



HAL
open science

Potentialisation des traitements du glioblastome : vers une proposition d'essai clinique innovant

Simon Clautrier

► **To cite this version:**

Simon Clautrier. Potentialisation des traitements du glioblastome : vers une proposition d'essai clinique innovant. Sciences pharmaceutiques. 2022. dumas-04254875

HAL Id: dumas-04254875

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04254875>

Submitted on 23 Oct 2023

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 PHARMACIE
Université Clermont Auvergne

UNIVERSITÉ CLERMONT AUVERGNE
UFR DE PHARMACIE

Année : 2022

N°

MEMOIRE POUR LE DIPLÔME D'ETUDES SPECIALISEES DE PHARMACIE
OPTION : PHARMACIE HOSPITALIÈRE - PRATIQUE ET RECHERCHE

TENANT LIEU DE THÈSE D'EXERCICE
pour le
DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement
le : 21 Octobre 2022
par
Simon CLAUTRIER

Potentialisation des traitements du Glioblastome : vers une proposition d'essai clinique innovant

Directeur de thèse : **Pr Xavier DURANDO, Professeur des Universités, UFR Médecine**

Jury

Président : **Pr Valérie SAUTOU**

Professeur des Universités,
UFR Pharmacie - Clermont-Ferrand

Membres : **Dr Régine CHEVRIER**

Pharmacien Hospitalier, Pharmacie,
Centre Jean Perrin – Clermont-Ferrand

Dr Florence RANCHON

Maître de Conférences des Universités,
UFR Pharmacie - Lyon

Pr Julian BIAU

Professeur des Universités,
UFR Médecine - Clermont-Ferrand



UNIVERSITÉ CLERMONT AUVERGNE
UFR DE PHARMACIE

Année : 2022

N°

MEMOIRE POUR LE DIPLÔME D'ETUDES SPECIALISEES DE PHARMACIE
OPTION : PHARMACIE HOSPITALIÈRE - PRATIQUE ET RECHERCHE

TENANT LIEU DE THÈSE D'EXERCICE
pour le
DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement
le : 21 Octobre 2022
par
Simon CLAUTRIER

Potentialisation des traitements du Glioblastome : vers une proposition d'essai clinique innovant

Directeur de thèse : **Pr Xavier DURANDO, Professeur des Universités, UFR Médecine**

Jury

Président : **Pr Valérie SAUTOU**

Professeur des Universités,
UFR Pharmacie - Clermont-Ferrand

Membres : **Dr Régine CHEVRIER**

Pharmacien Hospitalier, Pharmacie,
Centre Jean Perrin - Clermont-Ferrand

Dr Florence RANCHON

Maître de Conférences des Universités,
UFR Pharmacie - Lyon

Pr Julian BIAU

Professeur des Universités,
UFR Médecine - Clermont-Ferrand

REMERCIEMENTS

A ma présidente de jury, Madame le Professeur Valérie SAUTOU

Pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de cette thèse. Un grand merci Valérie, pour votre soutien, votre écoute et vos conseils qui m'ont été si précieux dans mes moments de doutes au cours de ces quatre dernières années d'internat. Je vous témoigne pour tout cela de ma reconnaissance et de mon profond respect.

A mon directeur de thèse, Monsieur le Professeur Xavier DURANDO

Pour m'avoir fait l'honneur de diriger cette thèse. Vous avez su m'accueillir les bras ouverts lors de ma venue timide pour vous présenter ce projet. Votre intérêt immédiat, votre disponibilité et le temps que vous avez consacré à me suivre cette année pour relire, corriger cette thèse et me donner vos conseils avisés me vont droit au cœur. Veuillez trouver ici l'expression de mes plus sincères remerciements.

A Madame le Docteur Régine Chevrier

Régine, je suis sincèrement ravi de vous voir présente dans ce jury afin de juger ce travail. Merci pour ces 1,5 très belles années que j'ai pu passer au CJP, de votre accueil et de m'avoir transmis cette passion pour le domaine de l'oncologie. Un grand merci pour cette proximité appréciable et de votre aide pour développer mes projets professionnels futurs.

A Madame le Docteur Florence Ranchon

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de faire partie de ce jury. Merci d'apporter un autre regard avisé sur ce travail grâce à votre expertise dans le domaine de la pharmacie oncologique ainsi que dans le domaine de la recherche. Mes sincères remerciements.

A Monsieur le Professeur Julian Biau

Pour l'honneur que vous me faites de siéger parmi les membres de ce jury. Merci d'avoir accepté de juger ce travail et d'y apporter vos remarques grâce à votre expertise dans le domaine de la neuro-oncologie qui m'est cher. Mes sincères remerciements.

A toute ma famille

Pour votre soutien sans faille depuis tant d'années et tous ces beaux moments que l'on partage. Aux tontons et tatas, grands-parents, cousins, cousines, petite cousine et branches rapportées (oui oui c'est bien toi Florian). Avec une tendresse particulière à celles et ceux qui se sont libérés pour venir assister à ma présentation et notamment papi et mamie qui du haut de leur 90 et 88 ans sont toujours au rendez-vous pour leur petit fils grâce à leurs nouveaux membres en titane.

A papa, maman, ma sœur Aude et mon beau-frère Eric

Pour votre amour inconditionnel, votre patience inégalable à mon égard et pour tous les bons conseils que vous avez pu me transmettre toutes ces années (même si je n'en fais qu'à ma tête). Merci d'être toujours présent pour moi. Je vous dédis ce travail et vous embrasse affectueusement.

A Hugo et Jade

Merci les p'tits loups pour votre bonne humeur contagieuse et vos bêtises plus innovantes les unes que les autres. Je vous fais de gros bisous même si vous pourriez laisser à votre tonton des Pom'Potes autres que goût pomme nature. Elles sont pas bonnes, mangez-les please !

A toute la bande des pharmamigos

Notamment ce bon vieux Doud des Bermudes, Augustin et ses problèmes de serrurerie ainsi que mes trois grands copains plus que précieux : Lysa, Lucile et Robin le pancouake. Mes années d'études ont été fantastiques grâce à vous tous et les suivantes le seront toutes autant. Merci pour tout. Votre dévoué Carte au C....

A mince j'ai oublié Marie, t'étais en train de te garer quand je faisais mes remerciements !

A mes deux brozos

Le Massoum (dit Poppa Chubby) et Lambert (dit le Roi des rats). Je vous site à part car vous êtes pour moi beaucoup plus que des amis... vous êtes de véritables collègues. Officiellement, c'est parce que Maxime ne tenait pas en largeur dans l'encadré précédent, il lui fallait une place centrale.

Je vous aime fort les gars PARCE QUE....parce que....parce que...

A la team médicale

En particulier Clémence, Raph, Flo, Yanis, Eliane et mon troisième brozo TomTom <3. A défaut de vous avoir fait forte impression sur les pistes de ski, j'espère vous avoir emballé par mes contes historiques et mes blagues. En tout cas VOUS vous m'avez régalié ces dernières années ! Merci pour tout. Votre dévoué Siiiiimmooonn.

A l'équipe du Centre Jean Perrin

A toute l'équipe de préparatrices de l'UPCO, d'une gentillesse et d'un professionnalisme incroyables ainsi que celles et ceux de la pharmacie centrale. Merci à l'équipe de la radiopharmacie : Marion, Sophie et Alban pour votre bienveillance et vos sourires toujours présents.

A Robin l'enfanteur, Elise Goiffonita, Sandoche et ce trio de pharmaciens incroyable que vous formez. Quel bonheur d'avoir pu vous divertir pendant près d'un an. Vous êtes l'incarnation de la gentillesse, du fun, de l'autodérision mais du non-respect de l'article 18. Chaque jour une nouvelle blague, chaque

jour un fou rire, chaque jour une panne d'iso. Pour tout cela, je vous adore et j'espère qu'on continuera pendant encore très longtemps à se vanner mutuellement (même malgré la distance). J'en arrête là, il est 17h, c'est mon heure...

Votre dévoué piou, sclaut, bouffon, sbire, bel éphèbe... que de surnoms pour un seul homme. (J'avoue j'ai rajouté le dernier)

A l'équipe du Centre Hospitalier de Riom

Aux préparatrices et aux pharmaciens de Riom : Audrey, Olivier et Pat Cruise la légende. Un grand merci à vous tous de m'avoir accueilli si chaleureusement et m'avoir permis de clôturer cet internat de la plus belle des manières. Je ne vous oublierai pas de sitôt. Ça c'est fait. En attendant le prochain poulet Basquaise !

A toute l'équipe de pharmaciens, préparateurs, magasiniers et cadre du CHAL

Pour ce semestre tout bonnement exceptionnel que j'ai passé à vos côtés en Haute-Savoie. Je me suis régalié de toutes ces balades, restaurants, footing... et de chacune de vos personnalités qui font que l'ambiance de cette unité est incroyable. Avec une mention particulière à ma petite Caro, véritable coup de cœur de ce semestre. Merci pour tout ce que tu m'as appris et cet humour légendaire qui font qu'aussi bien humainement que professionnellement tu es au TOP. Tous tes internes sont très chanceux !

A mes cointernes

Notamment Anaïs, Romane, Baptiste et Alex. Pour ces semestres de rire que l'on a partagé ensemble et qui ont permis d'embellir mes années d'interne. Merci à vous, ça régale ☺

A tous les autres copains qui mériteraient chacun un message perso. Mais bon à ce rythme il faudrait que je fasse une thèse dédiée aux remerciements des copains.

A tous les copains de lycée de la Machiavélique Maud, les copains de Hots, la Team Montluçon, mon Val Thev, mon Simon Cordat, Quentin C, Toutour, Pipoune et les autres... Sans oublié les cool caaaaatsssss... Merci à vous pour tous mes magnifiques souvenirs d'hier ainsi que pour les beaux moments d'aujourd'hui et de demain. Cette dernière phrase est follement poétique.

Table des Matières

Introduction	12
Partie 1. Les Glioblastomes multiformes : Généralités et Recommandations actuelles de leur prise en charge	15
1 Généralités	15
1.1 Définition.....	15
1.2 Epidémiologie.....	16
1.3 Facteurs de risques	17
1.3.1 Facteurs génétiques et cas familiaux	17
1.3.2 Rayonnements ionisants	18
1.3.3 Rayonnements non ionisants	18
1.3.4 Facteurs débattus.....	18
1.4 Approche Diagnostique.....	19
1.4.1 Présentation clinique	19
1.4.2 Examen paraclinique : Imagerie	22
1.4.3 Anatomopathologie	23
1.4.4 Examens anatomo-pathologiques.....	23
1.5 Classification des GBM : Vers un diagnostic intégré	24
1.5.1 Classification histologique.....	24
1.5.2 Classification biomoléculaire	24
2 Recommandations actuelles de la prise en charge des GBM	30
2.1 Traitement de première ligne	30
2.1.1 Traitement chirurgical.....	31
2.1.2 Radiothérapie.....	35
2.1.3 Chimiothérapie	38
2.1.4 Traitement symptomatique	44
2.2 Suivi	46
2.3 Quid de la prise en charge du GBM du sujet âgé	47
2.4 Prise en charge des récurrences	50
2.4.1 Reprise neurochirurgicale	50
2.4.2 Place des implants de Carmustine	51

2.4.3	Place de la réirradiation	51
2.4.4	Traitements de 2 nd ligne et plus	51
Partie 2. Nouvelles stratégies de prise en charge et perspectives		54
1	Stratégies basées sur le ciblage thérapeutique	54
1.1	Récepteurs à activité tyrosine kinase.....	54
1.2	Angiogenèse.....	62
1.3	Voies de signalisation.....	66
1.4	Mécanisme épigénétique.....	77
1.5	Principe de la létalité synthétique.....	78
1.6	Immunothérapie	79
1.6.1	Vaccin	79
1.6.2	Inhibiteur de point de contrôle immunitaire	81
1.6.3	CAR-T cells.....	83
1.7	Thérapie génique	84
1.7.1	Virus oncolytique	84
2	Perméabilité de la barrière hémato-encéphalique	86
2.1	Stratégies basées sur les dispositifs	86
2.2	Stratégies basées sur les médicaments.....	87
3	Nouvelles voies de signalisation et perspectives	88
3.1	Nouvelles voies de signalisation.....	88
3.2	Perspectives	88
Partie 3. Proposition d'essai clinique innovant : repositionnement thérapeutique		90
1	Introduction du concept	90
1.1	Résumé.....	90
1.2	Concept du repositionnement thérapeutique	92
2	Rappel pharmacothérapeutique des molécules d'intérêts.....	94
2.1	Acide valproïque	94
2.2	Metformine	95
2.3	Simvastatine.....	97
3	Mécanismes biomoléculaires pathologiques décrits dans le GBM et rationnel d'action des molécules d'intérêts	99
3.1	Action sur les voies de signalisation impliquées dans le GBM	99
3.2	Gène suppresseur de tumeur	108

3.2.1	p53	108
3.2.2	PTEN	109
3.2.3	Mutation TERT.....	109
3.3	Déséquilibre du métabolisme glucidique : Effet Warburg	110
3.3.1	Mécanisme	110
3.3.2	Action de la Metformine et du VPA sur l'effet Warburg.....	113
4	Modulation épigénétique et GBM	114
4.1	Définition.....	114
4.2	Méthylation MGMT et îlot CpG.....	115
4.3	Décacétylation des Histones	116
4.4	ARN non codant (Micro ARN).....	118
4.4.1	Définition.....	118
4.4.2	Implication de la Simvastatine, Metformine et Acide Valproïque dans la modulation d'expression des micro-ARN	121
5	Implication des cellules souches tumorales dans le GBM.....	123
5.1	Définition.....	123
5.2	Rôle dans la radiorésistance.....	128
5.3	Rôle dans la chimiorésistance	130
5.4	Actions potentielles des molécules d'intérêt sur l'inhibition du caractère souche des cellules	130
	Discussion	134
1	Synergie d'action Acide Valproïque/Metformine/Simvastatine	134
2	Bénéfices espérés.....	136
3	Analyse critique/ Limites :.....	138
4	Design de l'essai clinique que l'on aimerait proposer.....	139
	Conclusion	144
	Références	145

Liste des Tableaux et Figures

<i>Tableau I : Résumé des facteurs de risques du GBM retrouvés dans la littérature</i>	19
<i>Tableau II : Indice de Karnofsky</i>	21
<i>Tableau III: Classification OMS 2016 des tumeurs gliales</i>	25
<i>Tableau IV : Critères RANO</i>	47
<i>Tableau V : Résumé des différentes molécules de 2nd lignes et plus ainsi que leurs doses et leurs fréquences</i>	53
<i>Tableau VI : Exemples d'études cliniques ayant examiné l'efficacité d'une thérapie anti VEGF autre que le Bévécizumab dans le GBM</i>	62
<i>Tableau VII : Exemples de molécules ciblant la voie MAPK utilisées dans le GBM</i>	68
<i>Tableau VIII : Exemple d'essai évaluant l'efficacité d'un inhibiteur du protéasome dans le traitement du GBM</i>	74
<i>Tableau IX : Principaux micro-ARN sous exprimés et conséquences dans le GBM</i>	120
<i>Tableau X : Principaux micro-ARN surexprimés et conséquences dans le GBM</i>	120
<i>Tableau XI : Sélection des marqueurs moléculaires étudiés dans les CSG</i>	127

<i>Figure 1 : Estimation du nombre de nouveaux cas et de décès par tumeur solide chez l'homme et chez la femme, en 1980 et en 2012</i>	12
<i>Figure 2 : Représentation schématique de la névroglie</i>	15
<i>Figure 3 : Taux d'incidence du GBM par tranche d'âge et par sexe</i>	17
<i>Figure 4 : Anatomie cérébrale et fonctions cognitives et motrices associées</i>	21
<i>Figure 5 : Aspect d'une IRM multimodale d'un patient porteur d'un GBM</i>	22
<i>Figure 6 : Aspect histologique typique d'un GBM</i>	23
<i>Figure 7 : Principales catégories histo-moléculaires des gliomes diffus de l'adulte</i>	29
<i>Figure 8 : Exemples de techniques d'aide chirurgicale permettant de circonscrire les limites tumorales</i>	33
<i>Figure 9 : Contours des volumes cibles en radiothérapie</i>	37
<i>Figure 10 : Résumé du schéma STUPP</i>	39
<i>Figure 11 : Estimations de Kaplan-Meier de la survie sans progression et de la survie globale en fonction du groupe de traitement</i>	40
<i>Figure 12 : Estimations de Kaplan-Meier de la survie globale et de la survie sans progression, en fonction du statut de méthylation du promoteur MGMT et de l'assignation aléatoire au témozolomide plus radiothérapie ou à la radiothérapie seule</i>	42
<i>Figure 13 : Algorithme décisionnel de prise en charge du patient âgé atteint d'un GBM</i>	49
<i>Figure 14 : Classification des récepteurs à activité tyrosine kinase</i>	54
<i>Figure 15 : Mécanisme d'action des ITK</i>	56

<i>Figure 16 : Balance de différentes molécules proangiogéniques et antiangiogéniques régulant le « switch » angiogénique</i>	63
<i>Figure 17 : Résumé des principales voies de signalisation altérées dans le GBM</i>	78
<i>Figure 18 : Principe de la létalité synthétique</i>	79
<i>Figure 19 : Mécanisme d'inhibition de l'activité lymphocytaire par le biais des points de contrôles immunitaires</i>	81
<i>Figure 20 : Mécanisme d'action des anticorps inhibiteurs des points de contrôle et molécules commercialisées</i>	82
<i>Figure 21 : Schéma du mécanisme d'action des virus oncolytiques. D'après le schéma de « creative biolabs »</i>	85
<i>Figure 22 : Mécanisme d'action de l'Acide Valproïque</i>	94
<i>Figure 23 : Schématisation du rôle de la metformine dans la lutte contre l'hyperglycémie basale et postprandiale. D'après le schéma de pharmacomedicale.org</i>	96
<i>Figure 24 : Mécanisme d'action des Statines</i>	98
<i>Figure 25 : Structure du complexe AMPK</i>	100
<i>Figure 26 : Cascade d'activation RAS/PI3K/AKT lors de l'activation de mTOR.</i>	101
<i>Figure 27 : Activation et inactivation de ULK1 par phosphorylation par l'intermédiaire de mTORC1 et AMPK</i>	102
<i>Figure 28 : Mécanisme d'action de la Metformine dans l'hépatocyte</i>	103
<i>Figure 29 : Cœur de la voie HIPPO et son mode d'action</i>	105
<i>Figure 30 : Action de l'axe SREBP/Mévalonate sur la voie HIPPO en fonction du profil mutationnel p53</i>	106
<i>Figure 31 : Devenir du glucose dans la cellule</i>	111
<i>Figure 32 : différences entre la phosphorylation oxydative, la glycolyse anaérobie et la glycolyse aérobie (effet Warburg)</i>	112
<i>Figure 33 : Modifications post-traductionnelles des histones</i>	117
<i>Figure 34 : Mode d'action des miR</i>	119
<i>Figure 35 : Schéma du modèle d'évolution clonale et du modèle hiérarchique</i>	124
<i>Figure 36: Illustration du design de l'étude (d'après le modèle d'étude de Maraka et al)....</i>	142

Liste des Abréviations

5-ALA : Acide 5-aminolévulinique	FRA-1 : Fos-related antigen 1
ABC : ATP-binding cassette	FZD : Frizzled
ACM : Anticorps monoclonaux	GBM : Glioblastome multiforme
ADN : Acide désoxyribonucléique	Gli : Glioma Associated Oncogène Homolog
AED : Traitement antiépileptique	GTV : Volume tumoral macroscopique
AMM : Autorisation de mise sur le marché	Gy : Gray
AMPK : Protéine kinase activée par l'AMP	HDAC : Histone déacétylase
AP-1 : Protéine activatrice 1	HER2 : Human Epidermal Growth Factor Receptor-2
ARN : Acide ribonucléique	HGF : Facteur de croissance hépatocytaire
ATM : Ataxie télangiectasie mutée	HIF-1 : Hypoxia-Inducible Factor-1
ATP : Adénosine triphosphate	HR : Hazard Ratio
ATRX :Alpha-Thalassemia / mental Retardation syndrome X-linked	HTIC : Hypertension Intracranienne
BHE : Barrière hémato-encéphalique	IDH : Isocitrate Déshydrogénase
BRCA : Breast Cancer	Ig : Immunoglobuline
CaMMKβ : Calcium/calmodulin dependent protein kinase kinase β	IKB- α : Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor α
CAR-T : Cellules T porteuses d'un récepteur antigène chimérique	IRM : Image par Résonance Magnétique
CDK 4/6 : Cyclin-Dependent Kinase 4/6	ITK : Inhibiteur tyrosine kinase
CDKN : Kinase cycline-dépendante	JAK : Janus Kinase
Chk : Checkpoint kinase	KPS : Karnofsky Performance Status
CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité	LATS1/2 : Large tumor suppressor 1/2
CMV : Cytomégalovirus	LDL : Lipoprotéine de basse densité
CpG : Dinucléotide cytosine phosphate guanine	LKB1 : Liver kinase B1
CSG : Cellules souches cancéreuses de GBM	MAPK : Mitogen-activated protein kinase
CSL : Protéine nucléaire de liaison à l'ADN	MDM2 : Murine double minute 2
CTLA-4 : Cytotoxic T-Lymphocyte Associated protein 4	MET : Mesenchymal-epithelial transition factor
CTV : Volume cible anatomopathologique	MGMT : O6-méthylguanine transférase
CYP : Cytochromes	miR : Micro-ARN
EGFR : Epidermal Growth Factor Receptor	MST1/2 Mammalian STE20-like protein kinase 1/2
EGFRvIII : Variante III du récepteur de l'EGF	mTOR : Mammalian Target Of Rapamycin
EORTC : European Organisation for Research and Treatment of Cancer	NF-KB Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
ERK : Extracellularsignal-Regulated Kinase	NICD : Domaine intracellulaire de Notch
FDA : Food and Drug Administration	NOS : Not Otherwise Specified
FGF : Fibroblast Growth Factor	OCT : Transport des Cations Organiques : Transport des Cations Organiques
FLAIR : Fluid Attenuated Inversion Recovery	OMS : Organisation Mondiale de la Santé
FOSL1 : Fos-like antigen 1	OS : Survie globale médiane
	PARP : Poly-ADP-ribose-polymérase
	PD-1 : Programmed cell death 1

PDGFR : Platelet-derived Growth Factor
PDL-1 : Programmed cell death-ligand 1
P-gp : Glycoprotéine P
PI3K : Phosphoinositide 3-kinase
PKC : Protéine kinase C
pRB : Protéine du rétinoblastome
Psdp : Pseudo-progression
PSMA : Antigène membranaire spécifique de la prostate
PTEN : Phosphatase and Tensin homolog
PTV : Volume cible prévisionnel
PUMA : The p53 upregulated modulator of apoptosis
R&D : Recherche et développement
RANO : Response Assessment in Neuro-Oncology
RCP : Réunion de concertation pluridisciplinaire
ROS : Espèces réactives de l'oxygène
RT : Radiothérapie
RTK : Récepteur à activité tyrosine kinase

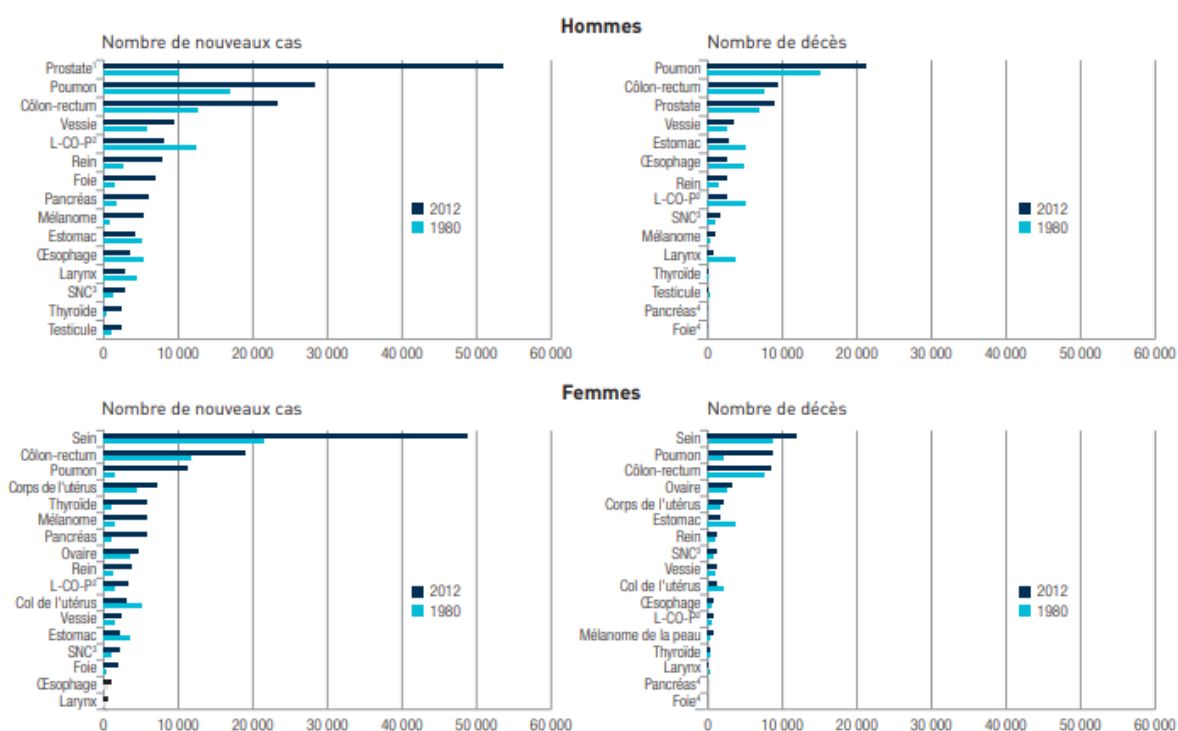
SM : Set-up margin
SMO : Smoothened
SNC : Système nerveux central
SNP : Système nerveux périphérique
SREBP : Sterol regulatory element-binding proteins
SSP : Survie sans progression
STAT : Signal Transducers and Activators of Transcription
TAZ : Transcriptional coactivator with PDZ-binding motif
TCR : Récepteur des cellules T
TEAD : TEA domain protein
TERT : Télomérase Reverse Transcriptase
TNF- α : Facteur de nécrose tumorale
TTF : Tumor Treating Fields
ULK1 : Unc-51 Like Autophagy Activating Kinase 1
VEGF : Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire
YAP : Yes-associated protein

Introduction

La pathologie cancéreuse est au cœur des préoccupations de santé publique d'aujourd'hui. Son incidence ne cesse de croître depuis des années et s'évalue à 382 000 nouveaux cas par an en France en 2018. Cette tendance s'explique en partie par le vieillissement et l'augmentation de la population ainsi que l'abaissement des techniques de dépistages.

Bien que l'amélioration de la précocité diagnostique et des innovations thérapeutiques aient conduit à une légère baisse globale de la mortalité (157 000 décès en 2018 en France), elle n'en demeure pas moins la 1^{ère} cause de mortalité prématurée en France devant les maladies cardiovasculaires (1).

Le cancer du sein, colorectal, du poumon et de la prostate sont au sommet du classement des tumeurs solides les plus fréquentes et les plus meurtrières tous sexes confondus.



1. Pour le cancer de la prostate, l'estimation de l'incidence la plus récente concerne l'année 2009.
 2. L-CO-P : lèvre-cavité orale-pharynx.
 3. SNC : système nerveux central.
 4. Les données de mortalité des cancers du foie et du pancréas ne sont pas présentées du fait d'une moindre fiabilité de ces données par rapport aux autres localisations.
- Champ** • France métropolitaine.
Sources • Base commune des registres des cancers (Francim); certificats de décès (CépiDc); exploitation partenariat Francim-HCL-Santé publique France-INCa.

Figure 1 : Estimation du nombre de nouveaux cas et de décès par tumeur solide chez l'homme et chez la femme, en 1980 et en 2012 (2)

Bien que le pronostic de la pathologie cancéreuse soit variable selon sa localisation, son stade et le profil du patient, l'avancée fulgurante de la compréhension des mécanismes biomoléculaires et génétiques a permis le développement de molécules anticancéreuses de plus en plus spécifiques et efficaces. Par l'engouement de la recherche clinique dans cette discipline, la survie globale et sans progression des patients ont connu un net progrès dans la plupart des cancers ces dernières décennies. La fréquence des remaniements des stratégies thérapeutiques fait de l'oncologie une discipline dynamique.

Pourtant, bien que les tumeurs du système nerveux central (SNC) ne soient que très rares, l'espérance de vie associée aux patients atteints de glioblastome multiforme (GBM) est atrocement brève. Depuis l'avènement du protocole de Stupp en 2005 et malgré la multiplicité des études, le pronostic des patients atteints de GBM n'a pas connu d'amélioration et reste critique à ce jour.

Les particularités biomoléculaires du GBM, les voies de signalisation altérées et la problématique du passage de la barrière hémato-encéphalique, bien qu'en partie connues, aucune nouvelle thérapie ne semble pouvoir encore supplanter ce protocole quand elles triomphent dans d'autres pathologies. Actuellement, il est admis que l'épigénétique et la présence de cellules souches tumorales soient responsables de l'échec des thérapies conduisant à la récurrence et à la récurrence des GBM, mais encore trop peu d'études ne semblent y prêter attention.

Par le peu de cas annuels de GBM, les essais cliniques testant de nouvelles molécules sont relégués à de petites études non randomisées empêchant la fiabilité et la reproductibilité de leur efficacité. Pourtant de nouvelles stratégies thérapeutiques sont plus que nécessaires.

La découverte de propriétés anticancéreuses de certains médicaments utilisés dans d'autres pathologies plus ou moins bénignes pousse les chercheurs à développer des essais les repositionnant dans de nombreux cancers.

Cette conjoncture actuelle a motivé la réalisation d'un travail de réflexion dans cette pathologie. Par la compréhension des principaux mécanismes de résistances et par l'appui de la littérature existante, l'objectif de cette thèse est d'imaginer un concept proposant de

cibler des voies de manières originales par le repositionnement de trois molécules (Metformine, Acide Valproïque et Simvastatine) associées au protocole de Stupp actuel dans le GBM nouvellement diagnostiqué (GBMn).

Après avoir énumérer dans un premier temps les généralités et les recommandations actuelles des GBM, les nouvelles stratégies de prises en charges et les perspectives seront détaillées. Enfin, par la compréhension du potentiel rationnel d'action antinéoplasiques de nos trois molécules dans le GBM, ce travail aboutira à la proposition d'un essai clinique innovant basé sur le repositionnement thérapeutique, cherchant à évaluer l'intérêt de l'association de la Metformine, de l'Acide Valproïque et de la Simvastatine au protocole de Stupp dans le GBMn.

Partie 1. Les Glioblastomes multiformes : Généralités et Recommandations actuelles de leur prise en charge

1 Généralités

1.1 Définition

Le Glioblastome multiforme (GBM) représente la tumeur cérébrale gliale primitive maligne la plus fréquente et la plus agressive de l'adulte (3).

La glie est un ensemble de cellules du système nerveux accompagnant les neurones. Elle représente plus de la moitié des cellules du système nerveux. Elles assurent cohésion, apport nutritionnel, élimination des déchets et facilitent la conduction de l'influx nerveux par la production de la gaine de myéline. Elles contribuent ainsi à l'homéostasie cérébrale par un contrôle de l'environnement chimique et électrique (4).

On distingue les cellules de la **macroglie**, constituées principalement d'astrocytes, d'oligodendrocytes dans le SNC et des cellules de Schwann dans le système nerveux périphérique (SNP). Les cellules de la **microglie** quant à elles sont composées de macrophages assurant la phagocytose physiologique des débris ou des neurones entiers lors de leur mort. Ces deux structures forment la **névroglie**.

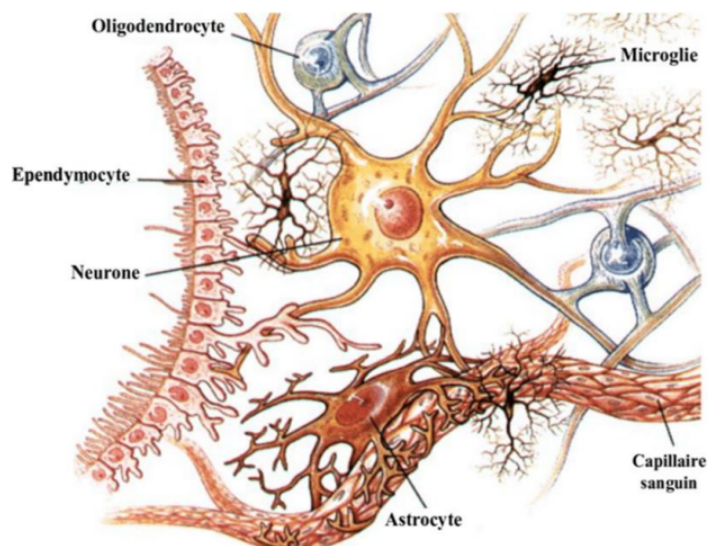


Figure 2 : Représentation schématique de la névroglie

Les Ependymocytes assurent l'interface entre le système nerveux et le liquide cébrospinal qu'elles produisent.

Dans le cas du GBM (également nommé astrocytome de grade IV selon la classification OMS), ces cellules gliales se reproduisent de manière anarchique, anormale suite à diverses altérations génétiques et/ou épigénétiques. L'appellation multiforme provient de l'hétérogénéité cellulaire de ces tumeurs et de leurs localités. Ils se développent dans le parenchyme cérébral, principalement dans les **hémisphères cérébraux** (localisation sus-tentorielle) et plus particulièrement dans le lobe frontal (30%) ou temporal (30%) mais peut également se déclarer dans d'autres localisations cérébrales (5).

1.2 Epidémiologie

Le GBM est la plus fréquente des tumeurs cérébrales gliales représentant plus de 50% de tous les gliomes confondus (80% des gliomes de haut grade stade III ou IV selon la classification OMS). L'incidence annuelle est d'environ 4/100 000 soit **2600 nouveaux cas** par an confirmés histologiquement en France. Si le GBM est une tumeur rare, il représente toutefois la 3^{ème} cause de décès par cancer chez les 15-35 ans et provoque 2,5% des décès dus au cancer dans le monde. S'il touche peu les enfants, son incidence augmente linéairement jusqu'à 75 ans pour diminuer par la suite (pic d'incidence entre 55 et 60 ans) (Figure 3). L'âge médian au diagnostic est de **64 ans**. Il est prédominant chez les hommes avec un sexe ratio de 1.5 à 1.8 pour 1. L'ethnie semble également prédisposer au GBM (risque relatif de 1.7 pour les caucasiens vs les africains). L'incidence est en augmentation ces dernières décennies et serait en partie due au vieillissement de la population et aux progrès des techniques d'imagerie.

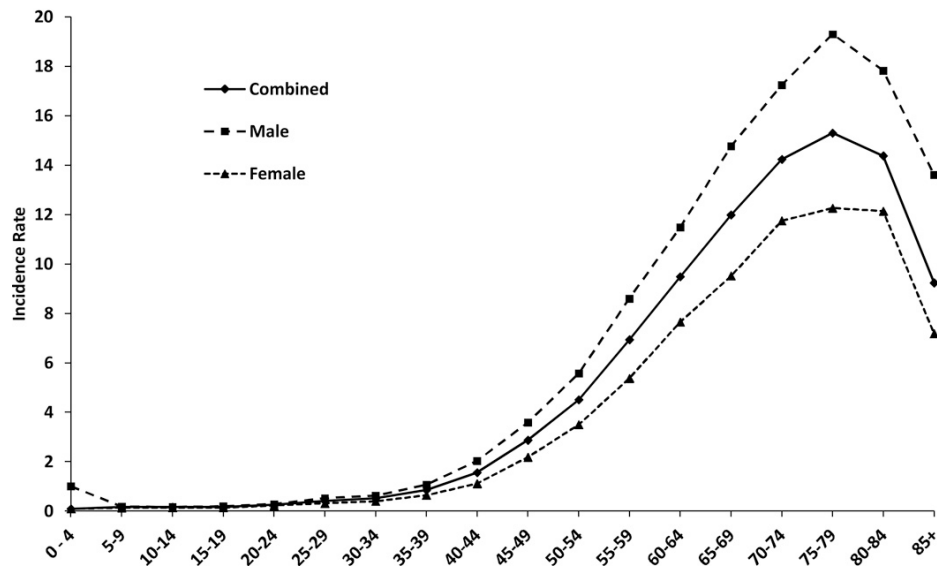


Figure 3 : Taux d'incidence du GBM par tranche d'âge et par sexe

On distingue les GBM se formant de novo (80% des GBM) qui se manifestent préférentiellement chez le sujet âgé (âge moyen 62 ans) tandis que les GBM résultant de la transformation d'un gliome infiltrant de bas grade de stade II ou anaplasique de grade III (astrocytome) concernent davantage le sujet plus jeune (âge moyen 45 ans) (6).

Malgré les thérapeutiques actuelles, le pronostic reste très sombre avec une survie médiane de l'ordre de 14 mois et un taux de survie globale moyen à 5 ans de 5% (7).

1.3 Facteurs de risques

Même si, comme vu précédemment, l'âge, le sexe masculin et l'ethnie semblent être des facteurs contributifs, il n'existe aujourd'hui que peu de facteurs de risques avérés.

1.3.1 Facteurs génétiques et cas familiaux

1 à 5% des tumeurs cérébrales sont dues à des **syndromes génétiques** conférant une prédisposition à développer des tumeurs du système nerveux dont le GBM. Parmi eux nous pouvons distinguer la neurofibromatose de type 1 et 2 (mutation du gène suppresseur de tumeur NF1 ou NF2), le syndrome de Li-Fraumeni (mutation du gène suppresseur de tumeur TP53), la sclérose tubéreuse de Bourneville (mutation du gène suppresseur de tumeur TSC1 ou TSC2), le syndrome de Lynch (8) ou le syndrome de Turcot (déficience de la réparation

des mésappariements) ainsi que certains polymorphismes génétiques (amplification EGFR...) (9).

Des cas familiaux ont également été rapportés mais ne concernent qu'une faible proportion de gliomes. Des expositions environnementales partagées pourraient également contribuer au risque dans certaines familles (10).

1.3.2 *Rayonnements ionisants*

Les **rayonnements ionisants** sont à l'heure actuelle le **seul facteur de risque** dûment documenté. En effet, des études ont montré un accroissement du risque de gliomes secondaires à une irradiation thérapeutique cérébrale chez les enfants ayant été préalablement atteints d'un premier cancer cérébral ou d'une leucémie aigüe (11). De même, l'exposition aux rayonnements ionisants chez les survivants de bombes atomiques a révélé un lien causal dans l'apparition des tumeurs cérébrales. La latence entre l'irradiation et l'apparition du cancer est variable et peut aller de 5 ans comme plusieurs décennies post exposition (12). Une augmentation de la dose reçue accélère le processus de cancérisation ainsi que son incidence.

1.3.3 *Rayonnements non ionisants*

L'exposition aux **champs électromagnétiques** émis entre autres par les **smartphones** a été discutée comme potentiel facteur de risque. Les nombreuses études réalisées n'ont pas permis de conclure sur l'implication de ces rayonnements dans la survenue des tumeurs cérébrales (13). Par manque de données concluantes et, dû au manque de recul, le centre international de recherche contre le cancer classe tout de même les radiofréquences comme cancérogènes possibles chez l'homme (2B) (14).

1.3.4 *Facteurs débattus*

D'autres facteurs sont suspectés mais les études apportent des données contradictoires ou non concluantes. Parmi eux, on peut noter les pesticides, les dérivés

nitrés, les métaux lourds ou encore les traumatismes crâniens (tableau I) ... Dans certaines études, il a été suggéré une corrélation entre exposition virale in utéro et développement des tumeurs cérébrales car il a été constaté que les enfants nés en hiver disposeraient d'un risque plus élevé de GBM à l'âge adulte (15).

Il existerait une **corrélation inverse entre gliome et terrain allergique** (asthme, rhume des foins, eczéma) ou **maladie auto-immune**. En effet, une méta-analyse indique une diminution significative de l'incidence des gliomes chez les patients ayant des antécédents d'allergies (risque relatif 0,61) (16).

Des études prospectives ont montré un lien entre le taux d'IgE (Immunoglobulines E) totales et le risque de gliomes. Des IgE totales élevées seraient associées à une diminution de 25% (17) de risque de certains gliomes par rapport à un faible niveau d'immunoglobulines confortant l'hypothèse d'une protection des sujets atopiques dans la genèse du GBM (18).

Augmentation du risque	Pas d'influence démontrée	Diminution probable du risque
Âge	Composés nitrosés	Allergies
Ethnie	Tabac	Maladies auto-immunes
Sexe	Alcool	Consommation d'antioxydants
Syndromes de prédisposition	Aspartame	Infections par certains virus
Polymorphisme génétique	Acrylamide	Anti-inflammatoires
Radiothérapie encéphalique		Traitement hormonal substitutif
	<i>Champs électromagnétiques</i>	
	<i>Pesticides</i>	

Tableau I : Résumé des facteurs de risques du GBM retrouvés dans la littérature (19)

1.4 Approche Diagnostique

1.4.1 Présentation clinique

Les patients atteints d'un GBM peuvent présenter un tableau clinique hétérogène. Ils déclarent généralement des signes et symptômes neurologiques subaigus qui évoluent sur

plusieurs jours ou semaines et varient en fonction de la localisation ainsi que de la taille de la tumeur dans le cerveau.

Nous pouvons regrouper les symptômes les plus fréquents en 3 grands groupes (20,21) :

- **Les signes irritatifs** : Fréquemment inaugurale, la crise comitiale se révèle chez 20 à 50% des patients. Souvent focales au début (crise partielle), les crises d'épilepsie peuvent se généraliser par la suite (dans 65% des cas). La proximité de la tumeur avec une zone épileptogène favorise la précocité de la crise ainsi que son intensité. Ses circonstances de déclenchement supposent la localisation du foyer.
- **Signes d'hypertension intracrânienne** : Les céphalées sont présentes dans 50 à 60% des cas et peuvent être accompagnées de vomissements (en jet) ou de simples nausées. Ces symptômes sont ceux du syndrome de l'hypertension intracrânienne (HTIC) consécutive à l'augmentation du volume tumoral et de l'œdème cérébral secondaire. Elles prédominent notamment la nuit pouvant altérer le sommeil et au petit matin. La position couchée, la diminution du retour veineux cérébral et la possible augmentation transitoire de la pression partielle en CO₂ (vasodilatateur) durant la nuit favorise l'HTIC.

L'HTIC peut également générer des troubles visuels (diplopie par compression du nerf crânien abducens VI ou œdème papillaire), de la vigilance, du comportement ainsi que certains signes végétatifs (bradycardie, HTA, constipation...).

- **Les signes déficitaires** : En fonction de la localisation tumorale, des déficits neurologiques focaux vont s'installer plus ou moins progressivement et s'étendre en « tache d'huile » aux régions voisines (10 à 40% des patients). Pour évaluer le degrés d'autonomie et de dépendance du patient, il est utilisé **l'indice de Karnofsky ou KPS** (Karnofsky Performance Status)(21) (Tableau 2), ou bien l'indice du performance status selon l'OMS. Le KPS est exprimé en pourcentage (de 0 à 100).

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, une assistance variable est nécessaire	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
	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

Tableau II : Indice de Karnofsky

- Il existe aussi des troubles des fonctions supérieures : troubles mnésiques, cognitifs et de la personnalité (20).

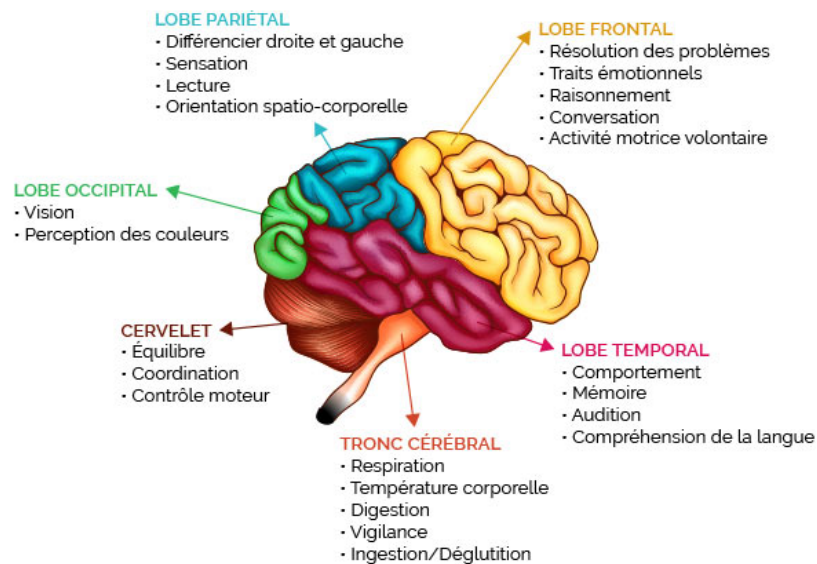


Figure 4 : Anatomie cérébrale et fonctions cognitives et motrices associées

Dans de très rare cas (0.4%), le patient peut être asymptomatique et la découverte du GBM peut alors être fortuite suite à la réalisation d'une imagerie cérébrale pour une autre raison (21).

1.4.2 Examen paraclinique : Imagerie

L'Image par Résonance Magnétique (IRM) est l'examen de référence au diagnostic (20).

Le GBM se présente comme une masse tumorale, le plus souvent hémisphérique de signal hétérogène lié à la présence d'un centre nécrotique et d'éventuelles lésions kystiques, avec une prise de contraste en anneau (22). En l'absence d'agent de contraste, le signal est hypo-intense en T1, hyper intense en T2/FLAIR (Fluid Attenuated Inversion Recovery) et se rehausse après injection de Gadolinium (marquant la rupture de la barrière hémato-encéphalique (BHE)). Au niveau de la périphérie de la tumeur, le signal apparaît hypo intense en T1, et hyper intense en T2/FLAIR relatant l'infiltration tumorale et l'œdème vasogénique péri lésionnel dit en « doigt de gant » (23).

D'autres séquences peuvent être réalisées comme des IRM de perfusion ou des analyses en spectroscopie pour compléter les informations.

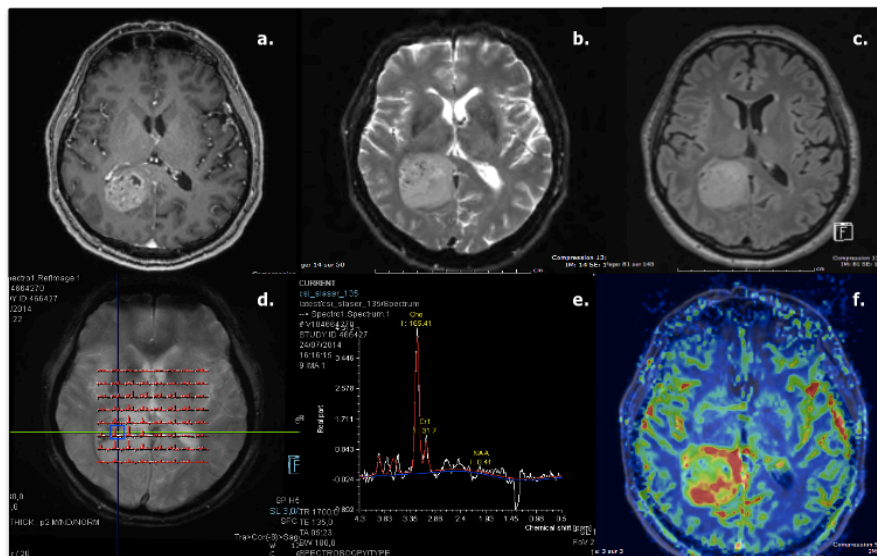


Figure 5 : Aspect d'une IRM multimodale d'un patient porteur d'un GBM (24)

- Coupe axiale T1 après rehaussement par produit de contraste : montre une prise de contraste en anneau avec un centre nécrotique hypo intense*
- Coupe axiale T2*
- Coupe axiale T2/FLAIR : Témoigne l'œdème vasogénique péri-lésionnel en doigt de gant*
- Spectroscopie IRM : Témoigne de la modification de la composition moléculaire de la tumeur et du parenchyme cérébral avoisinant.*
- Courbe de spectroscopie : Montre le pic de Choline et l'effondrement de la N-Acétyl Aspartate caractérisant le haut grade de la tumeur*
- IRM de perfusion : montre les foyers hyper perfusés en périphérie tumorale soulignant les foyers de néoangiogénèse hyper vascularisés.*

1.4.3 Anatomopathologie

Pour établir le diagnostic de certitude, des examens anatomo-pathologiques sont effectués. La qualité du prélèvement est essentielle. L'imagerie pré-opératoire conditionne la chirurgie ou le prélèvement. En condition optimale, la résection chirurgicale maximale tout en préservant les fonctions neurologiques du patient est recommandée. Si l'exérèse totale de la tumeur est préférable, elle n'est en pratique que rarement réalisable à cause du profil infiltrant et diffus de la tumeur et de sa localisation anatomique. L'étendue de la résection contribue au pronostic du patient.

A contrario, si le patient présente des déficits neurologiques avancés et/ou si la localisation tumorale ne permet pas l'exérèse, une simple biopsie en condition stéréotaxique sera réalisée. La qualité du prélèvement reste inférieure à celui de l'exérèse (25,26).

1.4.4 Examens anatomo-pathologiques

La **triade histologique** caractéristique des glioblastomes se définit par une cellularité importante avec un polymorphisme cellulaire, des cellules d'aspect pseudo-palissadique autour de la zone nécrotique, ainsi qu'une modification/prolifération vasculaire avec hyperplasie et thrombose.

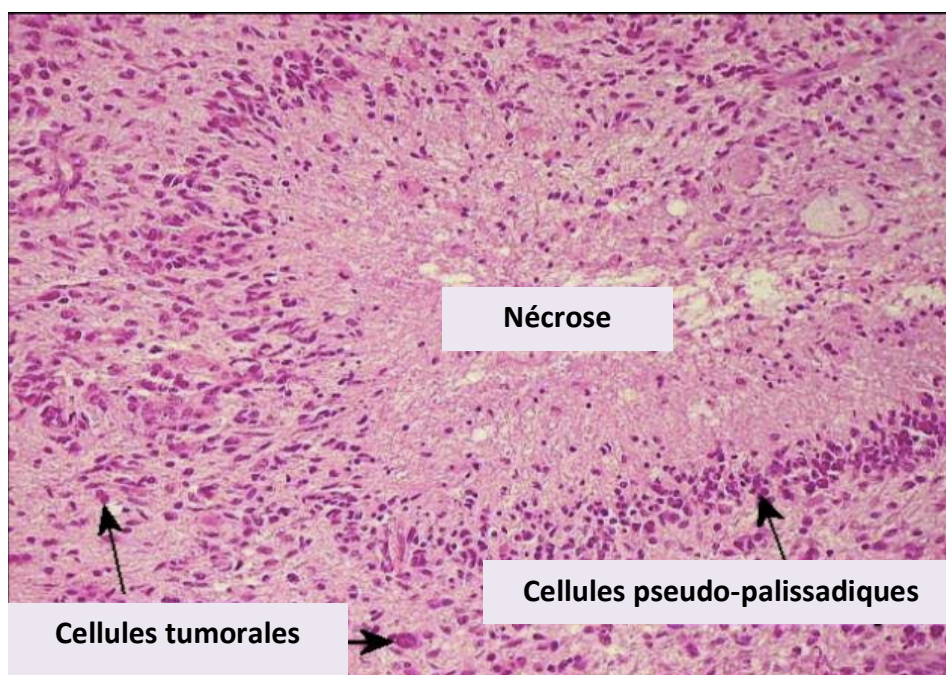


Figure 6 : Aspect histologique typique d'un GBM

Des caractéristiques immunohistochimiques pour le typage tumoral ainsi qu'un profil biomoléculaire sont recherchés pour **un diagnostic intégré** des GBM.

1.5 Classification des GBM : Vers un diagnostic intégré

1.5.1 Classification histologique

La classification des gliomes a évolué au cours du temps et dérive du système originel de 1926 conçu par Bailey et Cushing (27). Elle a par la suite été révisée et mise à jour à quatre reprises par l'OMS à partir de 1979. Basée sur des critères histologiques purs, la classification a progressivement intégré l'immunohistochimie puis inclus les profils génétiques dans la définition des tumeurs cérébrales.

1.5.2 Classification biomoléculaire (28)

Devant l'hétérogénéité des tumeurs gliales, aux pronostics et altérations biomoléculaires distincts, est arrivée en 2016 une nouvelle classification OMS intégrant des données moléculaires permettant une meilleure catégorisation des gliomes et une évaluation plus précise du pronostic ainsi que le caractère prédictif de réponse aux différentes thérapeutiques :

- Cette nouvelle classification oppose distinctement les gliomes circonscrits des gliomes diffus et ne repose plus sur le type cellulaire prédominant.

Grades	Tumeurs diffuses astrocytaires et oligodendrogiales
II	Astrocytome diffus, IDH-muté Astrocytome gémistocytique, IDH-muté
II	Astrocytome diffus, IDH-non muté
II	Astrocytome diffus, NOS
III	Astrocytome anaplasique, IDH-muté
III	Astrocytome anaplasique, IDH-non muté
III	Astrocytome anaplasique, NOS
IV	Glioblastome, IDH-non muté Glioblastome à cellules géantes Gliosarcome Glioblastome épithélioïde
IV	Glioblastome, IDH-muté
IV	Glioblastome, NOS
IV	Gliome diffus de la ligne médiane, H3 K27M-muté
II	Oligodendrogliome, IDH-muté et codéletion 1p-19q
II	Oligodendrogliome, NOS
III	Oligodendrogliome anaplasique, IDH-muté et codéletion 1p-19q
III	Oligodendrogliome anaplasique, NOS
II	Oligoastrocytome, NOS
III	Oligoastrocytome anaplasique, NOS
Autres tumeurs astrocytaires	
I	Astrocytome pilocytique Astrocytome pilomyxoïde
I	Astrocytome subépendymaire à cellules géantes
II	Xanthoastrocytome pléomorphe
III	Xanthoastrocytome pléomorphe anaplasique
Tumeurs épendymaires	
I	Subépendymome
I	Ependymome myxopapillaire
I	Ependymome Ependymome papillaire Ependymome à cellules claires Ependymome tanacytique
II ou III	Ependymome, RELA fusion-positif
III	Ependymome anaplasique
Autres gliomes	
II	Gliome choroïde du 3 ^e ventricule
I	Gliome angiocentrique
-	Astroblastome

Tableau III: Classification OMS 2016 des tumeurs gliales (29)

- En plus de leurs caractéristiques histologiques, les gliomes diffus sont désormais différenciés en fonction de leur statut mutationnel du gène codant l'Isocitrate Déshydrogénase IDH1, et plus rarement IDH2, ainsi que la présence ou non de la codéletion 1p19q.
- La nouvelle classification introduit également une nouvelle notion: NOS (« Not Otherwise Specified »). Elle signifie que le diagnostic intégré n'est pas disponible car les tests génétiques n'ont pas pu être effectués ou n'ont pas été concluants. La tumeur peut alors nécessiter un bilan diagnostique supplémentaire.

Ainsi, le diagnostic histologique est dorénavant combiné à la biologie moléculaire permettant le **diagnostic intégré** des gliomes diffus. Les GBM sont désormais répertoriés en 3 catégories :

- Les glioblastomes IDH sauvage
- Les glioblastomes IDH mutée
- Les glioblastomes NOS

Particularités biomoléculaires retrouvées :

- **Mutation IDH :**

L'Isocitrate Déshydrogénase est une enzyme catalysant la décarboxylation de l'Isocitrate en Alpha-Cétoglutarate et a un rôle majeur dans le métabolisme et la différenciation cellulaire. La mutation de son site catalytique conduit à la surproduction d'un métabolite : le D-2-hydroxyglutarate favorisant l'oncogenèse par dérèglement du métabolisme cellulaire. Ce phénomène abouti à un phénotype d'hyper méthylation conduisant à l'inhibition des anti-oncogènes suppresseurs de tumeurs (29,30).

Dans les tumeurs gliales, la mutation R132H de l'IDH1 est la plus commune et peut s'identifier par immunohistochimie.

Il est acté que la grande majorité des astrocytomes diffus présentent des mutations de l'IDH (31).

La mutation de l'IDH n'est retrouvée que dans seulement 10% de tous les GBM confondus et serait le marqueur génétique préférentiel des GBM secondaires (95%).

Outre l'intérêt diagnostic, la connaissance du statut IDH présente également un intérêt pronostic. En effet, cette **mutation est corrélée à un pronostic plus favorable**. Les GBM IDH mutée concerneraient davantage les sujets plus jeunes (âge moyen 45 ans) et présenteraient une survie médiane deux fois supérieure aux profils IDH sauvage (32).

- **Codélétion 1p19q :**

Il s'agit d'une perte complète par translocation du bras court du chromosome 1 et du bras long du chromosome 19. Cette codélétion est caractéristique du phénotype histologique oligodendrogliale et ne se retrouve donc pas dans les astrocytomes et GBM sauf ceux présentant une **composante oligodendrogliale**. Elle se cherche par technique d'Hybridation In Situ en Fluorescence (FISH).

La perte combinée des bras entiers 1p et 19q est invariablement associée à la mutation de l'IDH (33).

Elle est également associée à un **pronostic favorable et une meilleure chimio sensibilité** notamment aux agents alkylants (34).

- **Méthylation MGMT :**

Il existe aussi des altérations d'ordre épigénétiques, marqueurs pronostics des GBM. La O⁶-méthylguanine transférase (MGMT) est une enzyme impliquée dans la réparation des cassures double brins de l'ADN (Acide désoxyribonucléique). La méthylation de son promoteur conduit à l'inactivation de l'enzyme ce qui favorise l'efficacité des chimiothérapies alkylantes comme par exemple le Témzolomide. Cette méthylation est présente dans 40% des GBM (29).

La méthylation du promoteur MGMT est un **facteur prédictif de réponse** au traitement combiné de radiochimiothérapie dans les GBM.

D'autres altérations peuvent également être recherchées et conditionnent le diagnostic et/ou le pronostic.

- **Mutation p53 :** Fréquemment retrouvé dans les astrocytomes IDH mutée, elle n'est pas associée à un facteur pronostic. 30% des GBM primaires retrouveraient la mutation p53 contre 65 à 90% des GBM secondaires (35).

- **Perte d'expression ATRX** (Alpha-Thalassemia / mental Retardation syndrome X-linked) : Sa perte d'expression, mutuellement exclusive avec la codélétion 1p19q, caractérise le phénotype astrocytaire. Ses mutations sont étroitement corrélées aux mutations p53 et IDH1/2.

- **Mutation du promoteur TERT** (Téломérase Reverse Transcriptase) : L'augmentation de l'expression de TERT conduit à un maintien anormal des télomères. Elle est retrouvée fréquemment dans les GBM IDH sauvage (69%) et les oligodendrogliomes (72%). Inversement, cette mutation est moins présente dans les astrocytomes ou GBM IDH mutée (36). Cette mutation est mutuellement exclusive de la perte d'expression d'ATRX.

- **Amplification EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor), gain 7p et perte 10q**: Le GBM IDH sauvage présente des altérations plus caractéristiques. L'association d'un gain du 7p et une perte du 10q est retrouvée dans 80% des GBM IDH sauvage. La perte du 10q serait corrélée à la perte d'expression du gène suppresseur de tumeur PTEN (Phosphatase and Tensin homolog) tandis que le gain du 7p favoriserait l'expression d'oncogènes comme EGFR ou PDGFA. Une amplification de l'EGFR se déclare dans plus de 40% des GBM IDH sauvage (37). 30 à 50% des GBM EGFR amplifié présentent une mutation de la variante III du récepteur de l'EGF (EGFRvIII) activé alors de manière constitutive et favorisant la surexpression d'une oncoprotéine tronquée activée constitutivement. Le pronostic des patients atteints de cette délétion reste controversé suivant les études (38). Concernant la mutation PTEN, elle est retrouvée dans 35% des GBM et est associée à un pronostic défavorable (39).

- **Mutation du gène H3F3A codant l'histone H3** : Présente dans les gliomes diffus notamment de l'enfant, elle est cependant plus rare dans les GBM de l'adulte (3%) et concernerait les adultes jeunes de moins de 50 ans. De plus, elle n'est retrouvée dans aucun gliome de bas grade (40).

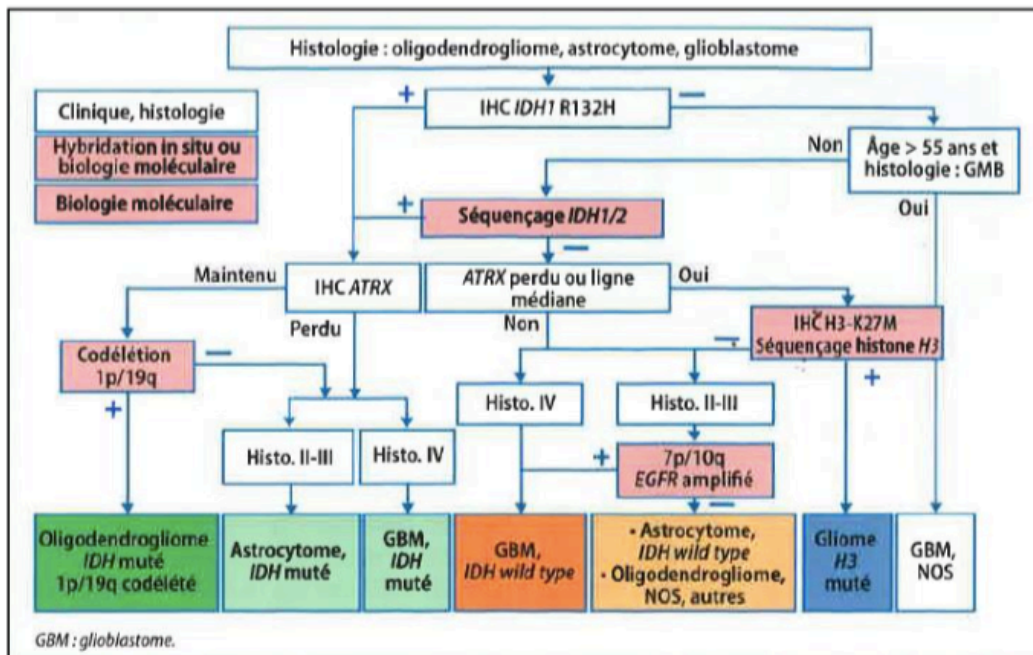


Figure 7 : Principales catégories histo-moléculaires des gliomes diffus de l'adulte

Enfin, la nouvelle classification OMS 2016 apporte deux variants supplémentaires aux GBM joints de leurs profils biomoléculaires :

- **Glioblastome épithélioïde** : Il est caractérisé notamment par une mutation du gène BRAF au niveau du codon V600E (50%)(37) ainsi qu'une mutation fréquente de pTERT (70%).
- **Glioblastome à petites cellules « pnétoïde »** : Retrouvé chez le sujet de plus jeune âge ou chez l'enfant, il est caractérisé par des petites cellules rondes au microscope et une perte des marqueurs gliaux GFAP (Protéine acide fibrillaire gliale) et OLIG2 (Oligodendrocyte transcription factor 2).

Ces deux nouveaux variants viennent se compléter à ceux de la classification de 2007 :

- **Glioblastome à cellules géantes** : Au niveau moléculaire, il est caractérisé par la présence d'une mutation PTEN, l'absence d'amplification EGFR, perte d'ATRX et p53+ (41).

- **Gliosarcome** : Au niveau génétique, le gliosarcome se rapproche d'avantage des GBM secondaires, avec une mutation de p53 retrouvée dans 23% des cas, PTEN dans 38% et plus rarement une amplification EGFR (<8%) (42).

2 Recommandations actuelles de la prise en charge des GBM

Suite aux examens cliniques et d'imageries pratiqués devant la suspicion d'une tumeur d'origine gliale, la discussion du cas ainsi que la décision de prise en charge du patient doivent s'effectuer dans le cadre d'une **réunion de concertation pluridisciplinaire** (RCP). Cette RCP réunit différents spécialistes médicaux/chirurgicaux et assure la pertinence de la prise en charge thérapeutique globale du patient concerné. Cette RCP doit réunir un neuro-oncologue, neurochirurgien, un oncologue radiothérapeute à minima et si possible un anatomopathologiste et radiologue.

2.1 Traitement de première ligne

Les patients âgés de 18 à 70 ans avec un score OMS ≤ 2 (équivalent d'un KPS > 60%) et disposant de fonctions hématologiques, hépatiques et rénales normales peuvent prétendre au standard thérapeutique actuel défini selon le **protocole de Stupp**.

Depuis 2005, ce protocole repose sur une chirurgie d'exérèse optimale de la tumeur dès lors qu'elle est envisageable, suivie d'une association radiothérapie - chimiothérapie concomitante poursuivi par du Témazolomide en adjuvant.

Le gain en survie globale a été conséquent puisque les patients ayant suivi ce protocole présentaient une survie globale médiane (OS) améliorée (OS= 14,6 mois) comparée à ceux ayant reçu la radiothérapie seule (OS = 12,1 mois) (43).

5 ans après son instauration, cette tendance a été confortée par diverses équipes de chercheurs. Ce protocole apporte une contribution majeure dans l'amélioration de la survie globale et sans progression des patients atteints d'un gliome de haut grade (44).

2.1.1 *Traitement chirurgical*

❖ **Résection tumorale**

Le traitement chirurgical demeure le pilier de la prise en charge du patient présentant un GBM et conditionne aussi bien sa survie à moyen terme que l'amélioration de son état neurologique (par diminution de l'HTIC notamment). Il est également indispensable pour l'examen anatomopathologique assurant le diagnostic de certitude.

Les recommandations actuelles préconisent une **résection chirurgicale optimale** (la plus étendue possible) tout en assurant la **préservation des fonctions neurologiques du patient**. La dégradation des fonctions cognitives du patient attribuée à l'exérèse impacterait négativement sa qualité de vie post-opératoire (45).

L'étendue de la résection tumorale ainsi que le volume tumoral résiduel prenant le contraste pourraient être des facteurs prédictifs de survie des patients (46). En effet, une résection supérieure à 90% (définie comme une résection subtotale) contribuerait à améliorer le pronostic du patient en comparaison à une exérèse partielle (<90%) quelle que soit la technique chirurgicale employée (47). Ainsi, un **seuil pronostic d'étendue de la résection** contribuant au bénéfice oncologique a été proposé mais diffère cependant selon les équipes de chercheurs. Il est par exemple de 78% pour une équipe de San Francisco (48) contre 70% pour l'équipe de *Chaichana et al* (49). Le lien entre résection et survie reste ainsi encore discutable.

Si l'exérèse totale de la tumeur gliale reste l'objectif principal, elle n'est en pratique que peu réalisable à l'échelon cellulaire compte tenu du caractère infiltrant et diffus de la tumeur. La localisation tumorale dans des régions difficilement accessibles contribue également à cette difficulté. **L'exérèse complète se définit par l'absence de prise de contraste résiduelle en IRM post opératoire dans les 48 à 72h en post chirurgie.**

La chirurgie a fait de nombreux progrès ces dernières années et la morbi-mortalité post-opératoire qui lui est associée a considérablement diminué grâce à la mise en œuvre de diverses aides techniques peropératoire. En effet, elles permettent l'optimisation de la résection chirurgicale grâce aux repérages des zones fonctionnelles à préserver minimisant ainsi les dommages collatéraux des régions voisines non tumorales.

Si l'IRM multimodale préopératoire collabore à cette visualisation, d'autres techniques se sont popularisées ces dernières années.

▪ **Techniques permettant de circonscrire les limites tumorales :**

- Neuronavigation : C'est une technique de repérage se basant sur l'IRM préopératoire transférée dans un ordinateur au bloc opératoire permettant de se guider en temps « réel » le jour de l'opération. Pouvant être comparée à un système GPS, elle permet au neurochirurgien de connaître à chaque instant la position de ses dispositifs dans les images préopératoires. Une seule étude prospective a été effectuée et ne démontre pas un véritable intérêt dans l'amélioration de l'étendue de la résection chirurgicale et ne préconise donc pas son utilisation systématique (50). En effet, au cours de l'exérèse, se crée un « shift cérébral » (déformation intra-opératoire) limitant la précision de la neuronavigation pouvant être compensée par l'utilisation concomitante de l'échographie per opératoire.
- IRM peropératoire : Certaines salles d'opérations sont équipées d'IRM permettant de guider en temps réel la résection. Elle permet de s'appuyer sur une estimation réelle du volume tumorale ainsi que sa position anatomique plus actuelle que l'image rendue par l'IRM préopératoire et s'affranchit du « shift cérébral ». Elle permet d'identifier la tumeur résiduelle post résection et sert de guide pour une éventuelle reprise chirurgicale. Une étude randomisée prospective sur 58 patients a démontré l'intérêt de cette technique dans l'accroissement du nombre de résection totale macroscopique comparée aux patients n'ayant pas eu d'IRM peropératoire (96% vs 68%)(51).
- Résection fluoroguidée par l'acide 5-aminolévulinique (5-ALA) : le 5-ALA est un précurseur de l'hème métabolisé en porphyrines fluorescentes, en particulier en protoporphyrine IX suite à une série de réactions enzymatiques. L'administration de 5-ALA va entraîner une surcharge du métabolisme de la porphyrine et une accumulation préférentielle de protoporphyrine IX dans les tissus cancéreux notamment ceux du gliome de haut grade. Après excitation en lumière bleue, la protoporphyrine IX est fluorescente (rouge violet) et photosensible permettant la visualisation du tissu

pathologique. Le 5-ALA a été approuvé par la FDA en 2017 en peropératoire chez les patients suspectés de gliome de haut grade (52). Une étude multicentrique de phase III, a montré un bénéfice de l'utilisation du 5-ALA durant la chirurgie au niveau de l'étendue de la résection (65% totalement réséqués avec le 5-ALA contre 36% à la lumière blanche) améliorant ainsi la survie sans progression (53). Cette technique semble cependant encore discutable devant certains biais de l'étude notamment avec un plus grand nombre de déficits neurologiques post-opératoire dans le groupe 5-ALA et n'est donc pas à ce jour remboursée par la sécurité sociale en France.

D'autres méthodes moins utilisées, pouvant être couplées avec les précédentes existent également comme l'échographie peropératoire, microscope opératoire, bistouri à ultrasons ou loupe binoculaire.

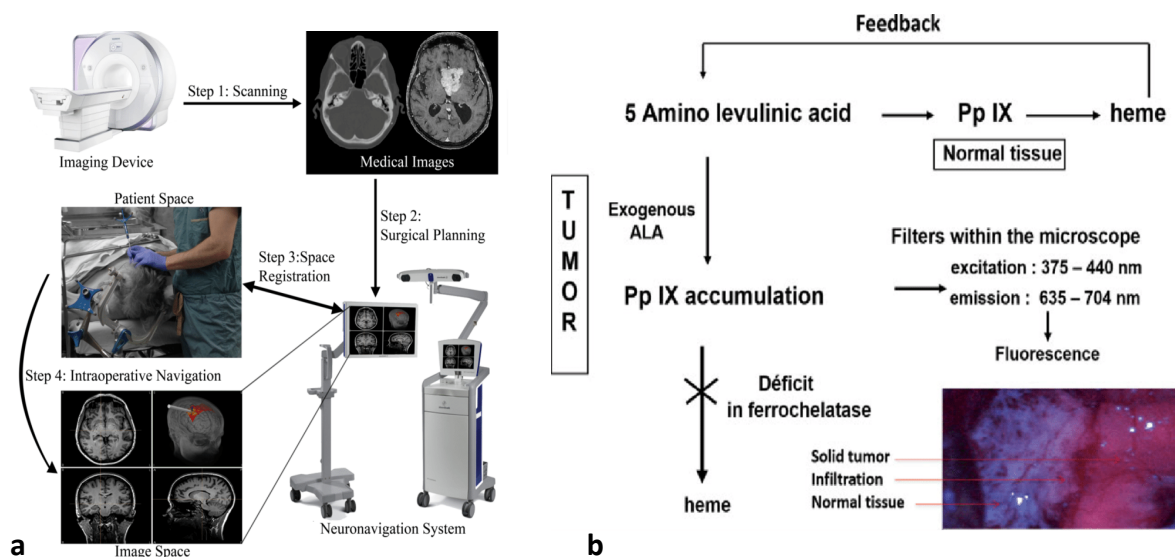


Figure 8 : Exemples de techniques d'aide chirurgicale permettant de circonscrire les limites tumorales

- a. Déroulement de la technique de neuronavigation (54)
- b. Mécanisme de fluorescence de la 5-ALA (52)

- **Techniques permettant d'identifier les zones fonctionnelles :**

- ❖ Cartographie fonctionnelle peropératoire par stimulations électriques directe : décrite comme le « gold standard » dans les gliomes de bas grade, elle pourrait être utilisée

dans les GBM situés dans les zones fonctionnelles et permettrait de diminuer le risque de séquelles neurologiques. Hormis les tumeurs situées dans les aires motrices, la cartographie est réalisée en condition éveillée. Le principe étant de faire une résection chirurgicale selon des limites fonctionnelles et non tumorales en utilisant l'électrostimulation comme une lésion virtuelle et transitoire pour tester si une région impliquée par la tumeur est encore essentielle pour la fonction (55).

Les critères d'opérabilité vont dépendre de plusieurs facteurs et s'assure de l'éligibilité du patient à la chirurgie pour tirer profit de son bénéfice attendu. Si le patient ne présente pas l'un ou plusieurs de ces critères, la résection chirurgicale ne pourra être envisagée et une simple biopsie en condition stéréotaxique devra alors être effectuée pour analyser la pièce tumorale afin d'en établir le diagnostic.

Parmi les facteurs nous retrouvons:

- L'âge du patient ainsi que son état général et clinique
- Les antécédents médicaux et chirurgicaux
- La caractéristique de la tumeur ainsi que sa localisation

❖ **Biopsie stéréotaxique :**

La biopsie doit être envisagée qu'en cas de non opérabilité de la tumeur selon les motifs suivants : déficit neurologique focaux du patient présentant un score KPS <60%, âge >70 ans, inaccessibilité de la tumeur à la chirurgie liée à sa localisation et/ou son caractère trop diffus : gliomatose, localisation bi-hémisphérique dit GBM « papillon », thalamus...

Contrairement à la chirurgie, la biopsie n'est pas un traitement curatif et ne présente donc aucun enjeu pronostic. Elle ne contribuera qu'au diagnostic tumoral de certitude par l'analyse de la pièce tumorale biopsiée. L'échantillon devra être étagée et représentatif de la tumeur (prise de contraste, nécrose et interfaces)

Elle est réalisée majoritairement en condition stéréotaxique avec ou sans cadre, sous anesthésie générale ou locale, et permet au neurochirurgien de connaître la position

tridimensionnelle de la tumeur délimitée par les images IRM explorées en préopératoire. Il va ainsi, à l'aide de fins outils chirurgicaux, prélever en plusieurs exemplaires de petits fragments de lésions cérébrales afin de les analyser.

Elle reste une technique précise et sûre pour le diagnostic des GBM. Le rendement diagnostique est d'environ 90% avec un taux de morbidité de 6% (hémorragies cérébrales++) et un taux de mortalité de l'ordre de 1% (56).

Des biopsies à ciel ouvert ou sous neuronavigation peuvent également être des alternatives.

2.1.2 Radiothérapie

Jusque dans les années 60-70, l'exérèse chirurgicale demeurait la seule stratégie de prise en charge des patients atteints de GBM et permettait une survie globale moyenne dérisoire de l'ordre de 3 à 6 mois. Cette faible survie est liée à la présence de résidu tumoral macroscopique ou à l'échelon cellulaire caractérisée par le profil infiltrant et diffus de la tumeur.

A partir des années 80, l'adjonction de la radiothérapie (RT) devient l'élément standard du traitement du GBM puisqu'elle a démontré son intérêt dans le contrôle local et la survie après l'exérèse. L'OS a connu une progression importante avec une médiane estimée à 12,1 mois (57).

La préparation, la technique, les volumes cibles, la dose d'irradiation et l'intervalle de temps entre l'exérèse et le début de la radiothérapie ont su évoluer pour devenir aujourd'hui les plus efficaces possibles.

Intervalle de temps :

L'intervalle de temps optimal entre la chirurgie et l'initiation de la radiothérapie reste encore débattu et fait l'objet de contradiction. En effet, les avis divergent selon les études. Pour *Irwin and al*, un retard de plus d'un mois dans le commencement de la radiothérapie

entraîne une réduction significative de la survie des patients (8.9% de risque de décès en plus par semaine de retard)(58). Inversement d'autres études ne semblent pas montrer d'influence ou même montre un bénéfice d'un délai d'attente supérieur (59). Inversement, un délai trop court pourrait également être préjudiciable sur la survie globale du patient.

Idéalement, il est recommandé de la débiter dans les **4 à 6 semaines suivant l'exérèse** sous réserve d'une bonne cicatrisation du scalp (60). En cas de simple biopsie, la radiothérapie pourra être débutée plus précocement dès la 2^{ème} semaine.

Quoi qu'il en soit, elle devra être précédée d'un scanner et d'une IRM de centrage au maximum 10 à 14 jours avant son initiation afin de cibler les zones à traiter et de préserver les organes non concernés.

Les volumes cibles :

Historiquement, l'irradiation totale du cerveau était effectuée. Il a par la suite été observé que la récurrence des GBM se développait majoritairement dans les 2cm du site de la tumeur originale et ne justifiait plus l'irradiation totale du cerveau, d'où la nécessité de délimiter les volumes tumoraux à irradier, limitant ainsi les effets indésirables potentiels de la radiothérapie. En effet, **dans 78 à 90% des cas, la rechute tumorale des GBM se déclare dans les 2 cm du site de la tumeur originale** (61,62).

Préparation et technique : (63)

Un scanner et IRM de recalage (centrage) en séquence T1 avec prise de contraste et T2/Flair sont préconisés dans les 10 à 14 jours précédant l'acte de radiothérapie. Ils permettent de contourer les volumes cibles ainsi que les organes sains.

Pour s'assurer du positionnement précis, un système individuel de **contention thermoformée** sera apposé au patient au cours du scanner dont les images de ce dernier seront fusionnées à l'IRM de centrage. Le scanner doit être réalisé avec une épaisseur de coupe de 1 à 3 mm. La position en décubitus dorsal avec la tête en position neutre sont les pratiques les plus acceptables et confortables pour le patient.

En partant du postulat précédent, mentionnant la haute probabilité de rechute tumorale des GBM dans les 2cm du site d'exérèse, le contour du volume tumoral à irradier repose sur l'évaluation anatomopathologique des risques d'extension macroscopique (volume tumoral macroscopique GTV) et infra clinique (volume cible anatomopathologique CTV). Il est également pris en compte les contraintes techniques de traitement (**volume cible prévisionnel PTV**), la mobilité des organes (internal margin IM) et les incertitudes de positionnement (set-up margin SM)(64).

Ainsi, il est utilisé une expansion volumétrique d'environ 2cm du GTV pour générer le CTV.

Pour délimiter le PTV, on prend le CTV auquel on ajoute 3 à 5mm pour prendre en compte les incertitudes de repositionnement du patient durant le traitement.

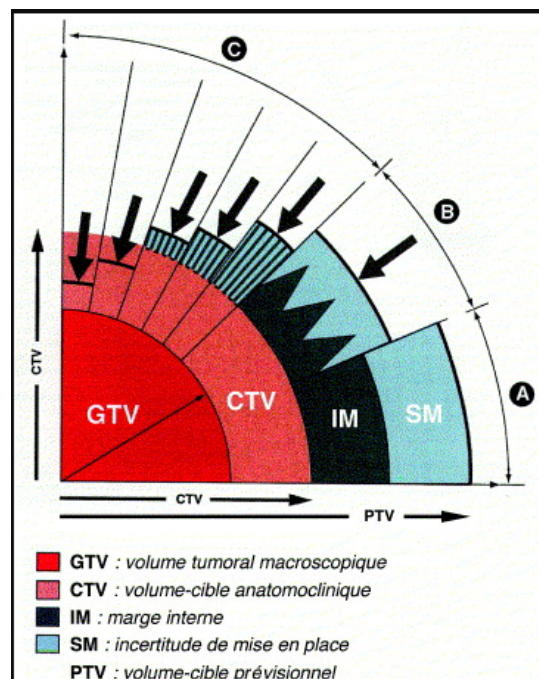


Figure 9 : Contours des volumes cibles en radiothérapie

Dose et fractionnement :

Une analyse de la relation dose-effet dans la radiothérapie du GBM a été évaluée et a conclu que les patients ayant reçu des doses de RT de 50 à 60 Gray (Gy) avaient une survie médiane plus longue que ceux ayant reçu des doses de RT postopératoires plus faibles (65).

Une dose plus élevée est associée à un risque de radionécrose supérieur et ne présente donc pas de bénéfice.

Ainsi, le protocole de Stupp préconise une irradiation focale fractionnée en fractions quotidiennes de 2Gy administrées en 5 séances par semaine pendant 6 semaines pour une **dose totale de 60 Gy** en association avec une chimiothérapie par Témzolomide quotidienne.

Les principaux effets indésirables aigus de la radiothérapie restent avant tout légers et se résolvent à l'aide de traitements symptomatiques. La fatigue, la perte d'appétit, la dermatite radique et l'alopecie étant les effets indésirables les plus fréquemment rencontrés.

En fonction de l'âge, de la dose et de la zone irradiée, des complications à long terme peuvent se manifester telles que des toxicités neurocognitives, la leuco encéphalopathie et les endocrinopathies.

2.1.3 Chimiothérapie (43)

Bien que l'amélioration des connaissances du profil moléculaire des GBM puisse conduire à une sélection des traitements systémiques utilisés, l'association concomitante d'une chimiothérapie à la radiothérapie suivie d'une chimiothérapie adjuvante décrite selon le protocole de Stupp demeure le standard de prise en charge des patients âgés de moins de 70 ans en bon état général atteints d'un GBM.

La chimiothérapie communément utilisée est le **Témzolomide**. C'est un agent alkylant pris par voie orale dont le dosage est basé sur la surface corporelle. Ce traitement a supplanté les nitroso-urées par son profil de tolérance plus avantageux et sa capacité de pénétration de la BHE équivalente. Sa prise obéit à un schéma bien spécifique :

- **Phase de radio-chimiothérapie concomitante** : Le Témzolomide est initié le jour du début de la radiothérapie. Il doit être pris à jeun (1h avant ou après un repas) et une heure avant la séance de radiothérapie pour maximiser théoriquement la synergie

d'action avec les radiations. Il sera pris par voie orale aux doses de **75 mg/m²** quotidiennement sans interruption (y compris le weekend) jusqu'au dernier jour de la radiothérapie (durée totale de 42 jours sans dépasser un maximum de 49 jours).

- **Phase adjuvante :** Elle est débutée 4 semaines après la fin de la radio-chimiothérapie suite à la réalisation d'une IRM faisant office de référence. Les patients reçoivent en monothérapie du Témzolomide en adjuvant à la dose de **150-200 mg/m² pendant 5 jours en discontinu**. Les cures sont répétées tous les 28 jours pour une durée totale de 6 cycles. Initialement débutée à 150 mg/m² le premier cycle, la posologie du Témzolomide pourra être par la suite augmentée à 200mg/m² les cures suivantes en fonctions du profil de tolérance hématologique.

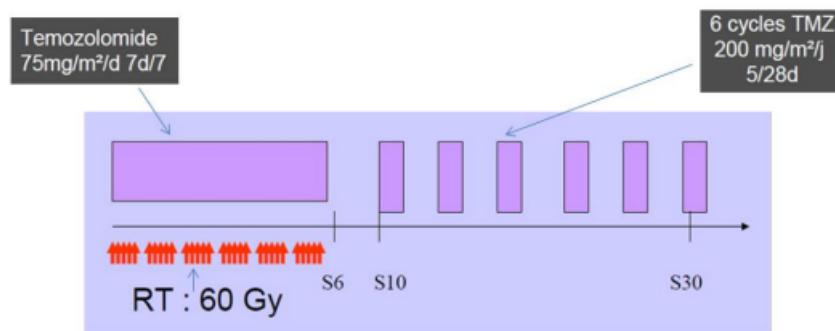


Figure 10 : Résumé du schéma STUPP

Les nausées, vomissements, troubles digestifs ainsi que les céphalées sont les effets indésirables les plus fréquents du Témzolomide. Les nausées pourront être contrôlées par l'administration d'un antiémétique antagoniste des récepteurs sérotoninergique 5-HT3 comme l'Ondansétron 8mg dans les 15 à 30 minutes avant chaque administration du Témzolomide.

Plus rarement, des infections à *Pneumocystis jirovecii*, des perturbations hématologiques et hépatiques peuvent se déclarer.

Pour prévenir ces infections, une prophylaxie par Cotrimoxazole 800mg trois fois par semaine ou 400mg une fois par jour devra être systématiquement proposée. En cas de toxicité cutanée ou de contre-indication au Bactrim®, un aérosol par mois de Pentamidine pourra être conseillé.

Une surveillance hebdomadaire de la lignée sanguine est effectuée durant la radiochimiothérapie et le traitement par Témzolomide devra être suspendu en cas de thrombopénie <100 G/L et neutropénie <1,5 G/L et sera repris à posologie adaptée par pallier de 25mg/m² (66).

En cas de neutropénie <0,5 G/L et thrombopénie <25 G/L, le traitement par Témzolomide sera définitivement arrêté.

L'ajout du Témzolomide à la radiothérapie a permis d'apporter un bénéfice dans la survie statistiquement significatif chez les patients présentant un GBM aussi bien au niveau de la survie globale qu'au niveau de la survie sans progression (SSP).

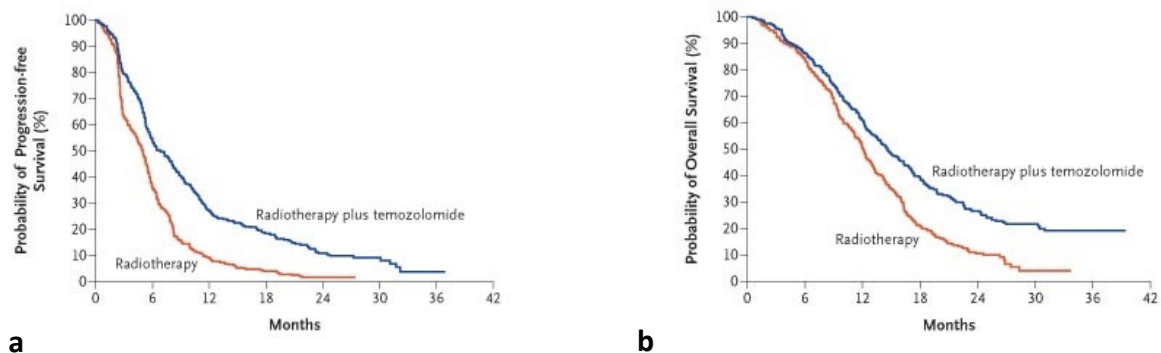


Figure 11 : Estimations de Kaplan-Meier de la survie sans progression et de la survie globale en fonction du groupe de traitement

a. La cohorte ayant reçu de la radiothérapie seule présentait une SSP médiane de 5 mois contre 6,9 mois pour le groupe radio-chimiothérapie (Hazard ratio (HR)=0,54) (intervalle de confiance de 95 %, 0,45 à 0,64 ; $P<0,001$).

b. La cohorte ayant reçu de la radiothérapie seule présentait une OS médiane de 12,1 mois contre 14,6 mois pour le groupe radio-chimiothérapie (HR= 0,63) (intervalle de confiance de 95 %, 0,52 à 0,75 ; $P<0,001$)

Comme vu dans les parties précédentes, le profil mutationnel du GBM peut dans certaines situations conditionner le pronostic du patient. Bien que les GMB IDH1/2 mutées n'aient pas encore d'implication thérapeutique dans le traitement initial, ils sont cependant associés à un pronostic plus favorable.

De même, le profil de méthylation du promoteur MGMT va être étroitement corrélé à l'efficacité de la chimiothérapie et donc à l'amélioration de la survie des patients.

- Chez les patients ≤ 70 ans **MGMT méthylé**, le protocole de Stupp associant la radio-chimiothérapie suivi du Témzolomide en adjuvant est recommandé et montre le bénéfice le plus spectaculaire.
- Chez les patients ≤ 70 ans **MGMT non méthylé**, l'efficacité de la chimiothérapie ainsi que le pronostic s'en retrouve réduits et doit encourager la participation du patient dans un essai clinique. L'efficacité de l'étude EORTC (European Organisation for Research and Treatment of Cancer) d'où découle le protocole actuel de Stupp a tout de même démontré une efficacité statistiquement significative même chez ce profil de patients.
- De même, en cas de **non connaissance du profil de méthylation MGMT** liée à l'insuffisance de tissus prélevés lors du diagnostic (notamment chez les patients ayant bénéficié d'une biopsie stéréotaxique), la prise de décision en post-opératoire doit tout de même s'orienter vers l'utilisation du Témzolomide en association à la radiothérapie, l'amélioration clinique significative de la survie étant attendue.

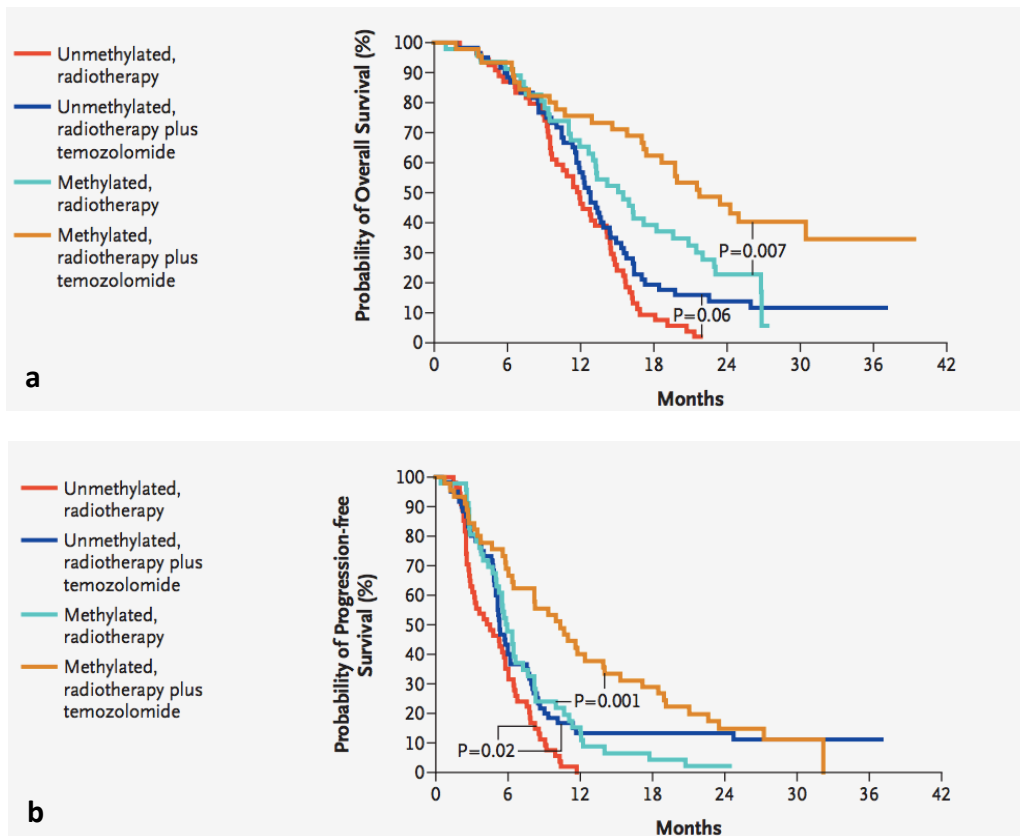


Figure 12 : Estimations de Kaplan-Meier de la survie globale et de la survie sans progression, en fonction du statut de méthylation du promoteur MGMT et de l'assignation aléatoire au Témzolomide plus radiothérapie ou à la radiothérapie seule (67)

- a. OS MGMT méthylé avec radio-chimiothérapie = 21,7mois vs 15,3 mois si radiothérapie seule*
OS MGMT non méthylé avec radio-chimiothérapie = 12,7 mois vs 11,8 mois si radiothérapie seule
- b. SSP MGMT méthylé avec radio-chimiothérapie = 10,3 mois vs 5,9 mois si radiothérapie seule*
SSP MGMT non méthylé avec radio-chimiothérapie = 5,3 mois vs 4,4 mois si radiothérapie seule

Des alternatives au traitement standard ainsi que l'apport de certaines modifications ont fait l'objet d'essais.

Par exemple, l'utilisation du Témzolomide post exérèse en situation néoadjuvante (avant la radiothérapie) n'a pas démontré de bénéfice chez les patients atteints de GBM, tandis qu'un gain en survie a été constaté chez les patients présentant un astrocytome anaplasique (68).

De même, la poursuite du Témzolomide en situation adjuvante au-delà des 6 cycles préconisés initialement n'a pas apporté de bénéfice en survie globale des patients. Une méta-analyse présentée au congrès de la société de neuro oncologie en 2015 a permis

d'infirmier cette hypothèse. Cependant en pratique, le Témzolomide peut être poursuivi au-delà de 6 mois si la réponse est favorable.

En outre, l'annexion du Bévacicumab (anticorps monoclonal qui se lie au facteur de croissance de l'endothélium vasculaire VEGF) au protocole standard de première ligne des GBM, pourtant initialement prometteur (augmentation de la SSP de 4 mois), n'a pas démontré d'intérêt dans l'amélioration de la survie globale et ne doit pas être de ce fait considéré comme un traitement systématique de première ligne du fait de sa toxicité non négligeable (69).

Cependant, grâce à ses propriétés anti-œdémateuses, il peut être envisagé comme une thérapeutique de soutien chez les patients présentant une tumeur volumineuse et non résécable pour contrôler l'effet de masse ainsi que l'œdème cérébrale survenant au décours de la radiothérapie.

Enfin, une nouvelle technologie innovante basée sur **l'administration transcutanée de champs électriques alternatifs de faible intensité** (1-3 V/cm) et de fréquence intermédiaire (100 à 300 kHz) a montré un progrès dans la survie globale et sans progression en association au Témzolomide adjuvant. Usuellement appelée les **Tumor Treating Fields** (TTF) (délivrés par le dispositif NOVO-TTF 100A), cette technologie dispose de propriétés antimitotiques agissant sur les cellules cancéreuses tout en préservant les cellules saines. Ce dispositif composé de 4 transducteurs et placé sur le scalp doit être appliqué 18 à 20h par jour.

L'essai EF-14 est marquant puisqu'il est l'un des rares à avoir montré une augmentation de la survie globale chez les patients atteints de GBM. La survie globale a été augmentée de 4,9 mois (20,9 mois avec l'association TTF-Témzolomide vs 16 mois pour le Témzolomide seul), sans pour autant augmenter significativement le taux d'évènements indésirables (70). Les effets indésirables les plus fréquemment rencontrés sont l'alopecie nécessaire pour l'application du dispositif et des réactions locales cutanées n'impactant pas la qualité de vie du patient.

Ce dispositif est désormais approuvé par la Food and Drug Administration (FDA) depuis 2015 et commercialisé par Novocure sous le nom d'Optune®.

2.1.4 *Traitement symptomatique*

- **Prise en charge de l'hypertension intracrânienne et de l'œdème péri lésionnel :**

La prescription de glucocorticoïdes doit être envisagée chez tous les patients présentant une manifestation symptomatique consécutive. En effet, ils permettent de réduire efficacement et rapidement les céphalées dues à l'HTIC ainsi que l'œdème péri-lésionnel responsable des déficits neurologiques.

La **Dexaméthasone** (voie orale ou intra veineuse) est la plus fréquemment prescrite de par ses propriétés anti-œdémateuses importantes et tout en disposant d'une activité minéralocorticoïde négligeable. Ses effets étant dose dépendante, la posologie de Dexaméthasone devra être individualisée et dépendra de la gravité des symptômes du patient.

Chez les patients présentant une symptomatologie modérée à sévère, il est consensuellement recommandé d'administrer un bolus de 10mg de Dexaméthasone par voie intraveineuse suivi de 4mg toutes les 6 h ou 8mg deux fois par jour par voie orale (ou intraveineuse si voie orale impossible). Lorsque les symptômes se seront stabilisés (le bénéfice optimal étant généralement atteint en 24 à 72h), la posologie minimale efficace sera recherchée pour limiter les complications (71).

Des posologies plus faibles pourront être administrées chez les patients présentant une symptomatologie minime et les glucocorticoïdes ne seront pas recommandés chez les patients asymptomatiques où dont les tumeurs ne sont pas associées à un œdème vasogénique.

Après la chirurgie d'exérèse, un rapide sevrage en corticoïdes est préconisé pour limiter leurs effets indésirables potentiels (infection, thrombose, myopathie, hyperglycémie...). De plus, Il a été démontré un lien de causalité entre prise de corticoïdes et réduction de la survie chez les patients atteints de gliome malin (72).

Les glucocorticoïdes doivent être évités si possible en cas de forte suspicion de lymphome, car les stéroïdes provoquent une lyse aiguë des lymphocytes et diminuent le rendement diagnostique de la biopsie.

▪ **Prise en charge de l'épilepsie :**

La crise comitiale est le symptôme initiateur et évocateur le plus couramment retrouvé chez les patients atteints d'une tumeur cérébrale. Sa fréquence dépend du type de tumeur ainsi que de sa localisation. En cas d'activité convulsive, un traitement antiépileptique (AED) sera instauré. Le **Lévétiracétam** est l'option de première ligne la plus couramment utilisée en raison de sa facilité de titration et du peu d'interactions significatives entre les médicaments (comparé aux AED de première génération). Une monothérapie sera préférée en première intention facilitant l'observance du patient.

Le profil de tolérance du Lévétiracétam est bon mais serait associé à une prévalence d'effets indésirables neuropsychiatriques (irritabilité, agitation, agressivité...) plus importante que d'autres AED notamment chez les patients atteints de GBM frontaux (73). Même s'il reste l'option de premier choix, d'autres AED comme la Lamotrigine, Prégabaline, Lacosamide ou le Topiramate peuvent être des alternatives.

En cas de crises récurrentes ou réfractaires, un ajustement posologique de l'AED initialement instauré devra être privilégié avant de songer à changer d'AED ou d'ajouter un second médicament.

D'après une étude observationnelle, le Lacosamide ajouté à n'importe quel AED initial, semble être le médicament le plus efficace pour obtenir une réduction voir une absence des crises (74).

Chez les patients sans antécédents de crise, les médicaments anticonvulsivants ne sont pas nécessaires et devront être instaurés uniquement en prophylaxie peropératoire chez ceux subissant une craniotomie.

Enfin, pour les patients présentant une période prolongée sans crise, la posologie de l'AED pourra progressivement être diminuée mais une réévaluation fréquente sera essentielle.

2.2 Suivi

Le suivi des patients traités est régulier et se fait par contrôle biologique et radiologique.

Une IRM de référence pour évaluer l'état de la maladie pourra être effectuée dans le mois suivant la fin de la radiothérapie puis tous les 2 à 4 mois durant la phase adjuvante par Témzolomide puis pendant 2 à 3 ans. La surveillance par IRM sera plus espacée par la suite mais ne devra jamais être interrompue après la première ligne de traitement.

L'évaluation de la réponse aux thérapeutiques de première ligne se fait par l'intermédiaire des **critères RANO** (Response Assessment in Neuro-Oncology) (voir tableau IV) et représente le meilleur outil pour faciliter la distinction entre la progression tumorale avérée de la « pseudo-progression (Psdp)».

En effet, l'IRM de référence montre dans 20 à 30% des cas un rehaussement de contraste accru qui finit par disparaître sans changement de traitement. Ce phénomène de Psdp s'explique par l'augmentation de la perméabilité de la vascularisation tumorale causée par l'irradiation (perturbation de la BHE) et survient généralement dans les trois mois suivant la radiothérapie (75). Cette tendance est retrouvée plus fréquemment chez les patients atteints de GBM MGMT méthylé avec une probabilité d'incidence de 91%. La connaissance de ce profil est cruciale car il existe un risque d'arrêt prématuré du traitement et d'inclusion de certains patients dans des essais cliniques pour maladie récurrente qui n'en est finalement pas vraiment une (76).

Le diagnostic de Psdp est généralement posé rétrospectivement sur la base d'une amélioration ou une stabilisation spontanée de l'imagerie dans le cadre de la poursuite de la chimiothérapie adjuvante pendant 6 mois. La progression vraie ne peut être déterminée que si la majorité du nouveau rehaussement se trouve à l'extérieur du champ d'irradiation (75).

Si l'IRM n'aide guère à distinguer les deux formes de manière fiable, la présence de symptômes avec détérioration clinique (baisse du KPS ou augmentation de la posologie en corticoïdes nécessaire) peuvent alerter sur une véritable progression, la Psdp étant plus communément asymptomatique (77).

Enfin, l'IRM multimodale bien qu'insuffisante, peut présenter certaines caractéristiques orientant vers une Psdp avec notamment un pic de lactate et une diminution du volume sanguin cérébral.

REPONSE	CRITERES CLINIQUES	CRITERES IRM
Réponse Complète (RC)	<p><u>Demande tous les critères suivants :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> * amélioration ou stabilité clinique * sevrage complet des corticoïdes (sauf posologie de substitution) 	<ul style="list-style-type: none"> * Disparition complète des lésions mesurables et non mesurables prenant le contraste (T 1 gadolinium) pendant au moins 4 semaines * Diminution ou stabilité du signal T2/FLAIR * Pas de nouvelles lésions
Réponse Partielle (RP)	<p><u>Demande tous les critères suivants :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> * amélioration ou stabilité clinique * dose stable ou diminuée des corticoïdes 	<ul style="list-style-type: none"> * Diminution de 50 % ou plus de la somme des produits des diamètres perpendiculaires des lésions prenant le contraste par rapport à l'examen de référence * Pas de nouvelles lésions mesurables ou non mesurables * Diminution ou stabilité du signal T2/FLAIR sous une dose stable ou diminuée de corticoïdes
Stabilité	<p><u>Demande tous les critères suivants :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> * absence de réponse complète, partielle ou de progression * dose stable ou diminuée des corticoïdes 	<ul style="list-style-type: none"> * Diminution ou stabilité du signal T2/FLAIR sous une dose stable ou diminuée de corticoïdes
Progression	<ul style="list-style-type: none"> * Détérioration clinique non attribuable à une autre cause que la tumeur (épilepsie, effets adverses de médicaments, complication des traitements, accident vasculaire, infection) * augmentation de la dose des corticoïdes rendue nécessaire par la détérioration clinique 	<ul style="list-style-type: none"> * Augmentation de 25 % ou plus de la somme des produits des diamètres perpendiculaires des lésions prenant le contraste par rapport à l'examen ayant mesuré les dimensions tumorales les plus faibles (soit avant le traitement, soit au moment de la meilleure réponse) * augmentation du signal T2/FLAIR non lié à une comorbidité : irradiation, démyélinisation, accident ischémique, infection, épilepsie, modifications post-opératoires, autres effets des traitements. * Toutes nouvelles lésions mesurables ou non mesurables * Absence de nouvelle évaluation IRM liée au décès ou à la détérioration clinique

Tableau IV : Critères RANO (75)

2.3 Quid de la prise en charge du GBM du sujet âgé

Le standard de prise en charge énoncé par le protocole de Stupp n'inclut que des patients âgés de 18 à 70 ans et en bon état général. Or, l'incidence des GBM augmente avec l'âge et la moitié des personnes atteintes ont plus de 64 ans (6).

Il est établi que l'âge ainsi qu'un indice de performance abaissés sont associés à un pronostic plus sombre et le manque de données d'essais cliniques relatifs à la prise en charge de ces personnes âgées favorisent l'incertitude dans la prise en charge optimale de leur pathologie.

Les comorbidités, la polymédication et la vulnérabilité des personnes âgées vont conditionnées la décision thérapeutique finale, et, devant l'hétérogénéité de cette catégorie de patients, une évaluation oncogériatrique sera recommandée.

De plus, les altérations moléculaires du GBM dispose également d'une valeur pronostique chez le sujet âgé. Chez les patients de plus de 70 ans, **la connaissance du profil de méthylation MGMT est précieuse** puisqu'elle est présente dans plus de la moitié des GBM du sujet âgé et également associée à un meilleur pronostic (78). Ce groupe de patients pourra ainsi bénéficier plus aisément de la chimiothérapie devant ce facteur de sensibilité accrue.

La recommandation de prise en charge initiale chirurgicale va être similaire à celle des sujets jeunes remplissant les critères d'opérabilité. Une chirurgie d'exérèse optimale avec préservation des fonctions neurologiques est suggérée et reste l'option permettant la meilleure survie comparée à une biopsie ou l'absence de résection (79).

Contrairement aux patients plus jeunes, La sélection du traitement faisant suite à la chirurgie sera individualisée chez le patient de plus de 70 ans et dépendra principalement de son état fonctionnel global post-opératoire ainsi que de la connaissance du profil de méthylation MGMT. 3 options pourront ainsi être discutées :

- Chimiothérapie seule
- Radiothérapie seule
- Radiochimiothérapie concomitante

Un algorithme décisionnel peut alors être proposé :

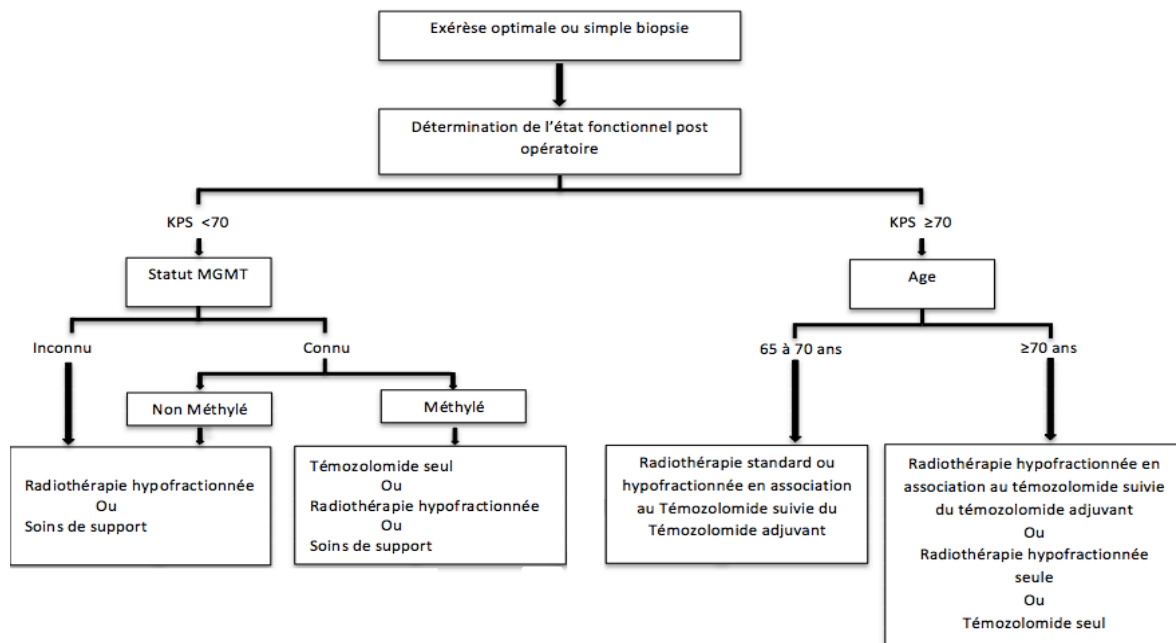


Figure 13 : Algorithme décisionnel de prise en charge du patient âgé atteint d'un GBM

La radiothérapie hypofractionnée (40 Gy en 15 fractions) est une alternative préférable à l'irradiation standard (60 Gy pendant 6 semaines) chez la personne âgée. En effet, des études ont montré un meilleur profil de tolérance associé à une survie comparable chez les patients ayant bénéficié d'une radiothérapie hypofractionnée associée au Témozolomide (12,5 mois vs 12 mois)(80).

De même, chez les patients atteints d'un GBM non méthylé, cette alternative de radiothérapie pourra être utilisée seule sans le traitement de chimiothérapie jugé non significativement efficace.

Inversement, en cas de méthylation du promoteur MGMT, le Témozolomide sera utilisé en association avec la radiothérapie hypofractionnée chez les patients ayant l'état fonctionnel apte pour recevoir ces thérapies. Sinon, en cas de comorbidité ou de KPS abaissé, le Témozolomide seul sera préféré.

2.4 Prise en charge des récurrences

La récurrence (ou progression tumorale vraie) est quasi inévitable chez les patients atteints d'un GBM. Le caractère diffus et infiltrant de la tumeur ainsi que l'acquisition de résistances à la radiothérapie et/ou à la chimiothérapie va aboutir à l'inefficacité des thérapeutiques en cours ou à une rechute conduisant à la réflexion d'une nouvelle prise en charge.

Malheureusement, il n'existe à l'heure actuelle aucun consensus validé dans la prise en charge des récurrences des GBM. L'approche sera individualisée en fonction des caractéristiques de la tumeur et de l'état fonctionnel du patient. La reprise chirurgicale et/ou la réirradiation peuvent être des possibilités si l'état du patient le permet mais tous les traitements proposés seront palliatifs, non dénués de toxicités, et les fonctions neurologiques du patient déjà perdues ne pourront être restaurées.

2.4.1 Reprise neurochirurgicale

Devant toute récurrence d'un GBM, la réflexion d'une reprise neurochirurgicale doit être envisagée au décours d'une nouvelle RCP. Cette nouvelle exérèse a démontré un intérêt dans l'amélioration de la survie chez des patients préalablement sélectionnés (81).

Il n'existe pas de consensus précis sur les critères d'éligibilités pour une réopération mais certains critères seraient plus favorables et une étude a permis de déterminer une échelle préopératoire de prédiction de la survie après opération pour GBM récurrent. Les facteurs favorables sont : KPS >70, volume tumoral <50cm³, présence de la tumeur dans une région non critique ou éloquent, absence de localisation multifocale/bilatérale, non envahissement de l'épendyme (82,83). Un long délai entre la première intervention et la récurrence est également facteur de meilleur pronostic.

Cette échelle graduée de 0 à 3, en fonction de la susceptibilité d'avoir de bons ou mauvais résultats, peut être un outil intéressant pour conseiller ou non la reprise neurochirurgicale.

De même, une nouvelle biopsie stéréotaxique peut être discutée en cas de doute sur la récurrence (nécrose due aux radiations).

2.4.2 *Place des implants de Carmustine*

L'insertion d'implants de Carmustine (GLIADEL®) dispose d'une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) en première ligne et récidive des GBM. Il s'agit de pastilles en polymère biodégradable imprégnées en nitrosourée placées dans la cavité d'exérèse tumorale à la suite de la résection totale ou subtotale de la tumeur. Cela permet une exposition locale prolongée (21 jours) avec une exposition systémique minimale. Certaines études ont montré un bénéfice dans la survie sans progression et globale aussi bien en première ligne que dans la récidive (84,85) sans augmenter par ailleurs le taux de complications post-opératoires. Cependant, leur place dans l'arsenal thérapeutique est limitée devant les difficultés de résection des GBM. De plus, ces implants créeraient des artefacts perturbant les différentes interprétations lors des analyses de l'IRM.

2.4.3 *Place de la réirradiation*

La place de la réirradiation tumorale est controversée face aux manques de données prospectives randomisées affirmant son bénéfice. La réirradiation conventionnelle telle qu'elle est pratiquée dans le GBM nouvellement diagnostiqué n'est pas recommandée. Il doit être tenu compte de la dose antérieurement administrée et du risque de toxicité pouvant lui être imputable.

Cependant, les patients présentant un KPS >70 avec un volume tumoral limité, pourraient bénéficier d'une radiothérapie fractionnée stéréotaxique. L'étude de Combs et al en 2005, a montré qu'une dose médiane de 36 Gy répartie en 5 fractions de 2 Gy par semaine (en moyenne) était bien tolérée par les patients et permettait un meilleur contrôle tumoral local (86).

2.4.4 *Traitements de 2nd ligne et plus*

Suite à la progression d'un GBM, toute nouvelle stratégie thérapeutique systémique sera palliative. Devant l'absence de standard de prise en charge, l'inclusion du patient dans des essais thérapeutiques devra être encouragée s'il est éligible.

En dehors des essais et en fonction de l'historique du patient, son état neurologique, la taille de la tumeur, l'étendue de l'œdème environnant et le profil de toxicité des molécules, le choix des thérapies sera individualisé devant l'absence de leur supériorité les unes par rapport aux autres.

Les agents les plus fréquemment utilisés sont le Bévacicumab, les nitrosourées (notamment la Lomustine) ou la reprise du Témzolomide si la récurrence se déclare après une période d'observation chez les patients MGMT méthylé. Le Témzolomide pourra être repris soit à dose standard soit sous forme métronomique dans l'optique de saturer la MGMT afin de limiter les potentielles résistances.

Le **Bévacicumab** et la **Lomustine** quant à eux, peuvent être utilisés en monothérapie ou en association. Si l'association permet d'augmenter légèrement la survie sans progression, elle ne confère cependant pas d'avantage en terme de survie globale par rapport à une monothérapie (87). En effet, quelle que soit la thérapeutique utilisée, la survie médiane est estimée à 8-9 mois.

L'**Irinotécan** est la molécule la plus couramment associée au Bévacicumab en seconde ligne. Cette association, bien tolérée dans l'ensemble, donne des taux de réponses radiographiques supérieurs à l'utilisation du Bévacicumab seul sans impacter pour autant la survie globale (88).

D'autres molécules associées au Bévacicumab peuvent être proposées et seront réservées pour les lignes ultérieures. Ainsi, la **Fotémustine** associée au Bévacicumab présente des résultats comparables à la Lomustine mais avec un profil de toxicité pouvant engendrer des discontinuités de traitement (89).

Enfin, la **Carboplatine** peut également être prescrite et favorise une amélioration des réponses et de la survie lorsqu'elle est associée au Bévacicumab (90).

Au vu des données actuelles, le Bévacicumab semble la molécule attribuant le plus haut taux de réponses objectives dans les GBM en récurrence qu'elle soit utilisée en monothérapie ou associée à une chimiothérapie. Elle n'apporte cependant pas de bénéfice sur la survie globale et du fait du manque d'études prospectives, ne devrait pas être

prescrite de manière systématique. C'est pourquoi, elle ne dispose pas d'AMM dans cette indication en France. Elle permet cependant un bon contrôle local de l'œdème et malgré la progression, le Bévacizumab est souvent maintenu dans la pratique clinique par peur d'un effet rebond à l'arrêt de la thérapie.

Seule l'association à la Lomustine a fait l'objet d'une étude prospective de phase III et pourrait être considérée comme une référence bien que des recherches complémentaires soient encore nécessaires (91).

Molécule	Dose	Fréquence
Bévacizumab	5 ou 10mg/kg	Toutes les 2 semaines
	7,5 ou 15mg/kg	Toutes les 3 semaines
Lomustine	<u>En association :</u> 90mg/m ² (max 160mg) à C1 puis 110mg/m ² (max 200mg) à C2 si bonne tolérance	Toutes les 6 semaines
	<u>En monothérapie :</u> 110mg/m ² (max 200mg)	Toutes les 6 semaines
Irinotécan	<u>En absence d'AED inducteur enzymatique :</u> 125mg/m ²	Toutes les 2 semaines
	<u>En présence d'AED inducteur enzymatique :</u> 340mg/m ²	
Fotémustine	75mg/m ²	J1 J8 puis maintenance toutes les 3 semaines
Carboplatine	AUC 5	Toutes les 4 semaines

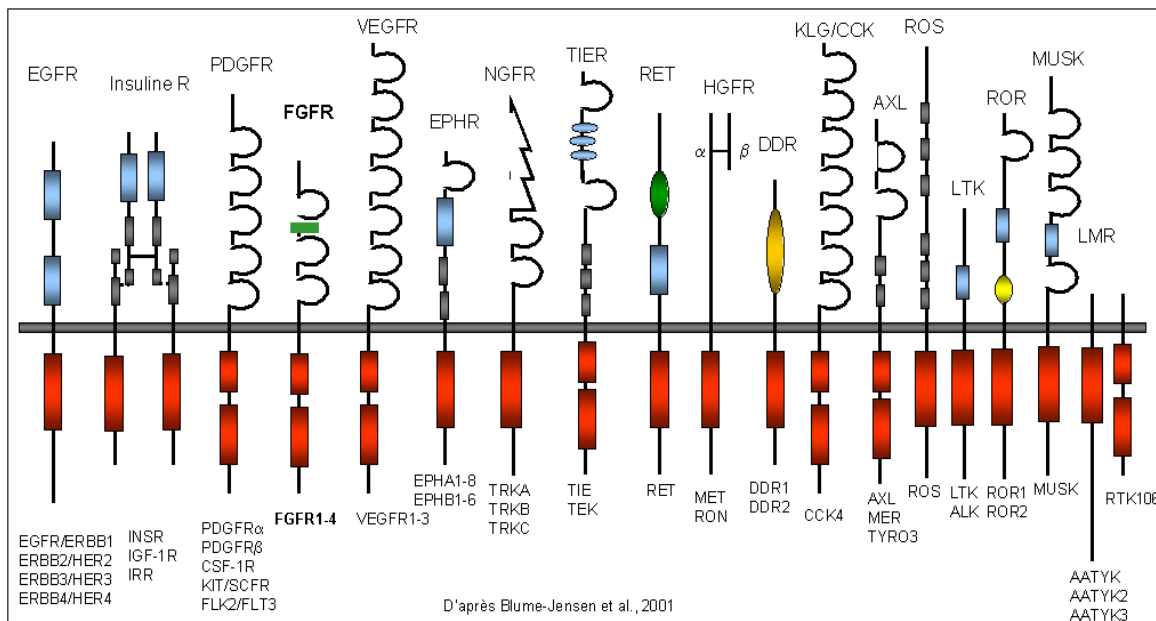
Tableau V : Résumé des différentes molécules de 2nd ligne et plus ainsi que leurs doses et leurs fréquences

Partie 2. Nouvelles stratégies de prise en charge et perspectives

1 Stratégies basées sur le ciblage thérapeutique

1.1 Récepteurs à activité tyrosine kinase

Les récepteurs à activité tyrosine kinase (RTK) représentent un groupe de molécules à la structure et aux mécanismes d'activations semblables. Pas moins de 58 récepteurs classés en 20 familles distinctes de RTK sont répertoriés et impliqués dans de nombreuses fonctions biologiques comme la croissance, la motilité, la différenciation et le métabolisme des cellules (92). Ils se caractérisent par une région extracellulaire permettant la fixation du ligand spécifique au récepteur, un domaine transmembranaire et une partie intra cytoplasmique cruciale dans l'activation et la transduction du signal cellulaire par autophosphorylation des résidus tyrosines.



PDGFR: platelet-derived growth factor receptor. **FGFR**: Fibroblast growth factor receptor. **VEGFR**: Vascular endothelial growth receptor. **EPHR**: Ephrin receptor. **NGFR**: Nerve growth factor receptor. **TIER**: Tyrosine kinase receptor in endothelial cells **RET**: Rearranged during transfection. **HGFR**: Hepatocyte growth factor receptor. **DDR**: Discoidin domain receptor. **KLG/CCK**: Colon carcinoma kinase. **AXL**: Tyro3 PTK. **ROS**: RTK exprimé dans certaines cellules épithéliales. **LTK**: Leukocyte tyrosine kinase. **ROR**: receptor orphan. **MUSK**: Muscle-specific kinase. **LMR**: Lemur

■ Domaine à activité tyrosine kinase ■ Domaine riche en cystéine ○ Domaine de type immunoglobuline ■ Boîte acide ↙ Domaine riche en leucine
 ● Domaine type EGF ● Domaine de type cadhérine ● Domaine de type dicoidine ● Domaine Kringle ■ Domaine de type fibronectine III

Figure 14 : Classification des récepteurs à activité tyrosine kinase

Un processus de régulation d'activité de ces récepteurs par modulation conformationnelle du site est présent en condition normale et permet l'activation ou l'inhibition du signal cellulaire. Cependant, dans le GBM, la signalisation de certains RTK est dérégulée et conduit à une activité tyrosine kinase augmentée ou constitutive. L'activation de ces protéines va induire la prolifération et la survie des cellules tumorales, l'angiogenèse et l'annihilation des processus naturels d'apoptose.

Cette transformation oncogénique résulte de plusieurs mécanismes : présence de mutations ponctuelles, délétions dans le récepteur, amplification génique ou réarrangements chromosomiques (93).

Face à la dérégulation de ces RTK dans le GBM, des nouvelles thérapies ciblées ou déjà utilisées dans d'autres pathologies ont naturellement fait l'objet d'essais clinique afin d'en examiner leur efficacité.

❖ EGFR :

La famille des protéines **Erb** comprend 4 types de RTK dont les cibles les plus pertinentes dans le GBM sont Erbb1 (EGFR) et Erbb2 (HER2) (Human Epidermal Growth Factor Receptor-2).

L'amplification de l'oncogène EGFR est la plus fréquemment retrouvée dans les GBM IDH sauvage (40%). Il a donc été légitime d'essayer de cibler ce récepteur ainsi que son **mutant EGFRvIII** par des thérapies spécifiques appropriées.

Il existe actuellement trois principales méthodes thérapeutiques pour cibler la suractivité de l'EGFR : les inhibiteurs de tyrosine kinase de l'EGFR (ITK), les anticorps monoclonaux anti-EGFR et les vaccins anti-EGFR. Des essais cliniques de phase I à 3 ont été réalisés aussi bien dans le traitement du GBM nouvellement diagnostiqué (GBMn) que dans le GBM récurrent (GBMr)

○ ITK anti EGFR :

Les ITK agissent au niveau intra cytoplasmique par fixation compétitive au niveau du site de liaison de l'adénosine triphosphate (ATP) bloquant ainsi l'activation des sites tyrosine kinase entraînant l'inhibition de la signalisation cellulaire en aval (94). Ce sont des

molécules présentées sous formes de comprimés ou gélules permettant la prise orale quotidienne.

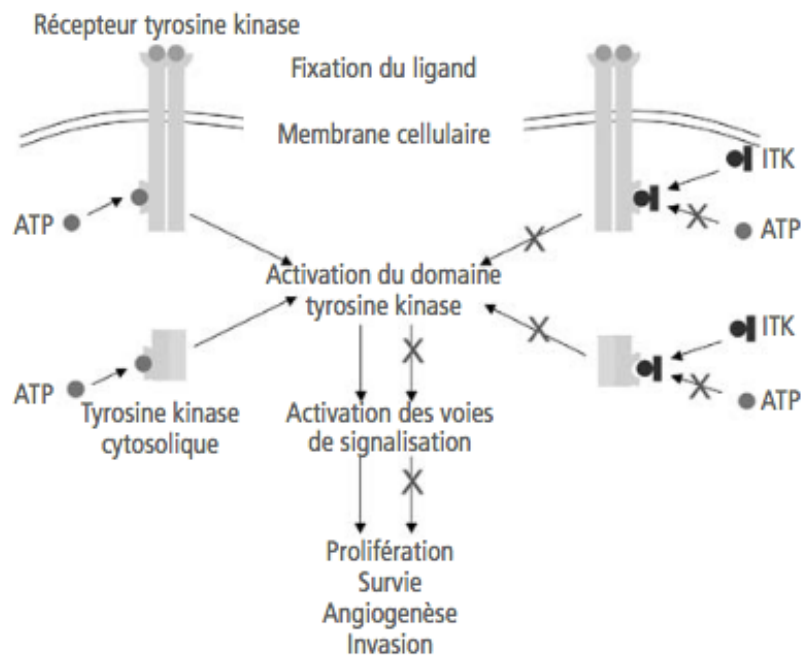


Figure 15 : Mécanisme d'action des ITK

Les premiers ITK anti EGFR étudiés dans le GBM sont **l'Erlotinib et le Géfitinib**. (ITK de 1^{ère} génération).

Plusieurs essais de phase II ont été effectués. Dans l'étude de *M.Prados et al en 2009*, l'association de l'Erlotinib au traitement standard de 1^{ère} ligne a permis de légèrement améliorer la survie globale en comparaison au groupe historique (OS 19,3 mois vs 14,1 mois). Il n'a cependant pas été déterminé de lien de causalité entre la réponse du groupe expérimental et l'amplification de l'EGFR (95). Dans l'étude de *JL.Clark et al en 2014*, l'adjonction d'Erlotinib et du Bévécizumab (permettant d'obtenir un double blocage EGFR et VEGFR) au traitement standard de première ligne a amélioré la SSP (13,5 vs 8,6 mois) sans contribuer pour autant à l'amélioration de la OS. (19,8 mois vs 18 mois)(96). De même l'Erlotinib n'a pas démontré d'activité cliniquement significative dans la prise en charge du GBMr (97).

Concernant le G fitinif, l'étude d'*Uhm et al* en 2011 a comparé son usage en adjuvant à la radiothérapie seule au groupe historique standard. Aucun bénéfice sur la survie n'a été établi (98).

Malgré le développement de la 2^{ me} génération d'ITK comme l'Afatinib ou le Dacomitinib, les résultats des essais préliminaires de phase II ne permettent toujours pas de démontrer l'intérêt de ces molécules dans la prise en charge des GMB EGFR amplifié avec ou sans la présence du mutant EGFRvIII (99,100). Avec l'avènement des 3^{ mes} générations d'ITK comme l'Osimertinib, d'autres études devront être réalisées malgré les limites d'efficacité que semblent montrer les molécules prédécesseurs de la même classe.

- o Les anticorps monoclonaux (ACM) anti EGFR :

Les ACM, contrairement aux ITK, vont cibler le domaine extracellulaire de liaison au ligand de l'EGFR empêchant les molécules de signalisation de se lier au récepteur et de propager le signal en aval. Les ACM sont administrés par perfusion intraveineuse selon une fréquence d'injections définie.

Le C tuximab, ACM chimérique IgG1 anti EGFR, est utilisé historiquement dans certains cancers colo rectaux K-RAS sauvage et dans les carcinomes  pidermo ides de la tête et du cou.

Bien que des études précliniques aient montrés la bonne affinité du C tuximab pour inhiber le mutant EGFRvIII, des études de phase II dans le GBMr n'ont pas permis de démontrer son efficacité clinique (101).

Le Nimotuzumab, autre ACM ciblant EGFR a été comparé en étude de phase III dans le GBMn en association au traitement standard de première ligne. Que cela soit sur la SSP ou la OS, aucune efficacité cliniquement significative n'a été perçue. L'amplification de l'EGFR n'a pas été corrélée à l'efficacité du Nimotuzumab (102).

- Vaccin anti EGFR :

Les vaccins anti-EGFR ont été conçus pour cibler la nouvelle séquence d'acides aminés spécifique issue de la mutation par délétion de l'EGFRvIII afin de générer une réponse immunologique contre ce variant.

Le Rindopepimut est un vaccin peptidique conjugué ciblant spécifiquement la séquence d'acides aminés du mutant EGFRvIII permettant de déclencher une réponse immunitaire anti-tumorale dirigée contre l'EGFRvIII par les lymphocytes T cytotoxiques. Il est administré une fois par mois par voie sous cutanée.

2 grandes études multicentriques « ACT » et « ReACT » respectivement mise en œuvre dans le GBMn et dans le GBMr ont tenté de mesurer l'intérêt de cette nouvelle thérapie.

L'étude internationale de phase III « ACTIV » basée sur les résultats encourageant de l'étude de phase II précédente a comparé l'efficacité de l'ajout du Rindopepimut au traitement standard de 1^{ère} ligne par Témazolomide adjuvant après radio chimiothérapie chez les patients présentant une mutation EGFRvIII. Au final, le Rindopepimut n'a pas augmenté la survie des patients atteints de GBMn (OS 20,1 mois vs 20 mois dans le groupe contrôle)(103).

De même, l'étude randomisée de phase II « ReACT » comparant l'association du Rindopepimut et Bévacicumab vs Bévacicumab seul chez les patients atteints de GBM exprimant l'EGFRvIII en rechute bien que potentiellement intéressant n'a pas à ce jour démontré de véritable intérêt clinique (104).

- Anticorps conjugué

De nouveaux médicaments comme le **Depatuximab mafodotin (ABT-414)** ont été développés.

C'est un anticorps chimérique IgG1 anti EGFR conjugué à l'inhibiteur de tubuline monométhyl auristatin F relié par un linker. Il peut cibler aussi bien l'EGFR que l'EGFRvIII dans les GBM permettant de libérer la molécule cytotoxique à l'intérieur de la cellule cancéreuse.

L'essai de phase II INTELLANCE 2 a comparé l'efficacité de l'ABT-414 seul et avec le Témzolomide par rapport au Témzolomide ou à la Lomustine dans les GBMr EGFR amplifiés. Les données ont suggéré un bénéfice clinique de l'association ABT-414/Témzolomide par rapport au bras contrôle notamment chez les patients rechutant après 16 semaines. ABT-414 n'a cependant pas montré d'intérêt en monothérapie quel que soit le statut MGMT (105).

L'essai de phase III INTELLANCE 1 rajoutant l'ABT-414 aux traitements standard de 1^{ère} ligne chez les patients EGFR amplifiés a été arrêté prématurément. L'agent expérimental n'a pas atteint les critères de survie lors de l'analyse intermédiaire et a été de plus associé à un risque non négligeable de toxicité oculaire (106).

En résumé, la revue Cochrane « Anti-epidermal growth factor receptor therapy for glioblastoma in adults » retrace par le biais de méta-analyse toutes les études ayant pour cible thérapeutique l'EGFR et conclue sur l'insuffisance de résultats pour toutes les thérapies actuelles anti EGFR (107).

L'échec clinique de ces thérapies anti EGFR pourrait s'expliquer par une résistance acquise des cellules du GBM selon plusieurs mécanismes. L'hétérogénéité intra tumorale et la perte d'expression des cellules de la protéine EGFR entraînent l'absence d'impact du ciblage de l'EGFR et l'indépendance de la cible. Un deuxième mécanisme de résistance a été décrit et concerne un système de compensation de la cible rendant indépendante la signalisation EGFR. Les voies PDGFR β , IGF1R et c-Met ainsi que certaines cibles en aval vont s'activer pour compenser la signalisation EGFR inhibée (108).

Devant ces phénomènes de résistance, la stratégie de développement de molécules multicibles est devenue majeure.

A l'exception des inhibiteurs d'EGFR, les ITK sont majoritairement multicibles. Ils vont agir sur plusieurs récepteurs avec un degré d'affinité différent selon les molécules.

Le Lapatinib est un double inhibiteur EGFR et HER2 déjà employé dans le cancer du sein HER2 positif. Dans le GBM, la molécule n'a pas apporté de bénéfice dans une étude de phase II chez les patients atteints de GBMr (109). Une étude de phase II dans le GBMn est en cours de réalisation (110).

❖ PDGFR : (Platelet-derived Growth Factor)

Le récepteur du facteur de croissance aux plaquettes est un récepteur tyrosine kinase qui, comme son homologue EGFR, se retrouve fréquemment surexprimé dans les anomalies moléculaires du GBM (15%). Il existe 2 types de PDGFR notés α et β . L'activation des récepteurs engage plusieurs voies de signalisation intracellulaires et aboutit à l'initiation du cycle cellulaire, à la synthèse de l'ADN et à la mitose (prolifération cellulaire)(94).

L'Imatinib, ITK possédant des propriétés d'inhibition du PDGFR, n'a pas montré d'activité mesurable dans les essais de phase II en monothérapie dans le GBMn et GBMr (111).

L'expression d'autres récepteurs de la famille du PDGFR à l'instar de c-KIT et FLT3 est également impliquée dans le GBM. L'implication du FLT3 dans la survenue ou la progression du GBM reste toutefois encore inconnue. Une étude de phase II associant le **Tandutinib** au Bévacicumab dans le GBMr a été réalisée. Outre ses propriétés anti FLT3, Le Tandutinib inhibe également PDGFR β et c-KIT. Son efficacité en association avec le Bévacicumab était comparable à l'administration du Bévacicumab seul avec un profil d'effets indésirables supérieur avec notamment des pathologies de la jonction neuromusculaire (112).

❖ VEGFR :

Les récepteurs du VEGF sont de 3 types : VEGFR1, VEGFR2 et VEGFR3. Ils sont impliqués dans la modulation de la vasculogénèse, l'angiogénèse ainsi que la lymphangiogénèse dans le cas du VEGFR3. Dans la pathologie cancéreuse et notamment dans le GBM, la signalisation aberrante du VEGFR2 favorise la perméabilité vasculaire responsable de l'expansion du réseau tumoral et des rechutes plus fréquentes. Les conditions hypoxiques dans lesquelles se trouve la tumeur induisent le « switch angiogénique ». La surexpression consécutive du VEGF ainsi que le remodelage vasculaire sont responsables de la surexpression du VEGFR2. Pour limiter cette prolifération cellulaire engendrée par l'angiogénèse, des molécules anti angiogéniques (anti-VEGF) se sont développées.

Actuellement, le **Bévacizumab** est l'anticorps anti-VEGF le plus communément utilisé dans le GBMr. La FDA a approuvé son utilisation depuis 2015. Bien qu'aucune étude de phase III n'ait confirmé son efficacité et que les études de phase II n'aient pas démontré un réel bénéfice clinique en terme d'amélioration de l'OS, le Bévacizumab est à l'heure actuelle la thérapie la plus exploitée en pratique courante dans le GBMr et permet un bon contrôle local de l'œdème.

D'autres anti-VEGFR, (voir Tableau VI) ont été expérimentés et seuls les résultats préliminaires de l'étude de phase II comparant l'efficacité de l'Axitinib au Bévacizumab ou Lomustine dans le GBMr a montré les prémices d'activité intéressante. L'activité de l'Axitinib encourage la réalisation d'une étude de phase III pour confirmer son intérêt dans la stratégie thérapeutique. Les autres anti-VEGFR n'ont quant à eux pas réussi à démontrer une efficacité viable dans le GBMr. Sur la base d'études précliniques suggérant une synergie d'action entre anti-VEGFR et radiothérapie, une étude de phase II s'est intéressée à l'association du Cédiranib à la radiochimiothérapie dans le GBMn et dont les résultats préliminaires sont en cours de publication (113).

Molécule	Cibles	Titre de l'essai	Résultats	Conclusion
Pazopanib	VEGFR PDGFR c-Kit	Etude de phase II évaluant l'efficacité et la sécurité du Pazopanib dans le GBM récurrent	PFS : 12 semaines OS : 35 semaines	Le Pazopanib n'améliore pas le PFS comparé aux études de Phase II du Bévacicumab
Cédiranib	VEGFR PDGFR c-Kit	Essai randomisé de phase III comparant l'efficacité du Cédiranib en monothérapie, et en association avec la Lomustine, par rapport à la Lomustine seule chez les patients atteints de GBM récurrent.	PFS Cédiranib monothérapie : 92 jours OS : 8 mois PFS Lomustine monothérapie : 82 jours OS : 9,8 mois PFS Cédiranib + Lomustine : 125 jours OS : 9,4 mois	Le Cédiranib ne prolonge pas la SSP avec le que ce soit en monothérapie ou en association avec la Lomustine par rapport à la Lomustine dans le GBM récurrent, bien que le Cédiranib ait montré des preuves d'activité clinique sur certains critères secondaires, notamment le délai de détérioration de l'état neurologique et les effets d'épargne des corticostéroïdes.
Ramucirumab	VEGFR	Etude de phase II comparant le Ramucirumab ou l'anticorps monoclonal anti-PDGFR Olaratumab dans le traitement des patients atteints de GBM récurrent.	Groupe Ramucirumab : PFS à 6 mois : 12,5% OS : 49,5 semaines Groupe Olaratumab : PFS à 6 mois 7,5% OS : 34,3 semaines	
Axitinib	VEGFR	Étude randomisée de phase II portant sur l'Axitinib par rapport au meilleur choix de traitement alternatif des médecins chez les patients atteints de GBM récurrent.	PFS à 6 mois groupe Axitinib : 34% OS : 29 semaines PFS à 6 mois groupe contrôle (Bévacicumab ou Lomustine) : 28% OS : 17 semaines	L'Axitinib disposerait d'une activité clinique intéressante chez les patients atteints de GBM récurrent.
Tivozanib	VEGFR	Étude de phase II évaluant l'efficacité du Tivozanib en monothérapie dans le GBM récurrent	PFS : 2,3 mois OS : 8,1 mois	Le Tivozanib a une activité anti VEGFR limitée en monothérapie

Tableau VI : Exemples d'études cliniques ayant examiné l'efficacité d'une thérapie anti-VEGFR autre que le Bévacicumab dans le GBM (114–118)

1.2 Angiogenèse

L'angiogenèse est un processus physiologique de production de nouveaux vaisseaux à partir de vaisseaux préexistants. Elle a un rôle primordial durant l'embryogénèse. Elle est physiologiquement contrôlée par divers facteurs activateurs ou inhibiteurs dont les deux principaux sont le VEGF et le FGF (Fibroblast Growth Factor).

L'angiogenèse tumorale est un processus complexe multi étapes aboutissant à la prolifération, la dissémination tumorale et l'augmentation de la perméabilité vasculaire par sécrétion de facteurs pro-angiogéniques par le tissu pathologique.

2 phases sont distinctes dans le processus angiogénique :

- Phase de dormance cellulaire asymptotique: Les cellules tumorales ne peuvent proliférer au-delà de 2-3 cm sans la mise en place d'un système vasculaire adéquat pour l'apport en nutriments et oxygène. Les facteurs angiogéniques sécrétés sont compensés par des systèmes inhibiteurs empêchant la prolifération massive de la cellule tumorale. Les processus apoptotiques sont supérieurs à la prolifération.
- Phase de « switch » angiogénique : L'échappement à la phase de dormance correspond à la rupture de la balance entre les facteurs angiogéniques sécrétés par la tumeur (VEGF, FGF, PDGF...) et les défenses anti-angiogéniques de la cellule hôte (thrombine 1, endostatine, angiostatine...)(119). Cette réversion vers le phénotype angiogénique est favorisée entre autre par l'hypoxie. Le facteur de transcription **HIF-1** (Hypoxia-Inducible Factor-1) joue un rôle primordial en condition hypoxique et entraîne la production de facteurs angiogéniques.

Tout ce processus conduit à l'activation des cellules endothéliales, à la dégradation de la membrane basale, à l'augmentation de la perméabilité vasculaire et à la formation de néo vaisseaux aboutissant à la croissance tumorale ainsi que sa dissémination métastatique (120).

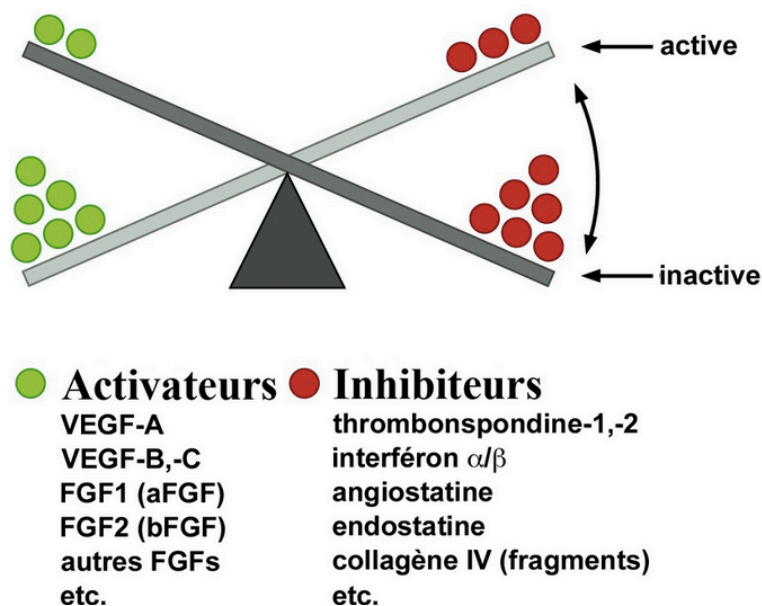


Figure 16 : Balance de différentes molécules pro-angiogéniques et antiangiogéniques régulant le « switch » angiogénique (121)

Le VEGF, facteur clé de ce phénomène et surexprimé dans les tumeurs du GBM a conduit à développer des thérapeutiques le ciblant préférentiellement. Cependant, d'autres facteurs de signalisation pouvant être dépendants de l'activation du VEGFR entretiennent ces processus d'angiogenèse. L'angiogenèse induite par le VEGF est notamment médiée par la protéine kinase C (PKC), enzyme impliquée dans la cascade de signalisation.

Les études précliniques ont montré que l'**Enzastaurine**, inhibiteur oral ciblant à la fois la PKC et la voie PI3K/AKT, permet d'induire l'apoptose et d'empêcher la prolifération cellulaire tout en inhibant l'angiogenèse. PTEN est un gène suppresseur de tumeur régulant négativement la voie de signalisation de la phosphoinositide 3-kinase (PI3K)/AKT/mTOR. Cette voie joue un rôle majeur dans la croissance, la prolifération et la survie cellulaire. La mutation de PTEN (retrouvée dans 35% des GBM) entraîne l'activation constitutive de la boucle de signalisation PI3K/AKT/mTOR. L'étude de phase III comparant l'efficacité de l'Enzastaurine à la Lomustine dans le GBM n'a pas permis de montrer de supériorité à la Lomustine (SSP 1,5 vs 1,6 mois et OS 6,6 vs 7,1 mois)(122). L'essai de phase III ENGAGE évaluant le bénéfice de l'association de l'Enzastaurine à la radiochimiothérapie de première ligne est actuellement en cours (123).

Des thérapeutiques se sont développées venant cibler d'autres molécules pro-angiogéniques. Le **Prinomastat** est un inhibiteur de métalloprotéinases ayant fait l'objet d'une étude de phase de 2 en association au Témzolomide vs Témzolomide seul dans le GBMn. Le **Trebananib** est, quant à lui, un inhibiteur de l'angiopoétine 1 et 2 dont l'efficacité a été analysée avec ou sans Bévacizumab dans le GBMr. Aucune de ces deux molécules n'ont apporté de bénéfice clinique (124,125).

Outre les facteurs de croissance angiogéniques, la cellule endothéliale dispose également de récepteurs aux intégrines intervenant dans l'adhésion cellulaire. L'activation de ces intégrines va déclencher l'activation de nombreuses voies de signalisation intracellulaires participant à l'angiogenèse. Parmi le plus influent et le plus abondant sur la cellule endothéliale, le récepteur intégrine $\alpha\beta3$ présente une relation synergique avec le VEGFR-2 (126).

Le **Cilengitide** est un inhibiteur sélectif des intégrines $\alpha\beta3$ et $\alpha\beta5$. L'étude de phase III CENTRIC coordonnée par le Pr Stupp a analysé l'association du Cilengitide au traitement

standard de 1^{ère} ligne des patients atteints de GBM basé sur des études préliminaires ayant rapporté une activité anti-tumorale de la molécule chez les patients MGMT méthylé. Aucune amélioration n'a été constatée par cet ajout (127).

L'antigène membranaire spécifique de la prostate (PSMA) est une peptidase transmembranaire située sur les cellules endothéliales disposant de propriétés enzymatiques et dont la dérégulation dans le GBM a été mise en évidence et corrélée au phénomène d'angiogénèse. Une étude de phase II a évalué un anticorps conjugué au cytotoxique monométhyl auristatin E (PSMA-ADC) dans le GBM après première ligne par Bévacicumab. Aucune conclusion d'efficacité notable n'a été mise en évidence. Cet échec pourrait s'expliquer par une faible expression de PSMA dans le GBM (128).

❖ **MET** (mesenchymal-epithelial transition factor)

MET est un récepteur membranaire à activité tyrosine kinase dont le ligand est le facteur de croissance hépatocytaire (HGF ou c-MET). Disposant d'un rôle dans l'homéostasie cellulaire notamment aux niveaux des organes épithéliaux et cellules endothéliales, la surexpression de HGF ou l'amplification de MET peuvent être retrouvées dans les GBM (4% d'amplification mais exprimé en pourcentage élevé). Elles vont induire la survie, la motilité cellulaire, l'angiogénèse et peuvent peser dans la résistance et la récurrence du GBM.

En effet, MET joue un rôle dans le microenvironnement tumoral nécessaire au maintien des propriétés des cellules souches de GBM.

Les rayonnements utilisés durant les séances de radiothérapie induisent une régulation transcriptionnelle positive de MET pouvant entraîner sa surexpression. Son activation indépendamment du ligand confère une protection des cellules tumorales contre l'apoptose radio-induite. L'utilisation d'ITK anti MET permettrait ainsi de lever ce verrou protecteur et de radio sensibiliser ces cellules tumorales.

De même, les résultats de certaines études tendent à prédire l'impact qu'à MET dans la résistance au Bévacicumab par reformation de vaisseaux sanguins. La réduction de l'afflux sanguin engendrée par l'anti VEGF conduit à une diminution de la concentration intracellulaire en oxygène et à une régulation transcriptionnelle de MET. La réversion de la

résistance au Bévacicumab par l'inhibition de MET serait donc également une piste intéressante (129).

Des stratégies thérapeutiques basées sur l'utilisation de molécules (anticorps ou ITK) disposant de propriétés inhibitrices ciblant HGF ou MET ont fait l'objet d'essais précliniques et cliniques ces dernières années. Cependant aucune étude de phase III n'a été menée à ce jour.

Le **Crizotinib** et le **Cabozantinib** sont deux ITK disposant entre autres de propriétés anti MET. Si le Crizotinib n'a bénéficié que d'un essai de phase I dans le GBM, le Cabozantinib a été étudié lors d'essais de phase II dans le GBMr naïf et après traitement anti-angiogénique. Dans ces deux essais, le Cabozantinib n'a présenté qu'une activité très modeste (130,131).

Le **Rilotumumab** et l'**Onartuzumab** sont deux ACM respectivement anti HGF et anti MET développés dans le GBMr en association au Bévacicumab. Des études de phase II n'ont pas permis de démontrer de bénéfice clinique pour ces deux molécules en association au Bévacicumab comparé au Bévacicumab en monothérapie (132,133).

1.3 Voies de signalisation

❖ Voie PI3K/AKT/ mTOR

La voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR est l'une des principales voies altérées dans le GBM (88% avec la voie MAPK) et associée à un pronostic défavorable. C'est une voie pivot contrôlant plusieurs effecteurs oncogéniques en aval impliqués dans la survie cellulaire, la prolifération, la traduction des protéines et la motilité. La perte de fonction de PTEN ainsi que la dérégulation de la signalisation en amont de certains RTK (notamment EGFR) conduisent à l'affectation de la voie PI3K et son activation continue. L'échec des thérapies anti EGFR pouvant être en partie dû à l'activation de cette voie et en devient donc une cible intéressante dans le traitement des tumeurs cérébrales (134).

Des inhibiteurs de PI3K ont été testés dans de nombreux essais cliniques en monothérapie ou en association. Récemment le **Buparlisib** (BK 120) a été analysé en monothérapie dans le GBMr chez les patients présentant une altération de la voie PI3K/AKT/mTOR et le résultat ne montre qu'une très faible action de cette molécule. D'autres études sont en cours en évaluant l'association à la radiothérapie dans le GBMn ou en association au Bévacicumab dans le GBMr (135).

Le **Sonolisib** (PX-866) en phase II dans le GBMr a montré une faible efficacité tandis que les résultats intermédiaires de la phase II examinant l'efficacité du **Paxalisib** dans le GBMn semblent encourageants (136,137).

AKT joue un rôle dans la prolifération et la radiorésistance. L'étude de phase II étudiant la **Pérfosine**, inhibiteur oral de l'AKT, en monothérapie dans le GBMr n'a pas montré d'efficacité (138).

mTOR (Mammalian Target Of Rapamycin) jouant un rôle dans la croissance et la synthèse protéique des cellules cancéreuses, son inhibition est également une approche pharmacologique intéressante pour contrecarrer l'activation constitutive de PI3K et AKT. mTOR est constitué de 2 complexes à activités fonctionnelles distinctes mTORC1 et mTORC2 définis par leurs sous unités spécifiques et leur processus de régulation. Les principaux inhibiteurs de mTOR développés sont spécifiques du complexe mTORC1 : **l'Everolimus, le Temsirolimus, le Sirolimus et le Ridaforolimus**. Aucun résultat prometteur n'a été trouvé par l'utilisation de ces thérapies dans le GBM.

Actuellement, des recherches se concentrent sur la combinaison d'inhibiteurs de mTOR avec d'autres thérapies ciblant soit l'AKT (la Pérfosine), l'EGFR (l'Erlotinib) ou le VEGFR (le Bévacicumab).

L'inhibition de mTORC1 empêche le rétrocontrôle négatif de l'activation de PI3K et illustrerait en partie la faible activité de ces molécules. Ainsi des médicaments ciblant simultanément PI3K et mTOR sont en cours d'études (134).

Enfin, le ciblage préférentiel de mTORC2 permettrait de bloquer directement la phosphorylation de l'AKT et pourrait s'avérer être une stratégie plus efficace.

❖ Voie de signalisation RAS/MAPK (mitogen-activated protein kinase)

Tout comme la voie PI3K/AKT/mTOR, MAPK (RAS/RAF/ERK) est une seconde voie de signalisation intracellulaire fréquemment retrouvée anormalement activée dans le GBM. Ses mécanismes d'activation résultent de l'altération de RTK (EGFR notamment) ou de la survenue de mutations somatiques des gènes codant pour la protéine RAS ou RAF. Ces deux voies sont en interconnexion l'une et l'autre. En effet des mutations au niveau des proto-oncogènes codant le gène RAS peuvent également être responsables de l'activation de la voie PI3K. NF1 est un gène suppresseur de tumeur régulant négativement en condition normale l'activation de RAS.

Dans la boucle de signalisation, la famille du proto-oncogène RAS composé de 3 isoformes génétiques (RAS, NRAS et KRAS) est une GTPase jouant le rôle « d'interrupteur » dans la signalisation cellulaire. Son activation engendre la phosphorylation de la cascade de signalisation impliquant chronologiquement RAF (dont BRAF), MEK puis ERK (Extracellulair-signal-Regulated Kinase). Une fois transloquée dans le noyau, ERK active des gènes codant pour des facteurs de transcriptions (dont c-MYC) qui à leur tour stimuleront l'expression notamment de la cycline D1 et CDK4/6 (Cyclin-Dependent Kinase 4/6) ayant un rôle dans le cycle cellulaire (139).

Cibler différentes protéines de cette voie pourrait donc s'avérer être une stratégie intéressante dans le GBM.

<u>Molécules</u>	<u>Cibles</u>
Sorafenib	RAF, VEGFR, c-KIT...
Ralimetinib	MAPK kinase
Diazepinomicin	RAS
Dabrafénib et Tramétinib	BRAF et MEK
Binimétinib et Encorafénib	MEK et BRAF

Tableau VII : Exemples de molécules ciblant la voie RAS/MAPK utilisées dans le GBM

Les différentes études de phase II ayant utilisé le **Sorafénib** en association n'ont pas permis de démontrer une efficacité clinique concrète de la molécule que cela soit dans le GBMn ou le GBMr de même que le **Diazepinomicin** utilisé dans le GBMr en monothérapie. L'association du **Dabrafénib/Tramétinib** ou **Binimétinib/Encorafénib** est en cours d'étude dans les GBM présentant une mutation BRAFV600E notamment retrouvée dans les GBM épithélioïde. Enfin, les résultats de l'utilisation du **Ralimétinib** en association au protocole de Stupp n'ont pas encore été publiés (140).

❖ Voie du contrôle du cycle cellulaire

L'une des principales voies du point de contrôle du cycle cellulaire fait intervenir les protéines p16, la kinase cycline dépendante (CDK)-4, cycline D et pRB (protéine du rétinoblastome). Comme vu précédemment, l'altération de la voie RAS/MAPK promeut l'augmentation de l'expression de la Cycline D et CDK 4/6. pRB est un suppresseur de tumeur jouant un rôle majeur dans l'inhibition de la progression du cycle cellulaire. En phase G1, pRB est hypophosphorylée et couplée à son facteur de transcription E2F réprimant son activité. La phosphorylation de pRB par Cycline D/CDK4/6 va libérer E2F et induire la transcription d'autres cyclines engendrant la transcription de l'ARN (Acide ribonucléique) messenger des gènes essentiels au passage de la phase G1 à S. Des protéines vont réguler la progression du cycle cellulaire. Les protéines p16INK4A et p15INK4B sont codées par les gènes suppresseurs de tumeurs CDKN2A (Kinase cycline-dépendante) et CDKN2B permettant de réguler négativement l'activité des CDK4/6. Des altérations génétiques dans les protéines CDK4/6 et RB1 seraient impliquées dans plus de 78% des GBM. L'amplification des CDK4/6 et la perte d'expression de CDKN2A et CDKN2B étant les aberrations les plus fréquemment retrouvées dans le GBM de novo. Ainsi une stratégie thérapeutique reposant sur l'inhibition des CDK4/6 pourrait s'avérer intéressante chez les patients atteints de GBM uniquement chez ceux présentant une expression aberrante de pRB. En effet, la perte d'expression de pRB retrouvée dans environ 11% des GBM sera un marqueur de résistance au traitement par inhibiteur CDK4/6 (141).

Deux molécules déjà utilisées dans le cancer du sein hormonodépendant ont été étudiées dans le GBM. Une étude de phase II utilisant le **Palbociclib** chez des patients adultes atteints de GBM RB1-positif a été menée mais n'a pas démontré d'efficacité (142). L'essai INSIGHT de phase II a comparé l'efficacité de l'**Abémaciclib** en adjuvant après radiochimiothérapie standard vs le protocole de Stupp dans le traitement de 1^{ère} ligne du GBM MGMT non méthylé. L'Abémaciclib a prolongé le PFS (6,54 mois vs 5,88 mois) mais n'a pas permis d'amélioration de l'OS par rapport au protocole standard de Stupp (143).

❖ Voie de signalisation P53/MDM2/CDKN2A

TP53 est un gène codant la protéine p53 ayant un rôle central dans l'homéostasie cellulaire. Face aux signaux de stress elle permet par le biais d'activations de gènes, l'arrêt du cycle cellulaire, la sénescence et l'apoptose des cellules endommagées pour éviter leur propagation. Elle active entre autre la p21 (inhibiteur de CDK) permettant l'inhibition des CDK4/6 et donc l'arrêt du cycle cellulaire. L'activité transcriptionnelle de la p53 est rétrocontrôlée négativement par une ubiquitine ligase « murine double minute 2 » (MDM2). 30% des GBM primaires retrouveraient une mutation TP53 contre 65 à 90% des GBM secondaires. L'altération de la fonction de TP53 peut résulter non seulement de mutation mais également d'une amplification MDM2 ou une délétion CDKN2A. Au total 87 % des GBM pourraient présenter une altération de cette voie de signalisation (35).

Afin de limiter la résistance au Témzolomide, un nanocomplexe ciblant la p53 a été développé (**SGT-53**). C'est une thérapie composée du gène sauvage p53 encapsulé dans un liposome. Des essais pré cliniques ont permis de montrer une activité pour limiter la chimiorésistance du Témzolomide. Une étude de phase II a été effectuée dont les résultats ne sont pas encore publiés (144).

Une autre stratégie consiste à administrer un inhibiteur MDM2 comme l'**Idasanutlin** permettant la réactivation de la p53 chez les patients ne présentant pas de mutation p53. Des essais dans la leucémie aigüe myéloïde ont montré une efficacité et des essais de phase I et II sont en cours dans le GBM (145).

- Voie de signalisation Notch

La voie Notch est une cascade de signalisation impliquée dans l'homéostasie tissulaire ainsi que dans de nombreux mécanismes cellulaires dont le contrôle, la différenciation, le choix d'un destin cellulaire ainsi que le maintien des cellules souches. La voie de signalisation Notch s'étend sur 2 cellules adjacentes permettant une communication et la régulation du développement cellulaire.

Elle se compose principalement de 3 parties :

- 4 récepteurs Notch différents (1-4)
- 5 ligands Notch (Delta-like 1, 3, 4 et Jagged 1,2)
- Molécule effectrice CSL protéine de liaison à l'ADN.

La fixation d'un des ligands au récepteur Notch de la cellule voisine (configuration trans) va entraîner le clivage et la libération du domaine intracellulaire de Notch (NICD). En gagnant le noyau, il régule ainsi les complexes transcriptionnels contenant la protéine nucléaire de liaison à l'ADN (CSL) interagissant elle-même avec de nombreuses protéines construisant des complexes répresseurs ou activateurs. A contrario la cascade de signalisation est inhibée lorsque le ligand et récepteur sont présents sur une même cellule (configuration cis).

Une mutation de la voie Notch contribue au développement de tumeurs cérébrales. Il a été mis en évidence une activité accrue de Notch dans les cellules souches de GBM annihilant la différenciation et maintenant leurs propriétés associées à un phénotype agressif. La tumorigénèse ainsi que la résistance aux thérapeutiques en sont les conséquences.

La signalisation Notch induit également l'expression de voies AKT, NF- κ B et ERK et serait impliquée dans la résistance aux agents anti VEGFR. Enfin, l'infection par le cytomégalovirus induit à la hausse l'expression de Notch1 (146).

Les γ -secrétases sont responsables du clivage du NICD et l'activation de la voie Notch. De nouvelles stratégies thérapeutiques basées sur l'inhibition de ces γ -secrétases se sont développées. Dans le GBM une étude de phase II a étudié l'efficacité de la molécule orale **ROO4929097** dans le GBM mais s'est montrée infructueuse (147). D'autres molécules sont actuellement en phase de développement préclinique.

- Voie JAK/STAT-3

La voie Janus Kinase/STAT (Signal Transducers and Activators of Transcription) est un réseau de protéines kinases et de facteurs de transcription ayant le rôle de médiateur. Elle relaie les informations de la membrane jusqu'au noyau cellulaire lors de l'activation des récepteurs aux cytokines (ex : Interleukine 6) et facteurs de croissance (ex : EGF).

Parmi les protéines STAT, **STAT-3** joue un rôle majeur dans le développement des cellules souches neurales et des astrocytes.

Elle présenterait une dualité fonctionnelle, suppresseur de tumeur ou oncogène selon le profil mutationnel du GBM. En effet, des études ont montré que STAT-3 était suppresseur de tumeur dans les cellules de GBM présentant une délétion PTEN tandis qu'elle devenait oncogène dans les cellules présentant une mutation EGFRvIII. Cette mutation active STAT-3 et la fait passer de protéine suppressive de tumeur à oncogène. STAT-3 est impliquée dans des processus tels que l'hypoxie, l'angiogenèse, l'immunosuppression et dans l'influence du microenvironnement tumoral du GBM. Il a également été annoncé son implication dans la résistance à la radiochimiothérapie et au Bévacicumab (148,149).

La **Napabucasine** est une molécule bloquant l'activité des cellules souches de GBM en ciblant STAT-3. Une étude de phase Ib/II a étudié l'association de cette molécule avec le Témzolomide dans le GBM. Des effets anti-tumoraux ont été observés encourageant des études de phase III approfondies (150).

- NF-KB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) :

NF-KB est une famille de facteurs de transcription cytoplasmiques intervenant dans les processus de réponses immunitaires et inflammatoires. En condition normale NF-KB est inactive et séquestrée par les protéines inhibitrices (IKB α) (nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor α) empêchant NF-KB de se lier à l'ADN. Suite à divers stimuli, IKB est phosphorylée par un complexe kinase entraînant sa dégradation par le protéasome. Tout cela libérant NF-KB pouvant ainsi se déplacer dans le noyau et se fixer à l'ADN.

Dans le GBM est constaté une activation constitutive de NF-KB. Le **TNF- α** (Facteur de nécrose tumorale), molécule pro-inflammatoire, étant l'activateur le plus puissant du NF-KB. Certains facteurs de croissance et voies de signalisation altérés dans le GBM peuvent également participer à l'activation du NF-KB et contribuer à la progression, à la résistance à la radiothérapie et chimiothérapie liées à un pronostic défavorable. La signalisation NF-KB a également été mise en évidence dans les cellules souches et est interconnectée avec STAT-3. NF-KB étant au cœur des divers processus de gliomatogénèse. Elle en est devenue une cible potentiellement intéressante dans le traitement du GBM.

Plusieurs stratégies visant à bloquer cette voie se sont développées devant le manque actuel de molécules spécifiques. L'utilisation **d'inhibiteur du protéasome** visant à bloquer la dégradation de l'IKB α , des molécules **inhibant le TNF- α** ou des **inhibiteurs IKK** sont actuellement en cours d'études précliniques et cliniques (148,151).

Molécule	Cible	Titre de l'essai	Résultats
Marizomib	Protéasome	Essai de phase III du Marizomib en association avec une radio-chimiothérapie à base de Témazolomide par rapport à une radio-chimiothérapie à base de Témazolomide seule chez des patients atteints de GBMn.	L'ajout de Marizomib à la radio-chimiothérapie standard n'a pas amélioré la OS ou la SSP chez les patients atteints de GBMn.
		Essais de phase I/II comparant le Marizomib seul ou en association avec le Bévacicumab chez les patients atteints de GBMr	L'efficacité préliminaire n'a pas démontré un avantage significatif de l'ajout du Marizomib au Bévacicumab pour le traitement des GBMr
Bortézomib	Protéasome	Etude de phase Ib/II associant le Bortézomib au Témazolomide dans le traitement du GBMr avec promoteur MGMT non méthylé	L'association est sûre et faisable et peut présenter une nouvelle option thérapeutique
		Etude de phase II évaluant l'association du Bortézomib au Témazolomide et la radiothérapie régionale dans le traitement du GBMn	Les taux de SSP et OS sont apparus prometteurs avec un bénéfice plus important chez les patients avec promoteur MGMT méthylé

Tableau VIII : Exemple d'essai évaluant l'efficacité d'un inhibiteur du protéasome dans le traitement du GBM

Le **Thalidomide** dispose de propriété anti TNF- α . Tous les essais menés à l'heure actuelle n'ont pas permis de démontrer d'intérêt quant à son utilisation dans le GBM.

BAY11-7082 est un inhibiteur NF-KB en cours d'analyse préclinique en association au Témzolomide (152).

- Voie Sonic Hedgehog

La voie Hedgehog est impliquée dans l'embryogénèse, la prolifération, la différenciation cellulaire, l'organogénèse ainsi que dans le maintien et la réparation des tissus chez l'adulte. En condition physiologique, la signalisation Hedgehog est initiée par la liaison d'un de ses trois ligands : Sonic Hedgehog, Indian Hedgehog et Desert Hedgehog au récepteur Patched. Sonic Hedgehog dispose d'un rôle marqué dans la spécification des types cellulaires du système nerveux. En réponse à cette liaison, **l'inhibition de Smoothed (SMO)** (parent éloigné des récepteurs couplés aux protéines G) est levée. Elle s'accumule et initie la cascade de signalisation en aval conduisant in fine à l'activation du facteur de transcription Gli (Glioma Associated Oncogène Homolog). Une fois activé, Gli est transloqué dans le noyau et engendre l'activation de gènes cibles.

L'activation aberrante de cette signalisation Hedgehog est corrélée au développement de tumeurs cérébrales et associées dans le GBM à la résistance à la radiothérapie et à la chimiothérapie. La résistance au Témzolomide pourrait s'expliquer par le lien entre l'expression de MGMT et le facteur de transcription Gli1. En effet, la surexpression de Gli1 dans le GBM conduit à l'augmentation de l'activité du promoteur MGMT facilitant la réparation de l'ADN chimio-induite.

Dans le GBM, la voie Sonic Hedgehog peut interagir avec d'autres composants de signalisation tels que EGFR, WNT et TGF β , et affecte la prolifération et l'auto-renouvellement des cellules souches tumorales (153).

SMO et Gli sont les deux effecteurs principaux de cette voie et ont conduit à développer des molécules les ciblant.

L'inhibition de SMO est réalisable par 3 inhibiteurs principaux : **Vismodegib, Sonidegib et Glasdegib**.

Le Vismodegib fait actuellement l'objet d'essais clinique de phase II dans le GBM_r et phase I/II dans le GBM_n avec promoteur MGMT non méthylé. De même, le Glasdegib fait l'objet d'une étude de phase Ib/II en association au Témzolomide dans le GBM_n.

Gli1 peut être inhibé par la **Cyclopamine**. C'est un alcaloïde stéroïdien naturel initialement utilisé comme agent topique dans le carcinome basocellulaire. Aucun essai clinique n'a pour le moment évalué cette molécule dans le GBM.

- Voie WNT

La signalisation WNT a un rôle dans l'autorenouvellement et le développement du SNC, notamment des cellules souches neurales. C'est un régulateur de l'interaction entre cellules, la décision du destin cellulaire et la migration. La protéine WNT se lie au récepteur Frizzled (FZD) à la surface cellulaire.

Le signal est transmis à la β -caténine qui, lorsqu'elle n'est pas phosphorylée par GSK3 β , est transportée dans le noyau et entraîne l'activation transcriptionnelle de gènes cibles de la signalisation WNT comme c-Myc ou la cycline D.

Il a été démontré une activité aberrante dans le GBM avec pour conséquence la croissance et l'invasion de la tumeur par le maintien des propriétés des cellules souches contribuant à la résistance au traitement de radiothérapie et chimiothérapie. Une étude a montré que la protéine PLAG2 pouvait se retrouver amplifiée dans le GBM régulant à la hausse la signalisation WNT. Cette protéine semble donc importante dans la capacité d'autorenouvellement des cellules de GBM et dans le maintien des propriétés des cellules souches (154).

La voie WNT devient une nouvelle cible avec pour enjeu principal **l'inhibition de la β -caténine ou de GSK3 β** . Une étude de phase II évaluant le **Célécoxib** (Anti inflammatoire non stéroïdien qui inhibe la β -caténine) en association au Témzolomide dans le GBM n'a pas apporté de bénéfice sur la survie (155).

De nouvelles molécules inhibitrices de GSK3 β sont en cours d'études pré cliniques mais n'ont pas encore été testées in vivo.

1.4 Mécanisme épigénétique

Les altérations génétiques telles que les délétions, amplifications ou mutations décrites dans le cancer ne sont pas les seules responsables de son développement. En effet, des modifications d'ordre épigénétique sont également impliquées dans le développement et la progression néoplasique. L'épigénétique correspond à la modification de l'expression des gènes sans modifier la séquence primaire d'ADN. Ce phénomène est transmissible au cours des divisions cellulaires et réversible. Elle agit via 3 mécanismes : **méthylation de l'ADN, modifications post-traductionnelles des histones et présence d'ARN non codant (dont les micro ARN).**

Dans le GBM, la méthylation du promoteur MGMT est le phénomène épigénétique le plus décrit.

Cependant, l'acétylation des histones a une responsabilité dans le remodelage et le degré de compaction de la chromatine influençant la régulation de la transcription des gènes. Le processus d'acétylation résulte de l'équilibre entre l'activité de l'histone acétyltransférase et celle de l'histone déacétylase (HDAC). L'acétylation est associée à un état décondensé de la chromatine et favorise l'expression des gènes tandis que la déacétylation réprime l'expression transcriptionnelle des gènes par condensation de la chromatine.

Des études ont montré que les HDAC régulaient l'expression de certains gènes par interaction avec certains facteurs de transcription tels qu'E2F, STAT-3, p53, pRB, NF-KB...

Des modifications des histones avec notamment une diminution de l'acétylation et une augmentation de l'expression de certaines classes d'HDAC ont été décrites dans le cancer réprimant notamment l'expression de gènes suppresseurs de tumeurs (156).

Ainsi les HDAC peuvent être essentielles pour la survie et la croissance des cellules cancéreuses. De par la réversibilité du phénomène, les HDAC constituent donc des cibles intéressantes. Dans le GBM, trois molécules inhibitrices des HDAC ont été testées : **Le Vorinostat, Panobinostat et Romidepsin.**

Aucune de ces 3 molécules n'a démontré d'efficacité significative dans les différents essais de phase II menés dans le GBM (157–160).

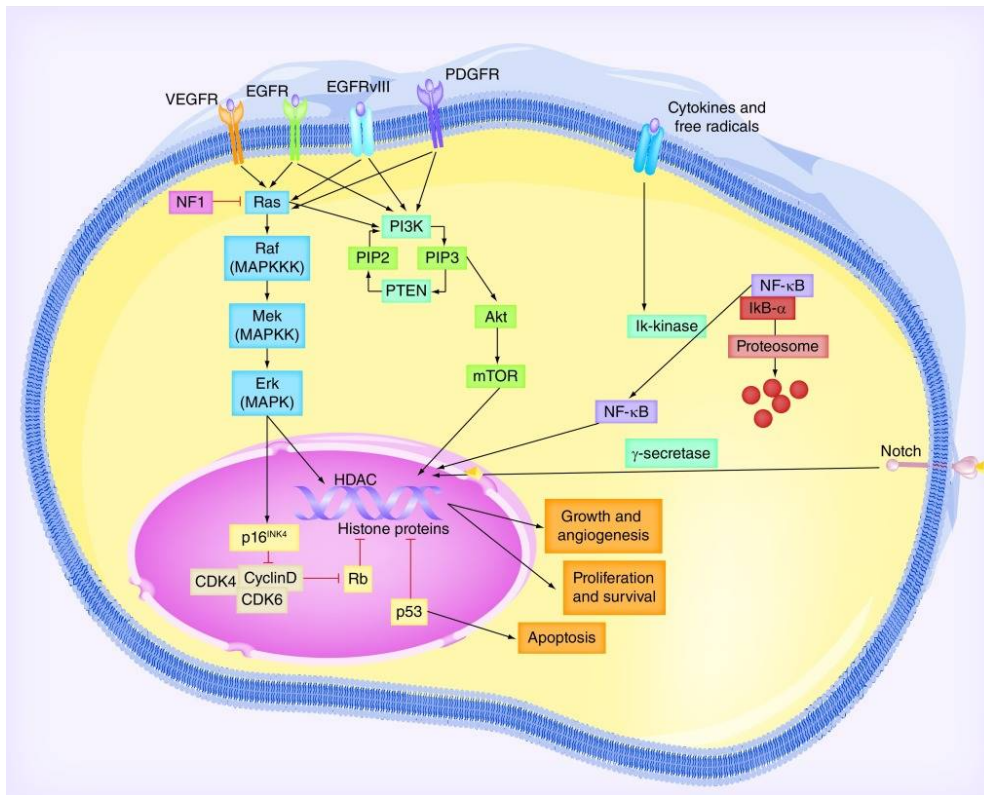


Figure 17 : Résumé des principales voies de signalisation altérées dans le GBM (161)

1.5 Principe de la létalité synthétique

Pour faire face aux diverses altérations de l'ADN, les cellules disposent de systèmes de réparation dont les deux principales protéines impliquées sont **BRCA** (Breast Cancer) et **PARP** (poly-ADP-ribose-polymérase). Elles agissent de façon complémentaire l'une et l'autre. Dans certains cancers, notamment gynécologiques, des mutations BRCA sont observées entraînant l'activation du mécanisme compensateur PARP permettant la réparation de l'ADN et la persistance de la tumeur.

Les inhibiteurs de PARP sont des thérapies ciblées utilisées dans le cancer du sein et ovarien dont le gène BRCA1 ou BRCA2 est muté (déficit de la voie de la recombinaison homologue). La cellule cancéreuse ne peut alors pas utiliser son mécanisme de réparation compensateur entraînant ainsi sa mort. C'est le principe de la létalité synthétique.

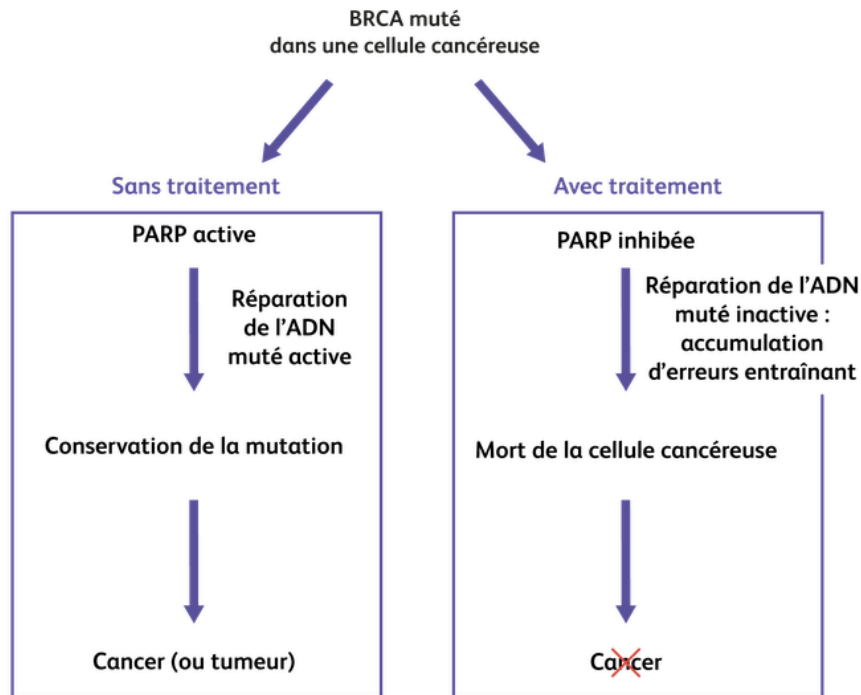


Figure 18 : Principe de la létalité synthétique (162)

Bien que les mutations BRCA soient peu fréquentes dans le GBM, d'autres altérations génétiques liées à l'IDH, EGFR, PTEN ou encore Myc, peuvent conduire à un phénotype semblable aux cellules BRCA mutées par perturbation de la voie de la recombinaison homologue. De plus, il a été montré que PARP est suractivé dans les CSG et donc corrélé au pronostic défavorable. Ainsi, la thérapie par inhibiteurs de PARP pourrait se justifier dans certains GBM favorisant la resensibilisation à la radiochimiothérapie (163).

L'Olaparib, le Pamiparib, l'Iniparib, le Niraparib et le Veliparib sont des exemples d'inhibiteurs de PARP actuellement à l'essai dans le GBM. Seuls les résultats de l'étude de phase II du Véliparib en combinaison du Témazolomide sont accessibles. La molécule n'a pas démontré d'efficacité significative (164).

1.6 Immunothérapie

1.6.1 Vaccin

L'environnement immunosuppresseur et l'inflammation retrouvés dans le GBM sont propices à la réactivation de certains herpes virus comme le cytomégalovirus (CMV). Des

études semblent montrer la présence d'antigènes du CMV (Glycoprotéine B, pp65, IE1...) dans plus de 90% des tumeurs GBM sans être pour autant présents dans les cellules cérébrales saines. Ils auraient un rôle dans le renforcement des propriétés des cellules souches marqueurs de radiochimiorésistance et l'expression du CMV conduirait entre autre à la réactivation de la voie PI3K-AKT favorisant la croissance tumorale et la migration. US28 est un récepteur de chimiokine codé par le virus CMV. En cas de réactivation virale une activité constitutive de l'US28 est constatée et favorise l'expression du facteur de transcription HIF-1 α conduisant à la sécrétion de VEGF et augmentant l'invasivité des cellules de GBM (165,166).

pp65 est la principale protéine tégumentaire constituant les particules virales extracellulaires. Elle a notamment un rôle dans l'échappement de la réponse immunitaire innée et adaptative de l'hôte face à l'infection par le CMV en bloquant la présentation de l'antigène au CMH de classe I et neutralise l'activité cytotoxique des cellules Natural Killer et des interférons. Cette protéine constitue l'antigène cible dominant des lymphocytes T cytotoxiques CD4+ et CD8+ (167).

Afin de restaurer la pleine fonctionnalité de ces lymphocytes T, des études basées sur le développement de vaccins anti CMV ont alors vu le jour. Bien que la réponse immunitaire soit spécifique de l'antigène, une augmentation d'autres médiateurs cellulaires permettrait de contribuer à une immunité indirecte contre les autres cellules tumorales.

Une étude de phase IIa est en cours et évalue l'efficacité d'un **vaccin composé de particules virales enveloppées bivalentes Gb/pp65** dont les résultats préliminaires étaient très encourageants (168).

D'autres stratégies reposent sur une vaccination par cellules dendritiques autologues chargées in vitro d'antigènes tumoraux permettant ainsi de croire l'activation des LyT spécifiques du peptide pp65.

Dans le GBMn en association au Témazolomide adjuvant et après radio chimiothérapie standard, 3 études distinctes de phase II se sont succédées doublant la taille de l'échantillon à chaque étude. Des survies exceptionnelles à long terme ont été observées dans près de 30% des cas encourageant la poursuite des essais (166).

1.6.2 Inhibiteur de point de contrôle immunitaire

Les **points de contrôle immunitaire** appelés « checkpoints » sont des récepteurs exprimés à la surface des lymphocytes T intervenant dans la modulation de la réponse des cellules immunitaires. Un équilibre entre signaux activateurs ou inhibiteurs coexistent sur une même cellule et déterminent l'intensité et la durée de la réponse immunitaire des lymphocytes T lors de la reconnaissance de son antigène spécifique. Ce phénomène, finement contrôlé physiologiquement permet de prévenir l'auto-immunité (checkpoints inhibiteurs) ou de déclencher une réponse immunitaire adaptée face à une infection (checkpoints activateurs). Les cellules à proximité disposent de ligands inhibiteurs spécifiques de ces récepteurs afin d'empêcher une réponse immunitaire excessive et incontrôlée.

Par le biais de mutations ou en réponse à la libération de cytokines inflammatoires, la cellule cancéreuse va exprimer à sa surface ces ligands inhibiteurs empêchant les lymphocytes T de s'activer par un mécanisme de « verrouillage ». Ce phénomène d'échappement immunitaire conduit à la survie de la cellule cancéreuse (169).

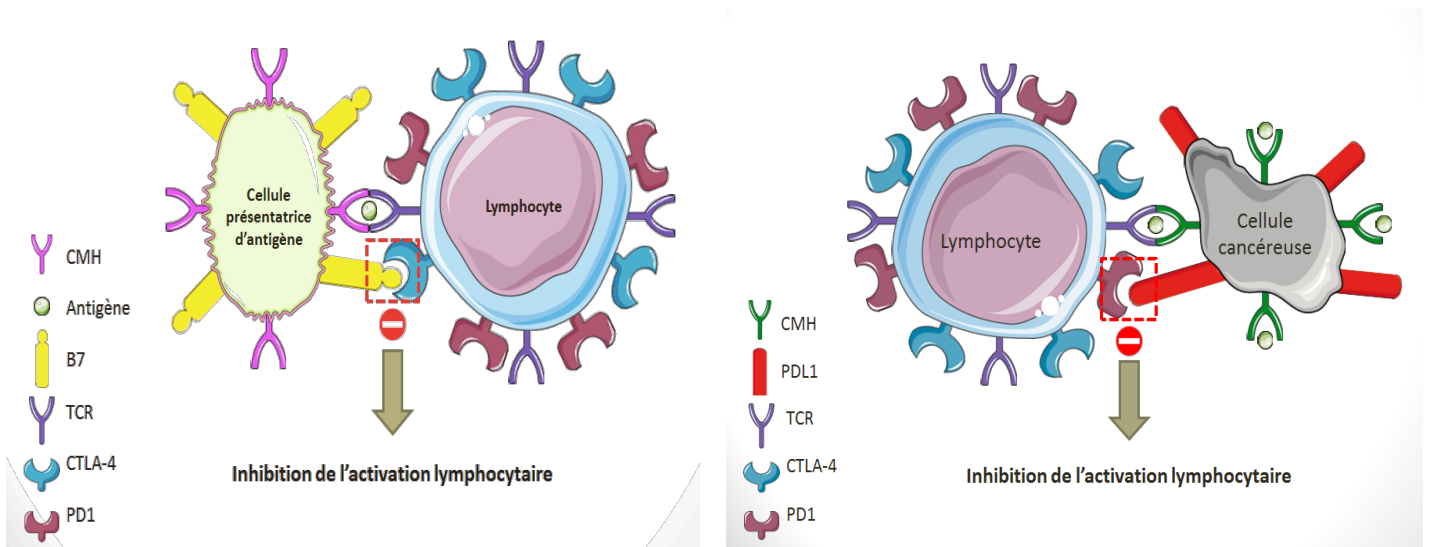


Figure 19 : Mécanisme d'inhibition de l'activité lymphocytaire par le biais des points de contrôles immunitaires

PD-1 : Programmed cell death 1

CTLA-4 : Cytotoxic T-Lymphocyte Associated protein 4

PDL-1 : Programmed cell death-ligand 1

CMH : Complexe majeure d'histocompatibilité

TCR : Récepteur des cellules T

Des anticorps dirigés contre ces checkpoints se sont développés. Actuellement, cette immunothérapie cible les signaux inhibiteurs présents à la surface des lymphocytes T (**CTLA-4**, **PD-1**) ou leur ligand (**PD-1**) ayant pour objectif la potentialisation du système immunitaire et la reconnaissance de la cellule cancéreuse.

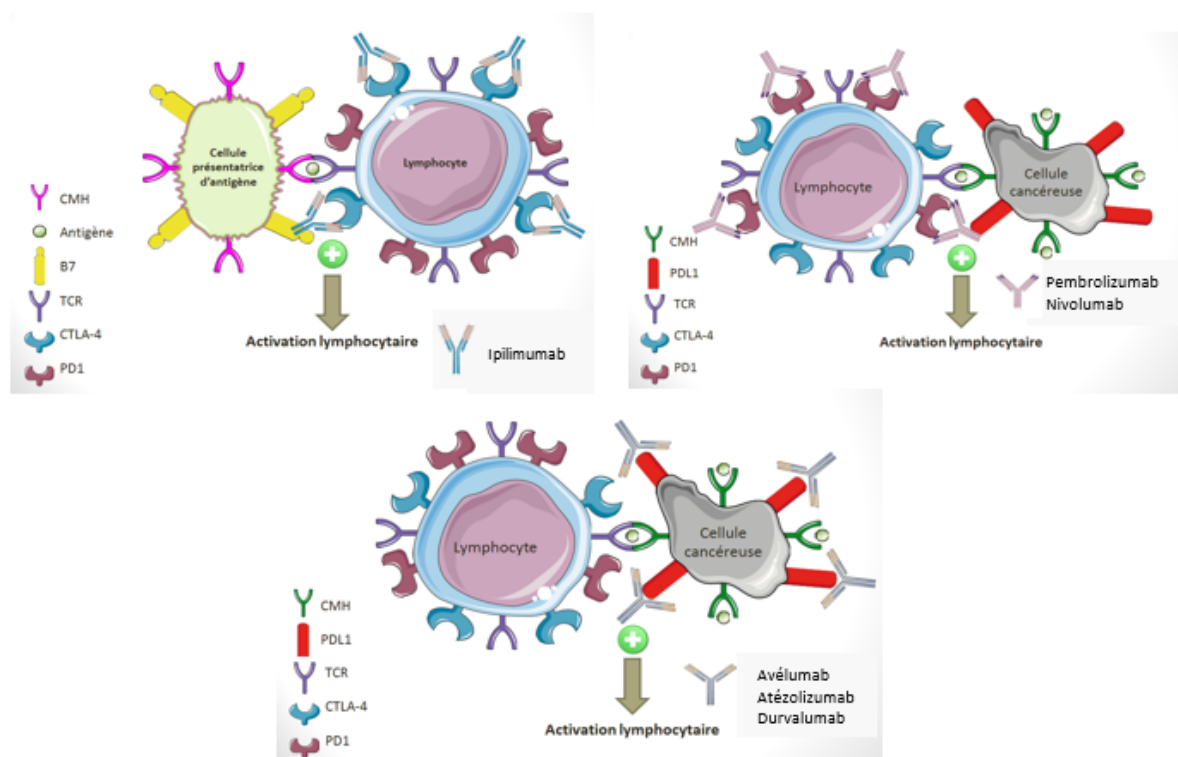


Figure 20 : Mécanisme d'action des anticorps inhibiteurs des points de contrôle et molécules commercialisées

Le ciblage de ces récepteurs a considérablement amélioré la survie des patients atteints de certaines pathologies cancéreuses rebelles. L'environnement immunosuppresseur décrit dans le GBM prive la réponse immunitaire adéquate et donc la modulation immunitaire semble être une piste intéressante pour sa prise en charge.

Cependant, la grande majorité des essais cliniques menés à ce jour avec des inhibiteurs de points de contrôles immunitaires (**Pembrolizumab**, **Atézolizumab**, **Nivolumab**, **Ipilimumab**) dans le GBM n'ont montré qu'une activité clinique minimale. Les résultats préliminaires des 3

études Checkmate de phase III avec le Nivolumab n'ont pas permis d'atteindre leur critère d'évaluation principale. Dans le GBM, l'utilisation d'inhibiteurs de points de contrôle ne semble donc pas pertinent sur la base de ces résultats (170).

Seule l'étude de phase II associant le Durvalumab à la radiothérapie dans le GBMn MGMT non méthylé a publié des résultats encourageants (171).

L'environnement hautement immunosuppresseur, le passage de la barrière hémato-encéphalique ainsi que la faible charge mutationnelle retrouvés dans le GBM pourrait expliquer en partie l'échec constaté des inhibiteurs de points de contrôle.

1.6.3 CAR-T cells

Les **CAR-T cells** (cellules T porteuses d'un récepteur antigène chimérique) sont des lymphocytes T prélevés au patient par leucaphérèse puis modifiés génétiquement ex-vivo afin de les munir d'un récepteur artificiel CAR. Ils sont par la suite réinjectés au patient pour être capable de reconnaître et détruire spécifiquement les cellules cancéreuses. De plus, un élément de co-stimulation est introduit lors de la modification génétique permettant l'activation du CAR-T une fois fixé sur la cellule cancéreuse.

Le Kymriah® et Yescarta®, sont deux CAR-T cells anti CD-19 qui ont montré des réponses cliniques impressionnantes chez certains patients atteints d'hémopathies malignes. Ils ont tous deux été approuvés par la FDA en 2017 et disposent d'une AMM en France depuis 2019.

Pour contourner le système immunitaire défectueux, lutter contre la difficulté de passage de la barrière hémato-encéphalique et le microenvironnement tumoral associés au GBM, la stratégie CAR-T semble en théorie prometteuse.

EGFRvIII, HER2 et IL13R α 2 sont les premiers antigènes tumoraux identifiés dans le GBM comme cibles potentielles aux traitements d'immunothérapie à base de CAR-T.

Les CAR-T anti EGFRvIII ont montré une efficacité très limitée lors d'une étude de phase I. Une perte d'Ag et une résistance secondaire chez les patients atteints de GBM ayant bénéficié d'une injection de CAR-T ont été mises en évidence.

IL13 est une cytokine libérée par les lymphocytes T CD4+ pour réguler inflammation et réponse immunitaire. Lors de sa fixation à son récepteur IL13R α 2, elle active la voie JAK/STAT. IL13R α 2 est retrouvé hautement exprimé dans les GBM. Une étude de phase I, a montré une réponse clinique et une tolérance encourageante de l'administration de CAR-T anti IL13R α 2.

La fréquence élevée de HER2 dans les GBM (80%) a conduit à développer des CAR-T anti HER2 et ont également suggéré un bénéfice clinique pour les patients atteints de GBM.

D'autres CAR-T ciblant d'autres antigènes tumoraux sont également en cours d'études (172).

1.7 Thérapie génique

1.7.1 *Virus oncolytique*

La thérapie virale oncolytique représente une thérapie génique innovante très prometteuse dans la prise en charge du cancer. Elle consiste à modifier génétiquement un virus en modifiant son tropisme et en utilisant des stratégies de ciblage pour le rediriger spécifiquement vers la cellule cancéreuse.

Le matériel génétique des cellules cancéreuses confère aux virus une sensibilité à les infecter spécifiquement sans affecter les cellules saines. Le virus génétiquement modifié va ainsi se répliquer dans la tumeur, détournant la synthèse protéique tumorale en son profit induisant in fine la lyse tumorale. Cela engendre comme principales conséquences :

- La libération d'antigènes tumoraux permettant la stimulation de la réponse immunitaire anti-tumorale systémique.
- La libération de virus ayant l'aptitude d'infecter d'autres cellules tumorales.
- La modification de l'environnement tumorale par l'expression de cytokine par la tumeur incitant le système immunitaire à intervenir (173).

Le premier virus oncolytique approuvé par la FDA est un virus herpex simplex modifié (Imlygic®) utilisé dans le mélanome non résecable.

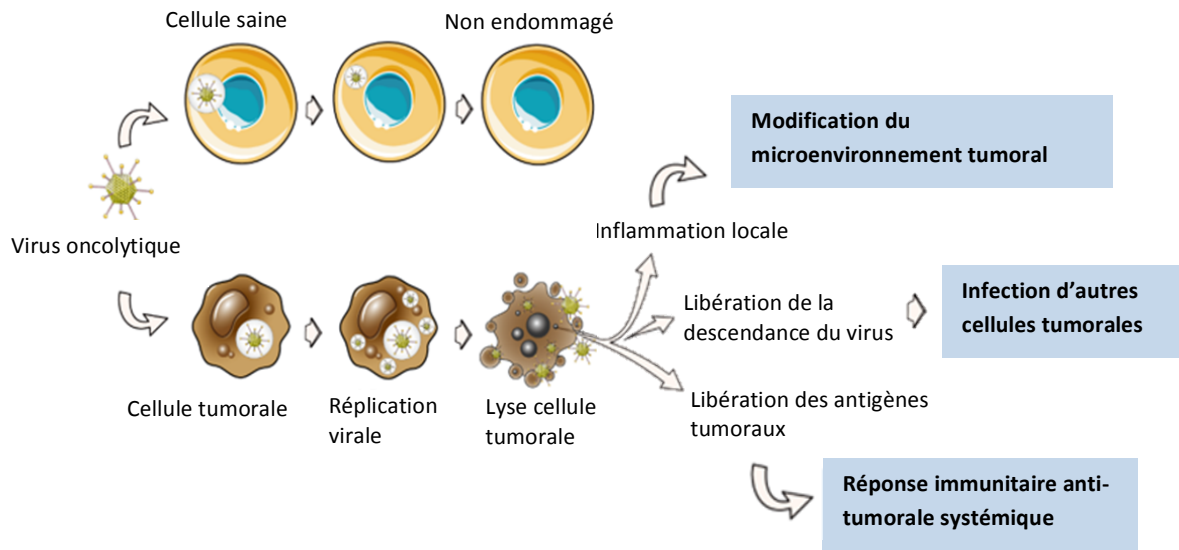


Figure 21 : Schéma du mécanisme d'action des virus oncolytiques. D'après le schéma de « creative biolabs »(174)

Des essais dans le GBM sont en cours d'expérimentation utilisant soit des virus oncolytiques à ADN (Adénovirus, Herpes Simplex Virus, Parvovirus) soit des virus oncolytiques à ARN (Rétrovirus, Poliovirus, Reovirus, virus de la rougeole). Les voies d'administration de ce médicament de thérapie innovante sont diverses et peuvent être intra tumorales, intraveineuses, intra artérielles ou dans la cavité de résection chirurgicale. Seule une étude de phase II/III a été effectuée et dont les résultats ont été publiés récemment. Le **TOCA511** (Rétrovirus recombinant) administré à des sujets subissant une résection pour une première ou deuxième récurrence (administration intra cavitaire), n'a pas montré de bénéfice par rapport à l'administration d'une chimiothérapie (173).

L'espoir futur de la thérapie des GBM pourrait reposer sur une synergie d'action entre les virus oncolytiques et l'immunothérapie. Nous avons vu précédemment que les cellules cancéreuses se camouflaient du système immunitaire et présentaient un microenvironnement tumoral ainsi qu'un profil mutationnel rendant peu efficace les inhibiteurs de checkpoints en monothérapie. Le virus oncolytique cible spécifiquement la cellule cancéreuse. La lyse et les signaux libérés par la cellule cancéreuse la rendent visible au système immunitaire qui va alors s'activer favorisant ainsi l'action de l'immunothérapie.

Une étude de phase II associant le **Tasadenoturev** (adénovirus recombinant) au Pembrolizumab dans le GBMr a montré une activité très encourageante motivant le développement d'un essai de phase III (175).

Une autre étude de phase II associant la souche **PVSRIPO** (Poliovirus) au Pembrolizumab dans le GBM est en cours de recrutement.

2 Perméabilité de la barrière hémato-encéphalique

La barrière hémato-encéphalique (BHE) est un rempart séparant physiologiquement le SNC de la circulation sanguine. De par sa composition, la BHE est difficilement franchissable permettant la protection du cerveau et de la moelle épinière du passage d'agents pathogènes ou xénobiotiques potentiellement délétères.

Toutefois, la BHE constitue également un frein au passage cérébral de médicaments. Dans le GBM, l'inefficacité de la plupart des thérapeutiques actuelles testées s'explique en partie par la difficulté qu'ont ces molécules à franchir cette barrière pour atteindre leur cible.

Des stratégies nouvelles consistant à augmenter transitoirement la perméabilité de la BHE tentent de se développer dans le GBM.

2.1 Stratégies basées sur les dispositifs

Le dispositif implantable **SonoCloud-9** est un dispositif innovant consistant à délivrer des ultrasons de faible intensité pour perturber transitoirement la BHE et augmenter les concentrations intracérébrales de médicaments.

L'étude de phase I/IIa SonoCloud-9 est un essai en ouvert avec escalade de dose évaluant l'efficacité et la sécurité de l'ouverture transitoire de la BHE par le dispositif chez les patients atteints d'une récurrence de GBM et candidats à une chimiothérapie par Carboplatine.

Le dispositif est implanté pendant la résection chirurgicale et activé toutes les 4 semaines pendant 270 secondes avant l'administration du Carboplatine.

Pour évaluer l'efficacité et la sécurité du dispositif, une IRM avec renforcement au Gadolinium est réalisée dans les 10 minutes suivant l'émission ultrasonore. Les résultats ont

montré une bonne tolérance du dispositif et un renforcement significatif du Gadolinium suggérant une perturbation efficace de la BHE. Cette perturbation a permis une augmentation des concentrations intracérébrales de Carboplatine (176).

De part ces résultats encourageants, l'étude randomisée de phase II SonoFirst a débuté en 2021. Elle vise à comparer, dans le GBMn, l'efficacité de l'ajout du dispositif pendant la phase adjuvante de chimiothérapie par Témzolomide (177).

Une étude pilote s'est consacrée à l'évaluation de la perturbation de la BHE induite par une méthode de **cytoréduction par thérapie thermique interstitielle au laser guidée par IRM**. Des résultats prometteurs ont montré une perturbation de la BHE pendant 1 à 3 semaines offrant une fenêtre thérapeutique intéressante à l'administration d'anticancéreux. Toutefois, cette stratégie pourrait entraîner une exposition inutilement prolongée du tissu sain à l'environnement externe (178).

De même le **MRgFUS** est une autre thérapie par ultrasons à haute focalisation guidée par résonance magnétique. C'est un procédé d'ablation thermique non invasif utilisant les ondes ultrasonores avec précision. Une étude interventionnelle coréenne a été effectuée dans le GBM de novo chez les patients sous Témzolomide adjuvant. L'étude a démontré l'innocuité et la faisabilité d'une perturbation répétée de la BHE par le dispositif et nécessitera d'autres essais futurs approfondis (179).

2.2 Stratégies basées sur les médicaments

Pour moduler la perméabilité de la BHE, des thérapeutiques aux modes d'actions distincts ont été étudiées pour faciliter la pénétration cérébrale des molécules anticancéreuses. La perturbation osmotique de la BHE a démontré dans des études précliniques le rétrécissement des cellules endothéliales, l'élargissement des jonctions serrées et une vasodilatation. Le **Mannitol** est un agent hyperosmotique faisant actuellement l'objet d'essais dans le GBM.

Pour théoriquement permettre la modification structurelle des jonctions serrées, un analogue de la Bradykinine (le **RMP-7**) a été testé mais n'a eu aucun effet sur la

pharmacocinétique du Carboplatine dans une étude de phase II randomisée en double aveugle chez les patients atteints de GBMr (180).

Enfin, l'Adénosine est un médiateur de la perméabilité de la BHE. Le **Régadénoson** est un agoniste de l'Adénosine A_{2A}. Bien qu'ayant démontré sa capacité d'augmenter les concentrations intracérébrales de chimiothérapies chez l'animal, il n'a pas prouvé chez l'Homme une amélioration de la libération du Témazolomide (181).

3 Nouvelles voies de signalisation et perspectives

3.1 Nouvelles voies de signalisation

- Voie de signalisation HIPPO

La voie HIPPO/YAP (Yes-associated protein)/TAZ (transcriptional coactivator with PDZ-binding motif) est une voie de signalisation dont les mécanismes cellulaires ont été découverts que très récemment. C'est une voie hautement conservée au cours de l'évolution et joue un rôle clé dans le contrôle de la taille des organes par la régulation de la prolifération cellulaire et l'apoptose. La dérégulation de la voie Hippo est impliquée dans la tumorigenèse, la chimiorésistance et la nature immunosuppressive des GBM.

Cette voie constitue donc une cible prometteuse pour de nouvelles thérapies anticancéreuses contre le GBM (182).

3.2 Perspectives

- Cellules souches cancéreuses et micro-ARN

Les cellules souches cancéreuses de GBM (CSG) disposent de nombreuses caractéristiques proches des cellules souches neurales comme la capacité d'autorenouvellement, la pluripotence ainsi que l'expression de certaines protéines comme CD133+. Elles sont localisées dans des régions particulières au sein de la tumeur appelées « niches ». Ces niches interagissent réciproquement avec le microenvironnement tumoral conduisant à l'activation de nombreuses voies de signalisation cellulaire permettant leur

maintien et leur conférant une résistance à la radiochimiothérapie. In fine, les CSG contribuent à la progression et à la récurrence tumorale. Cibler aussi bien le microenvironnement tumoral que les mécanismes permettant le maintien de ces CSG sont un enjeu majeur futur (183).

Certains agents ciblant les voies de signalisation impliquées dans l'autorenouvellement des cellules souches ont déjà débuté leurs essais (Voies Hedgehog, NOTCH, WNT, STAT-3...).

Les micro-ARN sont des ARN non codant, acteurs de l'épigénétique, régulant l'expression de nombreux gènes (environ 30% de l'intégralité du génome). Il a été démontré dans le GBM, une diminution ou une surexpression de certains micro-ARN responsable de la radiochimiorésistance, la malignité des cellules souches et leur capacité d'autorenouvellement (184).

Dans le futur, cibler ces différents micro-ARN représentera donc un enjeu stratégique majeur.

- Microbiote intestinal

Le microbiote intestinal joue un rôle déterminant dans la santé d'un individu. Il correspond à l'ensemble des microorganismes (10 milliards de bactéries) présents dans notre système digestif et s'apparente à un organe à part entière. Sa composition et ses proportions en différentes familles bactériennes sont propres à chaque individu et son équilibre influe sur la physiologie et l'activité biologique humaine. C'est un régulateur non seulement de la régulation immunitaire systémique mais aussi des circuits cérébraux. Une dysbiose microbienne peut induire un environnement inflammatoire et une suppression immunitaire favorable à la carcinogenèse. Les effets de cette dysbiose sur le GBM restent encore inconnus mais pourrait contribuer au microenvironnement tumoral immunosuppresseur. La compréhension des mécanismes de l'axe intestin-cerveau et son potentiel impact sur l'immunosuppression, l'inflammation et la réponse aux traitements, pourrait permettre dans le futur une amélioration de la survie des patients atteints de GBM (185). L'association d'une greffe fécale et d'une immunothérapie pourrait être une piste intéressante dans le GBM. Une étude de phase II est en cours chez les patients atteints d'un mélanome métastatique réfractaire. (186)

Partie 3. Proposition d'essai clinique innovant : repositionnement thérapeutique

1 Introduction du concept

1.1 Résumé

Le glioblastome multiforme (GBM) représente la tumeur cérébrale gliale primitive chez l'adulte la plus fréquente et la plus agressive. Le nombre de cas histologiquement confirmé est de 2600 chaque année en France (5). La prise en charge de ces patients a évolué et le protocole de Stupp (43) demeure depuis près de deux décennies le référentiel de prise en charge standard de première intention de la plupart des patients atteints de GBM. Malgré l'amélioration des connaissances du profil moléculaire et génétique (187), le pronostic à court terme reste très sombre avec une rechute/résistance précoce au traitement standard par Témzolomide (SSP 7 mois et OS 14.6 mois)(43).

Si les mécanismes de résistance à la chimiothérapie restent flous, les modulations épigénétiques (188) ainsi que la persistance de cellules disposant de caractéristiques moléculaires et régulationnelles semblables aux cellules souches neurales pourraient expliquer en partie la récurrence précoce ainsi que l'inefficacité des différents traitements anti-cancéreux contre le GBM (189). La compréhension de ces mécanismes est un enjeu majeur dans la lutte contre la radiochimiorésistance.

La découverte du rôle de la modification de l'acétylation des histones (HDAC) dans les processus de l'oncogenèse a conduit à développer des traitements aux propriétés inhibitrices des histones déacétylases (iHDAC) à l'instar du Vorinostat. Des premières études cliniques ont eu lieu dans la prise en charge du GBM (157,159). Le Vorinostat tout comme ses analogues de même classe présentent une activité modeste (158,160).

Une prophylaxie anti-épileptique est souvent proposée aux patients atteints de GBM. Si le Lévétiracétam est le plus usuellement prescrit, l'Acide Valproïque (VPA) pourrait s'avérer intéressant de par ses propriétés iHDAC. En effet, plusieurs études cliniques semblent montrer une amélioration de la survie globale par l'association d'une radiochimiothérapie avec du VPA comparé à l'utilisation d'un autre AED. (Médiane SG 16.9

mois vs 13.9 mois) (190). Cette tendance semble se confirmer par la réalisation d'une méta-analyse et d'une étude clinique de phase II montrant des résultats encourageants quant à l'utilisation de cet AED dans le GBM (191,192).

Pour subvenir à ses besoins énergétiques qui lui sont propres, la cellule cancéreuse a la particularité d'adopter un métabolisme énergétique anaérobie indépendamment de la présence ou non d'O₂ dans son milieu. L'activation du processus de fermentation aérobie (glycolyse aérobie), connue sous le nom de l'effet Warburg (193), est sous l'égide de plusieurs facteurs. Cela nous a conduit à considérer l'éventualité d'un potentiel intérêt d'un traitement inhibiteur de la néoglucogenèse comme la Metformine (194). La Metformine par son action sur l'AMPK, tout comme le VPA par ses propriétés iHDAC, contribuent à lutter contre ce dérèglement métabolique permettant une diminution de la croissance et l'apoptose des cellules tumorales (195,196). Il existerait une synergie d'action entre le VA et la Metformine dans l'effet antiprolifératif et pro-apoptotique (action anti-tumorale additive) des cellules cancéreuses favorisant l'expression du gène suppresseur de tumeur p53. De nombreux essais notamment dans le cancer de la prostate ou rénal mettent en lumière cette synergie d'action p53 dépendante (197,198). 30% des GBM primaires retrouveraient la mutation p53 contre 65 à 90% des GBM secondaires (35).

Les micro-ARN (miR) sont des petits ARN non codants capables de réduire en silence l'expression des gènes par un processus de modification post-transcriptionnelle (184). Leur dysrégulation est impliquée dans la chimiorésistance des GBM. miR-21 est le principal surexprimé dans le GBM (44 à 100% des GBM) et est lié à trois voies clés dans l'oncogenèse : TGF β , p53 et les voies de l'apoptose (199). Dans les cellules souches de GBM, la dysrégulation de certains miR, la présence de marqueurs moléculaires tels que CD133 ainsi que leur localisation dans des microenvironnements singuliers (niches) sont responsables de leur malignité et de leurs capacités d'auto renouvellement (200).

Des études sur lignées cellulaires souches cancéreuses ont montré que la Metformine, le VPA ainsi que la Simvastatine pourraient lutter contre la persistance des CSG de par leurs actions respectives sur certains miR, marqueurs souches et/ou voies de signalisation (195,201–205). Bien qu'aucune étude dans le GBM n'ait été effectuée, nous

sommes amenés à considérer la possibilité de transposer leurs effets aux cellules de GBM notamment grâce à leur bon passage de la BHE.

Enfin, l'augmentation de la protéine YAP dans les cellules cancéreuses est pro proliférative. L'augmentation de cette protéine YAP de la voie HIPPO est médiée par le mévalonate. Or, la Simvastatine de par son action inhibitrice de l'HMG-CoA réductase permet d'inhiber la formation de mévalonate à partir de l'HMG-CoA et diminuerait de ce fait l'activité de la protéine YAP (206,207).

Une étude in vivo sur cellules de prostate cancéreuses de souris a montré une synergie d'action anti-tumorale entre le VPA et la Simvastatine. L'action activatrice de la voie AMPK du VPA et inhibitrice de YAP de la Simvastatine potentialiserait l'action de la chimiothérapie par Docétaxel en luttant contre la chimiorésistance (208).

Nous allons voir ci-après, par quels mécanismes, un repositionnement thérapeutique de ces 3 molécules pourrait se combiner et se compléter rationnellement dans le GBM.

1.2 Concept du repositionnement thérapeutique

Le repositionnement thérapeutique est un concept d'apparition récente. Sa première définition date de 2004 parue dans un article publié par Ashburn and Thor (209). Il mentionne la réutilisation de médicaments (sans modification structurale de la molécule) comme un processus consistant à trouver de nouvelles indications pour des médicaments déjà commercialisés préalablement. Depuis, elle s'est élargie aux substances actives ayant échoué à la phase clinique de leur développement ainsi que certains médicaments retirés du marché pour des raisons de sécurité.

D'abord découvert par sérendipité, ce phénomène a depuis ces dernières années pris de l'ampleur et le nombre d'articles lui faisant référence croît drastiquement. Ceci est en partie expliqué par les problématiques rencontrées par l'industrie pharmaceutique dans le domaine de la recherche et développement (R&D) depuis des décennies. En effet, la découverte de nouveaux médicaments est un processus long, laborieux, utilisant des procédés méthodologiques de plus en plus coûteux en R&D et l'efficacité de ces processus

est en constante diminution (diminution de moitié en 9 ans du nombre de médicaments approuvés par milliard de dollars dépensé: phénomène appelé « Loi d'Eroom »).

En outre, la croissance rapide des connaissances en bio-informatique et des données biologiques permettent de limiter considérablement le temps et le coût du processus de repositionnement du médicament. Seul 1 à 2 ans seraient nécessaires pour identifier une nouvelle cible thérapeutique et environ 8 ans pour développer le médicament repositionné (contre 10 à 15 ans pour une nouvelle molécule). Les procédures de développement et de réintroduction sur le marché s'en retrouvent simplifiées et bien moins onéreuses (7,5 fois moins chères). Cependant tout changement de formulation, dosage ou de voie d'administration nécessitera un réexamen du profil de sécurité du médicament (210,211).

La stratégie du repositionnement s'avère donc être une alternative pouvant être très efficace, peu coûteuse et à moindre risque. Elle ne devra cependant pas supplanter la recherche de nouvelles molécules.

De nombreuses recherches de réutilisation de médicaments notamment dans le domaine de l'oncologie sont en cours et pourraient être au cœur des stratégies thérapeutiques de demain.

Dans le cas du GBM, de nombreuses molécules initialement employées dans d'autres pathologies cliniques ont démontré des propriétés pour cibler certaines voies de signalisation impliquées dans la genèse et la récurrence des GBM. La connaissance de ces mécanismes conduit à la réalisation d'essais cliniques.

La compréhension du rôle des CSG, reconnu comme source principale de récurrence tumorale, a encouragé l'étude de l'impact de nouvelles voies moléculaires responsables du maintien de leur propriété. Le repositionnement de médicaments pouvant cibler ces voies font l'objet d'études précliniques (212).

C'est ainsi que des thérapeutiques utilisées depuis des décennies dans des pathologies plus ou moins bénignes comme la Metformine, la Simvastatine ou encore le VPA, pourraient de par leurs nouvelles propriétés découvertes et leurs actions sur certaines cibles, devenir de nouvelles armes dans la prise en charge de la pathologie cancéreuse.

2 Rappel pharmacothérapeutique des molécules d'intérêts

2.1 Acide valproïque

Le VPA (et son sel le valproate de sodium) est une molécule à large spectre disposant d'indications dans certaines pathologies neurologiques et psychiatriques. Elle possède une autorisation de mise sur le marché (AMM) en monothérapie ou en association dans le traitement de l'épilepsie généralisée et partielle avec ou sans généralisation secondaire de l'enfant et l'adulte.

Ses dérivés (Valpromide et Divalproate de sodium) quant à eux, sont indiqués chez l'adulte notamment dans le traitement des épisodes maniaques et bipolaires en cas d'échec ou de contre-indication au carbonate de Lithium.

Le mécanisme d'action du VPA n'est pas totalement élucidé et s'avère complexe. Il agit sur plusieurs cibles neurobiologiques avec un effet gabamimétique, antagoniste du glutamate et inhibiteur des canaux sodiques voltages dépendants. Ainsi l'entrée des ions chlore et l'inhibition de l'entrée des ions sodium et calcium permettent l'hyperpolarisation cellulaire diminuant ainsi l'activité neuronale anarchique retrouvée dans les crises épileptiques et troubles bipolaires.

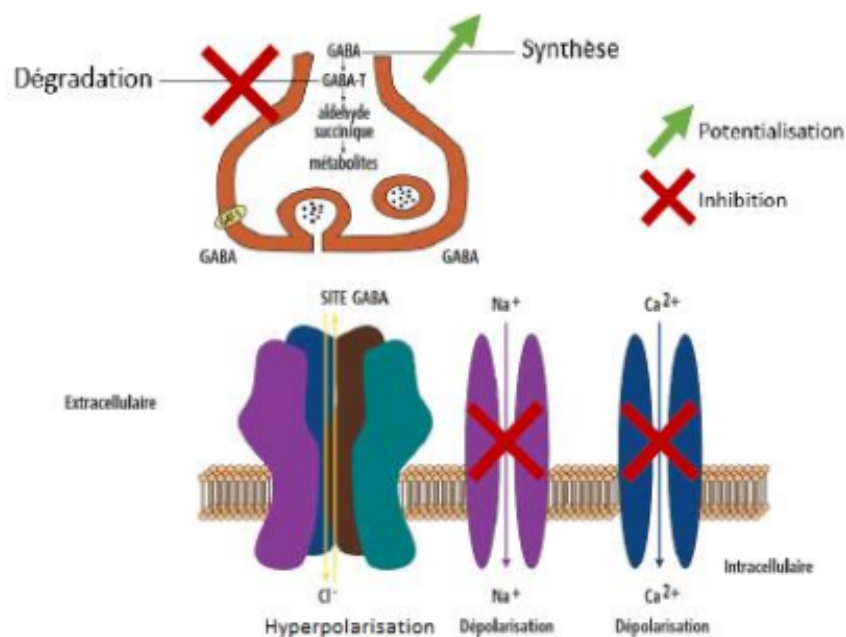


Figure 22 : Mécanisme d'action de l'Acide Valproïque (213)

D'autres indications hors AMM existent et font aujourd'hui l'objet de recherches à l'instar d'une utilisation du VPA dans la protection myocardique en post-infarctus (214) ou dans la prophylaxie migraineuse (215).

Outre ces propriétés, il a été établi que le VPA agirait également sur l'épigénome par **l'inhibition des histones décacétylases et bloquerait de plus la voie mTOR**. Ce sont notamment ces nouvelles découvertes qui encouragent actuellement la recherche d'un potentiel repositionnement de la molécule dans d'autres indications thérapeutiques notamment dans le domaine de la cancérologie.

D'un point de vue pharmacocinétique, sa biodisponibilité par voie orale proche de 100% et sa lipophilie (acide gras saturé à chaîne ramifiée) lui confère une diffusion aisée dans le LCR ainsi que dans le cerveau. Son métabolisme, essentiellement hépatique, se fait par glucurono-conjugaison et bêta oxydation tandis que son élimination est principalement urinaire (216).

Le VPA est substrat des cytochromes P450 C29 (CYP) et l'inhibe conférant un risque non négligeable d'interactions médicamenteuses avec d'autres thérapeutiques.

2.2 Metformine

La metformine appartient à la famille des biguanides. Il s'agit d'un anti diabétique oral indiqué en première intention dans le diabète de type 2, en particulier en cas de surcharge pondérale, lorsque les règles hygiéno-diététiques ne sont plus suffisantes pour rétablir l'équilibre glycémique.

Il peut être utilisé en monothérapie ou en association avec d'autres antidiabétiques oraux ou l'insuline chez l'adulte et l'enfant de plus de 10 ans (217).

A la différence des insulinosécréteurs stimulant la sécrétion d'insuline et pouvant de ce fait majorer le risque d'hypoglycémie, la Metformine est quant à elle un insulinosensibilisateur disposant d'une dualité fonctionnelle permettant:

- La réduction de l'insulinorésistance en favorisant la captation et l'utilisation du glucose par les muscles

- La diminution de la production hépatique de glucose par inhibition de la néoglucogénèse et de la glycogénolyse ainsi que la diminution de la synthèse des lipides

Elle retarde également l'absorption intestinale du glucose et augmente les capacités de transports du glucose par les transporteurs membranaires du glucose (GLUT).

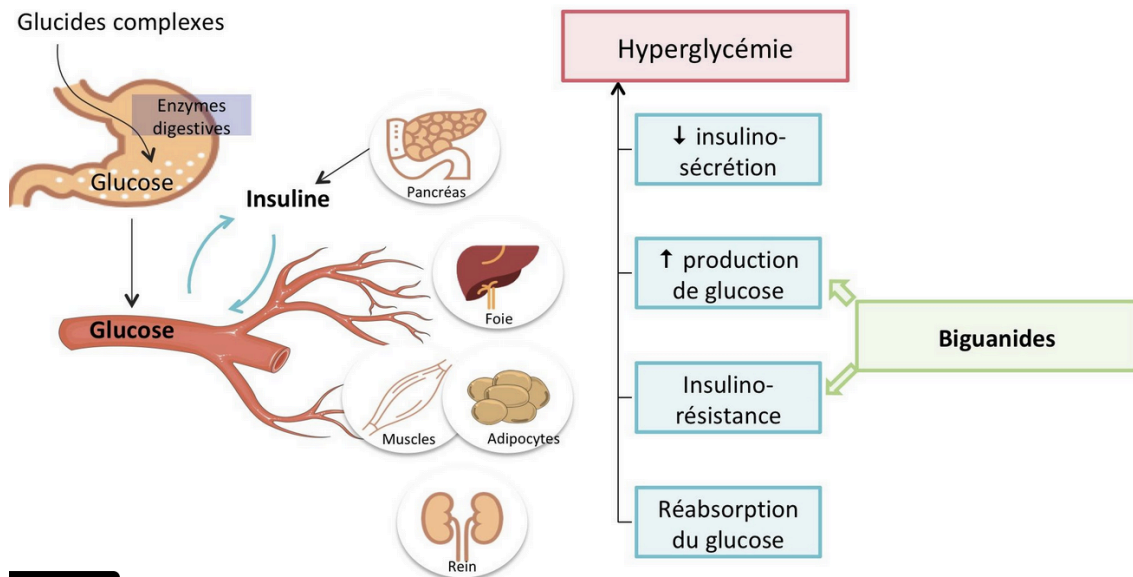


Figure 23 : Schématisation du rôle de la metformine dans la lutte contre l'hyperglycémie basale et postprandiale. D'après le schéma de pharmacomedicale.org (218)

Bien que commercialisée depuis des décennies, la compréhension précise de son mécanisme d'action n'en est que très récente et certains processus restent toutefois encore à élucider.

La metformine est absorbée au niveau intestinal et emprunte la veine porte aboutissant à une concentration élevée de la molécule au niveau hépatique. L'expression importante du transporteur de cations organiques OCT1 permet l'entrée de la Metformine dans l'hépatocyte. Son action dans le métabolisme cellulaire se fait notamment via l'inhibition du complexe I de la chaîne respiratoire mitochondriale. La diminution énergétique s'explique par la diminution d'ATP et une augmentation du rapport AMP/ATP. La Metformine conduit ainsi à **l'activation de l'AMPK** réduisant in fine, par le biais de réactions enzymatiques, la néoglucogénèse et augmente la sensibilité à l'insuline. En outre l'AMPK dispose de capacités d'inhibition de la voie mTOR. L'activation de mTOR est

largement répandue dans la tumorigenèse. De nombreuses études ont associées l'utilisation de la metformine à une diminution de l'incidence et de la mortalité liée aux cancers. Ces dernières années, d'importantes études précliniques et cliniques ont montré une activité anticancéreuse de la Metformine.

De ce fait, elle disposerait d'une action anti-tumorale ayant conduit à la multiplicité des études en oncologie et notamment dans le GBM (212).

D'un point de vue pharmacocinétique, la Metformine présente une biodisponibilité orale moyenne de l'ordre de 50 à 60%. N'étant que très peu liée aux protéines plasmatiques et étant excrétée au niveau urinaire sous forme inchangée, la metformine présente un profil d'interactions d'ordre pharmacocinétiques négligeable avec d'autres molécules.

Elle présente des caractéristiques physicochimiques intéressantes avec, grâce à sa chaîne carbonée, une liposolubilité lui conférant un bon passage de la BHE et donc une utilisation pertinente dans le GBM si son efficacité venait à se confirmer (194).

2.3 Simvastatine

La Simvastatine est une molécule hypocholestérolémiante indiquée dans le traitement des hypercholestérolémies (primaires, familiales homozygotes, dyslipidémies mixtes) en complément du régime lorsque le respect des règles hygiéno-diététiques seules s'avèrent insuffisantes.

En complément des traitements cardioprotecteurs, elle est également indiquée en prévention chez les patients présentant une pathologie cardiovasculaire avérée d'origine athéroscléreuse ou un diabète.

La Simvastatine est une prodrogue activée par hydrolyse hépatique dont le métabolite présente une **activité inhibitrice de l'enzyme HMG-CoA réductase** empêchant la transformation de l'HMG-CoA en mévalonate, étape clé et limitante de la synthèse du cholestérol.

La concentration intracellulaire en cholestérol notamment dans les hépatocytes s'en voit ainsi diminuée. La surexpression des récepteurs aux lipoprotéines de basse densité (LDL) conduit à l'augmentation de la capture des lipoprotéines athérogènes par les hépatocytes

engendrant ainsi une diminution du LDL circulant, des VLDL (Lipoprotéines de très basse densité) et l'apolipoprotéine B (219).

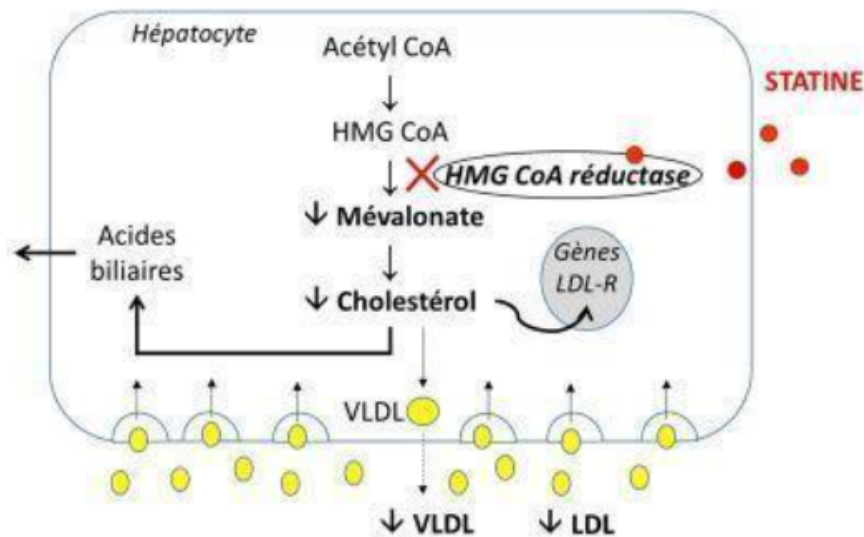


Figure 24 : Mécanisme d'action des Statines (220)

D'un point de vue pharmacocinétique, la Simvastatine présente une biodisponibilité orale très faible de l'ordre de 5%. Cependant le site d'action étant hépatique, la totalité de la dose administrée atteint la cible. La Simvastatine est substrat des CYP3A4 et peut de ce fait interagir avec de nombreuses thérapeutiques. Son excrétion essentiellement biliaire conduit à une élimination majoritaire dans les selles (60%).

De même que les deux précédentes molécules, la découverte récente de l'impact de la Simvastatine sur l'épigénétique ainsi que son impact dans la modulation de la protéine YAP/TAZ HMG-Coa médiée (221), conduit à une réflexion accrue de repositionnement de cette molécule dans d'autres pathologies.

3 Mécanismes biomoléculaires pathologiques décrits dans le GBM et rationnel d'action des molécules d'intérêts

3.1 Action sur les voies de signalisation impliquées dans le GBM

- Voie LKB1 (liver kinase B1) /AMPK/mTOR :
 - Structure et mécanisme d'activation de l'AMPK : (222)

La protéine kinase activée par l'AMP (**AMPK**) est une sérine thréonine kinase ubiquitaire disposant d'un rôle de régulateur métabolique central au sein des cellules. Elle permet entre autre la régulation de la croissance et la reprogrammation du métabolisme assurant le maintien de l'homéostasie énergétique. Elle favorise également les processus **d'autophagie cellulaire** (élimination des cellules apoptotiques par dégradation des composants intracellulaires) par **l'inhibition de mTOR**. Leurs activités respectives sont intrinsèquement liées, se résumant principalement par un antagonisme d'action.

L'AMPK est donc un capteur énergétique dont l'activation est étroitement corrélée à la baisse des niveaux d'ATP intracellulaires. En réponse à cette privation d'énergie générée par l'augmentation d'AMP ou d'ADP, l'AMPK s'active et privilégie les processus cataboliques producteurs d'énergie au détriment de l'anabolisme énergétique consommateurs d'énergie.

L'AMPK est un hétérotrimère composé d'une sous unité catalytique α (composée de deux isoforme $\alpha 1$ et $\alpha 2$) et de deux sous unités régulatrices : β (composée de deux isoformes $\beta 1$ et $\beta 2$) et γ (composée de trois isoformes $\gamma 1$, $\gamma 2$ et $\gamma 3$). 12 combinaisons hétérotrimériques $\alpha\beta\gamma$ sont alors possibles et leurs fonctions au sein des tissus dépendront des isoformes présentes dans le complexe formé.

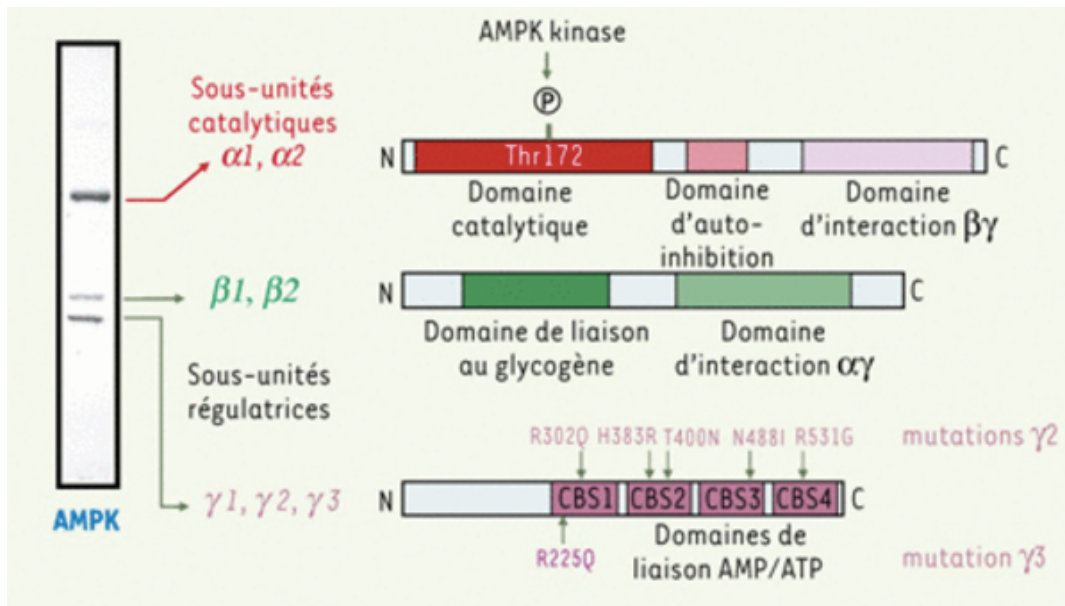


Figure 25 : Structure du complexe AMPK (223)

La phosphorylation de la thréonine Thr172 au niveau de la sous-unité catalytique α est essentielle à l'activation de l'AMPK. Deux kinases permettent cette phosphorylation activatrice :

- **LKB1**, gène suppresseur de tumeur, médie la phosphorylation de l'AMPK en réponse à la baisse énergétique cellulaire. Des mutations de LKB1 ont été identifiées dans certains cancers notamment pulmonaires et du col utérin.
- **CaMMK β** (calcium/calmodulin dependent protein kinase kinase β) s'active quant à elle en réponse à l'augmentation du calcium cytosolique.

En l'absence de stress cellulaire, la sous-unité γ est occupée par l'ATP et la phosphorylation au niveau de la sous-unité α de la Thr172 est inhibée entre autre par des phosphatases.

Face à un stress cellulaire, le ratio AMP(ADP)/ATP augmente et l'AMP(ADP) va se fixer au niveau de la sous-unité régulatrice γ de l'AMPK inhibant ainsi l'action des phosphatases.

La cascade de phosphorylation des régulateurs transcriptionnels en aval médiée par l'activation de l'AMPK conduit à la gestion de la reprogrammation métabolique.

En outre, la déplétion énergétique aboutissant à l'activation de l'AMPK va conduire à l'inhibition des processus de croissance cellulaire par l'inhibition de mTOR. Une régulation

interconnectée de la voie LKB1/AMPK par les oncogène RAS et PI3K ont été mis en évidence menant à sa dérégulation dans la pathologie cancéreuse.

La cascade d'activation ainsi que l'interconnexion entre ces voies sont expliquées dans le schéma suivant.

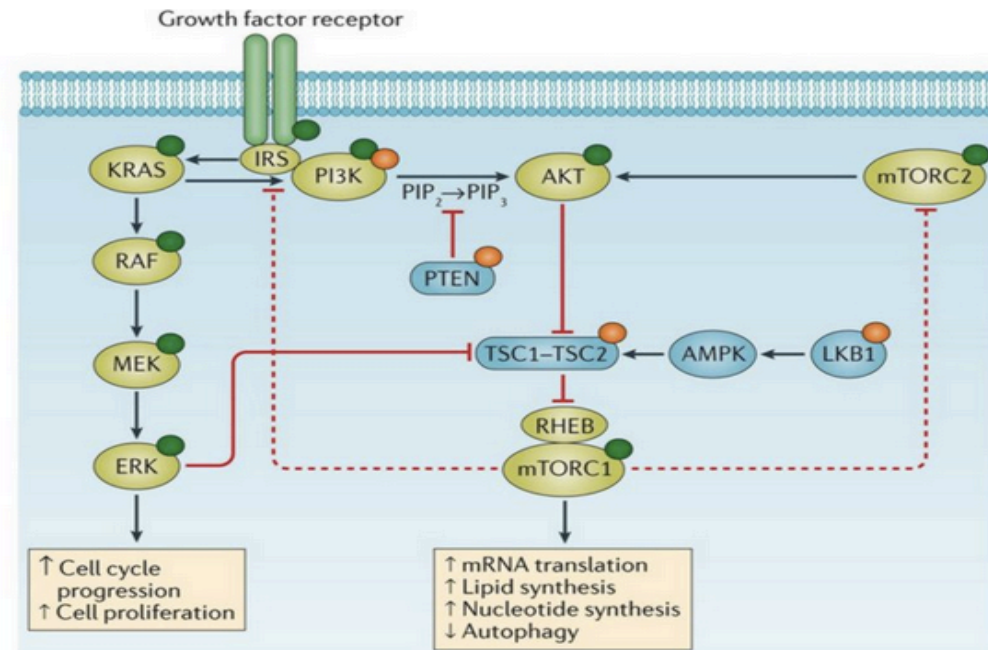


Figure 26 : Cascade d'activation RAS/PI3K/AKT lors de l'activation de mTOR. (224)

L'AMPK permet l'activation du gène suppresseur de tumeur TSC (sclérose tubéreuse) ou en communiquant directement avec Raptor conduisant à l'inhibition de RHEB activateur de mTORC1.

En outre, l'AMPK favorise l'autophagie par l'inhibition de mTOR en activant le complexe **ULK1** (Unc-51 Like Autophagy Activating Kinase 1), enzyme clé de l'autophagie, physiologiquement inhibé par mTOR. L'activation persistante d'AMPK induit l'activation de la p53, acteur de la sénescence cellulaire.

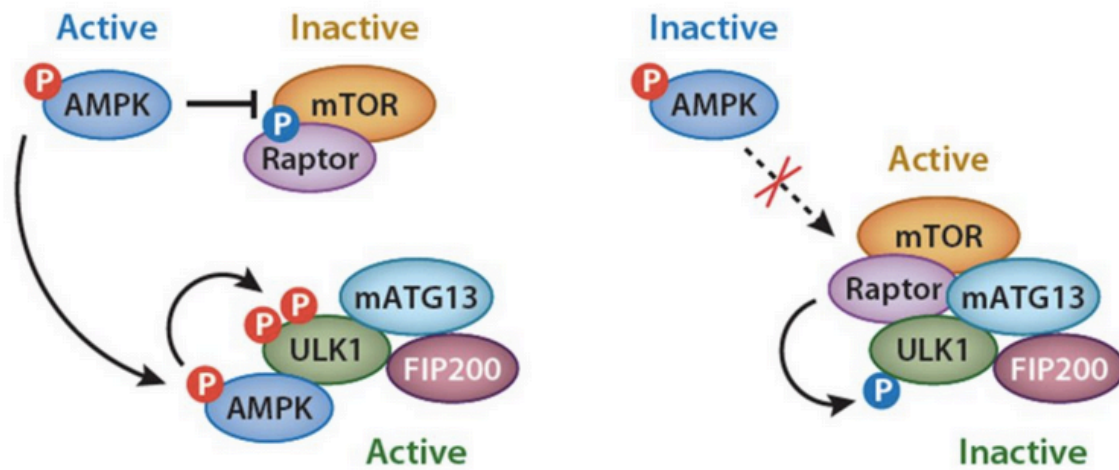


Figure 27 : Activation et inactivation de ULK1 par phosphorylation par l'intermédiaire de mTORC1 et AMPK (224)

Plus récemment, il a été admis que l'AMPK n'était pas seulement un capteur énergétique mais était également impliqué dans les processus inflammatoires. La sécrétion de médiateurs pro-inflammatoires comme le TNF- α et l'IL-6 conduit à l'activation de l'AMPK. L'AMPK atténue alors la réponse inflammatoire par une cascade de signalisation comprenant notamment la diminution des facteurs de transcriptions inflammatoires comme NF κ B et STAT3 (225).

- Action de la Metformine sur l'AMPK :

Outre les nombreux facteurs de stress cellulaire, certains agents pharmacologiques peuvent également conduire à l'activation de l'AMPK. Comme vu précédemment, la metformine inhibe le complexe I de la chaîne respiratoire mitochondriale de transport d'électrons. Cette baisse de la phosphorylation oxydative aboutit à une déplétion en ATP et favorise donc l'activation de l'AMPK. Elle donne lieu in fine à une régulation de la glycémie par inhibition de la néoglucogenèse et de la lipogenèse hépatique (par inhibition de l'acétyl Coa Carboxylase) ainsi qu'à une augmentation de la sensibilité à l'insuline. Une importante partie du mode d'action de la Metformine pourrait donc dépendre de l'AMPK.

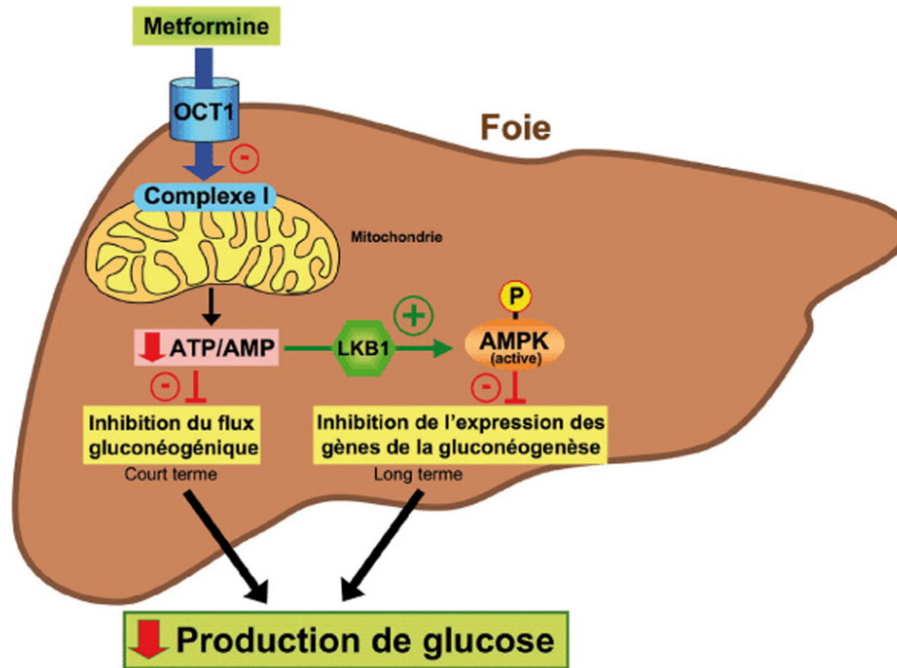


Figure 28 : Mécanisme d'action de la Metformine dans l'hépatocyte (226)

Connaissant l'interconnexion des voies oncogéniques RAS/PI3K/mTOR avec l'AMPK et en rappelant que l'altération des voies de signalisation MAPK et PI3K/AKT/mTOR est retrouvée dans près de 88% des GBM, la Metformine pourrait donc théoriquement disposer de propriétés anticancéreuses pertinentes dans cette pathologie.

Plusieurs rapports ont démontré que l'AMPK se retrouvait moins activée dans les cellules cancéreuses que dans les tissus sains correspondants. La création d'un stress cellulaire par la metformine ainsi que sa capacité à réduire la production d'espèces réactives à l'oxygène rétabliraient donc des niveaux importants d'AMPK favorisant son effet antinéoplasique (227).

En plus d'abaisser les concentrations de glucose circulant, la metformine est associée à une réduction des niveaux d'IGF1 par amenuisement des taux d'insuline circulant. L'IGF-1 dispose d'un rôle anabolique pouvant, en situation néoplasique, contribuer à l'augmentation de la synthèse protéique et de la prolifération cellulaire (228).

Ainsi en activant l'AMPK, la Metformine, par la potentielle décroissance de la synthèse protéique, l'inhibition de la croissance et de la prolifération cellulaire, ainsi que l'augmentation de l'autophagie, a incité la réalisation d'essais en repositionnant cette molécule dans les tumeurs cérébrales. De nombreux essais sont en cours de développement.

- Action du VPA sur l'AMPK :

Plus récemment des études in vitro utilisant des hépatocytes de souris et humains, ont mises en évidence une activation de l'AMPK par le VPA et ses métabolites, parallèles aux résultats retrouvés avec la Metformine. Des études approfondies semblent toutefois nécessaires pour confirmer cette potentielle nouvelle caractéristique du VPA (229).

- Voie HIPPO/YAP/TAZ :

Initialement décrite chez la drosophile, la **voie HIPPO** est une voie hautement conservée au cours de l'évolution et joue un rôle clé dans le contrôle de la taille des organes par la régulation de la prolifération cellulaire et l'apoptose. La dérégulation de cette voie de signalisation est impliquée dans la tumorigenèse, la chimiorésistance et la nature immunosuppressive des GBM.

HIPPO est composée d'un bloc de kinase MST1/2 (Mammalian STE20-like protein kinase 1/2) et LATS1/2 (Large tumor suppressor 1/2). Ces kinases vont par phosphorylation inhiber la translocation nucléaire de YAP/TAZ entraînant leur dégradation par le protéasome.

HIPPO apparaît donc comme un suppresseur de tumeur quand **YAP et TAZ** disposent quant à eux de fonctions proto-oncogéniques.

Dans le GBM, et dans la pathologie cancéreuse de manière générale, est recensée une dérégulation de la voie HIPPO aboutissant à l'augmentation de la translocation nucléaire de YAP/TAZ (par inhibition de la phosphorylation) qui se complexe avec le facteur TEAD (TEA domain protein) conduisant à la transcription.

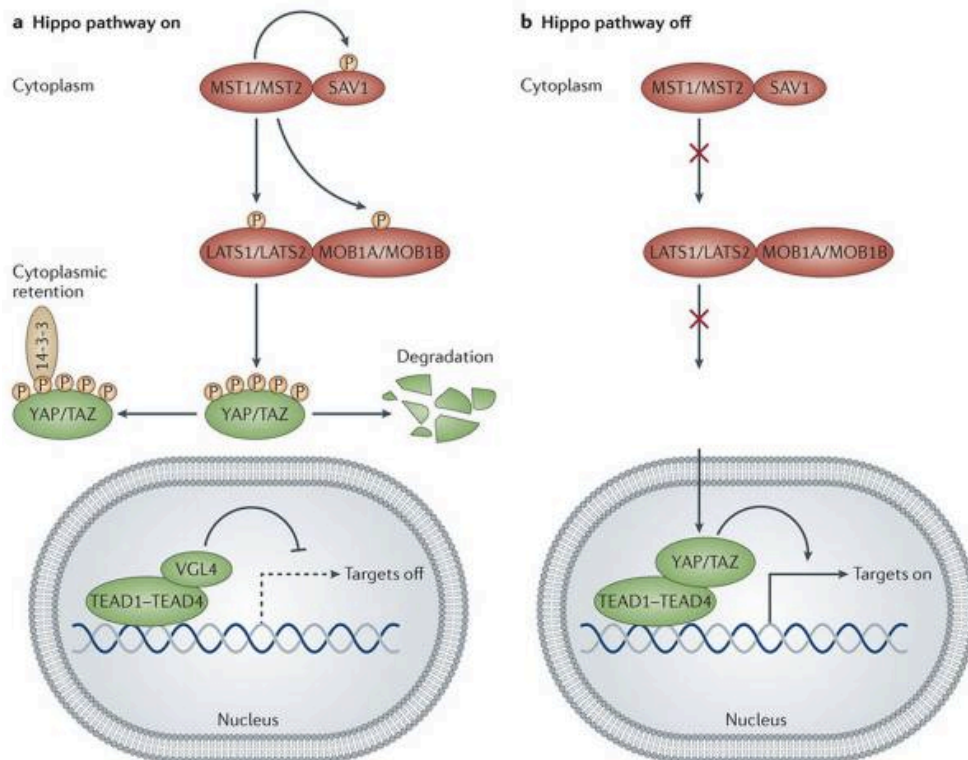


Figure 29 : Cœur de la voie HIPPO et son mode d'action (230)

L'hyperexpression de TAZ est associée à la transition épithélio-mésenchymateuse et l'expansion des CSG contribuant à la chimiorésistance.

Si certains activateurs de la signalisation HIPPO en amont ont été décrits (Neurofibrine 2, WNT, Sonic Hedgehog, NOTCH...), l'activité de YAP/TAZ est essentiellement médiée par la voie SREBP (Sterol regulatory element-binding proteins) /mévalonate.

Dans la cellule cancéreuse, l'augmentation de l'activité transcriptionnelle de SREBP, induite par la mutation p53, décuple les niveaux d'acide mévalonique aboutissant à l'activation de YAP/TAZ. Ces résultats révèlent une couche supplémentaire de régulation de YAP/TAZ par des signaux métaboliques (231).

Le mévalonate est le précurseur de la synthèse du cholestérol. Sa régulation à la hausse contribue à la résistance à la chimiothérapie. L'accumulation de cholestérol dans les mitochondries, entraîne une diminution de la fluidité membranaire. Diminuer le cholestérol par diminution du mévalonate pourrait favoriser la resensibilisation des chimiothérapies ayant une action mitochondriale (exemple du Témazolomide).

Par conséquent, la Simvastatine de par son action inhibitrice de l'HMG-CoA réductase bloquant la synthèse de mévalonate diminue la cholestérolémie.

On peut supposer que dans les GBM p53 muté, la statine pourrait bloquer l'axe SREBP/mévalonate inhibant de ce fait l'activation de YAP/TAZ (206).

Une potentielle synergie d'action avec les autres molécules d'intérêts est envisageable puisque contrairement au VPA et à la Metformine, la Simvastatine agirait préférentiellement si p53 est muté.

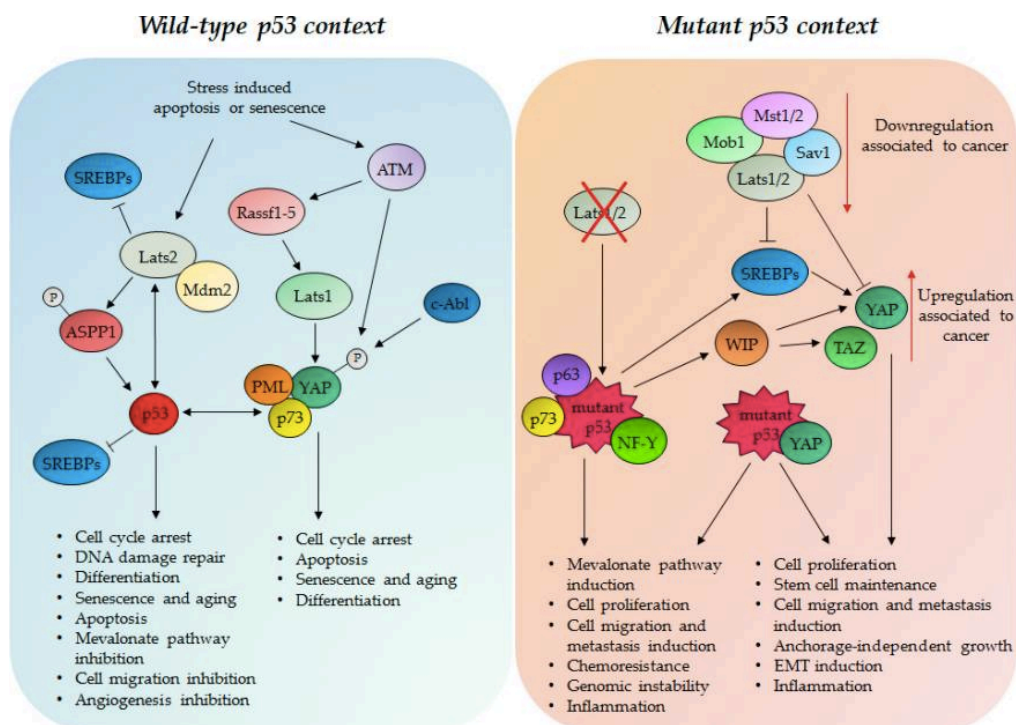


Figure 30 : Action de l'axe SREBP/Mévalonate sur la voie HIPPO en fonction du profil mutationnel p53 (232)

- FOSL1 :

Fos-like antigen 1 (FOSL1) est un facteur de transcription membre du complexe de la protéine activatrice 1 (AP-1) codant pour le gène FRA-1 (Fos-related antigen 1). Il contrôle des processus cellulaires comme la différenciation, la prolifération et l'apoptose. Bien que connu dans d'autres pathologies cancéreuses, il n'a été établi que très récemment le rôle de FOSL1 en tant que proto-oncogène dans les tumeurs cérébrales. Situé au carrefour entre le gène suppresseur de tumeur NF1 et la voie RAS/MAPK, c'est un régulateur clé de la plasticité

tumorale et de la transition épithélio-mésenchymateuse responsable de la malignité des cellules du gliome et de la progression tumorale. L'inactivation de NF1 par mutation régule à la hausse la voie RAS stimulant MAPK et PI3K/AKT/mTOR. Une étude chez la souris a démontré que la mise en silence de FOSL1 réduisait le développement tumoral ainsi que la propriété des CSG indépendamment de la présence ou non d'une mutation NF1 (233).

A l'heure actuelle, il n'existe pas d'inhibiteur spécifique de FOSL1 mais demeure un enjeu thérapeutique futur intéressant.

L'activité de FOSL1 est régulée négativement par des micro-ARN dont le principal inhibiteur est **miR-138**. Cependant il est l'un des micro-ARN suppresseur de tumeur le plus fréquemment régulé à la baisse dans le cancer assurant le maintien de l'activité de FOSL1 dans la tumorigenèse (234).

Des études in vitro ont identifié cette répression fréquente de l'expression de miR-138 dans le GBM. Elles ont montré que la surexpression transitoire du miR-138 dans les cellules de GBM a inhibé la prolifération cellulaire, le cycle cellulaire, la migration et la capacité de cicatrisation. De plus L'expression de CD44 (cluster de différenciation marqueur des CSG) est inversement corrélée à celle de miR-138 et constitue donc une cible.

Réinduire miR-138 dans le GBM permettrait donc d'endiguer la prolifération cellulaire en régulant à la baisse CD44 resensibilisant les cellules à la chimiothérapies (201).

Outre son action sur FOSL1, l'expression de miR-138 inhibe la boucle de signal CDK 4/6-pRB-E2F engendrant l'arrêt du cycle cellulaire (235).

Le VPA permet de réinduire l'expression de miR-138. Une étude dans le cancer thyroïdien a observé l'augmentation des niveaux d'expression de miR-138 suite à un traitement par VPA.

En ciblant les HDAC, le VPA est prometteur car il peut modifier de nombreux modèles d'expressions (épi)génétiques dont les micro-ARN (236).

Par l'augmentation des niveaux d'expression de miR-138, le VPA pourrait donc indirectement inhiber FOSL1 dans le GBM.

3.2 Gène suppresseur de tumeur

3.2.1 p53

La **protéine p53** joue un rôle fondamental dans la suppression tumorale se résumant notamment par l'arrêt de la division cellulaire, la sénescence et l'apoptose. C'est un censeur du stress cellulaire. 30% des GBM primaires retrouveraient une mutation du gène TP53 contre 65 à 90% des GBM secondaires. L'altération de la fonction de TP53 peut résulter non seulement d'une mutation mais également d'une amplification MDM2 ou d'une délétion CDKN2A. Au total 87 % des GBM pourraient présenter une altération de cette voie de signalisation.

Restaurer l'activité de p53 est capital puisqu'elle régule la transcription de pas moins de 150 gènes disposant en plus du contrôle cellulaire, des rôles dans l'autophagie, le métabolisme antioxydant et anti-angiogénique (237).

Dans la pathologie cancéreuse, l'activation importante de mTOR conduit au rétrocontrôle négatif de p53. Il existe donc un dialogue étroit entre ces deux voies. Jouant de cette interconnexion, la Metformine peut donc également avoir un point d'impact sur la régulation positive de p53. L'inhibition de mTOR par l'AMPK ou indépendamment de l'AMPK (par l'intermédiaire d'une voie alternative REDD1) contribue à la réactivation de p53 contrôlant négativement la glycolyse aérobie (voir déséquilibre glucidique : effet Warburg). En outre, le complexe Atg1/ULK1 joue un rôle central dans l'autophagie. Cette autophagie induite par les dommages à l'ADN est favorisée par l'activation du suppresseur de tumeur TP53, par le biais de l'activation transcriptionnelle directe de ULK1 et ULK2 (197)(238). Cependant, bien que l'AMPK induise la phosphorylation de la p53, son action métabolique serait p53 dépendante. L'action de la Metformine pourrait donc être plus efficace sur les cellules p53 fonctionnelles que celles mutées (239).

Cette tendance semble également se confirmer avec le VPA. Les HDAC sont des puissants régulateurs négatifs de l'apoptose et de l'autophagie dans la tumorigenèse.

Une étude sur modèles cellulaires de GBM humain, a permis de suggérer que le VPA renforçait l'activité du Témazolomide dans le GBM en favorisant l'apoptose par activation de la p53 et l'expression de son gène en aval PUMA (the p53 upregulated modulator of

apoptosis). L'utilisation du VPA a été associée à une OS statistiquement supérieure chez les patients aux profils p53 sauvages. La synergie d'action VPA/Témzolomide serait donc p53 dépendante. Certains mécanismes pro-apoptotiques du VPA ont été mentionnés dans un modèle murin. Le VPA par son action iHDAC, induit l'hyperacétylation de la p53 augmentant donc son expression.

Si les autres iHDAC n'ont pas montré de bénéfices significatifs en association au Témzolomide dans certains types cellulaires in vivo, le VPA quant à lui agirait par le biais d'autres mécanismes dont tous les rouages n'ont pas encore tous été élucidés (240).

3.2.2 *PTEN*

PTEN est un gène suppresseur de tumeur régulant négativement la voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR. Sa mutation entraînant l'activation constitutive de PI3K/AKT/mTOR est retrouvée dans près de 35% des GBM et associé à un pronostic défavorable (39).

PTEN peut agir aussi bien au niveau cytosolique que nucléaire. La fonction nucléaire de PTEN permet de bloquer AKT.

- Action potentielle de la Simvastatine

Une étude a démontré que dans les tumeurs dérivées de xéno greffes de cellules de cancer du sein humain, la Simvastatine inhibe de manière significative la phosphorylation d'AKT avec une atténuation concomitante de l'expression de la protéine anti-apoptotique Bcl. Pour ce faire, la Simvastatine inhibe l'activation de NF- κ B. De plus dans les cellules de souris, la Simvastatine a augmenté de manière significative la transcription de PTEN (241).

3.2.3 *Mutation TERT*

La régulation à la hausse de **TERT** conduit à un maintien anormal des télomères et résulte de mécanismes génétiques (mutation) et épigénétiques (méthylation ou micro-ARN). Elle est retrouvée fréquemment dans les GBM IDH sauvage (69%) et les oligodendrogliomes

(72%). Inversement, elle est moins présente dans les astrocytomes ou GBM IDH mutée (33,242).

STAT3 est un important régulateur de l'expression de TERT. En effet les facteurs de croissance comme PDGF, IL-6 ou le stress oxydatif qui activent STAT-3 ont rapidement régulé à la hausse l'expression de TERT (243).

- Action potentielle des statines

Dans une étude utilisant des cellules de carcinome hépatocellulaire, il a été mise en évidence la propriété de l'Atorvastatine (même mécanisme d'action que la Simvastatine) de réguler négativement TERT par la suppression de la voie IL-6/STAT-3.

Ainsi l'Atorvastatine a inhibé la croissance tumorale et induit la sénescence cellulaire (244).

- Action potentielle de la Metformine et du VPA

Il a été vu précédemment que l'augmentation de facteurs inflammatoires tels que le TNF-alpha et l'IL-6 engendraient en réponse une activation de l'AMPK régulant négativement NF-κB et STAT-3. La Metformine et le VPA permettent l'activation de l'AMPK et pourraient donc contribuer à leur échelle à l'inhibition indirecte de TERT. De plus la propriété iHDAC du VPA a un impact direct sur l'activité de STAT-3 et NF-κB (225).

Des études approfondies dans le GBM devront être réalisées pour transposer ces propriétés au sein de la cellule tumorale cérébrale.

3.3 Déséquilibre du métabolisme glucidique : Effet Warburg

3.3.1 Mécanisme (245)

Le métabolisme énergétique cellulaire est un processus regroupant un ensemble de réactions chimiques conduisant à la production d'énergie (sous forme d'ATP) à partir de substrats nutritifs. Le glucose demeure l'énergie privilégiée pour les cellules humaines disposant de la capacité de le convertir en ATP par le biais de réactions chimiques multi-étapes comprenant la glycolyse, le cycle de Krebs puis la chaîne respiratoire mitochondriale.

La glycolyse est la première voie métabolique cytosolique conduisant in fine à l'oxydation du glucose en pyruvate. Le devenir du pyruvate va dépendre par la suite des disponibilités en oxygène de la cellule. :

- En présence d'oxygène (**glycolyse aérobie**), le pyruvate emprunte la voie de la phosphorylation oxydative de la respiration mitochondriale aboutissant à la production d'ATP, d'eau et de CO₂. (Bilan énergétique de 36 ATP)

Réaction globale de la glycolyse aérobie :



- En absence d'oxygène (**glycolyse anaérobie**), le pyruvate emprunte une voie alternative et se convertit soit en lactate (fermentation lactique) soit en éthanol dans le cas des levures, (fermentation alcoolique) permettant une production moins rentable d'ATP (Bilan énergétique 2ATP) mais associé à la libération de composants intermédiaires nécessaires à la synthèse protéique.

Réaction globale de la glycolyse anaérobie (fermentation lactique) :

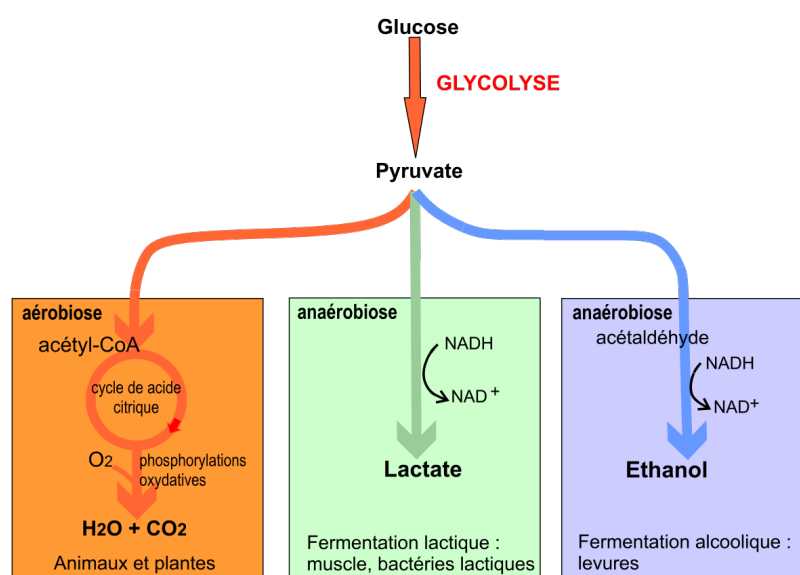
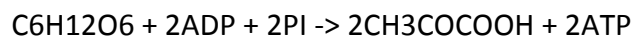


Figure 31 : Devenir du glucose dans la cellule

Dans la première moitié du 20^{ème} siècle, Le Dr Otto Warburg a décrit pour la première fois une propriété édifante de la cellule cancéreuse. Il fit mention d'une consommation massive de glucose ainsi qu'une surproduction de lactate dans la cellule cancéreuse même en condition de normoxie.

Il en résulte d'une modification métabolique de la cellule cancéreuse par l'adoption d'un métabolisme anaérobie indépendamment de la présence ou non d'oxygène. Ce phénomène témoigne d'une caractéristique cruciale de la transformation maligne des cellules et a par la suite été confirmé par de nombreux chercheurs.

Cette fermentation aérobie (glycolyse aérobie) associée à l'ankylation de la phosphorylation oxydative, rebaptisé « **effet Warburg** » est donc un processus adaptatif répondant aux besoins énergétiques et en biomasse de la cellule cancéreuse nécessaire à sa croissance et à sa prolifération.

Longtemps présumé comme la cause initiale du cancer, les progrès en biologie moléculaire permettent aujourd'hui de révéler certains mécanismes responsables de l'instauration de « l'effet Warburg ». Cette modification métabolique serait sous l'égide de nombreux facteurs oncogéniques constituant donc une cible thérapeutique à explorer (193).

En effet, certaines altérations de régulateurs transcriptionnels comme **E2F**, **Myc**, **p53** ou encore **HIF-1** ont été démontrés comme favorisant la glycolyse aérobie par augmentation de l'expression des transporteurs de glucose et des enzymes glycolytiques.

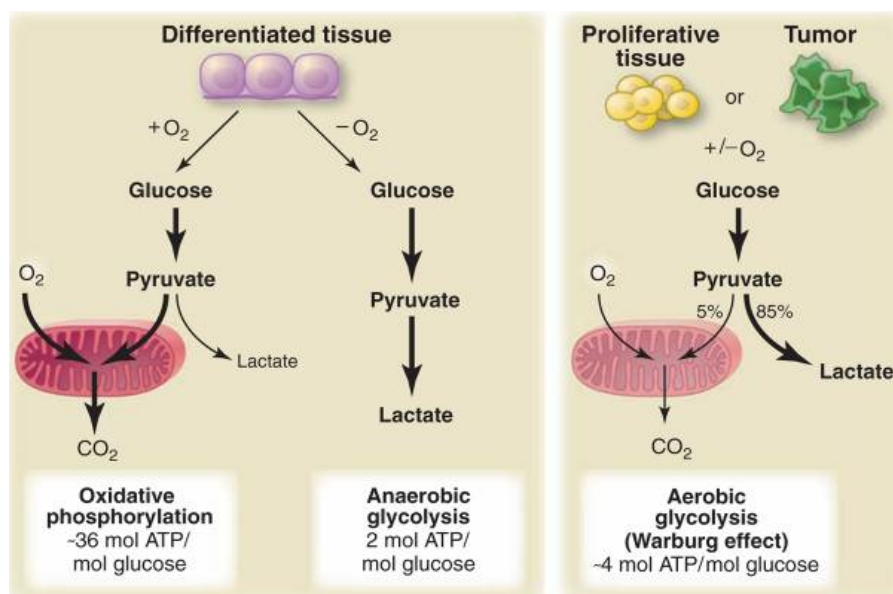


Figure 32 : Différences entre la phosphorylation oxydative, la glycolyse anaérobie et la glycolyse aérobie (effet Warburg) (246)

Outre son rôle dans les processus cellulaires, la suractivation retrouvée dans le GBM de la voie PI3K/AKT/mTOR est également liée au métabolisme cellulaire. De plus, l'augmentation de l'activité de mTOR induit la synthèse de HIF-1 α disposant donc un rôle aussi bien dans l'angiogenèse que dans la glycolyse aérobie.

Bloquer l'apport énergétique des cellules en inhibant leur reprogrammation métabolique pourrait conduire à leur mort et serait donc une piste intéressante à explorer (193).

3.3.2 Action de la Metformine et du VPA sur l'effet Warburg

L'AMPK est à l'épicentre de la régulation du métabolisme anabolique et catabolique. Des études in vivo ont montré que les cellules ayant perdu la sous unité α catalytique de l'AMPK présentaient une glycolyse aérobie accrue marquée par une production de lactate. Parallèlement à la délétion de l'AMPK α , les chercheurs ont observé une augmentation de l'expression de l'HIF-1 α en condition normoxique. Réguler négativement AMPK engendre donc l'induction de l'effet Warburg.

Enfin la suppression de la signalisation HIF-1 α dans les cellules déficientes en AMPK α a réduit leur taux global de prolifération (247).

Réinduire l'expression de l'AMPK faiblement exprimée dans les cellules cancéreuses notamment de GBM et réguler négativement l'expression de l'HIF-1 α pourraient donc contribuer à un « anti effet Warburg ».

- Action de la Metformine sur l'effet Warburg

De par la réduction des niveaux d'IGF1 et son action sur l'AMPK, la Metformine contribuerait donc théoriquement à lutter contre l'effet Warburg. L'activation chronique de l'AMPK permettrait d'inhiber la glycolyse aérobie, l'angiogenèse et l'invasion tumorale mTOR médiées.

Il est à noter que la Metformine peut également inhiber mTOR indépendamment de l'AMPK par le biais de Rag/GTPase.

Enfin l'effet Warburg est un élément critique pour le maintien des propriétés des cellules souches du GBM ainsi que leur autorenouvellement. La Metformine pourrait donc lutter également contre la chimio et radio-résistance par la réversion de l'effet Warburg (195).

- Action du VPA sur l'effet Warburg

Les HDAC régulent de nombreux facteurs responsables de la glycolyse aérobie. Principalement dû à son action iHDAC I et IIa, le VPA va permettre la régulation à la baisse de certains de ces facteurs contribuant à faire face à ce dérèglement métabolique.

Une étude dans le cancer rénal a montré la propriété du VPA à réguler négativement HIF1- α en ciblant HDAC II. De même, dans des cellules de neuroblastome, le VPA a supprimé la glycolyse aérobie en régulant négativement E2F1 (196,248).

Par la multiplicité des facteurs contrôlant la cascade glycolytique, des synergies entre eux demeurent apportant une complexité supplémentaire à l'effet Warburg. Ainsi nous pouvons imaginer la possibilité d'une synergie d'action dans le GBM de la Metformine et du VPA dans l'annihilation des processus de glycolyse aérobie par leurs actions sur des facteurs distincts.

4 Modulation épigénétique et GBM

4.1 Définition

L'épigénétique correspond à la modification de l'expression des gènes sans modifier la séquence primaire d'ADN. Ce phénomène est transmissible au cours des divisions cellulaires et réversible. L'expression des différents marqueurs épigénétiques est directement influencée par l'exposition environnementale. Ce processus dynamique change le fonctionnement des gènes par effet « ON » « OFF » et agit via 3 mécanismes : **méthylation de l'ADN, modifications post traductionnelles des histones et présence d'ARN non codant (dont les micro ARN)**. Ces mécanismes influencent la reconnaissance et la lecture du gène permettant sa transcription par l'ARN polymérase (249).

4.2 Méthylation MGMT et îlot CpG

La méthylation est la clé de voute de l'épigénétique communément associée à la répression transcriptionnelle des gènes. Elle correspond à l'ajout par l'ADN méthyltransférase d'un groupement CH₃ (méthyle) au niveau du carbone 5 d'une cytosine faisant partie d'un **dinucléotide cytosine phosphate guanine (CpG)** situé au niveau de la région promotrice du gène. Ces CpG ne sont pas répartis uniformément dans le génome mais se concentrent notamment dans des zones nommées « **îlot CpG** » retrouvées dans plus de 60% des régions promotrices du génome humain. Leur méthylation réprime la fixation de l'ARN polymérase et empêche l'accès au facteur de transcription tandis que la déméthylation les favorise.

Dans la pathologie cancéreuse la perturbation des profils de méthylation de l'ADN avec notamment la méthylation des îlots CpG régulant négativement les gènes suppresseurs de tumeurs ou la déméthylation activant certains oncogènes concourent à la tumorigenèse (250).

La **MGMT** est une enzyme impliquée dans la réparation des cassures double brins de l'ADN. Elle permet entre autre d'éliminer les radicaux alkylants formés par la chimiothérapie la rendant ainsi ineffective. La méthylation de son promoteur conduit à l'inhibition de la transcription de MGMT ne pouvant ainsi plus s'exprimer. Cette méthylation permet la restauration de la sensibilité des chimiothérapies alkylantes à l'instar du Témzolomide. Cette méthylation est présente dans près de 40% des GBM (29).

La méthylation CpG du promoteur de MGMT est donc un facteur prédictif de réponse au traitement combiné de radio chimiothérapie dans les GBM.

Des études in vitro et in vivo ont démontré la capacité du VPA à resensibiliser les cellules de GBM résistantes au Témzolomide. Pour ce faire, il a été mis en exergue une diminution de l'expression de la MGMT par le VPA. L'association in vivo du Témzolomide et du VPA a permis l'inhibition significative de la croissance tumorale chez la souris comparée au groupe témoin sans VPA (251).

Effectivement, le VPA permet d'induire la méthylation du promoteur MGMT. Pour démontrer cette propriété, l'équipe de *Zhiying Li et al* a isolé 3 populations de cellules

souches de gliomes G1, G2 et G3. G1 présentait une méthylation partielle initiale de MGMT puis est devenue complètement méthylée après usage du VPA. Les cellules G2 et G3 quant à elles exprimaient MGMT et sont devenues partiellement méthylées après usage du VPA (252). Cet attribut potentiel du VPA pourrait bouleverser l'algorithme décisionnel de la prise en charge des patients âgés atteint de GBM quel que soit le KPS. En effet à l'heure actuelle, l'expression de MGMT décourage l'utilisation du Témzolomide dans leur prise en charge. La répression de MGMT par l'utilisation du VPA comme anti-épileptique pourrait donc impliquer une révision du processus actuel.

4.3 Décacétylation des Histones

Les **histones** sont des protéines chargées positivement autour desquelles l'ADN (chargé négativement) va s'enrouler pour former l'unité fondamentale de la chromatine : **le nucléosome**. Cette structure formée d'un octamère d'histones (2 paires H2A, H2B, H3, H4) et de 147 bases d'ADN se condense formant des fibres de chromatine à des degrés de compaction variable conditionnant l'expression génique :

- **L'hétérochromatine** représente le degré de compaction de l'ADN le plus élevé rendant impossible l'expression des gènes.

- **L'euchromatine** représente le degré de compaction de l'ADN le plus faible facilitant l'accessibilité des complexes enzymatiques permettant l'expression des gènes.

Au niveau de la queue des histones (partie N-Terminale), des modifications épigénétiques peuvent avoir lieu au niveau de ces protéines faisant passer la chromatine d'un état de compaction à un autre conditionnant ainsi l'expression des gènes.

Ces altérations épigénétiques sont des modifications post-traductionnelles de 3 ordres :

- Acétylation (euchromatine) ou désacétylation (hétérochromatine)
- Méthylation (hétérochromatine) ou déméthylations (euchromatine)
- Phosphorylation ou déphosphorylation

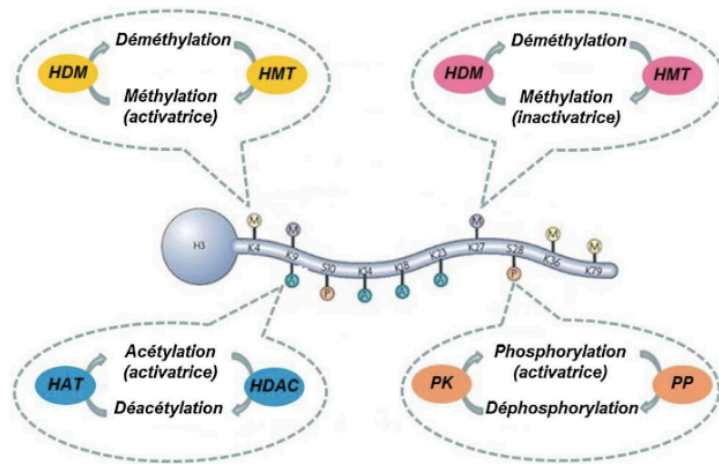


Figure 33 : Modifications post-traductionnelles des histones (253)

HAT : Histone acétyltransférase

HMT : Histone méthyltransférase

HDAC : Histone déacétylase

PK : Protéine kinase

HDM : Histone déméthylase

PP : Protéine phosphatase

Dans la pathologie cancéreuse, la rupture de l'équilibre d'acétylation des histones joue un rôle décisif dans l'initiation et la progression tumorale. Un taux important de désacétylations réduit en silence de nombreux gènes suppresseurs de tumeurs aux rôles pro-apoptotiques et anti-prolifératifs.

Des médicaments iHDAC ont vu le jour et ont démontré une efficacité incontestable dans certaines pathologies notamment en onco-hématologie. Dans le GBM, trois molécules inhibitrices des HDAC ont été testées : **Le Vorinostat, Panobinostat et Romidepsin.**

Aucune de ces 3 molécules n'a démontré d'efficacité significative dans les différents essais de phase II menés dans le GBM (157–160).

Connaissant le risque épileptique d'un patient atteint de GBM, une prophylaxie anti épileptique (AED) est proposée presque systématiquement. Si le Keppra® semble l'AED de référence, le VPA pourrait s'avérer intéressant de par ses propriétés HDACi.

En effet, une étude clinique rétrospective rend compte d'une amélioration de la survie globale par l'association d'une radiochimiothérapie avec du VPA comparé à un autre AED. (Médiane SG 16.9 mois vs 13.9 mois) (190). Cette tendance semble s'étoffer via la

réalisation d'une méta analyse effectuée sur 1634 patients bien que présentant certains biais méthodologiques avec aucune étude comparative randomisée réalisée à ce jour (191).

Une étude clinique de phase II associant le VPA à la radiochimiothérapie montre des résultats encourageants quant à l'utilisation de cet AED dans le GBM. Réalisée sur 37 patients, cette étude a démontré un bénéfice de l'utilisation du VPA à la posologie de 25mg/kg divisée en deux doses journalières en concomitance avec la radiochimiothérapie décrite par le protocole de STUPP. La survie globale médiane et la survie sans progression étaient de 29,6 mois et 10,5 mois respectivement. La toxicité du VPA était comparable aux données historiques.

Le VPA permettrait donc de radiosensibiliser les cellules cancéreuses et de jouer un double rôle AED et anti-cancéreux support de la radiochimiothérapie par Témzolomide. Ces résultats encourageants suggèrent la réalisation d'un essai de phase III randomisé (192).

4.4 ARN non codant (Micro ARN)

4.4.1 Définition

L'expression d'un gène dépend de l'état de condensation de la chromatine. Seul l'euchromatine (état décondensé) permettra l'expression génique et la transcription d'ADN en un brin d'ARN messenger à partir duquel la synthèse protéique s'effectuera au cours de la traduction.

Bien que la majorité du génome soit transcrite, seule une infime fraction (moins de 2%) est traduite par la suite en protéine. Ceci s'interprète par la présence d'une importante quantité d'ARN non codants dont leur importance dans la régulation génomique et dans le contrôle des différents processus cellulaires a longtemps été sous-estimée. Il ne fait plus débat aujourd'hui qu'ils agissent comme de puissants régulateurs épigénétiques au niveau post-transcriptionnel.

Le nombre de nucléotides les composant permet de les classer en 2 groupes : les **longs ARN non codants** (plus de 200 nucléotides) et les **petits ARN non codants** (moins de 200 nucléotides). Parmi les petits ARN non codants figurent les micro-ARN (miR). Ce sont de petits ARN non codants de 18 à 25 nucléotides qui ont pour fonction de réduire en silence l'expression des gènes par un processus de modification post-transcriptionnelle. L'inhibition

de la traduction dépend du degré de complémentarité entre la séquence du miR et son ARN messenger cible.

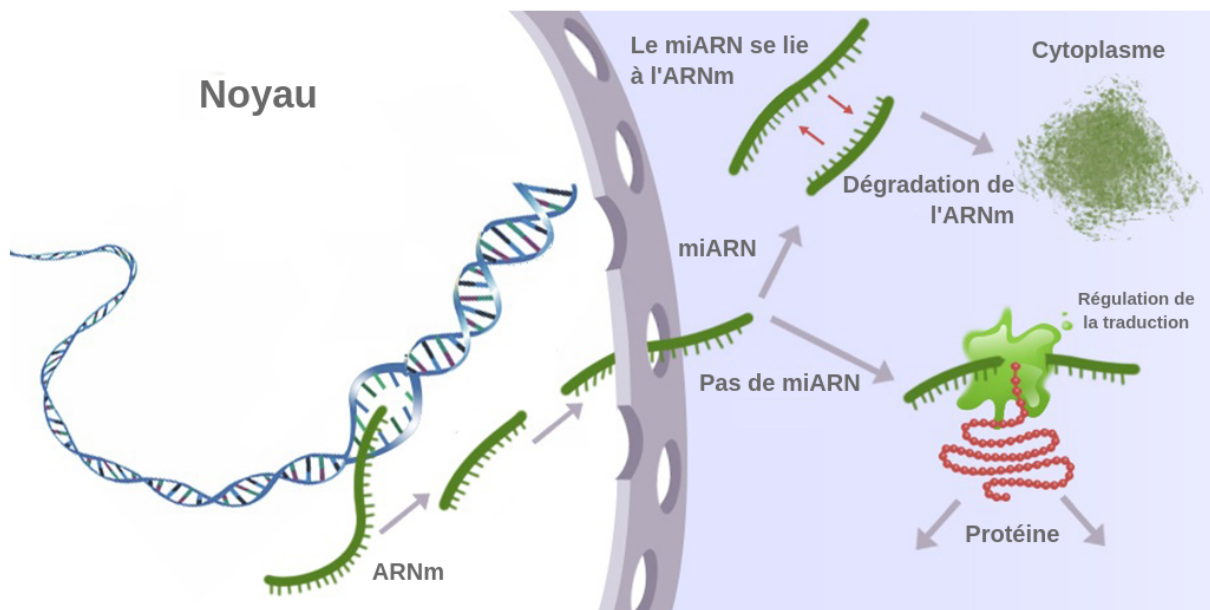


Figure 34 : Mode d'action des miR

Dans le GBM, des dysrégulations du niveau d'expression de certains miR ont été observées. La surexpression ou la sous-expression de ces ARN non codants sont responsables de la prolifération maligne incontrôlée, de la radiochimiorésistance, de la malignité des cellules souches et de leur capacité d'autorenouvellement (254,255). Ils peuvent donc se présenter comme suppresseurs de tumeurs ou oncogènes suivant leurs profils.

Les données de la littérature mentionnent que près de 253 miR peuvent se voir surexprimés dans le GBM en comparaison aux tissus cérébraux normaux. 95 sont retrouvés modulés à la baisse et 17 font l'objet de contradiction. Parmi ces 365 miR analysés, 85% d'entre eux n'ont pas encore à ce jour été caractérisés fonctionnellement.

miRNA	Principales cibles	Conséquence de leur sous expression dans le GBM
miR-7	FAK, EGFR	- Augmentation de la migration, invasivité, prolifération, volume tumoral in vivo
miR-34a	c-Met, Notch 1/2, PDGFRA, Msi1	- Augmentation de la prolifération, invasivité, volume tumoral in vivo - Diminution de la différenciation et de l'apoptose
miR-128	Msi1, EGFR, PDGFRA, E2F3a	- Augmentation de l'angiogenèse, prolifération, volume tumoral in vivo
miR-137	CDK6, Msi1, Cox-2	- Augmentation prolifération, invasivité, migration, volume tumoral in vivo
miR-138	Msi1, FOSL1	-Augmentation de la prolifération

Tableau IX : Principaux micro-ARN sous-exprimés et conséquences dans le GBM

miRNA	Principales cibles	Conséquence de leur surexpression dans le GBM
miR-10b	HOXD10	- Augmentation de l'invasivité
miR 17-92	TGFb β , POLD2, CAMTA1	- Augmentation de l'angiogenèse croissance, la prolifération - Diminution de l'apoptose
miR-21	RECK, Caspases, PTEN	- Augmentation de l'invasivité, de la prolifération, du volume tumoral in vivo - Diminution de l'apoptose et de la chimiosensibilité
miR-93	Integrin-B β 8	- Augmentation de l'angiogenèse, du volume tumoral in vivo et de la prolifération
miR-221/222	AKT, PUMA, P27, CDK1B	- Augmentation de la prolifération, de l'invasivité, du volume tumoral in vivo - Diminution de l'apoptose

Tableau X : Principaux micro-ARN surexprimés et conséquences dans le GBM

miR-21 est le plus fréquemment retrouvé régulé à la hausse dans le GBM. 44 à 100% présenteraient cette dysrégulation et pourrait être associé à une survie plus faible des patients. La surexpression de miR-21 est liée à trois voies clés dans l'oncogenèse : TGF β , p53 et les voies d'apoptose. miR-21 agirait donc comme un oncogène dans le GBM.

Des travaux ont établi que la réduction de l'expression de miR-21 était associée à une diminution des niveaux de protéines des composants majeurs des voies de signalisation liées à la prolifération comme par exemple NF- κ B et Ras. L'extinction de miR-21 est également affiliée à l'augmentation significative de la radio et chimio sensibilité.

De même l'hyperexpression de **miR-221/222** se retrouve particulièrement dans les GBM avec un taux accru de prolifération. Il cible notamment le gène pro-apoptotique PUMA en l'annihilant. Il a été démontré que la réversion de l'expression de miR-221/222 était corrélée à une augmentation de l'apoptose (par augmentation de PUMA et diminution de Bcl-2) ainsi qu'une amélioration de la radiosensibilité (199,256).

4.4.2 *Implication de la Simvastatine, Metformine et Acide Valproïque dans la modulation d'expression des micro-ARN*

- Metformine :

La Metformine a un impact sur l'angiogenèse et sur de nombreux processus cellulaires via la modulation d'expression de micro-ARN. Des travaux évaluant l'usage de la Metformine sur certaines lignées cellulaires ont montré sa capacité à moduler l'expression de certains micro-ARN d'intérêts retrouvés dans le GBM.

En effet, **miR-21 est remarquablement régulé à la baisse par la Metformine** d'une manière dose et temps dépendants dans certaines lignées cellulaires cancéreuses. En empruntant la voie du TGF- β et en ciblant PTEN, miR-21 concourent à l'angiogenèse et à la prolifération cellulaire par médiation des voies dépendantes d'AKT et ERK.

Dans les cellules de carcinome mammaire, rénal, colorectal et cutanée l'inhibition de miR-21 par la Metformine a permis d'induire l'expression de PTEN ainsi que des activateurs de l'AMPK conduisant à l'inhibition de mTOR et des axes de signalisation cibles aboutissant in fine à l'arrêt du cycle cellulaire et de la prolifération.

L'induction de l'arrêt du cycle cellulaire et l'apoptose est également permise par la régulation positive de miR-34a dans les cellules de cancer du rein et colorectal. La Metformine en induisant l'expression de **miR-34a** agirait comme un inhibiteur de CDK4/6 et favoriserait l'expression de p53 dans les cellules cancéreuses p53 sauvages.

De plus, dans les lignées cellulaires de cancer du poumon humain, la Metformine réduit l'expression de **miR-222** aboutissant à l'abondance des protéines p27, p57 et PTEN dans les cellules exposées. Enfin, elle régule à la hausse **miR-7** pouvant de surcroit suspendre les voies de signalisation AKT/mTOR, MAPK/ERK et NF-κB.

En somme, ces différents miR modulés par la Metformine sont parmi les principaux retrouvés dans le GBM. Aucune étude n'a pour l'heure actuelle évaluée l'impact de la Metformine sur la modulation d'expression des miR dans le GBM. Nous sommes amenés à penser que de par la bonne pénétration de la BHE de la Metformine, une action semblable pourrait être envisagée (202,203).

- VPA :

En ciblant les HDAC, le VPA peut influencer sur divers modèles d'expressions géniques dont les miR. Plusieurs niveaux d'expressions de miR oncogènes ou suppresseurs de tumeurs sont régulés par le VPA mais seul le **miR-138** semble d'intérêt dans le GBM.

Le VPA induit l'expression de miR-138 conduisant à l'arrêt du cycle cellulaire et de la prolifération (voir chapitre sur FOSL1).

- Simvastatine :

Peu d'études se sont encore intéressées à la modulation des miR par la Simvastatine. Cependant une partie du mécanisme d'action des statines serait associée à certains miR.

Les statines augmentent la libération de monoxyde d'azote participant à la protection cardiovasculaire et à l'amélioration de la fonction endothéliale. Cette libération serait dépendante de certains miR dont **miR-221 et miR-222**. La régulation à la baisse de miR-221 par la Simvastatine exerce un effet bénéfique sur la libération de monoxyde d'azote.

Bien que la transposition de la dysrégulation de miR-221 dans les GBM soit délicate, cette nouvelle piste devrait encourager la réalisation d'essais pour assimiler cette propriété dans le GBM (204).

5 Implication des cellules souches tumorales dans le GBM

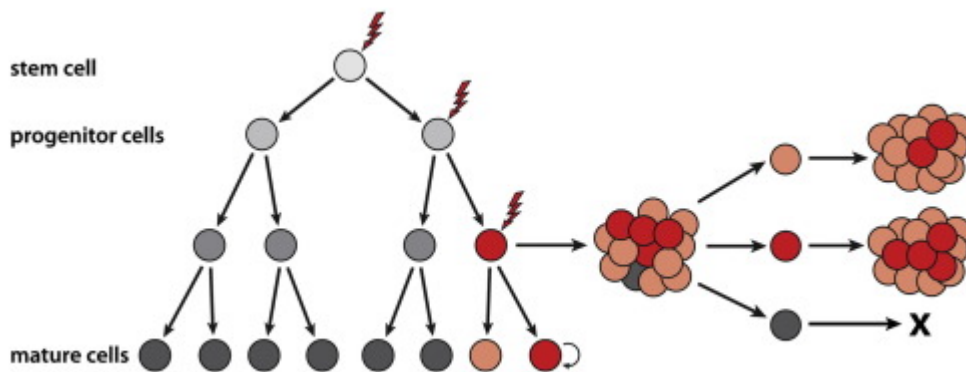
5.1 Définition

Les **cellules souches cancéreuses** se définissent comme un réservoir de cellules immatures multipotentes ayant la capacité de donner naissance à des cellules cancéreuses hétérogènes ou de régénérer la tumeur originelle. Elles ont la capacité exclusive d'autorenouvellement, de différenciation, de prolifération et de maintien de la tumeur.

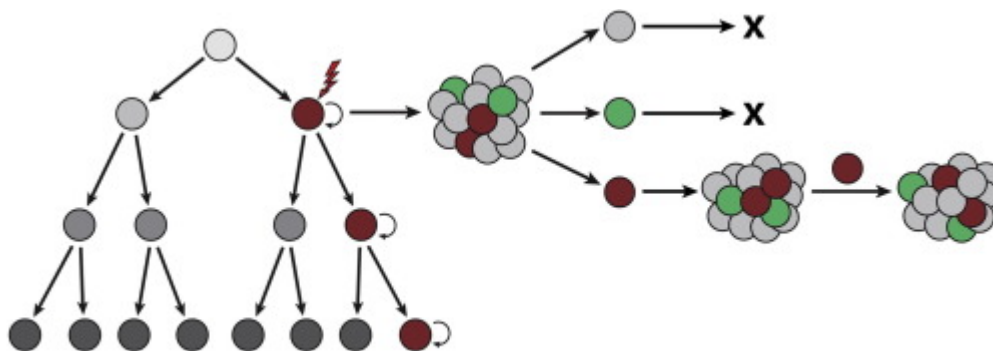
Initialement décrites en onco-hématologie (dans la leucémie aigüe myéloïde), leurs présences ont par la suite été démontrées dans diverses tumeurs solides telles que la néoplasie mammaire et le GBM (257).

Deux principaux mécanismes cellulaires à l'origine de la gliomagenèse ont été revendiqués pour élucider l'hétérogénéité intratumorale :

- **Théorie de l'évolution clonale (modèle stochastique)** : les travaux de Nowell en 1976 considèrent que la propagation tumorale suivrait la théorie d'évolution Darwinienne. Les cellules clones tumorales donnant naissance à des cellules filles vont acquérir au cours de leur multiplication diverses altérations génétiques et/ou épigénétiques dont seul le clone le plus apte à survivre au microenvironnement tumoral subsistera. Dans ce concept, toutes les cellules issues de ce clone contribueront au potentiel tumorigène de manière équivalente. L'hétérogénéité tumorale résulte de la diversité des cellules présentes au sein de la tumeur.
- **Théorie des cellules souches cancéreuses (modèle hiérarchique)** : Ce modèle postule une organisation hiérarchique au sein de la tumeur dans laquelle les cellules souches constituent le sommet de la pyramide (Cellule initiatrice de tumeur). Ce petit sous-ensemble de cellules a la capacité d'entretenir la tumorigenèse et de générer de l'hétérogénéité par la différenciation. Par le biais de mutations, les cellules souches acquièrent des propriétés semblables aux cellules souches neurales (CSN) responsables de l'autorenouvellement, du maintien et de la (ré)génération tumorale. Les autres cellules différenciées de la lignée ne disposent pas quant à elles de capacités tumorigéniques (257,258).



Modèle stochastique



Modèle hiérarchique

Figure 35 : Schéma du modèle d'évolution clonale et du modèle hiérarchique (258)

Aucune de ces deux théories ne se réfute et peuvent coexister au sein de la même tumeur complexifiant la compréhension des mécanismes oncogéniques.

- Origine des CSG :

L'origine des CSG reste encore débattue bien que la similitude des profils d'expressions géniques suggère que les CSG proviendraient de la transformation maligne de CSN. En effet, il a été mis en évidence la persistance de CSN à l'âge adulte dans deux zones principales du cerveau, à savoir la zone sous-ventriculaire (ZSV) bordant la paroi des ventricules latéraux et la zone sous-granulaire (ZSG) du gyrus denté de l'hippocampe (259). Les CSG partagent de nombreuses similitudes avec les CSN en ce qui concerne l'autorenouvellement, le maintien d'un organe ou d'une tumeur et la génération de cellules différenciées. En outre, pour conserver leur phénotype souche, elles partagent avec les CSN

certaines facteurs de transcription et marqueurs « souches ». Leur activité ainsi que leur maintien requiert une régulation par des voies de signalisation semblables comme Notch, WNT et Sonic Hedgehog (260).

Cependant, l'origine des CSG reste encore un point d'ombre et pourrait également résulter d'une dédifférenciation de cellules matures ayant acquis la capacité d'autorenouvellement.

- Microenvironnement des CSG :

Pour préserver le caractère souche des cellules cancéreuses, des microenvironnements cellulaires spécialisés, appelés **niches**, sont nécessaires. Deux niches complémentaires ont été décrites dans le GBM :

- **Niche périvasculaire :** Les CSN et CSG baignent dans un microenvironnement composé de vaisseaux (péricytes et cellules endothéliales) et de protéines de la matrice extracellulaire comme les intégrines et interleukines. Un lien fort entre CSG et angiogenèse a ainsi été démontré par plusieurs études. En recrutant les cellules endothéliales, les CSG peuvent exprimer de forts taux de VEGF. Les CSG peuvent remodeler leur microenvironnement en se différenciant elles-mêmes en cellules endothéliales et péricytes tout en transmettant leurs altérations génétiques. Les CSG sont donc directement impliquées dans la formation de néovaisseaux.

Cet environnement périvasculaire est de plus marqué par l'implication de protéines de la matrice extracellulaire. L'interleukine $\alpha 6$ et $\alpha 8$ ou la laminine 2 secrétées par les cellules endothéliales ont un rôle important dans la propagation tumorale et le maintien de CSG.

- **Niche Hypoxique :** En plus d'une vascularisation aberrante, le GBM est caractérisé par son architecture cellulaire qui lui est propre et dont les apports cellulaires en oxygène se raréfient de la périphérie au centre nécrotique. Globalement, l'hypoxie règne dans le GBM et contribue à l'invasion tumorale et à la résistance thérapeutique par l'expression résultante d'HIF1 α . De nombreux travaux ont démontré l'importance HIF1 α dans le maintien de l'autorenouvellement des CSG tandis que le knockdown de HIF-1 α , ou l'inhibition des voies PI3K-Akt ou ERK réduisent cet effet.

La densité de CSG notamment CD133+ est particulièrement importante au niveau des régions pseudo-palissadiques bordant le centre nécrotique où l'expression d'HIF1 α y est particulièrement importante (261,262).

En outre, l'hypoxie pourrait favoriser l'induction de l'expression de CD133 et la signalisation. Noch dans les CSG, deux puissants éléments régulateurs de leurs propriétés.

- Marqueurs souches :

CD133 (ou prominine-1) est le marqueur de CSG le plus étudié actuellement dont l'expression est retrouvée dans les CSN au cours du développement embryonnaire et réprimée dans les cellules différenciées. Il n'est cependant pas un marqueur universel pour identifier les cellules souches. Bien qu'il a été constaté initialement que seules les cellules CD133+ disposaient d'un caractère souche avec un rôle dans le maintien et la tumorigénicité, il est suggéré aujourd'hui que d'autres interactions microenvironnementales peuvent compléter la fonction des CSG CD133-.

La connaissance du profil CD133 des CSG pourrait s'avérer déterminante dans les années à venir. Des études ont montré que son expression était corrélée à une résistance thérapeutique accrue par le biais de certains mécanismes anti-apoptotiques assombrissant le pronostic des patients associés à ce profil moléculaire.

Nestin est une protéine de filament intermédiaire exprimée au niveau du cytosquelette des cellules souches neuro-épithéliales. Uniquement exprimée dans les cellules indifférenciées, elle dispose d'un rôle dans la prolifération et l'invasivité des cellules. La co-expression de Nestin et CD133 dans les CSG est corrélée à l'agressivité tumorale (261,262).

D'autres biomarqueurs hautement exprimés concourent à la régulation positive des CSG (tableau XI). Dans la plupart des CSG, plusieurs biomarqueurs sont exprimés simultanément et ne sont pas exclusifs mutuellement mais manquent encore à l'heure actuelle d'une caractérisation spécifique.

Marqueurs moléculaires des CSG

Marqueurs membranaires	CD133
	CD15
	CD44
	CXCR4
	Intégrine $\alpha 6$
	A2B85
Protéines (cytoplasmique et nucléaire)	Nestin
	Musashi-1
	Bmi-1
	Nanog
	L1CAM
Facteurs de transcription	Sox2
	Oct4
Enzymes	ALDH1

Tableau XI : Sélection des marqueurs moléculaires étudiés dans les CSG (263)

- Voies de signalisation impliquées :

De nombreux sous-ensembles de CSG et de CSN semblent partager des voies de signalisation régulatrices communes pour maintenir leurs propriétés singulières.

Trois principales voies dont l'activité est particulièrement accrue dans le GBM prennent part à l'entretien et au microenvironnement des CSG : (Voir partie 2 : Nouvelles stratégies de prise en charge et perspectives:)

- **Voie WNT/ β -caténine** : La signalisation WNT à un rôle dans l'auto renouvellement et le développement du SNC, notamment des cellules souches neurales.

- **Voie NOTCH** : Il a été mis en évidence une activité accrue de Notch dans les cellules souches de GBM annihilant la différenciation et maintenant leurs propriétés associées à un phénotype agressif. La tumorigenèse ainsi que la résistance aux thérapeutiques en sont les conséquences.

- **Voie Sonic Hedgehog** : La voie Hedgehog est impliquée dans l'embryogénèse, la prolifération, la différenciation cellulaire, l'organogénèse ainsi que dans le maintien et la réparation des tissus chez l'adulte

D'autres voies de signalisation retrouvées dans le GBM sont intimement connectées au maintien des propriétés des CSG (NF- κ B, JAK/STAT-3) et, tout comme les autres voies décrites précédemment, contribuent au phénotype agressif et aux processus de radiochimiorésistance des CSG.

Les CSG constituent une sous-population tumorale intrigante de par leurs propriétés à échapper aux thérapeutiques actuelles. De plus en plus de recherches s'accordent pour affirmer que le manque de spécificité des thérapeutiques à cibler ces CSG conduit inéluctablement à la récurrence tumorale. Nous allons voir quels sont les principaux mécanismes intrinsèques et adaptatifs rendant les CSG insensibles aux traitements.

5.2 Rôle dans la radiorésistance

Les rayonnements ionisants induisent la mort des cellules clonogéniques via des lésions à l'ADN. Les cassures double-brin sont les déterminants majeurs de la mort cellulaire radio-induite. La radiosensibilité de nos cellules va être liée à leur capacité intrinsèque de réparer ces lésions. Des voies de réparations existent au sein des cellules et divergent selon la source du dommage et du type de lésion (264).

La récurrence et la récurrence quasiment inéluctables du GBM témoignent d'une radiochimiorésistance des cellules. Face au stress provoqué par la radiothérapie, l'équipe de *Bao et al* explicite la capacité des CSG à modifier leurs caractéristiques en augmentant la performance des mécanismes réparateurs d'ADN et en augmentant l'activation préférentielle de la réponse du point de contrôle des dommages à l'ADN. Dans cette étude, la population de cellules tumorales CD133+ s'est vue enrichie après la radiothérapie et ont

survécu massivement en comparaison à la culture des cellules CD133-. L'interprétation de ce constat montre que les CSG récupèrent plus rapidement et sont capables de réparer plus efficacement les lésions de l'ADN radio-induites dans les GBM. L'activation de protéines de points de contrôle des dommages à l'ADN comme **ATM** (ataxie télangiectasie mutée), la protéine du point de contrôle du cycle cellulaire **Rad17** et les kinases du point de contrôle **Chk1 et Chk2** (Checkpoint kinase) seraient responsables de cette radiorésistance. Leur inhibition conduit à atténuer la capacité de croissance tumorale des CSG.

Le temps de doublement de la population se retrouve augmenté dans les lignées souches et l'activation de Chk1 et Chk2 était plus prononcée dans les cellules CD133+ par rapport aux cellules CD133-. D'autres marqueurs des CSG comme L1CAM ou Bmi-1 ont également démontré leur implication dans le renforcement des points de contrôle.

Les voies de signalisation permettant le maintien des CSG contribuent aussi à cette radiorésistance. Nous avons vu précédemment que l'activation d'AKT et c-Met ont un rôle critique dans la radioprotection. MET entraîne une sélection positive des CSG irradiées, en favorisant la réponse aux dommages de l'ADN via **AKT**, qui soutient notamment l'activation de ATM et des effecteurs en aval de la réparation de l'ADN. L'activation constitutive de NOTCH dans les CSG leur confère une radioprotection par l'activation de la voie PI3K/AKT et de protéines de survie anti-apoptotiques. Les cellules de GBM appariées avant et après la radiothérapie ont révélé que la voie Wnt était préférentiellement activée dans les cellules de GBM post radiation (265–267).

Outre ces facteurs intrinsèques, le contexte microenvironnemental dans lequel se trouve les CSG conditionne la réponse radiothérapeutique : l'effet biologique de la radiothérapie est basé sur un principe d'oxydation des cellules. La radiolyse de l'eau aboutie à la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) créant par la suite un stress cellulaire responsable d'une instabilité mortelle. Dans les niches hypoxiques, l'absence d'O₂ empêche la radiolyse de l'eau et donc la formation de ROS. L'effet de la radiothérapie est de facto significativement réduite. De même, au sein de la niche périvasculaire, la sécrétion d'agents de résistance angiogénique comme le VEGF compromet la radiosensibilité.

5.3 Rôle dans la chimiorésistance

Les mécanismes de résistance cytotoxiques des CSG sont multiples. L'activité cytotoxique des chimiothérapies repose principalement sur le blocage des cellules à divisions rapides. Les CSG disposent donc d'une résistance naturelle aux agents chimiothérapeutiques de par leur **caractère quiescent**.

Leurs typicités génétiques et épigénétiques leur confèrent une résistance à la chimiothérapie par l'efficacité de leurs systèmes de réparation de l'ADN et anti-apoptotiques vus précédemment. Des études ont montré une élévation accrue de l'expression de MGMT dans les CSG diminuant leur sensibilité à la mort induite par le Témzolomide. De même qu'après la radiothérapie, l'enrichissement de marqueurs de surface des CSG notamment CD133+ par rapport aux tumeurs nouvellement diagnostiquées limite l'efficacité de l'exposition aux agents alkylants.

Enfin, les CSG présentent un mécanisme moléculaire de résistance aux médicaments. Elles expriment abondamment des systèmes de pompe d'efflux avec notamment le **transporteur ABC** (ATP-binding cassette) permettant l'évacuation des chimiothérapies en dehors des cellules par l'utilisation de l'énergie de l'hydrolyse de l'ATP. Les CSG acquièrent donc une pseudo imperméabilité aux agents de chimiothérapies. Les expressions d'AKT, de CD133 ainsi que les voies de signalisation NOTCH et Sonic Hedgehog sont régulés à la hausse post chimiothérapie et contribuent à la régulation positive des transporteurs ABC (265).

5.4 Actions potentielles des molécules d'intérêts sur l'inhibition du caractère souche des cellules

- Metformine :

Bien que certaines études précédentes manquent de spécificité sur l'action de la Metformine sur les CSG, nous pouvons tout de même résumer nos observations décrites antérieurement de ses attributs :

- Elle disposerait de la capacité d'annihiler le processus d'effet Warburg (227).
- Par l'activation d'AMPK, la Metformine régulerait négativement les voies NF-κB et STAT-3 y compris dans les CSG (268).
- Elle permet la réduction des niveaux d'IGF-1 et mTOR (227).

- Elle permettrait la régulation positive de certains miR dont miR-34 (203).

➤ Qu'en est-il de son action potentielle sur les CSG ?

Une étude in vivo (195) a montré sur culture enrichie de CSG dérivées de GBM humain, la capacité de la Metformine à réduire leur taux de prolifération. La Metformine a induit la phosphorylation d'AKT médiée par EGF dans les cellules initiatrices de tumeurs de façon dose dépendante. Cette propriété n'a pas été retrouvée dans les cellules différenciées respectives rendant compte d'une certaine spécificité de la molécule pour les CSG. En effet, il a été noté une sensibilité accrue des cellules CD133+ à la Metformine comparativement aux CD133-. Les effets antiprolifératifs de la Metformine ayant été maximaux pour cette population cellulaire.

La mort préférentielle des CSG induite par la Metformine pourrait dépendre de son activité létale synthétique, étant donné qu'une forte dépendance à la glycolyse aérobie de type Warburg est considérée comme un élément critique pour que les CSG conservent leur caractère souche et leur autorenouvellement. La Metformine par la réversion de l'effet Warburg contribuerait à la lutte contre la radio-chimiorésistance par son ciblage spécifique des CSG.

Enfin, une publication récente a évalué l'expression de certains miR dans les CSG en condition hypoxique et normoxique. Entre les deux conditions, il a été établi une diminution de l'expression notamment de miR-34, miR-128 et miR-181 ainsi qu'une surexpression de miR-221 et miR-17 (269).

Bien qu'aucune étude n'ait analysé l'impact de la Metformine sur l'expression des miR dans le GBM, la Metformine pourrait toutefois réinduire l'expression de miR-34a dans les CSG du GBM comme cela a été démontré dans certaines cellules du cancer du rein et colo rectal.

- VPA :

Parmi les propriétés du VPA précédemment décrites, une similitude d'action dans les CSG du GBM pourrait être attendue. Les caractéristiques du VPA retrouvées et pouvant potentiellement être très intéressantes dans le GBM sont pour rappel :

- La diminution de l'expression de STAT-3 de NF-κB et TERT (225).
- L'induction de la méthylation du promoteur MGMT(252).

- La diminution de l'expression d'HIF-1 α et E2F1 contribuant à réduire l'angiogenèse et l'effet Warburg (196,248).
- L'augmentation de l'expression de miR-138 permettant de diminuer l'expression du marqueur souche CD44 (201).

Cette dernière étude préclinique a démontré que l'expression de miR-138 était inversement corrélée à CD44. Les données relatives à l'induction de miR-138 a permis de mettre en exergue une augmentation de la p27 (protéine inhibitrice de CDK). Le miR-138 peut arrêter le cycle cellulaire des GBM par l'activation de p27 via l'inhibition de la voie CD44/AKT.

Par analogie, le VPA et son action sur le miR-138 permettrait donc l'inhibition de la voie CD44/AKT pouvant ainsi rétablir la radiochiosensibilité par la mise sous silence du marqueur souche CD44 et l'inhibition d'AKT.

- Simvastatine :

Tout comme les deux précédentes molécules, la Simvastatine pourrait agir contre les CSG. Ses caractéristiques permettant d'augurer une action sur les cellules initiatrices de tumeurs sont pour rappel :

- La régulation négative de TERT par inhibition de l'IL-6 et STAT-3 (244).
- L'inhibition de la phosphorylation d'AKT (241).
- La diminution de l'expression de miR-221 (204).

Peu d'études portent sur l'action de la Simvastatine au niveau des CSG, il est donc difficile d'extrapoler les données de la Simvastatine retrouvées dans d'autres pathologies tumorales. La surexpression de miR-221 fréquemment retrouvée dans le GBM et la potentielle régulation négative par la Simvastatine laisse toutefois entrevoir un mécanisme analogue dans le GBM.

Le cholestérol est nécessaire à l'activation de la voie Sonic Hedgehog et détient un rôle majeur dans le fonctionnement du récepteur Patched. Ainsi la Simvastatine présenterait une propriété répressive de la voie Sonic Hedgehog par l'inhibition de la synthèse du cholestérol.

Une étude préclinique in vitro et in vivo chez la souris a démontré la propriété des statines à brider la signalisation Hedgehog dans les cellules de médulloblastome (205).

La Glycoprotéine P (P-gp) est une glycoprotéine transmembranaire fonctionnant comme une pompe d'efflux et confère une résistance aux médicaments multiples (MDR). Elle appartient à la famille des transporteurs ABC et peut donc de se fait contribuer à la chimiorésistance des GBM.

Le Témzolomide est un substrat de la P-gp. L'efflux de la molécule va compromettre sa pénétration intracellulaire. Une des causes de chimiorésistance médiée par la P-gp va être responsables de l'échec du traitement du GBM et de la récurrence tumorale. La Simvastatine est un inhibiteur de la P-gp. De ce fait, elle pourrait théoriquement améliorer le quotient de pénétration du Témzolomide à l'intérieur des CSG. D'autres études ont mentionné la capacité de la Simvastatine de réguler à la baisse d'autres protéines d'efflux dans les cultures de cellules de cholangiocarcinome (270).

Discussion

1 Synergie d'action Acide Valproïque/Metformine/Simvastatine

Les trois molécules étudiées disposent d'une pléthore de propriétés antinéoplasiques par leurs actions sur les divers composants de la machinerie cellulaire. Du fait de leur mécanisme d'action, elles ont toutefois respectivement leur domaine de compétence dominante : l'augmentation de l'AMPK par la Metformine, l'iHDAC par le VPA et l'inhibition de YAP/TAZ par la Simvastatine.

La diversité d'action de ces molécules, démontrée dans les nombreuses études précliniques et cliniques, permet de couvrir un certains nombres d'anomalies (épi)génétiques et moléculaires. Néanmoins, trois prérequis semblent déterminants pour entrevoir une efficacité dans le GBM :

- A titre individuel, elles doivent respectivement potentialiser l'action de la radiochimiothérapie par le Témzolomide :

Précédemment, nous avons vu dans une étude basée sur l'analyse in vitro de modèles cellulaires de GBM humain, que le VPA renforce l'activité anticancéreuse induite par le Témzolomide par une action p53 dépendante. Le VPA induit l'apoptose par activation de la p53 et l'expression de son gène en aval PUMA (240).

De même, la combinaison de la Metformine à forte dose (10 à 20 mM) et du Témzolomide a signalé des effets antitumoraux accrus dans le GBM in vitro et in vivo par rapport à la monothérapie. Dans cette étude, il a été montré que le traitement combiné avec la Metformine et le Témzolomide était supérieur à la monothérapie utilisant la Metformine ou le Témzolomide en terme de viabilité cellulaire in vitro et de survie in vivo. Il a été relevé que le traitement combiné augmentait l'activation de la voie AMPK-p53-mTOR par rapport à la monothérapie (271).

Enfin, des résultats similaires ont été retrouvés avec la Simvastatine dans une étude utilisant des lignées de cellules GBM humaines et des cellules GBM de patients. L'incubation

de cellules avec l'association de Simvastatine et de Témazolomide accroît la cytotoxicité des GBM par rapport au traitement par Témazolomide ou Simvastatine seul. Les mécanismes moléculaires sous-jacents de la Simvastatine ne sont pas encore complètement élucidés (272).

Ces différents résultats suggèrent un potentiel bénéfique de l'adjonction respective de ces trois molécules en association au Témazolomide dans le GBM.

- Une action sur les CSG est primordiale pour limiter le risque de récurrence du GBM :

Les trois molécules à l'étude semblent être des candidates intéressantes pour l'inhibition du caractère souche des CSG bien que le manque de recherches spécifiques dans le GBM fasse encore défaut. (Voir Partie 3 : 5.4 Actions potentielles des molécules d'intérêts sur l'inhibition du caractère souche des cellules)

- L'ajout de ces trois molécules au protocole standard doit se justifier par une synergie d'action mutuelle entre-elles :

La complémentarité VPA/Metformine d'une part et Simvastatine d'autre part résiderait en premier lieu par leur action préférentielle respective sur les cellules p53 sauvages et p53 mutées.

Une étude sur lignée cellulaire humaine de cancer du rein a démontré une activité inhibitrice synergique de l'association du VPA et de la Metformine. Utilisés seuls, les deux médicaments présentent une activité inhibitrice mesurée temps et concentration dépendante. Cependant, en association, ils agissent en synergie bloquant les cellules en phase G0/G1 et provoquent une apoptose significative (197).

Par ailleurs, une étude in vitro a établi que la combinaison de la Metformine et du VPA inhibe de manière synergique la prolifération dans deux lignées cellulaires (PC-3 et LNCaP) issues de patients atteints de cancer de la prostate métastatique. Il existerait ainsi une synergie d'action entre le VPA et la Metformine dans l'effet antiprolifératif et pro-apoptotique (action anti-tumorale additive) des cellules cancéreuses favorisant l'expression

du gène suppresseur de tumeur p53 (198). Les deux molécules auraient donc une action métabolique p53 dépendantes synergiques.

A contrario, l'activité de YAP/TAZ étant essentiellement médiée par la voie SREBP/mévalonate, la mutation de p53 est un élément clé pour l'action de la Simvastatine. Toutefois devant l'hétérogénéité inter et intra tumorale du GBM, l'association des trois molécules pourrait s'avérer complémentaire quel que soit son profil mutationnel.

En effet, une étude in vivo sur cellules de prostate cancéreuses de souris a montré une synergie d'action anti-tumorale entre le VPA et la Simvastatine. L'action activatrice de la voie AMPK du VPA et inhibitrice de YAP de la Simvastatine permettraient de resensibiliser les cellules prostatiques à la chimiothérapie par Docétaxel en ciblant les cellules souches cancéreuses quel que soit le profil mutationnel de p53 (208).

Enfin, une étude préliminaire utilisant des lignées et des cultures de cellules de GBM a mis en lumière une synergie d'action de la Metformine et de la Simvastatine. Les deux molécules disposent de propriétés anti prolifératives mais leur co-administration exerce une activité inhibitrice additive sur la prolifération des cellules de GBM (273).

2 Bénéfices espérés

N'importe quel ajout de médicament à un protocole initial n'est pas anodin et le bénéfice attendu doit être supérieur au risque encouru par le patient. De prime abord, rajouter trois médicaments simultanément dans une telle pathologie peut sembler périlleux aux yeux du prescripteur. L'avantage de l'utilisation de cette trithérapie est son profil de tolérance connu de longue date et limité. En effet, leurs effets secondaires potentiels sont généralement transitoires et bénins ne justifiant que dans de rares cas l'arrêt ou la suspension du traitement. L'utilisation concomitante de la Metformine et de la Simvastatine se retrouve dans de nombreuses prescriptions. Elle n'est pas associée à une majoration d'effets indésirables et ces molécules n'interagissent ni entre elles ni avec le VPA (que cela soit d'un point de vue pharmacocinétique ou pharmacodynamique). Une précaution est cependant à prendre avec l'association du VPA et du Témzolomide. L'AED pourrait réduire faiblement mais significativement la clairance de l'agent alkylant (274). Les études cliniques

de l'association du VPA au Témzolomide n'ont cependant pas déploré d'augmentation de la toxicité attribuable à leur association (192).

Ainsi, par la potentielle synergie qui réside entre ces trois médicaments et par leur capacité in vitro de potentialiser le traitement par radiochimiothérapie, une amélioration de l'OS et la SSP sans altérer la qualité de vie du patient atteint de GBMn est à espérer.

Par son large spectre d'action, l'intérêt du VPA est double puisqu'il permettrait également de contrôler efficacement les crises épileptiques survenant chez 20 à 50% des patients (21).

En outre, leurs comportements sur des composants épigénétiques, ainsi que sur certains miR, marqueurs souches et/ou voies de signalisation, permettraient de déjouer l'activité des cellules souches radiochimiorésistantes. Des études supplémentaires dans le GBM sont toutefois nécessaires avant d'émettre toute conclusion hâtive. Si ces propriétés se retrouvent avérées en clinique dans le GBM, la trithérapie rendrait possible la prévention des récurrences et récidives si redoutées dans cette pathologie.

Connaissant l'hétérogénéité inter et intra tumorale des GBM, la synergie d'action de nos molécules d'intérêts, par leurs actions sur des cibles distinctes, favoriseraient la couverture d'un nombre d'altérations (épi)génétiques considérables. Sous couvert que leurs actions soient avérées en clinique, elles permettraient de nous affranchir en partie des problèmes de réponses thérapeutiques liés au profil mutationnel du patient.

Enfin, les paramètres physico-chimiques des trois molécules sont un atout pour le passage de la BHE. Les trois molécules sont liposolubles et de faibles poids moléculaires. Aucune d'entre elles n'est substrat de la protéine d'efflux Pgp. Ces paramètres de taille facilitent ainsi la diffusion moléculaire au sein du parenchyme cérébral. La Simvastatine, de par sa propriété d'inhiber la Pgp, permettrait même d'accroître l'exposition intracérébrale du Témzolomide qui en est substrat.

3 Analyse critique/ Limites :

Si le projet d'utilisation de cette trithérapie s'avère innovant et potentiellement intéressant théoriquement, des points d'ombres viennent toutefois apporter certaines interrogations quant à leur efficacité présumée dans le GBM.

Premièrement, l'hétérogénéité inter et intra tumorale des GBM restreint l'usage individuel de nos molécules d'intérêts. Seules, elles ne sembleraient pas efficaces dans tous les sous-ensembles de patients atteints de GBM. A l'image de la protéine p53, sa mutation entraîne une perte d'efficacité du VPA et de la Metformine (239,240) quand son profil sauvage limite l'effet anti YAP de la Simvastatine (206).

Se basant sur les modèles in vitro et in vivo de l'étude de *Lee et al*, la monothérapie par Metformine semble limitante devant la posologie nécessaire à induire des effets anti-cancéreux. Des doses de Metformine allant de 5mM à 20mM ont été utilisées seule et en association au Témzolomide avec un effet pro apoptotique temps et concentration dépendant (271). La plupart des études précliniques in vitro rapportent l'utilisation de doses de Metformine comprises entre 1 et 40 mM. Or, ces posologies sont largement supérieures à celles utilisées en clinique et beaucoup plus élevées que le seuil de toxicité de la Metformine. Les niveaux plasmatiques thérapeutiques de la Metformine chez l'homme sont compris entre 2.8-15 μ M (275).

Toutefois, les conditions de croissance des milieux de culture in vitro pour évaluer l'effet anti néoplasique de la Metformine sont non physiologiques. En effet, pour la plupart, ils contiennent des niveaux de glucose bien supérieurs au niveau de glucose à jeun des patients non diabétiques. Ils sont également complétés par un pourcentage non négligeable de sérum bovin foetal enrichie en facteurs de croissance et hormones, dont l'insuline et l'EGF. Dans l'étude de *Lee et al*, près de 10% de sérum bovin foetal a été ajouté au milieu de culture. Ainsi, des concentrations plus élevées en Metformine peuvent se justifier devant cet environnement de croissance et prolifération maximal. Les réponses cellulaires in vitro de la Metformine sont donc difficilement transposables en clinique (271,275).

L'étude clinique de phase I de *Maraka et al* a eu pour objectif principal de déterminer la tolérance des combinaisons de Témzolomide avec 3 médicaments repositionnés dans le

GBMn (Mémantine, Metformine et Mefloquine). Plusieurs bras associant le Témzolomide avec 1,2 ou les 3 thérapies ont été réalisés. Les doses finales de Metformine pouvant être utilisable en toute sécurité en combinaison avec le Témzolomide ont été déterminées. Ainsi une posologie de Metformine de 850mg deux fois par jour en combinaison avec le Témzolomide et/ou avec l'une des deux autres thérapies est faisable et globalement bien tolérée. Toutefois, une diminution de la dose à 500mg deux fois par jour est nécessaire en cas d'association complète des trois molécules au Témzolomide (276).

Enfin, la problématique de la biodisponibilité orale (<5%) de la Simvastatine se retrouve en cas de repositionnement de cette molécule dans le GBM. Sa posologie nécessaire pour obtenir une réponse antinéoplasique au niveau cérébral reste une énigme à l'heure actuelle. Une étude clinique prospective de phase II associant l'Atorvastatine à la radiochimiothérapie dans le GBMn n'a pas montré d'amélioration de la SSP suggérant que la monothérapie n'est pas efficace. La posologie d'Atorvastatine utilisée était débutée à 40mg les vingt et un premiers jours puis 80mg par jour jusqu'à progression ou toxicité (277). Dans la plupart des essais actuels repositionnant la Simvastatine dans la pathologie cancéreuse, sa dose utilisée va de 30 à 80mg/j en fonction de la pathologie concernée. Connaissant l'équivalence posologique entre les statines (10 mg d'Atorvastatine correspond approximativement à 20mg de Simvastatine) il faudrait 160mg de Simvastatine pour correspondre à l'essai clinique réalisé avec l'Atorvastatine (278). En pratique la posologie de Simvastatine recommandée en clinique ne doit pas dépasser 80mg/j.

Le manque d'études cliniques prospectives constitue un obstacle majeur à leur reconversion pour une utilisation en oncologie. La plupart des essais réalisés jusqu'à présent ne sont constitués que d'une faible cohorte réduisant la significativité des résultats obtenus. Il est difficile de déterminer l'efficacité de trois molécules simultanément ainsi que leur posologie optimale.

4 Design de l'essai clinique que l'on aimerait proposer

Titre : Etude de phase I préparant la réalisation d'une étude de phase II sur l'association du VPA, Metformine et Simvastatine au protocole de Stupp dans le GBMn.

Contexte :

Le glioblastome (GBM) est la tumeur cérébrale primaire la plus fréquente. Avec un traitement optimal, consistant en une radiochimiothérapie, suivi d'une chimiothérapie adjuvante par Témazolomide, la survie médiane est de 14,6 mois. La plupart des patients présentent des signes de progression de la tumeur dans l'année qui suit le diagnostic, malgré le traitement.

L'importance des modulations épigénétiques et la persistance de cellules souches expliquent en partie la récurrence précoce ainsi que l'inefficacité des différents traitements anti-cancéreux contre le GBM. Le VPA, la Metformine et la Simvastatine ont des propriétés anti-cancéreuses synergiques. Cette trithérapie repositionnée dans le GBMn en association au protocole de Stupp pourrait être une stratégie prometteuse dans la lutte contre la radiochimiorésistance et la récurrence tumorale.

L'objectif de cette étude de phase I vise à déterminer les doses maximales tolérables de la combinaison de ces agents au protocole de Stupp dans le GBMn.

Design de l'étude :

Etude clinique de phase I/II, interventionnelle à 3 bras. L'estimation du nombre de patients à inclure dans l'étude n'a pas encore été déterminée à ce jour.

Critères d'éligibilités :

- Patients ≥ 18 ans présentant un gliome de stade IV histologiquement confirmé.
- Statut de performance KPS ≥ 60 .
- Nombre absolu de neutrophiles (ANC) $\geq 1\ 500$ cellules/mm³. Plaquettes $\geq 100\ 000$ cellules/mm³. Hémoglobine ≥ 10 g/dl.
- Fonctions hématologique, hépatique et rénale adéquates (bilan biologique requis dans les 14 jours précédant l'enregistrement du patient)
- Recrutement en post-chirurgie, 4 à 6 semaines précédant le début de la seconde phase par radiochimiothérapie concomitante.
- Les patients auront subi une IRM dans les 10 à 14 jours précédant le début de la radiochimiothérapie concomitante.

- Les femmes en âge de procréer doivent avoir un test de grossesse sérique ou urinaire négatif à la bêta-gonadotrophine chorionique humaine (B-HCG), documenté dans les 72 heures précédant le début du traitement.

Critères d'exclusions :

- Les patientes ne doivent pas être enceintes ni allaiter et doivent accepter de disposer d'une contraception adéquate.
- Les patients dont l'état clinique ne permet pas la réalisation du traitement médicamenteux (KPS < 60...).
- Les patients ne doivent pas souffrir d'une infection active ou d'une maladie grave intercurrente.
- Clairance de la créatinine < 60 ml/min/1,73 m² (selon l'équation de Cockcroft Gault).
- Fonction hépatique altérée (ALAT/ASAT >3 fois la normale, Bilirubine >18 µmol/L).
- Patients ayant comme antécédents un Diabète de type 2 traité ou ayant déjà été traité par Metformine.
- Patients ayant comme antécédents une dyslipidémie traitée préalablement par statines

Objectifs primaires :

- Déterminer l'innocuité et la tolérabilité de l'association de la Metformine/VPA/Simvastatine au protocole de Stupp dans le GBMn

Objectifs secondaires :

- Déterminer la médiane de SSP à 6, 12 et 18 mois
- Déterminer la médiane de OS chez les patients traités par le protocole de Stupp associé à la trithérapie par VPA/Metformine et Simvastatine

Bras et interventions :

Notre étude de phase I comporterait 3 bras. Les bras 1 et 2 consisteraient en une triple thérapie avec le Témzolomide ; le bras 3 en une quadruple thérapie avec le Témzolomide.

La bithérapie associant l'une des trois molécules avec le Témzolomide ne sera pas étudiée car l'innocuité et la dose maximale tolérée a déjà fait l'objet d'études documentées vues antérieurement (192,277).

En s'appuyant sur les études précédemment décrites, quelle que soit la thérapie associée, les doses de VPA et de Témzolomide seront fixées dès le début de l'étude. Pour chaque bras, la première dose de VPA sera administrée à 10-15mg/kg/jour une semaine avant le début de la radiothérapie puis sera progressivement augmentée pour atteindre 25mg/kg/jour répartie en 2 doses journalières le premier jour de l'irradiation. Cette posologie correspond à la dose anti-épileptique utilisée couramment en clinique et aux résultats publiés par l'étude de *Krauze et al* (192). Les doses de radiochimiothérapie suivie de la chimiothérapie adjuvante sont définies quant à elles classiquement selon le protocole de Stupp. La Simvastatine et la Metformine seront débutées le premier jour de l'irradiation et seront poursuivies jusqu'à progression ou toxicité inacceptable.

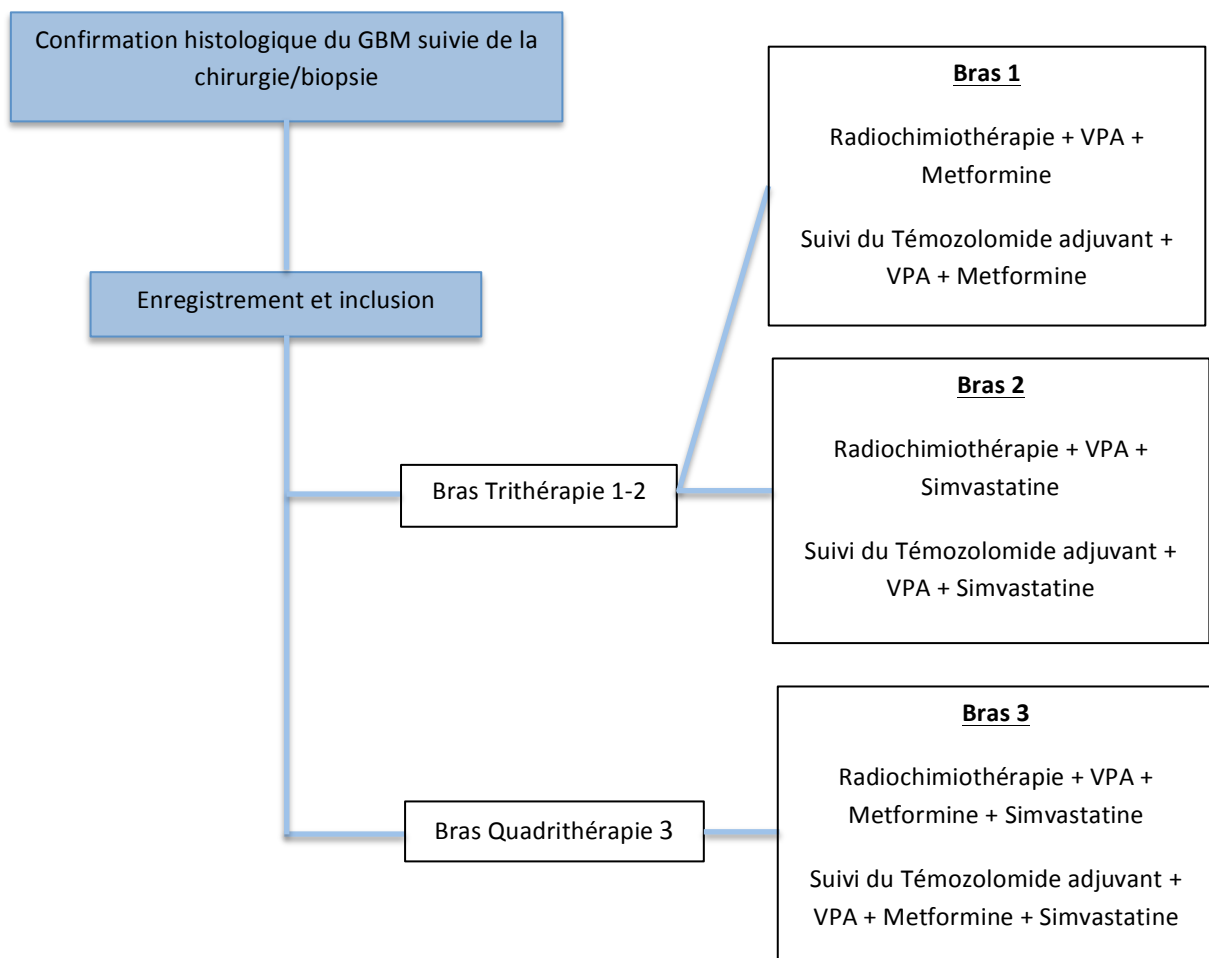


Figure 36: Illustration du design de l'étude (d'après le modèle d'étude de Maraka et al) (276)

Une fois que les doses maximales tolérables seront déterminées pour le Bras 1 et 2, le Bras 3 quadrithérapie sera testé. Les médicaments expérimentaux devront être poursuivis entre la phase de radiochimiothérapie et le commencement du Témzolomide adjuvant.

Pour le bras 1 et 2: la dose de départ de la Metformine sera fixée à 850 mg deux fois par jour et celle de la Simvastatine à 80 mg une fois par jour. Un plan de désescalade de la dose sera prévu dans la cohorte suivante si les doses toxiques limitantes sont observées.

Conclusion

A travers ce travail, nous avons pu constater que le glioblastome n'est pas une pathologie cancéreuse comme les autres. Bien que sa classification et la connaissance de ses altérations génétiques aient évolué, beaucoup d'inconnus restent toutefois à déterminer.

Les stratégies thérapeutiques employées ces dix dernières années ne semblent pas montrer de perspective d'évolution encourageante de la pathologie. Trop peu ne ciblent les modulations épigénétiques, les cellules souches, et les voies de signalisation responsables d'un microenvironnement tumoral radiochimiorésistant.

En définitif, notre étude de la littérature disponible nous a permis de voir que ces différentes voies pourraient être ciblées de façon originale à travers le repositionnement de médicaments disposant de propriétés anticancéreuses comme le VPA, la Metformine et la Simvastatine. Utilisées en monothérapie leur action semble toutefois modeste. C'est l'intérêt de leur association qui permettrait de disposer d'une synergie d'action anti cancéreuse pertinente.

Elles pourraient potentialiser l'effet de la radiochimiothérapie par Témzolomide, resensibiliser les cellules carcinogènes et contourner les problématiques du profil mutationnel du GBM.

Leur liposolubilité, leur faible coût ainsi que leur bonne tolérance générale nous encourage à vouloir développer un essai clinique de phase I visant à déterminer l'innocuité et la tolérabilité de la combinaison de ces agents au protocole de Stupp dans le GBMn et d'en examiner les premiers indicateurs d'efficacité.

Le Doyen de l'UFR de pharmacie,
Dr Christiane Forestier

Le président du Jury,
Pr V. Sautou

Références.

1. Cancers [Internet]. [cité 12 juill 2022]. Disponible sur: <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/cancers>
2. Cancer.pdf [Internet]. [cité 12 juill 2022]. Disponible sur: <https://drees.solidarites-sante.gouv.fr/sites/default/files/2021-01/Cancer.pdf>
3. Futura. Définition | Cellule gliale - Nevroglie - Glie | Futura Santé [Internet]. Futura. [cité 2 déc 2021]. Disponible sur: <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/biologie-cellule-gliale-839/>
4. Glioblastome – Fondation canadienne des tumeurs cérébrales [Internet]. [cité 2 déc 2021]. Disponible sur: https://www.braintumour.ca/fr/types_de_tumeurs_cerebrales/glioblastome/
5. InfoCancer - ARCAGY - GINECO - Localisations - Autres cancers - Tumeurs cérébrales - Formes de la Maladie - En fonction du type de cellule [Internet]. [cité 2 déc 2021]. Disponible sur: <https://www.arcagy.org/infocancer/localisations/autres-types-de-cancers/tumeurs-cerebrales/formes-de-la-maladie/les-gliomes.html/>
6. Thakkar JP, Dolecek TA, Horbinski C, Ostrom QT, Lightner DD, Barnholtz-Sloan JS, et al. Epidemiologic and Molecular Prognostic Review of Glioblastoma. *Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol.* oct 2014;23(10):1985-96.
7. Hanif F, Muzaffar K, Perveen K, Malhi SM, Simjee SU. Glioblastoma Multiforme: A Review of its Epidemiology and Pathogenesis through Clinical Presentation and Treatment. *Asian Pac J Cancer Prev APJCP.* 2017;18(1):3-9.
8. Ostrom QT, Bauchet L, Davis FG, Deltour I, Fisher JL, Langer CE, et al. The epidemiology of glioma in adults: a “state of the science” review. *Neuro-Oncol.* juill 2014;16(7):896-913.
9. Hamilton SR, Liu B, Parsons RE, Papadopoulos N, Jen J, Powell SM, et al. The Molecular Basis of Turcot’s Syndrome [Internet]. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM199503303321302>. Massachusetts Medical Society; 2009 [cité 7 déc 2021]. Disponible sur: <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJM199503303321302>
10. Malmer B, Henriksson R, Grönberg H. Familial brain tumours—genetics or environment? A nationwide cohort study of cancer risk in spouses and first-degree relatives of brain tumour patients. *Int J Cancer.* 2003;106(2):260-3.

11. Bowers DC, Nathan PC, Constine L, Woodman C, Bhatia S, Keller K, et al. Subsequent neoplasms of the CNS among survivors of childhood cancer: a systematic review. *Lancet Oncol.* juill 2013;14(8):e321-328.
12. Braganza MZ, Kitahara CM, Berrington de González A, Inskip PD, Johnson KJ, Rajaraman P. Ionizing radiation and the risk of brain and central nervous system tumors: a systematic review. *Neuro-Oncol.* nov 2012;14(11):1316-24.
13. Ostrom QT, Bauchet L, Davis FG, Deltour I, Fisher JL, Langer CE, et al. The epidemiology of glioma in adults: a “state of the science” review. *Neuro-Oncol.* juill 2014;16(7):896-913.
14. Facteurs de risque de tumeur au cerveau, tumeur cérébrale | Cancer et environnement [Internet]. [cité 7 déc 2021]. Disponible sur: <https://www.cancer-environnement.fr/264-Cancer-du-cerveau.ce.aspx>
15. Eford JT. Season of Birth and Risk for Adult Onset Glioma. *Int J Environ Res Public Health.* mai 2010;7(5):1913-36.
16. Linos E, Raine T, Alonso A, Michaud D. Atopy and risk of brain tumors: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst.* 17 oct 2007;99(20):1544-50.
17. Schwartzbaum J, Ding B, Johannesen TB, Osnes LTN, Karavodin L, Ahlbom A, et al. Association Between Prediagnostic IgE Levels and Risk of Glioma. *JNCI J Natl Cancer Inst.* août 2012;104(16):1251-9.
18. Schlehofer B, Siegmund B, Linseisen J, Schüz J, Rohrmann S, Becker S, et al. Primary brain tumours and specific serum immunoglobulin E: a case-control study nested in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition cohort. *Allergy.* nov 2011;66(11):1434-41.
19. Baldi I, Huchet A, Bauchet L, Loiseau H. [Epidemiology of glioblastoma]. *Neurochirurgie.* déc 2010;56(6):433-40.
20. ald_30_guide__k_snc_web.pdf [Internet]. [cité 10 déc 2021]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2010-12/ald_30_guide__k_snc_web.pdf
21. Chang SM, Parney IF, Huang W, Anderson FA, Asher AL, Bernstein M, et al. Patterns of care for adults with newly diagnosed malignant glioma. *JAMA.* 2 févr 2005;293(5):557-64.
22. Alexander BM, Cloughesy TF. Adult Glioblastoma. *J Clin Oncol.* 20 juill 2017;35(21):2402-9.
23. Ducray F. Caractéristiques radiologiques des glioblastomes. :2.

24. Lemée JM. Au delà des frontières du glioblastome: caractérisation de la zone péritumorale des glioblastomes. :126.
25. Devaux BC, O'Fallon JR, Kelly PJ. Resection, biopsy, and survival in malignant glial neoplasms. A retrospective study of clinical parameters, therapy, and outcome. *J Neurosurg*. mai 1993;78(5):767-75.
26. Rj J, Gn F, D AS, Ff L, Zl G, Wm S, et al. Limitations of stereotactic biopsy in the initial management of gliomas. *Neuro-Oncol* [Internet]. juill 2001 [cité 16 déc 2021];3(3). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11465400/>
27. Ferguson S, Lesniak MS. Percival Bailey and the classification of brain tumors. *Neurosurg Focus*. 15 avr 2005;18(4):e7.
28. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol (Berl)*. juin 2016;131(6):803-20.
29. Brouland DJP. Nouvelle classification OMS 2016 des gliomes : quels changements ? *Rev MÉDICALE SUISSE*. 2017;5.
30. Inhibiteurs d'IDH : mécanismes d'action et résultats thérapeutiques [Internet]. [cité 31 déc 2021]. Disponible sur: <https://www.edimark.fr/correspondances-onco-hematologie/inhibiteurs-idh-mecanismes-action-resultats-therapeutiques>
31. Sahm F, Reuss D, Koelsche C, Capper D, Schittenhelm J, Heim S, et al. Farewell to oligoastrocytoma: in situ molecular genetics favor classification as either oligodendroglioma or astrocytoma. *Acta Neuropathol (Berl)*. 1 oct 2014;128(4):551-9.
32. Nobusawa S, Watanabe T, Kleihues P, Ohgaki H. IDH1 Mutations as Molecular Signature and Predictive Factor of Secondary Glioblastomas. *Clin Cancer Res*. 1 oct 2009;15(19):6002-7.
33. Labussière M, Idbaih A, Wang XW, Marie Y, Boisselier B, Falet C, et al. All the 1p19q codeleted gliomas are mutated on IDH1 or IDH2. *Neurology*. 8 juin 2010;74(23):1886-90.
34. van den Bent MJ, Brandes AA, Taphoorn MJB, Kros JM, Kouwenhoven MCM, Delattre JY, et al. Adjuvant Procarbazine, Lomustine, and Vincristine Chemotherapy in Newly Diagnosed Anaplastic Oligodendroglioma: Long-Term Follow-Up of EORTC Brain Tumor Group Study 26951. *J Clin Oncol*. 20 janv 2013;31(3):344-50.
35. Jesionek-Kupnicka D, Szybka M, Malachowska B, Fendler W, Potemski P, Piaskowski S, et al. TP53 Promoter Methylation in Primary Glioblastoma: Relationship with TP53 mRNA and Protein Expression and Mutation Status. *DNA Cell Biol*. 1 avr 2014;33(4):217-26.
36. Yuan Y, Qi C, Maling G, Xiang W, Yanhui L, Ruofei L, et al. TERT mutation in glioma:

Frequency, prognosis and risk. *J Clin Neurosci.* 1 avr 2016;26:57-62.

37. Bielle F, Figarella-Branger D, Mokhtari K. Gliomes diffus de l'adulte. 2016;5.
38. Felsberg J, Hentschel B, Kaulich K, Gramatzki D, Zacher A, Malzkorn B, et al. Epidermal Growth Factor Receptor Variant III (EGFRvIII) Positivity in EGFR-Amplified Glioblastomas: Prognostic Role and Comparison between Primary and Recurrent Tumors. *Clin Cancer Res.* 15 nov 2017;23(22):6846-55.
39. Yang JM, Schiapparelli P, Nguyen HN, Igarashi A, Zhang Q, Abbadi S, et al. Characterization of PTEN mutations in brain cancer reveals that pten mono-ubiquitination promotes protein stability and nuclear localization. *Oncogene.* juin 2017;36(26):3673-85.
40. Khuong-Quang DA, Gerges N, Jbabdi N. Les glioblastomes de l'enfant et du jeune adulte - Une histoire de mutations d'histone et de remodelage de la chromatine. *médecine/sciences.* 1 oct 2012;28(10):809-12.
41. Peraud A, Watanabe K, Schwechheimer K, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H. Genetic profile of the giant cell glioblastoma. *Lab Investig J Tech Methods Pathol.* févr 1999;79(2):123-9.
42. Alami Z, Bouhafa T, Farhane F, Elmazghi A, Hassouni K. Gliosarcome: tumeur rare du système nerveux central - présentation de deux cas. *Pan Afr Med J.* 25 nov 2015;22:305.
43. Radiotherapy plus Concomitant and Adjuvant Temozolomide for Glioblastoma | *NEJM* [Internet]. [cité 10 janv 2022]. Disponible sur: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejmoa043330>
44. Stupp R, Hegi ME, Mason WP, van den Bent MJ, Taphoorn MJB, Janzer RC, et al. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *Lancet Oncol.* mai 2009;10(5):459-66.
45. Jakola AS, Unsgård G, Solheim O. Quality of life in patients with intracranial gliomas: the impact of modern image-guided surgery. *J Neurosurg.* juin 2011;114(6):1622-30.
46. Grabowski MM, Recinos PF, Nowacki AS, Schroeder JL, Angelov L, Barnett GH, et al. Residual tumor volume versus extent of resection: predictors of survival after surgery for glioblastoma. *J Neurosurg.* nov 2014;121(5):1115-23.
47. Stummer W, van den Bent MJ, Westphal M. Cytoreductive surgery of glioblastoma as the key to successful adjuvant therapies: new arguments in an old discussion. *Acta Neurochir (Wien).* juin 2011;153(6):1211-8.
48. Sanai N, Polley MY, McDermott MW, Parsa AT, Berger MS. An extent of resection threshold for newly diagnosed glioblastomas. *J Neurosurg.* juill 2011;115(1):3-8.

49. Chaichana KL, Jusue-Torres I, Navarro-Ramirez R, Raza SM, Pascual-Gallego M, Ibrahim A, et al. Establishing percent resection and residual volume thresholds affecting survival and recurrence for patients with newly diagnosed intracranial glioblastoma. *Neuro-Oncol.* janv 2014;16(1):113-22.
50. Willems PWA, Taphoorn MJB, Burger H, Berkelbach van der Sprenkel JW, Tulleken CAF. Effectiveness of neuronavigation in resecting solitary intracerebral contrast-enhancing tumors: a randomized controlled trial. *J Neurosurg.* mars 2006;104(3):360-8.
51. Senft C, Bink A, Franz K, Vatter H, Gasser T, Seifert V. Intraoperative MRI guidance and extent of resection in glioma surgery: a randomised, controlled trial. *Lancet Oncol.* oct 2011;12(11):997-1003.
52. Hadjipanayis CG, Stummer W. 5-ALA and FDA approval for glioma surgery. *J Neurooncol.* févr 2019;141(3):479-86.
53. Stummer W, Pichlmeier U, Meinel T, Wiestler OD, Zanella F, Reulen HJ, et al. Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of malignant glioma: a randomised controlled multicentre phase III trial. *Lancet Oncol.* mai 2006;7(5):392-401.
54. Gerard IJ, Kersten-Oertel M, Petrecca K, Sirhan D, Hall JA, Collins DL. Brain shift in neuronavigation of brain tumors: A review. *Med Image Anal.* 1 janv 2017;35:403-20.
55. Duffau H. Surgery of low-grade gliomas: towards a 'functional neurooncology'. *Curr Opin Oncol.* nov 2009;21(6):543-9.
56. Gf W, Mj M, A S, I G, A O, Jd W. Frameless image-guided stereotactic brain biopsy procedure: diagnostic yield, surgical morbidity, and comparison with the frame-based technique. *J Neurosurg [Internet].* févr 2006 [cité 10 janv 2022];104(2). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16509497/>
57. Sulman EP, Ismaila N, Chang SM. Radiation Therapy for Glioblastoma: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Endorsement of the American Society for Radiation Oncology Guideline. *J Oncol Pract.* 1 févr 2017;13(2):123-7.
58. Irwin C, Hunn M, Purdie G, Hamilton D. Delay in radiotherapy shortens survival in patients with high grade glioma. *J Neurooncol.* déc 2007;85(3):339-43.
59. Blumenthal DT, Won M, Mehta MP, Curran WJ, Souhami L, Michalski JM, et al. Short delay in initiation of radiotherapy may not affect outcome of patients with glioblastoma: a secondary analysis from the radiation therapy oncology group database. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 10 févr 2009;27(5):733-9.
60. Lawrence YR, Blumenthal DT, Matcayevsky D, Kanner AA, Bokstein F, Corn BW. Delayed initiation of radiotherapy for glioblastoma: how important is it to push to the front (or the back) of the line? *J Neurooncol.* oct 2011;105(1):1-7.

61. Wallner KE, Galicich JH, Krol G, Arbit E, Malkin MG. Patterns of failure following treatment for glioblastoma multiforme and anaplastic astrocytoma. *Int J Radiat Oncol*. 1 juin 1989;16(6):1405-9.
62. Hochberg FH, Pruitt A. Assumptions in the radiotherapy of glioblastoma. *Neurology*. sept 1980;30(9):907-11.
63. Niyazi M, Brada M, Chalmers AJ, Combs SE, Erridge SC, Fiorentino A, et al. ESTRO-ACROP guideline « target delineation of glioblastomas ». *Radiother Oncol J Eur Soc Ther Radiol Oncol*. janv 2016;118(1):35-42.
64. Kantor G, Maingon P, Mornex F, Mazon JJ. Contours des volumes cibles en radiothérapie. Généralités. *Cancer/Radiothérapie*. 1 nov 2002;6:56-60.
65. Walker MD, Strike TA, Sheline GE. An analysis of dose-effect relationship in the radiotherapy of malignant gliomas. *Int J Radiat Oncol*. 1 oct 1979;5(10):1725-31.
66. Temozolomide – TEMODAL® [Internet]. SFPO ONCOLIEN. [cité 20 janv 2022]. Disponible sur: <https://oncolien.sfpo.com/oncolien/temozolomide-temodal/>
67. Hegi ME, Diserens AC, Gorlia T, Hamou MF, de Tribolet N, Weller M, et al. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N Engl J Med*. 10 mars 2005;352(10):997-1003.
68. Malmström A, Poulsen HS, Grønberg BH, Stragliotto G, Hansen S, Asklund T, et al. Postoperative neoadjuvant temozolomide before radiotherapy versus standard radiotherapy in patients 60 years or younger with anaplastic astrocytoma or glioblastoma: a randomized trial. *Acta Oncol Stockh Swed*. déc 2017;56(12):1776-85.
69. Chinot OL, Wick W, Mason W, Henriksson R, Saran F, Nishikawa R, et al. Bevacizumab plus radiotherapy-temozolomide for newly diagnosed glioblastoma. *N Engl J Med*. 20 févr 2014;370(8):709-22.
70. Stupp R, Taillibert S, Kanner A, Read W, Steinberg D, Lhermitte B, et al. Effect of Tumor-Treating Fields Plus Maintenance Temozolomide vs Maintenance Temozolomide Alone on Survival in Patients With Glioblastoma: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 19 déc 2017;318(23):2306-16.
71. Vecht CJ, Hovestadt A, Verbiest HB, van Vliet JJ, van Putten WL. Dose-effect relationship of dexamethasone on Karnofsky performance in metastatic brain tumors: a randomized study of doses of 4, 8, and 16 mg per day. *Neurology*. avr 1994;44(4):675-80.
72. Wong ET, Swanson KD. Dexamethasone-Friend or Foe for Patients With Glioblastoma? *JAMA Neurol*. 1 mars 2019;76(3):247-8.
73. Bedetti C, Romoli M, Maschio M, Di Bonaventura C, Nardi Cesarini E, Eusebi P, et al.

Neuropsychiatric adverse events of antiepileptic drugs in brain tumour-related epilepsy: an Italian multicentre prospective observational study. *Eur J Neurol.* oct 2017;24(10):1283-9.

74. Rudà R, Pellerino A, Franchino F, Bertolotti C, Bruno F, Mo F, et al. Lacosamide in patients with gliomas and uncontrolled seizures: results from an observational study. *J Neurooncol.* janv 2018;136(1):105-14.

75. Wen PY, Macdonald DR, Reardon DA, Cloughesy TF, Sorensen AG, Galanis E, et al. Updated Response Assessment Criteria for High-Grade Gliomas: Response Assessment in Neuro-Oncology Working Group. *J Clin Oncol.* 10 avr 2010;28(11):1963-72.

76. Brandes AA, Franceschi E, Tosoni A, Blatt V, Pession A, Tallini G, et al. MGMT promoter methylation status can predict the incidence and outcome of pseudoprogression after concomitant radiochemotherapy in newly diagnosed glioblastoma patients. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 1 mai 2008;26(13):2192-7.

77. Ellingson BM, Chung C, Pope WB, Boxerman JL, Kaufmann TJ. Pseudoprogression, radionecrosis, inflammation or true tumor progression? challenges associated with glioblastoma response assessment in an evolving therapeutic landscape. *J Neurooncol.* sept 2017;134(3):495-504.

78. Gerstner ER, Yip S, Wang DL, Louis DN, Iafrate AJ, Batchelor TT. Mgmt Methylation Is a Prognostic Biomarker in Elderly Patients with Newly Diagnosed Glioblastoma. *Neurology.* 3 nov 2009;73(18):1509-10.

79. Almenawer SA, Badhiwala JH, Alhazzani W, Greenspoon J, Farrokhyar F, Yarascavitch B, et al. Biopsy versus partial versus gross total resection in older patients with high-grade glioma: a systematic review and meta-analysis. *Neuro-Oncol.* juin 2015;17(6):868-81.

80. Minniti G, Scaringi C, Lanzetta G, Terrenato I, Esposito V, Arcella A, et al. Standard (60 Gy) or short-course (40 Gy) irradiation plus concomitant and adjuvant temozolomide for elderly patients with glioblastoma: a propensity-matched analysis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1 janv 2015;91(1):109-15.

81. Chaichana KL, Zadnik P, Weingart JD, Olivi A, Gallia GL, Blakeley J, et al. Multiple resections for patients with glioblastoma: prolonging survival. *J Neurosurg.* avr 2013;118(4):812-20.

82. Scale to Predict Survival After Surgery for Recurrent Glioblastoma Multiforme | *Journal of Clinical Oncology* [Internet]. [cité 27 janv 2022]. Disponible sur: https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2010.30.0582?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed

83. Park CK, Kim JH, Nam DH, Kim CY, Chung SB, Kim YH, et al. A practical scoring system to determine whether to proceed with surgical resection in recurrent glioblastoma. *Neuro-*

Oncol. août 2013;15(8):1096-101.

84. Pallud J, Audureau E, Noel G, Corns R, Lechapt-Zalcman E, Duntze J, et al. Long-term results of carmustine wafer implantation for newly diagnosed glioblastomas: a controlled propensity-matched analysis of a French multicenter cohort. *Neuro-Oncol.* déc 2015;17(12):1609-19.
85. Brem H, Piantadosi S, Burger PC, Walker M, Selker R, Vick NA, et al. Placebo-controlled trial of safety and efficacy of intraoperative controlled delivery by biodegradable polymers of chemotherapy for recurrent gliomas. The Polymer-brain Tumor Treatment Group. *Lancet Lond Engl.* 22 avr 1995;345(8956):1008-12.
86. Combs SE, Thilmann C, Edler L, Debus J, Schulz-Ertner D. Efficacy of Fractionated Stereotactic Reirradiation in Recurrent Gliomas: Long-Term Results in 172 Patients Treated in a Single Institution. *J Clin Oncol.* déc 2005;23(34):8863-9.
87. W W, T G, M B, M T, F S, I H, et al. Lomustine and Bevacizumab in Progressive Glioblastoma. *N Engl J Med [Internet].* 16 nov 2017 [cité 10 févr 2022];377(20). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29141164/>
88. Friedman HS, Prados MD, Wen PY, Mikkelsen T, Schiff D, Abrey LE, et al. Bevacizumab Alone and in Combination With Irinotecan in Recurrent Glioblastoma. *J Clin Oncol.* oct 2009;27(28):4733-40.
89. Soffietti R, Trevisan E, Bertero L, Cassoni P, Morra I, Fabrini MG, et al. Bevacizumab and fotemustine for recurrent glioblastoma: a phase II study of AINO (Italian Association of Neuro-Oncology). *J Neurooncol.* févr 2014;116(3):533-41.
90. Kaloshi G, Diamandi P, Cakani B, Brace G, Rroji A, Petrela M. The added value of bevacizumab concomitantly administered with carboplatin versus carboplatin alone in patients with recurrent glioblastomas. *Tumori.* févr 2015;101(1):41-5.
91. Wick W, Brandes AA, Gorlia T, Bendszus M, Sahm F, Taal W, et al. EORTC 26101 phase III trial exploring the combination of bevacizumab and lomustine in patients with first progression of a glioblastoma. *J Clin Oncol.* 20 mai 2016;34(15_suppl):2001-2001.
92. Du Z, Lovly CM. Mechanisms of receptor tyrosine kinase activation in cancer. *Mol Cancer.* 19 févr 2018;17(1):58.
93. IMGT Education [Internet]. [cité 15 févr 2022]. Disponible sur: <https://www.imgt.org/IMGTeducation/Tutorials/index.php?article=Cancer&chapter=RTKs&lang=FR&nbr=article>
94. Merlin JL. Les inhibiteurs de tyrosine kinase en oncologie – Tyrosine kinase inhibitors in oncology. :14.

95. Prados MD, Chang SM, Butowski N, DeBoer R, Parvataneni R, Carliner H, et al. Phase II study of erlotinib plus temozolomide during and after radiation therapy in patients with newly diagnosed glioblastoma multiforme or gliosarcoma. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 févr 2009;27(4):579-84.
96. Clarke JL, Molinaro AM, Phillips JJ, Butowski NA, Chang SM, Perry A, et al. A single-institution phase II trial of radiation, temozolomide, erlotinib, and bevacizumab for initial treatment of glioblastoma. *Neuro-Oncol*. 1 juill 2014;16(7):984-90.
97. van den Bent MJ, Brandes AA, Rampling R, Kouwenhoven MCM, Kros JM, Carpentier AF, et al. Randomized Phase II Trial of Erlotinib Versus Temozolomide or Carmustine in Recurrent Glioblastoma: EORTC Brain Tumor Group Study 26034. *J Clin Oncol*. 10 mars 2009;27(8):1268-74.
98. Uhm JH, Ballman KV, Wu W, Giannini C, Krauss JC, Buckner JC, et al. Phase II evaluation of gefitinib in patients with newly diagnosed Grade 4 astrocytoma: Mayo/North Central Cancer Treatment Group Study N0074. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1 juin 2011;80(2):347-53.
99. Phase I/randomized phase II study of afatinib, an irreversible ErbB family blocker, with or without protracted temozolomide in adults with recurrent glioblastoma - PubMed [Internet]. [cité 17 févr 2022]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25140039/>
100. Sepúlveda JM, Vaz MA, Hernandez-Lain A, Gil M, Sanchez P, Ana R, et al. GEINO-11: A prospective multicenter, open label, phase II pilot clinical trial to evaluate safety and efficacy of PF-299804 (dacomitinib), a pan-HER irreversible inhibitor, in patients with recurrent glioblastoma with EGFR amplification or presence of EGFRvIII mutation. *J Clin Oncol*. 20 mai 2014;32(15_suppl):TPS2110-TPS2110.
101. Neyns B, Sadones J, Joosens E, Bouttens F, Verbeke L, Baurain JF, et al. Stratified phase II trial of cetuximab in patients with recurrent high-grade glioma. *Ann Oncol*. 1 sept 2009;20(9):1596-603.
102. Westphal M, Heese O, Steinbach JP, Schnell O, Schackert G, Mehdorn M, et al. A randomised, open label phase III trial with nimotuzumab, an anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody in the treatment of newly diagnosed adult glioblastoma. *Eur J Cancer*. 1 mars 2015;51(4):522-32.
103. Weller M, Butowski N, Tran DD, Recht LD, Lim M, Hirte H, et al. Rindopepimut with temozolomide for patients with newly diagnosed, EGFRvIII-expressing glioblastoma (ACT IV): a randomised, double-blind, international phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 1 oct 2017;18(10):1373-85.
104. Reardon DA, Desjardins A, Vredenburgh JJ, O'Rourke DM, Tran DD, Fink KL, et al. Rindopepimut with Bevacizumab for Patients with Relapsed EGFRvIII-Expressing

Glioblastoma (ReACT): Results of a Double-Blind Randomized Phase II Trial. *Clin Cancer Res.* 1 avr 2020;26(7):1586-94.

105. Van Den Bent M, Eoli M, Sepulveda JM, Smits M, Walenkamp A, Frenel JS, et al. INTELLANCE 2/EORTC 1410 randomized phase II study of Depatux-M alone and with temozolomide vs temozolomide or lomustine in recurrent EGFR amplified glioblastoma. *Neuro-Oncol.* 15 mai 2020;22(5):684-93.

106. AbbVie. A Randomized, Placebo Controlled Phase 3 Study of ABT-414 With Concurrent Chemoradiation and Adjuvant Temozolomide in Subjects With Newly Diagnosed Glioblastoma (GBM) With Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Amplification (Intelligence1) [Internet]. *clinicaltrials.gov*; 2021 déc [cité 15 févr 2022]. Report No.: NCT02573324. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02573324>

107. Lee A, Arasaratnam M, Chan DLH, Khasraw M, Howell VM, Wheeler H. Anti-epidermal growth factor receptor therapy for glioblastoma in adults. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2020 [cité 16 févr 2022];(5). Disponible sur: <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD013238.pub2/full>

108. Saleem H, Kulsoom Abdul U, Küçükosmanoglu A, Houweling M, Cornelissen FMG, Heiland DH, et al. The Ticking clock of EGFR therapy resistance in glioblastoma: Target Independence or target Compensation. *Drug Resist Updat.* 1 mars 2019;43:29-37.

109. Thiessen B, Stewart C, Tsao M, Kamel-Reid S, Schaiquevich P, Mason W, et al. A phase I/II trial of GW572016 (lapatinib) in recurrent glioblastoma multiforme: clinical outcomes, pharmacokinetics and molecular correlation. *Cancer Chemother Pharmacol.* 1 janv 2010;65(2):353-61.

110. Jonsson Comprehensive Cancer Center. Phase II Trial of Pulse Dosing of Lapatinib in Combination With Temozolomide and Regional Radiation Therapy for Upfront Treatment of Patients With Newly-Diagnosed Glioblastoma Multiforme [Internet]. *clinicaltrials.gov*; 2022 janv [cité 27 mars 2022]. Report No.: NCT01591577. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01591577>

111. Sautter L, Hofheinz R, Tuettenberg J, Grimm M, Vajkoczy P, Groden C, et al. Open-Label Phase II Evaluation of Imatinib in Primary Inoperable or Incompletely Resected and Recurrent Glioblastoma. *Oncology.* 2020;98(1):16-22.

112. Oda Y, Sul J, Shih JH, Kreisl TN, Butman JA, Iwamoto FM, et al. A Phase II trial of tandutinib (MLN 518) in combination with bevacizumab for patients with recurrent glioblastoma. *CNS Oncol.* avr 2016;5(2):59-67.

113. Temozolomide and Radiation Therapy With or Without Cediranib Maleate in Treating Patients With Newly Diagnosed Glioblastoma - Study Results - *ClinicalTrials.gov* [Internet]. [cité 24 févr 2022]. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT01062425>

114. Iwamoto FM, Lamborn KR, Robins HI, Mehta MP, Chang SM, Butowski NA, et al. Phase II trial of pazopanib (GW786034), an oral multi-targeted angiogenesis inhibitor, for adults with recurrent glioblastoma (North American Brain Tumor Consortium Study 06-02). *Neuro-Oncol.* août 2010;12(8):855-61.
115. Batchelor TT, Mulholland P, Neyns B, Nabors LB, Campone M, Wick A, et al. Phase III randomized trial comparing the efficacy of cediranib as monotherapy, and in combination with lomustine, versus lomustine alone in patients with recurrent glioblastoma. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 10 sept 2013;31(26):3212-8.
116. Sidney Kimmel Comprehensive Cancer Center at Johns Hopkins. An Open Label, Phase 2 Study Evaluating the Safety and Efficacy of IMC-3G3 or IMC-1121B in Patients With Recurrent Glioblastoma Multiforme [Internet]. *clinicaltrials.gov*; 2017 nov [cité 21 août 2022]. Report No.: NCT00895180. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00895180>
117. Duerinck J, Du Four S, Vandervorst F, D'Haene N, Le Mercier M, Michotte A, et al. Randomized phase II study of axitinib versus physicians best alternative choice of therapy in patients with recurrent glioblastoma. *J Neurooncol.* mai 2016;128(1):147-55.
118. Kalpathy-Cramer J, Chandra V, Da X, Ou Y, Emblem KE, Muzikansky A, et al. Phase II study of tivozanib, an oral VEGFR inhibitor, in patients with recurrent glioblastoma. *J Neurooncol.* févr 2017;131(3):603-10.
119. Bensimon J. Le switch angiogénique ou comment réveiller les cellules tumorales dormantes. *médecine/sciences.* 1 déc 2012;28(12):1069-71.
120. Jun JC, Rathore A, Younas H, Gilkes D, Polotsky VY. Hypoxia-Inducible Factors and Cancer. *Curr Sleep Med Rep.* mars 2017;3(1):1-10.
121. Figure 1.1 : Balance de différentes molécules proangiogéniques et... [Internet]. *ResearchGate.* [cité 24 févr 2022]. Disponible sur: https://www.researchgate.net/figure/Balance-de-differentes-molecules-proangiogeniques-et-antiangiogeniques-regulant-la_fig1_259494598
122. Wick W, Puduvalli VK, Chamberlain MC, van den Bent MJ, Carpentier AF, Cher LM, et al. Phase III Study of Enzastaurin Compared With Lomustine in the Treatment of Recurrent Intracranial Glioblastoma. *J Clin Oncol.* mars 2010;28(7):1168-74.
123. Denovo Biopharma LLC. A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase 3 Study of Enzastaurin Added to Temozolomide During and Following Radiation Therapy in Newly Diagnosed Glioblastoma Patients Who Possess the Novel Genomic Biomarker DGM1 [Internet]. *clinicaltrials.gov*; 2022 juin [cité 18 juill 2022]. Report No.: NCT03776071. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03776071>

124. Reardon DA, Lassman AB, Schiff D, Yunus SA, Gerstner ER, Cloughesy TF, et al. Phase 2 and biomarker study of trebananib, an angiopoietin-blocking peptibody, with and without bevacizumab for patients with recurrent glioblastoma. *Cancer*. 1 avr 2018;124(7):1438-48.
125. Rempe RG, Hartz AM, Bauer B. Matrix metalloproteinases in the brain and blood-brain barrier: Versatile breakers and makers. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1 sept 2016;36(9):1481-507.
126. Mahabeleshwar GH, Feng W, Reddy K, Plow EF, Byzova TV. Mechanisms of Integrin-Vascular Endothelial Growth Factor Receptor Cross-Activation in Angiogenesis. *Circ Res*. 14 sept 2007;101(6):570-80.
127. Stupp R, Hegi ME, Gorlia T, Erridge SC, Perry J, Hong YK, et al. Cilengitide combined with standard treatment for patients with newly diagnosed glioblastoma with methylated MGMT promoter (CENTRIC EORTC 26071-22072 study): a multicentre, randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 1 sept 2014;15(10):1100-8.
128. Elinzano H, Hebda N, Luppe D, Turchetti W, Rosati K, Sikov WM, et al. PSMA ADC for progressive glioblastoma: Phase II Brown University Oncology Research Group Study. *J Clin Oncol*. 20 mai 2016;34(15_suppl):2065-2065.
129. Boccaccio C, Comoglio PM. The MET Oncogene in Glioblastoma Stem Cells: Implications as a Diagnostic Marker and a Therapeutic Target. *Cancer Res*. 30 mai 2013;73(11):3193-9.
130. Wen PY, Drappatz J, de Groot J, Prados MD, Reardon DA, Schiff D, et al. Phase II study of cabozantinib in patients with progressive glioblastoma: subset analysis of patients naive to antiangiogenic therapy. *Neuro-Oncol*. 22 janv 2018;20(2):249-58.
131. Cloughesy TF, Drappatz J, de Groot J, Prados MD, Reardon DA, Schiff D, et al. Phase II study of cabozantinib in patients with progressive glioblastoma: subset analysis of patients with prior antiangiogenic therapy. *Neuro-Oncol*. 22 janv 2018;20(2):259-67.
132. Affronti ML, Jackman JG, McSherry F, Herndon JE, Massey EC, Lipp E, et al. Phase II Study to Evaluate the Efficacy and Safety of Rilotumumab and Bevacizumab in Subjects with Recurrent Malignant Glioma. *The Oncologist*. août 2018;23(8):889-e98.
133. Cloughesy T, Finocchiaro G, Belda-Iniesta C, Recht L, Brandes AA, Pineda E, et al. Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Multicenter Phase II Study of Onartuzumab Plus Bevacizumab Versus Placebo Plus Bevacizumab in Patients With Recurrent Glioblastoma: Efficacy, Safety, and Hepatocyte Growth Factor and O6-Methylguanine-DNA Methyltransferase Biomarker Analyses. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 20 janv 2017;35(3):343-51.
134. Li X, Wu C, Chen N, Gu H, Yen A, Cao L, et al. PI3K/Akt/mTOR signaling pathway and

targeted therapy for glioblastoma. *Oncotarget*. 7 mars 2016;7(22):33440-50.

135. Wen PY, Touat M, Alexander BM, Mellinghoff IK, Ramkissoon S, McCluskey CS, et al. Buparlisib in Patients With Recurrent Glioblastoma Harboring Phosphatidylinositol 3-Kinase Pathway Activation: An Open-Label, Multicenter, Multi-Arm, Phase II Trial. *J Clin Oncol*. 20 mars 2019;37(9):741-50.

136. Pitz MW, Eisenhauer EA, MacNeil MV, Thiessen B, Easaw JC, Macdonald DR, et al. Phase II study of PX-866 in recurrent glioblastoma. *Neuro-Oncol*. sept 2015;17(9):1270-4.

137. First-Line Paxalisib Yields Positive Results in Newly Diagnosed Glioblastoma [Internet]. *Cancer Network*. [cité 3 mars 2022]. Disponible sur: <https://www.cancernetwork.com/view/first-line-paxalisib-yields-positive-results-in-newly-diagnosed-glioblastoma>

138. Kaley TJ, Panageas KS, Mellinghoff IK, Nolan C, Gavrilovic IT, DeAngelis LM, et al. Phase II trial of an AKT inhibitor (perifosine) for recurrent glioblastoma. *J Neurooncol*. sept 2019;144(2):403-7.

139. Lièvre A, Laurent-Puig P. La voie de signalisation RAS/MAPK. *Cancéro Dig* [Internet]. 2010 [cité 4 mars 2022];11(1). Disponible sur: <http://hdl.handle.net/2042/30747>

140. Cruz Da Silva E, Mercier MC, Etienne-Selloum N, Dontenwill M, Choulier L. A Systematic Review of Glioblastoma-Targeted Therapies in Phases II, III, IV Clinical Trials. *Cancers*. janv 2021;13(8):1795.

141. Mao H, LeBrun DG, Yang J, Zhu VF, Li M. Deregulated Signaling Pathways in Glioblastoma Multiforme: Molecular Mechanisms and Therapeutic Targets. *Cancer Invest*. janv 2012;30(1):48-56.

142. Taylor JW, Parikh M, Phillips JJ, James CD, Molinaro AM, Butowski NA, et al. Phase-2 trial of palbociclib in adult patients with recurrent RB1-positive glioblastoma. *J Neurooncol*. nov 2018;140(2):477-83.

143. Lee EQ, Trippa L, Fell G, Rahman R, Arrillaga-Romany I, Touat M, et al. Preliminary results of the abemaciclib arm in the Individualized Screening Trial of Innovative Glioblastoma Therapy (INSIGHT): A phase II platform trial using Bayesian adaptive randomization. *J Clin Oncol*. 20 mai 2021;39(15_suppl):2014-2014.

144. Phase II Study of Combined Temozolomide and SGT-53 for Treatment of Recurrent Glioblastoma - Study Results - *ClinicalTrials.gov* [Internet]. [cité 4 mars 2022]. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT02340156>

145. Wick W, Dettmer S, Berberich A, Kessler T, Karapanagiotou-Schenkel I, Wick A, et al. N2M2 (NOA-20) phase I/II trial of molecularly matched targeted therapies plus radiotherapy in patients with newly diagnosed non-MGMT hypermethylated glioblastoma. *Neuro-Oncol*. 1

janv 2019;21(1):95-105.

146. Bazzoni R, Bentivegna A. Role of Notch Signaling Pathway in Glioblastoma Pathogenesis. *Cancers*. 1 mars 2019;11(3):292.
147. A Phase II and Pharmacodynamic Trial of RO4929097 for Patients With Recurrent/Progressive Glioblastoma - PubMed [Internet]. [cité 7 mars 2022]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33027815/>
148. Harrison DA. The JAK/STAT Pathway. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. mars 2012;4(3):a011205.
149. Gray GK, McFarland BC, Nozell SE, Benveniste EN. NF- κ B and STAT3 in Glioblastoma: Therapeutic Targets Coming of Age. *Expert Rev Neurother*. nov 2014;14(11):1293-306.
150. Chi A, DeRobles P, Foos E, Hitron M, Mason W. CTNI-45. A PHASE 1B/2 CLINICAL STUDY OF NAPABUCASIN IN COMBINATION WITH TEMOZOLOMIDE FOR ADULT PATIENTS WITH RECURRENT OR PROGRESSED GLIOBLASTOMA MULTIFORME (GBM). *Neuro-Oncol*. 9 nov 2020;22(Supplement_2):ii52.
151. Puliappadamba VT, Hatanpaa KJ, Chakraborty S, Habib AA. The role of NF- κ B in the pathogenesis of glioma. *Mol Cell Oncol*. 23 déc 2014;1(3):e963478.
152. Avci NG, Ebrahimzadeh-Pustchi S, Akay YM, Esquenazi Y, Tandon N, Zhu JJ, et al. NF- κ B inhibitor with Temozolomide results in significant apoptosis in glioblastoma via the NF- κ B(p65) and actin cytoskeleton regulatory pathways. *Sci Rep*. 7 août 2020;10(1):13352.
153. Carballo GB, Honorato JR, de Lopes GPF, Spohr TCL de S e. A highlight on Sonic hedgehog pathway. *Cell Commun Signal*. 20 mars 2018;16(1):11.
154. Lee Y, Lee JK, Ahn SH, Lee J, Nam DH. WNT signaling in glioblastoma and therapeutic opportunities. *Lab Invest*. févr 2016;96(2):137-50.
155. Penas-Prado M, Hess KR, Fisch MJ, Lagrone LW, Groves MD, Levin VA, et al. Randomized phase II adjuvant factorial study of dose-dense temozolomide alone and in combination with isotretinoin, celecoxib, and/or thalidomide for glioblastoma. *Neuro-Oncol*. 1 févr 2015;17(2):266-73.
156. The role of histone deacetylases (HDACs) in human cancer - Ropero - 2007 - *Molecular Oncology* - Wiley Online Library [Internet]. [cité 10 mars 2022]. Disponible sur: <https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1016/j.molonc.2007.01.001>
157. Friday BB, Anderson SK, Buckner J, Yu C, Giannini C, Geoffroy F, et al. Phase II trial of vorinostat in combination with bortezomib in recurrent glioblastoma: a north central cancer treatment group study. *Neuro-Oncol*. févr 2012;14(2):215-21.

158. Lee EQ, Reardon DA, Schiff D, Drappatz J, Muzikansky A, Grimm SA, et al. Phase II study of panobinostat in combination with bevacizumab for recurrent glioblastoma and anaplastic glioma. *Neuro-Oncol.* 1 juin 2015;17(6):862-7.
159. Ghiaseddin A, Reardon D, Massey W, Mannerino A, Lipp ES, Herndon JE, et al. Phase II Study of Bevacizumab and Vorinostat for Patients with Recurrent World Health Organization Grade 4 Malignant Glioma. *The Oncologist.* févr 2018;23(2):157-e21.
160. Iwamoto FM, Lamborn KR, Kuhn JG, Wen PY, Yung WKA, Gilbert MR, et al. A phase I/II trial of the histone deacetylase inhibitor romidepsin for adults with recurrent malignant glioma: North American Brain Tumor Consortium Study 03-03. *Neuro-Oncol.* mai 2011;13(5):509-16.
161. Grant R, Kolb L, Moliterno J. Molecular and genetic pathways in gliomas: the future of personalized therapeutics. *CNS Oncol.* mars 2014;3(2):123-36.
162. Les inhibiteurs de PARP : qu'est-ce que c'est ? [Internet]. [cité 29 mars 2022]. Disponible sur: <https://www.pactonco.fr/les-inhibiteurs-de-parp-qu-estce-que-c-est#:~:text=Les%20inhibiteurs%20de%20PARP%20emp%C3%AAchent,'erreurs%20sur%20l'A DN>.
163. Biomolécules | Free Full-Text | BRCAness as a Biomarker of Susceptibility to PARP Inhibitors in Glioblastoma Multiforme | HTML [Internet]. [cité 29 mars 2022]. Disponible sur: <https://www.mdpi.com/2218-273X/11/8/1188/htm>
164. Robins HI, Zhang P, Gilbert MR, Chakravarti A, de Groot JF, Grimm SA, et al. A randomized phase I/II study of ABT-888 in combination with temozolomide in recurrent temozolomide resistant glioblastoma: an NRG oncology RTOG group study. *J Neurooncol.* janv 2016;126(2):309-16.
165. Rahman M, Dastmalchi F, Karachi A, Mitchell D. The role of CMV in glioblastoma and implications for immunotherapeutic strategies. *Oncoimmunology.* 16 oct 2018;8(1):e1514921.
166. Batich KA, Mitchell DA, Healy P, Herndon JE II, Sampson JH. Once, Twice, Three Times a Finding: Reproducibility of Dendritic Cell Vaccine Trials Targeting Cytomegalovirus in Glioblastoma. *Clin Cancer Res.* 15 oct 2020;26(20):5297-303.
167. Tomtishen III JP. Human cytomegalovirus tegument proteins (pp65, pp71, pp150, pp28). *Virology.* 17 janv 2012;9(1):22.
168. VBI Vaccines Inc. A Two-part, Phase I/IIA Dose-Escalation Study to Define the Safety, Tolerability, and Optimal Dose of Candidate GBM Vaccine VBI-1901 With Subsequent Extension of Optimal Dose in Recurrent GBM Subjects [Internet]. clinicaltrials.gov; 2021 oct [cité 27 févr 2022]. Report No.: NCT03382977. Disponible sur:

<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03382977>


169. Vuagnat P, Champiat S. Immunothérapies anti-checkpoints : aspects fondamentaux. MISE AU POINT. 2018;6.
170. Brahm CG, van Linde ME, Enting RH, Schuur M, Otten RHJ, Heymans MW, et al. The Current Status of Immune Checkpoint Inhibitors in Neuro-Oncology: A Systematic Review. *Cancers*. 4 mars 2020;12(3):586.
171. Phase II study to evaluate safety and efficacy of MEDI4736 (durvalumab) + radiotherapy in patients with newly diagnosed unmethylated MGMT glioblastoma (new unmeth GBM). | *Journal of Clinical Oncology* [Internet]. [cité 18 mars 2022]. Disponible sur: https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2019.37.15_suppl.2032
172. Maggs L, Cattaneo G, Dal AE, Moghaddam AS, Ferrone S. CAR T Cell-Based Immunotherapy for the Treatment of Glioblastoma. *Front Neurosci* [Internet]. 2021 [cité 18 mars 2022];15. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2021.662064>
173. *Frontiers | Oncolytic Viro-Immunotherapy: An Emerging Option in the Treatment of Gliomas | Immunology* [Internet]. [cité 18 mars 2022]. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2021.721830/full#B95>
174. Oncolytic Virus Therapy Development - Creative Biolabs [Internet]. [cité 18 mars 2022]. Disponible sur: <https://www.creative-biolabs.com/oncolytic-virus/oncolytic-virus-therapy-development.htm>
175. Zadeh G, Daras M, Cloughesy TF, Colman H, Kumthekar PU, Chen CC, et al. LTBK-04. PHASE 2 MULTICENTER STUDY OF THE ONCOLYTIC ADENOVIRUS DNX-2401 (TASADENOTUREV) IN COMBINATION WITH PEMBROLIZUMAB FOR RECURRENT GLIOBLASTOMA; CAPTIVE STUDY (KEYNOTE-192). *Neuro-Oncol*. nov 2020;22(Suppl 2):ii237.
176. Idbaih A, Ducray F, Stupp R, Baize N, Chinot OL, De Groot JF, et al. A phase I/IIa study to evaluate the safety and efficacy of blood-brain barrier (BBB) opening with the SonoCloud-9 implantable ultrasound device in recurrent glioblastoma patients receiving IV carboplatin. *J Clin Oncol*. 20 mai 2021;39(15_suppl):2049-2049.
177. Innovative SonoCloud-9 Device for Blood Brain Barrier Opening in First Line Temozolomide Glioblastoma Patients. - No Study Results Posted - *ClinicalTrials.gov* [Internet]. [cité 25 mars 2022]. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT04614493>
178. Leuthardt EC, Duan C, Kim MJ, Campian JL, Kim AH, Miller-Thomas MM, et al. Hyperthermic Laser Ablation of Recurrent Glioblastoma Leads to Temporary Disruption of the Peritumoral Blood Brain Barrier. *PLOS ONE*. 24 févr 2016;11(2):e0148613.

179. Park SH, Kim MJ, Jung HH, Chang WS, Choi HS, Rachmilevitch I, et al. Safety and feasibility of multiple blood-brain barrier disruptions for the treatment of glioblastoma in patients undergoing standard adjuvant chemotherapy. *J Neurosurg.* 3 janv 2020;1-9.
180. Prados MD, Schold SC, Fine HA, Jaeckle K, Hochberg F, Mechtler L, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, phase 2 study of RMP-7 in combination with carboplatin administered intravenously for the treatment of recurrent malignant glioma. *Neuro-Oncol.* avr 2003;5(2):96-103.
181. Karmur BS, Philteos J, Abbasian A, Zacharia BE, Lipsman N, Levin V, et al. Blood-Brain Barrier Disruption in Neuro-Oncology: Strategies, Failures, and Challenges to Overcome. *Front Oncol.* 18 sept 2020;10:563840.
182. Casati G, Giunti L, Iorio AL, Marturano A, Galli L, Sardi I. Hippo Pathway in Regulating Drug Resistance of Glioblastoma. *Int J Mol Sci.* janv 2021;22(24):13431.
183. Turpin A, Sharif A, Stoven L, Blond S, Maurage CA, Le Rhun É. La niche des cellules souches tumorales dans le glioblastome : des aspects fondamentaux au ciblage thérapeutique. *Bull Cancer (Paris).* janv 2015;102(1):24-33.
184. Brower J, Clark PA, Lyon W, Kuo JS. MicroRNAs in Cancer: Glioblastoma and Glioblastoma Cancer Stem Cells. *Neurochem Int.* nov 2014;77:68-77.
185. Mehrian-Shai R, Reichardt JKV, Harris CC, Toren A. The Gut–Brain Axis, Paving the Way to Brain Cancer. *Trends Cancer.* avr 2019;5(4):200-7.
186. Davar D. Phase II Feasibility Study of Fecal Microbiota Transplant (FMT) in Advanced Melanoma Patients Not Responding to PD-1 Blockade [Internet]. *clinicaltrials.gov*; 2021 nov [cité 23 mars 2022]. Report No.: NCT03341143. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03341143>
187. Neuropathologie et pathologie moléculaire des gliomes [Internet]. *Revue Medicale Suisse.* [cité 2 déc 2021]. Disponible sur: <https://www.revmed.ch/revue-medicale-suisse/2009/revue-medicale-suisse-211/neuropathologie-et-pathologie-moleculaire-des-gliomes>
188. Moon BS, Cai M, Lee G, Zhao T, Song X, Giannotta SL, et al. Epigenetic modulator inhibition overcomes temozolomide chemoresistance and antagonizes tumor recurrence of glioblastoma. *J Clin Invest.* 2 nov 2020;130(11):5782-99.
189. Auffinger B, Spencer D, Pytel P, Ahmed AU, Lesniak MS. The role of glioma stem cells in chemotherapy resistance and glioblastoma multiforme recurrence. *Expert Rev Neurother.* 2015;15(7):741-52.
190. Barker CA, Bishop AJ, Chang M, Beal K, Chan TA. Valproic Acid Use During Radiation Therapy for Glioblastoma Associated With Improved Survival. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1

juill 2013;86(3):504-9.

191. Yuan Y, Xiang W, Qing M, Yanhui L, Jiewen L, Yunhe M. Survival analysis for valproic acid use in adult glioblastoma multiforme: A meta-analysis of individual patient data and a systematic review. *Seizure*. 1 nov 2014;23(10):830-5.
192. Krauze AV, Myrehaug SD, Chang MG, Holdford DJ, Smith S, Shih J, et al. A Phase 2 Study of Concurrent Radiation Therapy, Temozolomide, and the Histone Deacetylase Inhibitor Valproic Acid For Patients With Glioblastoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1 août 2015;92(5):986-92.
193. Razungles J, Cavallès V, Jalaguier S, Teyssier C. L'effet Warburg - De la théorie du cancer aux applications thérapeutiques en cancérologie. *médecine/sciences*. 1 nov 2013;29(11):1026-33.
194. Mazurek M, Litak J, Kamieniak P, Kulesza B, Jonak K, Baj J, et al. Metformin as Potential Therapy for High-Grade Glioma. *Cancers*. 15 janv 2020;12(1):210.
195. Würth R, Pattarozzi A, Gatti M, Bajetto A, Corsaro A, Parodi A, et al. Metformin selectively affects human glioblastoma tumor-initiating cell viability. *Cell Cycle*. 1 janv 2013;12(1):145-56.
196. Fang E, Wang J, Hong M, Zheng L, Tong Q. Valproic acid suppresses Warburg effect and tumor progression in neuroblastoma. *Biochem Biophys Res Commun*. 1 janv 2019;508(1):9-16.
197. Zhang X, Zhang X, Huang T, Geng J, Liu M, Zheng J. Combination of metformin and valproic acid synergistically induces cell cycle arrest and apoptosis in clear cell renal cell carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015;8(3):2823-8.
198. Tran LNK, Kichenadasse G, Butler LM, Centenera MM, Morel KL, Ormsby RJ, et al. The Combination of Metformin and Valproic Acid Induces Synergistic Apoptosis in the Presence of p53 and Androgen Signaling in Prostate Cancer. *Mol Cancer Ther*. 3 déc 2017;16(12):2689-700.
199. Møller HG, Rasmussen AP, Andersen HH, Johnsen KB, Henriksen M, Duroux M. A Systematic Review of MicroRNA in Glioblastoma Multiforme: Micro-modulators in the Mesenchymal Mode of Migration and Invasion. *Mol Neurobiol*. 2013;47(1):131-44.
200. Zhang M, Song T, Yang L, Chen R, Wu L, Yang Z, et al. Nestin and CD133: valuable stem cell-specific markers for determining clinical outcome of glioma patients. *J Exp Clin Cancer Res*. 24 déc 2008;27(1):85.
201. Yeh M, Wang YY, Yoo JY, Oh C, Otani Y, Kang JM, et al. MicroRNA-138 suppresses glioblastoma proliferation through downregulation of CD44. *Sci Rep*. 28 avr 2021;11(1):9219.

202. Wang Y, Dai W, Chu X, Yang B, Zhao M, Sun Y. Metformin inhibits lung cancer cells proliferation through repressing microRNA-222. *Biotechnol Lett.* déc 2013;35(12):2013-9.
203. Alimoradi N, Firouzabadi N, Fatehi R. How metformin affects various malignancies by means of microRNAs: a brief review. *Cancer Cell Int.* 13 avr 2021;21(1):207.
204. Cerda A, Fajardo CM, Basso RG, Hirata MH, Hirata RDC. Role of microRNAs 221/222 on Statin Induced Nitric Oxide Release in Human Endothelial Cells. *Arq Bras Cardiol.* mars 2015;104(3):195-200.
205. Fan Q, Gong T, Zheng C, Ng JMY, Chen J, Myers C, et al. Statins repress hedgehog signaling in medulloblastoma with no bone toxicities. *Oncogene.* mars 2021;40(12):2258-72.
206. Guerra B, Recio C, Aranda-Tavío H, Guerra-Rodríguez M, García-Castellano JM, Fernández-Pérez L. The Mevalonate Pathway, a Metabolic Target in Cancer Therapy. *Front Oncol [Internet].* 2021 [cité 20 mai 2022];11. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fonc.2021.626971>
207. Wu H, Jiang H, Lu D, Xiong Y, Qu C, Zhao D, et al. Effect of Simvastatin on Glioma Cell Proliferation, Migration and Apoptosis. *Neurosurgery.* déc 2009;65(6):1087-97.
208. Iannelli F, Roca MS, Lombardi R, Ciardiello C, Grumetti L, De Rienzo S, et al. Synergistic antitumor interaction of valproic acid and simvastatin sensitizes prostate cancer to docetaxel by targeting CSCs compartment via YAP inhibition. *J Exp Clin Cancer Res.* 8 oct 2020;39(1):213.
209. Ashburn TT, Thor KB. Drug repositioning: identifying and developing new uses for existing drugs. *Nat Rev Drug Discov.* août 2004;3(8):673-83.
210. Xue H, Li J, Xie H, Wang Y. Review of Drug Repositioning Approaches and Resources. *Int J Biol Sci.* 13 juill 2018;14(10):1232-44.
211. Drug repositioning: a brief overview - Jourdan - 2020 - *Journal of Pharmacy and Pharmacology - Wiley Online Library [Internet].* [cité 27 déc 2021]. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jphp.13273>
212. Alomari S, Zhang I, Hernandez A, Kraft CY, Raj D, Kedda J, et al. Drug Repurposing for Glioblastoma and Current Advances in Drug Delivery—A Comprehensive Review of the Literature. *Biomolecules.* déc 2021;11(12):1870.
213. Martin P. Les nouvelles approches pharmacologiques du traitement de l'anxiété - Designing novel anxiolytic drugs: from receptors to ligands? *Mise Au Point.* 2006;10.
214. Tian S, Lei I, Gao W, Liu L, Guo Y, Creech J, et al. HDAC inhibitor valproic acid protects heart function through Foxm1 pathway after acute myocardial infarction. *EBioMedicine.* janv 2019;39:83-94.

215. Vatzaki E, Straus S, Dogne JM, Garcia Burgos J, Girard T, Martelletti P. Latest clinical recommendations on valproate use for migraine prophylaxis in women of childbearing age: overview from European Medicines Agency and European Headache Federation. *J Headache Pain*. 14 août 2018;19(1):68.
216. VIDAL Hoptimal [Internet]. [cité 28 déc 2021]. Disponible sur: <http://www.vidalhoptimal.fr/showProduct.html?productId=73018>
217. VIDAL Hoptimal [Internet]. [cité 28 déc 2021]. Disponible sur: <http://www.vidalhoptimal.fr/showProduct.html?productId=196978>
218. Biguanides [Internet]. [cité 21 avr 2022]. Disponible sur: <https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/biguanides>
219. Statines [Internet]. [cité 28 déc 2021]. Disponible sur: <https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/statines>
220. Statines [Internet]. [cité 22 sept 2022]. Disponible sur: <https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/statines>
221. Santos DM, Pantano L, Pronzati G, Grasberger P, Probst CK, Black KE, et al. Screening for YAP Inhibitors Identifies Statins as Modulators of Fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol*. avr 2020;62(4):479-92.
222. Mihaylova MM, Shaw RJ. The AMP-activated protein kinase (AMPK) signaling pathway coordinates cell growth, autophagy, & metabolism. *Nat Cell Biol*. 2 sept 2011;13(9):1016-23.
223. Foretz M, Taleux N, Guigas B, Horman S, Beauloye C, Andreelli F, et al. Régulation du métabolisme énergétique par l'AMPK - Une nouvelle voie thérapeutique pour le traitement des maladies métaboliques et cardiaques. *médecine/sciences*. 1 avr 2006;22(4):381-8.
224.  AMPK et mTOR - Tout ce que vous Devez Savoir **【Blog HSN】** [Internet]. Blog de Fitness, Nutrition, Santé et Sport | HSN Blog. 2020 [cité 5 mai 2022]. Disponible sur: <https://www.hsnstore.fr/blog/sports/fitness/ampk-et-mtor/>
225. Mancini SJ, White AD, Bijland S, Rutherford C, Graham D, Richter EA, et al. Activation of AMP-activated protein kinase rapidly suppresses multiple pro-inflammatory pathways in adipocytes including IL-1 receptor-associated kinase-4 phosphorylation. *Mol Cell Endocrinol*. 15 janv 2017;440:44-56.
226. Foretz M, Viollet B. Mécanisme d'action hépatique de la metformine dans le diabète de type 2. *Médecine Mal Métaboliques*. 1 janv 2009;3(1):48-54.
227. Pollak MN. Investigating Metformin for Cancer Prevention and Treatment: The End of the Beginning. *Cancer Discov*. 10 sept 2012;2(9):778-90.

228. Metabolic Roles of AMPK and Metformin in Cancer Cells - PMC [Internet]. [cité 5 mai 2022]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3887985/>
229. Avery LB, Bumpus NN. Valproic Acid Is a Novel Activator of AMP-Activated Protein Kinase and Decreases Liver Mass, Hepatic Fat Accumulation, and Serum Glucose in Obese Mice. *Mol Pharmacol*. 1 janv 2014;85(1):1-10.
230. Johnson R, Halder G. The two faces of Hippo: targeting the Hippo pathway for regenerative medicine and cancer treatment. *Nat Rev Drug Discov*. janv 2014;13(1):63-79.
231. Sorrentino G, Ruggeri N, Specchia V, Cordenonsi M, Mano M, Dupont S, et al. Metabolic control of YAP and TAZ by the mevalonate pathway. *Nat Cell Biol*. avr 2014;16(4):357-66.
232. Ferraiuolo M, Verduci L, Blandino G, Strano S. Mutant p53 Protein and the Hippo Transducers YAP and TAZ: A Critical Oncogenic Node in Human Cancers. *Int J Mol Sci*. 3 mai 2017;18(5):961.
233. Marques C, Unterkircher T, Kroon P, Izzo A, Dramaretska Y, Kling E, et al. NF1 regulates mesenchymal glioblastoma plasticity and aggressiveness through the AP-1 transcription factor FOSL1 [Internet]. *bioRxiv*; 2020 [cité 20 mai 2022]. p. 834531. Disponible sur: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/834531v2>
234. Jin Y, Wang C, Liu X, Mu W, Chen Z, Yu D, et al. Molecular Characterization of the MicroRNA-138-Fos-like Antigen 1 (FOSL1) Regulatory Module in Squamous Cell Carcinoma. *J Biol Chem*. 18 nov 2011;286(46):40104-9.
235. Qiu S, Huang D, Yin D, Li F, Li X, Kung HF, et al. Suppression of tumorigenicity by microRNA-138 through inhibition of EZH2-CDK4/6-pRb-E2F1 signal loop in glioblastoma multiforme. *Biochim Biophys Acta*. oct 2013;1832(10):1697-707.
236. Günel NS, Birden N, Kurt CÇ, Bağca BG. Effect of Valproic Acid on miRNAs Affecting Histone Deacetylase in a Model of Anaplastic Thyroid Cancer. :12.
237. Bourien H, Frénel JS. Ciblage thérapeutique de p53. 2017;4.
238. Wong PM, Puente C, Ganley IG, Jiang X. The ULK1 complex. *Autophagy*. 1 févr 2013;9(2):124-37.
239. Jones RG, Plas DR, Kubek S, Buzzai M, Mu J, Xu Y, et al. AMP-Activated Protein Kinase Induces a p53-Dependent Metabolic Checkpoint. *Mol Cell*. 29 avr 2005;18(3):283-93.
240. Tsai HC, Wei KC, Chen PY, Huang CY, Chen KT, Lin YJ, et al. Valproic Acid Enhanced Temozolomide-Induced Anticancer Activity in Human Glioma Through the p53–PUMA Apoptosis Pathway. *Front Oncol* [Internet]. 2021 [cité 15 mai 2022];11. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fonc.2021.722754>

241. Ghosh-Choudhury N, Mandal CC, Ghosh-Choudhury N, Choudhury GG. SIMVASTATIN INDUCES DEREPRESSION OF PTEN EXPRESSION VIA NF κ B TO INHIBIT BREAST CANCER CELL GROWTH. *Cell Signal*. mai 2010;22(5):749-58.
242. TERT Mutations in Glioma | OncologyPRO [Internet]. [cité 30 déc 2021]. Disponible sur: <https://oncologypro.esmo.org/education-library/factsheets-on-biomarkers/tert-mutations-in-glioma>
243. Konnikova L, Simeone MC, Kruger MM, Kotecki M, Cochran BH. Signal Transducer and Activator of Transcription 3 (STAT3) Regulates Human Telomerase Reverse Transcriptase (hTERT) Expression in Human Cancer and Primary Cells. *Cancer Res*. 1 août 2005;65(15):6516-20.
244. Wang ST, Huang SW, Liu KT, Lee TY, Shieh JJ, Wu CY. Atorvastatin-induced senescence of hepatocellular carcinoma is mediated by downregulation of hTERT through the suppression of the IL-6/STAT3 pathway. *Cell Death Discov*. 30 mars 2020;6:17.
245. La cellule/Metabolisme/Catabolisme : La glycolyse anaérobie [Internet]. [cité 13 mai 2022]. Disponible sur: <http://webiologie.free.fr/cellules/metabolisme/glycolyse.html>
246. Naudin L. Modélisation du métabolisme énergétique tumoral glycolytique vs. respiratoire oxydatif. :68.
247. Faubert B, Boily G, Izreig S, Griss T, Samborska B, Dong Z, et al. AMPK is a negative regulator of the Warburg Effect and suppresses tumor growth in vivo. *Cell Metab*. 8 janv 2013;17(1):113-24.
248. Yang F qiang, Liu M, Yang F ping, Che J, Li W, Zhai W, et al. VPA inhibits renal cancer cell migration by targeting HDAC2 and down-regulating HIF-1 α . *Mol Biol Rep*. mars 2014;41(3):1511-8.
249. Epigénétique · Inserm, La science pour la santé [Internet]. Inserm. [cité 30 mai 2022]. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/dossier/epigenetique/>
250. Weber M. Profils de méthylation de l'ADN dans les cellules normales et cancéreuses. *médecine/sciences*. août 2008;24(8-9):731-4.
251. Ryu CH, Yoon WS, Park KY, Kim SM, Lim JY, Woo JS, et al. Valproic acid downregulates the expression of MGMT and sensitizes temozolomide-resistant glioma cells. *J Biomed Biotechnol*. 2012;2012:987495.
252. Li Z, Xia Y, Bu X, Yang D, Yuan Y, Guo X, et al. Effects of valproic acid on the susceptibility of human glioma stem cells for TMZ and ACNU. *Oncol Lett*. juin 2018;15(6):9877-83.
253. Portha B, Fournier A, Kioon MD, Mezger V, Movassat J. Environnement périnatal :

marques épigénétiques et déterminisme des maladies métaboliques de l'adulte. Preuves de concept. Cah Nutr Diététique. 1 déc 2013;48(6):282-97.

254. Les micro-ARN - Labster Theory [Internet]. [cité 1 juin 2022]. Disponible sur: <https://theory.labster.com/micrnas-fr/>

255. ARN non codant : définition et explications [Internet]. [cité 1 juin 2022]. Disponible sur: <https://www.aquaportail.com/definition-15270-arn-non-codant.html#:~:text=Les%20ARN%20non%20codants%20sont,en%20fonction%20de%20leur%20longueur.>

256. Brower J, Clark PA, Lyon W, Kuo JS. MicroRNAs in Cancer: Glioblastoma and Glioblastoma Cancer Stem Cells. Neurochem Int. nov 2014;77:68-77.

257. Cellules souches cancéreuses : les racines du mal ? [Internet]. Ligue contre le cancer. [cité 16 juin 2022]. Disponible sur: https://www.ligue-cancer.net/vivre/article/26509_cellules-souches-cancereuses-les-racines-du-mal

258. Visvader JE, Lindeman GJ. Cancer Stem Cells: Current Status and Evolving Complexities. Cell Stem Cell. 14 juin 2012;10(6):717-28.

259. Traiffort E, Ferent J. Cellules souches neurales et signalisation Notch. médecine/sciences. 1 déc 2015;31(12):1115-25.

260. Kong DS. Cancer Stem Cells in Brain Tumors and Their Lineage Hierarchy. Int J Stem Cells. mai 2012;5(1):12-5.

261. Seidel S, Garvalov BK, Wirta V, von Stechow L, Schänzer A, Meletis K, et al. A hypoxic niche regulates glioblastoma stem cells through hypoxia inducible factor 2 α . Brain. 1 avr 2010;133(4):983-95.

262. Turpin A, Sharif A, Stoven L, Blond S, Maurage CA, Le Rhun É. La niche des cellules souches tumorales dans le glioblastome : des aspects fondamentaux au ciblage thérapeutique. Bull Cancer (Paris). janv 2015;102(1):24-33.

263. Sundar SJ, Hsieh JK, Manjila S, Lathia JD, Sloan A. The role of cancer stem cells in glioblastoma. Neurosurg Focus. 1 déc 2014;37(6):E6.

264. Khalifa J, Boyrie S, Moyal É. Réparation des lésions de l'ADN radio-induites et radiosensibilité. 2012;7.

265. Schonberg DL, Lubelski D, Miller TE, Rich JN. Brain tumor stem cells: molecular characteristics and their impact on therapy. Mol Aspects Med. oct 2014;0:82-101.

266. Ropolo M, Daga A, Griffero F, Foresta M, Casartelli G, Zunino A, et al. Comparative Analysis of DNA Repair in Stem and Nonstem Glioma Cell Cultures. Mol Cancer Res. 1 mars

2009;7(3):383-92.

267. MET inhibition overcomes radiation resistance of glioblastoma stem-like cells. *EMBO Mol Med.* mai 2016;8(5):550-68.

268. Metformin inhibits the inflammatory response associated with cellular transformation and cancer stem cell growth | *Proceedings of the National Academy of Sciences* [Internet]. *PNAS.* [cité 23 juin 2022]. Disponible sur: <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.1221055110>

269. Macharia LW, Muriithi W, Nyaga DK, de Mattos Coelho-Aguiar J, de Sampaio e Spohr TCL, Moura-Neto V. Evaluation of miRNA Expression in Glioblastoma Stem-Like Cells: A Comparison between Normoxia and Hypoxia Microenvironment. *Onco.* juin 2022;2(2):113-28.

270. Seeree P, Janvilisri T, Kangsamaksin T, Tohtong R, Kumkate S. Downregulation of ABCA1 and ABCG1 transporters by simvastatin in cholangiocarcinoma cells. *Oncol Lett.* nov 2019;18(5):5173-84.

271. Lee JE, Lim JH, Hong YK, Yang SH. High-Dose Metformin Plus Temozolomide Shows Increased Anti-tumor Effects in Glioblastoma In Vitro and In vivo Compared with Monotherapy. *Cancer Res Treat Off J Korean Cancer Assoc.* oct 2018;50(4):1331-42.

272. Shojaei S, Koleini N, Samiei E, Aghaei M, Cole LK, Alizadeh J, et al. Simvastatin increases temozolomide-induced cell death by targeting the fusion of autophagosomes and lysosomes. *FEBS J.* 2020;287(5):1005-34.

273. Fuentes-Fayos AC, Vazquez-Borrego MC, Mansfield B, Blanco-Acevedo C, Solivera J, Castano JP, et al. Metformin and Simvastatin: a therapeutic combination to reduce the aggressiveness of glioblastoma multiforme. In: *Endocrine Abstracts* [Internet]. *Bioscientifica;* 2018 [cité 16 juill 2022]. Disponible sur: <https://www.endocrine-abstracts.org/ea/0056/ea0056p652>

274. Résumé des caractéristiques du produit - TEMOZOLOMIDE MYLAN 250 mg, gélule - Base de données publique des médicaments [Internet]. [cité 18 juill 2022]. Disponible sur: <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=67632968&typedoc=R>

275. Dowling RJO, Niraula S, Stambolic V, Goodwin PJ. Metformin in cancer: translational challenges. *J Mol Endocrinol.* 1 juin 2012;48(3):R31-43.

276. Phase 1 lead-in to a phase 2 factorial study of temozolomide plus memantine, mefloquine, and metformin as postradiation adjuvant therapy for newly diagnosed glioblastoma - Maraka - 2019 - *Cancer* - Wiley Online Library [Internet]. [cité 26 juill 2022]. Disponible sur: <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cncr.31811>

277. Altwairgi AK, Alghareeb WA, AlNajjar FH, Alhussain H, Alsaeed E, Balbaid AAO, et al. Atorvastatin in combination with radiotherapy and temozolomide for glioblastoma: a prospective phase II study. *Invest New Drugs*. févr 2021;39(1):226-31.

278. Tilija Pun N, Jeong CH. Statin as a Potential Chemotherapeutic Agent: Current Updates as a Monotherapy, Combination Therapy, and Treatment for Anti-Cancer Drug Resistance. *Pharmaceuticals*. 16 mai 2021;14(5):470.

SERMENT DE GALIEN



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

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

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

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Résumé :

Le glioblastome multiforme (GBM) représente la tumeur cérébrale gliale primitive la plus fréquente et agressive chez l'adulte. Malgré le traitement optimal préconisé par le protocole de Stupp, la rechute tumorale est quasiment inéluctable et la survie médiane des patients est de 14,6 mois. Les études se multiplient, et grâce à l'amélioration de la compréhension des mécanismes génétiques et moléculaires, de nouvelles stratégies thérapeutiques sont proposées. Pourtant, aucune ne semble encore améliorer le pronostic des patients. L'Acide Valproïque (VPA), la Metformine et la Simvastatine disposent de propriétés anti-cancéreuses. Après la compréhension des principaux mécanismes de radiochimiorésistance et de l'action des trois molécules sur la cellule cancéreuse, l'objectif est d'imaginer un concept cherchant à évaluer l'intérêt d'un repositionnement les associant au protocole de Stupp dans le GBM.

L'importance des modulations épigénétiques, la persistance de cellules souches et l'adoption par la cellule d'un métabolisme glycolytique aérobie (effet Warburg) sont des facteurs de résistance dans le GBM. VPA, Metformine et Simvastatine, par leurs actions sur certains micro-ARN, marqueurs souches et/ou voies de signalisation, permettraient de les cibler de façon innovante, potentialiseraient le traitement par Témzolomide et présenteraient une synergie d'action anti-tumorale.

Leur liposolubilité, leur faible coût ainsi que leur bonne tolérance générale nous encourage à vouloir développer un essai clinique de phase I visant à déterminer l'innocuité et la tolérabilité de leur combinaison au protocole de Stupp dans le GBM et d'en examiner les premiers indicateurs d'efficacité.

Mots clés :

- Glioblastome multiforme
- Repositionnement de médicaments
- Epigénétique
- Cellules souches cancéreuses
- Effet Warburg
- Essai clinique