# Université de Poitiers
# Faculté de Médecine et Pharmacie

**ANNEE 2019**

## THESE
**POUR LE DIPLOME D'ETAT**
**DE DOCTEUR EN MEDECINE**
**(décret du 16 janvier 2004)**

Présentée et soutenue publiquement
le 15 avril 2019 à Poitiers
**par M$^{me}$ Sophie RICHARD**

**Survie globale et survie sans progression chez des patients atteints d'un glioblastome avec perte du chromosome 10q et hyperméthylation du promoteur du gène *MGMT*: étude pronostique rétrospective multicentrique (ancienne région Poitou-Charentes) entre 2016 et 2018**

**COMPOSITION DU JURY**

**Président** : Monsieur le Professeur Jean-Michel GOUJON

**Membres** :
- Madame la Professeure Lucie KARAYAN-TAPON
- Monsieur le Professeur Michel WAGER
- Monsieur le Professeur Rémy GUILLEVIN
- Madame le Docteur Gaëlle TACHON
- Madame le Docteur Marie FLORES

**Directrice de thèse** : Madame la Professeure Lucie KARAYAN-TAPON

UNIVERSITE DE POITIERS

*Faculté de Médecine et de Pharmacie*

*Le Doyen,*

Année universitaire 2018 - 2019

# LISTE DES ENSEIGNANTS DE MEDECINE

***Professeurs des Universités-Praticiens Hospitaliers***

- ALLAL Joseph, thérapeutique
- BATAILLE Benoît, neurochirurgie **(retraite 09/2019)**
- BRIDOUX Frank, néphrologie
- BURUCOA Christophe, bactériologie – virologie
- CARRETIER Michel, chirurgie générale **(retraite 09/2019)**
- CHEZE-LE REST Catherine, biophysique et médecine nucléaire
- CHRISTIAENS Luc, cardiologie
- CORBI Pierre, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
- DAHYOT-FIZELIER Claire, anesthésiologie – réanimation
- DEBAENE Bertrand, anesthésiologie réanimation
- DEBIAIS Françoise, rhumatologie
- DROUOT Xavier, physiologie
- DUFOUR Xavier, Oto-Rhino-Laryngologie
- FAURE Jean-Pierre, anatomie
- FRASCA Denis, anesthésiologie-réanimation
- FRITEL Xavier, gynécologie-obstétrique
- GAYET Louis-Etienne, chirurgie orthopédique et traumatologique
- GERVAIS Elisabeth, rhumatologie
- GICQUEL Ludovic, pédopsychiatrie
- GILBERT Brigitte, génétique
- GOMBERT Jean-Marc, immunologie
- GOUJON Jean-Michel, anatomie et cytologie pathologiques
- GUILLEVIN Rémy, radiologie et imagerie médicale
- HAUET Thierry, biochimie et biologie moléculaire
- HOUETO Jean-Luc, neurologie
- INGRAND Pierre, biostatistiques, informatique médicale
- JAAFARI Nematollah, psychiatrie d'adultes
- JABER Mohamed, cytologie et histologie
- JAYLE Christophe, chirurgie thoracique t cardio-vasculaire
- KARAYAN-TAPON Lucie, cancérologie
- KEMOUN Gilles, médecine physique et de réadaptation **(en détachement)**
- KRAIMPS Jean-Louis, chirurgie générale
- LECLERE Franck, chirurgie plastique, reconstructrice
- LECRON Jean-Claude, biochimie et biologie moléculaire
- LELEU Xavier, hématologie
- LEVARD Guillaume, chirurgie infantile
- LEVEQUE Nicolas, bactériologie-virologie
- LEVEZIEL Nicolas, ophtalmologie
- MACCHI Laurent, hématologie
- MCHEIK Jiad, chirurgie infantile
- MEURICE Jean-Claude, pneumologie
- MIGEOT Virginie, santé publique
- MILLOT Frédéric, pédiatrie, oncologie pédiatrique
- MIMOZ Olivier, anesthésiologie – réanimation
- NEAU Jean-Philippe, neurologie
- ORIOT Denis, pédiatrie
- PACCALIN Marc, gériatrie
- PERAULT Marie-Christine, pharmacologie clinique
- PERDRISOT Rémy, biophysique et médecine nucléaire
- PIERRE Fabrice, gynécologie et obstétrique
- PRIES Pierre, chirurgie orthopédique et traumatologique
- RICHER Jean-Pierre, anatomie
- RIGOARD Philippe, neurochirurgie
- ROBERT René, réanimation
- ROBLOT France, maladies infectieuses, maladies tropicales
- ROBLOT Pascal, médecine interne
- RODIER Marie-Hélène, parasitologie et mycologie
- SAULNIER Pierre-Jean, thérapeutique
- SCHNEIDER Fabrice, chirurgie vasculaire
- SILVAIN Christine, hépato-gastro- entérologie
- TASU Jean-Pierre, radiologie et imagerie médicale
- THIERRY Antoine, néphrologie
- THILLE Arnaud, réanimation
- TOUGERON David, gastro-entérologie
- TOURANI Jean-Marc, cancérologie **(retraite 09/2019)**
- WAGER Michel, neurochirurgie
- XAVIER Jean, pédopsychiatrie

***Maîtres de Conférences des Universités-Praticiens Hospitaliers***

- ALBOUY-LLATY Marion, santé publique
- BEBY-DEFAUX Agnès, bactériologie – virologie
- BEN-BRIK Eric, médecine du travail **(en détachement)**
- BILAN Frédéric, génétique
- BOURMEYSTER Nicolas, biologie cellulaire
- CASTEL Olivier, bactériologie - virologie – hygiène
- COUDROY Rémy, réanimation **(en mission 1 an)**
- CREMNITER Julie, bactériologie – virologie
- DIAZ Véronique, physiologie
- FROUIN Eric, anatomie et cytologie pathologiques
- GARCIA Magali, bactériologie-virologie **(en mission 1 an)**
- JAVAUGUE Vincent, néphrologie
- LAFAY Claire, pharmacologie clinique
- PALAZZO Paola, neurologie **(pas avant janvier 2019)**
- PERRAUD Estelle, parasitologie et mycologie
- RAMMAERT-PALTRIE Blandine, maladies infectieuses
- SAPANET Michel, médecine légale
- THUILLIER Raphaël, biochimie et biologie moléculaire

***Professeur des universités de médecine générale***

- BINDER Philippe
- GOMES DA CUNHA José

Bât. D1 - 6 rue de la Milétrie – TSA 51115 - 86073 POITIERS CEDEX 9 - France
☎05.49.45.43.43 - 🖷 05.49.45.43.05

***Professeurs associés de médecine générale***

- BIRAULT François
- FRECHE Bernard
- MIGNOT Stéphanie
- PARTHENAY Pascal
- VALETTE Thierry

***Maîtres de Conférences associés de médecine générale***

- AUDIER Pascal
- ARCHAMBAULT Pierrick
- BRABANT Yann
- VICTOR-CHAPLET Valérie

***Enseignants d'Anglais***

- DEBAIL Didier, professeur certifié
- GAY Julie, professeur agrégé

***Professeurs émérites***

- DORE Bertrand, urologie (08/2020)
- EUGENE Michel, physiologie (08/2019)
- GIL Roger, neurologie (08/2020)
- GUILHOT-GAUDEFFROY François, hématologie et transfusion (08/2020)
- HERPIN Daniel, cardiologie (08/2020)
- KITZIS Alain, biologie cellulaire (16/02/2019)
- MARECHAUD Richard, médecine interne (24/11/2020)
- MAUCO Gérard, biochimie et biologie moléculaire (08/2021)
- RICCO Jean-Baptiste, chirurgie vasculaire (08/2020)
- SENON Jean-Louis, psychiatrie d'adultes (08/2020)
- TOUCHARD Guy, néphrologie (08/2021)

***Professeurs et Maîtres de Conférences honoraires***

- AGIUS Gérard, bactériologie-virologie
- ALCALAY Michel, rhumatologie
- ARIES Jacques, anesthésiologie-réanimation
- BABIN Michèle, anatomie et cytologie pathologiques
- BABIN Philippe, anatomie et cytologie pathologiques
- BARBIER Jacques, chirurgie générale (ex-émérite)
- BARRIERE Michel, biochimie et biologie moléculaire
- BECQ-GIRAUDON Bertrand, maladies infectieuses, maladies tropicales (ex-émérite)
- BEGON François, biophysique, médecine nucléaire
- BOINOTCatherine, hématologie – transfusion
- BONTOUX Daniel, rhumatologie (ex-émérite)
- BURIN Pierre, histologie
- CASTETS Monique, bactériologie -virologie – hygiène
- CAVELLIER Jean-François, biophysique et médecine nucléaire
- CHANSIGAUD Jean-Pierre, biologie du développement et de la reproduction
- CLARAC Jean-Pierre, chirurgie orthopédique
- DABAN Alain, cancérologie radiothérapie (ex-émérite)
- DAGREGORIO Guy, chirurgie plastique et reconstructrice
- DESMAREST Marie-Cécile, hématologie
- DEMANGE Jean, cardiologie et maladies vasculaires
- FAUCHERE Jean-Louis, bactériologie-virologie (ex-émérite)
- FONTANEL Jean-Pierre, Oto-Rhino Laryngologie (ex-émérite)
- GRIGNON Bernadette, bactériologie
- GUILLARD Olivier, biochimie et biologie moléculaire
- GUILLET Gérard, dermatologie
- JACQUEMIN Jean-Louis, parasitologie et mycologie médicale
- KAMINA Pierre, anatomie (ex-émérite)
- KLOSSEK Jean-Michel, Oto-Rhino-Laryngologie
- LAPIERRE Françoise, neurochirurgie (ex-émérite)
- LARSEN Christian-Jacques, biochimie et biologie moléculaire
- LEVILLAIN Pierre, anatomie et cytologie pathologiques
- MAGNIN Guillaume, gynécologie-obstétrique (ex-émérite)
- MAIN de BOISSIERE Alain, pédiatrie
- MARCELLI Daniel, pédopsychiatrie (ex-émérite)
- MARILLAUD Albert, physiologie
- MENU Paul, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire (ex-émérite)
- MORICHAU-BEAUCHANT Michel, hépato-gastro-entérologie
- MORIN Michel, radiologie, imagerie médicale
- PAQUEREAU Joël, physiologie
- POINTREAU Philippe, biochimie
- POURRAT Olivier, médecine interne (ex-émérite)
- REISS Daniel, biochimie
- RIDEAU Yves, anatomie
- SULTAN Yvette, hématologie et transfusion
- TALLINEAU Claude, biochimie et biologie moléculaire
- TANZER Joseph, hématologie et transfusion (ex-émérite)
- VANDERMARCQ Guy, radiologie et imagerie médicale

**REMERCIEMENTS**

**A mon Président de thèse, Monsieur le Professeur Jean-Michel GOUJON**

Vous me faites l'honneur de présider ce jury de thèse. Je vous remercie pour votre accueil bienveillant au sein de votre service et pour votre enseignement de l'anatomie et cytologie pathologiques. Veuillez trouver ici le témoignage de mon profond respect et de ma reconnaissance.

**A ma directrice de thèse, Madame la Professeure Lucie KARAYAN-TAPON**

Je vous remercie de m'avoir accueilli dans votre service et de m'avoir enseigné la cancérologie biologique. Je suis sensible au soutien et à la confiance que vous m'avez témoignée tout au long de ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de ma reconnaissance et de toute mon estime.

**Aux membres du jury,**

**Monsieur le Professeur Michel WAGER**

Vous me faites l'honneur de juger ce travail et je vous en remercie. Veuillez trouvez ici l'expression de ma profonde reconnaissance et de mon respect.

**Monsieur le Professeur Rémy GUILLEVIN**

Vous me faites l'honneur de juger cette thèse. Veuillez croire en l'expression de mes sincères remerciements et de mon profond respect.

**Madame le Docteur Gaëlle TACHON**

Vous m'avez enseigné la cancérologie biologique au quotidien tout au long de ces semestres. Je vous remercie de l'amitié que vous m'avez témoignée. Veuillez trouver ici l'expression de mes vifs remerciements pour l'intérêt porté à ce travail.

**Madame le Docteur Marie FLORES**

Je vous remercie pour votre soutien et votre bienveillance. Vos conseils, votre disponibilité et votre amitié me sont précieuses. Votre dynamisme et votre force de travail sont pour moi une source d'inspiration. Veuillez trouvez ici l'expression de mon affection et de ma reconnaissance.

**TABLE DES MATIERES**

**LISTE DES ABREVATIONS ..... 8**
**PARTIE 1 - Généralités sur le glioblastome ..... 10**
**1. Introduction ..... 10**
**2. Données épidémiologiques ..... 10**
2.1. Données d'incidence et de prévalence ..... 10
2.2. Age et sex-ratio ..... 10
2.3. Facteurs de risque ..... 11
2.4. Données de survie - Facteurs pronostiques et prédictifs ..... 11
**3. Données cliniques ..... 14**
3.1. Présentation clinique ..... 14
3.2. Complications évolutives ..... 14
**4. Données neuroradiologiques ..... 15**
4.1. Tomodensitométrie (TDM) ..... 15
4.2. Imagerie par résonance magnétique (IRM) ..... 16
4.2.1. IRM morphologique ..... 16
4.2.2. IRM de perfusion ..... 17
4.2.3. IRM de diffusion ..... 18
4.2.4. Spectroscopie par résonance magnétique (SRM) ..... 19
4.2.5. IRM par tenseur de diffusion ..... 20
4.3. Tomographie par émission de positons (TEP) ..... 22
**5. Données histologiques ..... 23**
5.1. Classification OMS 2016 des tumeurs du SNC ..... 23
5.2. Définition anatomopathologique ..... 25
5.2.1. Macroscopie ..... 25
5.2.2. Microscopie ..... 27
5.2.3. Immunohistochimie ..... 29
**6. Données biologiques ..... 31**
6.1. Mutations des gènes *IDH1* et *IDH2* ..... 31
6.2. Caractéristiques biologiques et moléculaires du glioblastome ..... 32
6.2.1. Cytogénétique et altérations chromosomiques quantitatives ..... 33
6.2.1.1. Chromosome 7 et gène *EGFR* ..... 33
6.2.1.2. Chromosome 10 et gène *PTEN* ..... 34
6.2.2. Altérations génétiques ..... 35
6.2.2.1. Gène *CDKN2A* ..... 35
6.2.2.2. Autres gènes ..... 36
6.2.3. Résumé des principales altérations génétiques ..... 37

6.3. Méthylation du promoteur du gène *MGMT* ..... 38
**7. Prise en charge thérapeutique du GBM ..... 40**
7.1. Protocole de Stupp ..... 40
7.1.1. Chirurgie ..... 40
7.1.2. Radiothérapie ..... 41
7.1.3. Chimiothérapie ..... 42
7.1.3.1. Mode d'action du témozolomide ..... 42
7.1.3.2. Témozolomide concomitant à la radiothérapie ..... 42
7.1.3.3. Témozolomide adjuvant ..... 43
7.2. Traitement symptomatique ..... 43
7.2.1. Corticothérapie ..... 43
7.2.2. Anti-épileptique ..... 44
7.3. Particularités du sujet âgé (>70 ans) ..... 44
**8. Surveillance et récidive ..... 45**
8.1. Surveillance et suivi : évaluation clinique et radiologique ..... 45
8.1.1. Récidive et diagnostics différentiels ..... 45
8.1.2. Critères RANO ..... 45
8.2. Traitement à la récidive ..... 47
8.2.1. Reprise neurochirurgicale ..... 47
8.2.2. Ré-irradiation ..... 48
8.2.3. Chimiothérapie de seconde ligne ..... 48
**9. Problématique de thèse ..... 49**
9.1. Double inactivation du gène *MGMT* ..... 49
9.2. Données de la littérature ..... 49
**PARTIE 2 - Survie globale et survie sans progression chez des patients atteints d'un glioblastome avec perte du chromosome 10q et hyperméthylation du promoteur du gène *MGMT*: étude pronostique rétrospective multicentrique (ancienne région Poitou-Charentes) entre 2016 et 2018 ..... 50**
**1. Objectifs ..... 50**
**2. Matériels et méthodes ..... 50**
2.1. Conception de l'étude ..... 50
2.2. Patients ..... 51
2.2.1. Critères d'inclusion ..... 51
2.2.2. Critères d'exclusion ..... 51
2.3. Données d'anatomopathologie ..... 51
2.4. Données de biologie moléculaire ..... 51
2.4.1. Etude en pyroséquençage de l'état de méthylation du promoteur du gène *MGMT* ..... 52
2.4.2. Etude en CGH array du chromosome 10q ..... 53

2.5. Prise en charge thérapeutique des patients ..... 55
2.6. Surveillance et suivi : évaluation clinique et radiologique des patients ..... 55
2.7. Analyse statistique ..... 56
**3. Résultats ..... 56**
3.1. Caractéristiques des patients ..... 56
3.2. Délivrance du traitement ..... 60
3.2.1. Prise en charge thérapeutique au diagnostic ..... 60
3.2.2. Prise en charge thérapeutique à la première progression tumorale ..... 61
3.3. Survie et progression ..... 62
3.3.1. Etude de la survie selon l'état de méthylation du promoteur du gène *MGMT* ..... 62
3.3.2. Analyses des 4 groupes de l'étude : méthylation du promoteur du gène *MGMT* associée au statut du chromosome 10q ..... 64
3.3.3. Analyses des groupes avec hyperméthylation du promoteur du gène *MGMT* ..... 67
3.3.4. Analyse des groupes sans méthylation du promoteur du gène *MGMT* ..... 69
3.3.5. Analyses uni et multivariées ..... 70
**4. Discussion ..... 71**
4.1. Principaux résultats de l'étude ..... 71
4.2. Caractéristiques de la population de l'étude ..... 71
4.3. Méthylation du promoteur du gène *MGMT* ..... 72
4.4. Pronostic de la perte du chromosome 10q ..... 73
4.5. Patients appartenant au groupe hyperméthylé avec perte du 10q ..... 74
4.6. Limites et points forts ..... 75
4.7. Perspectives ..... 76
4.7.1. Vers un nouveau sous-groupe moléculaire ? ..... 76
4.7.2. Thérapeutiques en développement ..... 76
4.7.2.1. Thérapie ciblée ..... 77
4.7.2.2. Immunothérapie ..... 77
**CONCLUSION ..... 79**
**BIBLIOGRAPHIE ..... 80**
**ANNEXES ..... 93**
**RESUME ..... 100**

## LISTE DES ABREVATIONS

- **ADC :** apparent diffusion coefficient
- **ADN :** acide désoxyribonucléique
- **AGT :** $O^6$-AlkylGuanine-ADN-AlkylTransferase
- **AMM :** autorisation de mise sur le marché
- ***ATRX* :** *ATP-dependent helicase ATRX*
- **BOLD :** blood oxygenation level dependent
- ***CDKN2A/B* :** *Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2A et 2B*
- ***CDK4/6 :*** *Cycline dépendante des kinases 4/6*
- **CGH array :** comparative genomic hybridization array
- **CH:** centre hospitalier
- **Cho :** Choline
- **CHU :** centre hospitalier universitaire
- **CK7/20 :** cytokératine 7/20
- **CNV :** copy number variation
- **Cofrac :** comité français d'accréditation
- **CpG :** cytosine-phosphate-guanine
- **Cr/PCr :** Créatine-Phosphocréatine
- ***EGFR :*** *epithelial growth factor receptor*
- **EORTC :** Organisation Européenne pour la Recherche et le Traitement du Cancer
- **FA :** facteur d'anisotropie
- **FDA:** Food and Drug Administration
- **FFPE :** Formalin-fixed paraffin-embedded
- **FLAIR :** Fluid Attenuation Inversion Recovery
- **GBM :** glioblastome
- **GFAP :** protéine glio-fibrillaire acide
- **GTV :** Gross Tumor Volume
- **HTIC :** hypertension intracrânienne
- **IC :** intervalle de confiance
- ***IDH :*** *isocitrate deshydrogénase*
- **IRM :** imagerie par résonance magnétique
- **IV :** intra veineux
- **KPS :** statut de performance de Karnofsky
- **Lac :** lactate
- **LCS :** liquide cérébro-spinal
- **Lip :** lipide
- **LOH :** loss of heterozygosity
- ***MDM2 :*** *mouse double minute 2*
- ***MET :*** *mesenchymal-epithelial transition*
- ***MGMT :*** *$O^6$-MéthylGuanine-ADN-MéthylTransférase*
- **MI :** Myoinositol
- **MMR :** Mismatch Repair Deficiency
- **MMSE :** Mini Mental State Examination
- **NAA :** N-Acetyl-Aspartate
- **NADP :** nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
- **NCIC :** National Cancer Institute of Canada
- ***NF1:*** *neurofibromatose 1*
- **NGS :** next generation sequencing
- **NIH:** National Institutes of Health

- **NOS :** not otherwise specified
- **OLIG2 :** oligodendrocyte transcription factor 2
- **OMS :** organisation mondial de la santé
- **PCR :** réaction en chaîne par polymérase
- ***PDGFRA:*** *récepteur α du facteur de croissance dérivé des plaquettes*
- **PD-L1:** Programmed Death-Ligand 1
- **PD-1:** Programmed Death 1
- ***PIK3:*** *phosphoinositide 3-kinase*
- ***PIK3CA:*** *phosphoinositide 3-kinase catalytic subunit alpha*
- ***PIK3R1:*** *phosphoinositide 3-kinase regulatory subunit 1*
- ***PTEN :*** *Phosphatase and TENsin homolog mutated in multiple advanced cancers*
- **$p14^{ARF}$ :** alternative reading frame protein
- **$p16^{INK4a}$:** cyclin dependent kinase inhibitor protein
- **RANO :** Response Assesment in Neuro Oncology
- **RB :** rétinoblastome
- **RCP :** réunion de concertation pluridisciplinaire
- **RPA :** recursive partitioning analysis
- **RTOG :** Radiation Therapy Oncology Group
- **SNC :** système nerveux central
- **SRM :** spectroscopie par résonance magnétique
- **TDM :** tomodensitométrie
- **TEP :** tomographie par émission de positons
- ***TERT :*** *telomerase reverse transcriptase*
- **TMZ :** témozolomide
- ***TP53 :*** *Tumor suppressor p53*
- ***VEGF :*** *vascular epithelial growth factor*
- **VSC :** volume cérébral sanguin
- **5-ALA :** acide-5-amino-levulinique
- **11C-MET :** L-methyl-$^{11}$C-méthionine
- **10q :** bras long du chromosome 10
- **18F-FDG :** 2-[$^{18}$F] Fluoro-2-Deoxy-D-Glucose
- **18F-FDOPA :** 3.4-dihydroxy-6-$^{18}$F Fluoro phénylalanine
- **18F-FET :** O-(-2[$^{18}$F]Fluoro Ethyl)-L-Tyrosine
- **18F-FLT :** 3'-deoxy-3'-[(18)F]fluoro-thymidine

# PARTIE 1 - Généralités sur le glioblastome

## 1. Introduction

Le glioblastome (GBM) est la tumeur primitive maligne du système nerveux central (SNC) la plus fréquente et la plus agressive chez l'adulte. Elle est associée à l'un des pires taux de survie à 5 ans de tous les cancers humains. Le GBM fait parti des tumeurs gliales diffuses (gliome), développées aux dépens du tissu de soutien neuroépithélial (névroglie).

Ces tumeurs sont catégorisées par la classification des tumeurs du SNC de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) de 2016 qui, contrairement à la précédente classification OMS de 2007, intègre à la fois les données histologiques et de biologie moléculaire. En effet, ces dernières années, des avancées majeures dans le domaine de la génétique des tumeurs ont permis de définir des entités de gliomes distinctes aussi précisément que possible.

Le diagnostic de GBM est multidisciplinaire, associant à la fois la clinique, l'imagerie, l'histologie et la biologie moléculaire.

De par sa fréquence et sa gravité, le GBM constitue un enjeu thérapeutique majeur.

## 2. Données épidémiologiques

### 2.1. Données d'incidence et de prévalence

Le GBM représente 15% des tumeurs intracrâniennes et 45-50% des tumeurs primitives malignes cérébrales (1-2).

L'incidence globale des tumeurs primitives du SNC dans les pays occidentaux est de 18/100 000 habitants/an. La proportion de gliome en France est de 43% dont environ la moitié correspond au GBM, ce qui représente une incidence d'environ 3-4 GBM pour 100 000 habitants/an en France. On peut estimer à 2000 le nombre de nouveaux cas/an en France (3-4).

### 2.2. Age et sex-ratio

Le GBM peut se manifester à tout âge, mais de préférence chez les adultes (rare chez les enfants). L'âge moyen au diagnostic est de 62 ans, avec une médiane de 64 ans (5-7). Cette incidence augmente de manière linéaire jusqu'à 75 ans pour diminuer ensuite (figure 1).

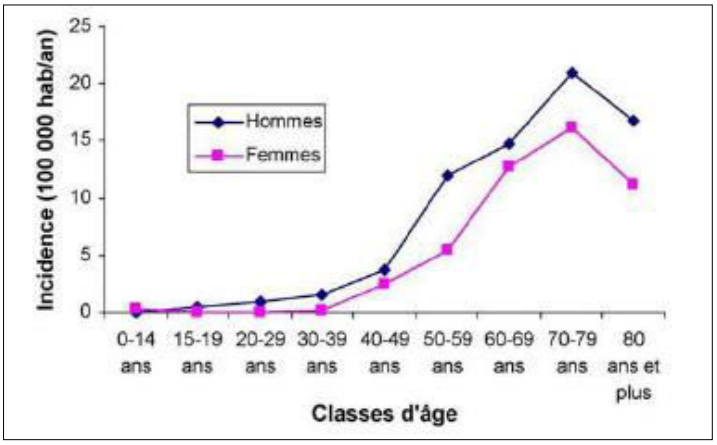



Figure 1 : Incidence du GBM selon l'âge et le sexe. *D'après Baldi I et al., 2010.*

Pour finir, le GBM prédomine chez l'homme avec un sex-ratio H/F de 1,4 à 1,6/1 (6, 8).

## 2.3. Facteurs de risque

Les facteurs de risque des gliomes et en particulier du GBM sont en grande partie méconnus. Ils sont divisés en facteurs intrinsèques et extrinsèques.

Parmi les facteurs intrinsèques qui augmentent le risque de survenue d'un GBM, on retrouve l'origine ethnique caucasienne (9) et le sexe masculin. Les syndromes de prédisposition génétique héréditaires aux cancers suivants sont également des facteurs de risque reconnus du GBM (10-11): le syndrome de Turcot (en particulier de type 1, gènes *APC*, *MLH1* ou *PMS2*), le syndrome de Li-Fraumeni (gène *TP53*), la neurofibromatose de type 1 (gène *NF1*), la sclérose tubéreuse de Bourneville (gène *TSC1* et *TSC2*), le syndrome de Cowden (gène *PTEN*), la maladie d'Ollier (ou enchondromatose multiple, gène *PTHR1* (12)) et l'Acidurie L-2-Hydoxyglutarique (ou L-2-HGA, gène *L2HGDH* (13)). De même, il existe des cas familiaux de GBM rapportés dans la littérature, mais qui représentent moins de 5% des cas (14). Pour finir, sept gènes sont associés à l'augmentation du risque de développer un GBM ; il s'agit des gènes *TERT*, *EGFR*, *CCDC26*, *CDKN2A*, *PHLDB1*, *TP53* et *RTEL1* (15).

D'autres facteurs, tels qu'un terrain atopique ou une maladie auto-immune, seraient protecteurs (16) .

Parmi les facteurs extrinsèques qui augmentent le risque de survenue d'un GBM, l'exposition aux radiations ionisantes (tels que la radiothérapie cérébrale) est la plus documentée et serait un facteur de risque du GBM (6, 15, 17-19). L'influence des radiations non ionisantes (comme le téléphone portable) ou des champs électromagnétiques ont été discutés sur le risque de survenue de gliome avec des résultats actuellement non concluants (20-21). L'exposition intense et prolongée aux pesticides (agriculteurs) et aux solvants chlorés est également encore débattue (22).

## 2.4. Données de survie - Facteurs pronostiques et prédictifs

L'évolution du GBM est péjorative et la récidive tumorale locale est la règle. En l'absence de traitement, la médiane de survie des patients n'excède pas quelques mois (23). Avec un traitement dit « maximaliste » (exérèse, radiochimiothérapie concomitante et chimiothérapie adjuvante), la médiane de survie des patients est de 14,6 mois (24). La récidive survient en moyenne 7 mois après la chirurgie. Le taux de survie à 5 ans est inférieur à 5% (25).

En fonction de leur facteur pronostique, les patients sont répartis dans des classes au pronostic homogène et dont les survies respectives sont significativement différentes. On parle de méthode d'analyse récursive par répartition (RPA ou recursive partitioning analysis).

A partir de données issues de plusieurs essais sur les gliomes diffus de haut grade, le RTOG (Radiation Therapy Oncology Group) a identifié 4 classes pronostiques pour les GBM (classe III à VI) dont les pronostics sont de plus en plus péjoratifs (26). Ces 4 classes sont définies par 6 facteurs pronostiques : l'âge, le statut de performance de Karnofsky (KPS), l'étendue de la résection chirurgicale, la dose de rayonnement, l'état mental et la fonction neurologique. En 2006, l'EORTC (Organisation Européenne pour la Recherche et le Traitement du Cancer) a proposé une classification similaire (classe III à V) basée sur l'essai de phase III initié par EORTC-NCIC (27).

Les caractéristiques des classes RPA pour le GBM selon les classifications RTOG et EORTC sont résumées dans le tableau 1.

Ces classes RPA permettent d'estimer l'espérance de survie médiane d'un patient et d'adapter sa prise en charge thérapeutique. Les patients appartenant aux classes III et IV peuvent bénéficier d'un traitement agressif (protocole standard dit de Stupp) contrairement à ceux appartenant aux autres classes RPA au pronostic plus défavorable (figure 2).

Tableau 1 : Classes RPA pour le GBM selon les classifications RTOG (classe III-VI) et EORTC (classe III-V)

| | Classification **RTOG** (originale) | | | Classification **EORTC** (modifiée) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Classe RPA | Caractéristiques | Survie médiane | Taux de survie à 2 ans | Caractéristiques | Survie médiane | Taux de survie à 2 ans |
| III | <50 ans et KPS 90-100 | 18 mois | 35% | <50 ans et OMS 0 | 17 mois | 32% |
| IV | < 50 ans et KPS<90<br><br>Ou<br><br>≥ 50 ans et chirurgie d'exérèse et bonnes fonctions neurologiques | 11 mois | 15% | <50 ans et OMS 1-2<br><br>Ou<br><br>≥ 50 ans et chirurgie d'exérèse complète/partielle et MMSE ≥ 27 | 15 mois | 19% |
| V | ≥ 50 ans et KPS 70-100 et fonction neurologique qui inhibe la capacité de travailler et chirurgie d'exérèse<br><br>Ou<br><br>≥ 50 ans et KPS 70-100 et biopsie seulement suivi d'une radiothérapie ≥54.4 Gy<br><br>Ou<br><br>≥ 50 ans et KPS<70 et état mental normal | 9 mois | 6% | ≥ 50 ans et :<br>Biopsies seulement ou MMSE < 27 | 10 mois | 11% |
| VI | ≥ 50 ans et KPS ≥ 70 et biopsie uniquement suivie d'une radiothérapie <54.4 Gy<br><br>Ou<br><br>≥ 50 ans et KPS<70 et état mental anormal | 5 mois | 4% | | | |

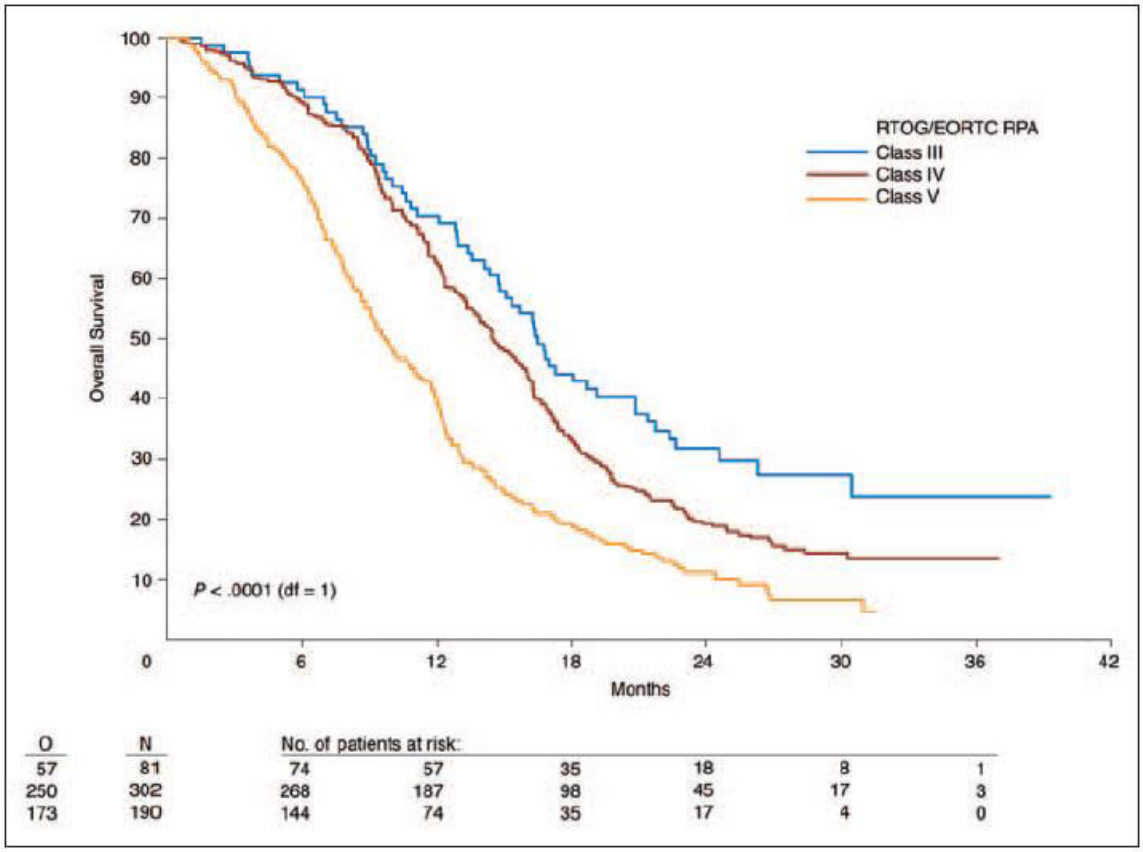



Figure 2 : Survie globale (méthode de Kaplan-Meier) selon la classe RPA. *D'après Mirimanoff RO et al., 2006.*

La description des caractéristiques du statut de performance de Karnofsky (annexe 1), de l'OMS (annexe 2) et leur équivalence (annexe 3) sont disponibles en annexe.

Outre ces facteurs pronostiques cliniques (âge, statut de performance OMS ou KPS, MMSE) et thérapeutiques (étendue de la résection chirurgicale, dose de rayonnement), il existe également des facteurs histologiques et biologiques.

Les GBM à cellules géantes sont de meilleur pronostic que les GBM classiques (28-29). La présence de zone de nécrose étendue est associée à une diminution de la survie (30-31).

La méthylation du promoteur du gène *MGMT* est un facteur prédictif de réponse aux agents alkylants (tels que le témozolomide TMZ) utilisés dans la prise en charge thérapeutique du GBM (32-35) et est associée à la survie (voir chapitre 6.3. Méthylation du promoteur du gène *MGMT*). Pour finir, la mutation des gènes *IDH1* et *IDH2* est un facteur de bon pronostic et est associée aux GBM secondaires (GBM *IDH* muté) (36) (voir chapitre 6.1. Mutations des gènes *IDH1* et *IDH2*).

# 3. Données cliniques

## 3.1. Présentation clinique

En neuro-oncologie, la symptomatologie dépend de la localisation et du volume tumoral.

Les patients atteints d'un GBM présentent typiquement un syndrome d'hypertension intracrânienne (HTIC) lié à la croissance du processus expansif intracrânien ou consécutif à un blocage des voies d'écoulement du liquide cérébro-spinal (LCS) responsable d'une hydrocéphalie. Ce syndrome est caractérisé par l'association de céphalées typiquement matinales et majorées par le décubitus dorsal, de vomissements en jet soulageant les céphalées, d'obnubilation, d'œdème papillaire bilatéral au fond d'œil et d'une diplopie par paralysie du nerf abducens (nerf crânien VI) sans valeur localisatrice.

Ces patients peuvent également présenter des crises d'épilepsies partielles puis secondairement généralisées (valeur « localisatrice » des symptômes). Cela est dû à une hyperactivité paroxystique hypersynchrone d'une partie du cortex, et donc donnant des signes focaux en fonction de la zone corticale concernée. Les crises d'épilepsie sont révélatrices de 20 à 40% des tumeurs cérébrales. Elles concernent 20 à 25% des patients atteints d'un GBM. La majoration de la fréquence de ces crises est un signe d'évolution tumorale.

De même, les patients atteints d'un GBM sont susceptibles de présenter des déficits neurologiques focaux liés à la compression ou à l'infiltration du parenchyme cérébral par la tumeur. Ce déficit est aggravé en cas d'œdème vasogénique tumoral associé. Le mode d'apparition du déficit est généralement rapidement progressif en quelques jours, s'étendant en « tache d'huile ». Son type dépend de la topographie tumorale.

Pour finir, ces patients peuvent développer des troubles cognitifs tels qu'un syndrome confusionnel ou démentiel en cas de lésions multiples ou étendues, un syndrome frontal (en cas de tumeur frontale) ou des troubles de la mémoire (en cas de tumeur du corps calleux).

## 3.2. Complications évolutives

Le GBM peut se compliquer d'hémorragie intra-tumorale qui peut être responsable d'une aggravation clinique rapide. Elle peut être prise pour un hématome cérébral lorsque la tumeur sous-jacente n'est pas connue.

Au cours de l'évolution des GBM, il est également possible de rencontrer deux types d'hydrocéphalie. Elle peut résulter de l'obstruction des voies d'écoulement du LCS par le processus tumoral (hydrocéphalie non communicante où toute ponction lombaire est contre-indiquée par risque d'engagement), ou d'une dissémination tumorale leptoméningée entravant la résorption du LCS par les granulations de Pacchioni (hydrocéphalie communicante avec ponction lombaire possible). Cependant, cette dernière est peu fréquente au cours de l'évolution d'un GBM.

Une autre complication évolutive des tumeurs intracrâniennes est l'engagement cérébral. Il correspond au passage d'une partie du parenchyme cérébral à travers une structure rigide de l'encéphale (tente du cervelet, foramen magnum…). L'engagement temporal doit être suspecté devant l'apparition d'une paralysie du nerf oculomoteur commun (nerf crânien III) homolatéral avec ptosis, mydriase aréactive, s'accompagnant d'une hémiparésie controlatérale à la tumeur (par atteinte du faisceau pyramidal au dessus de la décussation) et de trouble de la conscience (coma) par atteinte de la formation réticulée activatrice ascendante. L'engagement des amygdales cérébelleux dans le foramen

magnum est une complication gravissime des processus sous-tentoriels (peu fréquent dans les GBM). Un port guindé de la tête, un torticolis, des crises motrices postérieures (opisthotonos déclenché par la douleur) doivent faire évoquer son diagnostic. Le risque est la compression du bulbe qui entrainerait une déficience respiratoire majeure ou une mort subite.

Pour finir, la méningite carcinomateuse est une rare complication du GBM. Cependant, elle est plus fréquente chez les enfants. Elle résulte de l'extension tumorale aux espaces sous-arachnoïdiens. Cliniquement, le diagnostic est suspecté devant une paralysie d'un ou plusieurs nerfs crâniens, des douleurs rachidiennes souvent associées à des radiculopathies et/ou une aréflexie, des troubles de l'équilibre, des céphalées, une atteinte des fonctions cognitives. Enfin, la raideur méningée est plus rare.

## 4. Données neuroradiologiques

### 4.1. Tomodensitométrie (TDM)

Dans le cadre du GBM, la TDM constitue un examen de débrouillage d'urgence ou remplace l'IRM en cas de contre-indications à cette dernière (matériel médical électronique implanté de manière inamovible type implants cochléaires ou pacemaker, corps étranger métallique intraoculaire…).

En TDM, le GBM apparait comme une lésion infiltrante, mal limitée, iso-hypodense, souvent cernée d'un œdème péri-lésionnel responsable d'un effet de masse au dépend des structures adjacentes refoulées ou collabées. Après injection, il existe un rehaussement annulaire irrégulier et épais, réalisant une image en cocarde en cas de nécrose centrale intra-tumorale (figure 3).

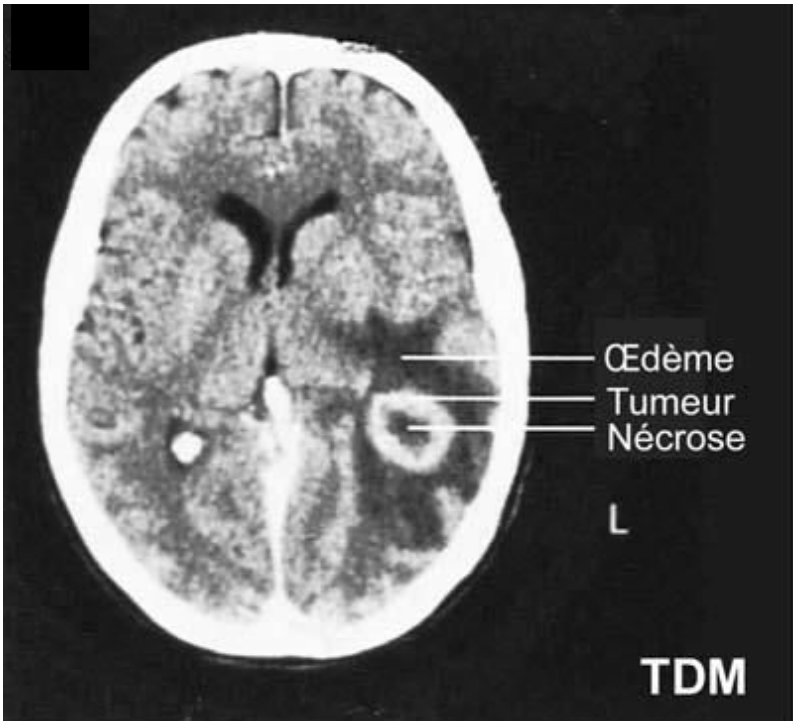



Figure 3 : GBM du carrefour gauche : aspect sur coupes axiales à la TDM avec injection de produit de contraste. *D'après Kantor G et al., 2005.*

## 4.2. Imagerie par résonance magnétique (IRM)

L'IRM (imagerie par résonance magnétique) est l'examen de référence dans l'exploration des tumeurs cérébrales. Bien qu'elle permette d'avoir une approche diagnostique et du grade tumoral, le diagnostic de certitude est posé par l'examen histologique et biologique. Elle est également utile en post-thérapeutique pour évaluer le suivi et la réponse thérapeutique.

### 4.2.1. IRM morphologique

L'IRM morphologique (ou conventionnelle) est systématique lors du bilan pré thérapeutique, en période post opératoire immédiate (dans les 72 heures) pour différencier un résidu tumoral d'une prise de contraste cicatricielle et lors de la période de surveillance.

Le compte rendu d'IRM doit décrire la ou les localisations de la lésion, ses dimensions, la prise ou non de contraste, la présence d'un œdème, d'un effet de masse avec déviation des structures médianes, d'un engagement ou d'une hémorragie intra-tumorale.

L'IRM morphologique comporte les séquences en pondération T1, T1 après injection de gadolinium, T2 et T2 FLAIR (Fluid Attenuation Inversion Recovery).

Le GBM se présente typiquement comme une volumineuse masse intraparenchymateuse, de signal spontanément hétérogène (en rapport avec une composante nécrotique) avec un œdème péri lésionnel. Il apparaît comme une lésion en hypo-iso signal sur les séquences pondérées T1 et en hypersignal sur les séquences pondérées T2 et T2-FLAIR. Après injection de gadolinium, la prise de contraste est périphérique et hétérogène, elle prend un aspect caractéristique en anneau autour des zones nécrotiques. La lésion tumorale est entourée d'une plage en hyposignal T1, hypersignal T2, correspondant à l'œdème péri-lésionnel et à l'infiltration tumorale (figure 4).

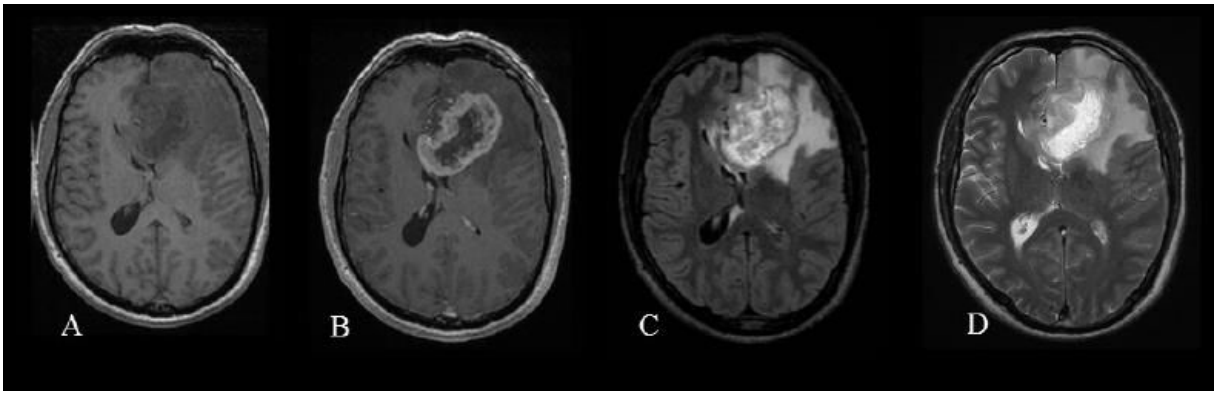



Figure 4 : Aspect typique d'un GBM en IRM morphologique. *D'après l'encyclopédie neurochirurgicale 2015, Almairac F et Paquis P.*

A. T1 - B. T1 injecté - C. T2 FLAIR - D. T2

### 4.2.2. IRM de perfusion

Dans les tumeurs cérébrales, l'IRM de perfusion permet de détecter l'existence d'une néo-angiogenèse tumorale (via le volume sanguin cérébral relatif ou rVSC).

Le GBM étant une tumeur caractérisée par une importante néo-angiogenèse, il se présente typiquement par un signal hyper intense en image de perfusion et par un rVSC augmenté sur la cartographie VSC (figure 5).

En IRM de perfusion, le rVSC est corrélé au grade histologique des gliomes : plus le volume sanguin tumoral est augmenté, plus le grade est élevé (37-38). Le seuil de 1,5 est retenu comme ayant une valeur prédictive de 100 % pour distinguer les gliomes de haut grade des gliomes de bas grade (39).

Le rVSC aurait également une valeur pronostique chez les patients présentant un gliome diffus: au dessous de 1,75, la moyenne de survie sans progression serait de 3585 jours contre 265 jours au dessus de 1,75 (40).

Dans la perspective d'une biopsie en conditions stéréotaxiques, l'IRM de perfusion est intéressante pour choisir le site de biopsie qui doit correspondre à la zone d'angiogenèse maximale (zone de forte augmentation du VSC), zone qui ne correspond pas toujours à celle où l'intensité de la prise de contraste est la plus importante.

Elle peut également être intéressante dans la réponse thérapeutique : elle permet d'évaluer les modifications de la néo-angiogenèse au cours du traitement. L'apparition d'une hyperperfusion au cours du suivi peut faire évoquer une progression lésionnelle plus précocement que l'imagerie morphologique.

Par ailleurs, l'IRM de perfusion permet de faire le diagnostic différentiel entre une récidive tumorale ou une radionécrose, puisqu'un rVSC < 0,6 est en faveur d'une radionécrose (la radionécrose ne s'accompagnant pas d'une néo-angiogenèse, mais d'une nécrose vasculaire), alors qu'un rVSC > 2,6 oriente vers une récidive (néo-angiogenèse) (41).

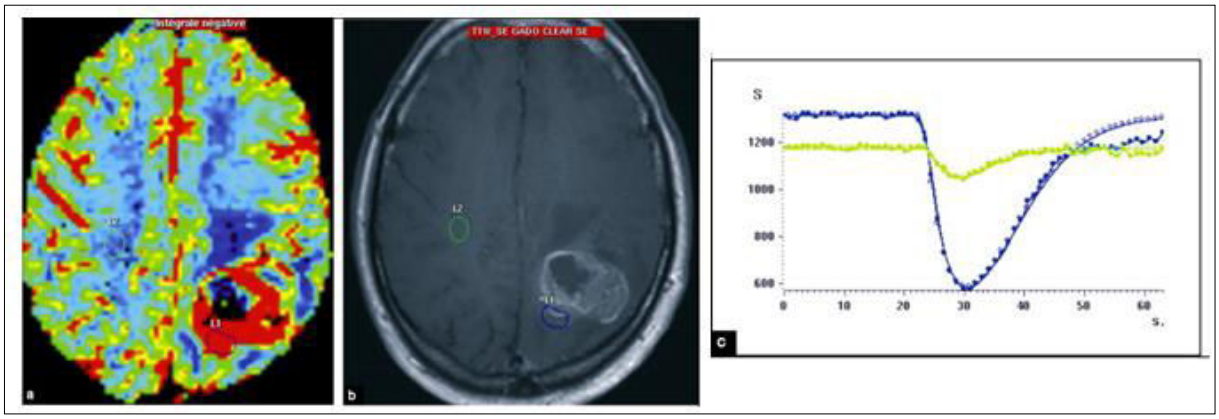



Figure 5 : Caractéristiques radiologiques d'un GBM en imagerie de perfusion. *D'après Grand S et al, 2013.*

a. *L'hypervascularisation est visible sur la cartographie du VCS.*
b. *Cette hypervascularisation s'étend au-delà de la prise de contraste.*
c. *Le ratio de VCS entre la zone tumorale et la zone saine est très élevé, atteignant 9,2.*

### 4.2.3. IRM de diffusion

Le principe de l'imagerie de diffusion est basé sur l'analyse de la mobilité aléatoire des molécules d'eau au sein des tissus, reflétant ainsi la densité cellulaire.

Ces mouvements sont caractérisés par le coefficient apparent de diffusion (ADC : apparent diffusion coefficient) exprimé en $mm^2$/seconde. En cas d'hypercellularité, l'espace extracellulaire est réduit ce qui se traduit par une chute de l'ADC. A l'inverse, une faible cellularité s'accompagne d'un ADC élevé.

La diffusion des molécules d'eau peut être visualisée sous différentes formes :

- image pondérée en diffusion,
- cartographie d'ADC (les valeurs d'ADC sont codées selon une échelle de gris ou de couleurs s'étalant du bleu (faible diffusion) au rouge (forte diffusion)).

Le GBM étant une tumeur hétérogène, son signal en imagerie de diffusion ainsi que ses valeurs d'ADC sont variables. Au sein des zones kystiques ou de nécrose tumorale (zone de faible cellularité), la diffusion est augmentée, ce qui se traduit par un signal plus élevé sur la cartographie d'ADC par rapport au tissu cérébral normal et par un signal iso-hypointense sur les images pondérées en diffusion. A l'inverse, en cas d'œdème cytotoxique, la diffusion de l'eau est restreinte car l'espace extracellulaire est diminué en raison du gonflement des cellules. Cela se traduira par une diminution des valeurs sur la cartographie ADC et par un hypersignal sur les images pondérées en diffusion (figure 6).

Mais les valeurs d'ADC, prises isolément, en raison d'un chevauchement des valeurs, ne permettent pas de distinguer l'œdème péritumoral de l'infiltration tumorale, ou la radionécrose de la récidive tumorale.

En revanche, il existe une corrélation entre le grade tumoral et les valeurs d'ADC au sein des tumeurs astrocytaires, l'ADC diminuant avec l'augmentation du grade tumoral (lié à l'hypercellularité retrouvée dans les tumeurs gliales de haut grade).

De plus, le calcul de l'ADC peut être utile dans le bilan pré-thérapeutique en complément de l'IRM de perfusion et de la spectrométrie afin d'identifier les zones d'hypercellularité et orienter les biopsies (42).

L'imagerie de diffusion peut également être intéressante dans la réponse thérapeutique : l'ADC moyen des gliomes augmente de manière significative avec le traitement (43).

Pour finir, l'un des intérêts de la diffusion est d'évoquer des diagnostics différentiels en cas d'ADC diminué (lymphome cérébral, abcès cérébral à pyogènes, kyste épidermoïde, accident vasculaire cérébral ischémique).

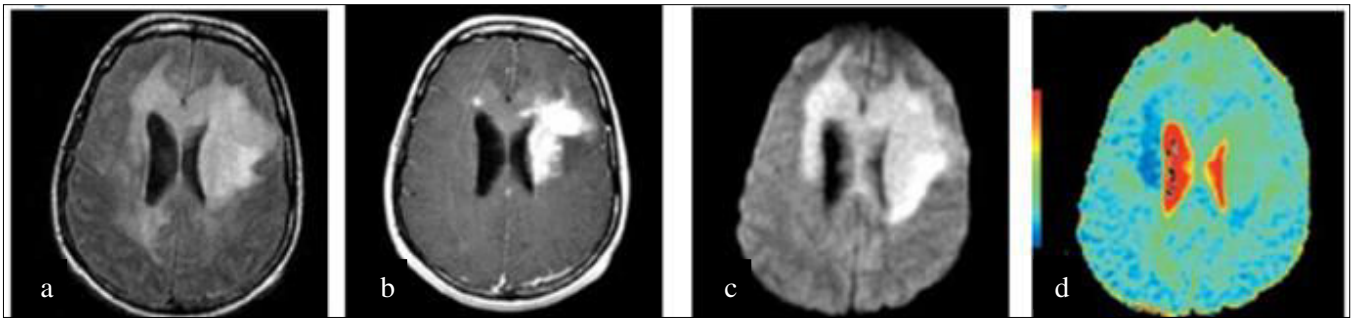



Figure 6 : Caractéristiques radiologiques d'un gliome diffus de haut grade en imagerie de diffusion. *D'après Hamon M et al, 2005.*

*a. La tumeur apparait globalement hyperintense en Flair.*
*b. Elle présente un réhaussement partiel après injection de gadolinium.*
*c. Hypersignal global en pondération diffusion.*
*d. La carte d'ADC montre 3 zones distinctes : l'une a un ADC diminué (périventriculaire droite), la seconde a un ADC identique à celui du parenchyme sain (corps calleux), et enfin en périventriculaire gauche, l'ADC est modérément augmenté.*

*Cet exemple illustre la variabilité de l'ADC au sein des tumeurs solides en fonction de la cellularité tumorale.*

### 4.2.4. Spectroscopie par résonance magnétique (SRM)

La spectroscopie par résonance magnétique (SMR), ou imagerie métabolique, est une technique d'imagerie permettant une étude du métabolisme cérébral. Son concept repose sur la détection de métabolites cérébraux participant au cycle énergétique cellulaire cérébral, et à l'étude des variations de leur concentration pour caractériser différentes pathologies.

Parmi les métabolites cérébraux observables en spectroscopie, on peut en citer 6 qui ont une importance particulière en pathologie tumorale :

- N-Acetyl-Aspartate (NAA) : marqueur neuronal, index de souffrance ou de mort neuronale,
- Choline (Cho) : marqueur des membranes (lésions, renouvellement), de la myéline ou d'une inflammation,
- Créatine-Phosphocréatine (Cr/PCr) : marqueur de densité cellulaire,
- Lipide libre (Lip) : témoin de nécrose cellulaire,
- Lactate (Lac) : témoin d'un processus ischémique ou d'une infiltration macrophagique,
- Myoinositol (mI) : sucre présent uniquement dans la glie normale.

Les GBM sont caractérisés par une augmentation importante de la choline (liée à la prolifération tumorale), une diminution nette du NAA et de la créatine (les cellules tumorales remplaçant les neurones), une augmentation des lipides libres et des lactates et une diminution du myoinositol (figure 7).

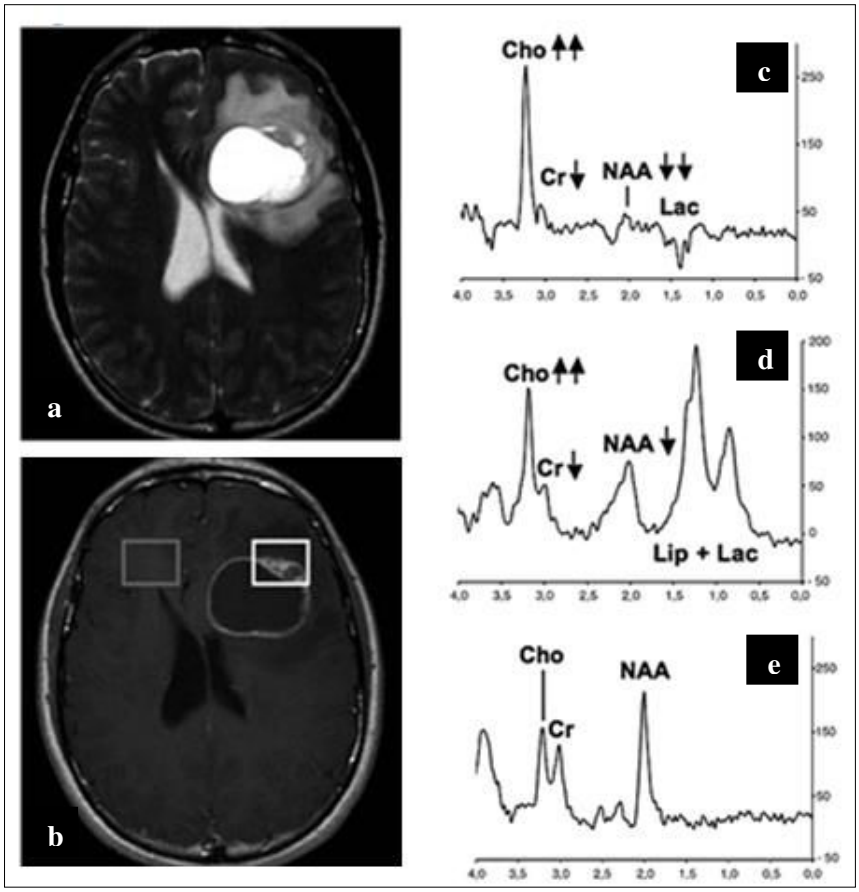



Figure 7 : Caractéristiques spectroscopiques du GBM. Lésion partiellement kystique, entourée d'œdème, fortement rehaussée après injection de produit de contraste (a-b) et dont le profil associe élévation de la choline, baisse importante du NAA et de la créatine (c) et présence d'une quantité élevée de lipides libres et de lactates (d) par rapport à la zone saine (e). *D'après Galanaud D et al., 2006.*

La SMR peut, en pré-opératoire, contribuer à faire le diagnostic différentiel entre une tumeur et une lésion non tumorale (en particulier les abcès à pyogènes) ou à déterminer l'agressivité d'une tumeur gliale.

En post-thérapeutique, elle peut contribuer au suivi des réponses au traitement et à différencier une progression lésionnelle d'une complication de type radionécrose (44).

### 4.2.5. IRM par tenseur de diffusion

L'imagerie par tenseur de diffusion permet de visualiser (indirectement) les faisceaux de substance blanche cérébrale. Son concept est basé sur la diffusion anisotropique des molécules d'eau le long des fibres blanches.

En effet, au sein de la substance blanche, la diffusion des molécules d'eau n'est pas identique dans les différentes directions de l'espace. Les gaines de myéline facilitent leur diffusion le long de leur axe et la restreignent perpendiculairement : la diffusion est anisotropique (dépendante d'une direction). En revanche, dans l'eau libre tel que le LCS, la diffusion est isotropique car le déplacement des molécules d'eau est identique dans toutes les directions de l'espace.

Ainsi, en réalisant des acquisitions pondérées en diffusion dans au moins 6 directions, on peut modéliser la direction des fibres (caractérisée par la valeur du facteur d'anisotropie (FA)). De ce fait, la classification des fibres, en imagerie par tenseur de diffusion, n'est pas anatomique mais est orientative.

Ces données de diffusion peuvent être visualisées sous différentes formes (figures 8 et 9): cartographie d'anisotropie fractionnelle (représentation bidimensionnelle du degré d'anisotropie), cartographie directionnelle (codage RVB, rouge-vert-bleu, de la direction principale des mouvements de diffusion), tractographie (représentation tridimensionnelle des faisceaux de substance blanche) (45).

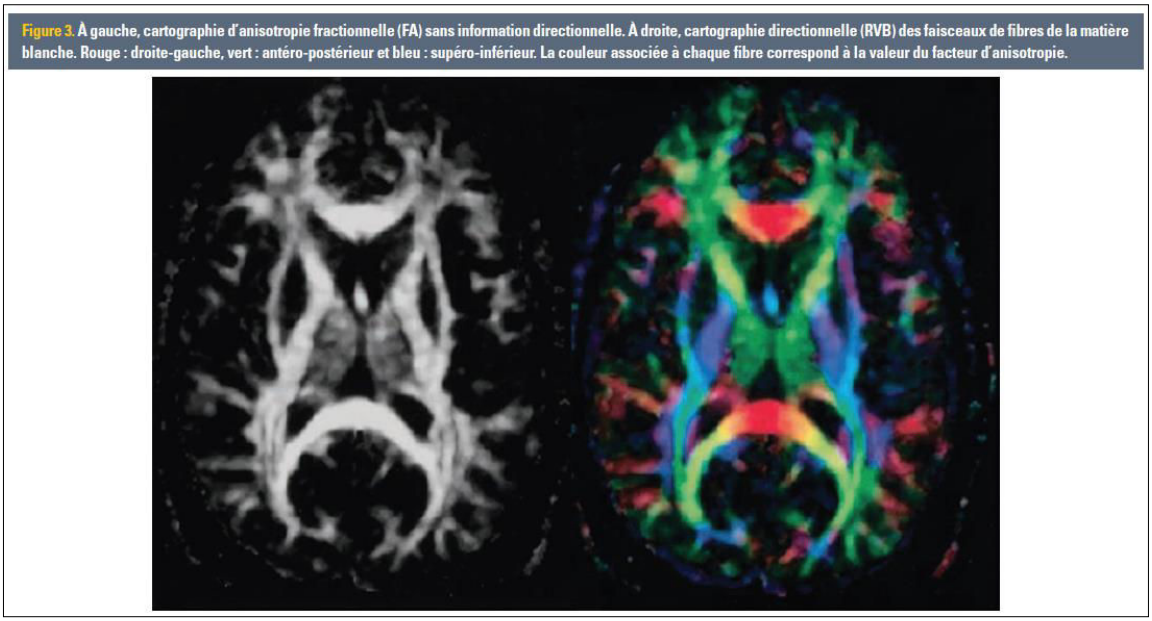



Figure 8 : Exemple d'imagerie par tenseur de diffusion chez un sujet sain. *D'après Guillevin R et al, 2010.*

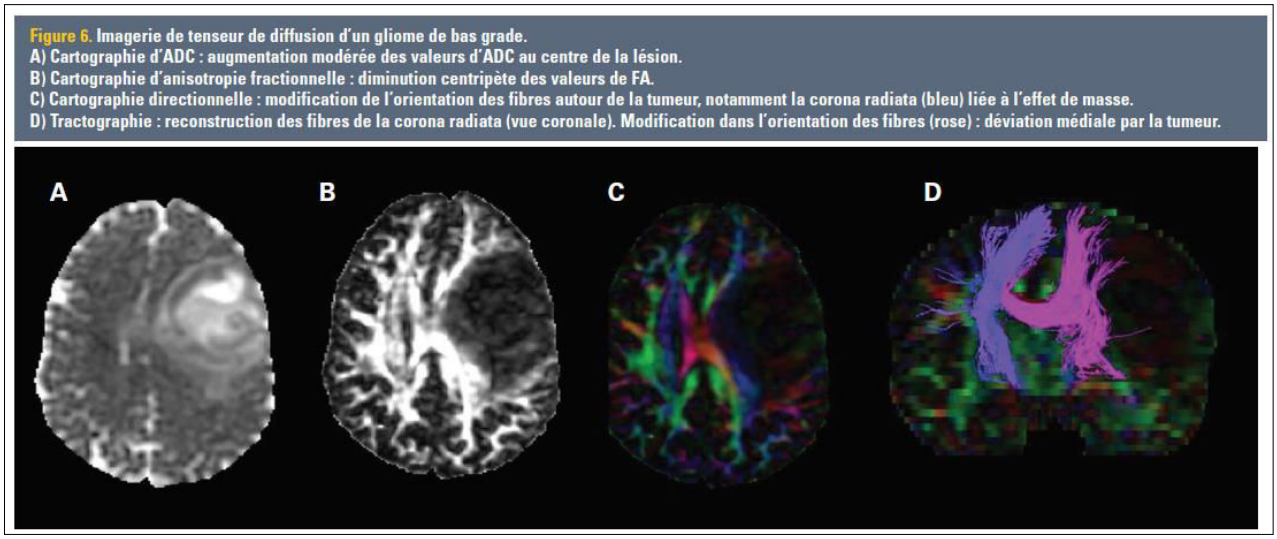



Figure 9 : Exemple d'imagerie par tenseur de diffusion dans le cadre de pathologie tumorale. *D'après Guillevin R et al, 2010.*

L'imagerie par tenseur de diffusion est utilisée dans des cadres pathologiques très différents : dégénératifs, métaboliques ou tumoraux. Cependant, son application en pratique courante reste encore assez limitée.

### 4.3. Tomographie par émission de positons (TEP)

La tomographie par émission de positons (TEP) est un examen d'imagerie métabolique largement utilisé en oncologie générale. Elle permet d'évaluer le métabolisme des cellules grâce à l'injection d'un traceur marqué par un isotope radioactif émetteur de positons, ce métabolisme étant différent entre les cellules tumorales et les cellules saines.

Dans les gliomes, deux traceurs sont principalement utilisés :

- un analogue du glucose marqué au fluor 18 : 18F-FDG ou 2-[$^{18}$F] Fluoro-2-Desoxy-D-Glucose,
- un acide aminé, la méthionine, marqué au carbone 11 : 11C-MET ou L-methyl-$^{11}$C-méthionine.

La TEP 18F-FDG évalue la quantité de glucose consommée par les cellules tumorales, quantité corrélée au grade de la tumeur et ayant une valeur pronostique (46). Elle permet également de faire le diagnostic différentiel entre récidive tumorale et radionécrose (47). Cependant, cet examen reste limité en neuro-oncologie, du fait de l'importance du métabolisme glucidique au sein du parenchyme cérébral normal, ce qui rend la différenciation entre tissu sain et tumoral difficile (et donc peu performant pour délimiter la tumeur).

Actuellement, la TEP fondée sur le métabolisme des acides aminés serait plus informative et pertinente que la TEP au 18F-FDG dans la prise en charge des gliomes.

La 11C-MET est actuellement le traceur de référence en neuro-oncologie. Sa captation augmente avec le grade tumoral et est inversement corrélée au pronostic. L'association des données de la TEP 11C-MET à celles de l'IRM permet d'augmenter la rentabilité diagnostique des biopsies et de préciser les limites tumorales. Elle aide également au diagnostic de récidive ou de reprise évolutive (48), donne des informations sur la réponse aux traitements (49) ainsi que sur le diagnostic différentiel avec une radionécrose (50). Cependant, la 11C-MET est inaccessible à la plupart des centres de médecine nucléaire (isotope de demi-vie courte de 20 min qui nécessite la présence d'un cyclotron sur site) et ne peut donc pas se généraliser en pratique courante.

Dans ce contexte, deux nouveaux traceurs, adaptés à l'étude des tumeurs cérébrales et utilisables en routine, ont été développés :

- la tyrosine marquée au fluor 18 : 18F-FET ou O-(-2[$^{18}$F]Fluoro Ethyl)-L-Tyrosine,
- la phénylalanine marquée au fluor 18 : 18F-FDOPA ou 3.4-dihydroxy-6-$^{18}$F Fluoro phénylalanine.

Ces deux traceurs possèdent les mêmes caractéristiques que la 11C-MET, le marquage au fluor 18 les rendant plus « accessibles » à une pratique de routine. La TEP 18F-FET améliore le ciblage des biopsies et la délimitation tumorale. Elle permet également de grader les tumeurs (la cinétique de captation étant différente selon le grade) et d'évaluer le pronostic. Ce traceur améliore le diagnostic de récidive et de transformation anaplasique et permet d'évaluer la réponse thérapeutique sur un plan métabolique (figure 10).

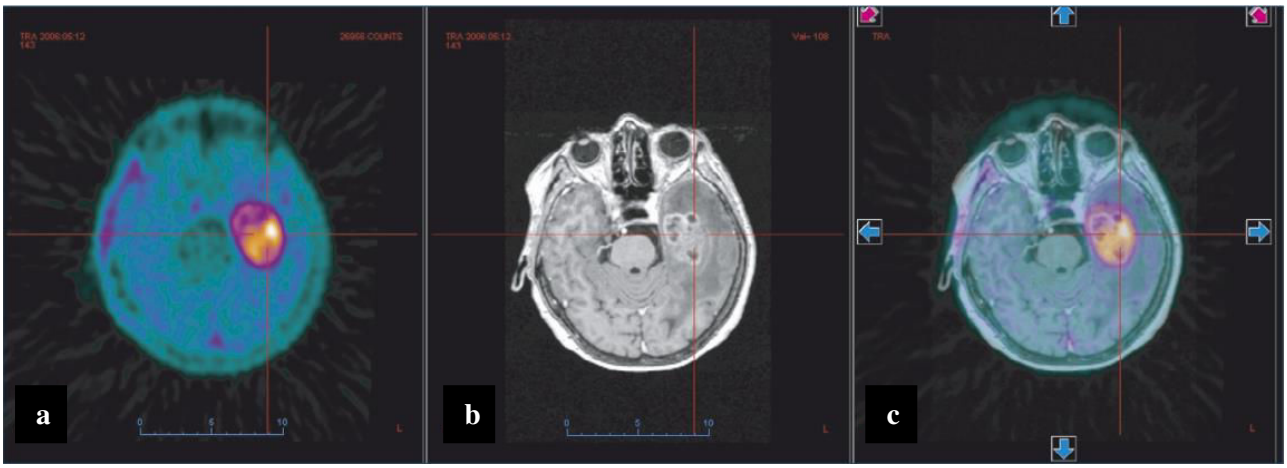



Figure 10 : TEP au 18F-FET chez un patient atteint d'un GBM. *D'après Benouaich A et al., 2009.*

*a. Captation élevée de 18F-FET au sein de la tumeur.*
*b. Séquence T1 avec gadolinium avant biopsie.*
*c. Fusion d'images TEP FET et IRM glucidique.*

Enfin, il est possible d'évaluer la prolifération cellulaire en TEP via un traceur nucléotidique : la 18F-FLT (thymidine marquée au fluor 18 ou 3'-desoxy-3'-[(18)F]fluoro-thymidine). La thymidine est un nucléotide incorporé dans l'ADN lors des cycles de réplications cellulaires. Sa captation est corrélée à l'index de prolifération cellulaire Ki-67 et plusieurs études ont montré son intérêt dans le suivi et dans la réponse thérapeutique des gliomes de haut grade (51-52). Cependant, sa captation dépend de l'état de la barrière hémato-encéphalique, ce qui n'est pas le cas de la 18F-FET par exemple.

## 5. Données histologiques

### 5.1. Classification OMS 2016 des tumeurs du SNC

Les tumeurs gliales diffuses sont catégorisées par la classification des tumeurs du SNC de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) de 2016 (qui remplace l'ancienne classification OMS 2007) (8).

La précédente classification, OMS 2007, était essentiellement basée sur un concept morphologique, c'est-à-dire sur la ressemblance microscopique des cellules tumorales avec un constituant du tissu cérébral normal.

Les avancées majeures de ces dernières années dans le domaine de la génétique des tumeurs ont justifié la réalisation d'une nouvelle classification OMS. En effet, des biomarqueurs moléculaires diagnostiques, pronostiques et prédictifs permettant d'affiner la classification des gliomes et d'améliorer la prédiction de la réponse thérapeutique ont été identifiés.

Ainsi, la classification OMS 2016 des tumeurs du SNC, associe à la fois les caractéristiques histologiques et moléculaires afin de définir le diagnostic intégré qui permet d'objectiver des entités de gliomes distinctes plus précises, au pronostic homogène. Cette classification a l'avantage d'être plus objective et reproductible (voir annexe 4).

Le GBM, selon cette nouvelle classification, fait partie du groupe des tumeurs diffuses astrocytaires et oligodendrogliales (figure 11).

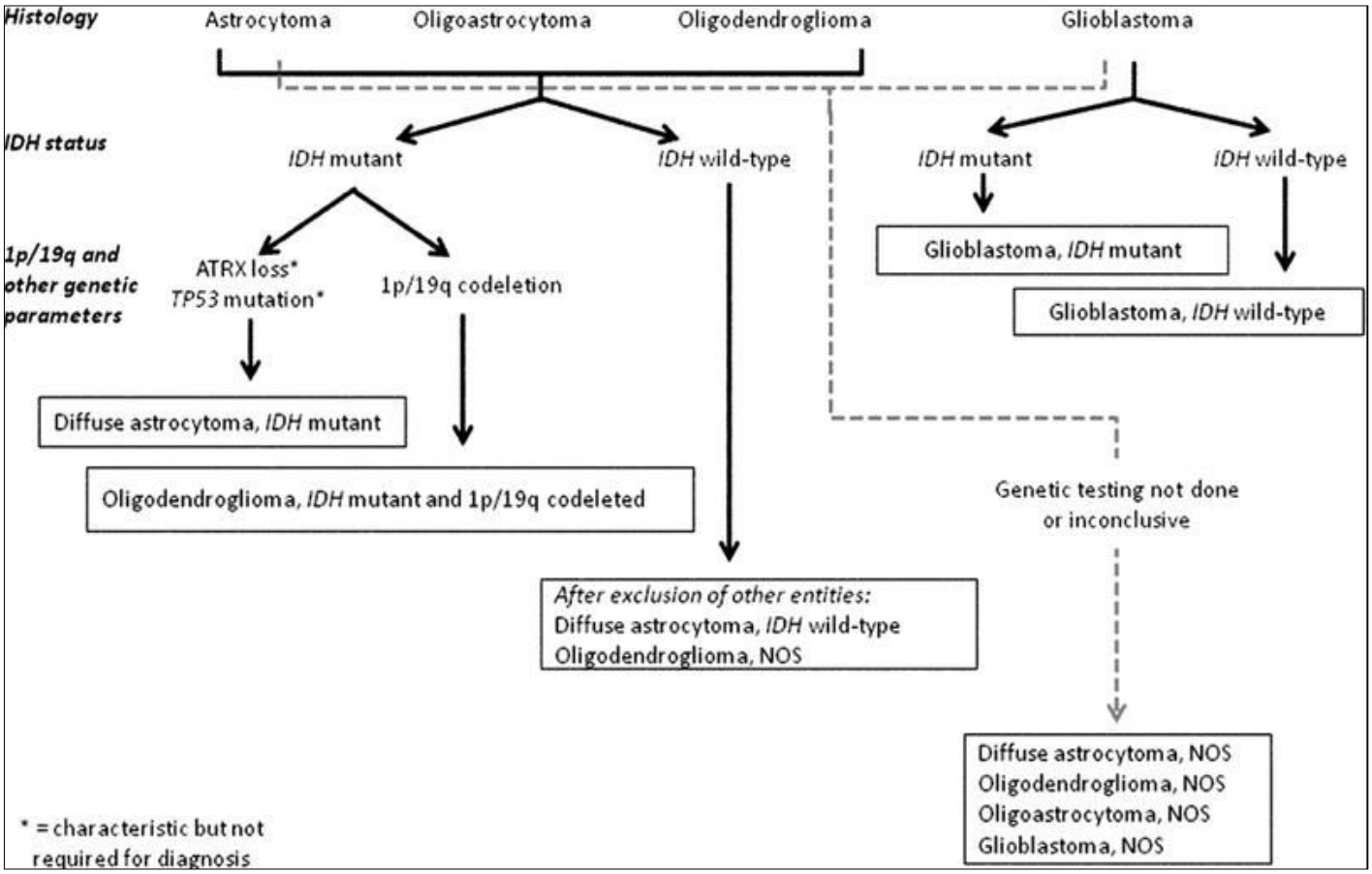



Figure 11 : Algorithme simplifié de la classification des gliomes diffus sur la base de caractéristiques histologiques et génétiques. *D'après Louis et al., 2016.*

Ce groupe comprend toutes les tumeurs de nature soit astrocytaire soit oligodendrogliale diffuse. Il existe, en effet, des tumeurs gliales non diffuses, dites circonscrites, correspondant au grade I de l'OMS. Ces tumeurs ont un faible potentiel prolifératif et une possibilité de guérison après une résection chirurgicale seule (tels que l'astrocytome pilocytique ou l'astrocytome sous épendymaire à cellules géantes).

Selon l'OMS 2016 (tableau 2), l'étude de 5 critères histologiques (hypercellularité, activité mitotique, atypies cyto-nucléaires, prolifération micro-vasculaire et nécrose) permet de grader les gliomes diffus en gliomes de grade II (gliomes diffus de bas grade), de grade III (gliomes diffus anaplasiques – gliome diffus de haut grade) et de grade IV (glioblastome - gliome diffus de haut grade), avec une agressivité croissante et un pronostic qui s'assombrit.

Tableau 2 : Grades OMS 2016 des tumeurs diffuses astrocytaires et oligodendrogliales

| Grade OMS | Tumeurs astrocytaires | Tumeurs oligodendrogliales | Tumeurs oligoastrocytaires | Gliome diffus de la ligne médiane |
|---|---|---|---|---|
| **II** | Astrocytome diffus :<br>- *IDH* muté<br>- *IDH* wild type<br>- NOS | Oligodendrogliome :<br>- *IDH* muté et co-délété 1p19q<br>- NOS | Oligoastrocytome NOS | |
| **III** | Astrocytome anaplasique :<br>- *IDH* muté<br>- *IDH* wild type<br>- NOS | Oligodendrogliome anaplasique :<br>- *IDH* muté et co-délété 1p19q<br>- NOS | Oligoastrocytome anaplasique NOS | |
| **IV** | Glioblastome :<br>- *IDH* muté<br>- *IDH* wild type<br>- NOS | | | *H3* K27M muté |

*(Wild type = de type sauvage / non muté)*

On distingue les GBM *IDH* wild type (ou GBM primaire, « de novo ») et les GBM *IDH* muté (ou GBM secondaire). Il existe une troisième catégorie lorsque les analyses génétiques sont non réalisées ou non contributives, le GBM NOS (Not Otherwise Specified).

Les GBM primaires sont les plus fréquents (90% des GBM). Ils concernent des sujets de plus de 60 ans (l'âge médian au diagnostic est de 62 ans), se caractérisant par une histoire clinique courte (4 mois) sans notion antérieure de gliome (développement « de novo »). Les GBM secondaires, quant à eux, résultent de la progression maligne d'un gliome infiltrant de grade II ou III (astrocytome diffus ou astrocytome anaplasique). Ils concernent des sujets plus jeunes (44 ans), se caractérisent par une histoire clinique plus longue (15 mois) et sont de meilleur pronostic (8).

## 5.2. Définition anatomopathologique

L'origine cellulaire du GBM reste controversée.

Les cellules tumorales du GBM auraient une origine astrocytaire car même après leur transformation maligne et leur dédifférenciation, elles expriment toujours des marqueurs de différenciation astrocytaire.

Toutefois, plus récemment, l'hétérogénéité cellulaire, biochimique et génétique qui caractérise le GBM, associée à des réponses cliniques distinctes de tumeurs histologiquement similaires, a conduit à l'hypothèse que les GBM proviennent de la transformation maligne d'une cellule précurseur bipotente (53) ou d'une cellule encore plus primitive: la cellule souche neurale (54).

### 5.2.1. Macroscopie

Les GBM sont localisés le plus souvent en supra tentoriel au niveau de la substance blanche sous corticale et des noyaux gris centraux (thalamus) (figure 12). Les GBM primaires ont une distribution anatomique répandue (lobe temporal (31%), pariétal (24%), frontal (23%) et occipital (16%)), tandis que les GBM secondaires sont le plus souvent localisés au niveau du lobe frontal (en particulier au niveau de l'extension rostrale des ventricules latéraux). Les atteintes du tronc cérébral (prédominance chez les enfants), du cervelet et de la moelle épinière sont rares.

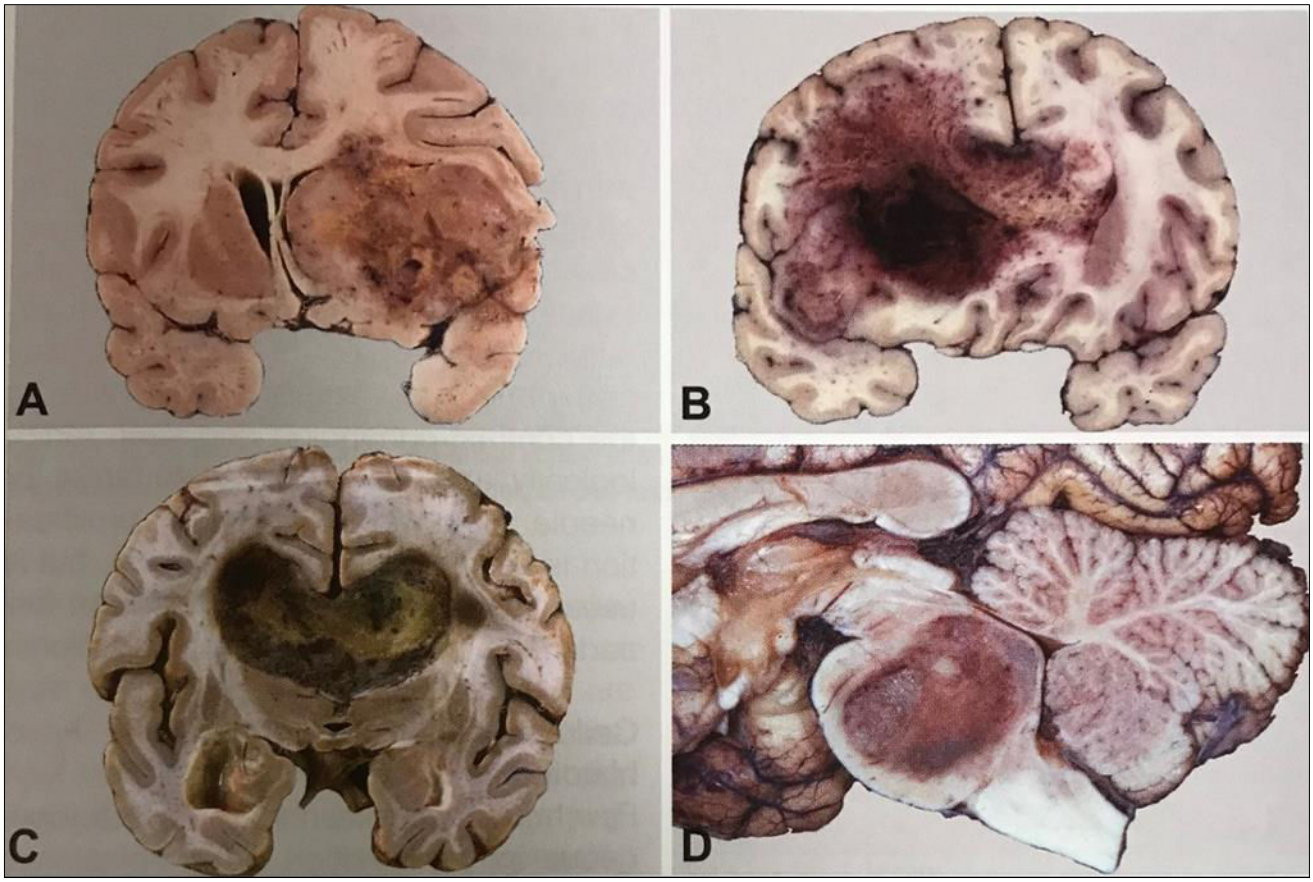



Figure 12 : Caractéristiques macroscopiques du GBM. *D'après l'OMS 2016 des tumeurs du SNC.*

*A. GBM situé au niveau de la région fronto-temporale droite avec infiltration des ganglions de la base, compression du ventricule latéral, et déviation de la ligne médiane vers l'hémisphère cérébral controlatéral.*
*B. GBM avec infiltration diffuse du lobe frontal gauche avec colorations typiques : tissu gris blanchâtre en périphérie, zone de nécrose jaunâtre et hémorragies extensives. A noter l'extension à travers le corps calleux dans l'hémisphère droit.*
*C. GBM symétrique infiltrant les ventricules latéraux et les structures adjacentes.*
*D. GBM du tronc cérébral, causant la compression du 4ème ventricule. Cette localisation est typique des gliomes diffus de la ligne médiane mutés H3 K27M.*

Macroscopiquement, il s'agit d'une lésion souvent de grande taille (pouvant occuper un lobe cérébral entier), infiltrante, mal limitée, majoritairement unilatérale, parfois bilatérale symétrique (tumeur du tronc cérébral ou du corps calleux avec un aspect dit « en ailes de papillon »). L'extension tumorale se produit le long des structures myélinisées, en particulier à travers le corps calleux et les commissures cérébrales (figure 12). L'atteinte est profonde (au niveau de la substance blanche) avec une zone centrale nécrotique qui peut occuper jusqu'à 80% de la masse tumorale (à un moindre degré dans les GBM secondaires). Cette nécrose est entourée de tissu tumoral solide (constitué d'une accumulation de cellules tumorales viables) et d'une zone d'infiltration tumorale correspondant à des cellules tumorales isolées (figure 13). Il peut s'y associer des remaniements hémorragiques et kystiques. Les GBM sont multifocaux (tumeurs indépendantes) dans 2,4% des cas.

Les métastases sont exceptionnelles.

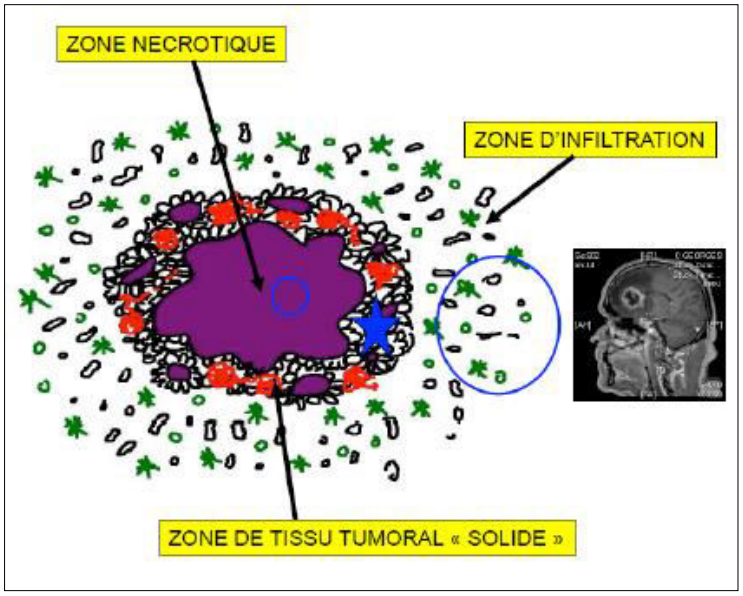



Figure 13 : Structure macroscopique d'un GBM.

### 5.2.2. Microscopie

Le GBM est un gliome diffus de haut grade (grade IV selon l'OMS 2016) avec une différenciation astrocytaire prédominante (c'est-à-dire qui n'a pas les caractéristiques moléculaires de l'oligodendrogliome anaplasique, la co-délétion 1p19q). Il s'agit d'une tumeur mal limitée et infiltrante, y compris à distance des limites macroscopiques.

En microscopie, le GBM présente des atypies cyto-nucléaires, des mitoses (>2 pour 10 champs) et de l'hypercellularité comme l'astrocytome anaplasique. Le diagnostic de GBM reposera alors sur la présence de prolifération micro-vasculaire et de nécrose (figure 14).

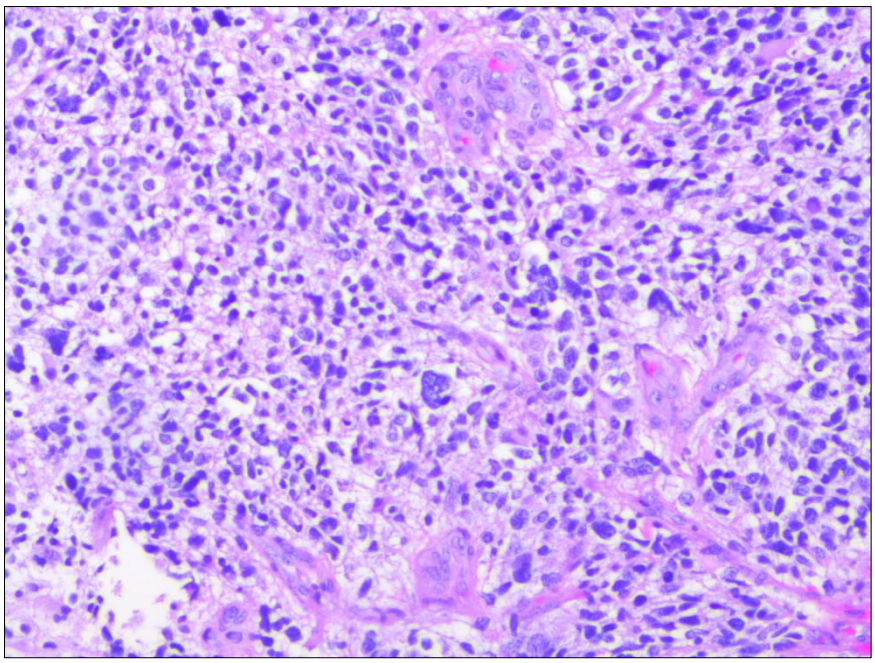


Figure 14 : GBM : aspect microscopique typique avec présence d'une hypercellularité, d'atypies cyto-nucléaires, de mitoses et de prolifération micro-vasculaire (HES objectif x10).

La prolifération micro-vasculaire est présente de façon quasi-constante au sein des GBM (figure 15A). Elle s'observe plus fréquemment autour des foyers nécrotiques, reflétant la réponse aux facteurs de croissance vasculaires libérés par les cellules tumorales ischémiques. On en distingue 2 types: la formation « glomérulоïde » (touffes de cellules endothéliales multistratifiées en prolifération cellulaire associée à des cellules musculaires lisses et des péricytes) et la prolifération endothélio-capillaire (qui correspond à une prolifération hypertrophique de cellules endothéliales de vaisseaux de taille moyenne).

La nécrose sous forme palissadique est caractéristique du diagnostic de GBM (figure 15B). Elle se présente sous forme de multiples petits foyers irréguliers serpigineux ou en forme de bande entourée d'une accumulation de cellules gliales tumorales denses orientées de façon radiaire autour de la nécrose. Sa présence est l'un des signes histologiques les plus prédictifs du comportement agressif du GBM par rapport aux autres tumeurs gliales.

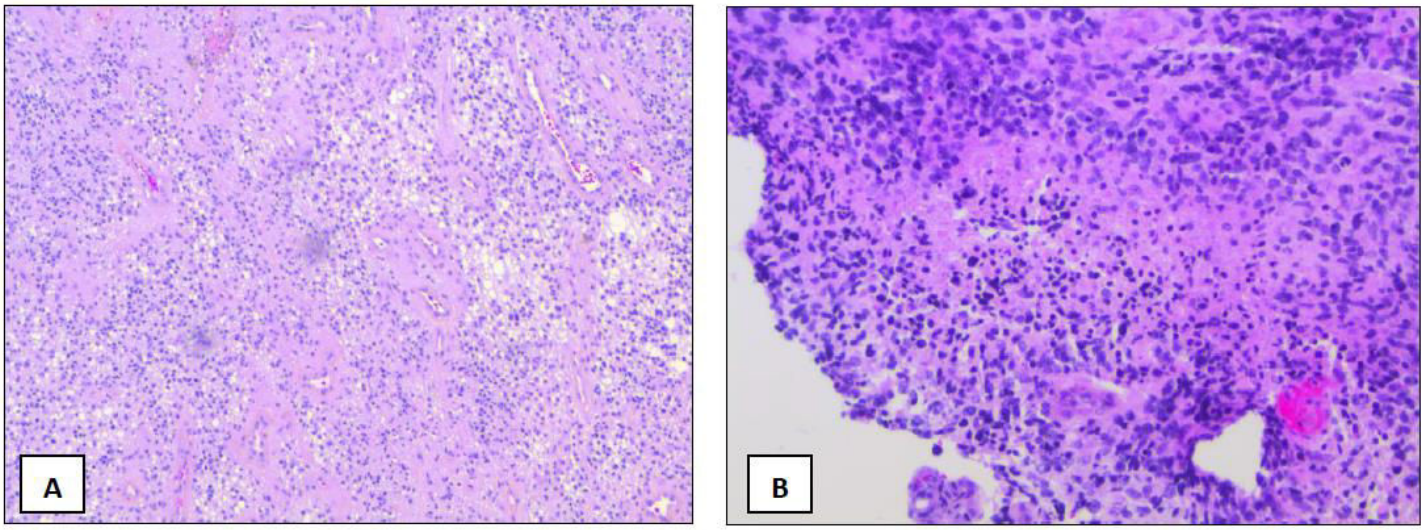



Figure 15 : Aspect microscopique de prolifération endothélio-capillaire (A) et de nécrose palissadique (B) chez un patient atteint d'un GBM (HES objectif x10).

Les GBM sont des tumeurs très polymorphes et souvent peu différenciées. On peut observer de nombreux « patterns » si une morphologie cellulaire particulière prédomine. On distingue : les cellules épithélioïdes (GBM épithélioïde), les petites cellules (GBM à petites cellules), les cellules neuronales primitives (GBM avec composante neuronale primitive), les oligodendrocytes (GBM avec composante oligodendrogliale), les gémistocytes (néoplasmes gémistocytiques astrocytaires), les cellules géantes multi nucléées (GBM à cellules géantes), les cellules granuleuses (GBM/astrocytome à cellules granuleuses), les cellules lipidisées (GBM avec cellules lipidisées) et la métaplasie (gliosarcome). Dans la majorité des cas, ces patterns n'ont pas de signification clinico-radiologique particulière.

En effet, la classification OMS 2016 distingue seulement 3 variants de GBM dans le cadre des GBM *IDH* de type sauvage: le GBM épithélioïde, le GBM à cellules géantes et le gliosarcome.

### 5.2.3. Immunohistochimie

Le GBM est une tumeur gliale, il exprime de ce fait la GFAP (Protéine Glio-Fibrillaire Acide) (figure 16A) et l'OLIG2 (figure 16D). Ce dernier aide au diagnostic dans les tumeurs peu différenciées ; il n'est pas exprimé par les épendynomes et les tumeurs non-gliales.

Il est important de noter que l'expression de la cytokératine AE1/AE3 est possible (contrairement à la cytokératine CK7 et CK20). La nestine est fréquemment exprimée dans les GBM et permet de distinguer les GBM d'autres tumeurs gliales de haut grade.

L'index de prolifération cellulaire Ki67 est en moyenne de 15-20%, mais certaines tumeurs présentent un index de prolifération dans les hot-spots >50% (figure 16F).

Certaines immunohistochimies sont utilisées pour mettre en évidence des anomalies génétiques rencontrées dans le GBM :

- Une expression de p53 forte (3+) et diffuse (10%) est prédictive d'une mutation de *TP53* (20-50% des cas) (figure 16B).

- La surexpression d'*EGFR* se produit dans 40-98% des GBM primaires et est corrélée (dans une certaine mesure) avec la présence de l'amplification du gène *EGFR* (figure 16C) (55). L'expression d'EGFRvIII est moins fréquente (20-50% des GBM).

- Il existe un anticorps qui met en évidence la présence de la protéine IDH présentant la mutation la plus fréquente *IDH1* R132H (figure 16E). Cette expression est incompatible avec le diagnostic de GBM primaire (*IDH* wild type). L'absence d'expression de l'anticorps *IDH1* R132H doit faire rechercher la présence d'une autre mutation du gène *IDH1* moins fréquente (R132C, R132G, R132S, R132L) ou la présence d'une mutation du gène *IDH2* non détectée en immunohistochimie, avant de conclure à un GBM *IDH wild type*.

- Le GBM épithélioïde montre une expression de *BRAF* en immunohistochimie dans 50 % des cas.

- Dans certains contextes (antécédents familiaux évoquant un syndrome de Lynch ou patient de moins de 40 ans *IDH wild type*, histone *H3* sauvage surtout si GBM à cellules géantes), une recherche d'expression des protéines de réparation du système MMR (Mismatch Repair Deficiency) est indiquée.

- Chez un patient jeune, en cas de GBM situé sur la ligne médiane (tronc cérébral, thalamus et moelle épinière, rarement cervelet), une recherche d'expression de la mutation de l'histone *H3F3A-K27M* et de la perte de la tri-méthylation *H3.3* est nécessaire afin de ne pas méconnaitre un gliome diffus de la ligne médiane (autre entité OMS 2016).

- La perte d'expression d'*ATRX* est en faveur d'un GBM secondaire.

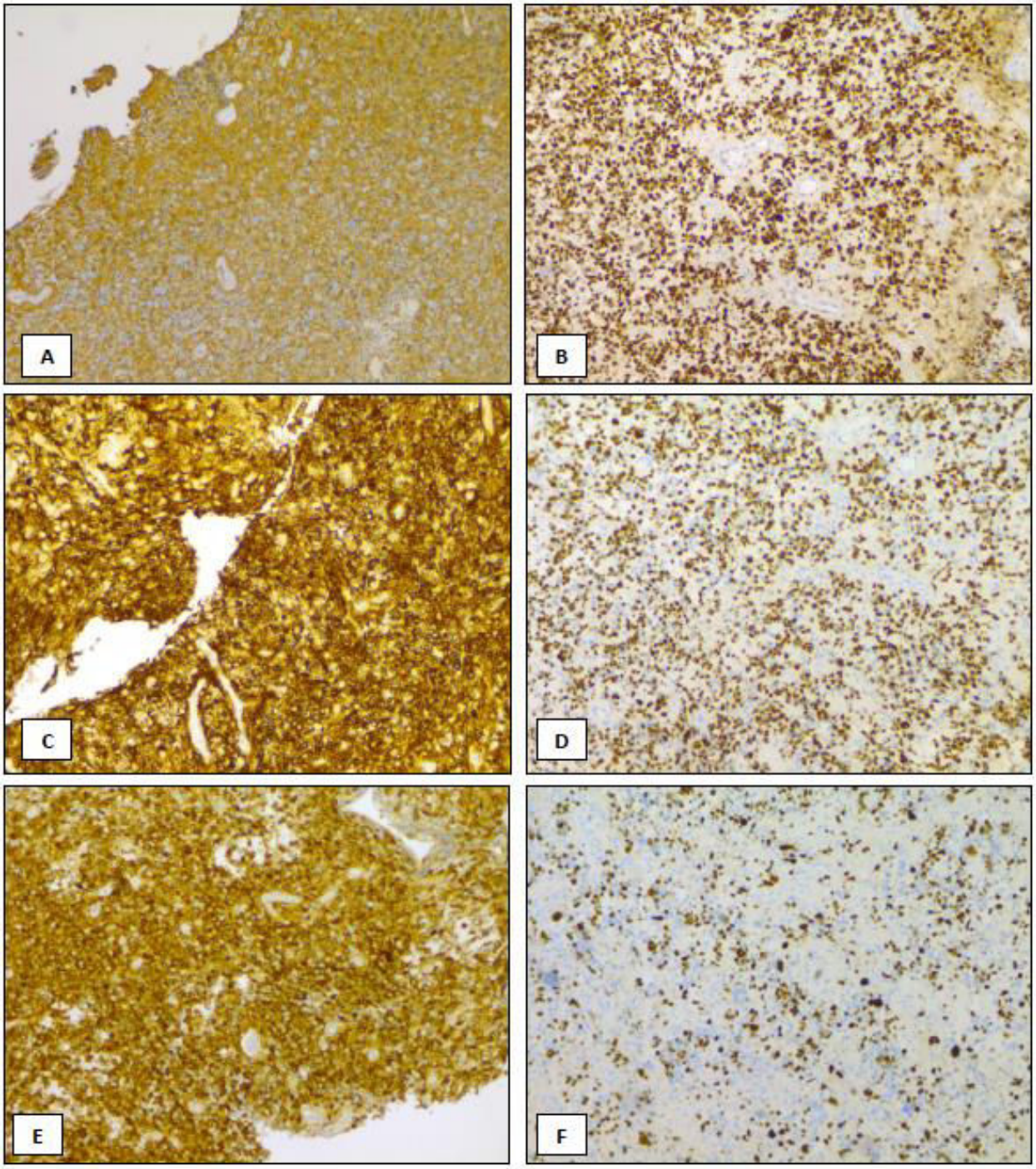



Figure 16 : Marqueurs immunohistochimiques exprimés dans les GBM (objectif x10).

*A- Expression diffuse de la GFAP.*
*B- Surexpression de p53.*
*C- Surexpression d'EGFR.*
*D- Expression d'OLIG2 par les cellules tumorales.*
*E- Forte expression d'IDH1 R132H.*
*F- Index de prolifération Ki67 élevé (20%).*

## 6. Données biologiques

La transformation maligne des cellules neuroépithéliales est un processus en plusieurs étapes guidé par l'acquisition consécutive d'altérations génétiques et épigénétiques. Parmi les néoplasmes astrocytaires, le GBM compte le plus d'altérations génétiques.

### 6.1. Mutations des gènes *IDH1* et *IDH2*

La protéine IDH1 (protéine cytosolique – Isocitrate DesHydrogénase) est une enzyme impliquée dans le métabolisme cellulaire (via le cycle de Krebs). Elle transforme l'isocitrate en α-cétoglutarate, en réduisant le NADP+ en NADPH qui est impliqué dans la protection cellulaire contre le stress oxydatif. Une mutation du gène *IDH1* (ou plus rarement de son iso-forme mitochondriale *IDH2*) induit une perte de fonction de la protéine responsable d'une accumulation de 2-hydroxyglutarate (onco-métabolite) ainsi que d'une diminution du NADPH entrainant une sensibilité majorée de la cellule au stress oxydatif (figure 17) (56). La production accrue de l'onco-métabolite 2-hydroxyglutarate est responsable d'une altération des profils de méthylation de l'ADN dans les gliomes diffus et modifie ainsi le méthylome et le tanscriptome.

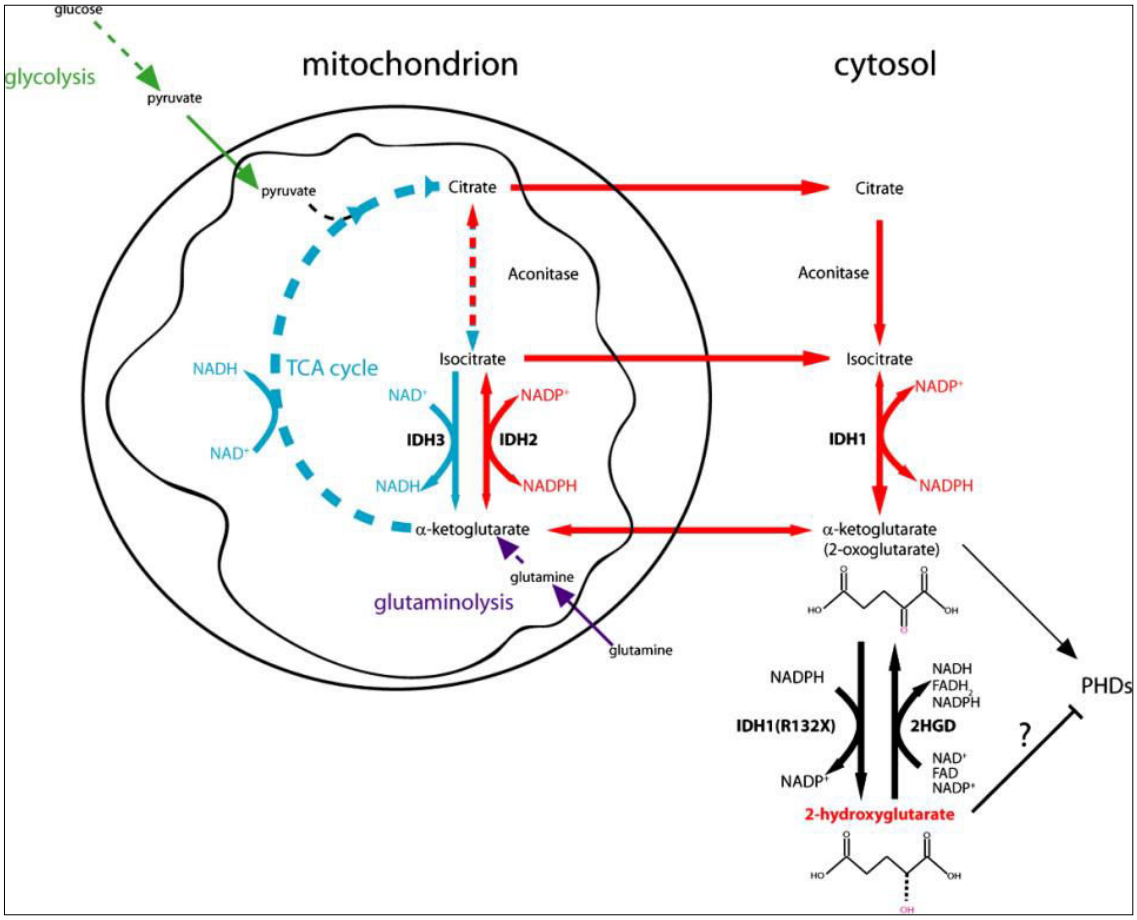



Figure 17 : Rôles des enzymes IDH dans l'échange de métabolites entre les mitochondries et le cytosol et leur rôle potentiel dans la tumorigenèse. *D'après Frezza et al, 2010* (57).

Les mutations des gènes *IDH* ont été signalées pour la première fois en 2008 (58). Elles sont fréquentes dans les gliomes diffus de grade II et III (>70% des cas) (36). Il s'agit d'une mutation précoce dans la gliomagenèse (présente avant les mutations de *TP53* impliquées dans les tumeurs

gliales de phénotype astrocytaire et avant la co-délétion 1p19q impliquée dans les oligodendrogliomes) et persiste dans la progression tumorale vers les GBM *IDH* mutés (59).

Ces mutations sont présentes dans quasiment tous les GBM qui résultent de la progression d'astrocytomes (GBM secondaires), mais elles sont exceptionnelles dans les GBM primaires (60-61). En effet, un GBM cliniquement primaire avec une mutation du gène *IDH* pourrait résulter d'une mauvaise classification et pourrait en fait constituer un gliome de grade inférieur asymptomatique qui a progressé rapidement et n'est devenu symptomatique qu'en tant que GBM secondaire (62).

Ainsi, la mutation du gène *IDH* constitue une signature moléculaire fiable du groupe de GBM secondaire (groupe distinct de GBM). Notamment, la présence d'une mutation du gène *IDH* est incompatible avec le diagnostic de GBM *IDH* wildtype (ou primaire).

Les mutations des gènes *IDH 1* et *2* sont mutuellement exclusives. 80% des mutations des gènes *IDH* concernent le gène *IDH1* avec dans 90% des cas une mutation du codon 132 de l'exon 4 qui remplace une arginine par une histidine (R132H). Les mutations du gène *IDH2* sont plus rares et affectent principalement l'acide aminé R172 de l'exon 4, analogue à celui du gène *IDH1* (la mutation *IDH2* R172K est la plus fréquente) (63).

Les mutations des gènes *IDH1* et *2* sont des facteurs de bon pronostic indépendantes du grade OMS de la tumeur (64-65) et sont associées à une survie prolongée (36, 62). Elles sont également un facteur prédictif de la réponse au traitement par agent alkylant : l'hyperméthylation du promoteur du gène *MGMT* est associée à la mutation des gènes *IDH*. En effet, la méthylation du promoteur du gène *MGMT* fait partie des altérations épigénétiques impliquées dans la modification du méthylome induit par l'onco-métabolite 2-hydroxyglutarate (66).

Pour finir, la mutation d'*IDH* est également corrélée à une atteinte tumorale à un plus jeune âge: dans l'article publié en 2009 par Yan H *et al*, l'âge médian était de 56 ans contre 34 ans pour les astrocytomes anaplasiques *IDH* mutés et de 59 ans contre 32 ans pour les GBM *IDH* mutés ($p<0,001$).

### 6.2. Caractéristiques biologiques et moléculaires du glioblastome

La plupart des altérations génétiques observées dans les gliomes ciblent les voies de signalisation impliquées dans la transduction du signal (voies *PI3K-AKT-mTOR* et *Ras-MAPK*), le contrôle du cycle cellulaire (voies de signalisation *TP53* et *RB*), l'angiogenèse (voie du VEGF) et le métabolisme cellulaire (mutations *IDH*) (figure 18) (13).

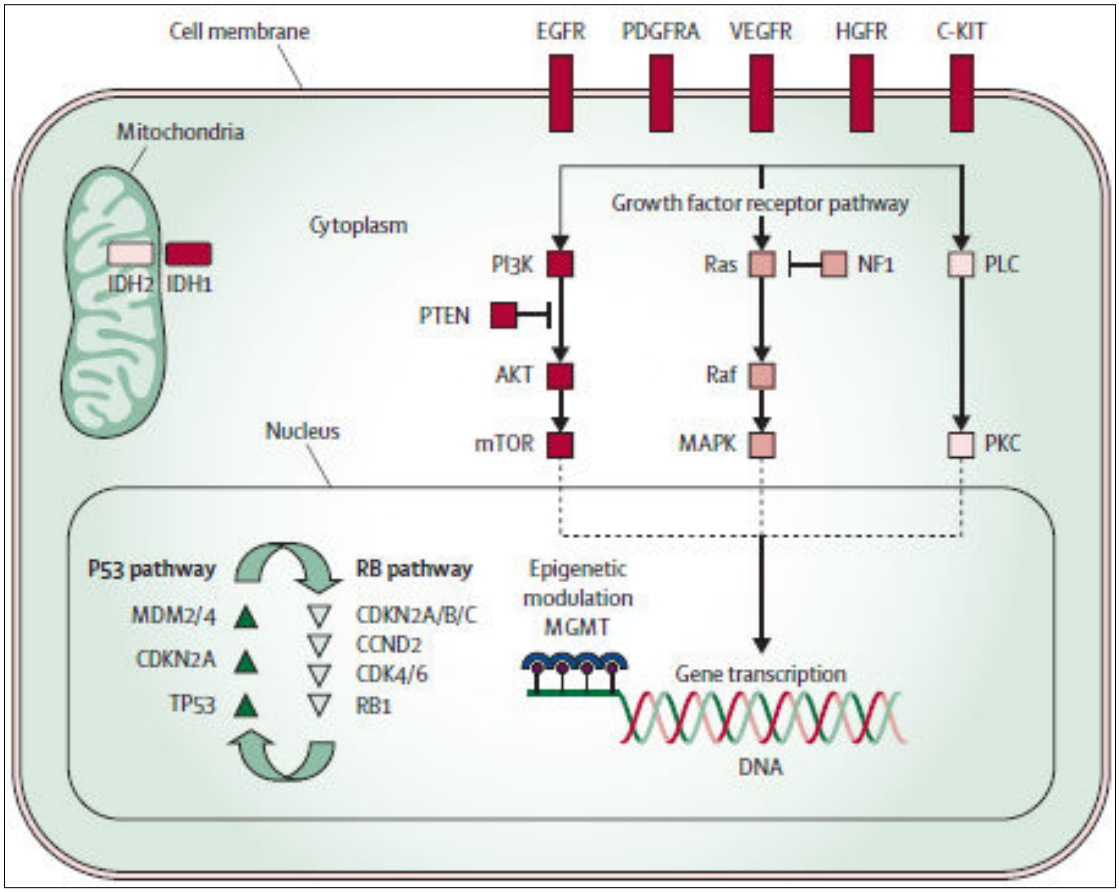



Figure 18 : Principales voies de signalisation et protéines impliquées dans la gliomagenèse. *D'après Ricard et al, 2012.*

### 6.2.1. Cytogénétique et altérations chromosomiques quantitatives

Les déséquilibres chromosomiques les plus fréquents dans les GBM sont le gain du chromosome 7 et la perte des chromosomes 9, 10 et 13. Une autre lésion fréquemment observée dans les GBM est la combinaison du gain des chromosomes 19 et 20 (60).

Le gain du 7 en association avec la perte du 10q est l'altération génétique la plus fréquente dans les GBM. Cette combinaison est souvent associée avec l'amplification du gène *EGFR* (Epidermal growth factor receptor) situé sur le chromosome 7p et la délétion du gène *PTEN* (Phosphatase and TENsin homolog mutated in multiple advanced cancers) situé sur le chromosome 10q.

#### 6.2.1.1. Chromosome 7 et gène *EGFR*

*EGFR* est le gène le plus fréquemment amplifié dans les GBM primaires et est associé avec sa surexpression : 70-90% des GBM avec une surexpression d'*EGFR* présentent une amplification du gène *EGFR* (figure 19). Cette amplification se produit dans 40% des GBM primaires mais rarement dans les GBM secondaires.

De plus, dans 20-50% des cas, l'amplification du gène *EGFR* est associée à une délétion du gène dans les exons 2 à 7 qui code pour une protéine mutante tronquée constitutivement active : le variant III d'*EGFR* (EGFRvIII). Il s'agit d'une protéine réceptrice, dépourvue de la majeure partie de son domaine extracellulaire, qui ne peut plus se lier à ses ligands et dont l'activité tyrosine kinase

intracellulaire est constitutivement active, augmentant ainsi l'expression des voies de signalisation sous la dépendance du gène *EGFR*.

Figure 19 : Exemple de résultats de CGH array (issu du laboratoire de cancérologie biologique du Pr Karayan-Tapon, CHU de Poitiers) : gain du chromosome 7 en entier (log ratio=+0,35) avec amplification supplémentaire du gène *EGFR* (log ratio=+4,6) chez un patient atteint d'un GBM primaire.

#### 6.2.1.2. Chromosome 10 et gène *PTEN*

La perte du chromosome 10q est corrélée positivement avec le grade de la tumeur gliale diffuse. Elle est l'altération génétique la plus fréquente dans le GBM (70% des cas) et est aussi typiquement co-présente avec l'une ou plusieurs des autres altérations génétiques caractéristiques des GBM (67).

Le chromosome 10q abrite 2 principaux gènes pertinents pour le diagnostic moléculaire de GBM et pour leur pronostic: les gènes *PTEN* et *MGMT* situés respectivement en position 10q23.31 et 10q26.3.

Le gène *PTEN* est un gène suppresseur de tumeur qui via la voie *PI3K / AKT / mTOR* joue un rôle essentiel dans la transduction du signal. La perte allélique de la région chromosomique contenant le gène *PTEN* se produit dans 75-95% des GBM tandis que les mutations de *PTEN* sont présentes dans 30-40% des GBM primaires. Les mutations de *PTEN* entrainent une régulation positive d'*AKT* qui joue un rôle important dans la régulation du cycle cellulaire, l'apoptose et la migration cellulaire.

Malgré l'importance du gène *PTEN* dans la gliomagenèse, sa corrélation avec la survie reste controversée. En effet, la perte du chromosome 10q s'est révélée être en corrélation négative avec la survie dans certaines études (68-69) mais pas dans d'autres (70).

Concernant le gène *MGMT*, contrairement au gène *PTEN*, il n'aide pas au diagnostic de GBM mais apporte une valeur pronostique (se référer au chapitre 6.3. Méthylation du promoteur du gène *MGMT*).

### 6.2.2. Altérations génétiques

#### 6.2.2.1. Gène *CDKN2A*

Dans le GBM, la délétion homozygote du gène *CDKN2A (Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2A)* est fréquente (près de 60% des GBM primaires). Cette délétion implique également le gène *CDKN2B* situé à proximité sur le chromosome 9p21.

Le gène *CDKN2A* code pour deux protéines impliquées dans des voies de signalisation distinctes : la protéine $p14^{ARF}$ (Alternative Reading Frame) et la protéine $p16^{INK4a}$ (Cyclin Dependent Kinase Inhibitor) (figure 20). Cependant, elles ont toutes les deux la fonction de freiner le cycle cellulaire et ainsi, la perte d'expression de ces protéines favorise la prolifération cellulaire.

Protéine $p14^{ARF}$ et voie p53

La protéine $p14^{ARF}$ est impliquée dans l'apoptose via le gène *TP53* (gène suppresseur de tumeur codant pour la protéine p53 qui régule le cycle cellulaire, l'apoptose et la différenciation cellulaire après exposition à des agents endommageant l'ADN). En effet, $p14^{ARF}$ favorise la stabilisation de p53 en empêchant sa dégradation par l'intermédiaire de *MDM2*.

Des altérations de la voie de p53 surviennent dans près de 90% des GBM. Les mutations de *TP53* sont plus fréquentes dans les GBM secondaires (65% des cas contre 25% dans les GBM primaires) et sont souvent déjà présentes dans les précurseurs de bas grade.

La surexpression et l'amplification du gène *MDM2* sont observées respectivement dans >50% et dans <10% des GBM primaires.

Enfin, la perte d'expression de la protéine $p14^{ARF}$ est fréquente dans les GBM (75% des cas) et est corrélée avec la délétion homozygote ou la méthylation du promoteur du gène *CDKN2A*.

Protéine $p16^{INK4A}$ et voie du rétinoblastome (RB)

La protéine $p16^{INK4a}$, quant à elle, est impliquée dans la régulation du cycle cellulaire via la voie protéique du rétinoblastome. En effet, elle inhibe la phosphorylation de la protéine rétinoblastome pRb1 par l'intermédiaire de *CDK4/6*, ce qui maintient pRb1 dans sa forme hypophosphorylée, état actif qui lie et inhibe l'activité transcriptionnelle de la protéine E2F. Cette interaction définit le point de contrôle en G1 qui doit être dépassé pour poursuivre le cycle cellulaire. Ainsi, ce point de contrôle critique peut être abrogé avec une mutation perte de fonction au niveau du locus de $p16^{INK4a}$ ou par une activation constitutive de *CDK4*.

Des altérations de la voie protéique du rétinoblastome surviennent dans près de 80% des GBM. Le gène *CDK4* est amplifié dans 15% des cas de GBM. La délétion de *CDKN2A* et les mutations de *RB1* sont mutuellement exclusives. Les mutations de *RB1* sont rares et la méthylation du promoteur du gène *RB1* corrélée avec la perte d'expression de *RB1* est plus fréquente dans les GBM secondaires que les GBM primaires (43% contre 14% des cas).

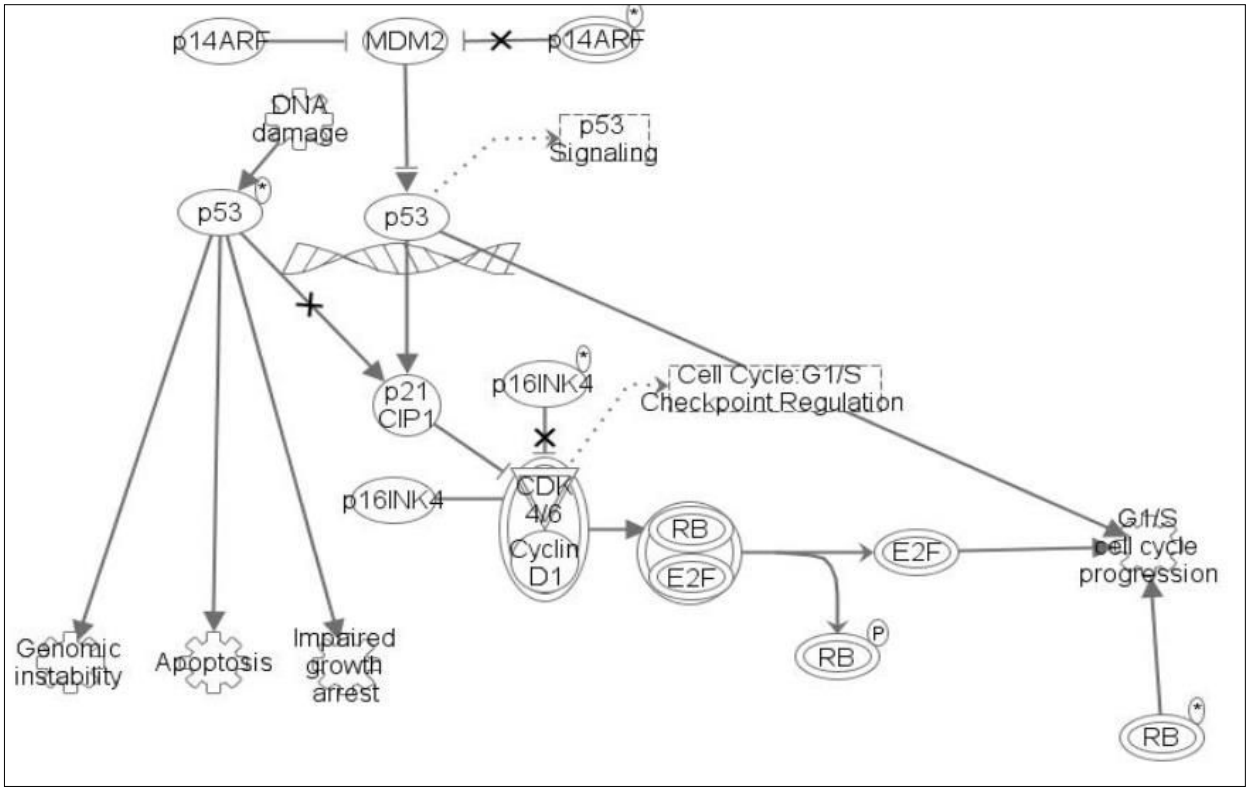



Figure 20 : Voies de signalisation impliquant le gène *CDKN2A*. *Issu de la base de données KEGG PATHWAY (http://www.genome.jp/kegg/pathway.html).*

#### 6.2.2.2. Autres gènes

Les mutations de la région promotrice du gène *TERT* sont présentent dans 80% des GBM primaires et sont plus rares dans les GBM secondaires. Ces mutations sont inversement corrélées avec les mutations de *TP53* (*Tumor suppressor p53*) et mutuellement exclusives avec les mutations du gène *ATRX*. Elles sont associées à un mauvais pronostic en l'absence de mutation des gènes *IDH* et à un meilleur pronostic en leur présence.

Les mutations du gène *ATRX*, entrainant une perte d'expression, sont typiquement présentes avec les mutations des gènes *IDH1-2* et *TP53* des GBM secondaires (71).

L'amplification des gènes *PDGFRA* (récepteur α du facteur de croissance dérivé des plaquettes) et *MET* se produit dans respectivement 15% et 5% des GBM.

Les mutations et amplifications des gènes *PIK3* (*PIK3CA* et *PIK3R1*) sont présentes dans 10-25% des GBM.

Pour finir, les mutations du gène *NF1* sont présentes dans 20% des GBM.

### 6.2.3. Résumé des principales altérations génétiques

Le tableau 3 et la figure 21 résument les principales altérations génétiques impliquées dans les GBM primaires et secondaires et dans la gliomagenèse.

Tableau 3 : Principales altérations génétiques rencontrées dans les GBM primaires et secondaires

| | GBM primaire | GBM secondaire |
|---|---|---|
| Mutations *TERT* | 80% | 30% |
| Perte du chromosome 10q | 70% | 70% |
| Mutations *PTEN* | 35% | exceptionnelles |
| Amplification *EGFR* | 40% | exceptionnelle |
| Délétion *CDKN2A/CDKN2B* | 60% | 60% |
| Mutations *TP53* | 25% | 65% |
| Mutations *ATRX* | exceptionnelles | 70% |
| Mutations *IDH1-2* | 0% | 100% |

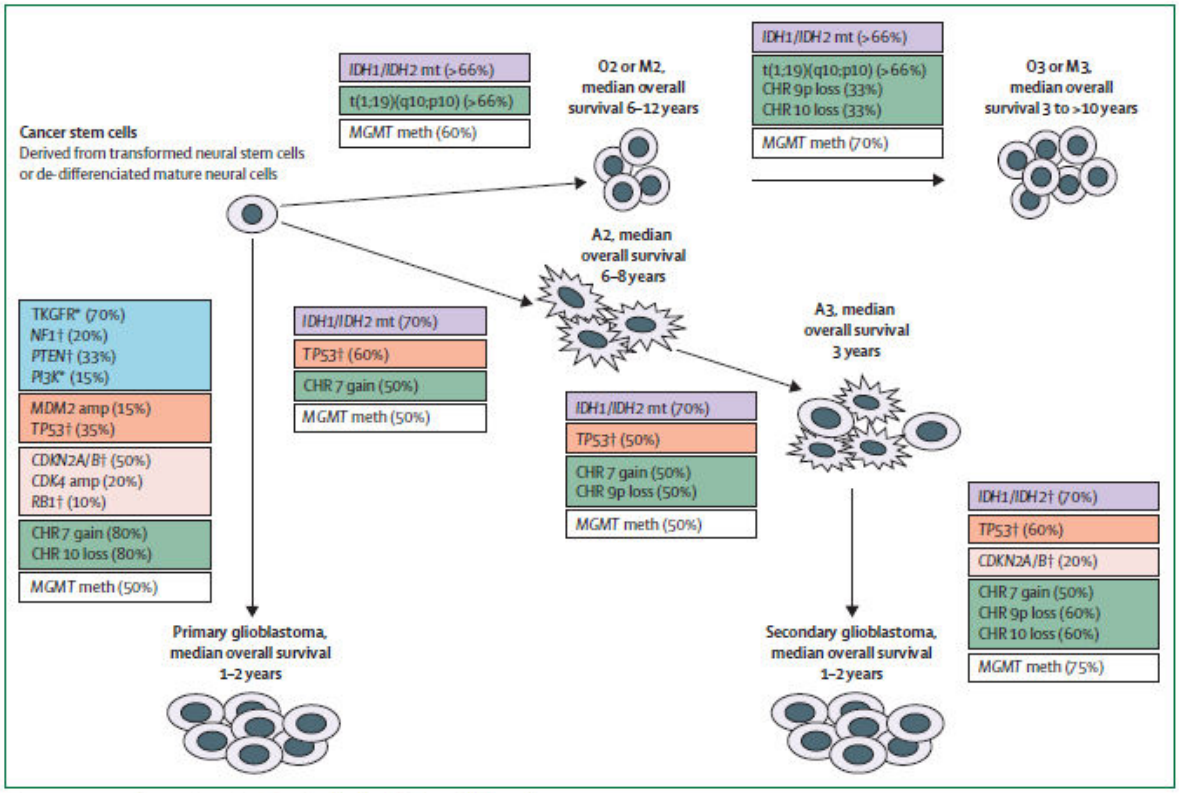



***Figure 3*: Gene and genomic regions involved in the biology of diffuse gliomas**
The blue, orange, pink, and purple squares indicate gene(s) involved in the TKGFR signalling pathway, the p53 signalling pathway, the RB signalling pathway, and the cell metabolome, respectively. The green and white squares indicate frequent chromosome imbalances in gliomas and MGMT promoter methylation. A2=WHO grade 2 astrocytoma. A3=WHO grade 3 astrocytoma. O2=WHO grade 2 oligodendroglioma. M2=WHO grade 2 mixed glioma. M3=WHO grade 3 mixed glioma. O3=WHO grade 3 oligodendroglioma. TKGFR=tyrosine kinase growth factor receptor, including epidermal growth factor receptor (EGFR) and platelet-derived growth factor receptor α (PDGFRα). *NF1*=neurofibromin 1. *PTEN*=phosphatase and tensin homologue. *PI3K*=phosphoinositide-3-kinase. *MDM2*=mdm2 p53 binding protein homologue (mouse). amp=high-level amplification. *TP53*=tumour protein p53. *CDKN2A/B*=cyclin-dependent kinase inhibitor 2A/B. *CDK4*=cyclin-dependent kinase 4. *RB1*=retinoblastoma 1. CHR=chromosome. MGMT=O6-methylguanine-DNA methyltransferase. meth=methylation. *IDH1*=isocitrate dehydrogenase 1. *IDH2*=isocitrate dehydrogenase 2. mt=mutation. *Gain of function through high-level amplification or mutation. †Homozygous deletion or mutation.

Figure 21 : Résumé des principales altérations génétiques impliquées dans la gliomagenèse. *D'après Ricard et al, 2012*.

Des illustrations de résultats biologiques de GBM *IDH* muté sont disponibles en annexe 6.

### 6.3. Méthylation du promoteur du gène *MGMT*

Le gène *MGMT* (*$O^6$-MéthylGuanine-ADN-MéthylTransférase*), situé sur le chromosome 10 en position q26.3, agit comme un gène suppresseur de tumeur et joue un rôle fondamental dans le maintien de l'intégrité du génome. Il code pour une protéine de réparation de l'ADN ($O^6$-AlkylGuanine-ADN-AlkylTransferase ou AGT), ubiquitaire, qui retire les groupements alkyls en position $O^6$ des guanines. Ces groupements alkyls sont induits par des agents alkylants tels que le TMZ utilisé dans le traitement du GBM (figure 22). Après transfert des groupements alkyls vers le site actif de la protéine AGT, celle-ci est détruite par le protéasome : la capacité de réparation de la cellule dépend donc de la quantité d'enzyme active au niveau de son noyau et des possibilités de production de l'enzyme.

Ainsi, dans le GBM, des niveaux élevés d'activité de *MGMT* dans les cellules tumorales créent un phénotype résistant en atténuant l'effet thérapeutique des agents alkylants et peuvent être un déterminant important de l'échec du traitement.

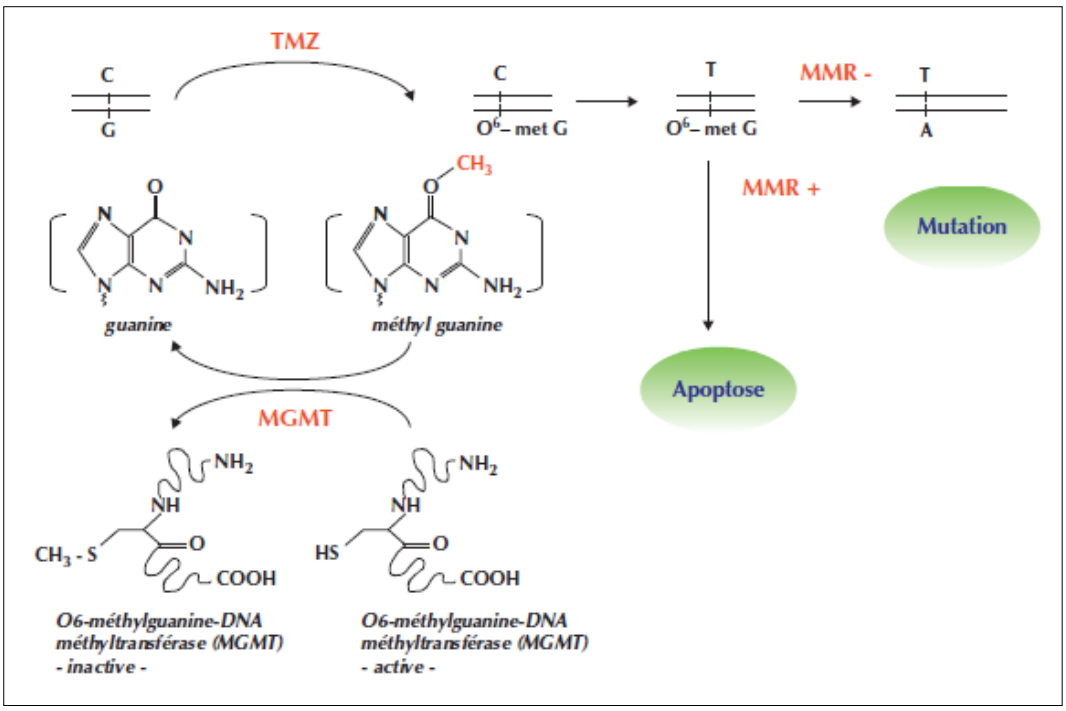



Figure 22 : Mode d'action de l'enzyme MGMT et du TMZ au niveau cellulaire. Le TMZ ajoute des groupements de type alkyl au niveau de l'ADN, notamment des groupements méthyles au niveau des guanines. Si la cellule ne contient pas de MGMT, la guanine méthylée va s'apparier à une thymine lors de la duplication de l'ADN, ce qui va être reconnu comme une erreur et activer le système MMR (mismatch repair). L'inefficacité de la réparation va aboutir à l'apoptose cellulaire. En cas de système MMR inactif, lors de la réplication la thymine va s'apparier à une adénine, d'où l'apparition de mutation de type GC vers AT. S'il y a de la MGMT dans la cellule, l'enzyme va permettre à la guanine méthylée de retrouver son état natif et va donc ainsi contrecarrer l'action du TMZ. *D'après Quillien et al., 2011* (72).

Il est admis par la communauté scientifique qu'au cours du développement tumoral, la répression épigénétique par méthylation de l'ADN est un mécanisme précoce et important par lequel les gènes suppresseurs de tumeurs sont inactivés. Dans les gliomes diffus, le gène *MGMT* en est un exemple probant. L'expression du gène *MGMT* est, entre autres, régulée par l'état de méthylation d'ilots CpG

situés dans sa région promotrice. La méthylation réprime l'expression du gène et donc, inactive la réparation des altérations de l'ADN dues aux agents alkylants dans les cellules tumorales conduisant à une chimiosensibilité. A l'inverse, lorsque le promoteur est non méthylé, le gène est exprimé, s'opposant ainsi à l'action de la chimiothérapie alkylante. Il est rapporté que la méthylation du promoteur du gène *MGMT* est présente dans 40-50% des GBM (32).

Il existe une littérature abondante qui rapporte que la mise sous silence épigénétique du gène *MGMT* par méthylation de son promoteur au niveau de la tumeur est associée à une survie plus longue chez les patients atteints d'un GBM et traités par chimiothérapie alkylante.

Lors de l'étude EORTC-NCIC ayant mis en évidence la supériorité du traitement combiné radiothérapie et TMZ par rapport à la radiothérapie seule (24), l'étude de la méthylation du promoteur de *MGMT* avait été réalisée sur un sous-groupe de patients et avait clairement démontré que les patients présentant une méthylation répondaient mieux au traitement (figure 23) (32). Ces résultats ont été confirmés, avec un recul de plus de 5 ans (73) : parmi les patients ayant bénéficié du traitement combiné radiochimiothérapie, la médiane de survie globale des patients méthylés était de 23,4 mois, avec 13,8 % de survivants à 5 ans contre 12,6 mois et 8,3 % de survie pour les non méthylés.

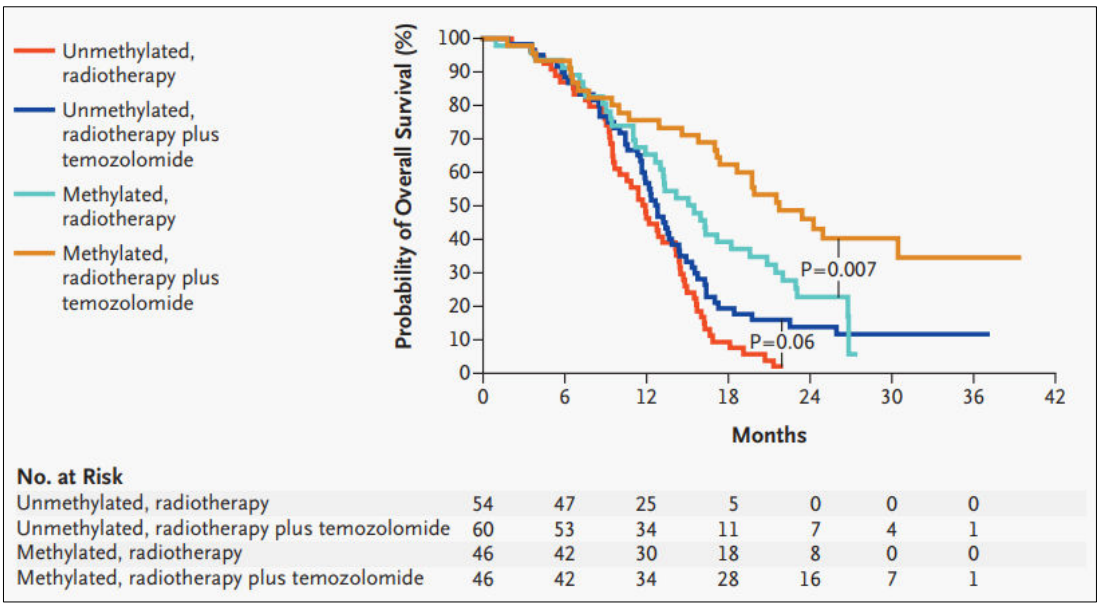



Figure 23 : Survie globale (méthode de Kaplan-Meier) selon l'état de méthylation du promoteur du gène *MGMT* et l'affectation aléatoire à la radiothérapie et TMZ ou radiothérapie seule chez des patients atteints d'un GBM. Parmi les patients dont la tumeur contenait un promoteur *MGMT* méthylé, un bénéfice de survie a été observé chez les patients traités par radiothérapie et TMZ ; leur médiane de survie était de 21,7 mois (IC à 95% [17,4 - 30,4]), contre 15,3 mois (IC à 95% [13,0 - 20,9]) parmi ceux qui ne recevaient que la radiothérapie. *D'après Hegi et al, 2005.*

De plus, la méthylation du promoteur du gène *MGMT* aurait un intérêt pronostique indépendant dans les GBM, qui ne serait en aucun cas lié à la réponse aux agents alkylants, et qui pourrait être le reflet d'un phénotype moléculaire particulier (32,72). L'étude de Hegi et *al.*, a montré qu'indépendamment du traitement, la méthylation du promoteur du gène *MGMT* est un facteur pronostique favorable indépendant ($p<0,001$ selon le test du log-rank, taux de risque de décès de 0,45, IC à 95% [0,32 - 0,61]) (figure 24).

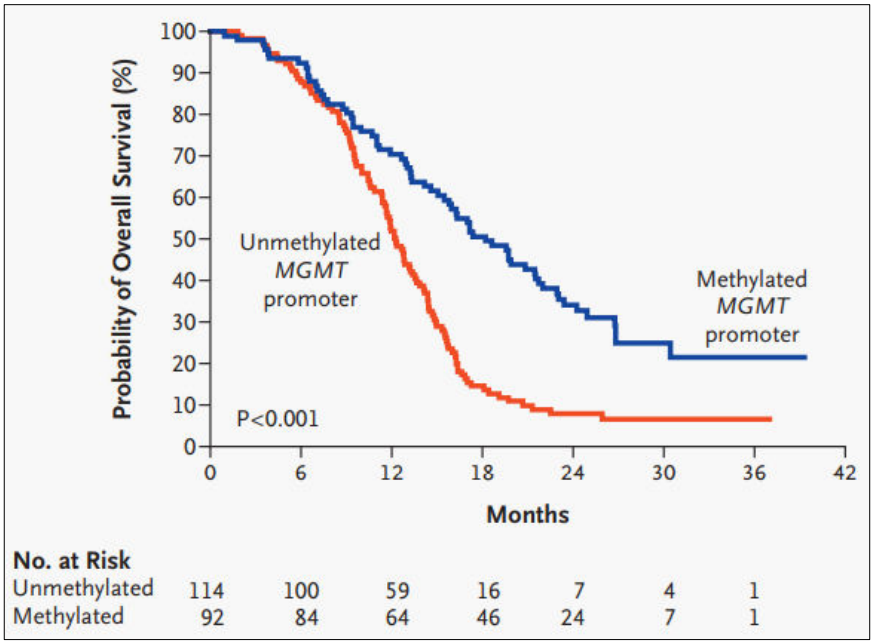



Figure 24 : Survie globale (méthode de Kaplan-Meier) chez des patients atteints d'un GBM selon le statut de méthylation du promoteur de *MGMT* quel que soit l'affectation du traitement. La médiane de survie globale chez les patients présentant une méthylation était de 18,2 mois (IC à 95% [15,5 – 22,0]), contre 12,2 mois (IC à 95% [11,4 – 13,5]) chez ceux sans méthylation. *D'après Hegi et al, 2005.*

Par conséquent, l'état de méthylation du promoteur du gène *MGMT* prédit la réponse à la thérapie alkylante et est ainsi associé à la survie du patient. De plus, l'inactivation épigénétique de *MGMT* pourrait être le reflet d'un phénotype moléculaire ayant une signification pronostique propre.

## 7. Prise en charge thérapeutique du GBM

Le standard thérapeutique (connu sous le nom de protocole de Stupp) est actuellement défini par une résection chirurgicale optimale (lorsque cela est possible) suivi d'une radiothérapie encéphalique associée à une chimiothérapie alkylante concomitante par TMZ puis de TMZ adjuvant.

Ce standard est basé sur l'essai de phase III initié par l'EORTC (Organisation Européenne pour la Recherche et le Traitement du Cancer) et le NCIC (National Cancer Institute of Canada) (24, 73) qui a été conforté par de nombreuses autres études dans différents pays (74-83). L'ensemble de ces études a montré un bénéfice significatif de la médiane de survie globale en faveur du protocole de Stupp.

### 7.1. Protocole de Stupp

#### 7.1.1. Chirurgie

La chirurgie joue un rôle symptomatique, thérapeutique et diagnostique.

Les patients bénéficient, lorsque cela est possible, d'une exérèse la plus large possible tout en respectant les fonctions neurologiques dont l'altération entraine des risques de déficits post-opératoires qui impactent la qualité de vie. Cette exérèse a pour effet de réduire les symptômes liés à l'effet de masse et donc d'améliorer l'état neurologique du patient.

De plus, le résidu post-opératoire influence directement la survie. Dans l'étude randomisée de Vuorien *et al.* (84) comparant la biopsie à l'exérèse chirurgicale, la médiane de survie était de 171 jours dans le groupe résection contre 85 dans le groupe biopsie (p=0,035). Ces résultats sont concordants avec de nombreuses autres études (85-89).

Par ailleurs, le GBM étant une tumeur infiltrante, sa résection est toujours incomplète à l'échelon cellulaire, mais la qualité de la résection chirurgicale est néanmoins un facteur pronostique majeur. Dans l'essai randomisé de Stummer et *al.* (86), la survie médiane était de 16,7 mois dans le groupe « exérèse complète » contre 11,8 mois dans le groupe « exérèse incomplète » (p= 0,0001). Ces résultats ont été confortés par d'autres études (87, 90-92).

La qualité de la résection par rapport au volume macroscopique de la tumeur est évaluée en per-opératoire par le chirurgien et est rapportée dans le compte-rendu opératoire. Cependant, l'évaluation précise de la résection doit être effectuée sur une IRM post-opératoire (dans les 48-72h). On parle d'exérèse :

- supra-totale : exérèse complète/totale et passant à distance de l'anomalie FLAIR (ou T2),
- complète / totale : absence de prise de contraste visible sur l'IRM post-opératoire,
- subtotale : résection entre 90 et 98% (selon les auteurs (90, 93) voir 70% (87-88)) du volume tumoral (nécrose + prise de contraste),
- partielle : résection < 90-98% du volume tumoral (nécrose + prise de contraste).

Parmi les aides techniques à la résection, on peut citer la neuronavigation, l'échographie et l'IRM peropératoires, la chirurgie guidée par fluorescence avec l'acide-5-amino-levulinique (le 5-ALA), la cartographie peropératoire corticale et sous corticale en conditions éveillée ou endormie…

Parmi ces aides techniques, la résection fluoroguidée (5-ALA) améliorerait la qualité de l'exérèse et la survie sans progression des patients présentant un GBM (94-95).

Lorsque l'exérèse n'est pas envisageable (état général et/ou comorbidités contre-indiquant une exérèse, tumeur non réséquable en raison de son caractère trop diffus, doute avec une tumeur « non chirurgicale » tels qu'un lymphome ou une lésion inflammatoire, atteinte du tronc cérébral…) une biopsie est recommandée (biopsie à ciel ouvert, sous neuronavigation, stéréotaxique avec ou sans cadre…). La biopsie n'est pas un traitement mais permet un diagnostic.

En cas de biopsie, compte tenu de l'hétérogénéité histologique du GBM, les prélèvements doivent être multiples, étagés et en quantité suffisante (nombreuses analyses). Le diagnostic est obtenu dans plus de 80% des cas quelle que soit la technique employée (96-98).

### 7.1.2. Radiothérapie

La radiothérapie doit être débutée dans un délai de 4 à 6 semaines après le geste chirurgical sous réserve d'une cicatrisation du scalp.

En association avec le TMZ, la dose est de 60 Gy en 30 fractions de 1,8-2 Gy par jour, 5 jours par semaine, sur une période de 6 semaines.

Dans le cadre de la prise en charge du GBM, les protocoles actuels de radiothérapie externe focale conventionnelle ciblent la prise de contraste des séquences IRM en T1 injecté (GTV ou Gross Tumor Volume), avec une marge de sécurité de 2 à 3 cm sur l'hypersignal T2/FLAIR (figure 25). Le GTV

correspond à la tumeur rehaussée par le produit de contraste (séquence T1 gadolinium) et/ou au lit opératoire (99).

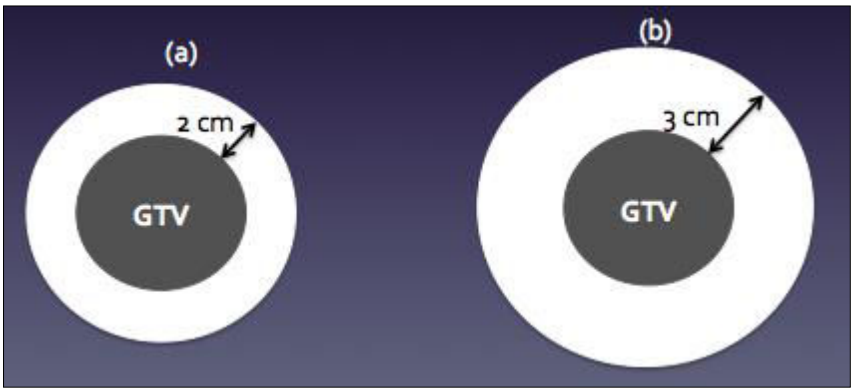



Figure 25 : Schéma représentant le volume cible en radiothérapie chez des patients atteints d'un GBM.

En cas de prise de TMZ concomitante à la radiothérapie, la chimiothérapie débute le premier jour de la radiothérapie et se termine le dernier jour (si bonne tolérance).

### 7.1.3. Chimiothérapie

#### 7.1.3.1. Mode d'action du témozolomide

Le TMZ est un agent alkylant qui agit en ajoutant des groupements méthyles sur l'ADN, principalement en position N-7 (atome d'azote situé en position 7) ou O-6 (atome d'oxygène situé en position 6) des bases guanines. Cette méthylation endommage l'ADN (création de mismatchs) et induit la mort cellulaire par apoptose. L'activité cytotoxique du TMZ est principalement imputée par la formation d'$O^6$-méthylguanine.

Cependant, il existe différents mécanismes de résistance au TMZ comme celui impliquant le gène *MGMT* (cité précédemment). En effet, certaines cellules tumorales sont capables de réparer les dommages sur l'ADN induits par le TMZ (et donc diminue son efficacité thérapeutique) en exprimant la protéine MGMT qui ôte les groupes méthyles en position $O^6$-guanine. Ainsi, il existe une association forte entre le niveau d'expression de *MGMT* et la survie. Des doses suffisantes de TMZ sont donc nécessaires afin de saturer l'enzyme MGMT. Dans le cadre de la prise en charge du GBM, la dose préconisée est de 150-200 mg/$m^2$/jour pendant 5 jours tous les 28 jours (traitement standard).

#### 7.1.3.2. Témozolomide concomitant à la radiothérapie

Le TMZ est pris à jeun (ou 2h au moins après le repas précédent et 2h avant le repas suivant), 1h avant la radiothérapie, à la dose de 75 mg/$m^2$/jour, week-end compris, pendant toute la durée de la radiothérapie (durée totale de 42 jours, maximum 49 jours).

L'étude de Stupp et *al*, a montré que l'ajout de la chimiothérapie à la radiothérapie prolonge significativement la survie des patients atteints d'un GBM nouvellement diagnostiqué, avec une augmentation de la survie médiane de 2,5 mois ou une réduction relative du risque de décès de 37% (figure 26) (24).

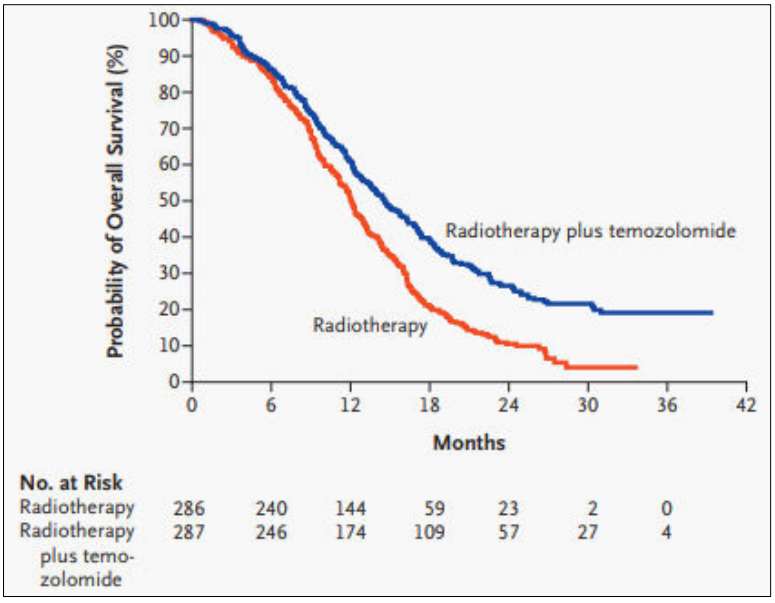



Figure 26 : Survie globale (méthode de Kaplan-Meier) chez des patients atteints d'un GBM selon le groupe de traitement. La médiane de survie était de 14,6 mois (IC à 95% [13,2 - 16,8]) avec radiothérapie et TMZ et de 12,1 mois (IC à 95% [11,2 - 13,0]) avec la radiothérapie seule. *D'après Stupp et al, 2005.*

#### 7.1.3.3. Témozolomide adjuvant

Après une pause de 4 semaines, le TMZ d'entretien est donné à la dose de 150-200 mg/m$^2$/jour pendant 5 jours tous les 28 jours jusqu'à 12 cycles (100).

Dans l'essai de phase III EORTC – NCIC, le TMZ adjuvant était délivré pour un maximum de 6 cycles. Toutefois en pratique, dans certains centres, il est envisagé de prolonger l'entretien du TMZ jusqu'à 12 cycles (voir 24 cycles) chez les patients présentant une évolution clinique favorable et une réponse tumorale continue par IRM (101).

### 7.2. Traitement symptomatique

La prise en charge symptomatique reste un domaine clé dans les soins des patients atteints d'un GBM.

#### 7.2.1. Corticothérapie

Les corticoïdes sont utilisés dans le traitement des GBM pour diminuer l'œdème péri tumoral : ils permettent une réduction de l'HTIC et une amélioration clinique rapide (réduction des déficits et des crises comitiales). En radiothérapie, ils permettent de prévenir le risque d'encéphalopathie aigüe associée à l'irradiation et sont le traitement standard en cas de complications à type de radionécrose (102).

Un certain nombre d'autres effets des stéroïdes peuvent améliorer la qualité de vie des patients atteints d'une tumeur au cerveau, notamment une amélioration de l'appétit, un soulagement de la douleur, une sensation de bien-être ou une diminution des nausées et des vomissements (101).

Les indications, le choix des corticoïdes, la posologie et la durée du traitement restent encore empiriques et sont laissés à l'appréciation du clinicien. Cependant, la dose minimale efficace de

corticostéroïdes doit être utilisée. En ce qui concerne l'œdème péritumoral, Stupp et *al.* conseille de traiter le patient et non l'image IRM car l'œdème cliniquement asymptomatique ne nécessiterait pas de traitement par stéroïdes (101).

Enfin, la prise de corticoïdes aurait un impact sur la survie chez les patients présentant un GBM. L'absence de prise de corticoïdes au diagnostic serait un facteur de bon pronostic tandis qu'une prise de corticoïdes à la fin du 6$^{ème}$ cycle de TMZ adjuvant serait associée de façon significative au décès (103).

### 7.2.2. Anti-épileptique

Un nombre significatif de patients atteints d'un GBM présentent des crises épileptiques, en particulier si la tumeur est localisée à proximité du cortex et dans le lobe temporal, frontal ou pariétal. Ce sont généralement des crises partielles (simples ou complexes) ou secondairement généralisées.

L'administration d'anti-épileptiques chez des patients atteints de tumeurs au cerveau est toutefois compliquée par un certain nombre de facteurs. La prise d'anti-épileptiques peut présenter de nombreux effets indésirables tels qu'un syndrome de Lyell (grave toxidermie souvent associée à la prise de lamotrigine), une hépatite, une thrombopénie ou encore des troubles cognitifs. De plus, les antiépileptiques inducteurs enzymatiques stimulent le cytochrome P450, ce qui peut augmenter le métabolisme de nombreux agents chimiothérapeutiques. Inversement, de nombreuses chimiothérapies interfèrent avec le métabolisme des anti-épileptiques.

Compte tenu de ces effets secondaires potentiels, la prescription d'antiépileptiques doit être réservée aux patients qui ont présenté une crise. Selon Stupp *et al.*, il n'existe aucune preuve que l'administration prophylactique de médicaments anti-épileptiques puisse empêcher le développement d'une première crise chez des patients atteints de tumeurs au cerveau (101).

## 7.3. Particularités du sujet âgé (>70 ans)

L'incidence du GBM augmente avec l'âge et est 2 à 63 fois plus élevée chez les patients de 65 ans par rapport aux patients plus jeunes. D'ici 2050, la population mondiale âgée de >65 ans devrait augmenter de 238% (104). Ainsi, la prise en charge thérapeutique des sujets âgés atteints d'un GBM occupe une place importante et constitue un enjeu thérapeutique d'un grand intérêt.

Cependant, il n'existe pas de consensus concernant la prise en charge des patients >70 ans. En effet, l'étude qui définit le standard thérapeutique actuel (protocole de Stupp) excluait les patients âgés de plus de 70 ans (24).

Sur la base de résultats d'études menées chez des patients âgés et atteints d'un GBM, différents auteurs proposent les prises en charge suivantes :

Pour les patients >70 ans, avec un bon état général (KPS ≥70) et neurocognitif, et comorbidité limitée :

- traitement standard (protocole de Stupp) ou,
- exérèse chirurgicale et radiothérapie hypofractionnée associée au TMZ (105) ou,
- TMZ en monothérapie si hyperméthylation du promoteur du gène *MGMT* (35, 106) ou,
- radiothérapie hypofractionnée seule si non méthylation du promoteur du gène *MGMT* (35, 106).

Pour les patients >70 ans, avec un état général précaire (KPS <70) :

- soins de support exclusifs ou,
- TMZ seul ou,
- radiothérapie hypofractionnée seule.

Ainsi, il semblerait que l'âge ne soit plus un facteur à considérer isolément mais d'autres facteurs tels que l'état général, l'évaluation gériatrique ou encore le statut de méthylation de *MGMT* semblent importants à considérer au cours du choix thérapeutique.

# 8. Surveillance et récidive

## 8.1. Surveillance et suivi : évaluation clinique et radiologique

### 8.1.1. Récidive et diagnostics différentiels

Il est nécessaire de distinguer une récidive/progression tumorale d'une radionécrose ou d'une pseudo-progression, qui représentent les 2 diagnostics différentiels principaux.

La radionécrose correspond à des phénomènes inflammatoires et nécrotiques intenses symptomatiques liés à l'irradiation et est responsable sur l'imagerie de prises de contraste, d'œdème avec effet de masse qu'il est difficile, tant radiologiquement que cliniquement, de différencier d'une récidive tumorale. Son délai médian de survenue est d'environ 1 an (107), et elle survient entre 5 et 25% des cas après radio-chimiothérapie concomitante pour les GBM (108-109). Ces lésions sont généralement irréversibles et progressives. La TEP (hypofixation de la radionécrose), l'IRM de perfusion (baisse du rVSC) et la spectro RM (baisse du pic de NAA et de choline) peuvent aider à faire le diagnostic différentiel entre radionécrose et progression tumorale réelle (110). Le traitement standard est la corticothérapie à forte dose afin de diminuer l'œdème et l'inflammation associés à la radionécrose.

La pseudo-progression, quant à elle, survient dans les 3 premiers mois suivant la fin de la radiothérapie et évolue favorablement. Ce phénomène est décrit plus en détail dans le chapitre suivant (8.1.2. Critères RANO).

### 8.1.2. Critères RANO

Les critères de réponses aux traitements et de progression tumorale doivent être appréciés, pour les GBM, selon les critères clinico-radiologiques RANO (Response Assesment in Neuro Oncology), datant de 2010 (111), qui remplacent les critères de Macdonald (1990) (112).

Pour évaluer la réponse thérapeutique et la progression tumorale, les critères RANO distinguent (tableau 4) :

- les critères cliniques :
    - l'état neurologique (amélioré, stable, altéré),
    - la dose de corticoïdes (sevrage, diminuée, stable, augmentée),
- les critères IRM:
    - l'évolution de la prise de contraste (T1 gadolinium) dans les 2 dimensions (disparition, diminution < 50%, progression ≥ 25%),
    - l'évolution de l'hypersignal T2/FLAIR,
    - l'apparition de nouvelles lésions.

Tableau 4 : Résumé des critères RANO. *D'après Wen P, et al., 2010.*

| **Résumé des critères RANO** | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Critères | Réponse complète | Réponse partielle | Maladie stable | Progression |
| T1 gadolinium (prise de contraste) | Absence | Diminution ≥ 50% | Diminution < 50% ou progression < 25% | Progression ≥ 25% |
| T2 / FLAIR | Stable ou diminué | Stable ou diminué | Stable ou diminué | Augmentation |
| Nouvelle lésion | Absence | Absence | Absence | Présence |
| Corticostéroïde | Absence | Stable ou diminué | Stable ou diminué | Augmentation rendue nécessaire par une détérioration clinique persistante |
| Statut clinique | Stable ou amélioré | Stable ou amélioré | Stable ou amélioré | Altéré |
| Nécessité pour réponse | Tous | Tous | Tous | 1 seul |

Les critères RANO complets, issu de l'article de Wen P *et al*., sont disponibles en annexe 5.

Ces critères RANO permettent de s'affranchir des limites anciennement rencontrées avec l'utilisation des critères de Macdonald à savoir les phénomènes de pseudo-progression et de pseudo-réponse.

Dans 15% à 30% des cas, l'IRM réalisée après la radiochimiothérapie concomitante montre une pseudo-progression, en particulier dans les 3 premiers mois suivant la fin de la radiothérapie.

La pseudo-progression correspond à une majoration des dimensions de la lésion sur les séquences injectées qui se corrige spontanément dans les semaines suivantes sans changement de traitement. Elle résulterait, plutôt que de la croissance de la tumeur, d'une augmentation transitoire de la perméabilité des vaisseaux de la tumeur à la suite de l'irradiation.

De plus, la pseudo-progression semble être particulièrement fréquente chez les patients porteurs d'un promoteur *MGMT* méthylé (113).

Compte tenu de la difficulté à différencier la pseudo-progression de la progression tumorale réelle au cours des 12 semaines suivant l'irradiation, il est recommandé de ne pas réaliser d'imagerie dans les 12 semaines qui suivent la fin de la radiothérapie, ou de ne pas interpréter ces modifications de prise de contraste de la zone irradiée comme une évolution tumorale (sauf si la progression se situe clairement hors du champ de radiation ou s'il existe une confirmation histologique de la progression tumorale).

Pour les patients présentant une progression radiologique de la lésion tumorale au cours des 12 premières semaines suivant la radiothérapie, il est recommandé de poursuivre le traitement standard sans modification thérapeutique avec éventuellement une surveillance radiologique accrue.

Il faut également tenir compte de l'évolution du statut clinique et de la posologie de la corticothérapie pour différencier vraie progression tumorale et pseudo-progression.

Le phénomène de pseudo-réponse, quant à lui, apparait le plus souvent dans les 4 semaines suivant le début d'un traitement anti-angiogénique (tels que le bévacizumab, traitement utilisé en seconde ligne au cours de la récidive tumorale du GBM). Il s'agit d'une divergence entre les images pondérées en T1 gadolinium et en T2/FLAIR. En effet, l'imagerie surestime la réponse aux anti-angiogéniques en montrant une diminution de la prise de contraste sur les images T1 gadolinium (par diminution de la perméabilité capillaire) et sous estime l'infiltration tumorale qui n'est pas le siège d'une néoangiogenèse (en T2/FLAIR).

Ainsi, il apparait qu'il est nécessaire d'utiliser, pour le suivi du GBM, des critères de réponse d'imagerie qui prennent en compte la mesure du signal T2/FLAIR, ce qui est le cas avec les critères RANO.

Pour finir, il est préconisé de réaliser un suivi IRM selon le rythme suivant : en pré-opératoire, en post-opératoire dans les 48 à 72 heures, dans les 10 jours avant la radiothérapie (IRM de centrage) puis tous les 3 mois et selon l'évolution clinique.

## 8.2. Traitement à la récidive

Actuellement, il n'existe aucun consensus concernant la prise en charge thérapeutique à la récidive (ou progression) tumorale du GBM. Malgré de nombreux essais cliniques, l'identification de traitements efficaces est compliquée par le manque de bras de contrôle appropriés, les biais de sélection, les petits échantillons et l'hétérogénéité tumorale (114). La prise en charge doit être discutée de façon multidisciplinaire en RCP (réunion de concertation pluridisciplinaire).

Malgré ce manque de consensus, 3 stratégies thérapeutiques peuvent être proposées en cas de récidive d'un GBM : une reprise neurochirurgicale, une ré-irradiation et/ou une chimiothérapie de seconde ligne.

### 8.2.1. Reprise neurochirurgicale

Une reprise neurochirurgicale présenterait un bénéfice de survie chez certains patients sélectionnés (115-118). Les facteurs pronostiques favorables pour une nouvelle chirurgie d'exérèse sont : le jeune âge, un KPS $\geq$ 70%, un long délai entre la première intervention chirurgicale et la récidive tumorale, le non envahissement de l'épendyme ou des zones fonctionnelles, une résection chirurgicale la plus complète possible, l'absence de localisation multifocale et/ou bilatérale et un volume tumoral réduit ($<50$ cm$^3$) (119-120).

Une échelle (NIH Recurrent GBM Scale) incluant un bon indice de performance KPS, un petit volume tumoral et une absence d'atteinte des zones éloquentes/critiques a été proposée en 2010 (120) et permettrait de prédire la survie après une nouvelle chirurgie chez des patients atteints d'un GBM récidivant. Elle a été modifiée en 2013 (119) et comprend l'indice de performance KPS et l'atteinte épendymaire.

L'insertion d'implants imprégnés de carmustine en per-opératoire à la récidive est une option à discuter en cas d'exérèse complète, voir subtotale (AMM en 1ère intention et à la récidive).

### 8.2.2. Ré-irradiation

Une ré-irradiation est à discuter en tenant compte de la dose déjà délivrée, de l'intervalle depuis la première irradiation et devant le risque de radionécrose. Différents protocoles ont été proposés. Cette stratégie thérapeutique est cependant limitée.

### 8.2.3. Chimiothérapie de seconde ligne

En l'absence de consensus concernant le choix de la chimiothérapie de seconde ligne à mettre en place à la récidive d'un GBM, globalement 4 stratégies médicales peuvent être proposées :

- la reprise du TMZ : soit à dose standard, soit sous forme intensifiée.

  Cette stratégie thérapeutique paraît intéressante surtout lorsqu'il y a eu un intervalle libre conséquent entre l'arrêt du TMZ adjuvant et la récidive.

  Différents schémas ont été développés. Une faible dose en continu de TMZ permettrait de limiter la résistance au TMZ en saturant la protéine MGMT et permettrait également d'exercer un effet sur l'angiogenèse (en limitant la formation de cellules endothéliales) :
  - TMZ 150mg/m$^2$/jour de J1 à J7 et de J15 à J21 avec reprise à J28 (121),
  - TMZ en continu 50mg/m$^2$/jour (122),
  - TMZ 75-100 mg/m$^2$/jour en semi-continu 21 jours sur 28 (123).

- une chimiothérapie nitroso-urée en monothérapie: lomustine per os, carmustine IV, fotémustine IV. Le taux de réponse est en général faible (de 5 à 25%) et la toxicité pulmonaire et hématologique est élevée.

- la carboplatine seule ou associée à l'étoposide

- le bévacizumab en monothérapie ou associé à une chimiothérapie (irinotécan, nitroso-urée, carboplatine ou autre): le bévacizumab est un anticorps monoclonal humanisé anti-angiogénique ciblant le VEGF circulant.

  Des études récentes ont rapporté un meilleur taux de réponse à l'imagerie et une augmentation de la survie sans progression que le bévacizumab soit utilisé seul ou en association avec d'autres chimiothérapies. Cependant, l'effet du bévacizumab sur la survie globale reste incertain.

  D'autre part, le bévacizumab a l'avantage d'agir directement sur l'état clinique du patient puisqu'il possède un effet anti-œdémateux reconnu et permet ainsi un contrôle des symptômes neurologiques et une épargne en corticoïdes significative.

  Néanmoins, l'évaluation de la réponse au bévacizumab est difficile car les réponses cliniques et radiologiques ne sont pas systématiquement corrélées. L'imagerie surestime la réponse au bévacizumab en montrant une diminution de la prise de contraste (qui est en rapport avec son effet anti-angiogénique par la diminution de la perméabilité capillaire) et sous estime l'infiltration tumorale qui n'est pas le siège d'une néoangiogenèse (il s'agit du phénomène de pseudo-réponse qui est développé dans le chapitre 8.1.2. Critères RANO).

# 9. Problématique de thèse

## 9.1. Double inactivation du gène *MGMT*

Comme nous venons de l'expliquer précédemment, le gène *MGMT* est prédictif de la réponse thérapeutique aux agents alkylants chez les patients atteints d'un GBM et constitue un facteur de meilleur pronostique lorsqu'il ne peut s'exprimer.

Or, l'inactivation épigénétique du gène *MGMT* par méthylation de sa région promotrice régule négativement son expression dans le GBM.

De plus, le gène *MGMT* est situé sur le chromosome 10 en position q26.3 et la perte du bras long du chromosome 10 (10q) est fréquente au cours de la gliomagenèse (70% des GBM). En théorie, la perte d'hétérozygotie du chromosome 10q (incluant le locus du gène *MGMT*) devrait conduire à son haplo-insuffisance et, par conséquent, avoir un effet analogue sur l'expression du gène *MGMT* que celle de la méthylation de son promoteur.

En conséquence, le gène *MGMT* pourrait être complètement inactivé par un double mécanisme (1 allèle supprimé et 1 allèle méthylé). Il serait alors plausible de penser que la perte du chromosome 10q pourrait également conférer une meilleure survie via l'ablation complète de *MGMT*.

Nous avons donc testé l'hypothèse suivante : chez des patients atteints d'un GBM, la double inactivation du gène *MGMT*, via l'hyperméthylation du promoteur du gène *MGMT* et la perte du chromosome 10q, est-elle associée à une meilleure survie globale et survie sans progression?

## 9.2. Données de la littérature

Malgré une importante recherche bibliographique, à ce jour, aucune étude n'a été réalisée sur le pronostic corrélé entre l'hyperméthylation du promoteur du gène *MGMT* associée à la perte du chromosome 10q chez les patients atteints d'un GBM (et atteints plus généralement de tumeurs gliales diffuses).

Des études réalisées sur l'existence d'une association entre la perte du chromosome 10q et l'hyperméthylation du promoteur du gène *MGMT* ont donné lieu à des résultats contradictoires. Une étude a montré une corrélation négative (124) et une autre l'absence d'association significative (91).

D'autre part, les données sur le rôle pronostique de la perte du chromosome 10q dans le GBM sont controversées, certaines études suggérant une perte du 10q comme un indicateur de mauvais pronostic (125-126) tandis que d'autres études n'ont signalé aucun impact (91, 127-132).

Pour finir, il est admis par la communauté scientifique que l'hyperméthylation du promoteur du gène *MGMT* est un facteur indépendant de bon pronostic, prédictif de la réponse au TMZ et lié à la survie (32).

# PARTIE 2 - Survie globale et survie sans progression chez des patients atteints d'un glioblastome avec perte du chromosome 10q et hyperméthylation du promoteur du gène *MGMT*: étude pronostique rétrospective multicentrique (ancienne région Poitou-Charentes) entre 2016 et 2018

## 1. Objectifs

Nous avons vu qu'actuellement, le choix de la thérapeutique chez les patients atteints d'un GBM est guidé par l'état de méthylation du promoteur du gène *MGMT*.

De plus, nous avons émis l'hypothèse qu'une double inactivation du gène *MGMT* (via la perte du chromosome 10q et l'hyperméthylation du promoteur du gène *MGMT*) serait un facteur de bon pronostic et serait associée à une meilleure survie.

Or, il se trouve qu'au sein du laboratoire de cancérologie biologique du CHU de Poitiers, dirigé par le Pr. Karayan-Tapon, toutes les tumeurs gliales reçues pour analyses moléculaires bénéficient à la fois d'une étude du statut du chromosome 10q par CGH array et d'une étude de l'état de méthylation du promoteur du gène *MGMT* par pyroséquençage.

Ainsi, chaque prescripteur reçoit les données de l'état du chromosome 10q et de l'état de méthylation du promoteur de *MGMT*. C'est pourquoi nous avons initié une étude pronostique rétrospective multicentrique (ancienne région Poitou-Charentes) sur la double inactivation du gène *MGMT*.

Notre objectif était de comparer la survie globale et la survie sans progression en fonction de l'état du gène *MGMT* chez des patients atteints d'un GBM.

## 2. Matériels et méthodes

### 2.1. Conception de l'étude

Nous avons mené une étude observationnelle pronostique rétrospective multicentrique portant sur des patients atteints de GBM traités et suivis dans 6 unités de neuro-oncologie françaises d'ancienne région Poitou-Charentes: CHU de Poitiers, CH de Niort, CH de La Rochelle, CH d'Angoulême, CH de Saintes et CH de Rochefort. L'étude s'est déroulée entre le 14 novembre 2016 et le 1 décembre 2018. Les patients ont été recrutés dans la pratique quotidienne : le mode de recrutement correspond à une sélection systématique et consécutive de tous les patients atteints d'un GBM avec demande d'exploration moléculaire au sein du laboratoire de cancérologie biologique du CHU de Poitiers. Chaque échantillon a été analysé à la fois par pyroséquençage (étude de l'état de méthylation du promoteur du gène *MGMT*) et par CGH array (étude des anomalies quantitatives du chromosome 10q).

Les patients ont alors été classés en 4 catégories :
- patients avec hyperméthylation du promoteur du gène *MGMT* et perte du chromosome 10q,
- patients avec hyperméthylation du promoteur du gène *MGMT* sans perte du chromosome 10q,
- patients sans méthylation du promoteur du gène *MGMT* et avec perte du chromosome 10q,
- patients sans méthylation du promoteur du gène *MGMT* et sans perte du chromosome 10q.

Chaque patient a été traité (en l'absence de contre-indication) selon le protocole de Stupp, et a bénéficié du même suivi. Pour chaque patient, ont été enregistrées la date de progression tumorale et la date de décès.

## 2.2. Patients

L'étude a été réalisée conformément à la législation française (loi relative à la bioéthique n° 2004-800 du 6 août 2004 et loi relative aux recherches impliquant la personne humaine n° 2012-300 du 5 mars 2012) et en accord avec la déclaration d'Helsinki. La confidentialité des données a été assurée pour tous les patients.

De plus, conformément à la déclaration n°2008-565, tout prélèvement (élément du corps humain) envoyé au laboratoire de cancérologie biologique du CHU de Poitiers peut être conservé et préparé à des fins scientifiques pour des programmes de recherche.

### 2.2.1. Critères d'inclusion

Les patients étaient inclus dans l'étude s'ils remplissaient toutes les caractéristiques suivantes :

- âge ≥ 18 ans,
- patient atteint d'une tumeur gliale,
- échantillon avec analyse en CGH array,
- échantillon avec étude en pyroséquençage de l'état de méthylation du promoteur du gène *MGMT*.

Seuls les échantillons provenant d'ancienne région Poitou-Charentes ont été inclus dans l'étude.

### 2.2.2. Critères d'exclusion

Les critères d'exclusion de l'étude étaient les suivants :

- absence de diagnostic avéré de GBM,
- analyse moléculaire non contributive (par absence de matériel disponible, non amplification, mauvaise qualité / quantité de l'ADN),
- traitement initial autre que le protocole de Stupp.

## 2.3. Données d'anatomopathologie

Tous les patients inclus dans l'étude présentaient le diagnostic intégré (histologique et biologique) de glioblastome (primaire ou secondaire) selon la classification des tumeurs du SNC de l'OMS 2016.

## 2.4. Données de biologie moléculaire

Dans notre étude, toutes les analyses moléculaires ont été réalisées au sein du laboratoire de cancérologie biologique du CHU de Poitiers (Pr Karayan-Tapon) qui est accrédité par le Cofrac (Comité français d'accréditation) pour les techniques du pyroséquençage et de la CGH array. Les résultats ont été évalués par des biologistes moléculaires qualifiés dans le cadre de tests moléculaires de routine.

### 2.4.1. Etude en pyroséquençage de l'état de méthylation du promoteur du gène *MGMT*

Même si aucun consensus n'existe actuellement sur quelle méthode utiliser pour évaluer le statut de méthylation du promoteur de *MGMT*, la technologie du pyroséquençage est considérée comme la meilleure technique par la communauté scientifique dans ce domaine (133-136). En effet, cette technique renseigne sur le pourcentage de méthylation de chaque site CpG (Cytosine-phosphate-Guanine) étudié dans la région du promoteur du gène *MGMT*, fournissant ainsi une alternative quantitative et plus précise à la PCR spécifique à la méthylation. Il s'agit d'une technique fiable et robuste avec une bonne reproductibilité et une sensibilité élevée facilement utilisable en routine.

Dans notre étude, la méthylation du promoteur du gène *MGMT* a été évaluée dans tous les échantillons par la technique du pyroséquençage.

L'étude de la méthylation du promoteur du gène *MGMT* repose sur l'utilisation du bisulfite de sodium. Le bisulfite convertit les bases cytosines non méthylées en uracile alors que les cytosines méthylées restent inchangées. Après amplification par PCR, les uraciles sont transformés en thymines. Ainsi, le pourcentage de cytosines restantes non transformées représente le pourcentage de méthylation dans la région étudiée (figure 27).

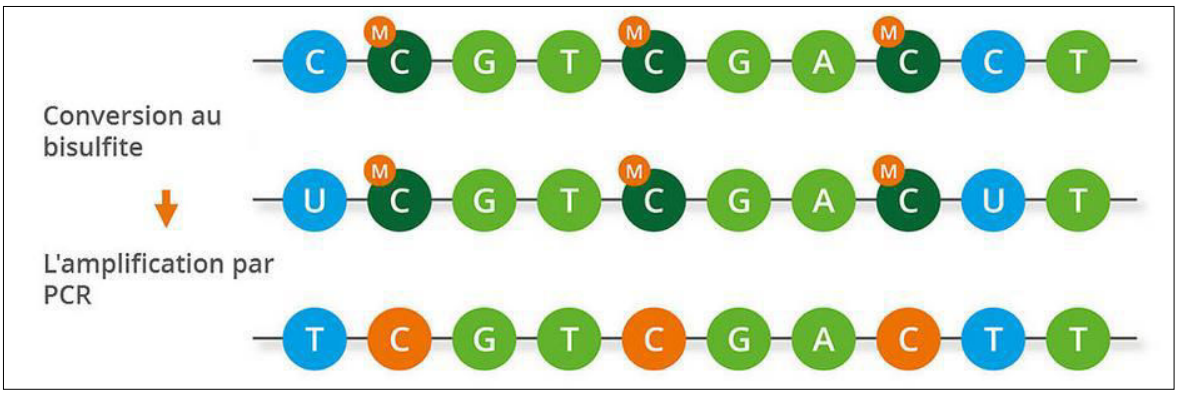
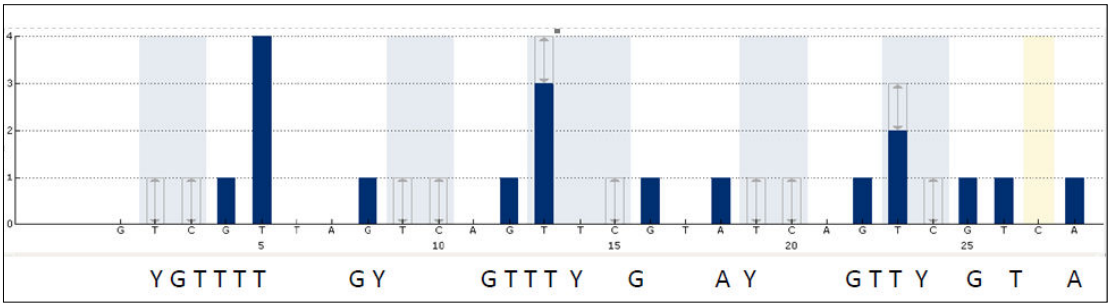



Figure 27 : Détection des cytosines méthylées par conversion chimique par traitement bisulfite.

Le profil de méthylation de 5 sites CpG, dans la région de +17 à +39 de l'exon 1 du gène *MGMT* (chromosome 10q26 allant de 131 265 5007 à 131 265 535) a été analysé (figure 28).

Cette technique a été réalisée avec de l'ADN tumoral extrait avec le kit KAPA Express Extract (Clinisciences) à partir de 4 coupes de tissus inclus en paraffine de 10 µm d'épaisseur. Dans chaque série, des contrôles qualités internes ont été ajoutés systématiquement : un témoin négatif et deux témoins positifs dont l'un est fortement méthylé (Methylated Human Control, Promega) et l'autre non méthylé (Unmethylated Human Control DNA, Qiagen). L'ADN tumoral a été traité avec du bisulfite de sodium, en utilisant le kit EZ DNA Methylation-Gold (Zymo Research). L'amplification par PCR a été réalisée sur 5µL d'ADN bisulfité en utilisant le kit pyromark Q24 CpG MGMT® (Qiagen) avec 1µL d'amorce de séquençage sens et antisens. Le pyroséquençage des produits de PCR MGMT a été réalisé en utilisant les réactifs PyroMark Q24 Gold Reagents (Qiagen). Enfin, l'interprétation des résultats a été réalisée avec le logiciel Pyromark Q24 (Qiagen).

Le pourcentage de méthylation final a été défini comme la moyenne des pourcentages de méthylation des 5 sites CpG. Le seuil considéré comme cliniquement significatif était de 8% (133).



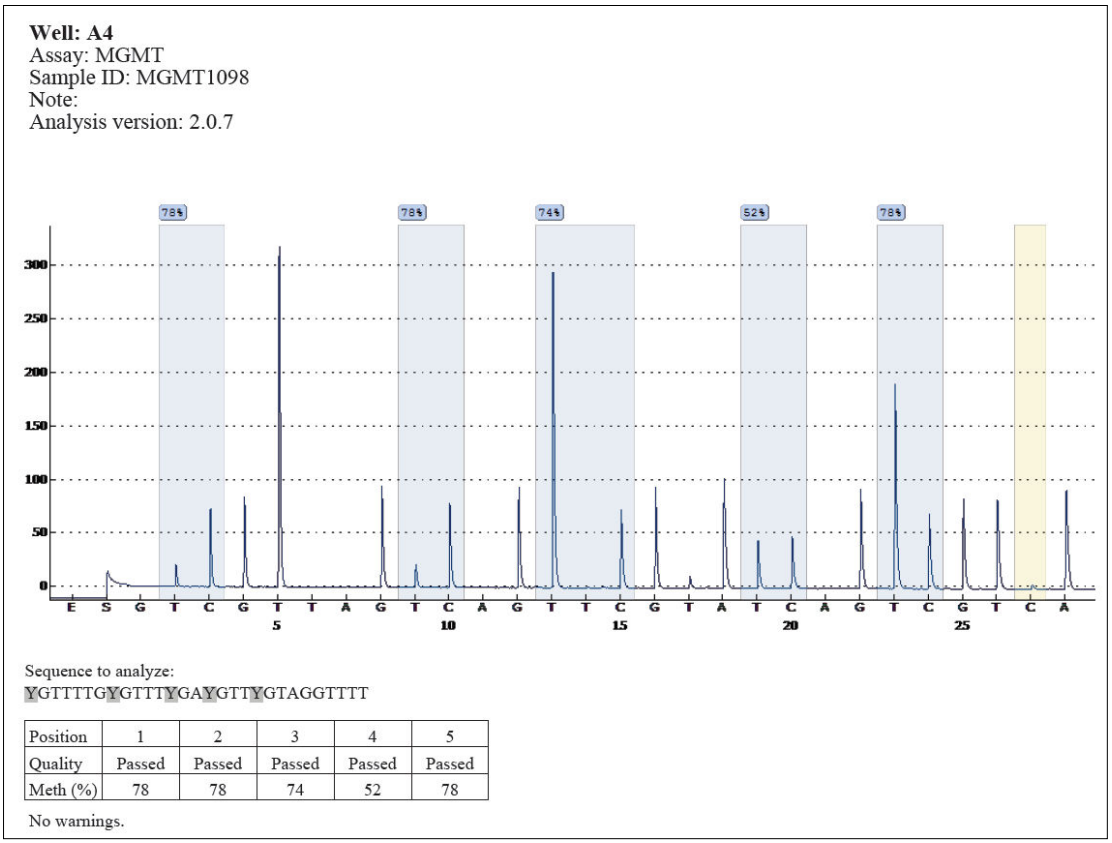




Figure 28 : Résultat de l'étude de l'état de méthylation du promoteur du gène *MGMT* en pyroséquençage chez un patient atteint d'un GBM : présence d'une hyperméthylation du promoteur du gène *MGMT* (72%). Le pourcentage moyen de méthylation du gène *MGMT* est supérieur au seuil considéré comme cliniquement significatif (8%). Le Y dans la séquence ADN à analyser correspond à un site CpG étudié, avec un C lorsqu'il s'agit d'une cytosine méthylée ou d'un T dans le cas d'une cytosine simple.

### 2.4.2. Etude en CGH array du chromosome 10q

L'hybridation génomique comparative sur puces (Array-CGH : Array-Comparative Genomic Hybridization) est une technique de cytogénétique moléculaire qui permet de détecter les anomalies chromosomiques quantitatives non équilibrées (délétion et gain/amplification) en analysant les variations du nombre de copies entre l'ADN patient et témoin (CNV : Copy Number Variation). Cette technique permet d'analyser la totalité du génome à la résolution d'un gène. Cependant, elle ne détecte pas les mutations ou les anomalies chromosomiques quantitatives équilibrées comme la translocation et l'inversion pouvant entraîner des gènes de fusion.

Le principe de la technique par CGH array consiste à mélanger l'ADN génomique tumoral d'un patient avec un ADN de référence (ADN témoin masculin ou féminin) en quantité égale, chacun marqué avec un fluorochrome différent (figure 29). Le mélange des 2 ADN est hybridé sur une lame de verre (puce à ADN ou microarray) sur laquelle sont déposées des séquences d'ADN (sondes), dont la séquence et la position sur le génome sont connues. La résolution de la puce dépend donc du nombre de sondes utilisées ainsi que de leur localisation sur le génome. La lecture de la lame se fait ensuite sur un scanner de haute résolution qui mesure la fluorescence de chaque sonde. L'hybridation des 2 ADN marqués se fait par compétition sur chaque sonde d'oligonucléotides (petites séquences d'ADN simple brin) sur la lame, de façon préférentielle pour l'ADN présent en quantité la plus importante. Ainsi, une délétion d'un fragment de l'ADN du patient se traduit par une hybridation préférentielle de l'ADN témoin et à l'inverse un gain de copie d'un fragment de l'ADN du patient se traduit par une hybridation préférentielle de l'ADN patient. Une différence dans le nombre de copies des deux ADN marqués se traduit par une modification du rapport d'intensité des 2 fluorochromes (137).

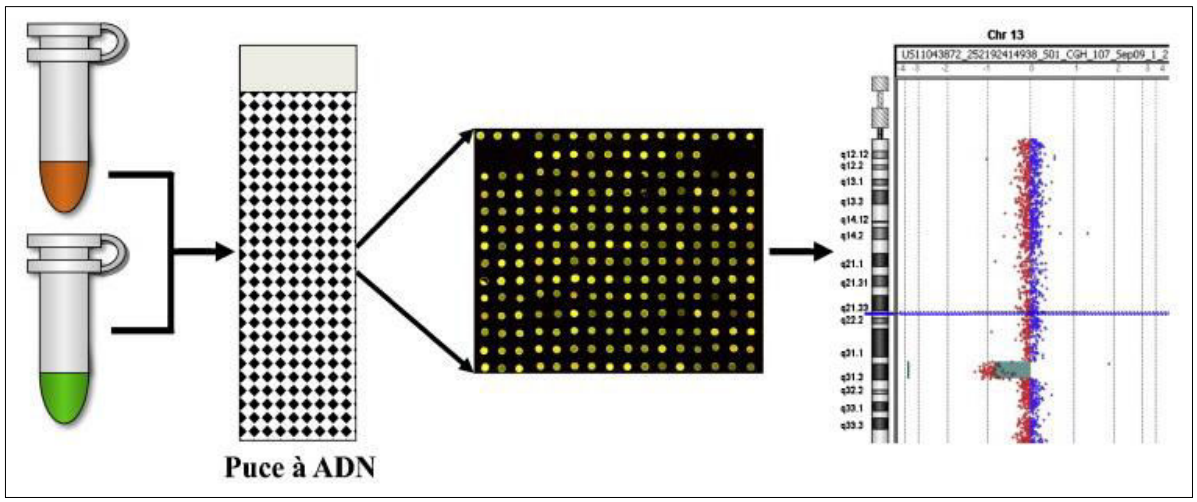



Figure 29 : Principe de la CGH array sur puce à ADN. *D'après Malan V. et al, 2012.*

Dans notre étude, l'étude du chromosome 10q a été analysée dans tous les échantillons par CGH array (figure 30).

Cette technique a été réalisée avec de l'ADN tumoral extrait avec le kit d'ADN Maxwell® FFPE Tissue LEV (AS1130, Promega) à partir de 12 coupes de tissus inclus en paraffine de 10 µm d'épaisseur. Le marquage (kit de marquage Genomic DNA ULS Labeling Kit Agilent), la purification et l'hybridation des échantillons d'ADN tumoraux ont été effectués conformément aux protocoles du fabricant (Oligonucleotide Array-Based CGH for Genomic analysis, Agilent). Les échantillons ont été hybridés avec la puce SurePrint G3 Human CGH Microarray Kit 4x180K contenant 180 000 sondes oligonucléotidiques. Les lames (Hybridization Gasket Slide Kit 4-pack microarrays Agilent) ont été évaluées par le scanner Agilent SureScan Dx Microarray Scanner Bundle et les images TIFF ont été obtenues en utilisant le logiciel Agilent Scan Control. Les données brutes ont été générées à l'aide du logiciel d'extraction Feature Extraction et analysées par le logiciel Agilent Cytogenomics.

Le filtre d'aberration principal a été réglé pour appeler un CNV lorsqu'au minimum 5 sondes consécutives déviaient d'une valeur absolue de log2 ratio de 0,25. D'autres filtres sont également utilisés dans le laboratoire de cancérologie biologique du CHU de Poitiers, à savoir des filtres avec des log2 de 0,15 et 0,07 pour une détection plus fine des anomalies quantitatives.

Figure 30 : Résultat de CGH array chez un patient atteint d'un GBM primaire : perte du chromosome 10 en entier (log ratio=-0,6) avec délétion supplémentaire du gène *MGMT* (log ratio=-1,132).

## 2.5. Prise en charge thérapeutique des patients

Après avis en RCP, les patients ont reçu le traitement standard recommandé (protocole de Stupp) qui comprend un geste chirurgical (biopsie ou résection), suivi d'une radiothérapie encéphalique de 6 semaines (60 Gy en 30 fractions de 1,8-2,0 Gy, 5 jours/semaine) associée à une chimiothérapie concomitante utilisant l'agent alkylant TMZ (75 mg/m$^2$/j les jours 1 à 42, 1 à 1,5 h avant la radiothérapie). Enfin, le traitement se poursuit par une chimiothérapie adjuvante avec TMZ (150-200 mg/m$^2$/j tous les jours pendant 5 jours de chaque cycle de 28 jours, et pour un maximum de 12 à 24 cycles).

Le type de chirurgie (biopsie ou résection partielle ou complète) a été rapporté par le neurochirurgien dans le compte rendu opératoire.

## 2.6. Surveillance et suivi : évaluation clinique et radiologique des patients

Dans le cadre de la surveillance de leur maladie, les patients ont bénéficié d'un même suivi radiologique et clinique.

La progression tumorale a été objectivée à l'IRM selon les critères RANO (111).

Dans le cas de la progression tumorale, le traitement de deuxième intention (chirurgie, radiothérapie et/ou chimiothérapie) relevait de la décision de l'oncologue local. Le type de traitement de deuxième intention a été enregistré.

### 2.7. Analyse statistique

Les critères de jugement principaux étaient la survie globale et la survie sans progression.

La survie globale correspond à la durée s'écoulant après le diagnostic d'une maladie (= date des dernières nouvelles ou de décès - date de diagnostic). La date de diagnostic correspond à la date du diagnostic histologique.

La survie sans progression correspond à la durée après un traitement pendant laquelle la maladie ne s'aggrave pas (= date de progression - date de mise sous traitement). La date de progression correspond à la date à laquelle une progression tumorale est objectivée à l'IRM. La date de mise sous traitement correspond à la date de l'intervention chirurgicale.

Elles ont été estimées par la méthode de Kaplan-Meier et comparées avec le test de log-rank. Une analyse uni et multivariée a été réalisée selon le modèle à risque proportionnel de Cox ; seuls les facteurs qui se sont révélés statistiquement significatifs dans cette population sur la base de tests univariés ont été inclus dans l'analyse multivariée.

La comparaison des caractéristiques des patients selon leur groupe a été réalisée par un test du $Chi^2$ pour les variables qualitatives et par un test de Kruskal-Wallis pour les variables quantitatives.

Tous les résultats ont été considérés comme statistiquement significatifs lorsque le p était $<0,05$.

Les analyses statistiques ont été réalisées à partir des logiciels GraphPad Prism (version 6.01) et IBM SPSS Statistics 21.

## 3. Résultats

### 3.1. Caractéristiques des patients

L'évolution des effectifs est décrite dans le diagramme de flux (figure 31).

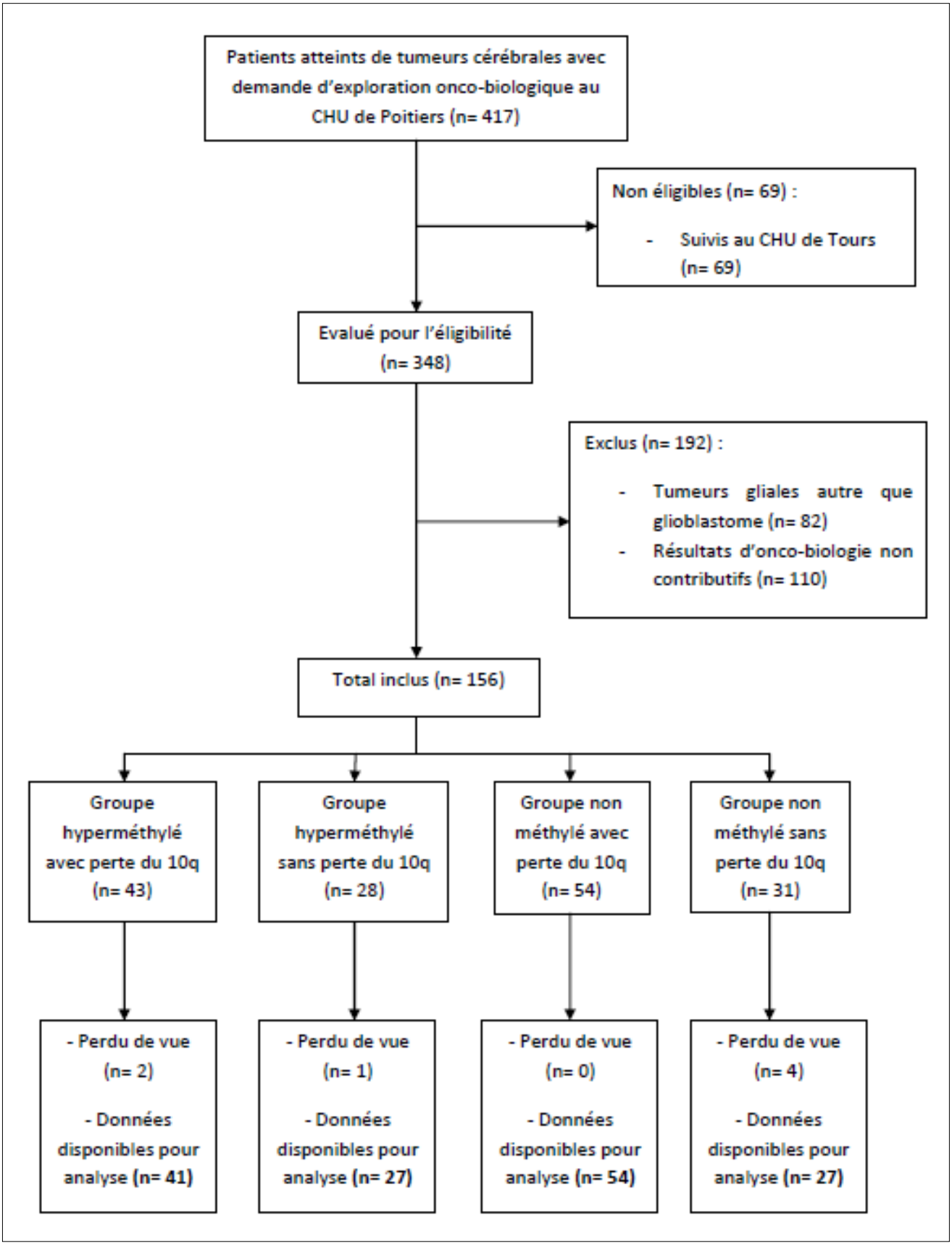



Figure 31 : Diagramme de flux.

Parmi 417 échantillons reçus pour exploration onco-biologique au CHU de Poitiers, 69 patients étaient non éligibles à l'étude car leur suivi était réalisé hors ancienne région Poitou-Charentes (suivis au CHU de Tours). Parmi les 348 patients restant éligibles à l'étude, 82 présentaient une tumeur gliale autre qu'un GBM et les résultats onco-biologiques se sont révélés non concluants chez 110 patients (93 analyses non contributives en CGH array, 9 études non contributives en pyroséquençage et 8 analyses non contributives pour les 2 techniques). Au total, 156 patients ont été inclus (45% de la population éligible à l'étude):

- 43 patients (28%) dans le groupe hyperméthylé avec perte du 10q, dont 2 patients perdus de vue,
- 28 patients (18%) dans le groupe hyperméthylé sans perte du 10q, dont 1 patient perdu de vue,
- 54 patients (35%) dans le groupe non méthylé avec perte du 10q,
- 31 patients (20%) dans le groupe non méthylé sans perte du 10q, dont 4 patients perdus de vue.

Au total, 7 patients (4,5% des patients inclus dans l'étude) avaient été inclus dans l'étude et pour lesquels les données pour analyse n'étaient pas disponibles. Ces 7 patients perdus de vue ont été exclus de l'étude car leurs données n'étaient pas exploitables. Pour 5 patients, ce manque de données était dû à un déménagement au cours de leur suivi et à une poursuite de leur prise en charge hors ancienne région Poitou-Charentes (1 au CHU de Nancy, 2 au CHU d'Angers, 1 au CH de Montargis, 1 aux CHU de Paris). Pour 2 patients, les données n'étaient pas disponibles malgré un suivi en ancienne région Poitou-Charentes (2 au CH de Saintes).

Ainsi, la cohorte de notre étude était constituée d'une population de 149 patients.

Les caractéristiques des patients des 4 groupes étaient bien équilibrées à l'inclusion. Il n'existait pas de différence significative entre les groupes (tableau 5).

Les âges moyen et médian au diagnostic étaient respectivement de 63,8 ans et 66 ans avec des valeurs extrêmes allant de 18-88 ans. La cohorte était composée de plus d'homme (58,4%) que de femme, ce qui témoigne d'une légère prédominance masculine. Plus de la moitié des patients (57,1%) présentaient un statut de performance OMS égal à 1 à l'inclusion. Les prélèvements correspondaient dans 55% des cas à une pièce de résection. L'examen anatomopathologique retrouvait en majorité des GBM primaires (95,3% de GBM primaires contre 4,7% de GBM secondaires). 90% des prélèvements avaient un pourcentage de cellules tumorales $\geq$ 50%. La moyenne de méthylation des ilots CpGs étaient respectivement de 46% et 34% dans les groupes hyperméthylés avec et sans perte du 10q contre 3% dans les groupes non méthylés.

Tableau 5 : Caractéristiques démographiques, histologiques et biologiques des patients à l'inclusion.

| Caractéristiques | Hyperméthylé avec perte du 10q (n=41) | Hyperméthylé sans perte du 10q (n=27) | Non méthylé avec perte du 10q (n=54) | Non méthylé sans perte du 10q (n=27) | Total (n= 149) | p |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Données démographiques** | | | | | | |
| **Age au diagnostic (années)** | | | | | | 0,66 |
| Moyen | 64 | 62 | 63 | 66 | 63,8 | |
| Médian | 67 | 65 | 65 | 68 | 66 | |
| Extrêmes | 26-84 | 18-88 | 32-82 | 31-82 | 18-88 | |
| **Sexe - n (%)** | | | | | | 0,18 |
| Homme | 18 (44) | 17 (63) | 35 (65) | 17 (63) | 87 (58,4) | |
| Femme | 23 (56) | 10 (37) | 19 (35) | 10 (37) | 62 (41,6) | |
| **Statut de performance OMS - n (%)** | | | | | | 0,91 |
| 0 | 10 (24,3) | 6 (22,2) | 15 (27,7) | 5 (18,5) | 36 (24,2) | |
| 1 | 23 (56,1) | 15 (55,6) | 28 (52) | 19 (70,4) | 85 (57,1) | |
| 2 | 6 (14,6) | 3 (11,1) | 7 (12,9) | 1 (3,7) | 17 (11,4) | |
| 3 | 2 (5) | 1 (3,7) | 3 (5,5) | 1 (3,7) | 7 (4,7) | |
| 4 | 0 | 1 (3,7) | 1 (1,9) | 0 | 2 (1,3) | |
| Inconnu | 0 | 1 (3,7) | 0 | 1 (3,7) | 2 (1,3) | |
| **Données histologiques** | | | | | | |
| **Type de prélèvement - n (%)** | | | | | | 0,35 |
| Biopsie | 16 (39) | 16 (59) | 22 (41) | 13 (48) | 67 (45) | |
| Pièce de résection | 25 (61) | 11 (41) | 32 (59) | 14 (52) | 82 (55) | |
| **Site du prélèvement - n (%)** | | | | | | 0,42 |
| Lobe frontal | 14 (34) | 8 (30) | 25 (46) | 9 (33) | 56 (38) | |
| Lobe temporal | 17 (41) | 12 (44) | 18 (33) | 11 (41) | 58 (39) | |
| Lobe pariétal | 8 (20) | 3 (11) | 5 (9) | 3 (11) | 19 (13) | |
| Lobe occipital | 1 (2) | 1 (4) | 2 (4) | 0 | 4 (3) | |
| Autre | | | | | | |
| Carrefour ventriculaire | 1 (2) | 2 (7) | 3 (6) | 3 (11) | 9 (6) | |
| Splénium du corps calleux | 0 | 1 (4) | 1 (2) | 1 (4) | 3 (2) | |
| **GBM (grade IV selon l'OMS 2016) - n (%)** | | | | | | 0,47 |
| GBM *IDH* WT | 38 (93) | 25 (92,6) | 52 (96) | 27 (100) | 142 (95,3) | |
| GBM classique | 37 (97,4) | 23 (92) | 49 (94,2) | 27 | 136 (95,8) | |
| Gliosarcome | 1 (2,6) | 0 | 2 (3,9) | 0 | 3 (2,1) | |
| GBM à cellules géantes | 0 | 2 (8) | 0 | 0 | 2 (1,4) | |
| GBM épithélioïde | 0 | 0 | 1 (1,9) | 0 | 1 (0,7) | |
| GBM *IDH* muté | 3 (7) | 2 (7,4) | 2 (4) | 0 | 7 (4,7) | |
| *IDH1* R132H | 3 (100) | 2 (100) | 1 (50) | 0 | 6 (85,7) | |
| *IDH2* R172K | 0 | 0 | 1 (50) | 0 | 1 (14,3) | |
| **Données biologiques** | | | | | | |
| **Pourcentage de cellules tumorales - n (%)** | | | | | | 0,68 |
| <50% | 3 (7) | 3 (11) | 4 (7) | 4 (15) | 14 (9,4) | |
| ≥50% | 38 (93) | 23 (85) | 50 (93) | 23 (85) | 134 (90) | |
| Inconnu | 0 | 1 (4) | 0 | 0 | 1 (0,6) | |
| **Méthylation *MGMT*** | | | | | | **<0,001** |
| Hyperméthylation de *MGMT* (≥ 8%) - n (%) | 41 (100) | 27 (100) | 0 | 0 | 68 (45,6) | |
| Absence de méthylation de *MGMT* (<8%) - n (%) | 0 | 0 | 54 (100) | 27 (100) | 81 (54,4) | |
| Extrêmes | 11-79 | 8-78 | 2-7 | 2-7 | 2-79 | |
| Moyenne des ilots CpGs (%) | 46 | 34 | 3 | 3 | 18,5 | |
| **CGH array - n (%)** | | | | | | **<0,001** |
| Perte du 10q (incluant *MGMT*) | 41 (100) | 0 | 54 (100) | 0 | 95 (63,8) | |
| Absence de perte du 10q (incluant *MGMT*) | 0 | 27 (100) | 0 | 27 (100) | 54 (36,2) | |

## 3.2. Délivrance du traitement

Les détails de la prise en charge thérapeutique des 4 groupes de l'étude, au diagnostic et à la première progression tumorale, sont résumés dans les tableaux 6 et 7.

### 3.2.1. Prise en charge thérapeutique au diagnostic

Il n'existait pas de différence significative entre les 4 groupes de l'étude concernant la prise en charge thérapeutique des patients au diagnostic. Les patients des 4 groupes ont reçu le même schéma thérapeutique, seul différait le nombre administré de cycles de TMZ adjuvant qui était plus important dans le groupe hyperméthylé avec perte du 10q.

Au diagnostic (devant une suspicion clinique et radiologique), tous les patients ont bénéficié d'une intervention chirurgicale, soit 67 biopsies et 82 exérèses dont 62 exérèses complètes (41,6% des 149 patients constituant la cohorte).

La prise en charge thérapeutique des 149 patients s'est poursuivie selon la répartition suivante :

- 87 patients (58,4%): geste chirurgical + radiochimiothérapie concomitante + TMZ adjuvant,
- 21 patients (14,1%): geste chirurgical + radiochimiothérapie concomitante,
- 14 patients (9,4%): geste chirurgical + TMZ seul,
- 2 patients (1,3%): geste chirurgical + radiothérapie seule,
- 25 patients (16,8%): geste chirurgical + soins de support exclusifs.

Il y a donc eu 108 patients (72,5%) qui ont reçu la radiochimiothérapie concomitante selon le protocole de Stupp. Le délai médian entre la chirurgie et la radiochimiothérapie était de 47,25 jours. La radiothérapie encéphalique s'est déroulée sur une durée médiane de 42 jours avec 60 Gy de dose médiane en 30 fractions. La dose médiane de TMZ concomitant était de 75 mg/m$^2$/j.

Parmi ces 108 patients, 87 (80,6%) ont reçu du TMZ en adjuvant selon le protocole de Stupp. Le délai médian entre la radiochimiothérapie concomitante et le TMZ adjuvant était de 32 jours. La dose médiane de TMZ adjuvant était de 150-200 mg/m$^2$/j. A noter que le nombre de cycles de TMZ adjuvant reçu était significativement différent selon les groupes ($p<0,001$) avec comme extrêmes 8,5 cycles pour le groupe hyperméthylé avec perte du 10q contre 3 cycles pour le groupe non méthylé avec perte du 10q.

Tableau 6 : Prise en charge thérapeutique des patients selon leur groupe au diagnostic.

| Caractéristiques | Hyperméthylé avec perte du 10q (n=41) | Hyperméthylé sans perte du 10q (n=27) | Non méthylé avec perte du 10q (n=54) | Non méthylé sans perte du 10q (n=27) | Total (n=149) | p |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Chirurgie – n (%)** | 41 (100) | 27 (100) | 54 (100) | 27 (100) | 149 (100) | 0,35 |
| Biopsie | 16 (39) | 16 (59,3) | 22 (40,7) | 13 (48,1) | 67 (45) | |
| Exérèse | 25 (61) | 11 (40,7) | 32 (59,3) | 14 (51,9) | 82 (55) | |
| Complète | 20 (80) | 7 (63,6) | 26 (81,4) | 9 (64,3) | 62 (75,6) | 0,76 |
| Partielle | 5 (20) | 3 (27,3) | 6 (18,6) | 4 (28,6) | 18 (22) | |
| Inconnu | 0 | 1 (9,1) | 0 | 1 (7,1) | 2 (2,4) | |
| **RT + TMZ concomitant – n (%)** | 31 (75,6) | 17 (63) | 38 (70,4) | 22 (81,5) | 108 (72,5) | 0,45 |
| Délai médian entre chirurgie et RT + TMZ (j) | 48 | 46,5 | 44 | 48 | 47,25 | 0,66 |
| Durée médiane (j) | 42 | 42 | 42 | 43 | 42 | 0,22 |
| Nombre de fraction de RT | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 0,78 |
| Dose médiane de RT (Gy) | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 0,51 |
| Dose médiane de TMZ concomitant ($mg/m^2/j$) | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 0,63 |
| **TMZ en adjuvant – n (%)** | 27 (65,9) | 15 (55,6) | 30 (55,6) | 15 (55,6) | 87 (58,4) | 0,73 |
| Délai médian entre RT + TMZ et TMZ adjuvant (j) | 32,5 | 32 | 32 | 34 | 32,25 | 0,25 |
| Nombre de cycle de TMZ | | | | | | **<0,001** |
| ≥ 6 cycles | 19 (46,3) | 9 (33,3) | 6 (11,1) | 5 (18,5) | 39 (26,2) | |
| Médiane | 8,5 | 6 | 3 | 4,5 | 5,25 | |
| Extrêmes | 1-24 | 1-20 | 1-13 | 1-14 | 1-24 | |
| Dose médiane de TMZ ($mg/m^2/j$) | 150-200 | 150-200 | 150-200 | 150-200 | 150-200 | 0,65 |
| **Soins de support uniquement – n (%)** | 6 (14,6) | 6 (22,2) | 10 (18,5) | 3 (11,1) | 25 (16,8) | 0,46 |
| **TMZ seul – n (%)** | 4 (9,8) | 3 (11,1) | 6 (11,1) | 1 (3,7) | 14 (9,4) | 0,73 |
| **Radiothérapie seule – n (%)** | 0 | 1 (3,7) | 0 | 1 (3,7) | 2 (1,3) | 0,31 |

### 3.2.2. Prise en charge thérapeutique à la première progression tumorale

Au total, 68 patients (45,6%) ont présenté une progression tumorale. Cette progression tumorale n'était pas équitablement répartie entre les groupes (p=0,02), bien que tous les patients aient bénéficié de la même prise en charge thérapeutique initiale. En effet, seulement 39% des patients avec une hyperméthylation du promoteur de *MGMT* et perte du 10q ont présenté une récidive contre 55,6% des patients non méthylés sans perte du 10q.

Concernant la prise en charge thérapeutique devant cette progression, une nouvelle chirurgie était significativement plus souvent réalisée chez les patients appartenant au groupe hyperméthylé avec perte du 10q (p=0,03) que chez les autres patients. À l'exception de ce choix par un nouveau geste chirurgical, il n'existait pas de différence significative dans la prise en charge thérapeutique à la première progression tumorale entre les patients des différents groupes.

En effet, la plupart des patients ont reçu une chimiothérapie supplémentaire. Parmi ces 68 patients présentant une récidive, 46 (67,6%) ont été traités par une chimiothérapie de seconde ligne dont 34 (74% des 46 patients) ont reçu du bévacizumab associé à la lomustine.

Enfin, 21 patients (30,9%) ont été pris en charge par des soins de support exclusifs, 3 patients (4,4%) ont reçu une nouvelle radiothérapie encéphalique et 9 patients (13,2%) ont bénéficié d'une nouvelle chirurgie.

Tableau 7 : Prise en charge thérapeutique des patients à la 1ère progression tumorale

| Caractéristiques | Hyperméthylé avec perte du 10q (n=16) | Hyperméthylé sans perte du 10q (n=10) | Non méthylé avec perte du 10q (n=27) | Non méthylé sans perte du 10q (n=15) | Total (n= 68) | p |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Nombre de patients ayant présentés une progression tumorale - n (%)** | 16 (39) | 10 (37) | 27 (50) | 15 (55,6) | 68 (45,6) | **0,02** |
| **Chimiothérapie de 2ème ligne seule - n (%)** | 7 (43,8) | 3 (30) | 15 (55,6) | 10 (66,7) | 35 (51,4) | 0,28 |
| **Chimiothérapie de 2ème ligne + nouvelle chirurgie - n (%)** | 5 (31,2) | 0 | 3 (11,1) | 0 | 8 (11,8) | **0,03** |
| **Chimiothérapie de 2ème ligne + nouvelle irradiation - n (%)** | 2 (12,5) | 1 (10) | 0 | 0 | 3 (4,4) | 0,16 |
| **Nouvelle chirurgie seule - n (%)** | 0 | 0 | 1 (3,7) | 0 | 1 (1,5) | 0,67 |
| **Soins de soutien seul - n (%)** | 2 (12,5) | 6 (60) | 8 (29,6) | 5 (33,3) | 21 (30,9) | 0,09 |
| **Total chimiothérapie de 2ème ligne - n (%)** | 14 (87,5) | 4 (40) | 18 (66,7) | 10 (66,7) | 46 (67,6) | 0,09 |
| Bévacizumab + Lomustine | 8 (57,4) | 4 (100) | 14 (77,8) | 8 (80) | 34 (73,9) | 0,29 |
| Bévacizumab seul | 1 (7,1) | 0 | 2 (11,2) | 0 | 3 (6,5) | 0,66 |
| Lomustine seule | 1 (7,1) | 0 | 1 (5,5) | 1 (10) | 3 (6,5) | 0,92 |
| Bévacizumab + TMZ | 1 (7,1) | 0 | 1 (5,5) | 0 | 2 (4,3) | 0,81 |
| TMZ sous forme intensifiée | 2 (14,2) | 0 | 0 | 1 (10) | 3 (6,5) | 0,37 |
| Bévacizumab + Irinotecan | 1 (7,1) | 0 | 0 | 0 | 1 (2,2) | 0,51 |

## 3.3. Survie globale et survie sans progression

Après un suivi médian de 14,6 mois post-diagnostic, parmi les 149 patients de notre cohorte, 68 (45,6%) ont présenté une récidive tumorale et 105 (70,5%) sont décédés.

### 3.3.1. Etude de la survie selon l'état de méthylation du promoteur du gène *MGMT*

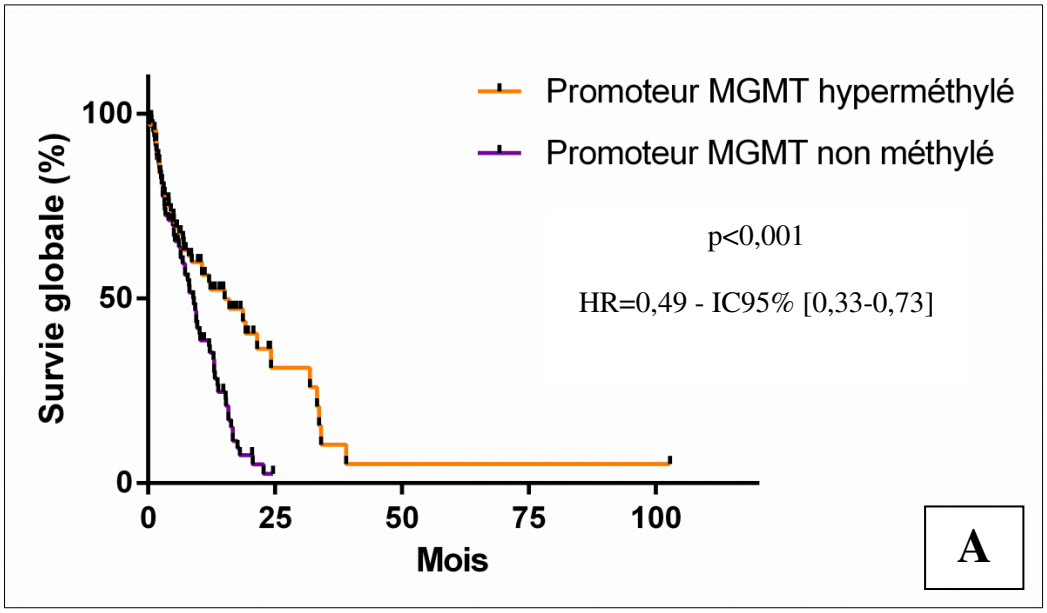
Au vu de la problématique de notre étude, dans la population totale de l'essai (n=149), nous nous sommes d'abord intéressés à la survie globale et à la survie sans progression, chez les patients atteints d'un GBM, uniquement selon l'état de méthylation du promoteur du gène *MGMT* (c'est-à-dire selon la simple inactivation de *MGMT* par répression épigénétique).

Il existait une différence statistiquement significative entre les patients présentant un GBM avec hyperméthylation du promoteur du gène *MGMT* et ceux qui n'en avaient pas, que ce soit par rapport à la survie globale (p<0,001 ; figure 32A) ou à la survie sans progression (p=0,0078 ; figure 32B).

La médiane de survie globale était de 15,1 mois chez les patients avec hyperméthylation du promoteur du gène *MGMT* contre 8,9 mois chez ceux sans méthylation. Le hazard ratio était de 0,49 (IC à 95% [0,33-0,73]) chez les patients avec une hyperméthylation de *MGMT*, ce qui correspond à une diminution de 51% du risque de décès dans ce groupe (figure 32A).

La médiane de survie sans progression, quant à elle, était similaire dans les 2 groupes. Elle était de 6,2 mois chez les patients avec hyperméthylation du promoteur du gène *MGMT* contre 6,4 mois chez ceux sans méthylation. Le hazard ratio était de 0,63 (IC à 95% [0,43-0,87]) chez les patients avec une hyperméthylation de *MGMT*, ce qui correspond à une diminution de 37% du risque de rechute dans ce groupe (figure 32B).

Il est à noter que les courbes de survie globale et de survie sans progression ne se séparent qu'à partir de 6 mois de suivi et non dès le diagnostic ou dès la mise sous traitement. Il semble donc que la valeur pronostique de l'état de méthylation du promoteur du gène *MGMT* n'est pas discriminante pendant les 6 premiers mois de suivi. Cela expliquerait l'absence de différence entre les médianes de survie sans progression des 2 groupes puisque la récidive tumorale survenait majoritairement, dans notre étude, au cours des 6 premiers mois de suivi.



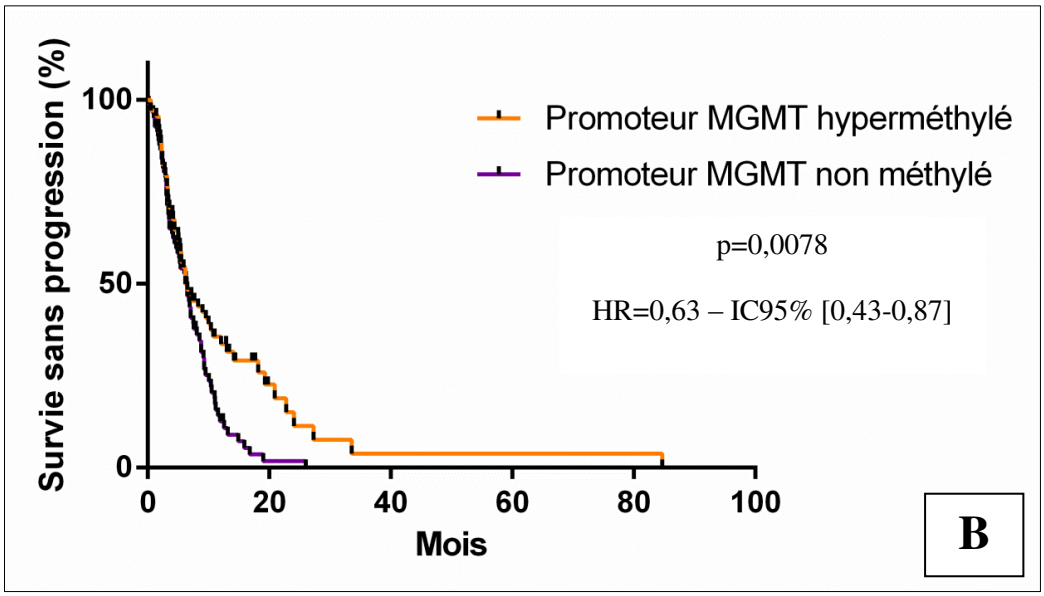




Figure 32 : Courbes de Kaplan Meier représentant la survie globale (A) et la survie sans progression (B) selon l'état de méthylation du promoteur du gène *MGMT*.

### 3.3.2. Analyses des 4 groupes de l'étude : méthylation du promoteur du gène *MGMT* associée au statut du chromosome 10q

Lorsque nous comparons les 4 groupes de l'étude selon la double inactivation de *MGMT*, c'est-à-dire selon l'état de méthylation du promoteur du gène *MGMT* et le statut du chromosome 10q, nous remarquons que les médianes de survie globale et de survie sans progression étaient plus élevées dans le groupe hyperméthylé avec perte du chromosome 10q (tableau 8; figure 33). Elle était de 21,5 mois dans ce groupe contre 8,1 mois dans le groupe non méthylé avec perte du 10q (p=0,002) pour la survie globale, et de 7,2 mois contre 6,0 mois (p=0,03) pour la survie sans progression.

Le taux de survie globale à 2 ans était de 44,9% dans le groupe hyperméthylé avec perte du 10q contre 24,4%, 4,9% et 0% dans les groupes hyperméthylés sans perte du 10q, non méthylés sans et avec perte du 10q respectivement (p<0,001 ; tableau 8).

Similairement, le taux de survie sans progression à 2 ans était de 19,4% dans le groupe hyperméthylé avec perte du 10q contre 8,5%, 2,5% et 0% dans les groupes hyperméthylés sans perte du 10q, non méthylés avec et sans perte du 10q respectivement (p<0,001 ; tableau 8).

De manière très intéressante, on retrouvait également un nombre plus important de longs survivants (>30 mois) dans le groupe avec double inactivation du gène *MGMT*. En effet, on observait une survie globale >30 mois chez 6 patients (14,6%) appartenant au groupe hyperméthylé avec perte du 10q, contre 0 patient dans les autres groupes de l'étude.

D'autre part, il faut remarquer que, quel que soit le groupe et donc quel que soit les caractéristiques moléculaires, les courbes de survie globale et de survie sans progression restaient similaires pendant les 6 premiers mois de suivi (figure 33). En effet, les taux de survie globale et de survie sans progression à 6 mois étaient non significatifs avec p=0,28 et p=0,25 respectivement (tableau 8). Autrement dit, les paramètres « état de méthylation du promoteur du gène *MGMT* » et « statut du chromosome 10q » ne permettaient pas de discriminer la durée de survie des patients lors des 6 premiers mois de suivi.

Toutefois, à partir de 6 mois, les patients atteints d'un GBM avec une hyperméthylation du promoteur du gène *MGMT* présentaient une survie globale et une survie sans progression significativement supérieures à celles des groupes sans méthylation de *MGMT* et ce d'autant plus que l'hyperméthylation de *MGMT* était associée à la perte du chromosome 10q (tableau 8; figure 33).

Tableau 8 : Survie globale et survie sans progression selon l'état de méthylation du promoteur du gène *MGMT* et le statut du chromosome 10q dans la population totale de l'étude

| Caractéristiques | Hyperméthylés avec perte 10q (n= 41) | Hyperméthylés sans perte du 10q (n=27) | Non méthylés avec perte du 10q (n=54) | Non méthylés sans perte du 10q (n=27) | p |
|---|---|---|---|---|---|
| **Suivi médian (mois)** | 14,6 | 15,7 | 13,9 | 15,9 | 0,37 |
| **Nombre de patients décédés - n (%)** | 24 (58,5) | 18 (66,7) | 41 (75,9) | 22 (81,5) | **0,002** |
| **Médiane de survie globale (mois)** | 21,5 | 12,0 | 8,1 | 9,5 | **0,002** |
| **Taux de survie globale (%)** | | | | | |
| A 6 mois | 70,7 | 66,7 | 61,3 | 73,5 | 0,28 |
| A 12 mois | 60,2 | 45,5 | 35,9 | 39 | **0,0027** |
| A 18 mois | 57,1 | 32,5 | 9,3 | 9,7 | **<0,001** |
| A 24 mois | 44,9 | 24,4 | 0 | 4,9 | **<0,001** |
| **Nombre de patients ayant présentés une progression tumorale - n (%)** | 16 (39) | 10 (37) | 27 (50) | 15 (55,6) | **0,02** |
| **Médiane de survie sans progression (mois)** | 7,2 | 5,4 | 6,0 | 6,9 | **0,03** |
| **Taux de survie sans progression (%)** | | | | | |
| A 6 mois | 58,5 | 48,1 | 49,3 | 59 | 0,25 |
| A 12 mois | 38,2 | 31,8 | 10,1 | 16,9 | **<0,001** |
| A 18 mois | 31,1 | 25,5 | 2,5 | 5,6 | **<0,001** |
| A 24 mois | 19,4 | 8,5 | 2,5 | 0 | **<0,001** |

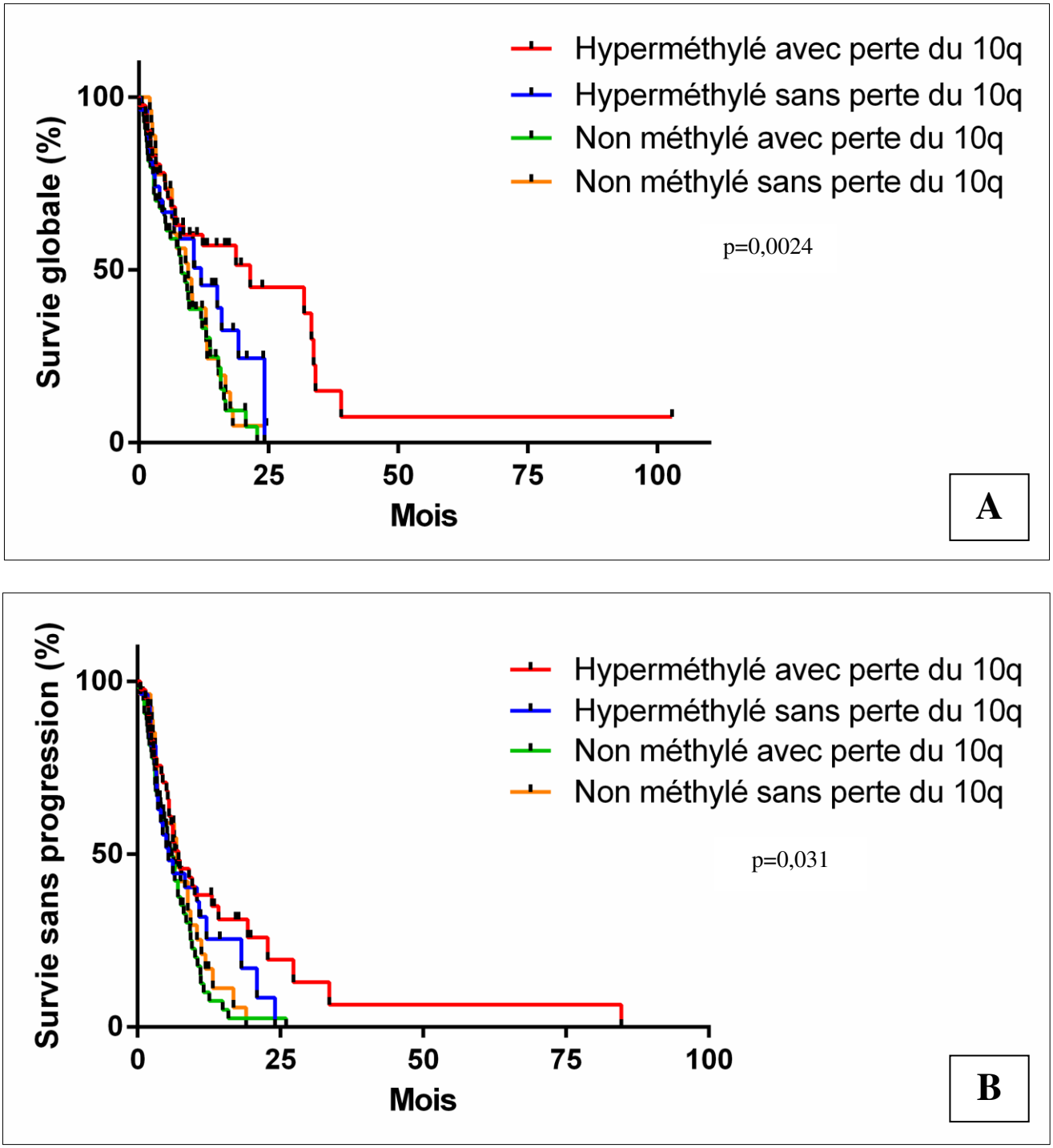
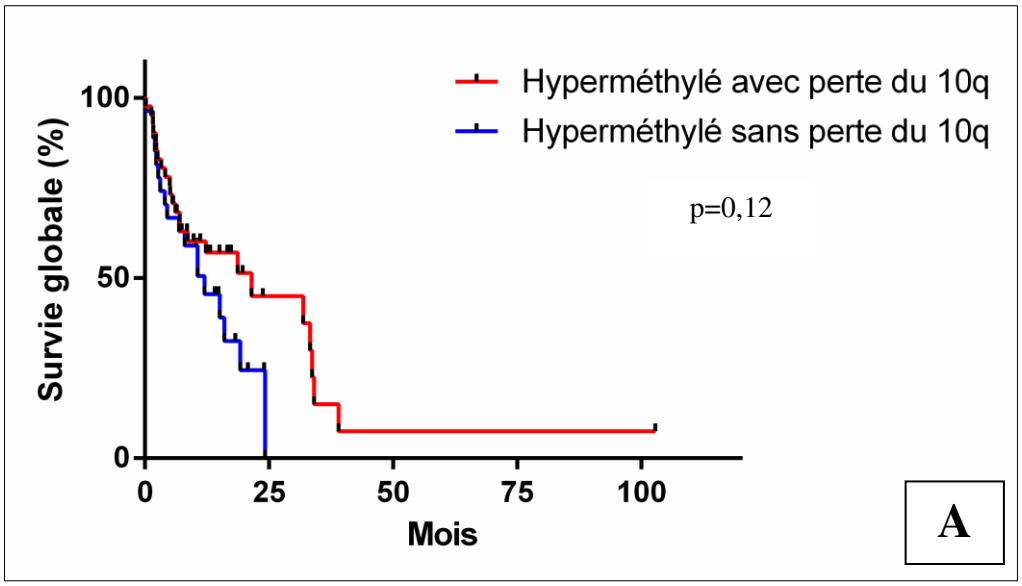



Figure 33 : Courbes de Kaplan Meier représentant la survie globale (A) et la survie sans progression (B) selon l'état de méthylation du promoteur du gène *MGMT* et le statut du chromosome 10q.

### 3.3.3. Analyses des groupes avec hyperméthylation du promoteur du gène *MGMT*

Si nous nous intéressons particulièrement aux patients avec hyperméthylation du promoteur du gène *MGMT* (n=68), nous remarquons que la survie globale semble être supérieure chez les patients avec perte du 10q par rapport à ceux sans perte, mais celle-ci n'était malheureusement pas statistiquement significative (p=0,12 ; figure 34A). Cependant, en comparant la survie globale à partir de 6 mois de suivi, il existait effectivement bien une différence significative entre ces 2 groupes (p=0,04 ; figure 34B).

Le hazard ratio à partir de 6 mois de suivi dans le groupe hyperméthylé avec perte du 10q, par rapport au groupe hyperméthylé sans perte du 10q, était de 0,47 (IC à 95% [0,14-0,96]). Ce résultat correspond à une diminution de 53% du risque de décès dans ce groupe à partir de 6 mois de suivi.



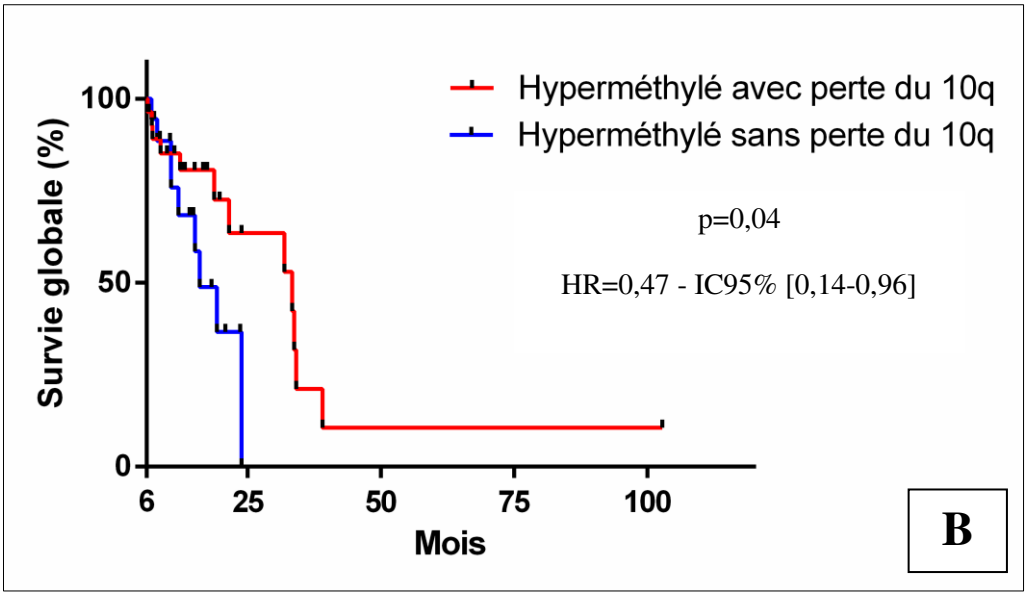




Figure 34 : Courbes de Kaplan Meier représentant la survie globale selon le statut du chromosome 10q chez des patients atteints d'un GBM avec hyperméthylation du promoteur du gène *MGMT* à partir du diagnostic (A) et à 6 mois de suivi (B).

Concernant la survie sans progression, les analyses statistiques entre les groupes hyperméthylés avec et sans perte du 10q étaient non significatives, que ce soit à partir de la mise sous traitement (p=0,28 ; figure 35A) ou à 6 mois de suivi (p=0,66 ; figure 35B). Ce résultat est probablement dû au fait que la majorité des patients présentaient une progression tumorale dans les 6 premiers mois de suivi.

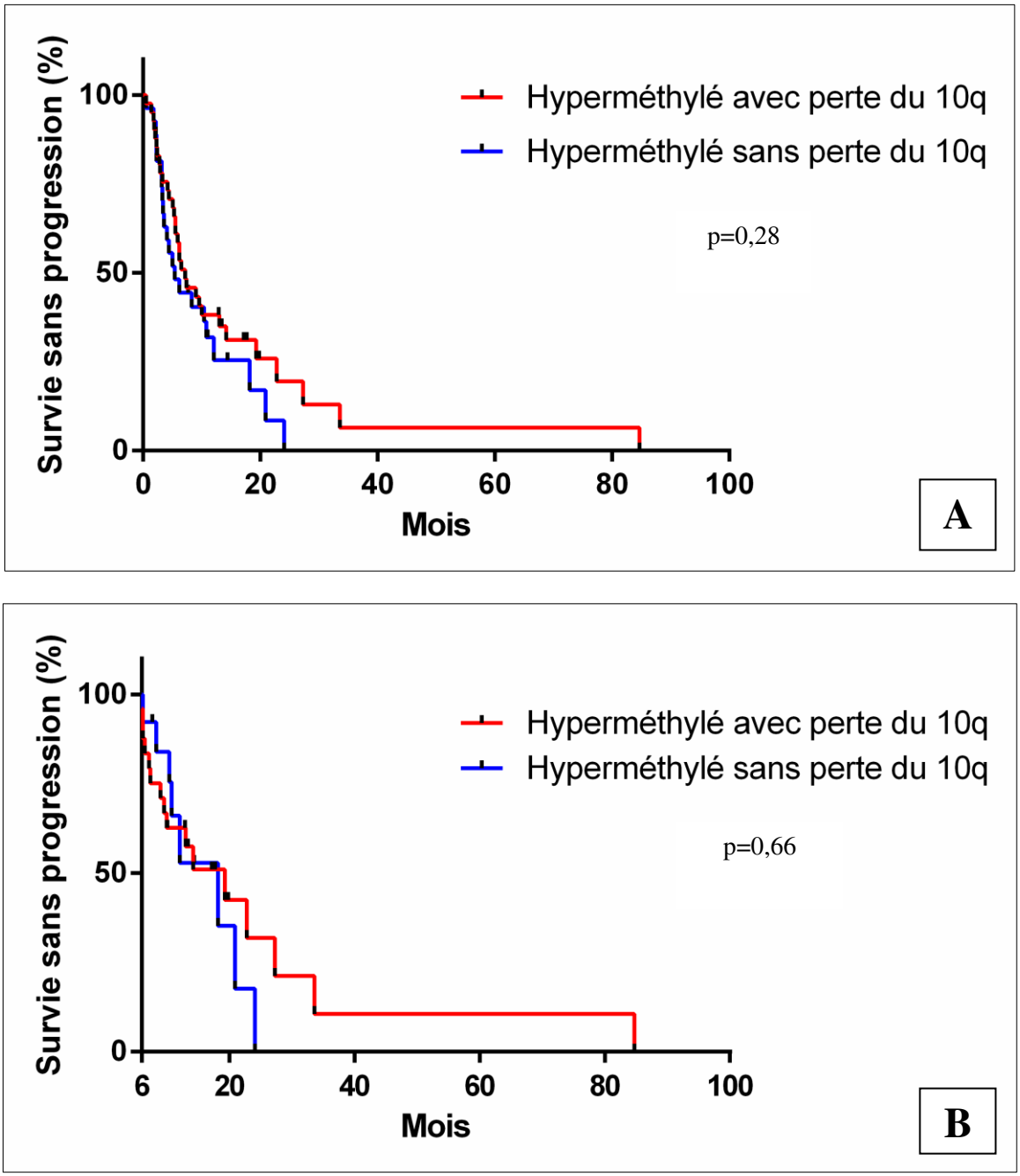



Figure 35 : Courbes de Kaplan Meier représentant la survie sans progression selon le statut du chromosome 10q chez des patients atteints d'un GBM avec hyperméthylation du promoteur du gène *MGMT* à partir de la mise sous traitement (A) et à 6 mois de suivi (B)

### 3.3.4. Analyse des groupes sans méthylation du promoteur du gène *MGMT*

En revanche, chez les patients atteints d'un GBM sans méthylation du promoteur du gène *MGMT* (n=81), les courbes de survie globale et de survie sans progression restaient semblables au cours du suivi, quel que soit le statut du chromosome 10q. Il n'existait pas de différence de survie globale (p=0,54) et de survie sans progression (p=0,38) statistiquement significative entre ces 2 groupes (figure 36).

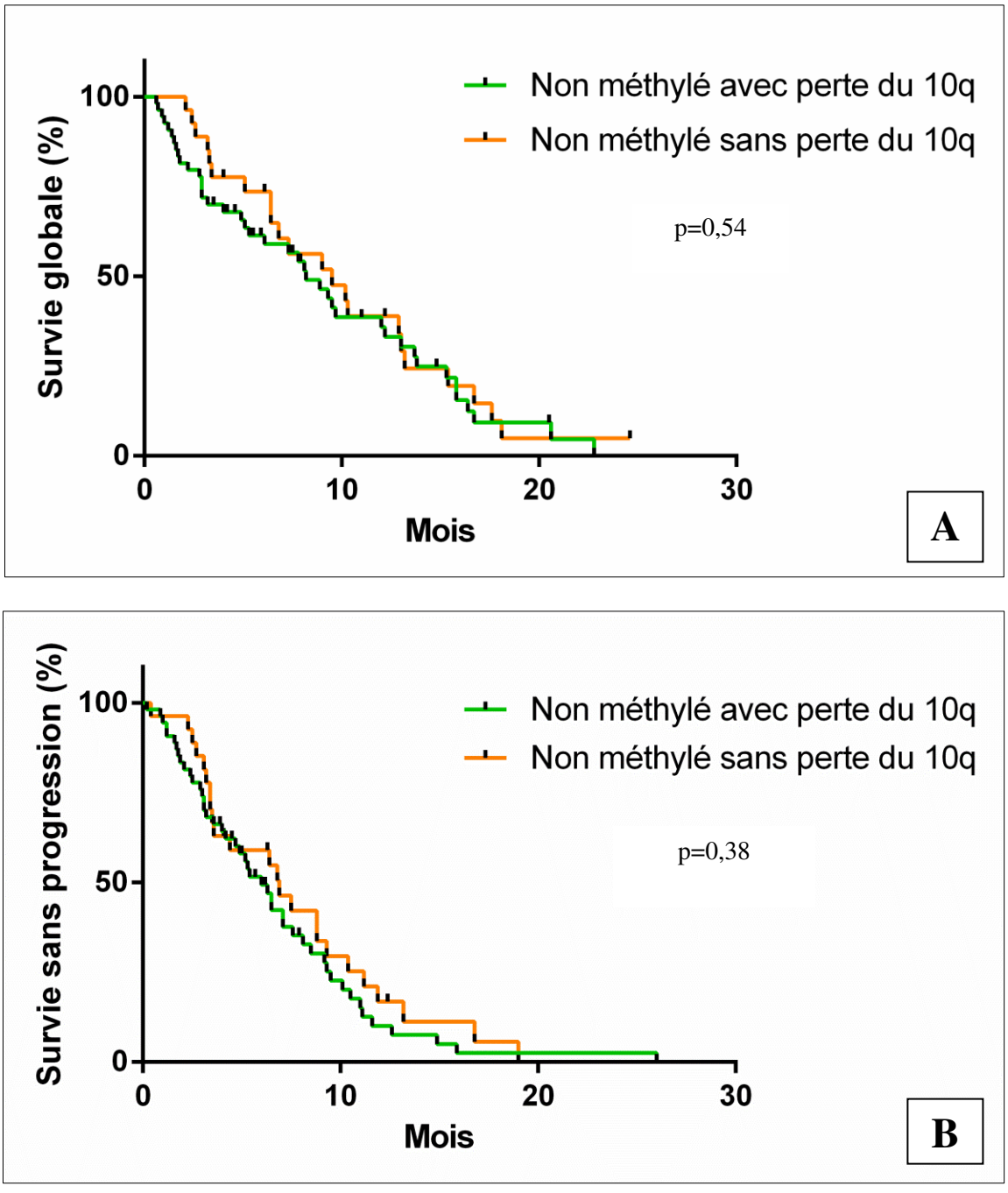



Figure 36 : Courbes de Kaplan Meier représentant la survie globale (A) et la survie sans progression (B) selon le statut du chromosome 10q chez des patients atteints d'un GBM sans méthylation du promoteur du gène *MGMT*

### 3.3.5. Analyses uni et multivariées

Pour finir, dans la population totale de l'étude (n=149), nous avons réalisé une analyse uni et multivariée avec les marqueurs d'intérêts connus pour le GBM. Pour tous les patients, aucune donnée n'était manquante.

L'âge au diagnostic, le score OMS, l'étendue de la résection chirurgicale et le statut de méthylation de *MGMT*, étaient significativement associés à la survie globale en analyse uni et multivariée dans les 4 groupes de l'étude (tableau 9). Tous ces paramètres constituaient des facteurs pronostiques indépendants significatifs du GBM.

Concernant la survie sans progression, l'âge au diagnostic, le score OMS, l'étendue de la résection chirurgicale et le statut de méthylation de *MGMT* étaient significativement associés à la survie sans progression en analyse univariée tandis que seul le score OMS l'était en analyse multivariée.

Cependant, il est intéressant de noter que l'étude isolée de la perte du chromosome 10q, indépendamment des autres marqueurs d'intérêt (notamment de *MGMT*), était statistiquement non significative que ce soit par rapport à la survie globale (p=0,55) ou la survie sans progression (p=0,96) (tableau 9).

Tableau 9 : Résultats des analyses uni et multivariées avec les modèles à risques proportionnels de Cox dans la population totale de l'étude (n=149) selon la survie globale et sans progression

| | **Analyse univariée** | | | **Analyse multivariée** | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Survie globale** | p | HR | IC 95% | p | HR | IC 95% |
| Sexe | 0,309 | 0,816 | 0,552-1,207 | | | |
| Âge au diagnostic | **<0,001** | 1,037 | 1,019-1,056 | **0,044** | 1,024 | 1,001-1,048 |
| Score OMS | **<0,001** | 2,044 | 1,577-2,650 | **<0,001** | 2,608 | 1,581-4,303 |
| Exérèse complète | **<0,001** | 2,937 | 1,913-4,507 | **<0,001** | 5,878 | 2,865-12,061 |
| Perte du 10q | 0,554 | 1,129 | 0,756-1,686 | | | |
| Méthylation *MGMT* | **0,001** | 2,061 | 1,361-3,122 | **0,021** | 2,071 | 1,114-3,850 |
| Mutation *IDH* | 0,319 | 1,795 | 0,569-5,668 | | | |
| **Survie sans progression** | p | HR | IC 95% | p | HR | IC 95% |
| Sexe | 0,593 | 0,905 | 0,629-1,303 | | | |
| Âge au diagnostic | **0,001** | 1,026 | 1,011-1,042 | 0,701 | 1,004 | 0,985-1,022 |
| Score OMS | **<0,001** | 1,793 | 1,401-2,295 | **0,032** | 1,625 | 1,043-2,532 |
| Exérèse complète | **<0,001** | 2,043 | 1,387-3,009 | 0,288 | 0,67 | 0,320-1,402 |
| Perte du 10q | 0,964 | 0,991 | 0,680-1,445 | | | |
| Méthylation *MGMT* | **0,006** | 1,689 | 1,161-2,456 | 0,723 | 1,105 | 0,635-1,923 |
| Mutation *IDH* | 0,361 | 1,52 | 0,619-3,736 | | | |

# 4. Discussion

## 4.1. Principaux résultats de l'étude

Notre étude avait pour objectif de comparer la survie globale et la survie sans progression en fonction du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* et de l'état du chromosome 10q chez des patients atteints d'un GBM.

La présente étude montre que la perte du chromosome 10q, associée à l'hyperméthylation du promoteur du gène *MGMT*, prolonge significativement la survie globale (p=0,0024) et la survie sans progression (p=0,031) des patients atteints d'un GBM traités initialement selon le protocole de Stupp.

Dans un premier temps, nous avons montré une prolongation statistiquement significative de la survie globale et de la survie sans progression dans les groupes hyperméthylés comparativement aux groupes sans méthylation du promoteur du gène *MGMT*.

Ensuite, chez les patients hyperméthylés, la perte du 10q était un marqueur de meilleur pronostic avec une médiane de survie globale supérieure de 9,5 mois par rapport aux patients hyperméthylés sans perte du 10q. A partir de 6 mois de suivi, il existait une réduction relative du risque de décès de 53% (HR=0,47 ; IC à 95% [0,14-0,96]) dans le groupe hyperméthylé avec perte du 10q par rapport au groupe hyperméthylé sans perte du 10q.

Enfin, la double inactivation de *MGMT* permettait la sélection d'une population de patients longs survivants (survie globale >30 mois), puisque tous les patients qui ont survécu >30 mois appartenaient au groupe hyperméthylé avec perte du 10q.

## 4.2. Caractéristiques de la population de l'étude

Notre cohorte était représentative de la population générale de GBM et ne présentait pas de biais de sélection majeur.

En effet, selon les études épidémiologiques (5-7), l'âge moyen au diagnostic des patients atteints d'un GBM est de 62 ans, avec une médiane de 64 ans. Les résultats de notre étude donnaient des résultats semblables, avec un âge moyen de 64 ans et une médiane de 66 ans. Il est également rapporté par la littérature que les GBM sont plus fréquents chez les hommes, avec un sex-ratio H/F compris entre 1,4 et 1,6 (8). Conformément à ces données, le ratio H/F de notre cohorte était de 1,4.

De nombreux essais, dont celui de Louis D. et *al.* en 2016, rapportent que les GBM primaires sont majoritaires (90%) par rapport aux GBM secondaires (10%) dans la population générale (8). Les résultats de notre étude sont en accord avec ces données qui retrouvait 95% de GBM primaires contre 5% de GBM secondaires. Parmi ces derniers, la mutation *IDH1* R132H était la mutation la plus fréquente (86%) ce qui corrobore les 90% de mutation *IDH1* R132H rapportées dans la littérature (63).

Hegi ME et *al.* montre également que la méthylation du promoteur du gène *MGMT* est présente dans 40-50% des GBM (32) ce qui corrobore les résultats de notre étude où 46% des patients présentaient un GBM avec une hyperméthylation de *MGMT*. Enfin, la perte du chromosome 10q est rapportée comme l'altération génétique la plus fréquente dans les GBM (70% des cas) (67). Cette caractéristique était retrouvée dans 64% de notre population.

Tous les patients de notre série ont été traités initialement par chirurgie. 72,5% ont reçu la radiochimiothérapie concomitante après le geste chirurgical et 58,4% ont bénéficié du TMZ adjuvant.

Au total, 26,2% ont reçu le traitement standard en totalité (chirurgie, radiochimiothérapie concomitante suivi d'au moins 6 cycles de TMZ adjuvant). Ces résultats se rapprochent de ceux de l'étude de Stupp R et *al*. en 2005 (24) : parmi le groupe radiothérapie concomitante au TMZ (n=287), 100% des patients avaient bénéficié d'une chirurgie, 85% ont reçu la radiochimiothérapie concomitante après le geste chirurgical et 78% ont initié le TMZ adjuvant. Seulement 36,6% avaient alors bénéficié du traitement dans sa totalité (≥ 6 cycles de TMZ adjuvant).

Dans la présente étude, conformément aux recommandations du protocole de Stupp (24), la radiothérapie encéphalique s'est déroulée sur une durée médiane de 42 jours avec 60 Gy de dose médiane en 30 fractions. La dose médiane du TMZ concomitant était de 75 mg/m$^2$/j et de 150-200 mg/m$^2$/j pour le TMZ adjuvant. Les délais médians entre le geste chirurgical et la radiochimiothérapie et entre la radiochimiothérapie et le TMZ adjuvant étaient semblables aux recommandations (47 jours et 32 jours respectivement contre 42 jours et 28 jours selon les recommandations).

Enfin, nous retrouvions, dans notre cohorte, les mêmes facteurs pronostiques que ceux déjà connus pour les patients atteints d'un GBM à savoir le statut de méthylation de *MGMT*, l'âge au diagnostic, le score OMS et l'étendue de la résection chirurgicale (26-27, 32).

### 4.3. Méthylation du promoteur du gène *MGMT*

Il est admis par la communauté scientifique que chez les patients atteints d'un GBM, la répression épigénétique du gène *MGMT* par méthylation de son promoteur est un facteur de bon pronostic et est prédictif de la réponse au traitement par TMZ. De nombreuses études ont clairement démontré cette relation (pour revue : (138)).

Les résultats de notre étude sont en accord avec la revue de la littérature sur ce sujet. Il existait une différence de survie globale ($p<0,001$) et de survie sans progression ($p=0,0078$) statistiquement significative entre les groupes avec un promoteur du gène *MGMT* avec ou sans hyperméthylation.

Toutefois, bien que les patients atteints d'un GBM avec une hyperméthylation de *MGMT* sont sensés mieux répondre à la radiochimiothérapie concomitante et au TMZ adjuvant (24), nous observons, dans notre étude, que les courbes de survie globale et de survie sans progression restaient similaires pendant les 6 premiers mois de suivi, et ce, quel que soit les caractéristiques moléculaires.

Ces résultats sont concordants avec ceux de l'étude de Hegi ME et *al*. en 2005, qui observait également que les courbes de survie globale pour la radiothérapie seule et pour le TMZ associé à la radiothérapie ne différaient pas en fonction du statut de méthylation du promoteur de *MGMT* pendant les 9 premiers mois de suivi (32). Ainsi, il apparait que la méthylation du promoteur du gène *MGMT*, bien qu'importante, ne permet pas de donner une information pronostique fiable sur les premiers mois de survie mais plutôt de discriminer les patients atteints d'un GBM qui seraient des plus longs répondeurs au TMZ.

Plusieurs explications peuvent être apportées concernant cette absence de différence entre les courbes de survie durant les premiers mois de l'étude. Certains patients sont inclus à un stade avancé de la maladie, et présentent un état général altéré avec un pronostic engagé à court terme (pouvant ou non recevoir un traitement). Nous pouvons supposer que leur survie ne dépend alors plus de leur prise en charge thérapeutique et des mécanismes moléculaires sous-jacents mais de facteurs pronostiques autres tels que l'âge, le score OMS ou encore les co-morbidités… La méthylation de *MGMT* aurait alors un impact pronostique moins fort à court terme en comparaison à ces autres facteurs cités. Hegi

ME et *al*., suggérait également que d'autres mécanismes et facteurs prédictifs restaient encore à être identifier.

Dans notre étude, bien que non significative, nous observons une différence de survie globale (p=0,12) et de survie sans progression (p=0,28) entre les groupes hyperméthylés avec et sans perte du 10q. Nous pensons que cette différence n'est pas statistiquement significative par manque de puissance (n=68). Toutefois, cette différence de survie globale était statistiquement significative entre ces 2 groupes à partir de 6 mois de suivi (p=0,04).

Toutes ces données semblent suggérer qu'il existe, parmi les patients avec un promoteur *MGMT* hyperméthylé, un sous-groupe moléculaire au pronostic distinct.

### 4.4. Pronostic de la perte du chromosome 10q

La valeur pronostique de la perte du chromosome 10q chez des patients atteints d'un GBM a été étudiée dans de nombreux essais dont les résultats sont contradictoires.

Ohgaki et *al*., ont analysé, dans 715 cas de GBM nouvellement diagnostiqués, la perte d'hétérozygotie (LOH, loss of heterozygosity) sur le chromosome 10q par la technique d'analyse par microsatellite. Cette étude affirmait que la présence de LOH 10q était prédictive d'une survie plus courte en analyse uni (p=0,0561) et multivariée (p=0,067). Toutefois, il est à noter que ces données étaient considérées comme statistiquement significatives alors que les valeurs du p dans cette étude étaient supérieures à 0,05 (valeur communément retenue pour décrire le risque alpha). Schmidt et *al*., ont également montré une association péjorative entre LOH10q et la survie chez les patients atteints de GBM. Vingt-et-un patients, dont les tumeurs ne présentaient pas de perte de l'hétérozygotie pour les marqueurs du bras chromosomique 10q, avaient une survie médiane de 18,0 mois, contre 8,8 mois chez les 68 patients avec une tumeur LOH10q (p=0,0028).

L'hypothèse selon laquelle la perte du 10q serait un marqueur de mauvais pronostic semble toutefois aller à l'encontre de diverses études qui s'accordent sur l'absence d'impact de la perte du 10q sur la survie chez des patients présentant un GBM.

Jesionek-Kupnicka et *al.*, ont réalisé une étude qui avait pour but d'évaluer l'impact du LOH sur les chromosomes 1p, 19q, 9p, 10q, 13q, 17p chez 42 patients atteints d'un GBM. Cette étude ne montrait aucune association statistiquement significative entre LOH10q et la survie (p=0,318, HR=1,62, IC à 95% [0,71-2,89]). Weller et *al*., quant à eux, ont mené une étude rassemblant 301 patients atteints d'un GBM, 175 avaient un LOH10q, 80 n'en avaient pas et les 46 restants étaient non analysables (15%). La LOH10q n'était, encore une fois, pas associée à la survie globale ou sans progression. Dans l'étude de Felsberg et *al*., un total de 31 patients (70%) sur 44 atteints de GBM nouvellement diagnostiqués présentaient un LOH10q. La perte allélique du 10q n'était significativement pas associée à la survie du patient (p=0,51). De la même façon, Houillier et *al*. ont réalisé une recherche de la perte d'hétérozygotie sur les amplifications des chromosomes 1p, 9p, 10q, 19q dans une série de 220 GBM primaires. Aucune corrélation n'a été trouvée entre LOH10q et la survie (p=0,68). Enfin, Batchelor et *al.*, dans une série de 140 cas de GBM, la perte du chromosome 10q a été étudiée via l'analyse par microsatellite chez 58 patients dont 43 présentaient un LOH10q. De même, LOH10q n'était pas associée à la survie (p=0,814).

De la même manière, dans notre essai, l'étude isolée de la perte du 10q en analyse univariée était non significative. Ainsi, la perte du 10q seule, indépendamment des autres marqueurs pronostics, n'aurait pas d'impact sur la survie chez les patients atteints d'un GBM.

Cependant, contrairement à ces études, nous n'avons pas cherché à analyser isolément le pronostic de la perte du chromosome 10q, mais plutôt d'étudier cette perte en association avec la méthylation du promoteur du gène *MGMT*. À notre connaissance, il s'agit de la première étude de ce type.

Ainsi, la perte du 10q, décrite comme un facteur de mauvais pronostic (125-126) ou sans impact (91, 127-130) dans de précédents essais, apparait dans notre étude comme étant de bon pronostic si elle est associée à une hyperméthylation du promoteur du gène *MGMT* et sans impact lorsqu'elle est associée à une absence de méthylation du promoteur de *MGMT*.

### 4.5. Patients appartenant au groupe hyperméthylé avec perte du 10q

Notre étude a montré que les patients présentant un GBM avec une hyperméthylation de *MGMT* associée à une perte du 10q ont survécu significativement plus longtemps que les patients des autres groupes de l'étude (p=0,0024).

Cependant, à l'inclusion, les patients de notre étude présentaient les mêmes caractéristiques. Il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre les groupes à l'exception du statut de méthylation du promoteur du gène *MGMT* (p<0,001) et de l'état du chromosome 10q (p<0,001).

Toutefois, il est intéressant de noter que nous retrouvions dans notre étude une différence statistiquement significative entre le nombre de cycle de TMZ adjuvant reçu entre les 4 groupes (p<0,001) lors de leur prise en charge thérapeutique au diagnostic. En effet, 46,3% des patients appartenant au groupe hyperméthylé avec perte du 10q recevaient ≥ 6 cycles de TMZ contre seulement 11,1% dans le groupe non méthylé avec perte du 10q. Selon notre hypothèse, il est normal que les patients avec une hyperméthylation de *MGMT* répondent mieux au traitement par TMZ et bénéficient ainsi d'un nombre plus important de cure contrairement aux patients sans méthylation de *MGMT* qui sont moins sensibles au TMZ et présentent une progression tumorale plus précocement induisant un changement de ligne de chimiothérapie et un nombre reçu de cycle de TMZ moins important. Ces données sont en faveur de l'hypothèse de notre étude, à savoir qu'une double inactivation du gène *MGMT* rend les patients atteints d'un GBM encore plus sensibles au TMZ et prolonge alors ainsi leur survie.

De plus, il est également intéressant d'observer que les patients atteints d'un GBM avec une hyperméthylation de *MGMT* associée à la perte du 10q bénéficiaient significativement plus souvent d'une nouvelle intervention chirurgicale à la première progression tumorale (p=0,03) par rapport aux autres groupes de l'étude.

En effet, 5 patients (31,2%) parmi les 16 ayant présenté une récidive dans ce groupe ont bénéficié d'une nouvelle intervention chirurgicale à la progression tumorale contre seulement 4 patients (14,8%) parmi les 27 du groupe non méthylé avec perte du 10q et aucun patient appartenant aux 2 autres groupes de l'étude. Après une étude approfondie de ces 5 patients, il s'avère qu'ils ont tous eu une survie globale >30 mois.

De plus, nous avions observé que parmi les 41 patients que comprenait le groupe hyperméthylé avec perte du 10q, 6 (15%) ont survécu >30 mois alors qu'aucun patient n'a atteint cette durée de survie dans les autres groupes de l'étude.

Ces 6 longs survivants présentaient les caractéristiques suivantes : 2 hommes et 4 femmes, un âge médian au diagnostic de 64 ans, un score OMS compris entre 0 et 1, 6 GBM primaires « classiques » en histologie, une hyperméthylation du promoteur du gène *MGMT* associée à la perte du 10q. Ces

patients ont tous bénéficié du protocole de Stupp en totalité (chirurgie, radiochimiothérapie concomitante et au moins 6 cycles de TMZ adjuvant) dont 5 exérèses complètes et 1 biopsie. Les 6 patients ont présenté une progression tumorale : 5 ont bénéficié d'une nouvelle intervention chirurgicale et 5 ont reçu de 2 à 4 lignes de chimiothérapie adjuvante différentes.

Compte tenu de ces résultats, nous pouvons supposer que ces patients ont significativement plus souvent bénéficié d'une nouvelle intervention chirurgicale à la progression tumorale du fait de leur état général conservé, car leur tumeur présentait une double inactivation du gène *MGMT* qui confèrerait une meilleure sensibilité au TMZ et donc une meilleure survie. Mais, cela pourrait également suggérer que parmi les patients de ce groupe, le fait d'être de nouveau opéré serait un facteur de bon pronostic. Il faudrait peut-être alors envisager, de manière plus systématique, une nouvelle intervention chirurgicale chez ces patients à la progression tumorale (si leur état général le permet). Toutefois, ce critère n'est pas obligatoire puisqu'un long survivant de ce même groupe a survécu >30 mois sans bénéficier d'une nouvelle intervention chirurgicale. Cependant, notre étude n'était pas réalisée dans l'objectif d'évaluer cette hypothèse et des études dédiées à ce sujet sont nécessaires.

Une étude multicentrique allemande portant sur 55 patients longs survivants atteints d'un GBM primaire a identifié les facteurs prédictifs d'une survie à « long terme » suivants : un âge jeune (médiane dans cette étude de 51 ans), un bon état général initial (KPS médian dans cette étude de 80) et une méthylation du promoteur du gène *MGMT*. Tous les patients de l'étude ont bénéficié d'une exérèse complète et d'une radiothérapie, et 65% ont eu au moins une ligne de chimiothérapie. Il est intéressant de noter que 45% des patients ont été opérés 2 fois, et 22% trois fois (139).

### 4.6. Limites et points forts

Notre étude n'est pas parvenue à mettre en évidence une différence statistiquement significative dans les analyses en sous-groupes entre les patients hyperméthylés avec et sans perte du 10q de manière générale mais seulement après 6 mois de suivi à cause probablement d'un manque de puissance. Malgré un faible pourcentage de perdus de vue (7 patients (4,5%) parmi les 156 inclus dans l'étude), ce défaut de puissance peut s'expliquer par de petits effectifs (27 patients dans les 2 groupes sans perte du 10q) liés à des limites techniques. En effet, parmi les 348 patients éligibles à l'étude, 110 (31,6%) ont été exclus pour cause de résultats onco-biologiques non concluants (impossibilité de rendre un résultat contributif car la quantité/qualité de l'ADN tumoral de l'échantillon étaient insuffisantes). Les techniques de biologie moléculaire, et particulièrement la CGH array pour la détermination de la perte du 10q, nécessitent une quantité importante de tissu tumoral de bonne qualité qui n'est pas toujours possible d'avoir en routine. La CGH array est, de plus, une technique avec une sensibilité modeste (elle ne détecte les anomalies que si elles sont présentes à plus de 20% dans la population cellulaire impliquant un prélèvement riche en cellules tumorales), coûteuse et encore peu répandue en France.

Cependant, l'utilisation de cette technique pour étudier la perte du 10q est un point fort de notre étude. Elle présente d'importants avantages par rapport à d'autres méthodes capables elles aussi de détecter une délétion du chromosome 10q tels que l'analyse par microsatellites de la perte d'hétérozygotie (LOH) ou les techniques de NGS (Next Generation Sequencing).

L'avantage de la CGH array par rapport à la LOH est sa résolution beaucoup plus élevée, car cette dernière n'analyse qu'un nombre restreint de marqueurs quand la CGH array en analyse des milliers. En effet, la technique LOH repose sur l'analyse de la stabilité de quelques microsatellites polymorphes qui donne une information très spécifique pour une localisation chromosomique particulière. C'est

seulement par extrapolation des résultats de ces quelques marqueurs que la technique LOH affirme ou non la perte du bras long du chromosome 10. De plus, la technique LOH est une technique ciblée qui répond à la question de LOH uniquement sur les quelques marqueurs qu'elle présente alors que la CGH array est pangénomique et donne, en une seule analyse, des informations sur des altérations moléculaires tels que la co-délétion 1p19q, le gain du chromosome 7, la perte du chromosome 10 mais aussi sur l'état d'amplification du gène *EGFR* etc… Actuellement, bien que moins résolutive, la technique LOH par microsatellite est la plus répandue en France en routine car peu coûteuse.

Nous avons donc utilisé la technique par CGH array dans notre étude car celle-ci est accréditée dans le laboratoire de cancérologie biologique du CHU de Poitiers, est de plus en plus disponible en France, et donne plus d'informations utiles en une seule analyse. De plus, cette technique est utilisable en routine dans la classification moléculaire des cancers à partir de fragments FFPE.

Enfin, un autre point fort de notre étude est qu'elle est l'une des rares à avoir analysé la perte du 10q par la technique de CGH array quand la plupart des essais sur ce sujet ont utilisé l'analyse LOH par marqueurs microsatellites.

## 4.7. Perspectives

### 4.7.1. Vers un nouveau sous-groupe moléculaire ?

Notre étude a mis en évidence que parmi les patients atteints d'un GBM avec hyperméthylation du promoteur du gène *MGMT* et traités initialement selon le protocole de Stupp, on distingue ceux avec une perte du 10q qui représentent un sous-groupe moléculaire de meilleur pronostic après 6 mois.

Ainsi, l'étude du chromosome 10q chez ces patients pourrait conduire à une détermination plus précise du pronostic et de la réponse au traitement par TMZ. Autrement dit, la perte du 10q associée à l'hyperméthylation de *MGMT* pourrait être identifiée comme une signature moléculaire théranostique des GBM permettant la sélection des patients chez qui le TMZ est le plus susceptible d'être bénéfique.

Etant donné le caractère de plus en plus systématique de l'étude du statut du chromosome 10q lors du diagnostic intégré histopathologique et moléculaire de la classification OMS 2016 (8), associé au caractère déjà fortement conseillé de l'étude de l'état de méthylation de *MGMT*, ce biomarqueur pourrait ainsi être aisément reconnu comme un potentiel nouveau facteur pronostic et prédictif du GBM et être intégré à la routine biologique et clinique du GBM.

De même, les futurs essais cliniques impliquant du TMZ ou d'autres agents alkylants devraient, en plus d'évaluer l'état de méthylation du promoteur de *MGMT*, évaluer également le statut du chromosome 10q et l'inclure en tant que paramètre de stratification.

### 4.7.2. Thérapeutiques en développement

Concernant les patients atteints d'un GBM sans méthylation du promoteur du gène *MGMT*, le traitement par TMZ semble peu bénéfique quel que soit le statut du chromosome 10q. Certaines études rapportent qu'il est justifié de ne pas administrer de TMZ aux patients présentant un GBM sans méthylation de *MGMT* (138, 140). Wick *et al.*, suggère que l'omission du TMZ dans le groupe expérimental d'essais cliniques dans cette population de patients n'est pas contraire à l'éthique en raison du « sous-traitement » potentiel de ces patients, étant donné que les données relatives à l'efficacité dans le groupe exempt de TMZ sont comparables à celles du traitement standard (141).

Des stratégies thérapeutiques alternatives, adaptées au profil moléculaire, sont nécessaires pour ces patients (142).

Compte tenu de l'absence actuelle d'alternative thérapeutique attrayante au traitement standard, et devant le sombre pronostic du GBM, de nouvelles approches sont à l'étude.

#### 4.7.2.1. Thérapie ciblée

La thérapie ciblée vise à bloquer le développement de la tumeur en interférant avec des anomalies moléculaires ou avec des mécanismes aberrants qui sont à l'origine de la croissance des cellules tumorales.

Ces effets peuvent être obtenus en inhibant des facteurs de croissance spécifiques et leurs récepteurs, notamment *EGFR* (géfitinib, erlotinib, lapatinib, afatinib et cetuximab), *PDGFR* (imatinib, sunitinib, sorafenib, vandetanib, dasatinib et nintedanib), ainsi que d'autres récepteurs surexprimés ou mutés dans une proportion élevée de GBM. A ce jour, d'après les résultats d'essais cliniques portant sur ces différents inhibiteurs moléculaires, ces approches ne semblent malheureusement pas être une stratégie thérapeutique efficace chez les patients présentant un GBM (pour revue : (143-144)).

Le ciblage de voies de signalisation intracellulaire, particulièrement *PI3K/mTOR*, protéine kinase C (tamoxifène, enzastaurine), *MAPK* ou encore *PARP*, ont également fait l'objet d'essai de phase I et II dans des populations de GBM qui n'ont montré que peu de bénéfice en termes de survie.

Le microenvironnement tumoral, comme l'angiogenèse pathologique, joue un rôle fondamental dans le développement et la progression des tumeurs malignes. Une surexpression du facteur de croissance endothélio-vasculaire (VEGF) a été identifiée dans les GBM (145). Le bevacizumab, un anticorps monoclonal humanisé anti-VEGF, est l'anti-angiogénique le plus avancé dans son évaluation pour le traitement des GBM. En 2009, il a reçu l'approbation provisoire de la FDA (Food and Drug Administration) aux Etats-Unis pour le traitement du GBM récidivant sur la base de taux de réponse radiologique élevés et de survie sans progression prolongée (146-147). Cependant, d'après les résultats de nombreux essais de phase II et III, le bevacizumab, seul ou en association, prolonge la survie sans progression sans influencer la survie globale chez les patients atteints d'un GBM nouvellement diagnostiqué ou récurrent (148-151). De nombreuses autres thérapies ciblées anti-angiogéniques (cédiranib, cilengitide, aflibercept…) ont été évaluées dans des essais cliniques de phase II et III chez des patients atteints de GBM nouvellement diagnostiqué ou récurrent, en monothérapie ou en combinaison avec d'autres thérapeutiques, tous sans avantage significatif sur la survie (152-156). Ainsi, à ce jour, seul le bevacizumab constitue une alternative thérapeutique dans le traitement du GBM récidivant aux Etats-Unis et au Canada mais n'a pas été approuvé en Europe.

#### 4.7.2.2. Immunothérapie

L'immunothérapie vise à mobiliser le système immunitaire du patient contre sa maladie. Elle agit sur certaines cellules du système immunitaire pour les rendre plus efficaces à attaquer les cellules tumorales. Elle consiste également à rendre les cellules tumorales plus reconnaissables par le système immunitaire du patient qui échappaient à l'immunosurveillance par l'expression de protéine de surface. L'immunothérapie repose notamment sur les anticorps monoclonaux inhibiteurs de points de contrôle, sur le transfert adoptif de cellules ou encore sur la vaccination thérapeutique anti-tumorale.

Une étude a récemment montré que 90% des GBM expriment PD-L1 (Programmed Death-Ligand 1) (157). PD-1 (Programmed Death 1) est une protéine membranaire présente à la surface des lymphocytes T activés. L'interaction entre PD-1 et son ligand PD-L1 inhibe la fonction effectrice des

lymphocytes T rendant les cellules tumorales capables d'échapper au système immunitaire (158). Le traitement par anticorps monoclonaux anti-PD-L1 ou anti-PD-1 améliore le pronostic des patients atteints de cancer avancé, notamment le cancer bronchique non à petites cellules, le mélanome, le carcinome à cellules rénales ou encore les cancers de l'ovaire (159). Dans les GBM, le nivolumab est en cours d'évaluation dans le cadre d'essai clinique de phase II.

ICT-107 est une immunothérapie à base de cellules dendritiques spécifiques au patient ciblant plusieurs antigènes exprimés par les cellules souches du GBM : AIM-2, MAGE-1, TRP-2, gp100, HER2 et IL-13Ra2. Des cellules dendritiques du patient sont prélevées puis modifiées génétiquement en laboratoire pour exprimer à leur surface les récepteurs spécifiques à ces 6 antigènes. Ces cellules, une fois modifiées, sont cultivées puis réinjectées au patient. Grâce à leurs récepteurs, elles vont alors pouvoir reconnaitre et détruire de manière spécifique les cellules tumorales du GBM. Les premiers résultats d'essai de phase I et II sont encourageants et rapportent un bénéfice en termes de survie globale et de survie sans progression. Ces essais sont actuellement complétés par un essai clinique de phase III pour lequel les inclusions sont en cours.

Le variant III du gène *EGFR* (*EGFRvIII*) est une mutation présente dans environ 20-50% des GBM qui code pour une protéine à l'activité tyrosine kinase constitutivement active augmentant ainsi l'expression des voies de signalisation sous la dépendance du gène *EGFR* (160-161). *EGFRvIII* n'est pas exprimé dans les tissus normaux (162) mais est largement retrouvé dans le GBM et dans d'autres néoplasmes (163-166). Le rindopepimut est un vaccin peptidique ciblant *EGFRvIII* administré par voie sous-cutanée, permettant de développer une immunité anti-tumorale spécifique anti-*EGFRvIII*. Malgré des résultats extrêmement prometteurs d'un essai clinique multicentrique prospectif de phase II (167), un essai de phase III datant de 2017, n'a malheureusement pas confirmé ces résultats (168). L'essai ACT IV avait pour objectif de déterminer si l'ajout du rindopepimut au TMZ pouvait améliorer la survie des patients atteints de GBM exprimant la mutation *EGFRvIII*. Il s'agissait d'une étude de phase III, prospective multicentrique et randomisée, attribuant de manière aléatoire 745 patients atteints de GBM entre un groupe bénéficiant du rindopepimut et TMZ et un groupe témoin (TMZ seul associé à un placebo). L'ajout du rindopepimut n'a pas augmenté la survie chez les patients atteints d'un GBM : la survie globale médiane était de 20,1 mois dans le groupe rindopepimut contre 20,0 mois dans le groupe témoin (p=0,93, HR=1,01, IC95%=0,79-1,30).

Depuis quelques années, les recherches vont encore plus loin en cherchant à mettre au point des vaccins personnalisés, conçus sur mesure pour chaque patient.

Malgré les très importants progrès réalisés dans le domaine de la recherche de nouvelles thérapies ciblés et immunothérapies, aucun de ces traitements n'a démontré à ce jour de bénéfice significatif en termes de survie globale et de survie sans progression dans des essais de phase III bien conçus chez des patients atteints d'un GBM.

# CONCLUSION

Notre étude est, à notre connaissance, la première à analyser l'intérêt pronostic du statut du chromosome 10q en association avec l'état de méthylation du promoteur du gène *MGMT* chez des patients atteints d'un GBM traités initialement selon le protocole de Stupp.

Nos données suggèrent que, chez ces patients, la perte du 10q avec hyperméthylation du promoteur du gène *MGMT* a une valeur pronostique et est également un facteur prédictif cliniquement pertinent du bénéfice du TMZ.

Cette étude pourrait permettre à l'avenir d'adapter le protocole thérapeutique chez les patients chez qui le TMZ est le plus susceptible d'être efficace en fonctions des résultats de ces deux biomarqueurs et, peut-être, de proposer une stratégie thérapeutique alternative lorsque l'efficacité prévisible de la thérapie standard risque d'être moins importante.

Malgré le fait que la technique par CGH array soit encore peu répandue en France, l'étude en pyroséquençage de l'état de méthylation du promoteur du gène *MGMT* et l'analyse en CGH array du statut du chromosome 10q sont réalisables en routine.

Les résultats de notre étude pourraient être d'utilité clinique immédiate puisque le statut du 10q ainsi que l'état de méthylation du promoteur de *MGMT* sont systématiquement analysés en routine pour tous les patients atteints d'un GBM suivis au CHU de Poitiers.

Il est nécessaire de réaliser des études complémentaires avec des cohortes de plus grand effectif afin de confirmer nos résultats et d'évaluer le réel impact pronostic et prédictif de la perte du chromosome 10q en association avec le statut de méthylation de *MGMT*.

Enfin, il sera important que la conception des futurs essais cliniques prenne en compte ces deux paramètres lors de l'évaluation des résultats. Nous apportons un éclairage nouveau sur les profils de survie et de réponse au TMZ chez les patients présentant un GBM et nous espérons que ces données seront utiles à la communauté scientifique mais surtout à la communauté médicale en charge des patients atteints d'un GBM.

# BIBLIOGRAPHIE


1. *Population-based studies on incidence, survival rates, and genetic alterations in astrocytic and oligodendroglial gliomas.* **Ohgaki H, Kleihues P.** 2005, J Neuropathol Exp Neurrol, pp. 64 (6): 479-89.

2. *CBTRUS statistical report: primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United Stated in 2007-2011.* **Ostrom QT, Gittleman H, Farah P, Ondracek A, Chen Y, Wolinsky Y, et al.** 2014, Neuro Oncol, pp. 16 Suool 4:iv1-63.

3. *French brain tumor database : general results on 40,000 cases, main current applications and future prospects.* **Zouaoui S, Rigau V, Mathieu-Daude H, Darlix A, Bessaoud F, Fabbro-Peray P, et al.** 2012, Neurochirugie, pp. 58:4-13.

4. *Patterns of care for 1,602 patients with newly diagnosed glioblastoma (ASCO 2015).* **Bauchet L, Zouaoui S, Darlix A, Rigau V, et al.** 2015, J Clin Oncol 33, p. suppl; abstr e13005.

5. *CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2008-2012.* **Ostrom QT, Gittleman H, Fulop J, Liu M, et al.** 2015, Neuro Oncol, pp. 17 Suppl 4:iv1-iv62.

6. *Epidemiology of glioblastoma.* **Baldi I, Huchet A, Bauchet L, Loiseau H.** 2010, Neurochirurgie, pp. 56:433-40.

7. *Revue épidémiologique et pronostique moléculaire du glioblastome.* **Thakkar JP, Dolecek TA, Horbinski C, Ostrom QT, Lightner DD, Barnholtz-Sloan JS, Villano JL.** 2014, Epidémiologie du cancer, biomarqueurs et prévention., pp. 23:1985-96.

8. *The 2016 World Health Organization: classification of tumors of the central nervous system. A summary.* **Louis D, Perry A, Reifenberger G, Von Deimling A et al.** 2016, Acta Neuropathol., pp. 131(6):803-20.

9. *Incidence of first primary central nervous system tumors in California,2001-2005 : children, adolescents and teens.* **Brown M, Schrot R, Bauer K, Dodge J.** 2009, Neuro Oncol, pp. 94:263-73.

10. *Genetic diseases and glioblastomas.* **Almairac F, Frenay M, Paquis P.** 2010, Neurochirurgie, pp. 56:455-8.

11. *Primary brain tumours in adults.* **Ricard D, Idbaih A, Ducray F et al.** 2012, The Lancet, pp. 379(9830):1984–96.

12. *Diffuse brain stem tumor in an adolescent with multiple enchondromatosis (Ollier's disease).* **Frappaz D, Ricci AC, Kohler R, Bret P, Mottolese C.** 1999, Childs Nerv Syst, pp. 15(5):222-5.

13. *L-2-hydroxyglutaric aciduria and brain tumors in children with mutations in the L2HGDH gene: neuroimaging findings.* **Haliloglu G, Jobard F, Oguz KK, Anlar B, Akalan N, Coskun T, et al.** 2008, Neuropediatrics, pp. 39(2):119-22.

14. *Familial brain tumours-genetics or environment? A nationwide cohort study of cancer risk in spouses and first-degree relatives of brain tumour patients.* **Malmer B, Henriksson R, Grönberg H.** 2003, Int J Cancer., pp. 106(2):260-3.

15. *The epidemiology of glioma in adults: a "state of science" review.* **Ostrom QT, Bauchet L, Davis FG, Deltour I, Fisher JL, Langer CE, et al.** 2014, Neuro Onco, pp. 16(7):896-913.

16. *Atopy and risk of brain tumors : a meta-analysis.* **Linos E, Raine T, Alonso A, Michaud D.** 2007, J Natl Cancer Inst, pp. 99:1544-50.

17. *Tumors of the brain and nervous system after radiotherapy in childhood.* **Ron E, Modan B, Boice JD et al.** 1988, New England Journal of Medicine, pp. 319(16):1033–9.

18. *Clinical and epidemiologic characteristics of first primary tumors of the central nervous system and related organs among atomic bomb survivors in Hiroshima and Nagasaki, 1958-1995.* **Yonehara S, Brenner AV, Kishikawa M et al.** 2004, Cancer, pp. 101(7):1644–54.

19. *Revue basée sur le cas: Glioblastome nouvellement diagnostiqué.* **Johnson DR, Fogh SE , Giannini C, Kaufmann TJ, Raghunathan A, Theodosopoulos PV, Clarke JL.** 2015, Pratique de neuro-oncologie, pp. 2:106-121.

20. *Mobile phone use and brain tumours in the CERENAT case-control study.* **Coureau G, Bouvier G, Lebailly P, Fabbro-Peray P, Gruber A, Leffondre K, et al.** 2014, Occup Environ Med, pp. 71:514-22.

21. *Glioblastome multiforme: Pathogénèse et traitement. .* **Alifieris C, Trafalis DT.** 2015, Pharmacologie et Thérapeutique., pp. 152:63-82.

22. *Exposure to farm crops, livestock, and farm tasks and risk of glioma : the Upper Midwest Health Study.* **Ruder AM, Carreon T, Butler MA, Calvert GM, Davis-King KE, Waters MA, et al.** 2009, Am J Epidemiol, pp. 169:1479-91.

23. *Treatment in patients with glioblastoma multiforme and poor performance.* **Ampil FL, Nanda A, Willis BK, Apple S.** 1998, Radiat Med, pp. 16:109-12.

24. *Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma.* **Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJ, et al.** 2005, N Engl J Med, pp. 352:987-96.

25. *CBTRUS statistical report: primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United states in 2005-2009.* **Dolecek TA, Propp JM, Stroup NE, Kruchko C.** 2012, Neuro Oncol, pp. 14 Suppl 5:v1-49.

26. *Recursive partitioning analysis of prognostic factors in three Radiation Therapy Oncology Group malignant glioma trials.* **Curran WJ, Scott CB, Horton J et al.** 1993, Journal of the National Journal of the National, pp. 85(9):704–10.

27. *Radiotherapy and Temozolomide for Newly Diagnosed Glioblastoma: Recursive Partitioning Analysis of the EORTC 26981/22981-NCIC CE3 Phase III Randomized Trial.* **Mirimanoff RO, Gorlia T , Mason W , Van den Bent MJ , Kortmann RD , Fisher B , Reni M , Brandes AA , Curschmann J , Villa S , Cairncross G , Allgeier A , Lacombe D , Stupp R .** 2006, J Clin Oncol. , pp. 24(16):2563-9.

28. *Giant cell glioblastoma: a glioblastoma subtype with distinct epidemiology and superior prognosis.* **Kozak KR, Moody JS.** 2009, Neuro oncol, pp. 11(6):833-41.

29. *Treatment and survival of patients harboring histological variants of glioblastoma.* **Ortega A, Nuno M, Walia S, Mukherjee D, Black KL, Patil CG.** 2014, J Clin Neurosci, pp. 21(10):1709-13.

30. *Necrosis as a prognostic factor in glioblastoma multiforme.* **Barker FG 2nd, Davis RL, Chang SM, Prados MD.** 1996, Cancer, pp. 77(6):1161-6.

31. *Correlation among pathology, genotype, and patient outcomes in glioblastoma.* **Homma T, Fukushima T, Vaccarella S, Yonekawa Y, Di Patre PL, Franceschi S, et al.** 2006, J Neuropathol Exp Neurol, pp. 65(9):846-54.

32. *MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma.* **Hegi ME, Diserens AC, Gorlia T, Hamou MF, de Tribolet N, Weller M, et al.** 2005, N Engl J Med, pp. 352(10):997-1003.

33. *MGMT promoter methylation is a strong prognostiic biomarker for benefit from dose-intensified temozolomide rechallenge in progressive glioblastoma: the DIRECTOR trial.* **Weller M, Tabatabai G, Kastner B, Felsberg J, Steinbach JP, Wick A, et al.** 2015, Clin Cancer Res, pp. 21(9):2057-64.

34. *Prognostic or predictive value of MGMT promoter methylation in gliomas depends on IDH1 mutation.* **Wick W, Meisner C, Hentschel B, Platen M, Schiling A, Wiester B, et al.** 2013, Neurology, pp. 81(17):1515-22.

35. *Temozolomide chemotherapy alone versus radiotherapy alone for malignant astrocytoma in the elderly: the NOA-08 randomised, phase 3 trial.* **Wick W, Platten M, Meisner C, Felsberg J, Tabatabai G, Simon M, et al.** 2012, Lancet Oncol, pp. 13(7):707-15.

36. *IDH1 and IDH2 mutations in gliomas.* **Yan H, Parsons DW, Jin G, McLendon R, Rasheed BA, Yuan W, et al.** 2009, N Engl J Med, pp. 360(8):765-73.

37. *Glial neoplasms: dynaamic contrast-enhanced T2* weighted MR imaging.* **Knopp EA, Cha S, Johnson g, Mazumdar A, Golfinos JG, Zagzag et al.** 1999, Radiology, pp. 211:791-8.

38. *Imagerie de perfusion en pathologie cérébrale.* **Grand S, Tahon F, Attye A, Lefournier V, Le bas JF, Krainik A.** 2013, Journal de Radiologie diagnostique et interventionnelle, pp. 94(12):1238-54.

39. *Glial tumor grading and outcome prediction using dynamic spin-echo MR susceptibility mapping compared with conventional contrast-enhanced MR: confounding effect of elevated rCBV of oligodendrogliomas.* **Lev MH, Ozsunar Y, Henson JW, Rasheed AA, Barest GD, Harsh GR et al.** 2004, Am J Neuroradiol, pp. 25:214-21.

40. *Gliomas: predicting time to progression or survival with cerebral blood volume measurements at dynamic susceptibility-weighted contrast-enhanced perfusion MR imaging.* **Law M., Young R.J., Babb J.S., Peccerelli N., Chheang S., Gruber M.L., and al.** 2008, Radiology, pp. 247 (2) : 490-498.

41. *Posttherapeutic intraaxial brain tumor: the value of perfusion-sensitive contrast-enhanced MR imaging for differentiating tumor recurrence from nonneoplastic contrast-enhancing tissue.* **Sugahara T, Korogi Y, Tomiguchi S, Shigematsu Y, Ikushima I, Kira T et al.** 2000, Am J Neuroradiol, pp. 21:901-9.

42. *Usefulness of diffusion-weighted MRI with echo-planar technique in the evaluation of cellularity of gliomas.* **Sugahara T, Korogi Y, Kochi M, et al.** 1999, J. Magn Reson Imaging, pp. 9:53-60.

43. *Diffusion MRI, a new strategy for assessment cancer therapeutic efficacy.* **Chenevert TL, Meyer CR, Moffat BA, Rehemtulla A, Mukherji SK, Gebarski SS.** 2002, Mol Imaging, pp. 1:336-43.

44. *Spectroscopie par résonance magnétique des tumeurs cérébrales.* **Galanaud D, Nicoli F, Figarella-Branger D, Roche P, Confort-Gouny S, Le Fur Y, Cozzone PJ.** 2006, J Radiol, pp. 87:822-32.

45. *Imagerie par tenseur de diffusion: principes et applications.* **Guillevin R, Menuel C, Vallée JN, Chiras J.** 2010, Neurologie.com, pp. 2(4):100-4.

46. *Prediction of pathology and survival by FDG PET in gliomas.* **Padma MV, Said S, Jacobs M et al.** 2003, Journal of Neuro-Oncology, pp. 64(3):227–37.

47. *The sensitivity and specificity of FDG PET in distinguishing recurrent brain tumor from radionecrosis in patients treated with stereotactic radiosurgery.* **Chao ST, Suh JH, Raja S et al.** 2001, International Journal of Cancer, pp. 96(3):191–7.

48. *Methyl-L-11C-Methionine PET as a Diagnostic Marker for Malignant Progression in Patients with Glioma.* **Ullrich RT, Kracht L, Brunn A et al.** 2009, Journal of Nuclear Medicine, pp. 50(12):1962–8.

49. *Monitoring the Effect of Chemotherapy in a Mixed Glioma by C-11-Methionine PET.* **Herholz K, Kracht LW, Heiss, WD.** 2003, Journal of Neuroimaging, pp. 13(3):269–71.

50. *Enhanced accuracy in differential diagnosis of radiation necrosis by positron emission tomography-magnetic resonance imaging coregistration: technical case report.* **Thiel A, Pietrzyk U, Sturm V et al.** 2000, Neurosurgery, pp. 46(1):232–4.

51. *18F-fluoro-L-thymidine and 11C-methylmethionineas markers of increased transport and proliferation in brain tumors.* **Jacobs AH, Thomas A, Kracht LW et al.** 2005, Journal of Nuclear Medicine, pp. 46(12):1948–58.

52. *Glioma Proliferation as Assessed by 3"-Fluoro-3-"Deoxy-L-Thymidine Positron Emission Tomography in Patients with Newly Diagnosed High-Grade Glioma.* **Ullrich R, Backes H, Li H et al.** 2008, Clinical Cancer Research, pp. 14(7):2049–55.

53. *The O-2A(adult) progenitor cell: a glial stem cell of the adult central nervous system.* **Noble M, Wren D, Wolswijk G.** 1992, Semini Cell Biol, pp. 3(6):413-22.

54. *Isolation of lineage-restricted neuronal precursors from multipotent neuroepithelial stem cells.* **Mayer-Proschel M, Kalyani AJ, Mujtaba T, Rao MS.** 1997, Neuron, pp. 19(4):773-85.

55. *EGFR and EGFRvIII analysis in glioblastoma as therapeutic biomarkers.* **Faulkner C, Palmer A, Williams H, Wragg C, Haynes HR, White P, et al.** 2014, Br J Neurosurg., pp. 1-7.

56. *Les mutations IDH1 associées au cancer produisent la 2-hydroxyglutarate.* **Dang L, White DW, Gross S, Bennett BD, Bittinger MA, Driggers E, Vander Heiden M, Su SM, et al.** 2009, Nature, pp. 462:739-744.

57. *Mutation IDH1 dans les gliomes: lorsqu'une enzyme perd son emprise.* **Frezza C, DA Tennant, Gottlieb E.** 2010, Cancer Cell, pp. 17(1):7-9.

58. *An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme.* **Parsons DW, Jones S, Zhang X, Lin JC, Leary RJ, Angenendt P et al.** 2008, Science , pp. 321: 1807 - 1812.

59. *IDH1 mutations are early events in the development of astrocytomas and oligodendrogliomas.* **Watanabe T, Nobusawa S, Kleihues P, Ohgaki H.** 2009, Am J Pathol, pp. 174(4):1149-53.

60. *The somatic genomic landscape of glioblastoma.* **Brennan CW, Verhaak RG, McKenna A, Campos B, Noushmehr H, Salama SR, et al.** 2013, Cell, pp. 155(2):462-77.

61. *Analysis of the IDH1 codon 132 mutation in brain tumors.* **Balss J, Meyer J, Mueller W, Korshunov A, Hartmann C, Von Deimling.** 2008, Acta Neuropathol, pp. 116(6):597-602.

62. *IDH1 Mutations as Molecular Signature and Predictive Factor of Secondary Glioblastomas.* **Nobusawa S, Watanabe T, Kleihues P et al.** 2009, Clinical Cancer Research, pp. 15(19):6002–7.

63. *Type and frequency of IDH1 and IDH2 mutations are related to astrocytic and oligodendroglial differentiation and age: a study of 1,010 diffuse gliomas.* **Hartmann C, Meyer J , J Balss , Capper D , Mueller W , Chrétiens A , Felsberg J , Wolter M , Mawrin C , Wick M , Weller M , Wold M , C Herter-Mende C , Unterberg A , Jeuken JW , Wesseling P , Reifenberger G , von Deimling A .** 2009, Acta Neuropathol, pp. 118 (4): 469-74.

64. *Patients with IDH1 wild type anaplastic astrocytomas exhibit worse prognosis than IDH1-mutated glioblastomas, and IDH1 mutation status accounts for the unfavorable prognostic effect of higher age: implications for classification of gliomas.* **Hartmann C, Hentschel B , Wick W , Boucheuse D , Felsberg J , Simon M , Westphal M , Schackert G , Meyermann R , Pietsch T , Reifenberger G , Weller M , Loeffler M , von Deimling A.** 2010, Acta Neuropathol, pp. 120 (6): 707-18.

65. *Isocitrate Dehydrogenase 1 Codon 132 Mutation Is an Important Prognostic Biomarker in Gliomas.* **Sanson M, Marie Y, Paris S et al.** 2009, Journal of Clinical Oncology, pp. 27(25):4150–4.

66. *IDH1 or IDH2 mutations predict longer survival and response to temozolomide in low-grade gliomas.* **Houillier C, Wang X, Kaloshi G, Mokhtari K, Guillevin R, Laffaire J, Paris S, Boisselier B, Idbaih A, Laigle-Donadey F, Hoang-Xuan K, Sanson M, Delattre JY.** 2010, Neurology., pp. 75(17):1560-6.

67. *Chromosome 10 deletion mapping in human gliomas: a common deletion region in 10q25.* **Rasheed BK, McLendon RE, Friedman HS, Friedman AH, Fuchs HE, Bigner DD, Bigner SH.** 1995, Oncogene, pp. 10 (11): 2243-236.

68. *Signification biologique et clinique de l'hétérogénéité intra-tumorale de l'expression de la protéine PTEN et des anomalies moléculaires correspondantes du gène PTEN dans les glioblastomes.* **Idoate MA, Echeveste J, Diez-Valle R, Lozano MD and Aristu J.** 2014, Neuropathol Appl Neurobiol, pp. 40:736-746.

69. *Patients with high-grade gliomas harboring deletions of chromosomes 9p and 10q benefit from temozolomide treatment.* **Wemmert S, Ketter R, Rahnenführer J, Beerenwinkel N, Strowitzki M and Feiden W.** 2005, Neoplasia, pp. 7 : 883 - 893.

70. *Loss of PTEN is not associated with poor survival in newly diagnosed glioblastoma patients of the temozolomide era.* **Carico C, Nuño M, Mukherjee D, Elramsisy A, Dantis J and Hu J.** 2012, PLoS, p. 7:e33684.

71. *Frequent ATRX mutations and loss of expression in adult diffuse astrocytic tumors carrying IDH1/IDH2 and TP53 mutations.* **Liu XY, Gerges N, Korshunov A, Sabha N, Khuong-Quang DA, Fontebasso AM, et al.** 2012, Acta Neuropathol, pp. 124(5):615-25.

72. *Intérêt de la MGMT dans les gliomes.* **Quillien V, Vauléon E, Saikali S, Lesimple T, Hamlat A, Etcheverry A, Mosser J.** 2011, Bull Cancer, pp. 98:291-303.

73. *Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival inglioblastoma in a randomised phase III study : 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial.* **Stupp R, Hegi ME, Mason WP, van den Bent MJ, et al.** 2009, Lancet Oncol., pp. 10:459-66.

74. *Oncological patterns of care and outcome for 952 patients with newly diagnosed glioblastoma in 2004.* **Bauchet L, Mathieu-Daudé H, Fabbro-Peray P, Rigau V, et al.** 2010, Neuro Oncol., pp. 12(7):725-35.

75. *Patterns of care and survival in a retrospective analysis of 1059 patients with glioblastoma multiforme treated between 2002 and 2007: a multicenter study by the Central Nervous System Study Group of Airo (italian Association of Radiation Oncology).* **Scoccianti S, Magrini SM, Ricardi U, Detti B, et al.** 2010, Neurosurgery, pp. 67(2):446-58.

76. *Adult glioblastoma multiforme survival in the temozolomide era: a population-based analysis of Surveillance, Epidemiology, and End Results registries.* **Darefsky AS, King JT Jr, Dubrow R.** 2012, Cancer, pp. 118(8):2163-72.

77. *Glioblastoma survival in the United States before and during the temozolomide era.* **Johnson DR, O'Neill BP.** 2012, J Neurooncol., pp. 107(2):359-64.

78. *Improved survival time trends for glioblastoma using the SEER 17 population-based registries.* **Koshy M, Villano JL, Dolecek TA, Howard A, et al.** 2012, J Neurooncol, pp. 107(1):207-12.

79. *A population-based study on the effect of temozolomide in the treatment of glioblastoma multiforme.* **Rønning PA, Helseth E, Meling TR, Johannesen TB.** 2012, Neuro Oncol, pp. 14(9):1178-84.

80. *Patterns of care and survival for patients with glioblastoma multiforme diagnosed during 2006.* **Yabroff KR, Harlan L, Zeruto C, Abrams J, Mann B.** 2012, Neuro Oncol, pp. 14(3):351-9.

81. *Time trends in glioblastoma multiforme survival: the role of temozolomide.* **Dubrow R, Darefsky AS, Jacobs DI, Park LS, et al.** 2013, Neuro Oncol, pp. 15(12):1750-61.

82. *Patterns of care and outcome for patients with glioblastoma diagnosed during 2008-2010 in Spain.* **Graus F, Bruna J, Pardo J, Escudero D, et al.** 2013, Neuro Oncol, pp. 15(6):797-805.

83. *Changing incidence and improved survival of gliomas.* **Ho VK, Reijneveld JC, Enting RH, Bienfait HP, et al.** 2014, Eur J Cancer, pp. 50(13):2309-18.

84. *Debulking or biopsy of malignant glioma in elderly people - a randomised study.* **Vuorinen V, Hinkka S, Farkkila M, Jaaskelainen J.** 2003, Acta Neurochir (Wien), pp. 145:5-10.

85. *Glioma extent of resection and its impact on patient outcome.* **Sanai N, Berger MS.** 2008, Neurosurgery, pp. 62:753-64.

86. *Extent of resection and survival in glioblastoma multiforme : identification of and adjustment for bias.* **Stummer W, Reulen HJ, Meinel T, Pichlmeier U, Schumacher W, Tonn JC, et al.** 2008, Neurosurgery, pp. 62:564-76.

87. *An extent of resection threshold for newly diagnosed glioblastomas.* **Sanai N, Polley MY, McDermott MW et al.** 2011, Journal of Neurosurgery, pp. 115(1):3–8.

88. *Establishing percent resection and residual volume thresholds affecting survival and recurrence for patients with newly diagnosed intracranial glioblastoma.* **Chaichana KL, Jusue-Torres I, Navarro-Ramirez R, Raza SM, et al.** 2014, Neuro Oncol, pp. 16(1):113-22.

89. *Residual tumor volume versus extent of resection: predictors of survival after surgery for glioblastoma.* **Grabowski MM, Recinos PF, Nowacki AS, Schroeder JL, Angelov L, Barnett GH, Vogelbaum MA.** 2014, J neurosurg., pp. 121(5):1115-23.

90. *A multivariate analysis of 416 patients with glioblastoma multiforme: prognosis, extent of resection, and survival.* **Lacroix M, Abi-Said D, Fourney DR et al.** 2001, Journal of Neurosurgery, pp. 95(2):190–8.

91. *Prognostic significance of molecular markers and extent of resection in primary glioblastoma patients.* **Felsberg J, Rapp M, Loeser S, Fimmers R, Stummer W, Goepper M, et al.** 2009, Clin Cancer Res, p. 15(21).

92. *Cytoreductive surgery of glioblastoma as the key to successful adjuvant therapies: new arguments in an old discussion.* **Stummer W, van den Bent MJ, Westphal M.** 2011, Acta Neurochirurgica, pp. 153(6):1211–8.

93. *Extent of resection in patients with glioblastoma : limiting factors, perception of resectability, and effect on survival.* **Orringer D, Lau D, Khatri S, Zamora-Berridi GJ, Zhang K, Wu C, et al.** 2012, J Neurosurg, pp. 117:851-9.

94. *Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of malignant glioma : a randomised controlled multicentre phase III trial.* **Stummer W, Pichlmeier U, Meinel T, Wiestler OD, Zanella F, Reulen HJ.** 2006, Lancet Oncol, pp. 7:392-401.

95. *P.5-Aminolevulinic Acid-Protoporphyrin IX Fluorescence-Guided Surgery of High-Grade Gliomas: A Systematic Review.* **Guyotat J, Pallud J, Armoiry X, Pavlov V, Metellus P.** 2016, Adv Tech Stand Neurosurg., pp. 43:61-90.

96. *Safety and efficacy of frameless and frame-based intracranial biopsy techniques.* **Dammers R, Haitsma IK, Schouten JW, Kros JM, Avezaat CJ, Vincent AJ.** 2008, Acta Neurochir, pp. 150:23-9.

97. *Magnetic resonance-guided stereotactic biopsies : results in 100 consecutive cases.* **Fontaine D, Dormont D, Hasboun D, Clemenceau S, Valery C, Oppenheim C, et al.** 2000, Acta Neurochir, pp. 142:249-55.

98. *Image-guided frameless stereotactic biopsy without intraoperative neuropathological examination.* **Shooman D, Belli A, Grundy PL.** 2010, J Neurosurg, pp. 113:170-8.

99. *Analysis of target volumes for gliomas.* **Kantor G, Loiseau H.** 2005, Cancer Radiothérapie, pp. 9:230-239.

100. *Canadian recommendations for the treatment of glioblastoma multiforme.* **Mason WP, Maestro RD, Eisenstat D et al.** 2007, Curr Oncol, pp. 14:110-117.

101. *Frequently asked questions in the medical management of high-grade glioma: a short guide with pratical answers.* **Stupp R, Hottinger A, Van der Bent M, Dietrich P, Branddes A.** 2008, Annals of Oncology, pp. 19(7):vii209-vii216.

102. *Treating gliomas with glucocorticoids: from bedside to bench.* **Piette C, Munaut C, Foidart JM, Deprez M.** 2006, Acta Neuropathologica, pp. 112(6):651-664.

103. *Prolonged administration of adjuvant temozolomide improves survival in adult patients with glioblastoma.* **Darlix A, Baumann C, Lorgis V, Ghiringhelli F, Blonski M, Chauffert B, Zouaoui S, Pinelli C, Rech F, Beauchesne P, Taillandier L.** 2013, Anticancer Res., pp. 33(8):3467-74.

104. *Treatment of elderly patients with glioblastoma.* **DA, Reardon.** 2012, Lancet Oncol, pp. 13:656-7.

105. *Short-Course Radiation plus temozolomide in Elderly Patients with gllioblastoma.* **Perry JR, Laperriere N, O'Callaghan CJ, Brandes AA, Menten J, Phillips C, Fay M, Nishikawa R, Cairncross JG, Roa W, et al.** 2017, N Engl J Med., pp. 376(11):1027-37.

106. *Temozolomide versus standard 6-week radiotherapy versus hypofractionated radiotherapy in patients older than 60 years with glioblasstoma: the Nordic randomised, phase 3 trial.* **Malmstrom A, Gronberg BH, Marosi C, Stupp R, Frappaz D, Schultz H et al.** 2012, Lancet Oncol, pp. 13:916-26.

107. *The risk of cerebral radionecrosis in relation to dose, time and fractionation. A follow-up study.* **Marks J.E., Wong J.** 1985, Prog Exp Tumor Res, pp. 29:210-218.

108. *Malignant gliomas: MR imaging spectrum of radiation therapy- and chemotherapy-induced necrosis of the brain after treatment.* **Kumar A.J., Leeds N.E., Fuller G.N., Van Tassel P., Maor M.H., Sawaya R.E., and al.** 2000, Radiology, pp. 217(2):377-384.

109. *Cerebral radiation necrosis: incidence, outcomes, and risk factors with emphasis on radiation parameters and chemotherapy.* **Ruben J.D., Dally M., Bailey M., Smith R., McLean C.A., Fedele P.** 2006, Int J Radiat Oncol Biol Phys, pp. 65(2):499-508.

110. *Radionécrose après traitement des gliomes malins et des métastases cérébrales : un challenge diagnostique en IRM.* **Raimbault A, Cazals X, Lauvin MA, Destrieux C, Chapet S, Cottier JP.** 2014, Journal de Radiologie diagnostique et interventionnelle, pp. 95(10):973-989.

111. *Updated Response Assessment Criteria for High-Grade Gliomas: Response Assessment in Neuro-Oncology Working Group.* **Wen P, Macdonald D, Reardon D, Cloughesy T, Sorensen A, Galanis E et al.** 2010, Journal of Clinical Oncology, pp. 11:1963-72.

112. *Response criteria for phase II studies of supratentorial malignant glioma.* **Macdonald DR, Cascino TL, Schold SC Jr, Cairncross JG.** 1990, J Clin Oncol., pp. 8(7):1277-80.

113. *MGMT promoter methylation status can predict the incidence and outcome of pseudoprogression after concomitant radiochemotherapy in newly diagnosed glioblastoma patients.* **Brandes AA,**

**Franceschi E, Tosoni A, Blatt V, Pession A, Tallini G, Bertorelle R, Bartolini S, Calbucci F, Andreoli A, Frezza G, Leonardi M, Spagnolli F, Ermani M .** 2008, J Clin Oncol, pp. 26:2192-2197.

114. *Therapeutic options in recurrent glioblastoma—An update.* **Seystahl K, Wick W, Weller M.** 2016, Crit Rev Oncol Hematol., pp. 99:389-408.

115. *Is reoperation for recurrence of glioblastoma justified?* **Guyotat J, Signorelli F, Frappaz D, Madarassy G, Ricci AC, Bret P.** 2000, Oncol Rep., pp. 7(4):899-904.

116. *Impact of extent of resection for recurrent glioblastoma on overall survival: clinical article.* **Bloch O, Han SJ, Cha S, Sun MZ, Aghi MK, McDermott MW, Berger MS, Parsa AT.** 2012, J Neurosurg., pp. 117(6):1032-8.

117. *Factors impacting survival following second surgery in patients with glioblastoma in the temozolomide treatment era, incorporating neutrophil/lymphocyte ratio and time to first progression.* **McNamara MG, Lwin Z, Jiang H, Templeton AJ, Zadeh G, Bernstein M, Chung C, Millar BA, Laperriere N, Mason WP.** 2014, J Neurooncol. , pp. 117(1):147-52.

118. *Efficacy of Surgery and Further Treatment of Progressive Glioblastoma.* **Woernle CM, Péus D, Hofer S, Rushing EJ, Held U, Boziniv O, Krayenbuhl N, Weller M, Regli L.** 2015, World Neurosurgery, pp. 84(2):301-7.

119. *A practical scoring system to determine whether to proceed with surgical resection in recurrent glioblastoma.* **Park CK, Kim JH , Nam DH , Kim CY , Chung SB , Kim YH , Seol HJ , Kim TM , Choi SH , Lee SH , Heo DS , Kim IH , Kim DG , Jung HW .** 2013, Neuro-Oncology, pp. 15(8):1096-1101.

120. *Scale to predict survival after surgery for recurrent glioblastoma multiforme.* **Park JK, Hodges T, Arko L, Shen M, Dello Iacono D, McNabb A, Olsen Bailey N, Kreisl TN, Iwamoto FM, Sul J, Auh S, Park GE, Fine HA, Black PM.** 2010, J Clin Oncol., pp. 28(24):3838-43.

121. *Efficacy and tolerability of Temozolomide in alternating weekly regimen in patients with recurrent glioma.* **Wick A, Felsberg J, Steinbach JP, Herrlinger U et al.** 2007, J Clin Oncol., pp. 25:3357-61.

122. *Phase II trial of continuous dose-intense temozolomide in recurrent malignant glioma: RESCUE study.* **Perry JR, Bélanger K, Mason WP, Fulton D, et al.** 2010, J Clin Oncol., pp. 28(12):2051-7.

123. *Phase 2 study of dose-intense temozolomide in recurrent glioblastoma.* **Norden AD, Lesser GJ, Drappatz J, Ligon KL, Hammond SN, Lee EQ, Reardon DR, Fadul CE, Plotkin SR, Batchelor TT, Zhu JJ, Beroukhim R, Muzikansky A, Doherty L, Lafrankie D, Smith K, Tafoya V, Lis R, Stack EC, Rosenfeld MR, Wen PY.** 2013, Neuro Oncol, pp. 15(7):930-35.

124. *The hypermethylation of the O6-methylguanine-DNA Methyltransferase Gene promoter in gliomas - Correlation with Array Comparative Genome Hybridation results and IDH1 mutation.* **Tuononen K, Tyninen O, Kau Sarhadi V, Tyybäkinoja A, Paetau A, Knuutila S, et al.** 2012, Genes, chromosomes et cancer, pp. 51:20-29.

125. *Genetic pathways to glioblastoma: a population-based study.* **Ohgaki H, Dessen P, Jourde B, Horstmann S, Nishikawa T, Di Patre PL, et al.** 2004, Cancer Res, pp. 64(19):6892-9.

126. *Impact of genotype and morphology on the prognosis of glioblastoma.* **Schmidt MC, Antweiler S, Urban N, et al.** 2002, J Neuropathol Exp Neurol, pp. 61:321-328.

127. *Association of loss of heterozygosity with shorter suvival in primary glioblastoma patients.* **Jesionek-Kupnicka D, Szybka M, Potemski P, Kulczycka Wojdala D, Kordek R, Zawlik I, et al.** 2013, Pol J Pathol, pp. 64(4):268-75.

128. *Molecular predictors of progression-free and overall survival in patients with newly diagnosed glioblastoma: a prospective translational study of the German Glioma Network.* **Weller M, Felsberg J, Hartmann C, Berger H, Steinbach JP, Schramm J, et al.** 2009, J Clin Oncol, pp. 27(34):5743-50.

129. *Prognostic impact of molecular markers in a series of 220 primary glioblastomas.* **Houillier C, Lejeune J, Benouaich-Amiel A, Laigle-Donadey F, Hoang-Xuan K, Sanson M, et al.** 2006, Cancer, pp. 106:2218-23.

130. *Age-dependant prognostic effects of genetic alterations in glioblastoma.* **Batchelor TT, Betensky RA, Esposito JM, et al.** 2004, Clin Cancer Res, pp. 10:228-233.

131. *Survival of patients with glioblastoma multiforme is not influenced by altered expression of p16, p53, EGFR, MDM2 or Bcl2 genes.* **Newcomb EW, Cohen H, Lee SR, et al.** 1998, Brain Pathol, pp. 8(4):655-667.

132. *Clinically distinct subgroups of glioblastoma multiforme studied by comparative genomic hybridisation.* **Weber RG, Sommer C, Albert FK, Kiessling M, Cremer T.** 1996, Lab invest, pp. 74:108-119.

133. *Validation of the high-performance of Pyrosequencing for clinical MGMT testing on a cohort of glioblastoma patients from a prospective dedicated multicentric trial.* **Quillien V, Lavenu A, Ducray F, Joly MA, Chinot O, Fina F, Sanson M, Carpentier C, Karayan-Tapon L, Rivet P, Entz-Werle N, Legrain M, Lechapt Zalcman E, Levallet G, Escande F, Ramirez C, Chiforeanu DC, Vauléon E, Figarella-Branger D.** 2016, Oncotarget, pp. 7(38):61916-61929.

134. *Comparative assesment of 5 methods (methylation-specific polymerase chain reaction, MethyLight, Pyrosequencing, methylation-sensitive high-resolution melting, and immunohistochemistry) to analyse MGMT in a serie of 100 glioblastoma patients.* **Quillien V, Lavenu A, Karayan-Tapon L, Carpentier C, Labussière M, Lesimple T, Chinot O, Wagner M, Honnorat J, Saikali S, Fina F, Sanson M, Figarella-Branger D.** 2012, Cancer, pp. 118(17):4201-11.

135. *Prognostic value of O6-methylguanine-DNA methyltransferase status in glioblastoma patients, assessed by five different methods.* **Karayan-Tapon L, Quillien V, Guilhot J, Wager M, Vallette FM, Gratas-Rabbia-Re C, et al.** 2010, J Neurooncol, pp. 97:311-322.

136. *Optimization of quantitative MGMT promoter methylation analysis using pyrosequencing and combined bisulfite restriction analysis.* **Mikeska T, Bock C, El-Maari O, Hubner A, Pietch T, Waha A, et al.** 2007, J Mol Diagn, pp. 9:368-381.

137. *Diagnosis of chromosomal abnormalities by array CGH in constitutional pathology: The end of the first-line karyotype.* **Malan V, Romana S.** 2012, Archives de Pédiatrie, pp. 19:437-442.

138. *MGMT testing: the challenges for biomarker-based glioma treatment.* **Wick, W, et al.** 2014, Nat Rev Neurol., pp. 10(7):372-85.

139. *Long-term survival with glioblastoma multiforme.* **Krex D, Klink B, Hartmann C, von Deimling A, Pietsch T, Simon M, et al.** 2007, Brain, pp. 130:2596-606.

140. *Bevacizumab Plus Irinotecan Versus Temozolomide in Newly Diagnosed O6-Methylguanine–DNA Methyltransferase Nonmethylated Glioblastoma: The Randomized GLARIUS Trial.* **Ulrich Herrlinger, Niklas Schäfer , Joachim P. Steinbach , Astrid Weyerbrock , Peter Hau , Roland Goldbrunner , Franziska Friedrich , Veit Rohde , Florian Ringel , Uwe Schlegel , Claus Belka , Walter Stummer , Martin Glas et al.** 2016, J Clin Oncol., pp. 34 (14): 1611-9.

141. *Enzastaurin before and concomitant with radiation therapy, followed by enzastaurin maintenance therapy, in patients with newly diagnosed glioblastoma without MGMT promoter hypermethylation.* **Wick W, Steinbach JP, Platten M, Hartmann C, Wenz F, von Deimling A, Shei P, Moreau-Donnet V, C Stoffregen, Combs SE.** 2013, Neuro Oncol, pp. 15:1405-1412.

142. *Targeted therapy in glioblastoma: update and perspectives.* **Idbaih A., Duran-Pena A., Alentorn A.** 2015, Bull. Acad. Natle Méd., pp. 199(8-9):1323-129.

143. *Advances in Experimental Targeted Therapy and Immunotherapy for Patients with Glioblastoma Multiforme.* **Polivka J Jr, Polivka J, Holubec L, Kubikova T, Priban V, Hes O, Pivovarcikova K, Treskova I.** 2017, Anticancer Res., pp. 37(1):21-33.

144. *Glioblastoma targeted therapy: updated approaches from recent biological insights.* **Touat M, Idbaih A, Sanson M, Ligon KL.** 2017, Ann Oncol. , pp. 28(7):1457-1472.

145. *Expression of VEGF and brain specific angiogenesis inhibitor-1 in glioblastoma: prognostic significance.* **Nam D-H, Park K ,Suh YL ,Kim J-H.** 2004, Oncol Rep, pp. 11 : 863 - 869.

146. *Bevacizumab Alone and in Combination With Irinotecan in Recurrent Glioblastoma.* **Friedman HS, Prados MD ,Wen PY ,Mikkelsen T ,Schiff D ,Abrey LE ,Yung WKA ,Paleologos N ,Nicholas MK ,Jensen R ,Vredenburgh J ,Huang J ,Zheng M ,Cloughesy T.** 2009, J Clin Oncol, pp. 27(28):4733-4740.

147. *Phase II trial of single-agent bevacizumab followed by bevacizumab plus irinotecan at tumor progression in recurrent glioblastoma.* **Kreisl TN, Kim L, Moore K, Duic P, Royce C, Stroud I, Garren N, Mackey M, Butman JA, Camphausen K, Park J, Albert PS, Fine HA.** 2009, J Clin Oncol, pp. 27:740-745.

148. *Bevacizumab treatment for newly diagnosed glioblastoma: Systematic review and meta-analysis of clinical trials.* **Fu P, Il Y-S ,Huang Q ,Ding T ,Cen Y-C ,Zhao H-Y ,Wei X.** 2016, Mol Clin Oncol, pp. 4:833-838.

149. *EORTC 26101 phase III trial exploring the combination of bevacizumab and lomustine in patients with first progression of a glioblastoma.* **Wick W, Brandes AA ,Gorlia T ,Bendszus M ,Sahm F ,Taal W ,Taphoorn MJB ,Domont J ,Idbaih A ,Campone M ,Clément PM ,Stupp R ,Fabbro M ,Rhun EL ,Dubois F ,Klein M ,Platten M ,Weller M ,Golfinopoulos V ,Bent MJVD.** 2016, J Clin Oncol.

150. *A Randomized Trial of Bevacizumab for Newly Diagnosed Glioblastoma.* **Gilbert MR, Dignam JJ ,Armstrong TS ,Wefel JS ,Blumenthal DT ,Vogelbaum MA ,Colman H ,Chakravarti A ,Pugh S ,A gagné M ,Jeraj R ,Brown PD ,Jaeckle KA ,Schiff D ,Stieber VW ,Brachman DG ,Werner-**

**Wasik M ,Tremont-Lukats IW, Aldape KD, Curran WJ, Mehta MP.** 2014, N Engl J Med, pp. 370:699-708.

151. *Bevacizumab plus Radiotherapy–Temozolomide for Newly Diagnosed Glioblastoma.* **Chinot OL, Wick W ,Le maçon W ,Henriksson R ,Saran F ,Nishikawa R ,Carpentier AF ,Hoang-Xuan K ,Kavan P ,Cernea D ,Brandes AA ,Hilton M ,Abrey L ,Cloughesy T.** 2014, N Engl J Med, pp. 370:709-722.

152. *Phase II study of cediranib, an oral pan–vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, in patients with recurrent glioblastoma.* **Batchelor TT, Duda DG ,di Tomaso E ,Ancukiewicz M ,Plotkin SR ,Gerstner E ,Eichler AF ,Drappatz J ,Hochberg FH ,Benner T ,Louis DN ,Cohen KS ,Chea H ,Exarhopoulos A ,Loeffler JS ,Moïse MA ,Ivy P ,Sorensen AG ,Wen PY ,Jain RK.** 2010, J Clin Oncol., pp. 28: 2817-2823.

153. *Phase III Randomized Trial Comparing the Efficacy of Cediranib As Monotherapy, and in Combination With Lomustine, Versus Lomustine Alone in Patients With Recurrent Glioblastoma.* **Batchelor TT, Mulholland P ,Neyns B ,Nabors LB ,Campone M ,Mèche A ,Le maçon W ,Mikkelsen T ,Phuphanich S ,Ashby LS ,Degroot J ,Gattamaneni R ,Cher L ,Rosenthal M ,Payeur F ,Jürgensmeier JM ,Jain RK ,Sorensen AG ,Xu J ,Liu Q ,van den Bent M.** 2013, J Clin Oncol., pp. 31(26):3212 - 3218.

154. *Randomized Phase II Study of Cilengitide, an Integrin-Targeting Arginine-Glycine-Aspartic Acid Peptide, in Recurrent Glioblastoma Multiforme.* **Reardon DA, Fink KL ,Mikkelsen T ,Cloughesy TF ,O'Neill A ,Plotkin S ,Glantz M ,Ravin P ,Raizer JJ ,Rich KM ,Schiff D ,Shapiro WR ,Burdette-Radoux S ,Dropcho EJ ,Wittemer SM ,Nippgen J ,Picard M ,Nabors LB.** 2008, J Clin Oncol, pp. 26(34):5610-7.

155. *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.* **Stupp R, Hegi ME ,Gorlia T ,Erridge SC ,Perry J ,Hong Y-K ,Aldape KD ,Lhermitte B ,Pietsch T ,Grujicic D ,Steinbach JP ,Wick W ,Tarnawski R ,Nam D-H ,Hau P ,Weyerbrock A ,Taphoorn MJB ,Markivskyy A ,Picard M ,Weller M et al.** 2014, Lancet Oncol, pp. 15(10):1100-1108.

156. *Phase II Study of Aflibercept in Recurrent Malignant Glioma: A North American Brain Tumor Consortium Study.* **de Groot JF, Lamborn KR ,Chang SM ,Gilbert MR ,Cloughesy TF ,Aldape K ,Yao J ,Jackson EF ,Lieberman F ,Robins HI ,Mehta MP ,Lassman AB ,Deangelis LM ,Yung WKA ,Chen A ,Prados MD ,Wen PY.** 2011, J Clin Oncol, pp. 29(19):2689-2695.

157. *Programmed death ligand 1 expression and tumor-infiltrating lymphocytes in glioblastoma.* **Berghoff AS, Kiesel B, Widhalm G, Rajky O, Ricken G, Wöhrer A, Dieckmann K, Filipits M, Brandstetter A, Weller M, Kurscheid S, Hegi ME, Zielinski CC, Marosi C, Hainfellner JA, Preusser M, Wick W.** 2015, Neuro Oncol., pp. 17(8): 1064–1075.

158. *Immune Checkpoint Blockade in Cancer Therapy.* **Michael A. Postow, Margaret K. Callahan, and Jedd D. Wolchok.** 2015, J Clin Oncol., pp. 33(17): 1974–1982.

159. *Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer.* **Brahmer JR, Tykodi SS , Chow LQ , Hwu WJ , Topalian SL , Hwu P , Drake CG , Camacho LH , Kauh J , Odunsi K , Pitot HC , Hamid S , Bhatia S , Martins R , Eaton K , Chen S , Salay TM , Alaparthy S, Gupta A, Wiggintin JM et al.** 2012, N Engl J Med., pp. 366 (26): 2455-65.

160. *Structural alterations of the epidermal growth factor receptor gene in human gliomas.* **AJ Wong, JM Ruppert , SH Bigner , CH Grzeschik , PA Humphrey , DS Bigner et B Vogelstein.** 1992, Proc Natl Acad Sci U S A. , pp. 89(7): 2965–2969.

161. *Prognostic effect of epidermal growth factor receptor and EGFRvIII in glioblastoma multiforme patients.* **Heimberger AB, Hlatky R, Suki D, Yang D, Weinberg J, Gilbert M, Sawaya R, Aldape K.** 2005, Clin Cancer Res, pp. 11:1462–1466.

162. *Anti-synthetic peptide antibody reacting at the fusion junction of deletion-mutant epidermal growth factor receptors in human glioblastoma.* **Humphrey PA, Wong AJ, Vogelstein B, Zalutsky MR, Fuller GN, Archer GE, Friedman HS, Kwatra MM, Bigner SH, Bigner DD.** 1990, Proc Natl Acad Sci U S A., pp. 87:4207–4211.

163. *Mutant epidermal growth factor receptor (EGFRvIII) contributes to head and neck cancer growth and resistance to EGFR targeting.* **Sok JC, Coppelli FM, Thomas SM, Lango MN, Xi S, Hunt JL, Freilino ML, Graner MW, Wikstrand CJ, Bigner DD, Gooding WE, Furnari FB, Grandis JR.** 2006, Clin Cancer Res. , pp. 12:5064–5073.

164. *Immune responses of breast cancer patients to mutated epidermal growth factor receptor (EGF-RvIII, Delta EGF-R, and de2-7 EGF-R).* **Purev E, Cai D, Miller E, Swoboda R, Mayer T, Klein-Szanto A, Marincola FM, Mick R, Otvos L, Wunner W, Birebent B, Somasundaram R, Wikstrand CJ, Bigner D, DeMichele A, Acs G, Berlin JA, Herlyn D.** 2004, J Immunol. , pp. 173:6472–6480.

165. *Evidence of high incidence of EGFRvIII expression and coexpression with EGFR in human invasive breast cancer by laser capture microdissection and immunohistochemical analysis.* **Ge H, Gong X, Tang CK.** 2002, Int J Cancer., pp. 98:357–361.

166. *Monoclonal antibodies against EGFRvIII are tumor specific and react with breast and lung carcinomas and malignant gliomas.* **Wikstrand CJ, Hale LP, Batra SK, Hill ML, Humphrey PA, Kurpad SN, McLendon RE, Moscatello D, Pegram CN, Reist CJ, et al.** 1995, Cancer Res., pp. 55:3140–3148.

167. *Immunologic escape after prolonged progression-free survival with epidermal growth factor receptor variant III peptide vaccination in patients with newly diagnosed glioblastoma.* **Sampson JH, Heimberger AB, Archer GE, Aldape KD, Friedman AH, Friedman HS, Gilbert MR, Herndon JE, McLendon RE, Mitchell DA, Reardon DA, Sawaya R, Schmittling RJ, Shi W, Vredenburgh JJ, Bigner DD.** 2010, J Clin Oncol, pp. 28(31):4722-9.

168. *Rindopepimut with temozolomide for patients with newly diagnosed, EGFRvIII-expressing glioblastoma (ACT IV): a randomised, double-blind, international phase 3 trial.* **Weller M, Butowski N, Tran DD, Recht LD, Lim M, Hirte H, Stupp R, Sampson JH, et al.** 2017, Lancet Oncol, pp. 18(10):1373-1385.

# ANNEXES

**Annexe 1 : Statut de performance de Karnofsky (KPS) - 1949**

| indice | description |
|---|---|
| 100 | Normal ; aucune plainte, aucun signe de maladie. |
| 90 | En mesure de poursuivre une activité normale ; signes ou symptômes mineurs de maladie. |
| 80 | Activité normale, avec un effort ; quelques signes ou symptômes de maladie. |
| 70 | Autonome ; incapable de poursuivre une activité normale ou de travailler de façon active. |
| 60 | Nécessité occasionnelle d'assistance mais capacité de pourvoir à ses besoins essentiels. |
| 50 | Nécessité d'aide considérable à la personne, soins médicaux fréquents. |
| 40 | Invalide ; nécessité de soins et d'assistance spécifiques. |
| 30 | Complètement invalide ; indication d'hospitalisation, pas de risque imminent de décès. |
| 20 | Très malade ; hospitalisation nécessaire, traitement actif ou de support nécessaire. |
| 10 | Moribond ; issue fatale proche. |
| 0 | Décédé. |

**Annexe 2: Statut de performance de l'OMS/ ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) - 1982**

| indice | description |
|---|---|
| 0 | Asymptomatique (activité normale : aucune restriction à poursuivre les activités précédant l'affection). |
| 1 | Symptomatique (gêné pour les activités physiques soutenues mais capable de se déplacer seul et d'assurer un travail léger ou sédentaire, par exemple un travail de bureau ou le ménage). |
| 2 | Symptomatique, alité moins de 50 % de la journée (capable de se déplacer seul et de s'occuper de soi-même mais incapable de produire un travail léger). |
| 3 | Symptomatique, alité plus de 50 % de la journée, sans y être confiné (capable de prendre soin de soi-même de manière limitée, alité ou confiné au fauteuil plus de 50 % de la journée). |
| 4 | Confiné au lit (totalement dépendant, incapable de prendre soin de soi-même, confiné au lit ou au fauteuil). |
| 5 | Mort. |

**Annexe 3 : Equivalence entre le statut de performance de Karnofsky et celui de l'OMS**

| OMS | KPS |
|---|---|
| 0-1 | 80-100 |
| 2 | 60-70 |
| 3-4 | 10-50 |
| 5 | 0 |

**<u>Annexe 4 :</u> Classification OMS 2016 des tumeurs du SNC**

# WHO classification of tumours of the central nervous system

| | |
|---|---|
| **Diffuse astrocytic and oligodendroglial tumours** | |
| Diffuse astrocytoma, IDH-mutant | 9400/3 |
| Gemistocytic astrocytoma, IDH-mutant | 9411/3 |
| *Diffuse astrocytoma, IDH-wildtype* | *9400/3* |
| Diffuse astrocytoma, NOS | 9400/3 |
| Anaplastic astrocytoma, IDH-mutant | 9401/3 |
| *Anaplastic astrocytoma, IDH-wildtype* | *9401/3* |
| Anaplastic astrocytoma, NOS | 9401/3 |
| Glioblastoma, IDH-wildtype | 9440/3 |
| Giant cell glioblastoma | 9441/3 |
| Gliosarcoma | 9442/3 |
| *Epithelioid glioblastoma* | *9440/3* |
| Glioblastoma, IDH-mutant | 9445/3* |
| Glioblastoma, NOS | 9440/3 |
| Diffuse midline glioma, H3 K27M–mutant | 9385/3* |
| Oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted | 9450/3 |
| Oligodendroglioma, NOS | 9450/3 |
| Anaplastic oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted | 9451/3 |
| *Anaplastic oligodendroglioma, NOS* | *9451/3* |
| *Oligoastrocytoma, NOS* | *9382/3* |
| *Anaplastic oligoastrocytoma, NOS* | *9382/3* |
| **Other astrocytic tumours** | |
| Pilocytic astrocytoma | 9421/1 |
| Pilomyxoid astrocytoma | 9425/3 |
| Subependymal giant cell astrocytoma | 9384/1 |
| Pleomorphic xanthoastrocytoma | 9424/3 |
| Anaplastic pleomorphic xanthoastrocytoma | 9424/3 |
| **Ependymal tumours** | |
| Subependymoma | 9383/1 |
| Myxopapillary ependymoma | 9394/1 |
| Ependymoma | 9391/3 |
| Papillary ependymoma | 9393/3 |
| Clear cell ependymoma | 9391/3 |
| Tanycytic ependymoma | 9391/3 |
| Ependymoma, *RELA* fusion–positive | 9396/3* |
| Anaplastic ependymoma | 9392/3 |
| **Other gliomas** | |
| Chordoid glioma of the third ventricle | 9444/1 |
| Angiocentric glioma | 9431/1 |
| Astroblastoma | 9430/3 |
| **Choroid plexus tumours** | |
| Choroid plexus papilloma | 9390/0 |
| Atypical choroid plexus papilloma | 9390/1 |
| Choroid plexus carcinoma | 9390/3 |

| | |
|---|---|
| **Neuronal and mixed neuronal-glial tumours** | |
| Dysembryoplastic neuroepithelial tumour | 9413/0 |
| Gangliocytoma | 9492/0 |
| Ganglioglioma | 9505/1 |
| Anaplastic ganglioglioma | 9505/3 |
| Dysplastic cerebellar gangliocytoma (Lhermitte–Duclos disease) | 9493/0 |
| Desmoplastic infantile astrocytoma and ganglioglioma | 9412/1 |
| Papillary glioneuronal tumour | 9509/1 |
| Rosette-forming glioneuronal tumour | 9509/1 |
| *Diffuse leptomeningeal glioneuronal tumour* | |
| Central neurocytoma | 9506/1 |
| Extraventricular neurocytoma | 9506/1 |
| Cerebellar liponeurocytoma | 9506/1 |
| Paraganglioma | 8693/1 |
| **Tumours of the pineal region** | |
| Pineocytoma | 9361/1 |
| Pineal parenchymal tumour of intermediate differentiation | 9362/3 |
| Pineoblastoma | 9362/3 |
| Papillary tumour of the pineal region | 9395/3 |
| **Embryonal tumours** | |
| Medulloblastomas, genetically defined | |
| Medulloblastoma, WNT-activated | 9475/3* |
| Medulloblastoma, SHH-activated and *TP53*-mutant | 9476/3* |
| Medulloblastoma, SHH-activated and *TP53*-wildtype | 9471/3 |
| Medulloblastoma, non-WNT/non-SHH | 9477/3* |
| *Medulloblastoma, group 3* | |
| *Medulloblastoma, group 4* | |
| Medulloblastomas, histologically defined | |
| Medulloblastoma, classic | 9470/3 |
| Medulloblastoma, desmoplastic/nodular | 9471/3 |
| Medulloblastoma with extensive nodularity | 9471/3 |
| Medulloblastoma, large cell / anaplastic | 9474/3 |
| Medulloblastoma, NOS | 9470/3 |
| Embryonal tumour with multilayered rosettes, C19MC-altered | 9478/3* |
| *Embryonal tumour with multilayered rosettes, NOS* | *9478/3* |
| Medulloepithelioma | 9501/3 |
| CNS neuroblastoma | 9500/3 |
| CNS ganglioneuroblastoma | 9490/3 |
| CNS embryonal tumour, NOS | 9473/3 |
| Atypical teratoid/rhabdoid tumour | 9508/3 |
| *CNS embryonal tumour with rhabdoid features* | *9508/3* |
| **Tumours of the cranial and paraspinal nerves** | |
| Schwannoma | 9560/0 |
| Cellular schwannoma | 9560/0 |
| Plexiform schwannoma | 9560/0 |

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

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

## <u>Annexe 5 :</u> Critères clinico-radiologiques RANO

**Table 3.** Criteria for Response Assessment Incorporating MRI and Clinical Factors

| Response | Criteria |
|---|---|
| Complete response | Requires all of the following: complete disappearance of all enhancing measurable and nonmeasurable disease sustained for at least 4 weeks; no new lesions; stable or improved nonenhancing (T2/FLAIR) lesions; patients must be off corticosteroids (or on physiologic replacement doses only); and stable or improved clinically. Note: Patients with nonmeasurable disease only cannot have a complete response; the best response possible is stable disease. |
| Partial response | Requires all of the following: ≥ 50% decrease compared with baseline in the sum of products of perpendicular diameters of all measurable enhancing lesions sustained for at least 4 weeks; no progression of nonmeasurable disease; no new lesions; stable or improved nonenhancing (T2/FLAIR) lesions on same or lower dose of corticosteroids compared with baseline scan; the corticosteroid dose at the time of the scan evaluation should be no greater than the dose at time of baseline scan; and stable or improved clinically. Note: Patients with nonmeasurable disease only cannot have a partial response; the best response possible is stable disease. |
| Stable disease | Requires all of the following: does not qualify for complete response, partial response, or progression; stable nonenhancing (T2/FLAIR) lesions on same or lower dose of corticosteroids compared with baseline scan. In the event that the corticosteroid dose was increased for new symptoms and signs without confirmation of disease progression on neuroimaging, and subsequent follow-up imaging shows that this increase in corticosteroids was required because of disease progression, the last scan considered to show stable disease will be the scan obtained when the corticosteroid dose was equivalent to the baseline dose. |
| Progression | Defined by any of the following: ≥ 25% increase in sum of the products of perpendicular diameters of enhancing lesions compared with the smallest tumor measurement obtained either at baseline (if no decrease) or best response, on stable or increasing doses of corticosteroids*; significant increase in T2/FLAIR nonenhancing lesion on stable or increasing doses of corticosteroids compared with baseline scan or best response after initiation of therapy* not caused by comorbid events (eg, radiation therapy, demyelination, ischemic injury, infection, seizures, postoperative changes, or other treatment effects); any new lesion; clear clinical deterioration not attributable to other causes apart from the tumor (eg, seizures, medication adverse effects, complications of therapy, cerebrovascular events, infection, and so on) or changes in corticosteroid dose; failure to return for evaluation as a result of death or deteriorating condition; or clear progression of nonmeasurable disease. |

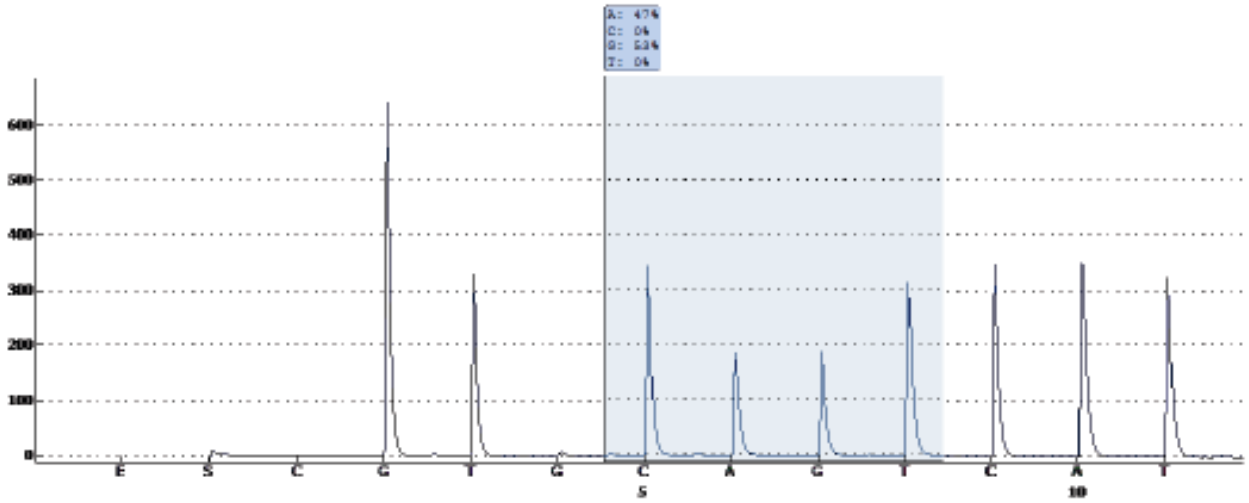
NOTE. All measurable and nonmeasurable lesions must be assessed using the same techniques as at baseline.
Abbreviations: MRI, magnetic resonance imaging; FLAIR, fluid-attenuated inversion recovery.
*Stable doses of corticosteroids include patients not on corticosteroids.

## **Annexe 6 :** Résultats biologiques de GBM *IDH muté*

Les résultats suivant sont issus du même patient qui présente un GBM *IDH* muté (mutation *IDH1* R132H), avec hyperméthylation du promoteur du gène *MGMT* et perte du chromosome 10q (incluant le locus du gène *MGMT*).

**Well: A1**
Assay: IDH1
Sample ID: I-990
Note:
Analysis version: 2.0.7

Analysis parameters have been edited.




Sequence to analyze:
GGTCNTCATGCTTAT

| Position | 1 |
|---|---|
| Quality | Passed |
| A (%) | 47 |
| C (%) | 0 |
| G (%) | 53 |
| T (%) | 0 |

No warnings.

Figure 37 : Résultat du screening du gène *IDH1* en pyroséquençage chez un patient atteint d'un GBM *IDH* muté: présence de la mutation *IDH1* R132H.

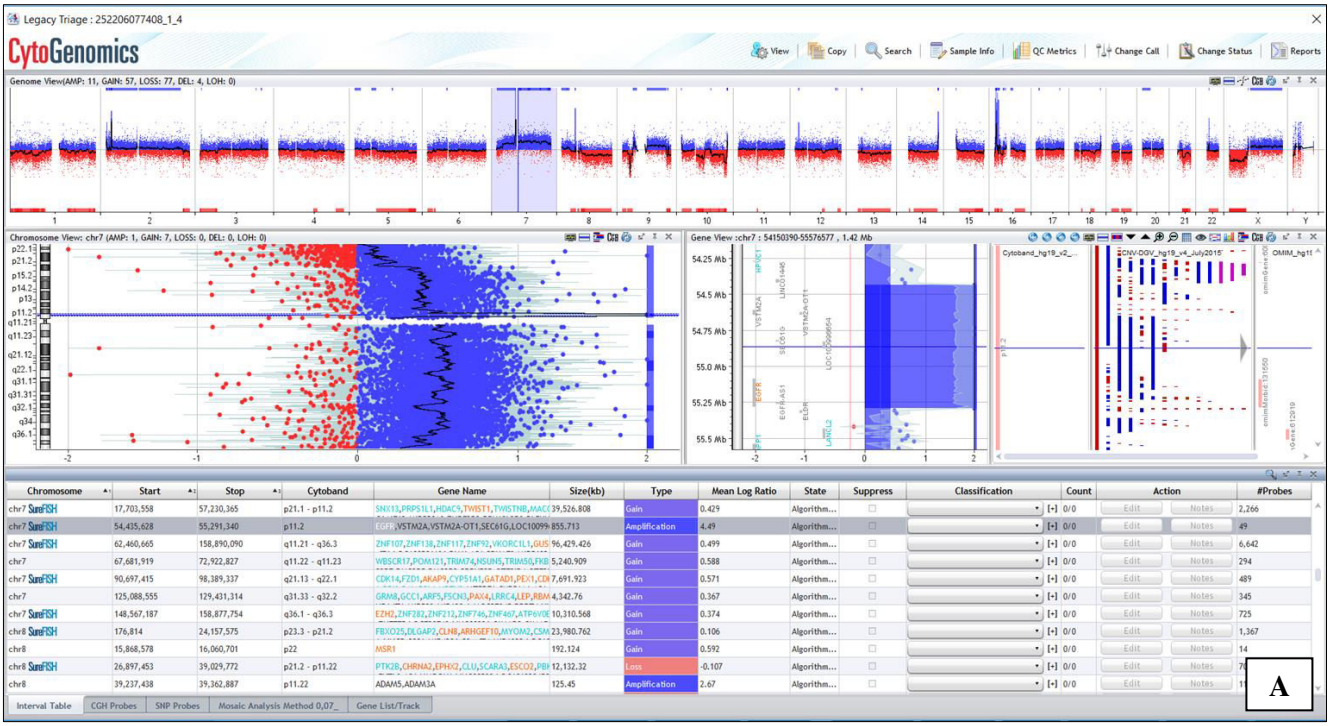
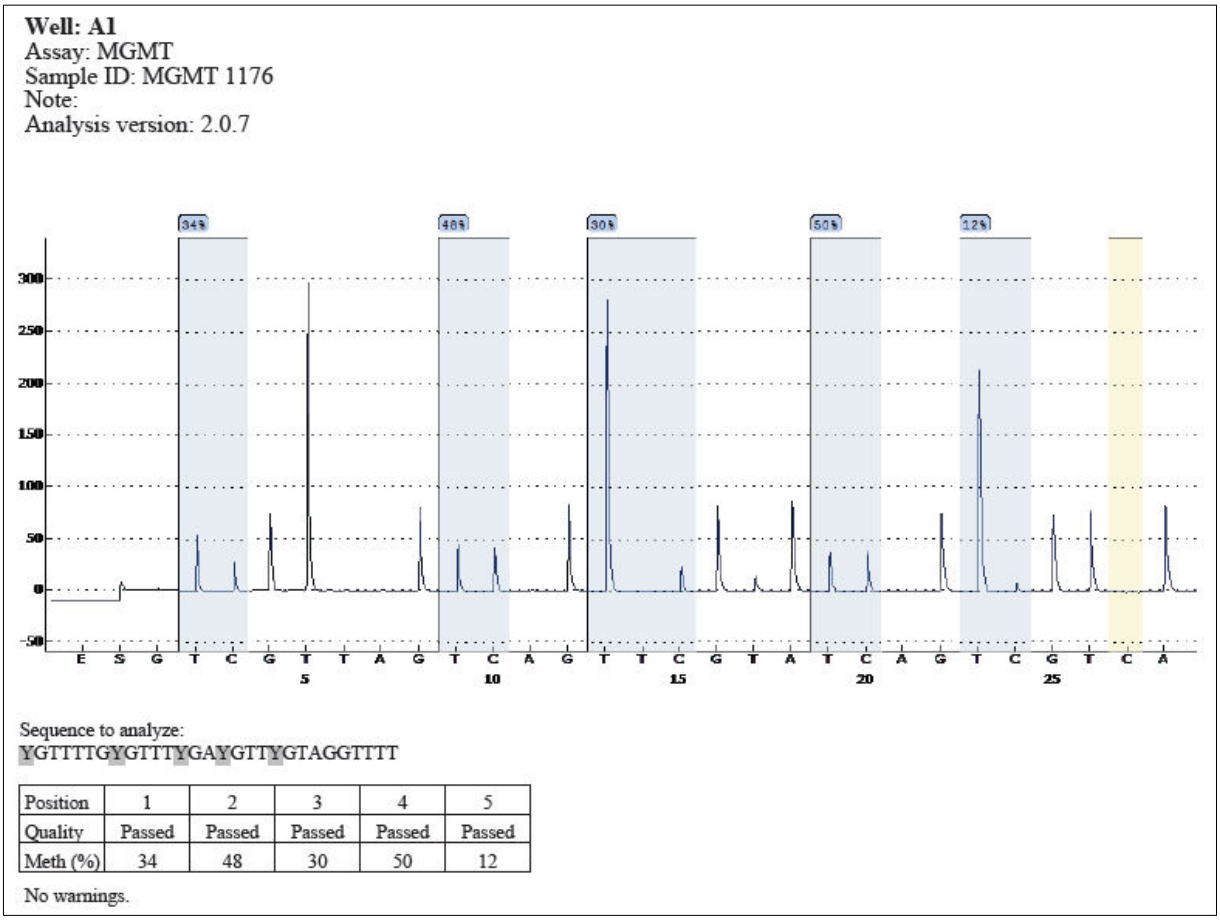


Figure 38 : Résultat de CGH array chez un patient atteint d'un GBM secondaire : gain du chromosome 7 en entier (log ratio=+0,4) incluant le gène *MET* et avec amplification supplémentaire du gène *EGFR* (log ratio=+4,5) (A). Perte partielle du chromosome 10 (log ratio=-0,4) incluant les gènes *PTEN* et *MGMT* (B).




| Position | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|
| Quality | Passed | Passed | Passed | Passed | Passed |
| Meth (%) | 34 | 48 | 30 | 50 | 12 |

No warnings.

Figure 39 : Résultat de méthylation du promoteur du gène *MGMT* en pyroséquençage chez un patient atteint d'un GBM *IDH* muté: présence d'une hyperméthylation du promoteur du gène *MGMT* (35%). Le pourcentage moyen de méthylation du gène *MGMT* est supérieur au seuil considéré comme cliniquement significatif (8%).

## RESUME

CONTEXTE : Le glioblastome (GBM) est la tumeur primitive maligne du système nerveux central la plus fréquente et la plus agressive chez l'adulte. Le standard thérapeutique (protocole de Stupp) consiste actuellement en une résection chirurgicale optimale (lorsque cela est possible) suivi d'une radiothérapie encéphalique associée à une chimiothérapie alkylante concomitante par témozolomide (TMZ), puis de TMZ adjuvant. Il est admis par la communauté scientifique que l'inactivation épigénétique du gène *MGMT* par méthylation de sa région promotrice, régulant ainsi négativement son expression, est un facteur de bon pronostic et est prédictif de la réponse au traitement par TMZ. Le gène *MGMT* est situé sur le chromosome 10 en position q26.3 et la perte du bras long du chromosome 10 est fréquemment observée dans le GBM (70%). Il serait alors possible que, chez les patients avec une hyperméthylation du promoteur de *MGMT*, la perte du chromosome 10q puisse conférer une meilleure sensibilité au traitement par TMZ via la double inactivation de *MGMT* (1 allèle supprimé et 1 allèle méthylé). L'objectif principal de l'étude était de comparer la survie globale et la survie sans progression en fonction du statut de méthylation du promoteur du gène *MGMT* et du statut du chromosome 10q chez des patients atteints d'un GBM.

METHODES : Nous avons mené une étude rétrospective multicentrique chez des patients atteints d'un GBM et traités initialement selon le protocole de Stupp. L'étude de l'état de méthylation du promoteur du gène *MGMT* (par pyroséquençage) et du statut du 10q (par CGH array - array comparative genomic hybridization) a été réalisée pour chaque échantillon. Les patients ont alors été répartis en 4 groupes : patients avec méthylation du promoteur de *MGMT* et perte du 10q, patients avec méthylation du promoteur de *MGMT* et sans perte du 10q, patients sans méthylation du promoteur de *MGMT* et perte du 10q, et patients sans méthylation du promoteur de *MGMT* et sans perte du 10q.

RESULTATS : Au total, 149 patients ont été inclus. La présente étude montre que la perte du chromosome 10q, associée à l'hyperméthylation du promoteur du gène *MGMT*, prolonge significativement la survie globale (p=0,0024) et la survie sans progression (p=0,031) des patients atteints d'un GBM traités initialement selon le protocole de Stupp. Chez les patients hyperméthylés, la perte du 10q était un marqueur de meilleur pronostic avec une médiane de survie globale supérieure de 9,5 mois par rapport aux patients hyperméthylés sans perte du 10q. A partir de 6 mois de suivi, il existait une réduction relative du risque de décès de 53% (HR=0,47 ; IC à 95% [0,14-0,96]) dans le groupe hyperméthylé avec perte du 10q par rapport au groupe hyperméthylé sans perte du 10q. De plus, cette double inactivation de *MGMT* permettait la sélection d'une population de patients longs répondeurs au traitement par TMZ (survie globale >30 mois), tous hyperméthylés avec perte du 10q.

CONCLUSIONS : Notre étude est, à notre connaissance, la première à démontrer l'intérêt pronostic du statut du chromosome 10q, en association avec l'état de méthylation du promoteur du gène *MGMT*, chez des patients atteints d'un GBM. Nos données suggèrent que le sous-groupe moléculaire caractérisé par la perte du 10q et l'hyperméthylation du promoteur de *MGMT* est de meilleur pronostic et présente un bénéfice plus important au traitement par TMZ. Les résultats de notre étude peuvent être d'utilité clinique immédiate puisque le statut du 10q ainsi que l'état de méthylation du promoteur de *MGMT* sont systématiquement analysés en routine pour tous les patients atteints d'un GBM suivis au CHU de Poitiers.



Mots clés : glioblastome, perte du chromosome 10q, méthylation du promoteur du gène *MGMT*, survie, facteur pronostic, protocole de Stupp, témozolomide, pyroséquençage, CGH array.

**UNIVERSITE DE POITIERS**

Faculté de Médecine et de Pharmacie

# SERMENT D'HIPPOCRATE

⌘⌖⌘⌖⌘

En présence des Maîtres de cette école, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime. Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

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 !

⌘⌖⌘⌖⌘