un domaine intracellulaire distinct entre les domaines transmembranaires et les domaines de liaison à l'ATP. La première boucle N-terminale forme un petit domaine extracellulaire qui présente 3 sites de glycosylation (51) (Figure 6).



**Figure 6 :** Représentation schématique de la P-gp. Les acides aminés en vert sont impliqués dans les structures clés des deux sites de liaison à l'ATP. Les principaux variants sont en rouge. Les variants synonymes sont marqués d'un triangle noir. Le cercle rouge précise la localisation du rs1128503 C1236T (51).

### 1.3.3 Mécanisme d'action

De façon générale, ces transporteurs utilisent l'énergie fournie par l'hydrolyse de l'ATP pour convoyer des molécules à travers la membrane cellulaire, quelque soit le sens du gradient de concentration.

Les modèles de fonctionnement actuellement admis proposent que les substrats pénètrent dans la poche formée par les domaines transmembranaires dont l'ouverture est intra cytoplasmique (Figure 7.1). Les deux sites de liaison à l'ATP vont alors fixer chacun une molécule d'ATP et entrainer leur rapprochement. Ce changement conformationnel, médié par le reste du domaine intracellulaire, va entrainer l'ouverture de la poche vers l'extérieur de la membrane et également diminuer l'affinité des domaines transmembranaires pour leurs substrats. Ces derniers sont ainsi relargués vers le milieu extracellulaire (Figure 7.2). Enfin, l'hydrolyse d'une des deux molécules d'ATP va restaurer la configuration d'origine et permettre un nouveau cycle d'efflux (Figure 7.3)(52).

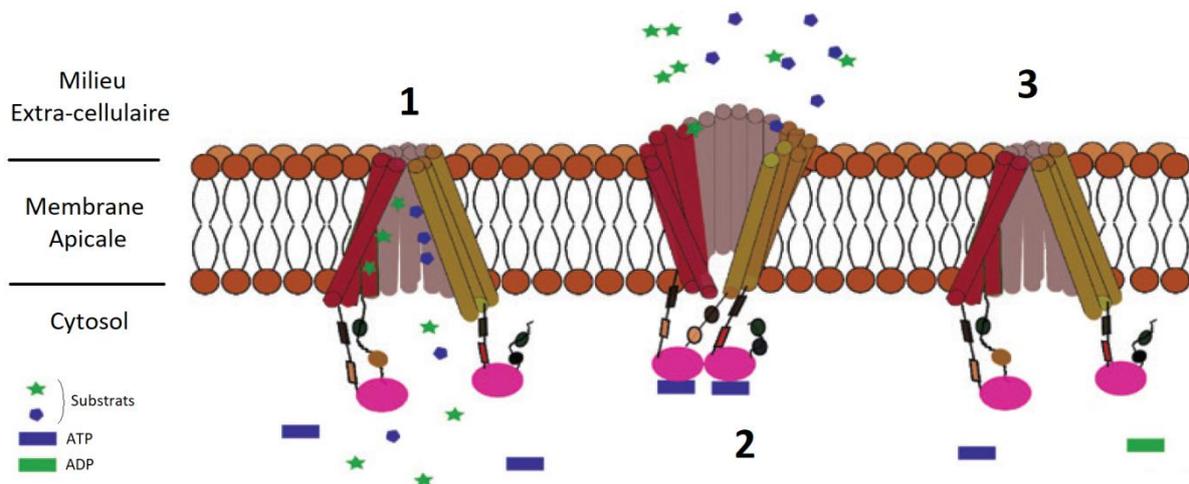


Figure 7 : Exemple de fonctionnement d'un transporteur ABC (52).

Bien que la P-gp soit le transporteur ABC le plus étudié, le mécanisme par lequel elle dispose d'une telle variété de substrats, tout en conservant une certaine affinité, reste non élucidé. Il semble que la grande flexibilité de la protéine rende difficile l'obtention d'une structure cristallographique de bonne résolution.

A l'aide de modèles de P-gp modifiées, Esser L *et al*, sont parvenus à réduire cette flexibilité, rendant alors sa capacité à fixer des substrats nulle tout en conservant sa capacité à lier et hydrolyser l'ATP. Ils formulent alors l'hypothèse que l'un des sites de liaison à l'ATP serait responsable de la perpétuelle ouverture fermeture de la protéine, indépendamment

de la présence de substrat. Ils démontrent également que ce mouvement provoque d'importantes modifications dans la forme de la poche à substrat par rotation/translation des hélices alpha et serait à l'origine de la poly spécificité. Il est également possible que le substrat lui-même joue un rôle dans l'organisation de son site de liaison. A la différence du modèle classique de la clé et de la serrure fonctionnant pour les protéines mono substrat, la P-gp agirait plutôt comme un grappin capable de s'adapter à la taille et à la forme de la molécule convoyée (53).

#### 1.3.4 Expression, substrats et inhibiteurs

La P-gp est exprimée dans de nombreux organes : les glandes surrénales, le foie, le pancréas, les reins, le tube digestif, le cerveau, les testicules, le placenta et l'endomètre lors de la gestation. On la retrouve plus précisément dans des zones d'interfaces physiologiques, comme au pôle apical des cellules de la muqueuse jéjunale et colique, ou dans le rein, sur celles du tube contourné proximal. Au niveau cérébral, elle est exclusivement présente à la surface des cellules endothéliales qui composent les capillaires de la BHE. Sa capacité à effluer un grand nombre de substrats dans la bile, les urines ou les selles, associée à sa localisation préférentielle font supposer un rôle de détoxification de l'organisme et de protection des organes nobles (54).

Il est également décrit que l'expression de la P-gp varie considérablement d'un tissu à l'autre. La concentration d'inhibiteurs nécessaire pour bloquer l'efflux au niveau de la BHE serait 20 fois supérieure à celle nécessaire au niveau des lymphocytes. Les cellules présentant une multi-résistance sur expriment la P-gp à des niveaux encore supérieurs (54).

La P-gp semble disposer d'une meilleure affinité pour les substrats hydrophobes ainsi que les bases faibles présentant des structures cycliques planes. Cette définition comprend une très large gamme de molécules utilisées en thérapeutique (54). On peut par exemple citer des anticonvulsivants, des anti-arythmiques, des antihistaminiques, des antirétroviraux. Des médicaments utilisés pour la prise en charge du risque cardio-vasculaire, comme les antiagrégants plaquettaires, les statines ou les bêta-bloquants mais également des substances d'intérêt en toxicologie, comme la méthadone et le tétrahydrocannabinol (THC). En oncologie, en plus des agents antimitotiques déjà cités (vincristine, vinblastine) ou

cytotoxiques (étoposide), on compte également des agents de thérapies ciblées comme les inhibiteurs de tyrosine kinase (imatinib, dasatinib, géfitinib). Le témozolomide a également été identifié comme substrat de la P-gp (55). Cette forte possibilité d'interférence pharmacologique a poussé la FDA et l'ANSM à demander des données d'interaction avec la P-gp lors du processus d'autorisation de mise sur le marché. On dispose ainsi de listes extensives de ses substrats (Annexe 4).

Comme vu dans la partie historique, la P-gp a d'abord été découverte comme une protéine responsable de chimiorésistance. De ce fait, la recherche d'inhibiteurs s'est rapidement imposée. La première génération repose sur des molécules physiologiquement convoyés par la P-gp, qui agissent comme inhibiteurs à plus forte concentration. Sûrement en partie par compétition mais aussi par inhibition de l'hydrolyse de l'ATP (54). Cette catégorie comprend l'inhibiteur du canal calcique : vérapamil ou l'immunosuppresseur : cyclosporine A. Tous les deux ont démontré leur efficacité à restaurer la sensibilité de divers agents de chimiothérapie *in vitro* sur des lignées cellulaires. Les concentrations plasmatiques nécessaires à la restauration d'une chimiosensibilité *in vivo* se sont avérées trop toxiques (56). Toutefois un essai de phase III randomisé sur 256 patients atteints de leucémie aiguë myéloblastique avec ou sans ajout de cyclosporine, a démontré une diminution de résistance à l'induction de 31% versus 47% ( $P = 0.0077$ ), se traduisant par un gain de survie sans progression à 2 ans de 34% versus 9% ( $p = 0.033$ ) (57). Aucune étude similaire portant sur des cancers pulmonaires, ovariens ou des myélomes multiples n'a pu reproduire une telle réponse.

Une deuxième génération d'inhibiteurs spécifiques a alors été développée. Ces composés dérivent des inhibiteurs connus, aux quels on a fait subir une modification visant à améliorer leur affinité pour la P-gp, tout en diminuant leur effet thérapeutique intrinsèque responsable de la toxicité (56). On obtient ainsi le dexverapamil dérivé du verapamil, le Vvalsopodar dérivé de la cyclosporine et le biricodar dérivé du tacrolimus. Malheureusement, ces substances sont inductrices des cytochromes P450, et réduisent la clairance des chimiothérapies conventionnelles. Ces associations se sont montrées très toxiques, et les essais de réduction de dose ont conduit à un risque de sous exposition à chimiothérapie.

Sur la base d'une approche contemporaine dite de QSAR (*Quantitative structure-activity relationship*) faisant appel aux mathématiques et à la modélisation informatique,

une troisième génération d'inhibiteurs a vu le jour. Ces composés comme le dofequidar, zosuquidar, tariquidar et elacidar, inhibent fortement la P-gp ainsi que d'autres transporteurs ABC et n'interagissent pas avec la chimiothérapie. Pourtant, après quelques francs succès *in vitro*, et dans des modèles de xénogreffes humaines sur la souris, leur usage chez l'homme s'est également montré toxique en association, sans présenter d'avantage clinique (56). On impute cette toxicité à l'inhibition conjointe des transporteurs ABC physiologiquement exprimés dans les tissus sains (58).

Plus récemment, les thérapies ciblées de types inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK) ont suscité l'intérêt dans ce domaine. La plupart de ces molécules sont reconnues comme des substrats de la P-gp. Suite aux rapports de toxicités imprévues lors d'associations d'ITK, des études ont mis en évidence la capacité de ces derniers à inhiber, à des doses thérapeutiques, certains transporteurs ABC. Ces molécules disposent d'une très bonne tolérance clinique et ont déjà l'AMM dans plusieurs indications. Un essai de phase I, d'association pazopanib (un ITK multi cibles anti-VEGF/PDGF/C-kit) et topotecan (un anti mitotique inhibiteur de topoisomérase I) réalisé chez des patients atteints de différentes tumeurs solides, a montré une augmentation d'1,7 fois l'aire sous la courbe de topotecan, avec une toxicité acceptable (59). Le pazopanib semble inhiber spécifiquement ABCG2. Mais le tepotinib, un ITK en cours de phase II ciblant le proto oncogène *MET*, a été récemment décrit comme inhibant spécifiquement la P-gp (60). Il faut désormais étudier si l'association de ces inhibiteurs plus spécifiques avec une chimiothérapie conventionnelle présente un profil de toxicité acceptable en pratique clinique. Cependant, l'hyper expression conjointe de plusieurs transporteurs ABC est un phénomène reconnu dans les leucémies aiguës myéloblastiques. Ce mécanisme d'échappement pourrait également s'observer dans les tumeurs solides telles que les glioblastomes (58).

### 1.3.5 Variants de la P-gp

Un variant est défini comme la modification d'une base par rapport à la séquence de référence d'un gène, survenant chez plus d'1% de la population générale. On parle alors de SNP pour *Single Nucleotide Polymorphism*. Si cette fréquence est inférieure à 1% on parle de SNV (*Single Nucleotide Variation*).

L'évidence *in vitro* que la P-gp pouvait conduire à la chimio résistance a motivé l'étude des SNPs du gène *ABCB1*. L'hypothèse est la suivante : si un variant altère la fonction ou l'expression de la P-gp, cela doit se refléter par une différence dans la pharmacocinétique de ses substrats et dans le cadre de la pharmacodynamie d'une chimiothérapie, par une différence de survie ou de réponse à celle-ci.

Le gène *ABCB1* est situé sur le bras long du chromosome 7, en 7q21.12. Il couvre une région de plus de 200kb qui transcrit un ARN (Acide Ribonucléique) messenger de 5.2kb comportant 28 exons. La protéine traduite comporte 1280 acides aminés. Plus de 50 SNPs sont décrits dans les portions codantes. (Figure 6).

Les premiers rapports décrivant des SNPs d'*ABCB1* datent de 1989. En 2000, Hoffmeyer *et al* effectuent la première recherche systématique sur la séquence codante de 188 caucasiens (61). Ils décrivent un variant C3435T sur l'exon 26 et l'associent à une expression duodénale augmentée de P-gp ainsi qu'à une concentration plasmatique diminuée de digoxine. Ce variant est synonyme, sa présence ne modifie pas la séquence des acides aminés de la protéine. Une des explications pour justifier son mécanisme d'action serait une association préférentielle avec d'autres SNPs non synonymes et fonctionnels, on parle de déséquilibre de liaison.

Durant la décennie suivante, l'accumulation de données dans différentes populations a permis de mettre en évidence un déséquilibre de liaison avec 2 autres principaux SNPs : NM\_001348944.1(*ABCB1*):c.1236T>C aussi appelé rs1128503 d'après la base dbSNP, également synonyme et sujet de ce travail. Ainsi que G2677A/T sur l'exon 21, non synonyme (62). La recherche sur PubMed des articles incluant au moins l'un de ces 3 SNPs référence un peu moins de 900 publications, s'intéressant à l'incidence de diverses maladies, ou la réponse à des traitements dans des domaines de la médecine aussi variés que les classes thérapeutiques substrats de la P-gp. Les résultats sont le plus souvent divergents d'une étude à l'autre et selon les origines géographiques des populations étudiés.

Le glioblastome ne fait pas exception. Schaich *et al*, étudient une cohorte de 112 patients atteints de diverses formes de glioblastomes (63). Les trois variants précédemment cités sont explorés pour 64 patients traités par le protocole dit de « Stupp ». Il existe un gain significatif de survie sans progression à 2 ans chez les patients présentant les allèles C/C du

SNP C1236T (n = 28 ; 37% vs 8% ; p = 0.02). Cette différence n'est pas retrouvée chez les 48 patients traités par radiothérapie seule, elle pourrait donc être attribuée à une modification de la pharmacocinétique du témozolomide chez les patients présentant ce génotype. Mais aucune corrélation significative n'a pu être établie entre ce SNP et la quantification de l'ARN messenger sur 99 échantillons tumoraux.

Plus récemment, Malmström *et al*, ont également exploré ces 3 SNPs ainsi que le G1199A dans une cohorte de 97 patients pris en charge pour un glioblastome selon le protocole de Stupp. Aucune différence significative sur la survie n'a été retrouvée selon le génotype du C1236T, ni des 3 autres SNPs.

## **2. ÉTUDE DE L'IMPACT DU VARIANT RS1128503 D'ABCB1 CHEZ LES PATIENTS TRAITÉS PAR TEMOZOLOMIDE**

### **2.1 RATIONNEL DE L'ETUDE ET OBJECTIFS**

Nous avons donc vu que le témozolomide associé à la radiothérapie constitue le traitement de référence des glioblastomes de l'adulte.

La principale complication lors de son utilisation est la thrombopénie, cependant il n'existe aucun facteur prédictif de sa survenue.

Le témozolomide est décrit comme substrat de la P-gp, protéine qui pourrait modifier sa pharmacocinétique et donc sa toxicité.

Une étude portant sur le glioblastome a décrit que l'existence d'un variant C1236T de la P-gp, pouvait potentialiser l'action du témozolomide et avoir un impact sur la survie des patients traités.

Dans ce contexte, **l'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'impact du variant C1236T du gène *ABCB1* codant pour la P-gp, sur la survenue d'une thrombopénie, chez des patients traités par témozolomide dans le cadre d'un glioblastome, pris en charge au CHU de Rouen et au centre de lutte contre le cancer Henri Becquerel.**

Une seconde étude est parue cette année, contredisant le lien avec la survie chez ces patients. **L'objectif secondaire de ce travail est donc de confirmer ou d'infirmer le lien entre le variant C1236T du gène *ABCB1* et la survie des patients traités par témozolomide pour un glioblastome.**

### **2.2 MATERIEL ET METHODES**

### 2.2.1 Description de l'étude

Ce travail repose sur une étude ancillaire menée à partir de la cohorte constituée pour l'essai GLIOPLAK. Il s'agit d'un essai interventionnel, monocentrique, prospectif, non randomisé, hors produit de santé, réalisé au centre Henri Becquerel à Rouen.

L'objectif principal de cet essai est de : « Confirmer la valeur prédictive de la diminution de plus de 35% de la concentration plaquettaire sanguine, durant la phase radio-chimiothérapie concomitante, sur le risque de survenue d'une thrombocytopenie  $\leq 100.000/mm^3$  en phase d'entretien ; et d'étudier l'impact pronostique de la survenue d'une ou de plusieurs thrombocytopenie(s)  $\leq 100.000/mm^3$  chez les patients traités pour un glioblastome selon le schéma Stupp. »

La durée initiale d'inclusion était de 3 ans et comportait 150 patients. L'inclusion a été prolongée et comporte maintenant 178 patients. Ce nombre est évolutif. Le suivi s'effectue jusqu'à 1 an et 6 mois après l'inclusion.

L'autorisation initiale de L'ANSM a été donnée le 28 avril 2015. L'avis favorable du Comité de Protection des Personnes Nord Ouest I a été obtenu le 28 mai 2015.

### 2.2.2 Critères d'inclusion et de non inclusion

Les critères d'inclusion sont :

- Âge  $\geq 18$  ans.
- Ayant accepté de participer à l'étude, et ayant signé le consentement éclairé.
- Patient atteint d'un glioblastome ou d'un gliosarcome prouvé histologiquement, nouvellement diagnostiqué.
- Avec indication de traitement selon le schéma Stupp lors de la réunion de concertation pluridisciplinaire de neuro-oncologie.
- Affilié ou bénéficiaire d'un régime de sécurité sociale.

Les critères de non inclusion sont :

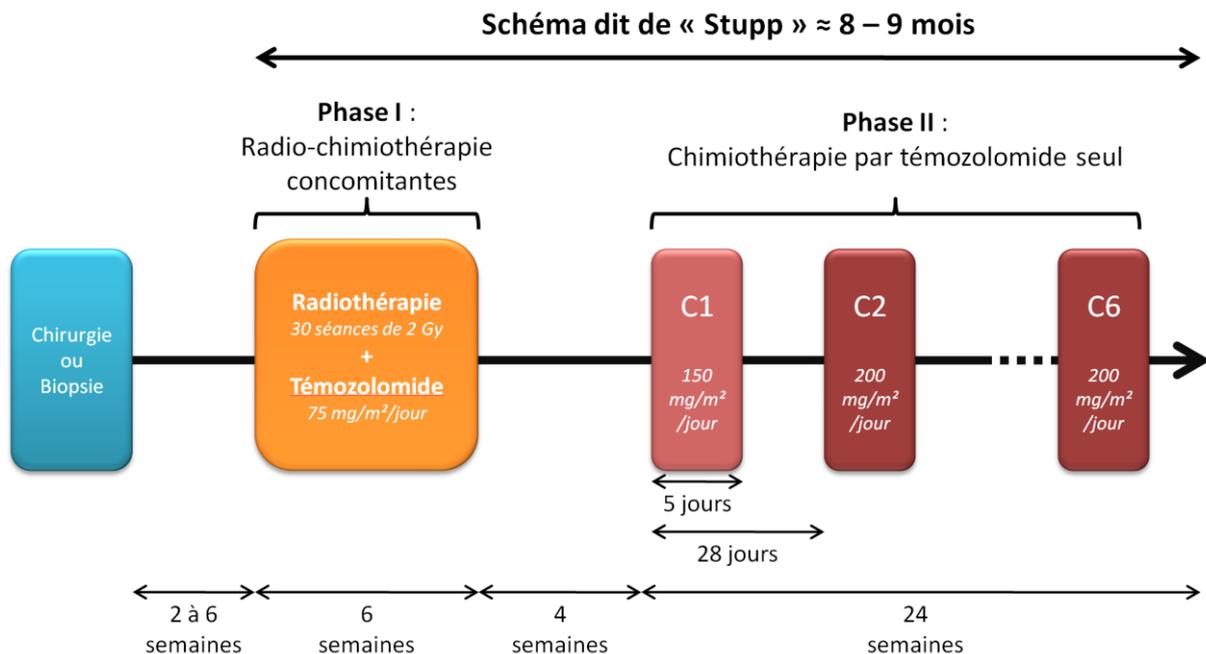
- Absence de consentement éclairé signé.
- Participation à un autre essai thérapeutique.

- Autre(s) cancer(s) synchrone(s) nécessitant une chimiothérapie ou traitement hémato-toxique.
- Antécédent(s) de pathologie hématologique affectant la lignée mégacaryocytaire.
- Patient sous protection, tutelle ou curatelle.
- Non affilié ou bénéficiaire d'un régime de sécurité sociale.

### 2.2.3 Déroulement du protocole

Après la réunion de concertation pluridisciplinaire, les patients éligibles sont opérés puis revus par un oncologue senior pour une visite d'inclusion. Le génotypage était effectué à partir d'un prélèvement sanguin réalisé lors de cette visite, avant la mise en place du traitement par radio-chimiothérapie.

Les patients sont ensuite pris en charge selon le protocole international dit de Stupp (Figure 8).



*Figure 8 : Schéma de prise en charge minimale selon le protocole de Stupp comportant au moins 6 cycles de témzolomide en entretien.*

La première phase dite de radiothérapie chimiothérapie concomitante (RT-TMZ) se décompose en 6 semaines. Elle peut être réalisée dans différents centres de la région

(Centre Henri Becquerel, Rouen ; Clinique des Ormeaux, Le Havre ; Clinique Pasteur, Evreux). Le témozolomide est administré en une prise à la dose de 75 mg/m<sup>2</sup> chaque jour, sans dépasser 150mg, pour une durée totale de 42 jours. Les patients bénéficient d'une surveillance hématologique par numération formule sanguine avec dosage plaquettaire hebdomadaire. Le critère « survenue d'une thrombopénie < 100 G/L » est recueilli de manière qualitative. Le critère « diminution de 35% de la concentration plaquettaire sanguine » est calculé à partir des dosages réalisés à la fin de chaque semaine de RT-TMZ. Les patients sont revus en consultation à la fin de cette première phase puis le traitement est interrompu pour un mois.

La phase de chimiothérapie par témozolomide seul en entretien, débute par une consultation protocolaire qui s'accompagne d'un bilan biologique étendu (hématologie, fonction hépatique et rénale). En l'absence de toxicité contre indiquant la reprise de la chimiothérapie, le témozolomide est administré pour 5 jours suivis de 23 jours d'arrêt, soit 28 jours par cycle. La dose administrée lors du premier cycle est de 150mg/m<sup>2</sup> par prise avec un maximum de 300mg. En cas de bonne tolérance la prise quotidienne est majorée à 200mg/m<sup>2</sup> avec un maximum de 400mg dès le 2<sup>ème</sup> cycle. Les patients sont vus lors d'une visite protocolaire après le 3<sup>ème</sup> et le 6<sup>ème</sup> cycle. Un patient peut être traité au-delà du 6<sup>ème</sup> cycle, sur appréciation de l'oncologue référent, une visite protocolaire peut ainsi avoir lieu à 56 semaines et 78 semaines. Les cycles intermédiaires sont administrés après consultation par un interne en hôpital de jour avec un bilan biologique réalisé en ville. Les thrombopénies < 100 G/L sont recueillis de manière qualitative ainsi que toute modification du schéma thérapeutique (report de cure, changement de posologie).

Les critères de sortie d'étude sont :

- Progression tumorale
- Changement de ligne thérapeutique
- Décès
- Survie au-delà de la 78ème semaine de suivi

#### 2.2.4 Echantillons

Ce travail s'intéresse à la présence d'un SNP au niveau constitutionnel, il repose sur l'étude de l'ADN génomique extrait à partir de sang total.

Les échantillons provenaient de sang collecté sur tube EDTA lors de la visite d'inclusion au centre Henri Becquerel, puis congelés. Les prélèvements étaient ensuite acheminés au laboratoire de Pharmacologie - Toxicologie du CHU de Rouen pour l'extraction et l'analyse de l'ADN.

L'extraction d'ADN était réalisée au moyen d'une technique manuelle, sur colonne de silice, via un kit de la société Qiagen® (Hilden, Allemagne) : QIAmp® DNA blood mini kit.

La procédure se déroulait selon les recommandations du fournisseur avec un volume de sang total de 200µL. L'ADN élué était ensuite dilué au 1/20<sup>ème</sup> avec de l'eau pour préparation injectable.

Cette méthode d'extraction fait partie des procédures du laboratoire de Pharmacologie - Toxicologie du CHU de Rouen et est accréditée par le comité français d'accréditation (COFRAC) selon la norme ISO 15189.

### 2.2.5 PCR allèle spécifique

Le génotypage du variant NM\_001348944.1(ABCB1) :c.1236T>C (rs1128503) a été réalisé par une technique de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) en temps réel à l'aide d'un kit commercial TaqMan™ Drug Metabolism Genotyping Assay, développé par la société Applied Biosystem® (Foster City, Californie, États-Unis).

Le kit comprend une amorce sens et une amorce anti-sens pour amplifier la région d'intérêt. Une sonde complémentaire de l'allèle T marquée en 5' par un fluorophore VIC de spectre d'émission vert (554nm). Une sonde complémentaire de l'allèle C marquée en 5' par un fluorophore FAM, de spectre d'émission bleu (520nm). Les deux sondes sont liées en 3' par un *Quencher* limitant l'émission de fluorescence sur ces longueurs d'ondes lorsque la sonde est intacte et un groupement MGB (*Minor Groove Binder*) augmentant la stabilité de la liaison sonde/ADN cible permettant le design d'une sonde plus courte, offrant ainsi une meilleure discrimination allélique.

Les échantillons étaient amplifiés à l'aide d'un Mix de PCR prêt à l'emploi : TaqMan® Genotyping Master Mix, Applied Biosystem®. Il contient en plus des nucléotides et du tampon de réaction, une polymérase à activité 5'-exonucléasique, capable d'hydrolyser les

sondes fixées à leur séquence complémentaire lors de l'élongation de la séquence amplifiée. Le fluorophore correspondant à l'allèle détecté est ainsi séparé du Quencher et peut être excité afin de mesurer son signal fluorescent. Ce Mix contient également un fluorophore ROX d'émission rouge (610nm), servant de signal de référence.

Les réactions de PCR étaient effectuées sur un thermocycleur 7500 Fast Real-Time PCR System de la société Applied Biosystem®. La fluorescence était exprimée sous forme d'un ratio de normalisation (Rn) : signal du fluorophore étudié sur signal de référence. Bien que la mesure s'effectue en temps réel, il s'agit d'une technique qualitative, un Rn supérieur à 2 était considéré comme positif pour le signal donné. La mesure d'une fluorescence uniquement verte correspondait à un patient homozygote pour l'allèle T. La mesure d'une fluorescence uniquement bleue correspondait à un patient homozygote pour l'allèle C. La coexistence de fluorescences bleues et vertes correspondait à un patient hétérozygote (Annexe 5).

Les échantillons étaient passés en « simplicat ». Un contrôle était effectué, pour les échantillons qui présentaient un signal douteux avec un Rn compris entre 1 et 2. Chaque plaque de 96 puits comprenait systématiquement un témoin T/T, un témoin C/C, un témoin hétérozygote C/T et un blanc composé du Mix final où l'échantillon d'ADN était remplacé par un volume équivalent d'eau.

## 2.2.6 Logiciels et Analyses Statistiques

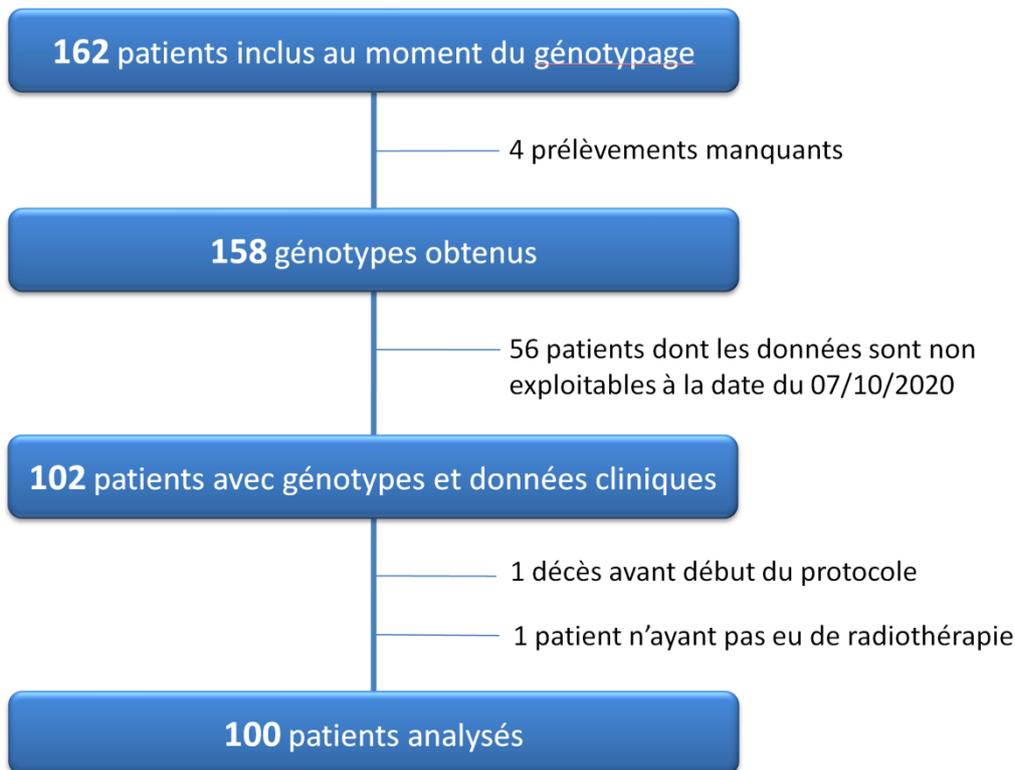
Les informations cliniques sont recueillies sur l'outil en ligne eCRF du Centre de Traitement des Données du Cancéropôle Nord-Ouest. Les données de génotypage ont été exportées via le logiciel Microsoft Excel® (Redmond, Washington, États-Unis).

L'étude des variables en uni-variée faisait appel à un test du  $\chi^2$  de Pearson avec un risque  $\alpha$  fixé à 5%. Les risques relatifs étaient évalués par le calcul d'un Odds Ratio (OR) selon un test exact de Fisher avec un intervalle de confiance à 95%. Les analyses multi-variées étaient réalisées par régression logistique. L'étude de la survie globale et de la survie sans progression était faite par un modèle de Cox, les courbes étaient tracées selon la représentation de Kaplan-Meier, et la différence entre les deux courbes était évaluée par un test du log-rank. Les analyses statistiques et les figures ont été effectuées sur le logiciel

RStudio®, de la société RStudio inc (Boston, Massachusetts, États-Unis) au moyen de la librairie ggplot2 (RStudio inc).

## 2.3 RÉSULTATS

### 2.3.1 Organigramme de l'étude



*Figure 9 : Organigramme de l'étude.*

### 2.3.2 Résultats du génotypage

L'étude du SNP rs1128503 d'*ABCB1*, couramment noté C1236T, a été réalisée pour 158 échantillons. Le nombre d'échantillons correspondant aux génotypes T/T, C/T et C/C étaient respectivement de 32 (20,3%), 73 (46,2%) et 53 (33,5%).

Les fréquences alléliques étaient de 43,4% pour l'allèle T et de 56,6% pour l'allèle C. Aucune différence significative n'a été observée par rapport aux fréquences alléliques décrites dans la population européenne par le projet 1000 génomes phase 3 (T : 41,6% et C : 58,4%)( $p = 0,527$ ).

Aucune différence significative n'a été retrouvée par rapport à une population théorique respectant l'équilibre d'Hardy-Weinberg pour les fréquences alléliques observées ( $p = 0,46$ ). De même pour la population composée des 100 patients analysés ( $p = 0,51$ )(tableau 1).

		<b>N = 158</b>	<b>N = 100</b>
Génotypes N (%)	<b>T/T</b>	32 (20%)	21 (21%)
	<b>C/T</b>	73 (46%)	46 (46%)
	<b>C/C</b>	53 (34%)	33 (33%)
$\chi^2$ vs Hardy-Weinberg théorique		$p = 0,456$	$p = 0,506$
Fréquences Alléliques	<b>T</b>	0,434	0,44
	<b>C</b>	0,566	0,56
$\chi^2$ vs 1000 genomes project	fT = 0,416 fC = 0,584	$p = 0,527$	$p = 0,491$

**Tableau 1** : Résultats du génotypage du rs1128503 d'ABCB1.

### 2.3.3 Description de la population

La cohorte finale se composait de 100 patients. Les caractéristiques démographiques et cliniques sont résumées dans le tableau 2.

Le sexe ratio H/F était de 1,5 avec 60 hommes et 40 femmes. L'âge médian au diagnostic était de 60 ans. L'indice de Karnofsky au diagnostic était supérieur ou égal à 80 pour 87% des patients.

Malgré une population avec un état général globalement conservé, la proportion d'exérèse chirurgicale n'était que de 57%. Elle était jugée complète dans 60% (34/57) des cas. La localisation majoritaire était le lobe frontal 41%.

Le type histologique était très majoritairement un glioblastome *IDH* sauvage (90%). Le statut de méthylation du promoteur de *MGMT* n'était connu que pour 68% des patients.

Rapporté à ces 68 patients, la proportion de tumeurs présentant un statut *MGMTp* méthylé était de 34% (23/68), ce qui concorde avec les données décrites dans la littérature.

		<b>N=100</b>
<b>Sexe</b>	Femme	40
	Homme	60
	Ratio H/F	1.5
<b>Age au diagnostic</b>	Moyenne	58,1
	Médiane	60
	Min, Max	21-76
<b>Indice de Karnofsky au diagnostic</b>	Supérieur ou égal à 80	87
	60-80	9
	<60	1
	Non connu	3
<b>Type de chirurgie</b>	Biopsie	43
	Exérèse	57
<i>Qualité de l'exérèse</i>	<i>Complète</i>	<i>34 (59,6%)</i>
	<i>Partielle</i>	<i>18 (31,6%)</i>
	<i>Non connue</i>	<i>5 (8,8%)</i>
<b>Histologie</b>	Glioblastome <i>IDH</i> sauvage	90
	Glioblastome <i>IDH</i> muté	6
	Gliosarcome	4
<b>Statut <i>MGMTp</i> tumoral</b>	Non connu	32
	Connu	68
<i>Répartition</i>	<i>Méthylé</i>	<i>23 (33,8%)</i>
	<i>Non méthylé</i>	<i>45 (66,8%)</i>
<b>Localisation prédominante</b>	Frontale	41
	Pariétale	10
	Temporale	28
	Occipitale	2
	Corps calleux	7
	Non connue	12

Tableau 2 : Caractéristiques démographiques et tumorales de la population.

Le suivi du protocole est résumé dans le tableau 3. 72% des patients sont sortis du protocole avant la 78<sup>ème</sup> semaine. Le motif principal était la progression tumorale 83% (60/72), suivi du décès 15% (11/72). Un patient a retiré son consentement après inclusion.

La radiothérapie était principalement délivrée par modulation d'intensité (94%) et selon le fractionnement standard du protocole de Stupp, en 30 séances de 60 Gy (93%). 80% des patients ont pu bénéficier d'une radio-chimiothérapie complète, sans discontinuer. 11 ont présenté une thrombopénie ayant nécessité un arrêt, seuls 4 ont pu reprendre le protocole. 4 ont dû arrêter le traitement pour évolution carcinologique précoce. 4 n'ont pas reçu la totalité de la dose prescrite de témozolomide sans raison renseignée. Et 1 patient a dû arrêter pour une autre toxicité imputable au témozolomide.

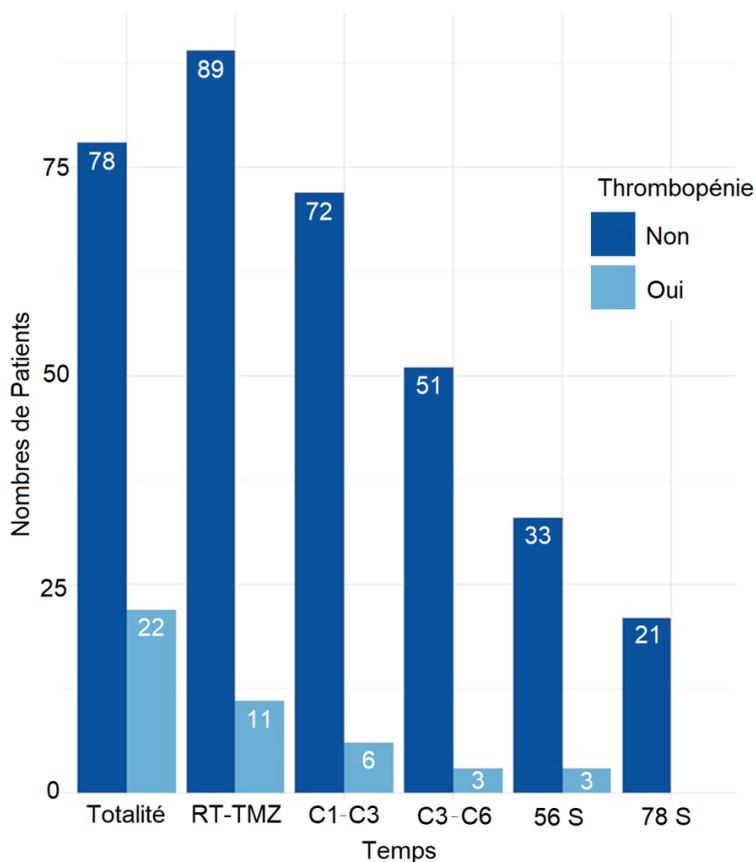
80% des patients ont débuté la première cure de témozolomide en monothérapie. Chez ces patients une médiane de 6 cycles a été réalisée.

			<b>N=100</b>
		Oui	28
		Non	72
<b>Protocole suivi en intégralité</b>			
	<i>Motifs</i>	<i>Evolution carcinologique</i>	60 (83,3%)
		<i>Décès en cours de protocole</i>	11 (15,3%)
		<i>Retrait du consentement</i>	1 (1,4%)
<b><u>Radiothérapie</u></b>			
		60 Gy	93
<b>Dose cumulée</b>		Hypofractionnée 40 Gy	3
		Arrêt précoce pour évolution carcinologique	4
		3D conformationnelle	2
<b>Modalité</b>		IMRT	94
		Non connue	4
<b><u>Témozolomide - Phase RT-TMZ</u></b>			
		Oui	80
<b>RT-TMZ en totalité</b>		Non	20
		Temporaire	8
	<i>Motifs</i>	<i>Thrombopénie résolutive</i>	4 (50%)
		<i>Autre(s) cause(s)</i>	4 (50%)
<b>Arrêt en cours de radiothérapie</b>		Définitif	12
	<i>Motifs</i>	<i>Thrombopénie persistante</i>	7 (58,3%)
		<i>Evolution carcinologique</i>	4 (33,3%)
		<i>Autre toxicité du Témozolomide</i>	1 (8,3%)
<b><u>Témozolomide - Phase monothérapie</u></b>			
		Oui	<b>N= 88</b> 80
<b>Reprise après RT-TMZ</b>		Non	8
	<i>Motifs</i>	<i>Thrombopénie persistante</i>	2 (25%)
		<i>Complication infectieuse</i>	1 (12,5%)
		<i>Evolution carcinologique</i>	5 (62,5%)
			<b>N= 80</b>
<b>Cycles de Témozolomide en monothérapie</b>		Moyenne	7,6
		Médiane	6

Tableau 3 : Récapitulatif du suivi du protocole.

### 2.3.4 Conséquence sur la survenue d'une thrombopénie

Seules les thrombopénies inférieures à 100 G/L étaient évaluées dans cette étude. Nous avons dénombré 23 cas chez 22 patients. Un patient a présenté 2 épisodes de thrombopénies. 13 (59,1%) patients étaient des femmes et 9 (40,1%) des hommes. Proportionnellement, 32,5% des femmes ont présenté une thrombopénie contre 15% des hommes. La répartition était de 11 épisodes (47,8%) en phase RT-TMZ et 12 (52,2%) après RT-TMZ (Figure 10).



*Figure 10* : Répartition des patients ayant présenté une thrombopénie < 100 G/L au cours de l'étude.

Les résultats de la survenue d'une thrombopénie en fonction du SNP d'intérêt sont résumés dans le tableau 4.

Parmi les 22 patients ayant présenté une thrombopénie, 4 (18,2%) étaient de génotype T/T pour le SNP étudié, 12 (54,5%) étaient hétérozygotes et 6 (27,5%) étaient

homozygotes C/C. Cette répartition n'a pas montré de différence significative avec la répartition des génotypes des patients n'ayant pas présenté de thrombopénie ( $p = 0,66$ ).

La fréquence de l'allèle majoritaire C n'était pas significativement différente entre ces deux groupes : 56,4% et 54,5% ( $p = 0,86$ ). L'Odds Ratio (OR) du risque de survenue d'une thrombopénie en fonction de cet allèle n'était donc pas significatif 0,93 [0,45-1,93].

	Thrombopénie < 100 G/L		
	Non 78	Oui 22	
Génotypes N (%)			
<b>T/T</b>	17 (21,8%)	4 (18,2%)	
<b>C/T</b>	34 (43,6%)	12 (54,5%)	$p = 0,66$
<b>C/C</b>	27 (34,6%)	6 (27,3%)	
Fréquence Allélique C	88/156 (56,4%)	24/44 (54,5%)	
OR	0,93		$p = 0,86$
IC95%	[0,45 - 1,93]		

**Tableau 4** : Risque de thrombopénie et génotype ABCB1 rs1128503.

D'autres paramètres ont été étudiés dans le but de chercher une association avec la survenue d'une thrombopénie (Tableau 5). Une association significative est apparue avec les patients présentant une taille plus petite ( $p = 0,037$ ), un poids plus faible ( $p = 0,025$ ), une surface corporelle plus petite ( $p = 0,020$ ) ainsi qu'une créatininémie inférieure ( $p = 0,002$ ). Il y avait plus de thrombopénies chez les femmes, cette différence était significative ( $p = 0,038$ ).

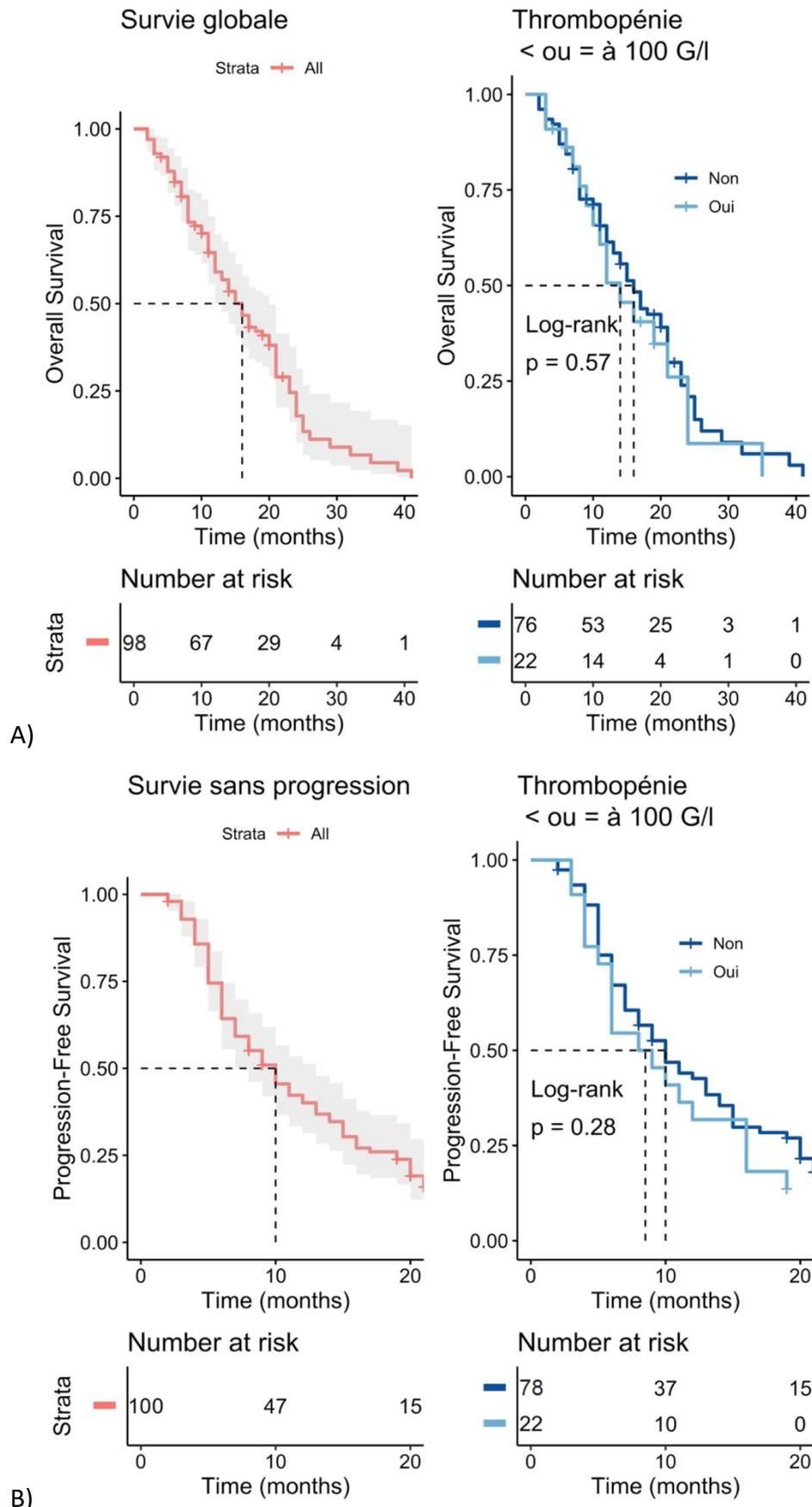
	Thrombopénie < 100 G/L		p
	Non 78	Oui 22	
	médiane [écart interquartile]		
Age	59.00 [51.00, 66.75]	62.50 [49.50, 65.50]	0.907
IK	90.00 [80.00, 90.00]	90.00 [90.00, 90.00]	0.294
Taille (cm)	172.00 [165.00, 177.75]	167.00 [159.00, 172.00]	<b>0.037</b>
Poids (Kg)	74.50 [65.25, 84.00]	66.00 [55.00, 75.00]	<b>0.025</b>
Surface corporelle (m <sup>2</sup> )	1.87 [1.76, 2.01]	1.77 [1.54, 1.85]	<b>0.020</b>
Créatininémie (µmol/L)	68.50 [62.25, 82.75]	60.00 [48.25, 68.50]	<b>0.002</b>
Plaquette à l'inclusion (G/L)	268.00 [220.00, 313.50]	254.00 [230.00, 299.00]	0.476
	moyenne (écart type)		
Albuminémie	43.00 (3.84)	43.67 (3.48)	0.477
Nombre de cycles	6.23 (5.37)	5.23 (5.78)	0.449
	nombre ( % de la sous-population: 60 H, 40 F)		
Femme	27 (67,5)	13 (32,5)	<b>0.038</b>
Homme	51 (85)	9 (15)	

*Tableau 5: analyse univariée des facteurs de risque potentiels de survenue d'une thrombopénie.*

### 2.3.5 Conséquence sur la survie

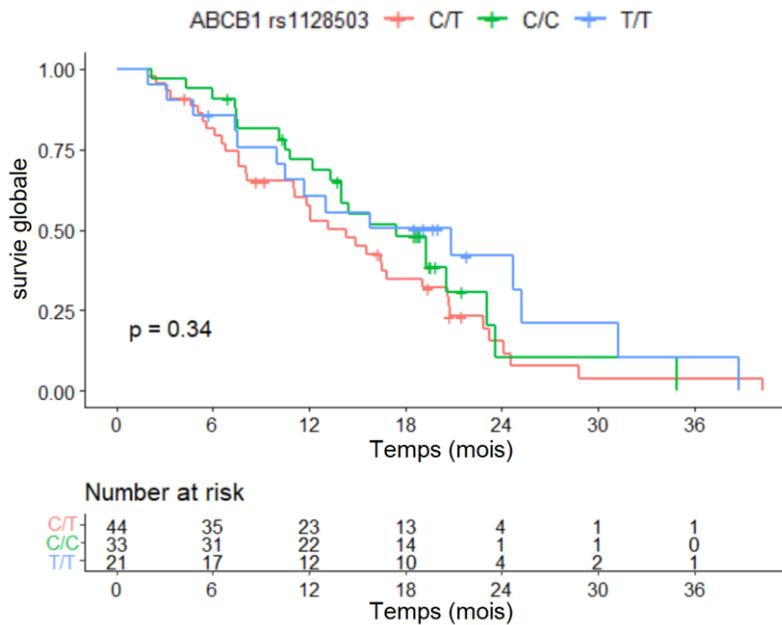
A la date de l'analyse, 74% des patients étaient décédés. 2 dates de décès n'étaient pas renseignées, le calcul de la survie globale s'effectue donc sur 98 patients. La médiane était de 14,0 mois. La survenue d'une thrombopénie n'avait pas d'incidence sur la survie globale ( $p = 0,57$ ). (Figure 11 A).

Une progression tumorale a été enregistrée chez 77% des patients. La médiane de survie sans progression était de 9,3 mois. La survenue d'une thrombopénie n'était pas non plus associée à la progression tumorale ( $p = 0,28$ ) (Figure 11 B).



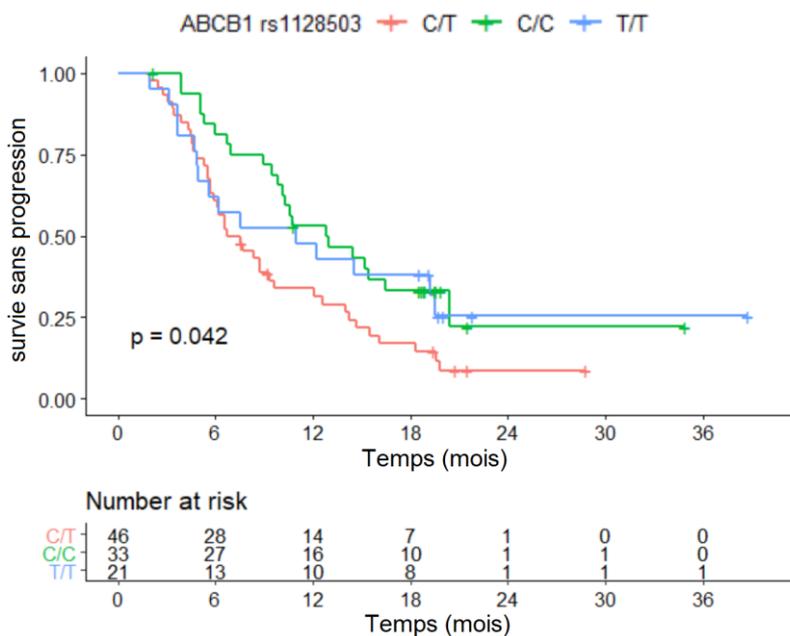
**Figure 11** : A) survie globale et thrombopénie B) Survie sans progression et thrombopénie.

Aucun lien significatif entre la survie globale et la présence d'un génotype du SNP rs1128503 n'a été observé ( $p = 0,34$ )(Figure 12).



**Figure 12** : survie globale selon le génotype du rs1128503.

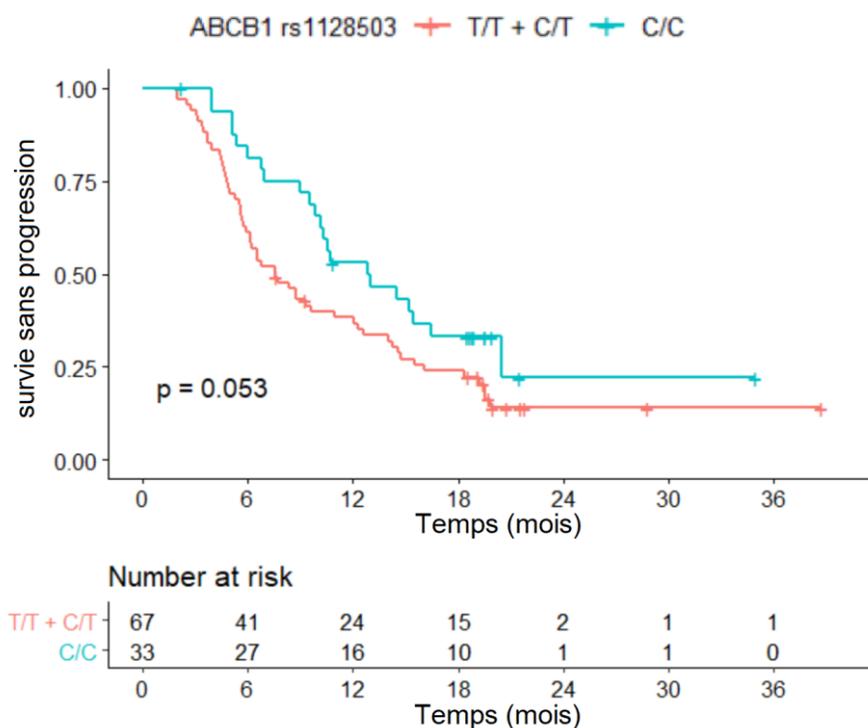
Il existait une différence significative pour la survie sans progression selon la répartition des génotypes ( $p = 0,042$ )(Figure 13).



**Figure 13** : survie sans progression selon le génotype du rs1128503.

Les 33 patients présentant l'allèle C à l'état homozygote semblaient bénéficier d'une meilleure survie sans progression que les 46 patients hétérozygotes. Toutefois les 21 patients qui ne présentaient pas l'allèle C (homozygotes T/T) semblaient avoir un risque de progression comparable aux patients hétérozygotes jusqu'à 6 mois, puis d'avantage comparable aux patients homozygotes C/C au-delà.

Pour mieux évaluer le bénéfice de survie sans progression des patients homozygotes C/C, nous avons réalisé un modèle T/T + C/T contre C/C. Le résultat n'a pas pu conclure à une différence significative, il indique cependant une forte tendance, très proche de la significativité ( $p = 0,053$ )(Figure 14). La pente de ces courbes semble comparable, la courbe de progression des homozygotes C/C est cependant décalée dans le temps. Cette différence pourrait provenir de l'absence de progression tumorale enregistrée dans les 3 premiers mois du protocole pour la totalité des 33 patients C/C. La médiane de survie sans progression pour ces patients était de 10,8 mois contre 7,6 mois pour le regroupement des deux autres génotypes.



**Figure 14** : Survie sans progression des patients homozygotes pour l'allèle C versus « porteurs de l'allèle T ».

Les facteurs ayant une influence significative sur la survie globale et la survie sans progressions sont résumés dans le tableau 6.

Le plus important mais connu est le bon pronostic de la méthylation du promoteur d'*MGMT* ( $p < 0.001$ ) et ce sur la survie globale et sur la survie sans progression, en univariée et en multivariée.

L'exérèse chirurgicale plutôt que la biopsie a un effet bénéfique sur le délai de progression tumorale, et également sur la survie globale en multivariée.

L'âge jeune et l'indice de Karnofsky élevé étaient également de bon pronostic sur la survie globale. Seul l'âge restait associé à la survie sans progression.

Comme expliqué en introduction les glioblastomes présentant un variant d'*IDH1/2* disposaient d'une survie sans progression bien meilleure OR 0,09 [0,01 - 0,64] en univariée, mais leur faible prévalence, y compris dans cette étude, ne permettait pas de les intégrer au modèle multivarié.

Enfin, l'objectif de l'étude Glioplak est de valider le marqueur prédictif de thrombopénie que représente la décroissance de plus de 35% des plaquettes au cours de la phase RT-TMZ. Il semble à ce stade de l'étude que ce marqueur présente également un effet pronostique défavorable sur la survie sans progression.

	Survie Globale						
	OR	Univariée			Multivariée		
		IC 95%	pValue	OR	IC 95%	pValue	
Exérèse chirurgicale	0.67	0.42 - 1.07	0.092	0.47	0.24 - 0.91	<b>0.026</b>	
<i>MGMT</i> p méthylé	0.27	0.13 - 0.58	<b>&lt; 0.001</b>	0.16	0.06 - 0.41	<b>&lt; 0.001</b>	
IK	0.96	0.93 - 0.98	<b>&lt; 0.001</b>	0.95	0.91 - 1.00	<b>0.037</b>	
âge	1.03	1.00 - 1.05	<b>0.016</b>	1.05	1.01 - 1.09	<b>0.021</b>	
Décroissance plaquettaire > à 35% en phase RT-TMZ	1.55	0.91 - 2.65	0.105	2.59	1.17 - 5.75	<b>0.037</b>	

	Survie Sans Progression						
	OR	Univariée			Multivariée		
		IC 95%	pValue	OR	IC 95%	pValue	
Exérèse chirurgicale	0.61	0.39 - 0.95	<b>0.030</b>	0.39	0.19 - 0.78	<b>0.008</b>	
<i>MGMT</i> p méthylé	0.32	0.16 - 0.61	<b>&lt; 0.001</b>	0.17	0.07 - 0.41	<b>&lt; 0.001</b>	
<i>IDH1/2</i> muté	0.09	0.01 - 0.64	<b>0.017</b>		NA		
âge	1.02	1.00 - 1.05	<b>0.022</b>	1.05	1.01 - 1.09	<b>0.006</b>	
Décroissance plaquettaire > à 35% en phase RT-TMZ	1.77	1.06 - 2.94	<b>0.028</b>	2.86	1.24 - 6.60	<b>0.014</b>	

**Tableau 6 :** Facteurs ayant une influence significative sur la survie globale et sans progression.

Les deux facteurs de bon pronostic les plus importants sur la survie sans progression étaient donc le statut *MGMTp* méthylé et le statut *IDH1/2* muté. Nous avons alors cherché à voir s’il existait une association entre ces paramètres et les patients homozygotes C/C pour le SNP d’*ABCB1* (voit tableau 7).

Parmi les 33 patients C/C, 8 présentaient un statut tumoral *MGMTp* méthylé. La répartition était presque identique à celle des 67 autres patients. Pour *IDH*, 2 des 33 patients présentaient une tumeur mutée, là encore aucune différence significative avec la population des 67 autres patients n’a été retrouvée.

		<b><i>MGMTp</i> Méthylé</b>			
N = 100	Non	Oui	Inconnu		
<b>C/T + T/T</b>	30 (44,8%)	15 (22,4%)	22 (32,8%)	p = 0.96	
<b>C/C</b>	15 (45,5%)	8 (24,2%)	10 (30,3%)		
		<b><i>IDH1/2</i> muté</b>			
N = 100	Non	Oui	Gliosarcome		
<b>C/T + T/T</b>	60 (89,5%)	4 (6,0%)	3 (4,5%)	p = 0.94	
<b>C/C</b>	30 (90,9%)	2 (6,1 %)	1 (3,0%)		

**Tableau 7** : Répartition des facteurs pouvant confondre le bon pronostic du génotype C/C.

## 2.4 DISCUSSION

L’objectif principal de ce travail était d’évaluer le lien entre le SNP rs1128503 et la survenue d’une thrombopénie. Malgré une méthodologie simple et une cohorte prospective homogène, aucun lien n’a été mis en évidence entre la répartition de ce génotype dans la population étudiée et la survenue d’une thrombopénie.

En effet, les données cliniques préliminaires sont tout à fait en adéquation avec celles de la littérature. Le sexe ratio était à 1,5 contre 1,6 en France. L’âge médian au diagnostic était légèrement plus jeune qu’attendu, 60 ans contre un peu plus de 65 ans. La médiane de survie était dans la fourchette basse des cohortes actuelles 14 mois contre 14 à 16 mois attendu. La proportion de tumeurs présentant un statut *MGMTp* méthylé, lorsqu’il était connu, était de 34% contre 45% d’après Hegi *et al* (18).

Le nombre de thrombopénies survenues durant l'étude (23%) concorde également avec les cohortes précédentes. Toutefois, à l'instar des autres études, aucun lien entre la survenue de ces thrombopénies et la survie globale ou la survie sans progression n'a pu être établi. On peut supposer un manque de puissance. En effet, Le glioblastome reste une maladie de très mauvais pronostic. Le traitement, bien qu'apportant un bénéfice avéré, n'est pas assez efficace pour qu'une discontinuité ou un changement de ligne thérapeutique chez 20% des patients ne montre une réelle différence de survie. Les résultats définitifs de l'essai Glioplak, dont l'inclusion a été prolongée, pourront peut-être dégager une tendance dans ce sens.

Concernant les mécanismes de cette thrombopénie, l'hypothèse étudiée était la suivante : s'il existe un lien entre la présence de ce variant et l'efficacité du traitement, il peut exister un lien entre ce variant et la toxicité. Autrement dit, « ce variant peut-il conduire à un changement dans la pharmacocinétique du témozolomide ? ».

De nombreuses zones d'ombres persistent concernant la P-gp et le témozolomide. Le lien entre niveau expression de la P-gp et efficacité de ce traitement n'a été étudié qu'*in vitro*. L'intérêt de cette question étant avant tout thérapeutique, ces études étaient réalisées sur des lignées cellulaires tumorales (55). Or, on sait que le niveau d'expression d'*ABCB1* peut être considérablement augmenté en situation carcinologique et par ailleurs induit par exposition chronique à certains anticancéreux, c'est ce principe qui permet d'aboutir au phénotype de multi-résistance.

Le transport du témozolomide par la P-gp dans les tissus sains n'a, à notre connaissance, pas été étudié. On est à même de se demander si cet efflux est suffisant pour modifier la pharmacocinétique du témozolomide par des cellules où *ABCB1* est bien moins exprimé. On sait que parmi les tissus sains exprimant la P-gp, la BHE est le siège d'une importante expression (54). L'efficacité thérapeutique du témozolomide sous-entend donc d'outrepasser à dose thérapeutique, ce niveau d'efflux. Il est donc logique de penser que cette même dose outrepassse très largement le niveau d'expression moindre des tissus digestifs qui conditionnent son absorption. D'ailleurs, même si des variants d'*ABCB1* sont décrits comme pouvant affecter la pharmacocinétique de certains médicaments, ce phénomène ne semble pas s'appliquer au témozolomide dont la biodisponibilité est proche de 100%. Le rein exprime également la P-gp. Mais plus de 90% de l'élimination rénale est

faite sous forme d'AIC, un métabolite inactif. Le témozolomide est presque intégralement réabsorbé. L'importance de ce mécanisme d'efflux semble donc également négligeable au niveau du néphron.

En se focalisant sur l'hypothèse que seuls les tissus exprimant fortement la P-gp pourraient être affectés par ce variant, on peut se demander si une modification de la perméabilité de la BHE et/ou de la tumeur pourrait modifier la distribution entre plasma et LCR. Dans une étude sur des modèles murins visant à améliorer la diffusion cérébrale du témozolomide, de Goijer *et al* (65), ne montraient pas de changement des concentrations plasmatiques même lorsque la diffusion cérébrale était améliorée. Ils ne montraient en fait que peu de changement chez les souris KO pour *ABCB1*. La meilleure diffusion étant obtenue lorsqu'on inactivait *ABCB1* et *ABCG2*, soutenant ainsi la thèse actuelle, que le transport de certaines chimiothérapies impliquerait plusieurs transporteurs ABC, se compensant potentiellement en cas de perte d'activité (58).

Ces idées concordent avec nos résultats, laissant entrevoir plusieurs raisons pour ne pas retrouver d'association entre le rs1128503 et la toxicité médullaire du témozolomide. Ces résultats montrent néanmoins qu'il existe un profil de patients à risque. En effet, certains paramètres anthropométriques simples mais liés entre eux, comme le poids faible, la petite taille et une faible surface corporelle, montrent une association préférentielle. Une créatininémie basse serait un facteur de risque, ainsi que le sexe féminin. Tous ces facteurs se confondent. Il est probable que la dose tolérée en fonction de la surface corporelle ne soit pas linéaire. Le rapport masse maigre/masse grasse ou le rapport volume plasmatique/volume tissulaire étant différent selon l'âge, le sexe, ou l'état nutritionnel. La réduction de la toxicité des chimiothérapies s'accompagnera sûrement d'une meilleure adaptation posologique à la physiologie interindividuelle.

L'objectif secondaire de cette étude était d'évaluer le lien entre le rs1128503 et la survie. De façon surprenante, nos résultats indiquent qu'il semble exister une tendance chez les patients homozygotes C/C à disposer d'un délai sans progression supérieur par rapport aux porteurs de l'allèle T pour le SNP étudié, mais sans conséquence sur la survie globale.

Comme précisé en introduction de ce travail, deux études ont déjà évalué l'intérêt de ces variants sur le pronostic des patients atteints de glioblastomes. Schaich *et al* (63), avaient conclu, dans une étude rétrospective, que les 28 patients présentant un génotype C/C pour

le rs1128503 présentait une survie globale à 2 ans de 37% contre 8% pour les 25 patients hétérozygotes C/T ( $p = 0,02$ ). Les 10 patients homozygotes T/T présentait un pronostic intermédiaire de 10% de survie globale à 2 ans, ce que l'on observe aussi dans notre cohorte. Les données statistiques sur la confusion avec le statut *MGMTp* n'étaient pas clairement décrites dans l'étude de Schaich *et al*, mais la proportion de tumeurs *MGMTp* méthylés semblait plus importante pour le groupe C/C (44% contre 25% chez les hétérozygotes). On ne dispose malheureusement pas de cette donnée pour toutes les tumeurs de notre cohorte, mais aucune différence dans la répartition du statut *MGMTp* n'a été mise en évidence selon le génotype. Malmström *et al* (64), se sont intéressés aux même 3 SNP que Schaich *et al*, dans une cohorte rétrospective de 97 patients, et ne sont pas parvenu à reproduire ces résultats.

Il faut préciser qu'une association directe entre le rs1128503 et la survie est d'autant plus troublante qu'il s'agit d'un SNP synonyme. Il modifie un codon GGC en GGT, tous deux codant pour une glycine (Figure 6). Deux explications sont le plus souvent proposées.

La première suppose que ce SNP soit en déséquilibre de liaison avec un variant encore non décrit ou étudié dans ce contexte, responsable d'une modification dans la régulation du transcrit ou dans l'activité de la protéine. Le SNP rs1128503 est en effet en déséquilibre de liaison important avec d'autres SNP de la séquence codante comme le rs1045642 (C3435T) ou le rs2032582 (G2677T). Ils forment à eux trois un haplotype. Le problème est sensiblement identique, le rs1045642 étant lui aussi synonyme et a pourtant été décrit comme pouvant modifier l'expression de la P-gp au niveau duodénal et l'absorption de la digoxine (61). Une étude ancillaire de Glioplak, nommée Polyglio a étudié le lien entre le rs1045642 et la survie sur cette même cohorte sans montrer de différence significative. Avec l'accumulation des données génétiques fournies par le séquençage haut débit depuis une dizaine d'année, cette notion de déséquilibre de liaison amène à multiplier les haplotypes, certains auteurs en proposent jusqu'à 64 pour *ABCB1* (62). Se pose aussi régulièrement la question des SNP introniques, pour lesquels on ne dispose pas d'autant de données, les panels étant en général établis pour les séquences codantes et les sites d'épissages. Il existe pourtant des déséquilibres de liaison important avec certains SNP introniques, leurs conservations préférentielles au cours de l'évolution pourraient témoigner d'un rôle régulateur, comme un site de liaison à un micro-ARN. Munoz *et al*, ont publié un

exemple d'hyperexpression d'*ABCB1* médiée par MiR-9 et associée à la résistance au témozolomide dans les glioblastomes (66). Au vu de la complexité biologique sous-jacente et de l'accumulation de données, il semble maintenant peu probable que le rs1128503 soit lié à un unique SNP causal, mais fait peut-être partie d'un ensemble de phénomènes de régulation génétique et épigénétique. Ce qui amène à la seconde explication généralement fournie.

L'étude de la P-gp et de son SNP silencieux historique le rs1045642 (C3435T) a conduit à la découverte d'un mécanisme épigénétique peu évoqué. En 2007, Kimchi-Sarfaty *et al* (67), ont publié dans la revue *Science* une démonstration basée sur des modèles cellulaires. La P-gp obtenue à partir de ces SNP silencieux, était exprimée de façon identique, présentait la même séquence, mais n'était pas reconnue par les mêmes anticorps et avait une affinité différente pour divers inhibiteurs. Ils ont alors postulé que ces observations étaient imputables à un repliement alternatif. Lors de la synthèse protéique, l'utilisation d'un codon plus rare peut nécessiter le recrutement d'un ARN de transfert différent. Certains ARN de transfert sont en quantités moindres dans les cellules des eucaryotes. Ce mécanisme peut retarder la traduction, laissant ainsi le temps aux protéines chaperonnes d'effectuer un repliement alternatif (68). Ce phénomène semble minime et serait favorisé par l'accumulation de codons plus rares en des points précis difficilement prévisibles. D'autant plus qu'il existe des liaisons « bancales » des ARN de transfert, réalisées par des bases non conventionnelles (Inosine, Uracile). Ainsi, deux codons différents sont parfois lus par le même ARN, rendant caduque cette théorie. A noter que dans ce modèle, c'est le manque de diversité des allèles qui induit le retard de synthèse. On pourrait par exemple expliquer qu'un génotype T/T soit plus proche du phénotype C/C et que seuls les hétérozygotes où la variété est respectée présentent un phénotype sauvage. Cette répartition est observée dans notre cohorte. Elle va à l'encontre de la logique habituelle selon laquelle un allèle détermine un phénotype, et où les hétérozygotes présentent un phénotype intermédiaire entre homozygote muté et homozygote sauvage.

Afin de valider cette approche, les études cliniques devraient se faire par haplotype. Dans notre cas, l'existence d'une compensation possible par d'autres transporteurs, et le rôle minime supposé d'*ABCB1*, nécessiterait des effectifs importants pour stratifier par haplotype. Comparativement à la faible prévalence du glioblastome un tel essai apparaît particulièrement difficile à mettre en place en monocentrique.

### 3. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La P-gp est une protéine d'efflux très étudiée, découverte il y a plus de 40 ans par l'étude des résistances en oncologie, elle reste encore aujourd'hui à l'origine de nombreuses questions et controverses dans ce domaine. Ce travail est un des premiers à s'intéresser à son rôle potentiel dans la toxicité du témozolomide, un agent alkylant utilisé comme la principale chimiothérapie du glioblastome. L'approche choisie était l'étude du variant rs1128503 du gène *ABCB1*, codant pour la P-gp. Il n'a pas été retrouvé d'association entre la présence de ce variant et la survenue d'une thrombopénie chez les patients traités. Toutefois, un certain profil de patient se dégage de cette étude. Une attention particulière devrait être prise lors de l'administration de témozolomide aux patients de petite taille et de faible masse musculaire, plus généralement des femmes.

Ce variant avait été choisi pour son association controversée avec la survie des patients atteints d'un glioblastome traité par témozolomide. Il s'agit de la première étude prospective évaluant l'impact de ce variant dans ce contexte. Nos données semblent montrer une tendance à disposer d'une survie sans progression plus longue pour les patients homozygotes C/C. Cette tendance était proche de la significativité ( $p = 0,053$ ). Cet effet semble minime, car il ne se répercutait pas sur la survie globale. Une telle tendance devra être confirmée avec les données définitives de la cohorte et une puissance accrue. Si c'est le cas cette étude pourrait alimenter la controverse sur l'importance des SNP silencieux d'*ABCB1*. Le mécanisme biologique sous-jacent n'étant pas complètement élucidé.

## Bibliographie

- 1 Louis DN, Perry A, Reifenberger G, *et al.* *The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary.* *Acta Neuropathologica.* Juin 2016;131(6):803-20.
- 2 Ostrom QT, Cioffi G, Gittleman H, *et al.* *CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2012-2016.* *Neuro-Oncology.* Novembre 2019;21(S5):1-100.
- 3 Defossez G, Le Guyader-Peyrou S, Uhry Z, *et al.* *Estimation nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018. Volume 1 - Tumeurs solides.* Santé publique France, Juillet 2019. 372p.
- 4 Ostrom QT, Bauchet L, Davis FG, *et al.* *The epidemiology of glioma in adults : a "state of the science" review.* *Neuro-Oncology.* Mai 2014;16(7):896-913.
- 5 Stupp R, Taillibert S, Kanner A, *et al.* *Effect of Tumor-Treating Fields Plus Maintenance Temozolomide vs Maintenance Temozolomide Alone on Survival in Patients With Glioblastoma A Randomized Clinical Trial.* *Journal of the American Medical Association.* Décembre 2017;318(23):2306-2306.
- 6 Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, *et al.* *Radiotherapy plus Concomitant and Adjuvant Temozolomide for Glioblastoma.* *New England Journal of Medicine.* Mars 2005;352(10):987-96.
- 7 Ron E, Modan B, Boice JD, *et al.* *Tumors of the Brain and Nervous System After Radiotherapy in Childhood.* *New England Journal of Medicine.* Octobre 1988;319(16):1033-9.
- 8 Neglia JP, Robison LL, Stovall M, *et al.* *New primary neoplasms of the central nervous system in survivors of childhood cancer: a report from the Childhood Cancer Survivor Study.* *Journal of the National Cancer Institute.* Novembre 2006;98(21) :1528-37.
- 9 Johansson G, Andersson U, Melin B. *Recent developments in brain tumor predisposing syndromes.* *Acta Oncologica.* 2016;55(4):401-11.
- 10 Malmer B, Adatto P, Armstrong G, *et al.* *GLIOGENE an International Consortium to Understand Familial Glioma.* *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention.* Septembre 2007;16(9):1730-4.
- 11 Malmer B, Gronberg H, Bergenheim AT, *et al.* *Familial aggregation of astrocytoma in northern Sweden: An epidemiological cohort study.* *International Journal of Cancer.* Mai 1999;81(3):366–70.
- 12 Calvete O, Garci-Pavia P, Dominguez F, *et al.* *The wide spectrum of POT1 gene variants correlates with multiple cancer types.* *European Journal of Human Genetics.* Novembre 2017;25(11):1278-1281.
- 13 Linos E, Raine T, Alonso A, *et al.* *Atopy and Risk of Brain Tumors : A Meta-analysis.* *Journal of the National Cancer Institute.* Octobre 2007;99(20):1544-50.
- 14 Amiran ES, Zhou R, Wrensch MR, *et al.* *Approaching a Scientific Consensus on the Association between Allergies and Glioma Risk : A report from the Glioma International Case-Control Study.* *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention.* Février 2016;25(2):282-90.

- 15 Jensen-Jarolim E, Bax HJ, Bianchini R, *et al.* *AllergoOncology: Opposite outcomes of immune tolerance in allergy and cancer.* Allergy. Février 2018;73(2):328-340.
- 16 Yan H, Parsons DW, Jin G, *et al.* *IDH1 and IDH2 Mutations in Gliomas.* New England Journal of Medicine. Février 2009;360(8):765-73.
- 17 Ohgaki H, Kleihues P. *The Definition of Primary and Secondary Glioblastoma.* Clinical Cancer Research. Février 2013;19(4):764-72.
- 18 Hegi M, Diserens AC, Gorlia T, *et al.* *MGMT Gene Silencing and Benefit from Temozolomide in Glioblastoma.* New England Journal of Medicine. 2005 Mars;352(10):997-1003.
- 19 Quillien V, Lavenu A, Ducray F, *et al.* *Validation of the high-performance of pyrosequencing for clinical MGMT testing on a cohort of glioblastoma patients from a prospective dedicated multicentric trial.* Oncotarget. Septembre 2016;7(38):61916-61929.
- 20 Lacroix M, Abi-Said D, Fourney DR, *et al.* *A multivariate analysis of 416 patients with glioblastoma multiforme: prognosis, extent of resection, and survival.* Journal of Neurosurgery. Aout 2001;95(2):190-8.
- 21 Guyotat J, Pallud J, Amoiry X, *et al.* *5-Aminolevulinic Acid-Protoporphyrin IX Fluorescence-Guided Surgery of High-Grade Gliomas: A Systematic Review.* Advances and technical standards in neurosurgery. 2016;(43):61-90.
- 22 Ashby LS, Smith KA, Stea B. *Gliadel wafer implantation combined with standard radiotherapy and concurrent followed by adjuvant temozolomide for treatment of newly diagnosed high-grade glioma: a systematic literature review.* World Journal of Surgical Oncology. Aout 2016;14(1):225.
- 23 Thibouw D, Truc G, Bertaut A, *et al.* *Clinical and dosimetric study of radiotherapy for glioblastoma: three-dimensional conformal radiotherapy versus intensity-modulated radiotherapy.* Journal of neuro-oncology. Avril 2018;137(2):429-438.
- 24 Balana C, Vaz MA, Sepúlveda JM, *et al.* *A phase II randomized, multicenter, open-label trial of continuing adjuvant temozolomide beyond six cycles in patients with glioblastoma (GEINO 14-01).* Neuro-oncology. Avril 2020;online107.
- 25 Gilbert MR, Dignam JJ, Armstrong TS, *et al.* *A randomized trial of bevacizumab for newly diagnosed glioblastoma.* New England Journal of Medicine. Février 2014;370(8):699-708.
- 26 McGranahan T, Therkelsen KE, Ahmad S, *et al.* *Current State of Immunotherapy for Treatment of Glioblastoma.* Current Treatment Options in Oncology. 2019;20(3):24.
- 27 Thomas AA, Rauschkolb PK. *Tumor treating fields for glioblastoma: should it or will it ever be adopted ?* Current Opinion in Neurology. Décembre 2019;32(6):857-863.
- 28 Stevens MF, Hickman JA, Langdon SP, *et al.* *Antitumor activity and pharmacokinetics in mice of 8-carbamoyl-3-methyl-imidazo[5,1-d]-1,2,3,5-tetrazin-4(3H)-one (CCRG 81045; M & B 39831), a novel drug with potential as an alternative to dacarbazine.* Cancer Research. Novembre 1987;47(22):5846-5852.
- 29 Newlands ES, Blackledge GR, Slack JA, *et al.* *Phase I trial of temozolomide (CCRG 81045; M&B 39831: NSC 362856).* British Journal of Cancer. Février 1992;65(2):287-291.

- 30 Bower M, Newlands ES, Bleeher NM, *et al.* Multicentre CRC phase II trial of temozolomide in recurrent or progressive high-grade glioma. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. Février 1997;40(6):484-488.
- 31 Baker SD, Wirth M, Statkevich P, *et al.* Absorption, metabolism, and excretion of 14C-temozolomide following oral administration to patients with advanced cancer. *Clinical Cancer Research*. Février 1999;5(2):309-17.
- 32 Ostermann S, Csajka C, Buclin T, *et al.* Plasma and cerebrospinal fluid population pharmacokinetics of temozolomide in malignant glioma patients. *Clinical Cancer Research*. Juin 2004;10(11):3728-3736.
- 33 Roos WP, Batista LF, Naumann SC, *et al.* Apoptosis in malignant glioma cells triggered by the temozolomide-induced DNA lesion O6-methylguanine. *Oncogene*. Janvier 2007;26(2):186-197.
- 34 Aasland D, Göttinger L, Hauck L, *et al.* Temozolomide Induces Senescence and Repression of DNA Repair Pathways in Glioblastoma Cells via Activation of ATR-CHK1, p21, and NF- $\kappa$ B. *Cancer Research*. Janvier 2019;79(1):99-113.
- 35 Kaina B, Christmann M, Naumann S, Roos WP. MGMT: key node in the battle against genotoxicity, carcinogenicity and apoptosis induced by alkylating agents. *DNA Repair*. Aout 2007;6(8):1079-1099.
- 36 Schiffer CA, Bohlke K, Delaney M, *et al.* Platelet Transfusion for Patients With Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Update. *Journal of Clinical Oncology*. Janvier 2018;36(3):283-299.
- 37 Villano JL, Letarte N, Yu JM, *et al.* Hematologic adverse events associated with temozolomide. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. Janvier 2012;69(1):107-113.
- 38 Grieco A, Tafuri MA, Biolato M, *et al.* Severe cholestatic hepatitis due to temozolomide: an adverse drug effect to keep in mind. Case report and review of literature. *Medicine (Baltimore)*. Mars 2015;94(12):e476.
- 39 Nagane M, Nozue K, Shimizu S, *et al.* Prolonged and severe thrombocytopenia with pancytopenia induced by radiation-combined temozolomide therapy in a patient with newly diagnosed glioblastoma—analysis of O 6-methylguanine-DNA methyltransferase status. *Journal of Neuro-Oncology*. Avril 2009;92(2):227-32.
- 40 Fontanilles M, Marguet F, Alexandru C, *et al.* Early platelet variation during concomitant chemoradiotherapy predicts adjuvant temozolomide-induced thrombocytopenia in newly diagnosed glioblastoma patients. *Support Care Cancer*. Février 2019;27(2):477-484.
- 41 Gerber DE, Grossman SA, Zeltzman M, *et al.* The impact of thrombocytopenia from temozolomide and radiation in newly diagnosed adults with high-grade gliomas. *Neuro-Oncology*. Janvier 2007;9(1):47-52.
- 42 Armstrong TS, Cao Y, Scheurer ME, *et al.* Risk analysis of severe myelotoxicity with temozolomide: the effects of clinical and genetic factors. *Neuro-Oncology*. Décembre 2009;11(6):825-832.
- 43 Lombardi G, Rumiato E, Bertorelle R, *et al.* Clinical and Genetic Factors Associated With Severe Hematological Toxicity in Glioblastoma Patients During Radiation Plus Temozolomide Treatment: A Prospective Study. *American Journal of Clinical Oncology*. Octobre 2015;38(5):514-519.

- 44 Arulananda S, Lynam J, Sem Liew M, *et al.* *Clinical correlates of severe thrombocytopenia from temozolomide in glioblastoma patients.* Internal Medicine Journal. Octobre 2018;48(10):1206-1214.
- 45 Dano K. Active outward transport of daunomycin in resistant Ehrlich ascites tumor cells. *Biochimica et Biophysica Acta.* Octobre 1973;323(3):466-83.
- 46 Juliano RL, Ling V. *A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants.* *Biochimica et Biophysica Acta.* Novembre 1976;455(1):152-162.
- 47 Gros P, Croop J, Roninson I, *et al.* *Isolation and characterization of DNA sequences amplified in multidrug-resistant hamster cells.* Proceedings of the National Academy of Sciences of the U S A. Janvier 1986;83(2):337-41.
- 48 Roninson IB, Chin JE, Choi KG, *et al.* *Isolation of human mdr DNA sequences amplified in multidrug-resistant KB carcinoma cells.* Proceedings of the National Academy of Sciences of the U S A. Juin 1986;83(12):4538-42.
- 49 Cole SP, Bhardwaj G, Gerlach JH, *et al.* *Overexpression of a transporter gene in a multidrug-resistant human lung cancer cell line.* Science. Décembre 1992;258(5088):1650-4.
- 50 Ween MP, Armstrong MA, Oehler MK, *et al.* *The role of ABC transporters in ovarian cancer progression and chemoresistance.* Critical Reviews in Oncology Hematology. Novembre 2015;96(2):220-56.
- 51 Fung KL, Gottesman MM. *A synonymous polymorphism in a common MDR1 (ABCB1) haplotype shapes protein function.* *Biochimica et Biophysica Acta.* Mai 2009;1794(5):860-71.
- 52 Muriithi W, Macharia LW, Heming CP, *et al.* *ABC transporters and the hallmarks of cancer: roles in cancer aggressiveness beyond multidrug resistance.* Cancer Biology & Medicine. Mai 2020;17(2):253-269.
- 53 Esser L, Zhou F, Pluchino KM, *et al.* *Structures of the Multidrug Transporter P-glycoprotein Reveal Asymmetric ATP Binding and the Mechanism of Polyspecificity.* The Journal of Biological Chemistry. Janvier 2017;292(2):446-461.
- 54 Kannan P, John C, Zoghbi SS, *et al.* *Imaging the function of P-glycoprotein with radiotracers: pharmacokinetics and in vivo applications.* Clinical Pharmacology and Therapeutics. Octobre 2009;86(4):368-77.
- 55 Munoz JL, Walker ND, Scotto KW, Rameshwar P. *Temozolomide competes for P-glycoprotein and contributes to chemoresistance in glioblastoma cells.* Cancer Letters. Octobre 2015;367(1):69-75.
- 56 Kumar A, Jaitak V. *Natural products as multidrug resistance modulators in cancer.* European Journal of Medicinal Chemistry. Aout 2019;176:268-291.
- 57 List AF, Kopecky KJ, Willman CL, *et al.* *Benefit of cyclosporine modulation of drug resistance in patients with poor-risk acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group study.* Blood. Décembre 2001;98(12):3212-20.
- 58 Robey RW, Pluchino KM, Hall MD, *et al.* *Revisiting the role of ABC transporters in multidrug-resistant cancer.* Nature Reviews Cancer. Juillet 2018;18(7):452-464.

59 Kerklaan BM, Lolkema MP, Devriese LA, *et al.* Phase I and pharmacological study of pazopanib in combination with oral topotecan in patients with advanced solid tumours. *British Journal of Cancer*. Septembre 2015;113(5):706-15.

60 Wu ZX, Teng QX, Cai CY, *et al.* Tepotinib reverses ABCB1-mediated multidrug resistance in cancer cells. *Biochemical Pharmacology*. Aout 2019;166:120-127.

61 Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, *et al.* Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U S A*. Mars 2000;97(7):3473-8.

62 Sakaeda T. *MDR1 genotype-related pharmacokinetics: fact or fiction?* *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*. Décembre 2005;20(6):391-414.

63 Schaich M, Kestel L, Pfirrmann M, *et al.* A *MDR1 (ABCB1) gene single nucleotide polymorphism predicts outcome of temozolomide treatment in glioblastoma patients*. *Annals of Oncology*. Janvier 2009;20(1):175-81.

64 Malmström A, Łysiak M, Åkesson L, *et al.* *ABCB1 single-nucleotide variants and survival in patients with glioblastoma treated with radiotherapy concomitant with temozolomide*. *The Pharmacogenomics Journal*. Avril 2020;20(2):213-219.

65 de Gooijer MC, de Vries NA, Buckle T, *et al.* *Improved Brain Penetration and Antitumor Efficacy of Temozolomide by Inhibition of ABCB1 and ABCG2*. *Neoplasia*. Juillet 2018;20(7):710-720.

66 Munoz JL, Rodriguez-Cruz V, Ramkissoon SH, *et al.* *Temozolomide resistance in glioblastoma occurs by miRNA-9-targeted PTCH1, independent of sonic hedgehog level*. *Oncotarget*. Janvier 2015;6(2):1190-201.

67 Kimchi-Sarfaty C, Oh JM, Kim IW, *et al.* *A "silent" polymorphism in the MDR1 gene changes substrate specificity*. *Science*. Janvier 2007;315(5811):525-8.

68 Tsai CJ, Sauna ZE, Kimchi-Sarfaty C, *et al.* *Synonymous mutations and ribosome stalling can lead to altered folding pathways and distinct minima*. *Journal of Molecular Biology*. Novembre 2008;383(2):281-91.

## **Annexes**

**Annexe 1** : Classification OMS 2016 des tumeurs du système nerveux central.

**Annexe 2** : Indice de Karnofsky.

**Annexe 3** : Classification CTCAE, version 5.0.

**Annexe 4** : Liste non exhaustive des molécules à usage thérapeutique. Les substrats de la P-gp sont indiqués par un carré vert. Source : Service de pharmacologie, CHU de Lausanne, Suisse.

**Annexe 5** : Discrimination allélique et exemples de graphiques multi-composants.

**Annexe 1** : Classification OMS 2016 des tumeurs du système nerveux central.

**WHO classification of tumours of the central nervous system**

<b>Diffuse astrocytic and oligodendroglial tumours</b>		<b>Neuronal and mixed neuronal-glia tumours</b>	
Diffuse astrocytoma, IDH-mutant	9400/3	Dysembryoplastic neuroepithelial tumour	9413/0
Gemistocytic astrocytoma, IDH-mutant	9411/3	Gangliocytoma	9492/0
<i>Diffuse astrocytoma, IDH-wildtype</i>	9400/3	Ganglioglioma	9505/1
Diffuse astrocytoma, NOS	9400/3	Anaplastic ganglioglioma	9505/3
Anaplastic astrocytoma, IDH-mutant	9401/3	Dysplastic cerebellar gangliocytoma (Lhermitte–Duclos disease)	9493/0
<i>Anaplastic astrocytoma, IDH-wildtype</i>	9401/3	Desmoplastic infantile astrocytoma and ganglioglioma	9412/1
Anaplastic astrocytoma, NOS	9401/3	Papillary glioneuronal tumour	9509/1
Glioblastoma, IDH-wildtype	9440/3	Rosette-forming glioneuronal tumour	9509/1
Giant cell glioblastoma	9441/3	<i>Diffuse leptomeningeal glioneuronal tumour</i>	
Gliosarcoma	9442/3	Central neurocytoma	9506/1
<i>Epithelioid glioblastoma</i>	9440/3	Extraventricular neurocytoma	9506/1
Glioblastoma, IDH-mutant	9445/3*	Cerebellar liponeurocytoma	9506/1
Glioblastoma, NOS	9440/3	Paraganglioma	8693/1
Diffuse midline glioma, H3 K27M–mutant	9385/3*	<b>Tumours of the pineal region</b>	
Oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted	9450/3	Pineocytoma	9361/1
Oligodendroglioma, NOS	9450/3	Pineal parenchymal tumour of intermediate differentiation	9362/3
Anaplastic oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted	9451/3	Pineoblastoma	9362/3
<i>Anaplastic oligodendroglioma, NOS</i>	9451/3	Papillary tumour of the pineal region	9395/3
<i>Oligoastrocytoma, NOS</i>	9382/3	<b>Embryonal tumours</b>	
<i>Anaplastic oligoastrocytoma, NOS</i>	9382/3	Medulloblastomas, genetically defined	
<b>Other astrocytic tumours</b>		Medulloblastoma, WNT-activated	9475/3*
Pilocytic astrocytoma	9421/1	Medulloblastoma, SHH-activated and TP53-mutant	9476/3*
Pilomyxoid astrocytoma	9425/3	Medulloblastoma, SHH-activated and TP53-wildtype	9471/3
Subependymal giant cell astrocytoma	9384/1	Medulloblastoma, non-WNT/non-SHH	9477/3*
Pleomorphic xanthoastrocytoma	9424/3	<i>Medulloblastoma, group 3</i>	
Anaplastic pleomorphic xanthoastrocytoma	9424/3	<i>Medulloblastoma, group 4</i>	
<b>Ependymal tumours</b>		Medulloblastomas, histologically defined	
Subependymoma	9383/1	Medulloblastoma, classic	9470/3
Myxopapillary ependymoma	9394/1	Medulloblastoma, desmoplastic/nodular	9471/3
Ependymoma	9391/3	Medulloblastoma with extensive nodularity	9471/3
Papillary ependymoma	9393/3	Medulloblastoma, large cell / anaplastic	9474/3
Clear cell ependymoma	9391/3	Medulloblastoma, NOS	9470/3
Tanycytic ependymoma	9391/3	Embryonal tumour with multilayered rosettes, C19MC-altered	9478/3*
Ependymoma, <i>RELA</i> fusion–positive	9396/3*	<i>Embryonal tumour with multilayered rosettes, NOS</i>	9478/3
Anaplastic ependymoma	9392/3	Medulloepithelioma	9501/3
<b>Other gliomas</b>		CNS neuroblastoma	9500/3
Chordoid glioma of the third ventricle	9444/1	CNS ganglioneuroblastoma	9490/3
Angiocentric glioma	9431/1	CNS embryonal tumour, NOS	9473/3
Astroblastoma	9430/3	Atypical teratoid/rhabdoid tumour	9508/3
<b>Choroid plexus tumours</b>		<i>CNS embryonal tumour with rhabdoid features</i>	9508/3
Choroid plexus papilloma	9390/0	<b>Tumours of the cranial and paraspinal nerves</b>	
Atypical choroid plexus papilloma	9390/1	Schwannoma	9560/0
Choroid plexus carcinoma	9390/3	Cellular schwannoma	9560/0
		Plexiform schwannoma	9560/0

Melanotic schwannoma	9560/1	Osteochondroma	9210/0
Neurofibroma	9540/0	Osteosarcoma	9180/3
Atypical neurofibroma	9540/0		
Plexiform neurofibroma	9550/0	<b>Melanocytic tumours</b>	
Perineurioma	9571/0	Meningeal melanocytosis	8728/0
Hybrid nerve sheath tumours		Meningeal melanocytoma	8728/1
Malignant peripheral nerve sheath tumour	9540/3	Meningeal melanoma	8720/3
Epithelioid MPNST	9540/3	Meningeal melanomatosis	8728/3
MPNST with perineurial differentiation	9540/3		
<b>Meningiomas</b>		<b>Lymphomas</b>	
Meningioma	9530/0	Diffuse large B-cell lymphoma of the CNS	9680/3
Meningothelial meningioma	9531/0	Immunodeficiency-associated CNS lymphomas	
Fibrous meningioma	9532/0	AIDS-related diffuse large B-cell lymphoma	
Transitional meningioma	9537/0	EBV-positive diffuse large B-cell lymphoma, NOS	
Psammomatous meningioma	9533/0	Lymphomatoid granulomatosis	9766/1
Angiomatous meningioma	9534/0	Intravascular large B-cell lymphoma	9712/3
Microcystic meningioma	9530/0	Low-grade B-cell lymphomas of the CNS	
Secretory meningioma	9530/0	T-cell and NK/T-cell lymphomas of the CNS	
Lymphoplasmacyte-rich meningioma	9530/0	Anaplastic large cell lymphoma, ALK-positive	9714/3
Metaplastic meningioma	9530/0	Anaplastic large cell lymphoma, ALK-negative	9702/3
Chordoid meningioma	9538/1	MALT lymphoma of the dura	9699/3
Clear cell meningioma	9538/1		
Atypical meningioma	9539/1	<b>Histiocytic tumours</b>	
Papillary meningioma	9538/3	Langerhans cell histiocytosis	9751/3
Rhabdoid meningioma	9538/3	Erdheim–Chester disease	9750/1
Anaplastic (malignant) meningioma	9530/3	Rosai–Dorfman disease	
		Juvenile xanthogranuloma	
		Histiocytic sarcoma	9755/3
<b>Mesenchymal, non-meningothelial tumours</b>			
Solitary fibrous tumour / haemangiopericytoma**		<b>Germ cell tumours</b>	
Grade 1	8815/0	Germinoma	9064/3
Grade 2	8815/1	Embryonal carcinoma	9070/3
Grade 3	8815/3	Yolk sac tumour	9071/3
Haemangioblastoma	9161/1	Choriocarcinoma	9100/3
Haemangioma	9120/0	Teratoma	9080/1
Epithelioid haemangi endothelioma	9133/3	Mature teratoma	9080/0
Angiosarcoma	9120/3	Immature teratoma	9080/3
Kaposi sarcoma	9140/3	Teratoma with malignant transformation	9084/3
Ewing sarcoma / PNET	9364/3	Mixed germ cell tumour	9085/3
Lipoma	8850/0		
Angiolipoma	8861/0	<b>Tumours of the sellar region</b>	
Hibernoma	8880/0	Craniopharyngioma	9350/1
Liposarcoma	8850/3	Adamantinomatous craniopharyngioma	9351/1
Desmoid-type fibromatosis	8821/1	Papillary craniopharyngioma	9352/1
Myofibroblastoma	8825/0	Granular cell tumour of the sellar region	9582/0
Inflammatory myofibroblastic tumour	8825/1	Pituicytoma	9432/1
Benign fibrous histiocytoma	8830/0	Spindle cell oncocytoma	8290/0
Fibrosarcoma	8810/3		
Undifferentiated pleomorphic sarcoma / malignant fibrous histiocytoma	8802/3	<b>Metastatic tumours</b>	
Leiomyoma	8890/0		
Leiomyosarcoma	8890/3		
Rhabdomyoma	8900/0		
Rhabdomyosarcoma	8900/3		
Chondroma	9220/0		
Chondrosarcoma	9220/3		
Osteoma	9180/0		

The morphology codes are from the International Classification of Diseases for Oncology (ICD-O) [742A]. Behaviour is coded /0 for benign tumours; /1 for unspecified, borderline, or uncertain behaviour; /2 for carcinoma in situ and grade III intraepithelial neoplasia; and /3 for malignant tumours. The classification is modified from the previous WHO classification, taking into account changes in our understanding of these lesions. \*These new codes were approved by the IARC/WHO Committee for ICD-O. *Italics*: Provisional tumour entities. \*\*Grading according to the 2013 WHO Classification of Tumours of Soft Tissue and Bone.

**Annexe 2** : Indice de Karnofsky.

**INDICE DE KARNOFSKY**

Capable de mener une activité normale	100 %	normal, pas de signe de maladie
	90 %	peut mener une activité normale, symptômes mineurs de la maladie, totalement autonome
	80 %	peut mener une activité normale, mais avec effort, symptômes ou signes mineurs, totalement autonome
Incapable de travailler, capable de vivre chez lui et d'assumer ses besoins personnels,	70 %	peut se prendre en charge, incapable de mener une activité normale, autonome mais à stimuler
	60 %	nécessite une aide occasionnelle mais peut prendre en charge la plupart des besoins, semi-autonome
une assistance variable est nécessaire	50 %	nécessite une aide suivie et des soins médicaux fréquents, semi-autonome
	40 %	handicapé, nécessite une aide et des soins particuliers
Incapable de s'occuper de lui-même, nécessite des soins hospitaliers ou l'équivalent	30 %	sévèrement handicapé, dépendant
	20 %	très malade soutien actif, absence totale d'autonomie
	10 %	moribond, processus fatal progressant rapidement

**Annexe 3** : Classification CTCAE, version 5.0.

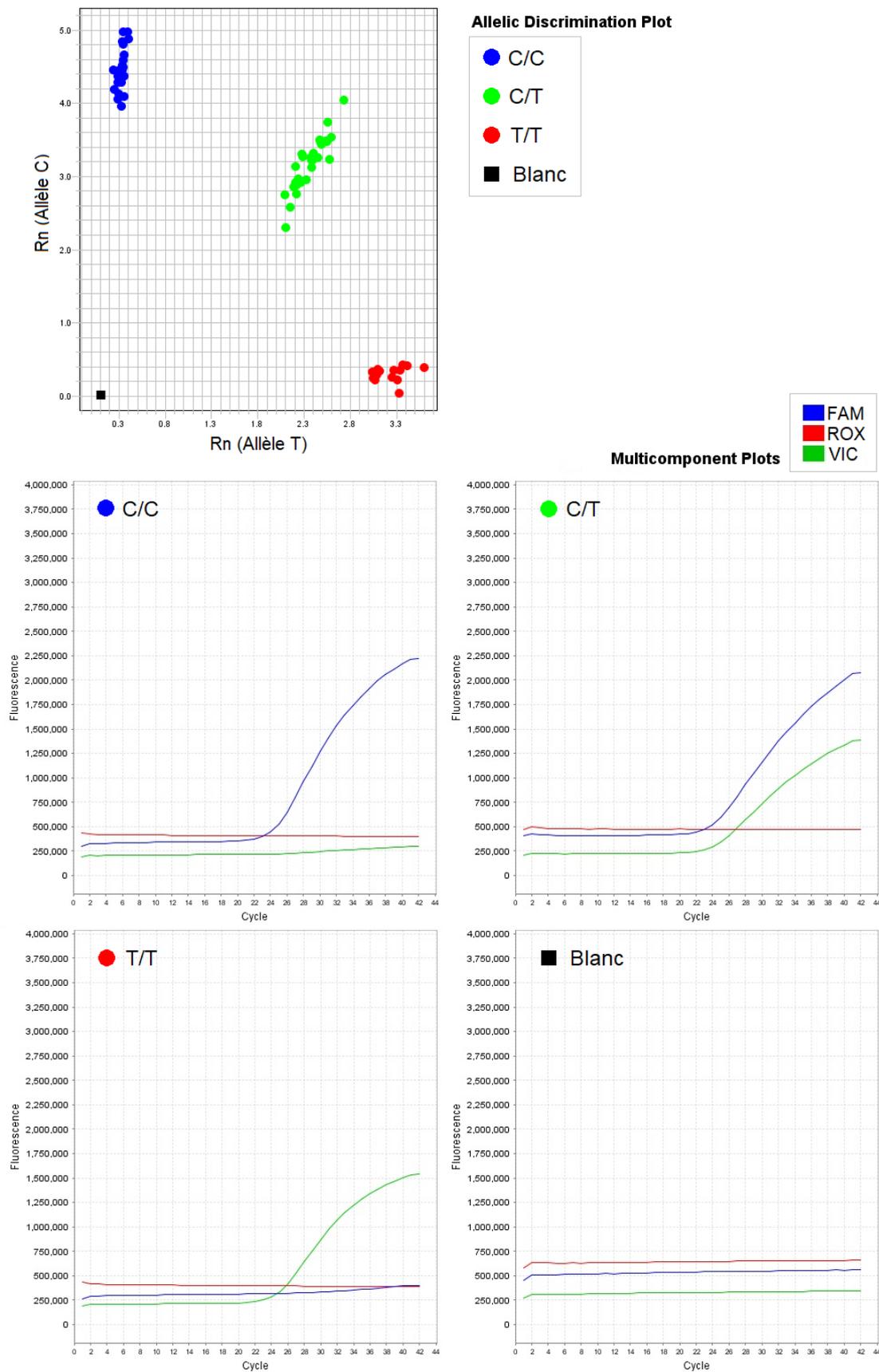
CTCAE Term	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade 4	Grade 5
Anemia	Hemoglobin (Hgb) <LLN - 10.0 g/dL; <LLN - 6.2 mmol/L; <LLN - 100 g/L	Hgb <10.0 - 8.0 g/dL; <6.2 - 4.9 mmol/L; <100 - 80g/L	Hgb <8.0 g/dL; <4.9 mmol/L; <80 g/L; transfusion indicated	Life-threatening consequences; urgent intervention indicated	Death
<b>Definition:</b> A disorder characterized by a reduction in the amount of hemoglobin in 100 ml of blood. Signs and symptoms of anemia may include pallor of the skin and mucous membranes, shortness of breath, palpitations of the heart, soft systolic murmurs, lethargy, and fatigability.					
Lymphocyte count decreased	<LLN - 800/mm <sup>3</sup> ; <LLN - 0.8 x 10e9/L	<800 - 500/mm <sup>3</sup> ; <0.8 - 0.5 x 10e9/L	<500 - 200/mm <sup>3</sup> ; <0.5 - 0.2 x 10e9/L	<200/mm <sup>3</sup> ; <0.2 x 10e9/L	-
<b>Definition:</b> A finding based on laboratory test results that indicate a decrease in number of lymphocytes in a blood specimen.					
Neutrophil count decreased	<LLN - 1500/mm <sup>3</sup> ; <LLN - 1.5 x 10e9/L	<1500 - 1000/mm <sup>3</sup> ; <1.5 - 1.0 x 10e9/L	<1000 - 500/mm <sup>3</sup> ; <1.0 - 0.5 x 10e9/L	<500/mm <sup>3</sup> ; <0.5 x 10e9/L	-
<b>Definition:</b> A finding based on laboratory test results that indicate a decrease in number of neutrophils in a blood specimen.					
Platelet count decreased	<LLN - 75,000/mm <sup>3</sup> ; <LLN - 75.0 x 10e9/L	<75,000 - 50,000/mm <sup>3</sup> ; <75.0 - 50.0 x 10e9/L	<50,000 - 25,000/mm <sup>3</sup> ; <50.0 - 25.0 x 10e9/L	<25,000/mm <sup>3</sup> ; <25.0 x 10e9/L	-
<b>Definition:</b> A finding based on laboratory test results that indicate a decrease in number of platelets in a blood specimen.					

LLN : Low Limit Normal

**Annexe 4** : Liste non exhaustive des molécules à usage thérapeutique. Les substrats de la P-gp sont indiqués par un carré vert. Source : Service de pharmacologie, CHU de Lausanne, Suisse.

Substrats de la Pgp		Majeure		Mineure		Non Substrat	
acénocoumarol							
acide méfenamique							
acide valproïque							
agomelatine							
alfentanil							
alprazolam							
amiodarone							
amitriptyline							
amlodipine							
apixaban							
ariprazole							
artéméthér							
atazanavir							
atomoxétine							
atorvastatine							
bisoprolol							
boceprevir							
bortézomib							
bosentan							
bromocriptine							
buprénorphine							
bupropion							
caféine							
cannabidiol							
carbamazépine							
carvédilol							
célécoxib							
celiprolol							
chlorphéniramine							
ciclosporine							
citalopram							
clarithromycine							
clobazam							
clomipramine							
clonazépine							
clonidogrel							
clozapine							
cobistat							
codéine							
colchicine							
cortisol							
cyclophosphamide							
dabigatran							
daclatasvir							
dasabuvir							
dasatinib							
désogestrel							
dexaméthasone							
dextrométhorphan							
diazépam							
diclofénac							
dienogest							
digoxine							
dihydrocodéine							
dihydroergotamine							
diltiazem							
diphenhydramine							
docétaxel							
dolutegravir							
donépézil							
dronédarone							
duloxétine							
dutastéride							
ecstasy (MDMA)							
edoxaban							
efavirenz							
elivitégravir							
ergotamine							
erlotinib							
érythromycine							
ésoméprazole							
éthanol							
éthinylestadiol							
éthosuximide							
étoposide							
étravirine							
everolimus							
felbamate							
félodipine							
fentanyl							
fexofénadine							
finastéride							
flécaïmide							
fluoxétine							
flurbiprofène							
fluvastatine							
flvoxamine							
galantamine							
gálfítimib							
gestodène							
glibenclamide							
glicazide							
glimépéride							
granisétron							
grazoprévir							
halopéridol							
hydrocodone							
ibuprofène							
ifosfamide							
imatimib							
imipramine							
indinavir							
irbésartan							
isradipine							
itraconazole							
kétoconazole							
lansoprazole							
ledipasvir							
letrozole							
lévomépromazine							
lidocaine							
lopéramide							
lopinavir							
loratadine							
losartan							
luméfántrine							
maprotiline							
maraviroc							
médoroxyprogéstérone							
méfloquine							
méloxícam							
méthadone							
méthylprednisolone							
metoclopramide							
métoprolol							
miansérine							
midazolam							
mifépristone (RU486)							
mirtazapine							
moclobémide							
modafinil							
montelukast							
naproxène							
natéglinide							
nébivolol							
névirapine							
nifédipine							
nilotinib							
nimodipine							
noréthistérone							
nortriptyline							
olanzapine							
ombitasvir							
oméprazole							
ondansétron							
oxybutynine							
oxycodone							
pacitaxel							
panitopazole							
paracétamol							
partiprevir							
paroxétine							
phénobarbital							
phenprocoumone							
phénytoïne							
pioglitazone							
piroxicam							
posaconazole							
prasugrel							
prednisolone							
primidone							
proguanil							
prométhazine							
propafénone							
propofol							
propranolol							
quetiapine							
quinidine							
quinine							
ranitidine							
rabéprazole							
réboxétine							
répaglinide							
rifabutine							
rilpivirine							
rispéridone							
ritonavir							
rivaroxaban							
saquinavir							
saxagliptine							
sertraline							
sildénafil							
simeprevir							
simvastatine							
sirolimus							
sofosbuvir							
sorafénib							
sufentanil							
sulfaméthoxazole							
sunitinib							
tacrolimus							
tadalafil							
tamoxifène							
tamsulosine							
ténoxícam							
terbinafine							
terféndine							
testostérone							
THC							
théophylline							
ticagrelor							
timolol							
tizanidine							
tolbutamide							
toltérodine							
torasémide							
tramadol							
trazodone							
triazolam							
triméthoprim							
trimipramine							
tipranavir (avec ritonavir)							
tropisétron							
vardénafil							
velpatasvir							
venlafaxine							
verapamil							
vinblastine							
vincristine							
voriconazole							
warfarine							
zafirlukast							
zolmitriptan							
zolpidem							
zopiclone							
zuclopenthixol							

**Annexe 5 : Discrimination allélique et exemples de graphiques multi-composants.**



**DUCASTEL Clément**

**Rôle du rs1128503 d'*ABCB1* dans la survenue d'une thrombopénie, chez les patients atteints de glioblastome et traités par témozolomide.**

Th. D.Med., Rouen, 2020

---

**Résumé**

**Contexte** : Le glioblastome est un cancer de mauvais pronostic dont la médiane de survie est d'environ 15 mois. Sa prise en charge se fait selon un protocole international standardisé basé sur une association radiothérapie et chimiothérapie par un agent alkylant : le témozolomide. La principale toxicité de ce protocole est la survenue de thrombopénies. Par ailleurs, le gène *ABCB1* (*MDR1*), codant pour la protéine d'efflux P-gp, est impliqué dans la chimiorésistance de nombreux cancers, y compris les glioblastomes. La P-gp a été décrite comme transporteur du témozolomide. Ce travail, étudie l'association entre le variant rs1128503 d'*ABCB1* et la survenue d'une thrombopénie, ainsi que les conséquences sur la survie des patients traités par témozolomide lors de la prise en charge d'un glioblastome.

**Matériels et méthodes** : Les adultes traités pour un glioblastome au centre Henri Becquerel de Rouen depuis mai 2015 étaient inclus de façon prospective pour l'essai clinique Glioplak. Une détermination du génotype constitutionnel était réalisée dans le laboratoire du service de Pharmacologie - Toxicologie du CHU de Rouen, par PCR allèle spécifique à l'aide de sondes Taqman®. L'ADN utilisé était extrait d'un échantillon de sang total, prélevé lors de la visite d'inclusion.

**Résultats** : Un total de 100 patients ont été analysés, 22 ont présenté une thrombopénie. La répartition du variant était semblable à celle de la population européenne. Aucune association significative n'a été retrouvée entre le rs1128503 et la survenue d'une thrombopénie. Les patients présentant l'allèle C/C à l'état homozygote disposaient d'une meilleure survie sans progression que les porteurs de l'allèle T (10,8 mois vs 7,6 mois). Ce résultat n'était toutefois pas complètement significatif ( $p = 0,053$ ) et ne transparissait pas sur la survie globale.

**Conclusion et perspectives** : Malgré l'absence de lien entre le rs1128503 d'*ABCB1* et la survenue d'une thrombopénie, il semble exister une tendance à disposer d'une meilleure survie sans progression chez les patients homozygotes C/C. Cette tendance devra être confirmée par l'analyse complète des données de la cohorte. Ce résultat déjà décrit est controversé, le mécanisme biologique sous-jacent n'étant pas complètement élucidé.

**Mots clés** : Glioblastome ; Témzolomide ; Thrombopénie ; *MDR1* ; *ABCB1* ; P-gp ; rs1128503

---