

UNIVERSITÉ TOULOUSE III – PAUL SABATIER
FACULTÉS DE MÉDECINE

ANNÉE 2020

2020 TOU3 1579

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

MÉDECINE SPÉCIALISÉE CLINIQUE

Oncologie Radiothérapie

Présentée et soutenue publiquement

par

Céline DALMASSO

le 16 Septembre 2020

**ÉTUDE DE L'EXPRESSION DE LA PROTEINE S100A9 DANS LA
RÉPONSE À LA RADIOTHÉRAPIE DES MÉTASTASES
CÉRÉBRALES DE PRIMITIF PULMONAIRE**

Directeur de thèse : Professeur Elizabeth Moyal

JURY

Monsieur le Professeur Julien MAZIERES

Madame le Professeur Emmanuelle URO-COSTE

Madame le Professeur Elizabeth MOYAL

Monsieur le Docteur Jonathan KHALIFA

Madame le Docteur Aurore SIEGFRIED

Président

Assesseur

Assesseur

Assesseur

Suppléant



TABLEAU du PERSONNEL HOSPITALO-UNIVERSITAIRE
des Facultés de Médecine de l'Université Toulouse III - Paul Sabatier
au 1^{er} septembre 2019

Professeurs Honoraires

Doyen Honoraire	M. CHAP Hugues	Professeur Honoraire	M. FREXINOS Jacques
Doyen Honoraire	M. GUIRAUD-CHAUMEIL Bernard	Professeur Honoraire	Mme GENESTAL Michèle
Doyen Honoraire	M. LAZORTHES Yves	Professeur Honoraire	M. GERAUD Gilles
Doyen Honoraire	M. PUEL Pierre	Professeur Honoraire	M. GHISOLFI Jacques
Doyen Honoraire	M. ROUGE Daniel	Professeur Honoraire	M. GOUZI Jean-Louis
Doyen Honoraire	M. VINEL Jean-Pierre	Professeur Honoraire	M. GUIRAUD CHAUMEIL Bernard
Professeur Honoraire	M. ABBAL Michel	Professeur Honoraire	M. HOFF Jean
Professeur Honoraire	M. ADER Jean-Louis	Professeur Honoraire	M. JOFFRE Francis
Professeur Honoraire	M. ALBAREDE Jean-Louis	Professeur Honoraire	M. LACOMME Yves
Professeur Honoraire	M. ARBUS Louis	Professeur Honoraire	M. LAGARRIGUE Jacques
Professeur Honoraire	M. ARLET Jacques	Professeur Honoraire	Mme LARENG Marie-Blanche
Professeur Honoraire	M. ARLET Philippe	Professeur Honoraire	M. LARENG Louis
Professeur Honoraire	M. ARLET-SUAU Elisabeth	Professeur Honoraire	M. LAURENT Guy
Professeur Honoraire	M. ARNE Jean-Louis	Professeur Honoraire	M. LAZORTHES Franck
Professeur Honoraire	M. BARRET André	Professeur Honoraire	M. LAZORTHES Yves
Professeur Honoraire	M. BARTHE Philippe	Professeur Honoraire	M. LEOPHONTE Paul
Professeur Honoraire	M. BAYARD Francis	Professeur Honoraire	M. MAGNAVAL Jean-François
Professeur Honoraire	M. BOCCALON Henri	Professeur Honoraire	M. MANELFE Claude
Professeur Honoraire	M. BONAFÉ Jean-Louis	Professeur Honoraire	M. MANSAT Michel
Professeur Honoraire	M. BONEU Bernard	Professeur Honoraire	M. MASSIP Patrice
Professeur Honoraire	M. BOUNHOURE Jean-Paul	Professeur Honoraire	Mme MARTY Nicole
Professeur Honoraire	M. BOUTAULT Franck	Professeur Honoraire	M. MAZIERES Bernard
Professeur Honoraire	M. BUGAT Roland	Professeur Honoraire	M. MONROZIES Xavier
Professeur Honoraire	M. CAHUZAC Jean-Philippe	Professeur Honoraire	M. MOSCOVICI Jacques
Professeur Honoraire	M. CARATERO Claude	Professeur Honoraire	M. MURAT
Professeur Honoraire	M. CARLES Pierre	Professeur Honoraire	M. OLIVES Jean-Pierre
Professeur Honoraire	M. CARRIERE Jean-Paul	Professeur Honoraire	M. PASCAL Jean-Pierre
Professeur Honoraire	M. CARTON Michel	Professeur Honoraire	M. PESSEY Jean-Jacques
Professeur Honoraire	M. CATHALA Bernard	Professeur Honoraire	M. PLANTE Pierre
Professeur Honoraire	M. CHABANON Gérard	Professeur Honoraire	M. PONTONNIER Georges
Professeur Honoraire	M. CHAMONTIN Bernard	Professeur Honoraire	M. POURRAT Jacques
Professeur Honoraire	M. CHAVOIN Jean-Pierre	Professeur Honoraire	M. PRADERE Bernard
Professeur Honoraire	M. CLANET Michel	Professeur Honoraire	M. PRIS Jacques
Professeur Honoraire	M. CONTE Jean	Professeur Honoraire	Mme PUEL Jacqueline
Professeur Honoraire	M. COSTAGLIOLA Michel	Professeur Honoraire	M. PUEL Pierre
Professeur Honoraire	M. COTONAT Jean	Professeur Honoraire	M. PUJOL Michel
Professeur Honoraire	M. DABERNAT Henri	Professeur Honoraire	M. QUERLEU Denis
Professeur Honoraire	M. DALOUS Antoine	Professeur Honoraire	M. RAILHAC Jean-Jacques
Professeur Honoraire	M. DALY-SCHWEITZER Nicolas	Professeur Honoraire	M. REGIS Henri
Professeur Honoraire	M. DAVID Jean-Frédéric	Professeur Honoraire	M. REGNIER Claude
Professeur Honoraire	M. DELSOL Georges	Professeur Honoraire	M. REME Jean-Michel
Professeur Honoraire	Mme DELISLE Marie-Bernadette	Professeur Honoraire	M. ROCHE Henri
Professeur Honoraire	Mme DIDIER Jacqueline	Professeur Honoraire	M. ROCHICCIOLI Pierre
Professeur Honoraire	M. DUCOS Jean	Professeur Honoraire	M. ROLLAND Michel
Professeur Honoraire	M. DUFFAUT Michel	Professeur Honoraire	M. ROQUE-LATRILLE Christian
Professeur Honoraire	M. DUPRE M.	Professeur Honoraire	M. RUMEAU Jean-Louis
Professeur Honoraire	M. DURAND Dominique	Professeur Honoraire	M. SALVADOR Michel
Professeur Honoraire associé	M. DUTAU Guy	Professeur Honoraire	M. SALVAYRE Robert
Professeur Honoraire	M. ESCANDE Michel	Professeur Honoraire	M. SARRAMON Jean-Pierre
Professeur Honoraire	M. ESCHAPASSE Henri	Professeur Honoraire	M. SIMON Jacques
Professeur Honoraire	M. ESCOURROU Jean	Professeur Honoraire	M. SUC Jean-Michel
Professeur Honoraire	M. ESQUERRE J.P.	Professeur Honoraire	M. THOUVENOT Jean-Paul
Professeur Honoraire	M. FABIÉ Michel	Professeur Honoraire	M. TKACZUK Jean
Professeur Honoraire	M. FABRE Jean	Professeur Honoraire	M. TREMOULET Michel
Professeur Honoraire	M. FOURNIAL Gérard	Professeur Honoraire	M. VALDIGUIE Pierre
Professeur Honoraire	M. FOURNIE Bernard	Professeur Honoraire	M. VAYSSE Philippe
Professeur Honoraire	M. FORTANIER Gilles	Professeur Honoraire	M. VIRENQUE Christian
Professeur Honoraire	M. FRAYSSE Bernard	Professeur Honoraire	M. VOIGT Jean-Jacques

Professeurs Émérites

Professeur ADER Jean-Louis	Professeur JOFFRE Francis
Professeur ALBAREDE Jean-Louis	Professeur LAGARRIGUE Jacques
Professeur ARBUS Louis	Professeur LARENG Louis
Professeur ARLET-SUAU Elisabeth	Professeur LAURENT Guy
Professeur BOCCALON Henri	Professeur LAZORTHES Yves
Professeur BONEU Bernard	Professeur MAGNAVAL Jean-François
Professeur CARATERO Claude	Professeur MANELFE Claude
Professeur CHAMONTIN Bernard	Professeur MASSIP Patrice
Professeur CHAP Hugues	Professeur MAZIERES Bernard
Professeur CONTE Jean	Professeur MOSCOVICI Jacques
Professeur COSTAGLIOLA Michel	Professeur RISCHMANN Pascal
Professeur DABERNAT Henri	Professeur ROQUES-LATRILLE Christian
Professeur FRAYSSE Bernard	Professeur SALVAYRE Robert
Professeur DELISLE Marie-Bernadette	Professeur SARRAMON Jean-Pierre
Professeur GUIRAUD-CHAUMEIL Bernard	Professeur SIMON Jacques

FACULTE DE MEDECINE TOULOUSE-PURPAN

37 allées Jules Guesde - 31000 TOULOUSE

Doyen : Didier CARRIE

P.U. - P.H.

P.U. - P.H.

Classe Exceptionnelle et 1^{ère} classe

2^{ème} classe

M. ADOUE Daniel (C.E)	Médecine Interne, Gériatrie	Mme BONGARD Vanina	Epidémiologie
M. AMAR Jacques (C.E)	Thérapeutique	M. BONNEVILLE Nicolas	Chirurgie orthopédique et traumatologique
M. ATTAL Michel (C.E)	Hématologie	Mme CASPER Charlotte	Pédiatrie
M. AVET-LOISEAU Hervé (C.E.)	Hématologie, transfusion	M. COGNARD Christophe	Neuroradiologie
Mme BEYNE-RAUZY Odile	Médecine Interne	M. LAIREZ Olivier	Biophysique et médecine nucléaire
M. BIRMES Philippe	Psychiatrie	M. LAROCHE Michel	Rhumatologie
M. BLANCHER Antoine	Immunologie (option Biologique)	M. LEOBON Bertrand	Chirurgie Thoracique et Cardiaque
M. BONNEVILLE Paul (C.E)	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie.	M. LOPEZ Raphael	Anatomie
M. BOSSAVY Jean-Pierre (C.E)	Chirurgie Vasculaire	M. MARTIN-BLONDEL Guillaume	Maladies infectieuses, maladies tropicales
M. BRASSAT David	Neurologie	M. MARX Mathieu	Oto-rhino-laryngologie
M. BROUCHET Laurent	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire	M. MAS Emmanuel	Pédiatrie
M. BROUSSET Pierre (C.E)	Anatomie pathologique	M. OLIVOT Jean-Marc	Neurologie
M. BUREAU Christophe	Hépatogastro-entéro	M. PAGES Jean-Christophe	Biologie Cellulaire et Cytologie
M. CALVAS Patrick (C.E)	Génétique	M. PORTIER Guillaume	Chirurgie Digestive
M. CARRERE Nicolas	Chirurgie Générale	M. RONCALLI Jérôme	Cardiologie
M. CARRIE Didier (C.E)	Cardiologie	Mme RUYSSSEN-WITRAND Adeline	Rhumatologie
M. CHAIX Yves	Pédiatrie	Mme SAVAGNER Frédérique	Biochimie et biologie moléculaire
Mme CHARPENTIER Sandrine	Médecine d'urgence	M. SOL Jean-Christophe	Neurochirurgie
M. CHAUVEAU Dominique	Néphrologie	Mme TREMOLLIÈRES Florence	Biologie du développement
M. CHOLLET François (C.E)	Neurologie	Mme VEZZOSI Delphine	Endocrinologie
M. DAHAN Marcel (C.E)	Chirurgie Thoracique et Cardiaque		
M. DE BOISSEZON Xavier	Médecine Physique et Réadapt Fonct.	P.U. Médecine générale	
M. DEGUINE Olivier (C.E)	Oto-rhino-laryngologie	M. MESTHÉ Pierre	
M. DUCOMMUN Bernard	Cancérologie	M. OUSTRIC Stéphane (C.E)	
M. FERRIERES Jean (C.E)	Epidémiologie, Santé Publique		
M. FOURCADE Olivier	Anesthésiologie	Professeur Associé Médecine générale	
M. FOURNIÉ Pierre	Ophthalmologie	M. ABITTEBOUL Yves	
M. GAME Xavier	Urologie	M. POUTRAIN Jean-Christophe	
M. GEERAERTS Thomas	Anesthésiologie et réanimation		
M. IZOPET Jacques (C.E)	Bactériologie-Virologie	Professeur Associé en Neurologie	
Mme LAMANT Laurence (C.E)	Anatomie Pathologique	Mme PAVY-LE TRAON Anne	
M. LANG Thierry (C.E)	Biostatistiques et Informatique Médicale	Professeur Associé en Bactériologie - Virologie ; Hygiène Hospitalière	
M. LANGIN Dominique (C.E)	Nutrition	Mme MALAVALD Sandra	
M. LAUWERS Frédéric	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie		
M. LAUQUE Dominique (C.E)	Médecine d'urgence		
M. LIBLAU Roland (C.E)	Immunologie		
M. MALAVALD Bernard	Urologie		
M. MANSAT Pierre	Chirurgie Orthopédique		
M. MARCHOU Bruno (C.E)	Maladies Infectieuses		
M. MAZIERES Julien	Pneumologie		
M. MOLINIER Laurent	Epidémiologie, Santé Publique		
M. MONTASTRUC Jean-Louis (C.E)	Pharmacologie		
Mme MOYAL Elisabeth	Cancérologie		
Mme NOURHASHEMI Fatemeh (C.E)	Gériatrie		
M. OSWALD Eric (C.E)	Bactériologie-Virologie		
M. PARANT Olivier	Gynécologie Obstétrique		
M. PARIENTE Jérémie	Neurologie		
M. PARINAUD Jean (C.E)	Biol. Du Dévelop. et de la Reprod.		
M. PAUL Carle	Dermatologie		
M. PAYOUX Pierre	Biophysique		
M. PAYRASTRE Bernard (C.E)	Hématologie		
M. PERON Jean-Marie	Hépatogastro-entérologie		
M. PERRET Bertrand (C.E)	Biochimie		
M. RASCOL Olivier (C.E)	Pharmacologie		
M. RECHER Christian (C.E)	Hématologie		
M. RISCHMANN Pascal (C.E)	Urologie		
M. RIVIERE Daniel (C.E)	Physiologie		
M. SALES DE GAUZY Jérôme (C.E)	Chirurgie Infantile		
M. SALLES Jean-Pierre (C.E)	Pédiatrie		
M. SANS Nicolas	Radiologie		
Mme SELVES Janick	Anatomie et cytologie pathologiques		
M. SERRE Guy (C.E)	Biologie Cellulaire		
M. TELMON Norbert (C.E)	Médecine Légale		
M. VINEL Jean-Pierre (C.E)	Hépatogastro-entérologie		

FACULTE DE MEDECINE TOULOUSE-RANGUEIL

133, route de Narbonne - 31062 TOULOUSE Cedex

P.U. - P.H.

Classe Exceptionnelle et 1^{ère} classe

Doyen : Elie SERRANO

P.U. - P.H.

2^{ème} classe

M. ARBUS Christophe	Psychiatrie	M. AUSSEIL Jérôme	Biochimie et biologie moléculaire
M. ACAR Philippe	Pédiatrie	M. BERRY Antoine	Parasitologie
M. ACCADBLED Franck	Chirurgie Infantile	M. BOUNES Vincent	Médecine d'urgence
M. ALRIC Laurent (C.E)	Médecine Interne	Mme BOURNET Barbara	Gastro-entérologie
Mme ANDRIEU Sandrine	Epidémiologie	M. CHAPUT Benoît	Chirurgie plastique et des brûlés
M. ARNAL Jean-François	Physiologie	Mme DALENC Florence	Cancérologie
Mme BERRY Isabelle (C.E)	Biophysique	M. DECRAMER Stéphane	Pédiatrie
M. BONNEVILLE Fabrice	Radiologie	Mme FARUCH-BILFELD Marie	Radiologie et Imagerie Médicale
M. BUJAN Louis (C. E)	Urologie-Andrologie	M. FAGUER Stanislas	Néphrologie
Mme BURA-RIVIERE Alessandra	Médecine Vasculaire	M. FRANCHITTO Nicolas	Addictologie
M. BUSCAIL Louis (C.E)	Hépat-Gastro-Entérologie	M. GARRIDO-STÖWHAS Ignacio	Chirurgie Plastique
M. CANTAGREL Alain (C.E)	Rhumatologie	M. GATIMEL Nicolas	Médecine de la reproduction
M. CARON Philippe (C.E)	Endocrinologie	Mme LAPRIE Anne	Radiothérapie
M. CHAUFOUR Xavier	Chirurgie Vasculaire	M. LAURENT Camille	Anatomie Pathologique
M. CHAYNES Patrick	Anatomie	M. LE CAIGNEC Cédric	Génétique
M. CHIRON Philippe (C.E)	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie	M. MARCHEIX Bertrand	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
M. CONSTANTIN Arnaud	Rhumatologie	M. MEYER Nicolas	Dermatologie
M. COURBON Frédéric	Biophysique	M. MUSCARI Fabrice	Chirurgie Digestive
Mme COURTADE SAIDI Monique	Histologie Embryologie	M. REINA Nicolas	Chirurgie orthopédique et traumatologique
M. DAMBRIN Camille	Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire	M. SILVA SIFONTES Stein	Réanimation
M. DELABESSE Eric	Hématologie	M. SOLER Vincent	Ophthalmologie
M. DELOBEL Pierre	Maladies Infectieuses	Mme SOMMET Agnès	Pharmacologie
M. DELORD Jean-Pierre	Cancérologie	Mme SOTO-MARTIN Maria-Eugénia	Gériatrie et biologie du vieillissement
M. DIDIER Alain (C.E)	Pneumologie	M. TACK Ivan	Physiologie
Mme DULY-BOUHANICK Béatrice (C.E)	Thérapeutique	M. VERGEZ Sébastien	Oto-rhino-laryngologie
M. ELBAZ Meyer	Cardiologie	M. YSEBAERT Loic	Hématologie
M. GALINIER Michel (C.E)	Cardiologie		
M. GLOCK Yves (C.E)	Chirurgie Cardio-Vasculaire		
Mme GOMEZ-BROUCHET Anne-Muriel	Anatomie Pathologique		
M. GOURDY Pierre	Endocrinologie		
M. GRAND Alain (C.E)	Epidémiologie. Eco. de la Santé et Prév.	P.U. Médecine générale	
M. GROLLEAU RAOUX Jean-Louis (C.E)	Chirurgie plastique	Mme ROUGE-BUGAT Marie-Eve	
Mme GUIMBAUD Rosine	Cancérologie		
Mme HANAIRE Hélène (C.E)	Endocrinologie		
M. HUYGHE Eric	Urologie		
M. KAMAR Nassim (C.E)	Néphrologie	Professeur Associé de Médecine Générale	
M. LARRUE Vincent	Neurologie	M. BOYER Pierre	
M. LEVADE Thierry (C.E)	Biochimie	M. STILLMUNKES André	
M. MALECAZE François (C.E)	Ophthalmologie		
M. MARQUE Philippe	Médecine Physique et Réadaptation		
M. MAURY Jean-Philippe	Cardiologie		
Mme MAZEREEUW Juliette	Dermatologie		
M. MINVILLE Vincent	Anesthésiologie Réanimation		
M. OTAL Philippe	Radiologie		
M. RAYNAUD Jean-Philippe (C.E)	Psychiatrie Infantile		
M. RITZ Patrick (C.E)	Nutrition		
M. ROLLAND Yves (C.E)	Gériatrie		
M. ROUGE Daniel (C.E)	Médecine Légale		
M. ROUSSEAU Hervé (C.E)	Radiologie		
M. ROUX Franck-Emmanuel	Neurochirurgie		
M. SAILLER Laurent	Médecine Interne		
M. SCHMITT Laurent (C.E)	Psychiatrie		
M. SENARD Jean-Michel (C.E)	Pharmacologie		
M. SERRANO Elie (C.E)	Oto-rhino-laryngologie		
M. SOULAT Jean-Marc	Médecine du Travail		
M. SOULIE Michel (C.E)	Urologie		
M. SUC Bertrand	Chirurgie Digestive		
Mme TAUBER Marie-Thérèse (C.E)	Pédiatrie		
Mme URO-COSTE Emmanuelle	Anatomie Pathologique		
M. VAYSSIERE Christophe	Gynécologie Obstétrique		
M. VELLAS Bruno (C.E)	Gériatrie		

M.C.U. - P.H.

M. ABBO Olivier	Chirurgie infantile
M. APOIL Pol Andre	Immunologie
Mme ARNAUD Catherine	Epidémiologie
Mme AUSSEIL-TRUDEL Stéphanie	Biochimie et Biologie Moléculaire
Mme BELLIERE-FABRE Julie	Néphrologie
Mme BERTOLI Sarah	Hématologie, transfusion
M. BIETH Eric	Génétique
Mme CASPAR BAUGUIL Sylvie	Nutrition
Mme CASSAGNE Myriam	Ophthalmologie
Mme CASSAING Sophie	Parasitologie
M. CAVAIGNAC Etienne	Chirurgie orthopédique et traumatologie
Mme CHANTALAT Elodie	Anatomie
M. CONGY Nicolas	Immunologie
Mme COURBON Christine	Pharmacologie
Mme DAMASE Christine	Pharmacologie
Mme de GLISEZENSKY Isabelle	Physiologie
Mme DE MAS Véronique	Hématologie
M. DUBOIS Damien	Bactériologie Virologie Hygiène
Mme FILLAUD Judith	Parasitologie
M. GANTET Pierre	Biophysique
Mme GENNERO Isabelle	Biochimie
Mme GENOUX Annelise	Biochimie et biologie moléculaire
M. HAMDJ Safouane	Biochimie
Mme HITZEL Anne	Biophysique
M. IRIART Xavier	Parasitologie et mycologie
Mme JONCA Nathalie	Biologie cellulaire
M. KIRZIN Sylvain	Chirurgie générale
Mme LAPEYRE-MESTRE Maryse	Pharmacologie
M. LHERMUSIER Thibault	Cardiologie
M. LHOMME Sébastien	Bactériologie-virologie
Mme MONTASTIER Emilie	Nutrition
Mme MOREAU Marion	Physiologie
Mme NOGUEIRA M.L.	Biologie Cellulaire
Mme PERROT Aurore	Hématologie ; Transfusion
M. PILLARD Fabien	Physiologie
Mme PUISSANT Bénédicte	Immunologie
Mme RAYMOND Stéphanie	Bactériologie Virologie Hygiène
Mme SABOURDY Frédérique	Biochimie
Mme SAUNE Karine	Bactériologie Virologie
M. TAFANI Jean-André	Biophysique
M. TREINER Emmanuel	Immunologie
Mme VAYSSE Charlotte	Cancérologie
M. VIDAL Fabien	Gynécologie obstétrique

M.C.U. Médecine générale

M. BRILLAC Thierry
Mme DUPOUY Julie

M.C.U. - P.H

Mme ABRAVANEL Florence	Bactériologie Virologie Hygiène
Mme BASSET Céline	Cytologie et histologie
Mme CAMARE Caroline	Biochimie et biologie moléculaire
M. CAMBUS Jean-Pierre	Hématologie
Mme CANTERO Anne-Valérie	Biochimie
Mme CARFAGNA Luana	Pédiatrie
Mme CASSOL Emmanuelle	Biophysique
Mme CAUSSE Elizabeth	Biochimie
M. CHASSAING Nicolas	Génétique
M. CLAVEL Cyril	Biologie Cellulaire
Mme COLOMBAT Magali	Anatomie et cytologie pathologiques
Mme CORRE Jill	Hématologie
M. DE BONNECAZE Guillaume	Anatomie
M. DEDOUIT Fabrice	Médecine Légale
M. DEGBOE Yannick	Rhumatologie
M. DELPLA Pierre-André	Médecine Légale
M. DESPAS Fabien	Pharmacologie
M. EDOUARD Thomas	Pédiatrie
Mme ESQUIROL Yolande	Médecine du travail
Mme EVRARD Solène	Histologie, embryologie et cytologie
Mme FLOCH Pauline	Bactériologie-Virologie; Hygiène Hospit.
Mme GALINIER Anne	Nutrition
Mme GALLINI Adeline	Epidémiologie
Mme GARDETTE Virginie	Epidémiologie
M. GASQ David	Physiologie
M. GATIMEL Nicolas	Médecine de la reproduction
Mme GRARE Marion	Bactériologie Virologie Hygiène
M. GUIBERT Nicolas	Pneumologie ; Addictologie
Mme GUILBEAU-FRUGIER Céline	Anatomie Pathologique
M. GUILLEMINAULT Laurent	Pneumologie
Mme GUYONNET Sophie	Nutrition
M. HERIN Fabrice	Médecine et santé au travail
Mme INGUENEAU Cécile	Biochimie
M. LEANDRI Roger	Biologie du dével. et de la reproduction
M. LEPAGE Benoit	Biochimie
Mme MAUPAS SCHWALM Françoise	Biostatistiques et Informatique médicale
M. MIEUSSET Roger	Biologie du dével. et de la reproduction
M. MOULIS Guillaume	Médecine interne
Mme NASR Nathalie	Neurologie
Mme QUELVEN Isabelle	Biophysique et Médecine Nucléaire
M. RIMAILHO Jacques	Anatomie et Chirurgie Générale
M. RONGIERES Michel	Anatomie - Chirurgie orthopédique
Mme VALLET Marion	Physiologie
M. VERGEZ François	Hématologie
M. YRONDI Antoine	Psychiatrie d'Adultes ; Addictologie

M.C.U. Médecine générale

M. BISMUTH Michel
Mme ESCOURROU Brigitte

Maîtres de Conférences Associés de Médecine Générale

Dr CHICOULAA Bruno
Dr FREYENS Anne
Dr PUECH Marielle

Dr BIREBENT Jordan
Dr BOURGEOIS Odile
Dr LATROUS Leila
Dr. BOUSSIER Nathalie

Remerciements

Au Professeur Mazières,

Je vous remercie de me faire l'honneur de présider ce jury mais également de nous avoir tous si bien encadrés et guidés lors de notre semestre dans votre service. Ce semestre fut l'un des plus heureux et instructifs grâce à l'excellente équipe que vous aviez formée autour de vous.

Au Professeur Moyal,

Je vous remercie pour l'accompagnement que vous m'avez offert depuis mon premier stage en radiothérapie jusqu'à vos conseils et multiples relectures pour ce travail. Merci de nous montrer la voie par vos connaissances et par votre force de caractère. Ce fut un plaisir de travailler avec vous, en particulier grâce à l'optimisme et à l'énergie que vous insuffliez à chacune de nos rencontres.

Au Professeur Uro-Coste,

Je vous remercie d'avoir accepté de siéger à ce jury. Mon passage en anatomo-pathologie a surtout été marqué (en dehors de la macro bien sûr) par le travail sur lequel j'ai pu travailler avec vous et qui m'a permis de m'ouvrir à votre belle spécialité. Veuillez recevoir ici ma reconnaissance.

Au Dr Khalifa,

Merci Jonathan de siéger dans ce jury, merci pour tout ce que tu m'as appris lors du semestre sous ton égide, pour la patience dont tu as pu faire preuve à mon égard, pour toutes les connaissances que tu veux bien partager avec nous.

Au Dr Siegfried,

Merci Aurore de me faire l'honneur de siéger dans ce jury, de t'être autant impliquée dans les projets que nous avons en commun, d'avoir eu la patience de m'expliquer à plusieurs reprises les choses. Merci en général pour ta joie de vivre et ta gentillesse exceptionnelle. Je suis heureuse d'avoir pu autant travailler avec toi.

To Dr Valiente,

I am very grateful to have been associated to this project and to have had the opportunity to work with you and your PhD student Lauritz. I have learnt a lot from your previous (and this current) studies. Thank you for your help and your disponibility.

Remerciements

Je tiens particulièrement à remercier **le service de biostatistique de l'Institut Universitaire du Cancer de Toulouse, en particulier Mme Léonor Chaltiel et le M. Thomas Filleron**. Vous vous apportez bien plus qu'une aide mais tout un travail énorme, des connaissances parfois compliquées à transmettre. Nous avons la chance de pouvoir travailler avec votre service pour nos publications et nos thèses et nous en sommes reconnaissants. Merci Léonor d'avoir pris le temps à de multiples reprises de me corriger, de m'expliquer les choses différemment, pour ta disponibilité et ta gentillesse.

Merci

Aux médecins qui m'ont accompagnée pendant ces 5 années d'internat.

Au Pr Anne Laprie, merci pour tout ce que tu m'as appris, professionnellement et personnellement. J'ai hâte de commencer la nouvelle aventure master sous ta direction, année qui commence au mieux grâce à toute l'aide que tu m'as apportée.

Au Dr Izar pour votre fougue et votre incroyable habilité à raconter les histoires (notamment médicales), pour l'exemple que vous nous donnez, pour vos voyages, vous êtes un modèle.

Au Dr Rives, qui m'a donné la chance d'apprendre de lui, tant au niveau professionnel que sportif. Vous êtes un homme exceptionnel.

Au Dr Carole Massabeau, pour ce super semestre passé à tes côtés, dans l'énergie, la bonne humeur, merci pour tout ce que tu m'as transmis.

Au Dr Anne Ducassou, merci pour ces quelques mois intenses où tu m'as beaucoup appris, ton énergie, ton habileté clinique et ton savoir font de toi un exemple à suivre.

Au Dr Justine Attal, j'ai eu la chance d'être ton interne quelques mois, merci pour ton aide et tes conseils.

Au Dr Anouchka Modesto, merci pour m'avoir initiée aux joies de l'écriture, grâce à toi j'ai pu publier mes premiers articles, je t'en suis reconnaissante. Merci pour tes conseils et ton aide à certains moments clés.

Au Dr Peyraga, merci pour tous tes conseils et toutes les fois où ta parole m'a aidé.

Au Dr Ciprian Chira, bien que je regrette de n'avoir pas eu l'occasion de travailler directement avec toi, merci pour ce que tu m'as appris pour autant.

Au Dr Gandy, ma première « sénior », qui a eu la patience de m'apprendre les bases de l'oncologie en 1^{er} semestre.

Aux Dr Mosser et Dr Reyes de Rodez, qui m'ont rendu le goût de l'oncologie, qui m'ont permis de faire mes premières consultations et de passer un excellent semestre en Aveyron.

Au Dr Rabeau et au Dr Rouvière, la dream team de pneumo, qui ont été les meilleurs chefs dont je pouvais rêver. Merci pour tout, et bien plus que pour la pneumologie.

Au Dr Mengue qui m'a accueillie et protégée à Tahiti, j'ai eu la chance d'apprendre de toi, tant au niveau professionnel que personnel. Merci pour ce semestre et à toute l'équipe du Taaone.

Au Dr Sarah Bétrian, merci pour être aussi douée, aimable, aidante et présente quand on a besoin d'aide.

Au Dr Franklin Gallo, merci d'avoir été là, non seulement ce semestre mais aussi depuis le début de mon internat, qu'aurait-on fait sans toi ! (et comment ferons nous ?)

Aux radiologues, au Dr Balagué, au Dr Boulet, au Dr Aziza pour nous transmettre vos connaissances malgré les circonstances

Merci

Aux manips de radiothérapie, pour votre implication au quotidien, votre professionnalisme avec les patients, et votre bonne humeur, votre énergie en dehors. Merci de m'avoir supporté sans trop faire de commentaires (j'essaie de m'améliorer tous les jours !). A bientôt !

Aux physiciens et dosimétristes, c'est une chance de travailler avec une équipe telle que la vôtre, merci pour ce que vous nous apportez.

Aux infirmier-es, du 3B, notamment Charlotte et Yoann, qui étaient là dès le début, qui m'ont vu grandir, comme ils se plaisent à le répéter à chaque garde. J'espère que c'est une évolution dans le bon sens ! Merci pour votre aide à chaque fois, notamment sur certains moments chauds où, comme d'habitude, vous répondez plus que présents.

Aux infirmier-es et aides soignant(e)s de radiothérapie, du 1A, du 2A, de la pneumologie, de Rodez, pour l'aide que vous nous apportez au quotidien et le bien que vous faites aux patients.

Merci

A mes co-internes de radiothérapie et d'onco med, pour avoir chacun apporté leur personnalité et leurs qualités au groupe, pour avoir supporté mon petit caractère et pour m'avoir aidé à chaque fois que j'en ai eu besoin.

A Samy pour les super moments que l'on a passé ensemble, pour la Bosnie, les soirées à discuter, pour ta gentillesse, ta bonne humeur, ta façon d'être si exceptionnelle. A Laetitia pour le bateau-phare et toutes les autres soirées, pour ton enthousiasme permanent et tes innombrables qualités, pour le super médecin que tu es et sur lequel on s'inspire. A Victor, qui m'avait promis qu'il avait plein de choses à m'apprendre (et qui m'en a appris !). A Marion J pour avoir été mon étoile du berger en 1^{er} semestre, merci mille fois pour ton aide pendant ces 6 mois difficiles, merci de nous montrer que tout est possible, reste cette personne extraordinaire que tu es. A Anaïs G, une véritable amie découverte récemment, toujours le rire au coin des lèvres, une joie de vivre magnifique. A Marion G qui est une sacrée force d'intelligence et de caractère. A Benoit pour tes compétences de médecin quasi-sénior maintenant et celles de cuisinier pâtissier que tu as la gentillesse de partager (et pour ton humour si doux). A Vincent E, comme chien et chat au départ, devenu un vieux matou maintenant qu'il est un père (formidable). A Ingrid, que je remercie d'être venue passée 1 an et demi ici pour avoir pu te connaître, ta gentillesse, ta résilience, tu es un super médecin. A Maëva pour ton naturel et tes histoires qui nous font oublier qu'il y a en a dans ce cerveau. A Vincent N, pour être dur au mal et son professionnalisme, tu gères. A Jacques l'homme parfait, drôle, gentil, qui n'oublie pas d'être fort et qui a su monter son salon dans des conditions difficiles. A Amélie pour ton élégance et tes compétences de diplomate. A Auranne ce rayon de soleil un peu fou, quelle chance de t'avoir recrutée à Toulouse. A Gauthier ce binôme un peu filou, le côté varois qui ressort, qui est plus sérieux qu'il n'en a l'air avec sa veine du bibi. A Justin pour son caractère et sa personnalité si magiques, un modèle de fille cool, belle, sportive. A Anaïs R, Maururu pour tes bonnes histoires, ton rire communicatif, pour avoir suivi la voie du Fenua. A Ilfad pour sa folie imperturbable. A Emily pour avoir organisé tellement de choses pour nous, en plus d'être brillante. A Corentin pour son humour et son binome père-fils, Ludovic pour sa gentillesse, son altruisme et son bouc. A Blandine pour son côté fou en soirée, à Charlie pour son intelligence et son efficacité, sa présence même si discrète. A Caroline qui inspire la sympathie et le rire, à Léo qui restera dans nos cœurs malgré tout, parce qu'il est quand même bien drôle, à Marie, la discrète qu'on espère voir plus souvent.

A Maxime, chef de la clinique, je suis fière d'avoir été ta première interne officielle, tu m'as beaucoup appris et j'espère qu'on continuera à se voir de temps en temps. A Lucie, pour tes connaissances qui me laissent parfois pantoise et l'aide que tu nous apportes. A Amina, pour ton énergie et ton rire, et ton duo avec Vincent.

Aux internes rencontrés et qui sont devenus des amis. A Margot pour son caractère bien trempé mais sa super compagnie. A Thomas « on est des dragons » Johann (nos soirées me manquent !), à Pedro Da Silva avec qui on a bien rigolé, ces soirées là me manquent aussi. A Bassam, ce frère toujours là 5 ans plus tard. A Camille, avec qui ça avait mal commencé, mais Barcelone nous a rapprochées !

A Louisiane ma super binome, la personne la plus énergique que je connaisse et une des meilleures aussi. A Laura M repartie à la Réunion et qui mérite le bonheur qu'elle vit actuellement. A Max le physicien, pas un interne mais un copain quand même. A Ophélie pour ces premiers semestres pleins de rebondissements.

Aux internes de Tahiti pour ce semestre inoubliable. A Morgane qui m'a fait découvrir la plongée et ses trésors. A Kevin cet infatigable sportif. A Baptiste et Diane pour être deux personnes fantastiques. A Nathan et Chloé pour leur show humoristique ininterrompu. J'espère vous revoir vite !

A Claudia et Mathilde, pour leurs fous-rires, A Valentin, son sourire et sa gentillesse. A Marine qui a découvert l'anapath avec moi (mais qui est restée) pour son positivisme. A Caro Levha, le rayon de soleil de tous les internes qui l'ont croisé, merci d'être parfaite. A Nesrine, merci pour ton aide et ta présence. A Florian, pour ta personnalité si géniale qu'on s'arrache ta présence à toutes nos soirées. A Guilhem et Thibaut, mes derniers co-internes, pour votre aide en écho et en préparation du café, à bientôt pour d'autres apéros !

Aux vieux amis, toujours là malgré la distance, les chatons : Sara, la douce et délicate ☺ toujours là pour parler s'il y a besoin, une fidèle amie malgré la distance (je suis heureuse de voir la vie que tu t'es créée à Lyon), Sami, pour les conf, les quiches, les « un non c'est pas un oui », le raid au resto U, les soirées externats, Nelly, le petit chat sauvage, pour toutes tes histoires fabuleuses, et ton courage actuellement. Je vous aime la team. A Elise, la seule qui ne fait pas partie de la secte, qui est toujours la même boule d'énergie et de charisme depuis le lycée. A Michaël, qui compte parmi les vieux de la BU, on ne se croise pas assez mais c'est toujours un plaisir. Sache que c'est grâce à toi que j'ai pris Toulouse et c'était le bon choix.

Merci

A mes grands-parents que j'aime, qui nous apportent à tous une partie d'eux même, qui nous enrichissent de leurs personnalités et de leurs histoires.

A Fred, tu n'es pas arrivé l'année la plus tranquille et pourtant tu es toujours là. Nous avons réussi à transformer un certain nombre de situations compliquées en moment heureux ensemble et en petites victoires. Je t'aime. Merci pour ton aide, ta tendance à ne pas me faire travailler sauf avec un backlog, pour m'avoir fait découvrir tes montagnes. Prochain objectif, le sommet de la Tournette !

A mes sœurs, à Aurélia que j'aime très fort et à qui je souhaite le meilleur (et que je crois capable de tout, même si elle en doute), à Magali qui ne s'arrêtera jamais de créer et de nous impressionner, je l'espère.

A mes parents, vous qui m'aimez et me soutenez depuis toujours. Vous m'avez donné les moyens d'en arriver là aujourd'hui, m'avez écouté me plaindre et pleurer parfois, avez toujours cru en moi (du moins, ça en avait l'air). Merci pour tous ce que vous avez fait pour rendre nos vies les plus douces possibles, j'espère pouvoir vous rendre la pareille. Je vous aime.

ETUDE DE L'EXPRESSION DE LA PROTEINE S100A9 DANS LA REPONSE A LA RADIOTHERAPIE DES METASTASES CEREBRALES DE PRIMITIF PULMONAIRE

RESUME

Introduction : Les métastases cérébrales (MC) sont fréquentes et surviennent chez 20% des patients atteints d'un cancer du poumon. Le pronostic reste mauvais même à l'ère de l'immunothérapie et des thérapies ciblées. Le contrôle local obtenu par radiothérapie améliore la qualité de vie mais une importante partie des patients rechute sur les lésions irradiées. Les mécanismes moléculaires sous-jacents à la radiorésistance ont été étudiés *in vitro* et sur modèle animal, présentant la protéine S100A9 et sa voie de signalisation en aval par NF-κB comme une cible importante. Nous étudions la corrélation entre l'expression du S100A9, de NF-κB et la radiorésistance dans les MC du cancer du poumon.

Matériels et méthodes : Soixante-neuf patients irradiés à la suite de l'exérèse d'une MC d'un cancer primitif du poumon ont été inclus. Les patients ont été traités par Whole Brain Radiation Therapy (WBRT), WBRT avec un complément de dose sur le lit opératoire (WBRT + boost) ou par irradiation stéréotaxique (SRT). L'expression de S100A9 et de NF-κB a été étudiée sur les cellules tumorales et stromales. Le critère de jugement principal était le délai de progression d'une lésion irradiée (lit chirurgical ou lésion en place). Les critères de jugement secondaires étaient le délai d'apparition d'une nouvelle lésion dans les groupes WBRT et WBRT + boost, la survie globale et la toxicité.

Résultats : Respectivement 18, 15 et 36 patients ont été traités par WBRT, WBRT + boost et SRT. Vingt-deux patients (32%) avaient une expression de S100A9 et tous avaient une expression de NF-κB. La médiane de temps à progression locale était de 17,6 mois dans le groupe WBRT et n'a pas été atteinte dans les autres groupes. Le type de radiothérapie (WBRT versus autres) était pronostique de la rechute locale en analyse multivariable. Dans la cohorte WBRT, l'expression de S100A9 était significativement corrélée avec un temps plus court de progression locale ($p = 0,0254$). Ce résultat n'a pas été retrouvé dans les 2 autres groupes. L'expression de NF-κB n'était pas corrélée avec le temps de progression locale. Dans les groupes WBRT et WBRT + boost, l'expression de S100A9 n'était pas pronostique de l'apparition d'une nouvelle lésion.

Conclusion : Dans le groupe WBRT, l'expression de S100A9 par les cellules cancéreuses ou du stroma était corrélée avec un temps à progression sur la lésion irradiée plus court. Ce résultat n'a pas été retrouvé pour le groupe WBRT + boost ou SRT, étayant l'hypothèse du rôle du S100A9 dans la résistance à la radiothérapie standard pour laquelle les mécanismes sont différents de ceux de la résistance à la radiothérapie à forte dose (boost et SRT).

STUDY OF THE S100A9 PROTEIN EXPRESSION IN THE RESPONSE TO RADIOTHERAPY OF CEREBRAL METASTASES FROM PULMONARY ORIGIN

ABSTRACT

Introduction: Brain metastases (BM) are common and occur in 20% of patients with lung cancer. The prognosis remains poor even in the era of immunotherapy and targeted therapies. Local control obtained by radiotherapy improves quality of life, but a large number of patients relapse on irradiated lesions. The molecular mechanisms underlying radioresistance have been studied in vitro and in animal models, showing the S100A9 protein and its downstream signaling pathway by NF- κ B as an important target. We study here the correlation between the expression of S100A9, NF- κ B and radioresistance in BM of lung cancer.

Materials and methods: Sixty-nine patients irradiated following BM removal from primary lung cancer were included. Patients were treated with Whole Brain Radiation Therapy (WBRT), WBRT with a complement of dose on the operating bed (WBRT + boost) or by stereotaxic irradiation (SRT). The expression of S100A9 and NF- κ B was studied in tumor and stromal cells. The primary endpoint was the time to progression of an irradiated lesion (surgical bed or in place lesion). The secondary outcomes were the time to emergence of a new lesion in the WBRT and WBRT + boost groups, overall survival and toxicity.

Results: 18, 15 and 36 patients respectively were treated with WBRT, WBRT + boost and SRT. Twenty-two patients (32%) had expression of S100A9 and all had expression of NF- κ B. The median time to local progression was 17.6 months in the WBRT group and was not reached in the other groups. The type of radiotherapy (WBRT versus others) was prognostic of local relapse in multivariable analysis. In the WBRT cohort, S100A9 expression was significantly correlated with a shorter time to local progression ($p = 0.0254$). This result was not found in the other 2 groups. The expression of NF- κ B was not correlated with the time to local progression. In the WBRT and WBRT + boost groups, expression of S100A9 was not correlated with the development of a new lesion.

Conclusion: In the WBRT group, the expression of S100A9 by cancer cells or stroma was correlated with a shorter time to progression to the irradiated lesion. This result was not found for the WBRT + boost or SRT group, supporting the hypothesis of the role of S100A9 in resistance to standard radiotherapy for which the mechanisms are different from those of resistance to high-dose radiotherapy (boost and SRT).

Table des matières

LISTE DES ABREVIATIONS	12
INTRODUCTION	13
I – ASPECTS CLINIQUES	13
I – 1 <i>Epidémiologie des métastases cérébrales des cancers bronchopulmonaires</i>	13
I – 2 <i>Traitement des métastases cérébrales de primitif broncho-pulmonaire</i>	17
I – 3 <i>Techniques de radiothérapie pour les métastases cérébrales</i>	24
I – 4 <i>Place de la radiothérapie des métastases cérébrales</i>	27
II – ACTIONS DES RAYONNEMENTS IONISANTS.....	32
II – 1 <i>Interactions physiques</i>	32
II – 2 <i>Interactions biochimiques</i>	32
II – 2a <i>Effet direct : cassure de l'ADN</i>	32
II – 2b <i>Effet indirect : la radiolyse de l'eau</i>	33
III – VOIES DE RADIORESISTANCE	37
III – 1 <i>Voies intrinsèques</i>	37
III – 1a <i>Voie des intégrines</i>	37
III – 1b <i>Réducteurs des espèces réactives de l'oxygène</i>	38
III – 1c <i>Facteurs transcriptionnels sensibles à l'oxydoréduction : exemple de NF-κB</i>	39
III – 1d <i>Implication du métabolisme : effet Warburg, métabolisme des lipides</i>	40
III – 1e <i>Organites : mitochondries et exosomes</i>	42
III – 2 <i>Voies extrinsèques</i>	43
III – 2a <i>Hétérogénéité et plasticité tumorale</i>	43
III – 2b <i>Effet du microenvironnement tumoral</i>	46
IV – HYPOTHESE A L'ORIGINE DE L'ETUDE	50
V – 1 <i>Structure</i>	51
V – 2 <i>Localisation et rôles généraux</i>	51
V – 3 <i>Voie de signalisation d'intérêt</i>	52
VI – PROBLEMATIQUE DU SUJET DE RECHERCHE	54
MATERIEL ET METHODES	55
I – SELECTION DES PATIENTS	55
II – TRAITEMENTS.....	55
III – ANALYSE PAR IMMUNOHISTOCHEMIE DE LA PROTEINE S100A9	56
IV – SUIVI.....	58
V – ANALYSE STATISTIQUE	58
RESULTATS	60
I – CARACTERISTIQUES DE LA POPULATION ET DES TRAITEMENTS.....	60
II – CARACTERISTIQUES DU TRAITEMENT DE RADIOTHERAPIE	62
III – TRAITEMENTS SYSTEMIQUES	64
IV – TOXICITE	65
VI – RESULTATS DE L'ANALYSE IMMUNOHISTOCHEMIQUE DES PROTEINES S100A9 ET NF-κB	66
VI – 1 <i>S100A9</i>	66
VI – 2 <i>NF-κB</i>	67
VII – RESULTATS SUR LA PROGRESSION.....	68
VIII – CRITERE DE JUGEMENT PRINCIPAL : TEMPS JUSQU'À PROGRESSION D'UNE LESION IRRADIEE.....	70
IX – CRITERES DE JUGEMENT SECONDAIRES	74
IX – 1 <i>Temps jusqu'à l'apparition d'une nouvelle lésion (rechute régionale)</i>	74
IX – 2 <i>Survie globale</i>	75
DISCUSSION.....	76
CONCLUSION.....	84
BIBLIOGRAPHIE.....	85

Liste des abréviations

18-FDG : 18 fluorodesoxyglucose	KPS : Karnosky performans status
ADN : Acide désoxyribonucléique	KRAS : Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog
ALK : Anaplastic Lymphoma Kinase	M2 : macrophages 2 (=TAM)
ARN : acide ribonucléique	MC : métastase cérébrale
ATM : Ataxia Telangiectasia Mutated	MEC : matrice extra cellulaire
ATP : adénosine triphosphate	MMPs : Matrix MetalloProteinases
Bcl-xL : B-cell lymphoma-extra large	MF-SRT : multi-fractionned stereotactic radiation therapy
BED : biological equivalent dose	MRP : myeloid related protein
BHE : barrière hémato-encéphalique	NA : non applicable
BRAF : B Rapidly Accelerated Fibrosarcoma	NAA : N Acetyl Aspartate
CAF : cancer associated fibroblast (fibroblastes associés au cancer)	NC : non connu
CAM : cancer associated macrophage	NF- κ B : nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
CAV1: Caveolin 1	Nrf2 : nuclear factor erythroid 2 related factor
CBNPC : carcinome bronchique non à petites cellules	NRAS : neuroblastoma – RAS (Rat Sarcoma)
CBP : calcium binding protein	P53 : TP53 , protein 53
CBPC : cancer bronchique à petites cellules	PD1 : Programmed death 1
CM 017 / 057 : Checkmate 017 / 057 :	PDL1 : Programmed death -ligand 1
CHC : carcinome hépatocellulaire	PI3KCA : phosphoinositide 3-kinase
Cox2 : cyclooxygénase 2	PPAR- γ : Peroxisome proliferator-activated receptor gamma
CS : cellule stromale	PTEN : Phosphatase and TENsin homolog
CSC : cancer stem cells: cellules souches cancéreuses	OMS : organisation mondiale de la santé
CT : cellule tumorale	RAGE : Receptor for Advanced Glycosylation Endproducts
CTV : clinical target volume	RCMI : radiothérapie conformationnelle avec modulation d'intensité (=IMRT)
DAB : di-amino-benzidine	RI : rayonnement ionisant
DS-GPA : diagnosis specific graded prognostic assessment	ROS : reactive oxygen species
EGF : epithelial growth factor	RPA : recursive partitioning analysis
EGFR : epithelial growth factor receptor	RTOG : Radiation Therapy Oncology Group
EML4-ALK : echinoderm microtubule-associated protein-like 4 / Anaplastic lymphoma kinase	SEER : Surveillance, Epidemiology, and End Results
EMMPRIN : extracellular inducer MMP	SNC : système nerveux central
EMT : epithelia-mesenchymato transition	SF-SRT : single fraction stereotactic radiation therapy
EPO : erythropoietin	SRT : stereotactic radiation therapy
FGF : fibroblast growth factor	TAM : tumor associated macrophages
FGFR1: Fibroblast growt factor receptor 1	TEP : tomographie par émission de positon (=PET : positron emission tomography)
FOXM1: Fokhead Box M1	TGF β : Transforming growth factor beta
GPA : graded prognostic assessment)	TKI : tyrosine kinase inhibitor
Gy : Gray	TLR4 : Toll-Like Receptor 4
HE : hématoxyline-éosine	TME : transition épithélio-mésenchymateuse
Her2 : Human Epidermal Growth Factor Receptor-2	TNF : Tumor Necrosis Factor
HGF : hepatocyte growth factor	TNFR1 : Tumor Necrosis Factor Receptor 1
HIF-1a : Hypoxia Inducible Factor 1a	TNM : Tumor, Node, Metastasis
HMGB1 : high mobility group box 1	TopBP1 : topoisomérase II bêta protéin I
HR : Hazard Ratio	Trx1 : redox-regulated protein thioredoxin-1
H-score : score histologique	VEGF : vascular endothelial growth factor
IDH1 : isocitrate déshydrogénase 1	VMAT : volumetric modulated arc therapy
I κ B : Inhibitor of kappa-B	WBRT : whole brain radiation therapy
I κ K : inhibitor of kappa-B kinase	Wnt : wingless integration site
IL : interleukine	ZEB1 : zinc finger E-Box Binding Ho
IRM : imagerie par résonnance magnétique	
ITK : Inhibiteur de Tyrosine Kinase	

INTRODUCTION

I – Aspects cliniques

I – 1 Epidémiologie des métastases cérébrales des cancers bronchopulmonaires

Epidémiologie : incidences des métastases cérébrales

L'encéphale est un site de dissémination métastatique très fréquent. On estime en effet que 2% environ de tous les patients atteints de cancer de tous stades et 10% environ des patients métastatiques développeront une métastase cérébrale (MC) (Nayak, Lee, and Wen 2012; Barnholtz-Sloan et al. 2004). Les primitifs les plus pourvoyeurs de MC sont : le cancer du poumon, le cancer du sein, le mélanome, le cancer colo-rectal et le cancer rénal (Achrol et al. 2019; Sperduto et al. 2010).

Les bases de données épidémiologiques s'intéressant à la question particulière des métastases cérébrales existent mais sont souvent anciennes, ne tenant pas compte des avancées en imagerie ou thérapeutiques qui modifient l'épidémiologie des MC. (J. S. Lee et al. 2019). De plus, la plupart des études épidémiologiques notent les MC au diagnostic mais peu les notent également lorsqu'elles apparaissent au cours du suivi (Achrol et al. 2019).

Malgré cela, le cancer bronchopulmonaire reste encore la première cause de métastase cérébrale, et on estime que 20% des patients vont développer une ou plusieurs MC au cours de leur maladie (Barnholtz-Sloan et al. 2004).

Cette forte probabilité de développer une atteinte cérébrale est plus faible lorsque la maladie primitive bronchopulmonaire est initialement non métastatique (9% des cancers bronchiques non à petites cellules « CBNPC »). Ce risque dépend de l'histologie ; un patient sur 5 avec un cancer bronchique à petites cellules (CPC) initialement non métastatique développera une MC au cours de son histoire. (Goncalves et al. 2016).

Les chiffres sus-cités concernent une probabilité lissée sur l'histoire naturelle du diagnostic au décès mais, en pratique, il est intéressant de connaître le risque pour un patient à un moment donné de sa maladie.

Dans le rapport épidémiologique le plus récent de la base américaine SEER publié en 2017 (Cagney et al. 2017), Cagney décrit l'incidence des MC *au diagnostic*, d'abord tous stades confondus puis uniquement les maladies métastatiques *de novo* :

- Adénocarcinome : l'incidence est de 14% au diagnostic quel que soit le stade, et 27%, soit presque 1 patient sur 3 présente une MC si la maladie est métastatique *de novo*.

- CPC : 16% les patients ont une MC au diagnostic quel que soit le stade, et 1 patient sur 4 a déjà une MC si la maladie est métastatique *de novo*.

- Les carcinomes épidermoïdes bronchiques font moins de MC : si la maladie est métastatique *de novo*, 16% des patients ont aussi une MC au diagnostic (Cagney et al. 2017).

L'histologie influence donc la survenue de métastases cérébrales dans les cancers bronchopulmonaires, mais également la biologie moléculaire.

Environ 20% des adénocarcinomes bronchiques présentent une mutation de l'EGFR (epidermal growth factor receptor) (dans la population caucasienne, contre 40% dans la population asiatique). Les études sont divergentes sur la question du sur-risque de MC dans cette population, mais une importante méta-analyse, dont 1/3 des études étaient occidentales, a montré qu'il y avait plus de risque de développer une MC avec un cancer muté EGFR que non-EGFR (L. Li et al. 2017; Hendriks et al. 2014). En revanche, l'incidence des métastases cérébrales au diagnostic est globalement la même dans cette population EGFR que dans la population *wild type*, allant jusqu'à 20-30%. Par ailleurs, 10% des patients sans métastase cérébrale initialement progressent au niveau encéphalique alors qu'ils sont traités par anti-EGFR (Remon and Besse 2018).

La présence d'une translocation ALK (anaplastic lymphoma kinase) dans les CBNPC est de l'ordre de 5% (Shaw and Solomon 2011). Elle est corrélée à un plus fort risque de développer une MC ; différentes études rapportent des incidences de MC entre 45 et 70% des patients ALK-transloqués. (Toyokawa et al. 2015; Zhang et al. 2015).

Epidémiologie : Modification de la survie en cas de métastase cérébrale

Malheureusement, cette atteinte métastatique fréquente est également un facteur de mauvais pronostic (Long et al. 2016).

Cagney rapportait en 2017, pour les patients avec une MC au diagnostic, une médiane de survie de 4 mois, 6 mois et 4 mois respectivement pour les CBPC, les carcinomes épidermoïdes bronchiques et les adénocarcinomes bronchiques (Cagney et al. 2017). Cette estimation de survie très faible peut être pondérée par des scores pronostiques. Sperduto, qui a proposé des scores pronostiques dans les populations de MC de primitif de mélanome, de sein et bien sûr de poumon, avait initialement publié le DS-GPA (diagnosis specific graded prognostic assessment) en 2012, où étaient pronostiques : l'âge, le score KPS (Karnofsky Performans Status), le nombre de MC, la présence de métastase extracérébrale (Sperduto et al. 2012). Les médianes de survie variaient de 3 à 14 mois selon les groupes pronostiques.

Pour être en adéquation avec l'amélioration du diagnostic moléculaire, Sperduto a mis à jour le score en 2017, devenu le Lung-molGPA, qui inclut les mêmes caractéristiques et ajoute le statut mutationnel de l'EGFR et la présence de la translocation ALK (Sperduto et al. 2017)(Tableau 1).

Avec les quelques années d'écart qui reflètent les progrès thérapeutiques, les médianes de survie, y compris des groupes les plus mauvais, sont nettement améliorées et varient de 7 mois à 48 mois pour les adénocarcinomes, et restent toujours plus faibles pour les autres histologie (entre 5 et 13 mois) (Sperduto et al. 2017) (Tableau 2 et figure 1).

Facteurs pronostiques	Score selon critères du GPA			Score du patient
	0	0.5	1.0	
Age, ans	≥70	<70	NA	_____
KPS	<70	80	90-100	_____
M-EC	Présente		Absente	_____
Nb de MC	>4	1-4	NA	_____
Statut génétique	EGFR neg/NC at ALK neg/NC	NA	EGFR positif ou ALK positif	_____
Total	NA	NA	NA	_____

Tableau 1 : Feuille de calcul du score pronostique Lung-molGPA (Sperduto et al. 2017)

GPA: Graded prognostic assessment, KPS: Karnofsky performance status, M-EC: métastases extracérébrales, MC: métastase cérébrale, NC: non connu, NA: non applicable

Valeur du score Lung-molGPA	Type histologique	0-1	1.5-2.5	2.5-3.5	3.5-4	Tout
Médiane de survie globale (mois)	Adénocarcinome	6.9	13.7	26.5	46.8	15.2
	Autres histologies confondues	5.3	9.8	12.8	0	9.2

Tableau 2 : Médiane de survie globale en mois en fonction du score Lung-molGPA et de l'histologie (Sperduto et al. 2017)

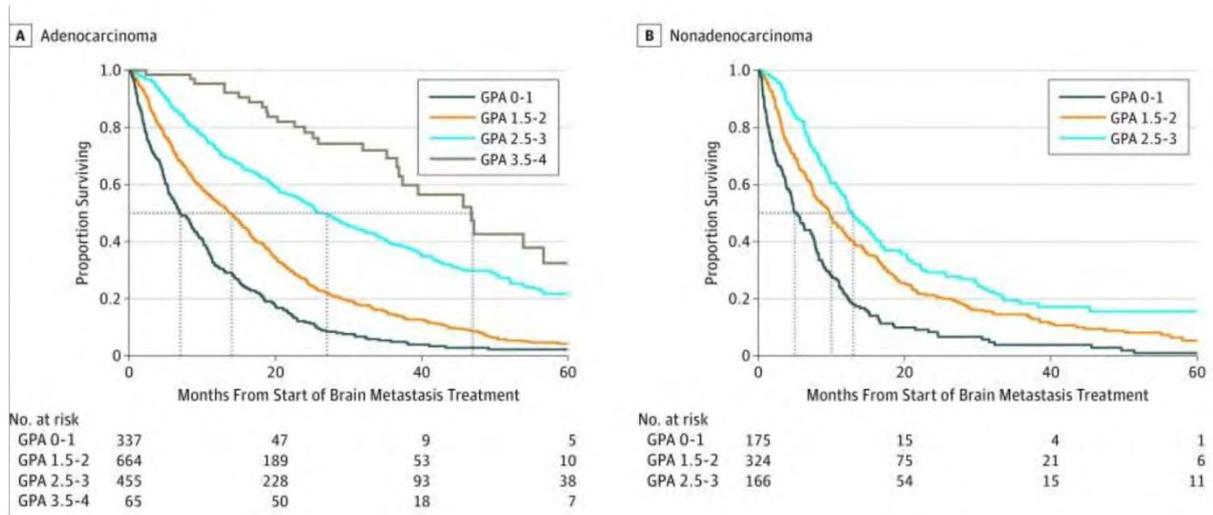


Figure 1: courbes de survie selon Kaplan-Meier en fonction du score lung-molGPA et de l'histologie (à gauche : adénocarcinome, à droite : autres) (Sperduto et al. 2017)

I – 2 Traitement des métastases cérébrales de primitif broncho-pulmonaire

Si la médiane de survie des patients avec MC est aussi faible, c'est en partie parce que les thérapies systémiques classiques, en particulier les chimiothérapies, manquent d'efficacité dans l'encéphale. En effet, que ce soit dans le cas de MC ou dans le cas des tumeurs cérébrales primitives, les chimiothérapies peinent à passer la barrière hémato encéphalique (BHE).

Théoriquement, seules les molécules liposolubles de bas poids moléculaire peuvent franchir la BHE (Pardridge 2016; Zimmermann, Dziadziuszko, and Peters 2014; Weidle, Niewöhner, and Tiefenthaler 2015).

I – 2a Efficacité intracérébrale des chimiothérapies

Les chimiothérapies ayant montré un passage dans le liquide cérébro-spinal sont le Temozolomide, le Methotrexate et Le Topotecan (Zimmermann, Dziadziuszko, and Peters 2014).

Dans les années 2000, le Temozolomide montre son intérêt dans la prise en charge des tumeurs malignes cérébrales (notamment en radiochimiothérapie concomitante dans le glioblastome)(Stupp et al. 2005). Reproduisant le même type de schéma, en concomitant avec une irradiation de type WBRT (Whole Brain Radiation Therapy, ou irradiation encéphalique en totalité) puis en adjuvant, le Temozolomide en 1ere ligne amenait un taux de réponse objective de 96% versus 67% et un taux de réponse complète de 38 vs 33% ($p=0.017$) (Abrey and Christodoulou 2001). D'autres études cependant présentent des réponses bien moins importantes malgré l'ajout du Cisplatine (sans radiothérapie), de l'ordre de 16%, sans amélioration de la survie globale et au prix d'importantes toxicités (20% de neutropénie de grade 3/4) (Cortot et al. 2006). Une méta-analyse récente évaluant l'apport du Temozolomide au WBRT conclue définitivement à l'absence de gain en survie sans progression ou survie globale (Ma et al. 2016). Par ailleurs, du fait de l'absence d'efficacité sur le reste de la maladie extracérébrale, le Temozolomide n'est pas utilisé en pratique clinique.

Bien que le Topotecan soit utilisé en 2eme ligne dans les CPC résistants, son action sur les MC n'est pas soutenue par beaucoup de preuve. Une seule phase III en concomitance au WBRT, CPC et CBNPC, avait été montée et stoppée devant le manque d'inclusion. Bien que les résultats soient faussés par une importante mortalité liée à la progression, les auteurs décrivaient une médiane de survie sans progression autour de 3 mois quel que soit le type histologique et le groupe de traitement (Neuhaus et al. 2009).

Du fait de son passage reconnu de la BHE, le Méthotrexate est parfois utilisé en intrathécal pour cibler les méningites carcinomateuses, notamment dans le sein, mais il n'a pas été étudié et n'est pas utilisé pour lutter contre les MC.

Cette notion de BHE infranchissable est mise à mal par l'efficacité d'autres chimiothérapies, notamment les platines. Le doublet comprenant du platine a été pendant longtemps, jusqu'à l'avènement de l'immunothérapie, le traitement permettant les meilleurs résultats des CBNPC métastatiques. L'étude de ces traitements sur les MC a montré des taux de réponses plutôt intéressants mais des survies médiocres. Barlesi a évalué l'effet du Cisplatine –Pemetrexed dans une cohorte de CNBPC avec MC en 1ere ligne (Barlesi et al. 2011). Le taux de réponse cérébrale était de 41.9% (le taux de réponse extra-cérébral était de 34.9%) et la survie médiane de la cohorte de 7.1 mois (Barlesi et al. 2011).

L'étude française portée par Robinet et al évaluait la place de l'irradiation panencéphalique (immédiate ou retardée) dans une population traitée par Cisplatine – Vinorelbine (Robinet et al. 2001). Le WBRT était soit réalisé dès le 1er cycle en concomitance à la chimiothérapie, soit à la progression cérébrale. Le taux de réponse intracrânienne était de 27% dans le bras sans radiothérapie versus 33% dans le bras avec radiothérapie et la survie médiane était de 24 et 21 mois respectivement dans les bras WBRT retardé et immédiat.

Au-delà de la chimiothérapie, le Bevaczumab est l'une des premières thérapies ciblées utilisées. Les métastases cérébrales ne constituent pas une contre-indication au Bevacizumab (hors saignement actif). L'essai français BRAIN mené par l'équipe de Gustave Roussy était une phase II non comparative qui évaluait l'efficacité et la tolérance du Bevacizumab dans une population de patient avec métastases cérébrales de CBNPC non épidermoïdes non traitées et asymptomatiques, en ajout à au traitement systémique (Carboplatine Paclitaxel en 1ere ligne). La médiane de survie globale de 16 mois, avec un taux de réponse intracrânienne d'environ 60% (équivalent à la réponse extracrânienne) et une médiane de 8 mois avant progression (Besse et al. 2015).

Le mécanisme d'action n'est pas simplement lié au passage de la BHE. Au contraire, la question est complexe puisque la néoangiogenèse, la taille des MC et la radiothérapie encéphalique tendent à modifier la BHE et augmenter sa perméabilité (Pardridge 2016). Ces altérations pourraient être bénéfiques et expliquer l'efficacité intracérébrale des autres chimiothérapies et traitement systémiques.

Si les chimiothérapies classiques n'ont pas permis d'obtenir des réponses thérapeutiques satisfaisantes, les thérapies ciblant des voies de signalisations activées dans certains cancers bronchopulmonaires montrent une certaine efficacité.

Actuellement, la première ligne de traitement systémique pour les CBNPC métastatiques sans altération moléculaire cible dépend de l'expression de PDL1 par les cellules tumorales (PDL1 : Programmed death-ligand 1)(Planchard et al. 2018; Couraud 2020).

I – 2b Efficacité intracérébrale de l'immunothérapie

Depuis 5 ans environ, la mise au point des traitements immunomodulateur a considérablement modifié le paysage des traitements contre le cancer. L'immunothérapie en association à la chimiothérapie est actuellement le traitement le plus efficace dans les CBNPC sans altération génétique. Ce sont les anti-PD1/PDL1, le Pembrolizumab et le Nivolumab. Bien que leur place dans la maladie métastatique soit maintenant largement étudiée, peu d'études portent spécifiquement sur l'efficacité intracrânienne de l'immunothérapie.

Golberg a publié en 2016 une phase II permettant d'évaluer la réponse intracérébrale d'une cohorte de patients traités pour un mélanome ou un CBNPC par pembrolizumab (Goldberg et al. 2016). Sur les 18 patients avec un CBNPC, 33% ont bien répondu avec une réponse cérébrale partielle et durable (entre 3 et 10 mois). Dans cette petite étude, les réponses intra et extracrânienne étaient corrélées entre elles.

Crinò a également publié une phase II portant sur une population de patients avec CBNPC traités par Nivolumab (Crinò et al. 2019). Le contrôle local atteignait 59% et la médiane de survie 8,9% chez ces patients en 2eme ligne avec une atteinte cérébrale asymptomatique.

Les études randomisées de phase III incluent de manière générale assez peu de patients avec des métastases cérébrales, et quand elles existent, elles doivent souvent être traitées avant. Cependant, les études princeps dans les CBNPC apportent quelques informations détournées sur l'efficacité de l'immunothérapie dans ces populations.

Dans les années 2010, l'immunothérapie fait son entrée dans les phases III des cancers bronchopulmonaires, avec les études CHEKMATE 017 (CM-017) (épidermoïdes) et CHEKMATE 057 (CM-

057) (non épidermoïdes). Ces essais avaient montré avant les études KEYNOTE l'augmentation de la survie globale et de la survie sans progression avec le Nivolumab en 2eme ligne (23% de survie globale à 2 ans versus 8% avec le Docetaxel pour les épidermoïdes, 29% versus 16% pour les non épidermoïdes)(Horn et al. 2017). Dans l'étude initiale CM-057 (non épidermoïdes), 12% de patients avaient des MC et l'analyse en sous-groupe montrait plutôt une tendance au bénéfice de la chimiothérapie sur la survie globale (Borghaei et al. 2015). Moins de 10% des patients avaient des MC à l'inclusion dans CM-017 (épidermoïdes) et ce sous-groupe n'est pas détaillé (Brahmer et al. 2015).

C'est finalement le Pembrolizumab qui est retenu en première ligne métastatique / avancée (+/- avec de la chimiothérapie) dans les recommandations grâce à l'essai KEYNOTE-042 où il était comparé à une chimiothérapie à base de platine. On observait une amélioration de la survie globale dans le groupe immunothérapie ; dans la cohorte PDL1 > 50%, la médiane de survie était de 20 mois avec Pembrolizumab contre 13 mois avec chimiothérapie. Cet écart se maintenait dans la cohorte PDL1 > 1% : 17 mois versus 12 mois (Mok et al. 2019). Cependant, dans cet essai comme dans KEYNOTE-024 (même design mais réalisé uniquement sur la population PDL1 > 50% et de stade IV) aucune mention n'est faite des résultats sur les MC.

L'étude de phase III KEYNOTE-189 est au final celle qui apporte le plus de précision au sujet des MC. C'est l'étude qui a montré l'intérêt sur la survie globale de l'ajout du doublet de chimiothérapie à base de platine au pembrolizumab dans les CBNPC non-épidermoïdes : la survie globale à 1 an est de 70% avec la trithérapie versus 50% avec l'immunothérapie seule (Gandhi et al. 2018).

Elle a récemment été mise à jour en incluant des résultats exploratoires sur les MC. La médiane de survie est maintenant de 20 mois dans le groupe à l'étude versus 11 mois dans le groupe contrôle. Les résultats de survie globale et de survie sans progression (globale) étaient similaires dans le sous-groupe avec MC (Gadgeel et al. 2020).

Aucune toxicité supplémentaire, notamment neurologique n'a été décrite dans ces études chez les patients avec MC.

I – 2c Inhibiteurs de tyrosine kinase et métastases cérébrales

Voie de l'EGFR

Nous avons vu dans les études épidémiologiques que les avancées en biologie moléculaires ont permis d'identifier une altération génomique oncogénique dans 50 à 80% des adénocarcinomes bronchiques avancés, avec, dans l'ordre de fréquence, la mutation du gène KRAS¹ dans 24% des cas, du gène EGFR dans 13% des cas et d'une translocation EML4-ALK² dans 5% des cas. D'autres existent et sont moins communes comme la mutation de PI3KCA³ (2%), de la Beta-catenin (2%), de BRAF⁴ (1%), de NRAS⁵ (1%), de Her2⁶ (1%) et d'IDH1⁷ (1%) (*confère note de page*) (Zimmermann, Dziadziuszko, and Peters 2014; Sequist et al. 2011) .

La mutation KRAS n'est pas actuellement prédictive de réponse positive à un traitement. En revanche, la seconde mutation la plus fréquente, celle du gène EGFR, est la cible thérapeutique génétique la plus développée.

L'Erlotinib, un des premiers inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK ou TKI) utilisé dans les CBNPC porteurs d'une mutation du gène de l'EGFR, est moins efficace en intracérébral qu'en extracérébral : Lee YJ a étudié les patterns de rechute des patients traités par Erlotinib (Y. J. Lee et al. 2010) . Chez les patients bons répondeurs en extracérébral, le taux de récurrence en intracérébral était plus important que chez les non-répondeurs, signifiant que l'efficacité de l'Erlotinib était moindre en intracérébral. Dans la plupart des autres études, l'Erlotinib reste cependant un traitement avec un important taux de réponse intracérébrale de plus de 80% (Zimmermann, Dziadziuszko, and Peters 2014).

Cependant, depuis l'essai FLAURA, le TKI de 3eme génération Osimertinib est maintenant le traitement de 1ere ligne en cas de mutation activatrice de l'EGFR (exon 19 ou 21) (Soria et al. 2017). L'Osimertinib apporte une amélioration significative de la survie sans progression (19 mois versus 10 mois avec l'Erlotinib) et de la survie globale (39 mois vs 32 mois). Le TKI de 3eme génération est responsable une remarquable réponse à l'étage encéphalique, avec une survie sans progression à 1 an de 77% versus 53% sous Erlotinib (médiane de survie sans progression non atteinte dans le bras à l'essai).

¹ KRAS : Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog

² EMLA4-ALK : echinoderm microtubule-associated protein-like 4 / Anaplastic lymphoma kinase

³ PI3KCA : phosphoinositide 3-kinase

⁴ RAF : Rapidly Accelerated Fibrosarcoma

⁵ NRAS : Neuroblastoma – RAS (RAt Sarcoma)

⁶ HER2 : Human Epidermal Growth Factor Receptor-2

⁷ IDH1 : isocitrate déshydrogénase 1

Voie de ALK

Après les mutations du gène EGFR, l'altération moléculaire cible la plus fréquente est la translocation EML4-ALK.

Le Crizotinib est un TKI de 1ère génération ciblant ALK. L'étude PROFILE 1014 incluait des patients porteurs de MC. Le taux de contrôle intracrânien (stabilité, réponse partielle ou complète) était de 85% à 3 mois et de 56% à 6 mois (Griesinger et al. 2018). Cependant, on observe 22% de progression intracérébrale chez des patients sans MC au diagnostic, suggérant un passage limité de la BHE.

L'Alectinib est le TKI recommandé en 1ère ligne du traitement des CBNPC avec réarrangement de ALK, augmentant la survie globale par rapport au Crizotinib (dans l'étude ALEX : survie globale à 4 ans : 65% versus 52%) et la survie sans progression. Il est particulièrement efficace dans le contrôle des métastases cérébrales préexistantes, diminuant le taux d'incidence cumulée de la progression du système nerveux central (SNC) à 12 mois de 41% versus 9%, avec un taux de réponse de 88% vs 50% pour le Crizotinib et a également un rôle protecteur vis-à-vis du SNC en retardant l'apparition de MC. (Peters et al. 2017)

I – 2d Synthèse des thérapies systémiques pour les métastases cérébrales

Bien que les nouvelles thérapies systémiques et les associations immunothérapie – chimiothérapie aient considérablement amélioré la survie sans progression et la survie globale des patients métastatiques, et bien que les données partielles nous rassurent sur l'efficacité intracérébrale de ces traitements, les patients qui développent des métastases cérébrales gardent un mauvais pronostic, en particulier les patients wild-type et PDL1 négatif.

De plus, ces métastases cérébrales peuvent facilement être à l'origine de symptômes invalidants, avec des troubles moteurs, cognitifs, sensitifs qui affectent la qualité de vie et l'autonomie, voire peuvent engager le pronostic vital lorsqu'elles ne sont pas contrôlées (hypertension intracrânienne avec engagement, épilepsie avec risque d'état de mal épileptique, etc.)

C'est pour cela que, bien qu'il ne soit pas systématique et qu'il soit de plus en plus retardé grâce à l'efficacité première du traitement systémique, le traitement local intracrânien continue à être discuté, en gardant en mémoire que les données de la littérature ne permettent pas de trancher entre le fait de débiter par le traitement systémique ou par la radiothérapie cérébrale.

La chirurgie est particulièrement utile en cas de métastase symptomatique accessible à une exérèse, à distance des zones fonctionnelles. Idéalement, la chirurgie est indiquée lorsqu'un diagnostic histologique est nécessaire (métastases synchrones), ou lorsque la taille est trop importante pour une irradiation en condition stéréotaxique et que cette dernière doit être couplée à une chirurgie, ou pour les lésions symptomatiques.

La radiothérapie peut être délivrée selon plusieurs méthodes et pour différentes indications. La différence entre les méthodes, notamment le WBRT et la radiothérapie stéréotaxique, a une importance capitale pour le contrôle local.

I – 3 Techniques de radiothérapie pour les métastases cérébrales

Radiothérapie conformationnelle 3B : Whole Brain Radiation Therapy

La technique la plus ancienne pour traiter les métastases cérébrales consiste à pratiquer une irradiation encéphalique en totalité, que l'on appelle aussi « whole brain » en pratique courante, pour « whole brain radiation therapy » (WBRT). Cette technique de radiothérapie conformationnelle 3D consiste à irradier l'ensemble de l'encéphale par un champ fixe et délivre une dose théoriquement homogène à l'ensemble du parenchyme cérébral tout en protégeant les globes oculaires et les cristallins (Figure 2). Cette technique présente l'avantage de traiter les micrométastases puisqu'on irradie l'ensemble du cerveau, mais est responsable d'un déclin cognitif radioinduit, notamment à cause de l'irradiation des hippocampes, et parfois d'un échappement tumoral car la dose délivrée sur les lésions ou les lits opératoires est modérée. Classiquement, la dose est de 30 Grays (Gy) en 10 fractions de 3 Gy ou de 37.5 Gy en 15 fractions de 2.5 Gy (on réalise parfois l'irradiation à la dose de 20 Gy en 5 fractions de 4 Gy chez des patients altérés afin de diminuer le nombre d'aller-retour).

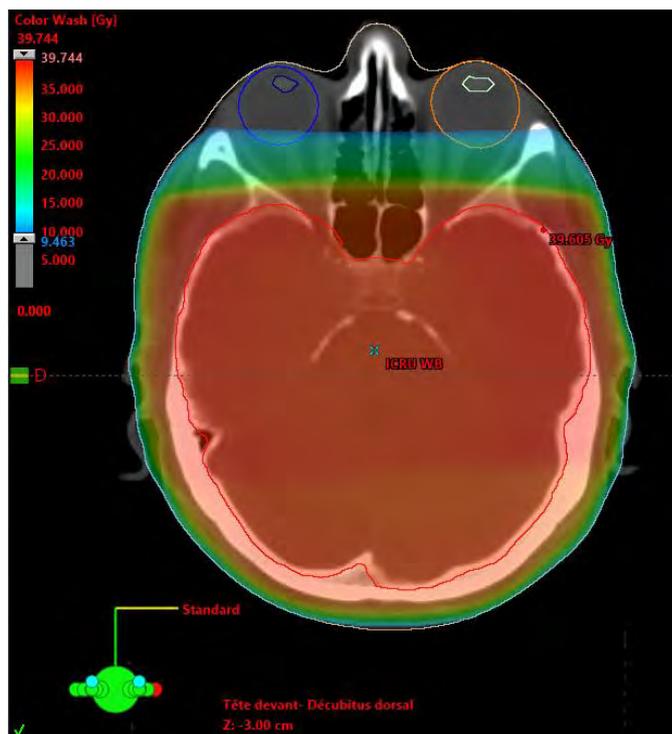


Figure 2 : Dosimétrie d'un plan de WBRT

Radiothérapie conformationnelle avec modulation d'intensité : exemple du « boost »

Avec l'avancée de la radiothérapie et le développement de la radiothérapie conformationnelle avec modulation d'intensité (RCMI), un complément de dose peut être délivré sur une région d'intérêt, par exemple une lésion en place ou un lit opératoire. La modulation d'intensité est une avancée en matière de machine, avec un accélérateur dont le bras est capable de tourner autour du patient en demi-arc, tout en délivrant un faisceau. Ce faisceau est lui-même modulé en intensité et en forme par un collimateur multi-lame. C'est aussi un progrès dans les logiciels de planification de la dosimétrie ; avec des ordinateurs capables de proposer des plans de traitements qui respectent les contraintes de dose qu'on leur a fourni en amont.

En pratique, dans le cadre des MC, cela signifie que l'on peut délivrer une dose plus importante au niveau de la cible (lit opératoire, MC en place) tout en protégeant les organes à risque autour (chiasma optique, hippocampes, tronc cérébral) et en délivrant aussi une dose prophylactique au reste de l'encéphale. En pratique courante, on appellera ce complément de dose le « boost ». Les lits opératoires des MC sont classiquement traités entre 30 et 35Gy à raison de 5 séances de 6 à 7 Gy.

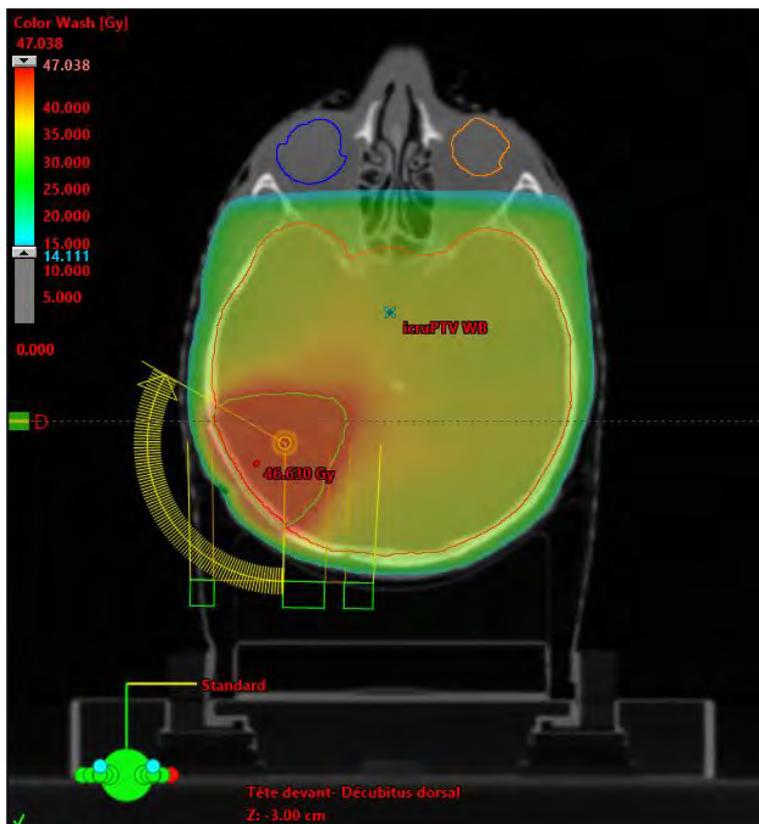


Figure 3. Dosimétrie d'un plan de WBRT + boost en RCMI

Radiothérapie en condition stéréotaxique

La radiothérapie en condition stéréotaxique, ou SRT pour « stereotactic radiation therapy », utilise des processus de repositionnement du patient très précis, à 1 ou 2 mm près (par un masque de contention), et un débit de dose important, tout en maintenant un gradient de décroissance très fort. Cela signifie la possibilité de délivrer sur des petits volumes des grosses doses par fraction, entre 8 et 24 Gy par fraction, avec un schéma entre 1 à 5 fractions seulement, et que la dose décroît très rapidement jusqu'à être nulle à quelques millimètres de la cible. La SRT permet un traitement ablatif très précis.

Dans le cas des MC, La SRT permet de traiter les lésions en place tout en épargnant le tissu cérébral sain et donc limite les effets secondaires cognitifs. Les résultats quant au contrôle local sont excellents mais les fortes doses peuvent provoquer des radionécroses et l'évitement du parenchyme cérébral ne permet pas l'effet prophylactique du WBRT. Les doses prescrites sur les lésions opératoires sont schématiquement les mêmes que dans le cas des boosts avec WBRT, 30Gy en 5x6Gy, mais les doses sur les lésions en place peuvent être plus élevées, entre 27 Gy en 3x9 Gy et 24 Gy en 1 fraction. La radiochirurgie est une radiothérapie stéréotaxique en une fraction unique qui peut être délivrée de manière conventionnelle en radiothérapie externe photonique (rayons X) avec un masque pour immobiliser le patient ou en gammaknife (source de rayonnements gamma) avec un casque de neuronavigation vissé aux os crâniens.

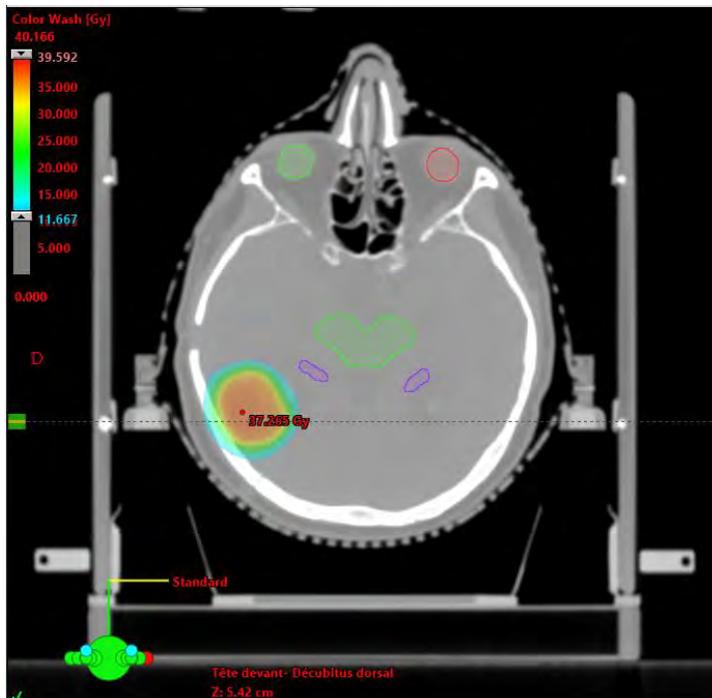


Figure 4 : Dosimétrie d'un plan de radiothérapie stéréotaxique intracérébrale en photons

I – 4 Place de la radiothérapie des métastases cérébrales

Le choix de la séquence du traitement local (chirurgie, radiothérapie) et de la technique va dépendre essentiellement du nombre de métastases cérébrales mais aussi de l'envahissement extracérébral de la maladie.

I – 4a Situation oligométastatique : place de la chirurgie

Une maladie oligométastatique se définit schématiquement comme une maladie avec 1 à 5 sites métastatiques seulement, dans un nombre limité d'organes.

La situation oligométastatique, où le cerveau est le seul site métastatique et est associé à une maladie bronchopulmonaire accessible à un traitement local, est l'indication phare du traitement local intracrânien ablatif depuis les années 1990.

En 1990 Patchell et al publiaient un essai randomisé où était comparé le WBRT à la stratégie chirurgie + WBRT (Patchell et al. 1990).

Le WBRT était délivré à la dose de 36 Gy par fractions de 3 Gy. Le taux de récurrence était de 20% dans le groupe avec chirurgie versus 52% dans le groupe sans chirurgie ($p < 0.02$) et le temps à progression de la lésion initiale était plus court en l'absence de chirurgie (médiane : 21 semaines versus > 59 semaines, $p < 0.0001$).

Il n'y a pas d'étude randomisée comparant la chirurgie à la SRT mais plusieurs études non randomisées rapportent des taux de contrôle local équivalents. La plus récente et intéressante (malgré un nombre de patient assez faible – 85) est la revue de Cochrane de 2018. Les 2 études incluses comparaient, pour l'une : chirurgie + WBRT versus SRT, pour l'autre : chirurgie + WBRT versus SRT + WBRT. Les deux avaient été fermées précocement faute d'inclusion. Dans l'étude chirurgie versus SRT (et WBRT dans chaque bras), la médiane de survie sans progression était de 1.7 mois dans le groupe chirurgie vs 3.1 mois dans le groupe SRT (non significatif). Les survies globales étaient identiques, autour de 9-10 mois.

Dans les cas de métastase unique, la chirurgie est donc recommandée, suivie d'une irradiation du lit opératoire.

I – 4b Situation oligométastatique : irradiation adjuvante

Initialement, après l'exérèse chirurgicale, on proposait au patient **une irradiation adjuvante de type WBRT**. Cependant, la dose délivrée est à la fois non suffisante sur le lit opératoire, n'empêchant pas toutes les récurrences, et trop importante sur le parenchyme, provoquant des déclin cognitifs sans augmenter la survie globale.

L'ajout de la SRT au WBRT a été étudié par Andrews en 2004 dans l'essai RTOG 9508 (WBRT versus WBRT + SRT) (Andrews et al. 2004). Cette étude présente de nombreux biais mais il ressort que les patients dans le groupe WBRT +SRT ont un meilleur score Karnofsky Performans Status à 6 mois. Cette étude sert surtout de repère concernant les doses délivrées pour les études ultérieures. Le groupe WBRT seul semblait avoir un risque de 43% en plus de récidiver sur la lésion cible.

A l'inverse, **par rapport à une SRT seule, l'ajout du WBRT** permet d'augmenter le taux de contrôle cérébral à distance sans augmenter la survie globale (Aoyama et al. 2006; Soffietti et al. 2013; Brown et al. 2016).

Ainsi, dans l'étude de Brown, à 1 an, 92% des patients du groupe WBRT+ SRT n'avaient pas de progression dans le reste du cerveau (hors MC traitée en SRT) versus 70% dans le groupe SRT. Dans celle d'Aoyama, l'incidence cumulative d'apparition de nouvelle MC était également diminuée dans le groupe WBRT, avec une incidence de 41% dans le groupe WBRT, versus 64% dans le groupe SRT.

On observe plus de retraitement dans le bras SRT, ce qui peut aussi s'expliquer par la plus grande facilité à traiter sur un cerveau moins irradié (i.e. sans WBRT antérieur) (Soffietti et al. 2013).

Finalement, la **radiothérapie stéréotaxique adjuvante seule post-opératoire** a alors été évaluée par Mahajan et al dans une étude de phase III monocentrique pour des tumeurs de moins de 4 cm avec une irradiation par gammaknife (12-16 Gy sur l'isodose 50). La SRT en post opératoire était évaluée contre l'observation. Le taux de contrôle local sur le lit opératoire à 12 mois était de 70% dans le bras SRT versus 40% dans le bras observation. Encore une fois aucune différence en survie globale n'a été observée mais on rapportait un plus grand risque de mort par cause neurologique dans le bras observationnel (Mahajan et al. 2017). L'irradiation adjuvante était aussi efficace sur les petites tumeurs de moins de 2,5 cm, permettant un taux de contrôle local de 90% (Mahajan et al. 2017).

Un essai de phase III mené par Brown a permis de **comparer la SRT (en dose unique) versus le WBRT en adjuvant** (Brown et al. 2017). Le contrôle local et intracranien à distance était similaire dans les groupes, voire inférieur en cas de SRT, mais ce n'était pas le critère de jugement principal et les auteurs avançaient que la confusion ait pu être faite entre progression du lit opératoire et radionécrose après SRT. En revanche, la détérioration cognitive était plus importante dans le groupe WBRT.

Il est recommandé d'opter, en cas de peu de lésions, d'opter pour la SRT sur le lit opératoire afin de repousser l'échéance du WBRT et de la préservation cognitive, au détriment de l'effet prophylactique sur d'éventuelles micrométastases.

Si la chirurgie n'est pas possible dans la maladie oligométastatique, la lésion doit faire l'objet d'une SRT. Le WBRT en complément n'est plus indiqué.

I – 4c Situation oligométastatique : radiothérapie stéréotaxique fractionnée ou radiochirurgie

La radiothérapie stéréotaxique peut être délivrée en fraction unique, il s'agit de la radiochirurgie, ou de manière hypofractionnée en plusieurs séances.

Dans la plupart des études portant sur la radiothérapie stéréotaxique des métastases cérébrales, les auteurs utilisent la radiochirurgie, délivrée en 1 fraction, par rayons gamma ou par photons.

La dose utilisée en radiochirurgie dans les essais est souvent celle retenue dans l'étude RTOG 9508 (Andrews et al. 2004). Les doses sont ; pour des tumeurs de < 2cm : 24Gy, entre 2.1cm et 3cm : 18 Gy, entre 3.1cm et 4cm : 15 Gy en une fraction.

Cependant, en cas de gros volume cible, la dose aux organes à risque augmente et le fractionnement de la dose est préféré afin de diminuer le risque de radionécrose cérébrale (Minniti et al. 2011).

Minniti a publié un essai randomisé en 2016 évaluant la SRT en fraction unique (18Gy si T = 2-3cm, 15-16 Gy si T>3cm) versus la radiothérapie hypofractionnée (3x9Gy sur l'isodose 80%) sur des MC en place (Minniti et al. 2016). Le contrôle local à 1 an était meilleur dans le groupe hypofractionné (90% vs 77%) et le taux de radionécrose inférieur (8% en cas d'hypofractionnement versus 20% en radiochirurgie). Le contrôle local est un peu moins bon dans la métaanalyse de Baliga et dans l'étude de Lockney qui évalue la SRT en 5x6Gy, autour de 80% à 1 an, sans différence majeure *a priori* dans l'inclusion (Baliga et al. 2017; Lockney et al. 2017) .

Lischalk a évalué 3 protocoles de SRT hypofractionnée sur une lésion en place : 30Gy (5x6gy), 35Gy (5x7Gy) ou 40Gy (5x8Gy) (Lischalk et al. 2015). La dose de 35 Gy en 5x 7Gy a été retenue comme plus efficace sur le contrôle local que la dose de 30 Gy et causant moins de radionécrose que 40 Gy.

Si la maladie est oligométastatique avec 2 à 4 MC, la SRT de toutes les lésions est recommandée. Si la chirurgie est nécessaire sur une MC, le lit opératoire doit être irradié en SRT et les autres lésions traitées. Le WBRT n'est pas recommandé.

I – 4d Métastases cérébrales multiples, non oligo-métastatique : place du WBRT

Lorsque la maladie n'est pas oligométastatique et que le nombre de MC dépasse 4, l'irradiation encéphalique n'est pas automatique et doit être discutée en fonction des symptômes, de la maladie extracrânienne, du Performans Status et de l'espérance de vie théorique.

L'essai QUARTZ a été monté par Mulvenna en 2007 afin d'évaluer l'intérêt d'un traitement local par WBRT dans une population de patients qui ne pouvaient pas bénéficier d'un traitement ablatif par chirurgie ou SRT (40% des patients avaient un score KPS inférieur à 70).

Le WBRT à la dose de 20Gy en 5x4 Gy était comparé aux soins de supports associés à la dexaméthasone (aussi donnée dans le groupe WBRT). L'étude n'a pas montré de différence entre les groupes sur la qualité de vie qui était le critère de jugement principal, la survie globale ni le temps à l'arrêt de la cortisone. Cependant, les patients avaient un très mauvais pronostic, la médiane de survie étant d'environ 9 semaines dans les deux groupes.

Il en a découlé l'absence d'intérêt clinique à faire une irradiation même avec un schéma adapté hypofractionné en cas d'espérance de vie estimée de moins de 3 mois. L'étude ne permettait pas de trancher sur l'intérêt du traitement en fonction des scores pronostiques tels le RPA (recursive partitioning analysis) ou le GPA (graded prognostic assessment) malgré une tendance au bénéfice sur la survie globale dans les groupes de meilleur pronostic. (Mulvenna et al. 2016)

I – 4e Métastases cérébrales multiples : place de la radiothérapie stéréotaxique

Bien que cela ne soit pas réalisé partout, il est théoriquement possible de proposer une irradiation en condition stéréotaxique jusqu'à 10 lésions, *a fortiori* dans le groupe de patients à meilleur pronostic (Lung-molGPA 3-3.5, donc qui aurait tous les critères sauf le nombre de MC).

L'étude prospective de Yamamoto et al menée sur 1194 patients montre une survie globale et un contrôle local identique entre le groupe de patients ayant 5 à 10 MC et celui ayant entre 2 et 4 MC. Les MC étaient < 3 cm et les patients avaient un score KPS > 70. La survie globale était de 10.8 mois dans les 2 groupes et le taux de rechute locale similaire (Yamamoto et al. 2014). Plus tard, en 2018, les auteurs ont publié une mise à jour sur le sous-groupe de patients avec primitif bronchopulmonaire, confirmant l'absence de différence de survie globale entre les patients avec une métastase, 2 à 4 ou 5 à 10 métastases (la médiane de survie était de 14, 12 et 13 mois respectivement) et de rechute cérébrale à distance (respectivement 52%, 62% et 67%, non significatif) mais surtout une absence de différence

entre les groupes lors des tests cognitifs (taux de préservation des fonctions cognitives de 86% à 5 ans) (Shuto et al. 2018).

Cependant cette prise en charge est réservée aux cas particuliers. La majorité des patients qui nécessitent une irradiation encéphalique pour de multiples lésions vont se voir proposer le WBRT, en considérant que la méthode permet de traiter non seulement les lésions visibles avec un résultat satisfaisant, mais cible aussi les micrométastases.

I – 4f WBRT : balance bénéfico-risque sur la détérioration cognitive

Le gain thérapeutique obtenu par le contrôle local est souvent remis en cause par la détérioration cognitive secondaire. L'équipe de Gondi a mis en évidence qu'une D40 > 7.4Gy sur la totalité des deux hippocampes est prédictive de déficit de la mémoire à long terme dans l'irradiation des tumeurs cérébrales bénignes ou de bas grade (Gondi et al. 2013). La question se pose depuis plusieurs années de l'intérêt ou non de réaliser le WBRT en protégeant les structures impliquées dans la mémoire (Gondi et al. 2014). Un essai de phase III publié très récemment par Brown et al vient clôturer cette question de l'intérêt de l'épargne hippocampique (Brown et al. 2020). En effet, grâce à la RCMI, par VMAT (Volumetric Modulation Arc Therapy) ou tomothérapie, il est possible de diminuer la dose reçue par les hippocampes. **L'épargne hippocampique (D100 bilatéral < 9 Gy, D max > 16 Gy) et la prise concomitante de mémantine étaient significativement associées à une moindre détérioration cognitive (Hazard Ratio = 0.72).** Ces données nouvelles pourraient remettre en cause la perte d'intérêt du WBRT au profit de la SRT qui était préférée pour l'épargne cognitive mais ne permet pas un contrôle à distance sur le reste du parenchyme cérébral (Patchell et al. 1990; Mahajan et al. 2017) .

Malgré des traitements adaptés à la situation clinique (nombre, taille, symptômes) et combinés (traitements systémique et local), la maladie métastatique échappe souvent en intracérébral. Nous voyons apparaître des récurrences au niveau de lits opératoires irradiés, de lésions traitées à fortes doses et des apparitions de nouvelles lésions dans un parenchyme irradié à visée prophylactique.

Cette résistance aux rayonnements ionisants se voit quel que soit le type tumoral, le traitement systémique.

Afin de mieux appréhender les mécanismes à l'origine de cette radiorésistance, nous exposerons d'abord ceux qui permettent le contrôle tumoral en radiothérapie, et dans un deuxième temps les mécanismes biologiques d'échappement à la radiothérapie.

II – Actions des rayonnements ionisants

II – 1 Interactions physiques

En radiothérapie externe conventionnelle, le faisceau dirigé sur la cible est fait de photons produits par l'accélération d'électrons (d'où le terme générique d'accélérateurs de particules pour parler des machines de radiothérapie).

Lorsque le flux de particules, ici les photons, entre en contact avec la matière (le patient), l'énergie incidente leur permet d'arracher un électron des atomes du milieu traversé. C'est ce que l'on appelle une ionisation puisque l'atome n'est plus électriquement neutre, d'où le terme de rayonnement ionisant (RI).

L'ionisation peut se produire selon plusieurs interactions : l'effet photoélectrique, l'effet Compton (majoritaire en radiothérapie) et l'effet création de paires.

Les électrons arrachés vont eux-mêmes interagir avec les molécules du milieu et être à l'origine de leur modification biochimique. Les 2 cibles moléculaires principales sont l'eau et l'ADN (acide désoxyribonucléique).

II – 2 Interactions biochimiques

II – 2a Effet direct : cassure de l'ADN

Avant même la découverte de l'ADN, Claudius Regaud avait déjà remarqué « c'[était] la chromatine cellulaire qui [était] la partie la plus sensible des cellules » (N. Foray 2012). Après la découverte dans les années 1950 de l'ADN, les mécanismes radiobiologiques de réponses et de morts cellulaires ont pu être décrits.

L'ADN double brin est la cible principale du traitement par radiations ionisantes (Khalifa, Boyrie, and Moyal 2012). Les ionisations conduisent à des altérations des bases, des pontages intra ou interbrins, voire ADN-protéines, des cassures simples ou doubles brins de l'ADN.

Si la lésion de l'ADN n'est pas réparable d'emblée, les processus de mort cellulaire s'enclencheront. Dans l'autre cas, la réparation peut être fidèle ou fautive, ce qui conduira soit à l'apoptose, soit à la présence de mutations ou d'aberrations chromosomiques. Cette instabilité génomique peut amener à la mort cellulaire différée ou à la cancérisation de la cellule.

Contrairement aux premiers modèles de radiobiologie révisés depuis, ce n'est pas le nombre de cassures double-brin qui est corrélé à la radiosensibilité mais le nombre de cassure double-brin

résiduelles non réparées. De manière didactique, les cassures doubles brins seraient responsables de la mortalité directe et les cassures simple-brin seraient, elles, responsables de la mort cellulaire différée en radiothérapie, du fait de l'accumulation des lésions au fil des jours de traitement et de la saturation des mécanismes de réparation. (Khalifa, Boyrie, and Moyal 2012).

On estime que 2 grays (dose classique quotidienne) provoquent 20 000 dommages de bases, 2000 cassures simples brins et 80 cassures double brin, ce qui est donc assez faible (Tubiana 2005). La plupart des effets sur l'ADN ne sont en fait pas liés aux interactions directes par les photons ou électrons incidents mais sont dus aux radicaux libres créés par la radiolyse de l'eau.

II – 2b Effet indirect : la radiolyse de l'eau

La molécule d'eau étant la plus présente dans le corps humain, elle est donc la plus ionisée après irradiation. On parle alors d'espèce réactive de l'oxygène (reactive oxygen species « ROS ») pour nommer les radicaux libres issus de l'H₂O. C'est ce qu'on l'on appelle la radiolyse de l'eau.

Le terme de radical libre se réfère à toute espèce moléculaire ayant perdu un électron ce qui rend la molécule instable et susceptible de réagir avec son environnement, notamment avec les molécules d'ADN, d'ARN (acide ribonucléique), les lipides, les protéines. (Ziech et al. 2011)

Les ROS existent naturellement, ils sont produits de manière endogène par le métabolisme mitochondrial, mais l'augmentation de leur taux au-delà des capacités de la cellule à les métaboliser provoque un état de stress oxydatif.

Au niveau de l'ADN, les ROS peuvent réagir avec les bases pyrimidines et purines, avec la chromatine et créer des altérations directes dans la structure de l'ADN, c'est-à-dire créer des cassures simples ou doubles brins, des modifications de base, des sites abasiques, des modifications de sucre, des ponts entre les bases, et donc augmenter le taux de mutations. L'accumulation des ROS dans la cellule, le stress oxydatif, conduit à une moindre efficacité des mécanismes de réparation de l'ADN.

De manière indirecte, les ROS conduisent à des altérations épigénétiques : par le biais de la méthylation de l'ADN ou des histones et autres protéines associées à l'ADN, ils modifient la structure de la chromatine et donc la transcription de l'ADN en ARN (acide ribonucléique).

Hors de l'ADN, on peut également citer le rôle des ROS dans l'altération de l'ADN mitochondrial, dont les mutations pourraient avoir un rôle dans la carcinogénèse humaine. Le stress oxydatif peut également endommager les lipides (membrane cellulaire) (Ziech et al. 2011) .

Les dommages létaux (lésions double brin, lyse de la membrane cytoplasmique) ou l'accumulation de dommages sublétaux (lésions simple brins), acquis de manière directe (par interaction avec l'ADN) ou indirecte (par le biais des ROS), vont finalement dépasser les capacités de réparation et de survie de la cellule et permettent le déclenchement de voies de signalisation de mort cellulaire.

II – 2c Morts cellulaires

Les rayonnements ionisants sont responsables de plusieurs types de mort cellulaire dont les principaux sont la mort mitotique (suivie de la nécrose), l'apoptose et l'autophagie (Cohen–Jonathan, Bernhard, and McKenna 1999).

Le point commun des différents types de mort cellulaire est la perte de la capacité par les cellules à former des clones (ou colonies) en culture, c'est pour cela que **la mort mitotique**, où les cellules peuvent rester vivantes un certain temps mais ne prolifèrent plus est considérée comme une mort cellulaire (Nicolas Foray, Colin, and Bourguignon 2013).

Certains défauts des points de contrôle provoquent l'entrée prématurée des cellules en mitose. Un défaut de formation du fuseau mitotique entraîne une mauvaise ségrégation des chromosomes. La division cellulaire ne peut plus se faire, la cellule ne peut pas sortir de sa mitose. La catastrophe mitotique produit des cellules géantes multinucléées. Les micronucléi sont les structures vésiculaires qui contiennent les fragments chromosomiques (Milia 2005).

La mort par catastrophe mitotique se termine par la nécrose : la membrane cytoplasmique est distordue et perd son intégrité, les organites sont dégradés et la cellule se gonfle. Il en résulte une dégradation aléatoire de l'ADN. Les mécanismes d'initiation de cette mort sont mal connus (Cohen–Jonathan, Bernhard, and McKenna 1999).

C'est la mort la plus fréquente des cellules proliférantes et, en condition de radiothérapie, résulte en une inflammation locale.

L'apoptose est la mort cellulaire la plus connue, la plus décrite mais la plus rare. Il s'agit d'un « suicide cellulaire », c'est une mort cellulaire programmée. On observe une condensation de la chromatine nucléaire, une déstructuration des membranes nucléaires et cytoplasmiques puis la fragmentation des structures nucléaires. Ces fragments forment les corps apoptotiques.

Les principales voies de signalisation aboutissant à l'apoptose après radiations ionisantes sont médiées par les protéines p53 et ATM (Ataxia Telangiectasia Mutated). (Cohen–Jonathan, Bernhard, and

McKenna 1999; Milia 2005). Elle survient surtout dans les lymphocytes et très rarement dans les fibroblastes.

L'anoïkis est un sous-type d'apoptose qui suit la perte de contact de la cellule avec les cellules adjacentes ou le détachement à la matrice extracellulaire (perte des intégrines de contact). La résistance à l'anoïkis est un facteur prométastatique (Frisch and Screaton 2001).

Les cellules quiescentes sont, elles, souvent soumises à un type différent de mort cellulaire, sans destruction, **la sénescence**. La sénescence résulte d'un arrêt permanent du cycle cellulaire en G1. Les cellules sont métaboliquement actives mais ne peuvent plus se diviser. Le mécanisme sous-jacent pourrait être médié par les télomères, qui, lorsqu'ils deviennent trop courts dans une cellule normale, enclenchent les processus physiologiques de sénescence (arrêt de la prolifération). Il a été montré dans certaines lignées tumorales la capture de séquences télomériques et son insertion aux sites de lésions double brins par les cellules tumorales, stabilisant les chromosomes (Cohen–Jonathan, Bernhard, and McKenna 1999). C'est la mort cellulaire induite par les RI la plus fréquente pour les cellules quiescentes, notamment pour des doses > 4Gy.

L'autophagie est un processus cellulaire de mort cellulaire programmée, stimulée par le stress cellulaire ou environnemental dans le but d'éliminer les organites sénescents, les agrégats protidiques, les pathogènes intracellulaires, par le biais de la formation d'autophagosomes qui seront ensuite détruits dans le lysosome. Cela permet aussi d'inhiber la production de ROS, d'éliminer les mitochondries endommagées, les péroxysomes et de réduire les lésions de l'ADN. Son rôle dans la radiorésistance est décrit plus bas.

Les effets des RI et leurs conséquences dont la mort cellulaire est la plus terminale vont se produire, schématiquement, pour toutes les cellules sur le trajet du faisceau de particules.

Le but de la radiothérapie est d'obtenir un **effet différentiel** entre la tumeur et les tissus sains. Certains de ces effets vont être bénéfiques pour le contrôle tumoral, d'autres pour la réparation des tissus sains. C'est l'**effet différentiel** des RI entre tissu sain et tissu tumoral qui donne l'intervalle thérapeutique.

On peut synthétiser ces mécanismes radiobiologiques en 5 concepts, les « 5R » de la radiothérapie.

Réparation des lésions sublétales : les systèmes de réparation de l'ADN réparent correctement la plupart des lésions, notamment les cassures simples brins dans les cellules saines. Les cellules tumorales réparent moins bien.

Repopulation : Avec le fractionnement de la dose, on augmente l'étalement du traitement, ce qui permet la repopulation cellulaire, qui peut même être accélérée par les radiations ionisantes. Cet effet est en faveur de la repopulation tumorale. C'est pour cela qu'un traitement de radiothérapie débuté ne doit pas être interrompu.

Réarrangement dans le cycle cellulaire : les cellules se trouvent soit en phase G0, G1 ou S où elles sont radiorésistantes, ou en phase M et G2, où elles sont radiosensibles. Les cellules tumorales se divisant davantage que les cellules saines, elles sont proportionnellement plus présentes en phase M et de ce fait plus accessibles à la mort cellulaire.

Réoxygénation : en diminuant le volume cellulaire, les cellules restantes vont être mieux oxygénées, ce qui permet au fil des fractions d'augmenter le nombre de contacts entre radicaux libres / ROS et ADN tumoral, et de ce fait permet une meilleure efficacité de la radiothérapie.

Radiosensibilité intrinsèque du tissu : tient compte du génome tumoral mais également de l'hôte (syndrome héréditaire radiosensibles type ATM).

III – Voies de radiorésistance

Les mécanismes de radiorésistance sont, *in fine*, liés à la réparation de l'ADN, la poursuite de la prolifération et l'inhibition de la mort cellulaire (notamment la mort mitotique) malgré les altérations génomiques majeures.

Ces mécanismes sont contrôlés par l'expression de certains gènes.

Les voies de radiorésistance correspondent aux voies de déclenchement, de transcription, de ces gènes.

Pour étudier la radiorésistance, il faut donc remonter en aval des voies de signalisation et comprendre les mécanismes intracellulaires (voies intrinsèques), intercellulaires (voies extrinsèques liées à l'environnement), et l'hétérogénéité tumorale qui sont à l'origine de l'expression augmentée ou inhibée des gènes impliqués dans la survie cellulaire.

III – 1 Voies intrinsèques

Les cellules tumorales peuvent utiliser diverses voies de signalisation, notamment celle des intégrines, afin d'activer des facteurs transcriptionnels et d'augmenter la transcription de gènes favorables à leur survie. Au-delà des voies des intégrines et autres récepteurs membranaires, les organites à l'intérieur même de la cellule sont mis à contribution afin d'assurer la survie cellulaire. Enfin, les voies du métabolisme sont modifiées et permettent une meilleure gestion de l'énergie en situation de stress.

III – 1a Voie des intégrines

Les intégrines sont des protéines transmembranaires souvent surexprimées dans les tumeurs qui affectent la croissance, la morphologie (réarrangements du cytosquelette, (Deville and Cordes 2019)), la survie, la prolifération, la différenciation, la migration en modifiant le microenvironnement (H.-T. Chen et al. 2019).

Elles régulent l'adhésion cellulaire à la matrice extracellulaire ou à la surface des cellules voisines (Malric et al. 2019), inhibent l'autophagie et sont aussi une voie de régulation positive de la transition épithélio-mésenchymateuse.

Le glioblastome est une tumeur connue pour être radiorésistante alors même que la radiothérapie est la pierre angulaire du traitement. La voie des intégrines y est particulièrement importante, notamment l'intégrine $\alpha 6$ qui augmente l'expression de FGFR1 (Fibroblast growth factor receptor 1), augmentant la

transcription du gène FOXM1 (Fokhead Box M1) dont la protéine est elle-même un facteur transcriptionnel de nombreux gènes impliqués dans le contrôle du cycle cellulaire, de la prolifération etc. L'inhibition de l'intégrine $\alpha 6$ augmente la sensibilité aux RI des cellules de glioblastome. (Kowalski-Chauvel et al. 2018)

Second exemple des intégrines dans le glioblastome, l'inhibition de l'intégrine $\beta 8$ in vitro conduit à l'altération des capacités d'auto-renouvellement des cellules souches de glioblastome, à l'induction de l'apoptose. La mort postmitotique (mécanisme de mort cellulaire le plus commun après RI) est également augmentée après son inhibition (Malric et al. 2019).

III – 1b Réducteurs des espèces réactives de l'oxygène

L'effet principal des rayonnements ionisants est la production de radicaux libres, les espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Ziech et al. 2011). Le rôle pro-oncogène ou anti-oncogène des espèces réactives de l'oxygène dépend de leur concentration intracellulaire. A faible taux, dans les cellules tumorales ou normales, les ROS sont bénéfiques et servent de facteurs de signalisation, notamment dans la défense immune. A un taux plus important, elles sont pro-tumorigènes, favorisant l'invasion, les métastases, les mutations génétiques et la survie cellulaire, provoquent la chimiorésistance et la radorésistance (elles augmentent par exemple l'expression de NF- κ B : nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells). Mais à plus fort taux encore, elles sont cytotoxiques, provoquent les dommages sur les lipides, les protéines, l'ADN, les mitochondries et provoquent l'apoptose (Fouani, Kovacevic, and Richardson 2017).

Selon le taux intracellulaire de ROS, la cellule met en place des mécanismes de régulation (antioxydants). En état de stress oxydatif, c'est-à-dire lorsque la concentration en ROS augmente, stress notamment causé par les radiations ionisantes, la cellule tumorale va modifier son phénotype par le biais de réponses épigénétiques menées par des facteurs transcriptionnels sensibles à l'oxydoréduction. Ces facteurs sont **NF- κ B**, AP-1⁸, p53, **HIF-1 α** ⁹, PPAR- γ ¹⁰, b-cathénine/Wnt¹¹, NRF2¹² (Fouani, Kovacevic, and Richardson 2017). Dans le glioblastome, la production de ROS a été retrouvée corrélée à la survie cellulaire via l'activation de NF- κ B et la transcription de Bcl-xL (B-cell lymphoma-extra large).

⁸ AP-1: activator protein 1

⁹ HIF1 α : Hypoxia Inducible Factor 1 α

¹⁰ PPAR- γ : peroxisome proliferator activated receptor gamma

¹¹ Wnt: Wingless Integration Site

¹² NRF2: nuclear factor erythroid 2 (NF-E2) related factor

L'ajout d'antioxydant a été testé au laboratoire et en clinique, par exemple, la vitamine E (anti oxydant) a été ajoutée au 5-fluorouracile et à la doxorubicine. *In vitro*, la vitamine E améliore l'effet cytotoxique des ROS contre les cellules de cancer colorectal et inhibe NF-κB mais l'efficacité n'a pas été retrouvée *in vivo*, notamment par manque de spécificité du traitement. (Fouani, Kovacevic, and Richardson 2017)

III – 1c Facteurs transcriptionnels sensibles à l'oxydoréduction : exemple de NF-κB

NF-κB est un facteur transcriptionnel impliqué dans la régulation des réponses immunitaires à l'inflammation et est de plus en plus connu pour réguler l'expression de gènes impliqués dans la prolifération, la migration et l'apoptose des cellules cancéreuses (Dolcet et al. 2005).

NF-κB est le terme générique regroupant les facteurs de transcription : NF-κB1 (p50/p105), NF-κB2 (p52/p100), RelA (p65), RelB et c-Rel.

RelA, RelB et c-Rel sont synthétisés dans leur forme mature et contiennent un domaine de transactivation qui interagit avec l'appareil transcriptionnel.

NF-κB1 et NF-κB2 sont synthétisés sous leur forme de précurseur. Les protéines p50 et p52 sont les deux formes matures respectives et possèdent un domaine de liaison à l'ADN mais n'ont pas de domaine de transactivation.

Les dimères les plus fréquents sont RelA-p50, c-Rel-p50, RelB-p52. Chaque dimère semble avoir une fonction différente. (Dolcet et al. 2005)

Pour simplifier, on emploie le terme « NF-κB » pour parler du dimère de 2 sous unités de NF-κB.

Dans la plupart des cellules, les dimères de NF-κB sont cytoplasmiques, liés aux inhibiteurs de NF-κB, les IκB (inhibitor of κB), qui les empêchent d'aller dans le noyau et les rendent inactifs en termes de facteur transcriptionnel. (Dolcet et al. 2005) . Les signaux activateurs, notamment le TNFα (Tumor Necrosis Factor alpha), vont amener le complexe IKK (I-κB kinase) à phosphoryler IκB permettant à NF-κB d'être transloqué dans le noyau.

NF-κB se lie alors à l'ADN afin d'augmenter la transcription de gènes cibles.

Son rôle dans l'échappement à la mort cellulaire va passer par l'inhibition de l'apoptose, de l'anoïkis et de l'autophagie : il va augmenter la transcription de gènes antiapoptotiques qui conduisent à une inhibition de p53 (lui-même inducteur d'apoptose). (Dolcet et al. 2005; C. Li et al. 2009) ou augmenter la synthèse de la claudin 1, facteur de résistance à l'anoïkis (Fouani, Kovacevic, and Richardson 2017). Il est aussi inhibiteur de l'autophagie (en inhibant Beclin1) (H.-T. Chen et al. 2019).

NF- κ B est également un régulateur de la transition épithélio-mésenchymateuse (TME) qu'il induit par le biais des MMPs (matrix metalloproteinases) ou par la voie TNF α et Snail.

NF- κ B induit l'expression de molécules d'adhésion et de protéines impliquées dans l'invasion (MMPs) ou dans la néoangiogénèse (VEGF : vascular endothelial growth factor) (H.-T. Chen et al. 2019).

L'effet radiorésistant de NF- κ B peut s'expliquer de par l'action des ROS. Les ROS vont augmenter la phosphorylation du complexe inhibiteur et permettre à celui-ci de se détacher de NF- κ B. Puis, une fois dans le noyau, la redox-regulated protein thioredoxin-1 (TrX1) va faciliter la liaison ADN/ NF- κ B.(H.-T. Chen et al. 2019).

Plusieurs études *in vitro* ont donc été menées sur NF- κ B comme cible thérapeutique (Pordanjani and Hosseinimehr 2016). Son inhibition *in vitro* et *in vivo* chez la souris augmente la radiosensibilité des cellules tumorales. Cette efficacité peut être augmentée par l'ajout d'autres inhibiteurs. (Hunter et al. 2012). A notre connaissance, aucune phase I/II enregistrée n'évalue la radiosensibilisation par l'inhibition de la voie de NF- κ B.

III – 1d Implication du métabolisme : effet Warburg, métabolisme des lipides

Dans la majorité des cellules normales, la voie métabolique fournissant l'énergie est aérobie et consiste en une glycolyse suivie d'une oxydation du pyruvate dans les mitochondries ce qui permet la création d'ATP (adénosine triphosphate) à travers le cycle de Krebs (Liberti and Locasale 2016).

Dans un milieu hypoxique comme peut l'être une tumeur, la respiration mitochondriale est limitée par la faible teneur en oxygène. Les cellules cancéreuses produisent de l'énergie grâce à une importante glycolyse dont les produits (le pyruvate) ne vont pas entrer dans le cycle mitochondrial mais vont être transformés en acides lactiques dans le cytosol. Cette glycolyse anaérobie est un mécanisme physiologique de survie cellulaire en contexte de stress hypoxique.

Les cellules tumorales ont la capacité à utiliser la voie de la glycolyse avec création de lactates y compris en présence d'oxygène, menant à des taux de glycolyse jusqu'à 200 fois supérieurs à une cellule normale. Cette capacité s'appelle « Effet Warburg » ou glycolyse aérobie (Liberti and Locasale 2016; Warburg 1956).

Pour une même unité de glucose de départ, la glycolyse aérobie de l'effet Warburg produit moins d'ATP que la voie classique mitochondriale (par le cycle de Krebs). Cependant la production de lactate (qui est donc la voie de l'effet warburg) est bien plus rapide que le cycle de Krebs mitochondrial, ce qui, au final, apporte plus d'énergie à la cellule tumorale (Liberti and Locasale 2016). Cette capacité à créer rapidement de l'énergie, notamment dans des environnements hypoxiques, pourrait être un avantage

évolutif sélectif des cellules cancéreuses. Cela favoriserait également l'anabolisme de macromolécules (Ward and Thompson 2012).

Les fibroblastes associés aux cellules tumorales peuvent elles aussi se soumettre à l'effet Warburg, augmentant l'assimilation de glucose et la production de lactate. Ce lactate sera utilisé par les cellules cancéreuses privées de nutriments par l'hypoxie et utilisé dans l'anabolisme protidique et pour alimenter les besoins énergétiques (Taddei et al. 2013). Concernant les autres cellules du microenvironnement, il semblerait que l'excès d'acide lactique favoriserait la polarisation des macrophages vers leur forme de « TAM » tumor associated macrophages (aussi appelés « macrophages 2 » M2) (Liberti and Locasale 2016). Ces macrophages associés aux tumeurs sont connus pour être plus radiorésistants (Leblond et al. 2017).

L'excès d'acide lactique ne va pas pouvoir correctement s'éliminer à cause de la mauvaise vascularisation dans la masse tumorale et provoque une diminution du pH extracellulaire.

L'acidité extracellulaire est moins bien compensée que l'acidité intracellulaire, menant à un gradient entre le cytoplasme et le microenvironnement. Certains auteurs ont montré que ce gradient menait à la translocation de vésicules lysosomes-like près de la membrane cellulaire, facilitant ainsi la sécrétion d'enzymes de dégradation de la matrice extracellulaire (Taddei et al. 2013). Elle amène aussi à l'augmentation du facteur HIF1 α , impliqué dans divers mécanismes de radiorésistance liés à l'hypoxie.

L'acidité causée par cette glycolyse va agir comme un facteur de sélection sur les cellules les plus résistantes, capables de maintenir leur production d'ATP, et va altérer le microenvironnement. Par ailleurs, ces modifications provoquent des altérations du potentiel réducteur de ROS (« redox ») mitochondrial, ce qui, comme on l'a vu plus tôt, est un facteur de radiorésistance.

Les radiations ionisantes induisent la glycolyse aérobie (Bhatt et al. 2015). Bhat et al ont montré que l'élévation de la glycolyse aérobie améliore la réparation de l'ADN, avec, dans leur étude, 2% de réparation de l'ADN de plus par rapport à une cellule où l'effet Warburg est absent et surtout un mécanisme plus rapide. Ce lien glycolyse – réparation de l'ADN était valable pour les réparations homologues et non homologues.

Les cellules cancéreuses peuvent aussi reprogrammer le métabolisme des lipides, par l'augmentation de l'extraction de lipides exogènes ou de leur synthèse endogène, dans le but de satisfaire la demande énergétique importante (Taddei et al. 2013). Les ROS secondaires aux RI oxydent les acides gras ce qui produit des réactions en chaînes de peroxydation des lipides, altérant la fonction et la structure de la cellule. Les lipides sont aussi présents dans les membranes des organites et ces derniers sont alors impactés par les RI. Cependant, ces altérations membranaires peuvent amener à de nouvelles activités et une nouvelle distribution de cluster d'acides gras agissant comme transporteurs intracellulaires et

comme signaux, pouvant dès lors induire différents mécanismes de résistance comme la prolifération et la migration (Cruz-Gregorio et al. 2019).

III – 1e Organites : mitochondries et exosomes

Outre son rôle dans la transformation des métabolites en ATP, la **mitochondrie** participe à la radiorésistance par d'autres voies ; après irradiation, certains facteurs activent le potentiel membranaire mitochondrial et permettent la diminution des ROS par la production d'antioxydants (Cruz-Gregorio et al. 2019). Le rôle des mitochondries dans la radiorésistance n'est pas encore entièrement éclairci (Kam and Banati 2013). Elle est cependant aussi un facteur de radiosensibilité : les RI fragilisent ou détruisent sa membrane et son ADN mitochondrial. Elle joue par ailleurs un rôle en provoquant un stress oxydatif. Elle est également impliquée dans l'apoptose.

Les **exosomes** sont des petites vésicules extracellulaires contenant différents constituants tels que des facteurs de transcription, d'enzymes, de récepteurs, d'acides nucléiques (nucléaires ou mitochondrial) et de lipides. Ces exosomes peuvent se transmettre de cellules à cellules.

Les radiations peuvent stimuler le relargage des exosomes, modifier leur contenu, et donc affecter la communication intercellulaire. Il a été trouvé dans les exosomes de cellules irradiées des molécules impliquées dans la division cellulaire, l'adhésion cellulaire, la motilité, la néoangiogenèse. La voie de signalisation p53 est impliquée dans la production et le relargage des exosomes après les RI.

Cependant les exosomes peuvent aussi avoir un rôle positif dans la réponse à la radiothérapie par l'effet Bystander, c'est-à-dire le fait que les cellules non exposées aux radiations ionisantes réagissent de la même manière que les cellules voisines irradiées.

III – 2 Voies extrinsèques

III – 2a Hétérogénéité et plasticité tumorale

Hétérogénéité tumorale

Les cellules tumorales ne forment pas une population homogène mais sont souvent composées d'une population clonale dominante et de lignées clonales plus ou moins distinctes. Certaines études ont montré que des échantillonnages à plusieurs endroits de la tumeur ne montraient pas les mêmes mutations, voire même que certaines régions arboraient les mêmes mutations que certaines métastases et d'autres échantillons du primitif les mutations d'autres lieux métastatiques (Kreso and Dick 2014).

Ces différences sont encore plus marquées entre la tumeur primitive et sa métastase. Les clones à l'origine des métastases possèdent davantage de mutations que les clones primitifs, suggérant des mécanismes évolutifs pendant le temps de colonisation (Kreso and Dick 2014).

Une masse tumorale, une métastase par exemple, n'est elle-même pas homogène et possède des zones actives et des zones hypoxiques.

L'évolution des techniques d'imagerie a permis d'ajouter une vision métabolique à l'approche anatomique classique pour tenir compte de l'hétérogénéité intratumorale. L'imagerie par TEP-scanner (Tomographie par émission de positons - scanner) est classiquement faite avec du 18-Fluorodesoxyglucose (18-FDG) en cancérologie mais de nouveaux marqueurs sont testés afin de mieux cibler les zones d'hypoxie (par exemple).

Le métabolisme peut également être étudié en imagerie par résonance magnétique (IRM) spectroscopie, permettant de mettre en évidence par voxel des zones métaboliquement actives, c'est-à-dire des zones riches en Choline et avec diminution du N acetyl aspartate (NAA) et ou même cartographier des zones riches en lactates (marqueur d'hypoxie). Cette technique a montré son efficacité pour prédire les zones de rechutes après radiothérapie et donc permet de témoigner de zone de radiorésistance (Laprie et al. 2008; Deviers et al. 2014). Ces zones de moindre sensibilité à la radiothérapie peuvent être donc ciblées en augmentant la dose d'irradiation pour lever cette radiorésistance. Ainsi l'approche de dose-painting en radiothérapie consiste à cibler ces anomalies métaboliques en imagerie, à réaliser un « biological target volume » en plus du clinical target volume (CTV) afin d'adapter la dose à l'hétérogénéité et de dépasser la radiorésistance qui lui est liée (Laprie et al. 2019).

Transition épithélio-mésenchymateuse

La transition épithélio-mésenchymateuse est une trans-différenciation complète d'une cellule épithéliale en cellule mésenchymateuse-like (TME ou EMT : epithelial-mesenchymal transition). Elle existe à un niveau physiologique, lors de l'embryogénèse et lors des processus de cicatrisation. Elle peut être réversible. Dans le cadre physiologique, la TME est régulée par les exosomes, la matrice extracellulaire, l'hypoxie et des facteurs solubles (TGF β ¹³, HGF¹⁴, FGF¹⁵).

Dans le cas d'un processus pathologique, une cellule tumorale épithéliale va changer son programme épigénétique afin de perdre certaines contraintes, notamment les interactions cellules – cellules (par une diminution de l'expression des cadhérines) ou cellules – matrice extracellulaire (via les intégrines), va réorganiser son cytosquelette et gagner des caractéristiques fonctionnelles et morphologiques des cellules mésenchymateuses (Taddei et al. 2013).

Elle obtient alors l'inhibition de la sénescence, de l'anoïkis et de l'apoptose par l'acquisition de caractéristiques proches de celles des cellules souches cancéreuses. Elle peut également dégrader la lame basale via la sécrétion de métalloprotéases et acquérir un potentiel métastatique.

Certains auteurs avancent que cette transition peut aller jusqu'à la transformation complète de la cellule tumorale en fibroblaste associé au cancer : Les mêmes mutations somatiques de p53 et de PTEN¹⁶, et les mêmes altérations du nombre de copies d'un gène ont été retrouvées dans les cellules stromales et les cellules cancéreuses de cancer du sein. Ces fibroblastes soutiennent les cellules cancéreuses, notamment en produisant des enzymes de destruction de la matrice extracellulaire (Kurose et al. 2002).

La transition épithélio-mésenchymateuse des cellules cancéreuses est favorisée par la présence de fibroblastes associées aux tumeurs, le stress oxydatif, l'hypoxie à travers HIF1 α (cette activation étant renforcée par les relations entre HIF1 α et NF- κ B), et par le biais de voies de signalisation, notamment celles de TGF β (dont l'hyperexpression par les RI est connue) et de ZEB1¹⁷. Le facteur TGF β sans irradiation tout comme une irradiation sur des cellules sans expression de TGF β ne montre pas de suractivation de TME (Andarawewa et al. 2007). C'est l'association des deux qui permet l'augmentation de ce phénomène adaptatif. Les rayonnements ionisants sont donc inducteurs de TME à travers la fabrication de ROS et par l'activation des voies de signalisation.

¹³ TGF β : Transforming growth factor

¹⁴ HGF : Hepatocyte growth factor

¹⁵ FGF : Fibroblast growth factor

¹⁶ PTEN : Phosphatase and TENSin homolog

¹⁷ ZEB1: zinc finger E-Box Binding Homeobox 1

Cellules souches cancéreuses

La présence de cellules souches cancéreuses (CSC) à l'intérieur de la tumeur a été découverte dans les années 1960 par les études de Till et McCulloch (Kreso and Dick 2014). Ces cellules ont une capacité d'autorenouvellement, de prolifération et de multipotentialité, c'est-à-dire capable de se différencier vers l'ensemble des types cellulaires présents dans la tumeur tout en gardant un pool de cellules souches. Contrairement aux cellules souches normales, l'auto-renouvellement n'est pas régulé (Kreso and Dick 2014). Dans de nombreux cancers, les CSC sont bien distinctes des cellules tumorales classiques et peuvent être isolées. Dans certains types de cancer, au contraire, il n'est pas, à ce jour, possible de les distinguer car les cellules tumorales « classiques » ont également des fonctions souches (Kreso and Dick 2014). La fréquence des CSC est difficile à évaluer et peut varier, dans les tumeurs solides, entre 1% et 80% (Arnold et al. 2020).

Les CSC sont retrouvées dans des niches, notamment en périvasculaire, ce qui leur permet un apport en nutriments, facteurs de croissance et cytokines, et dans les niches hypoxiques, comme dans le glioblastome. L'environnement hypoxique et la voie des intégrines, permettent à certaines cellules de glioblastome de se convertir en CSC (Dahan et al. 2014).

Elles ont un rôle majeur dans la propagation et la résistance tumorale aux traitements (KOWALSKI-CHAUVÉL et al. 2019). Bao et al en 2006 ont été les premiers à montrer leur caractère radiorésistant dans les cellules souches de glioblastomes, en particulier grâce à leurs meilleurs mécanismes de réparation de l'ADN, capables de réparer les lésions doubles brins grâce à l'activation de voies de signalisation activées par les RI (Bao et al. 2006).

De plus, les CSC réparent préférentiellement via la recombinaison homologue contrairement aux cellules tumorales classiques qui réparent avec la recombinaison non homologue plus pourvoyeuse d'erreurs. Enfin, des études ont montré que les CSC proliféraient de manière plus lente que les cellules différenciées, étaient plus fréquemment quiescentes, et donc moins sensibles aux traitements ciblant les phases S et M du cycle (Arnold et al. 2020).

Plusieurs publications ont montré que les réducteurs de ROS étaient plus nombreux dans les CSC et plus efficaces, réduisant le taux de ROS et donc le nombre de lésions liées aux RI. (Arnold et al. 2020). Certains auteurs décrivent aussi une moindre concentration basique de ROS dans les CSC par rapport aux cellules cancéreuses voisines plus communes. Associées à une meilleure réponse aux ROS, elles sont alors plus résistantes au traitement par radiations ionisantes (Diehn et al. 2009).

L'origine des CSC est en cours d'élucidation. Les traitements ou certains stress tels que l'hypoxie, en particulier la radiothérapie induisent une plasticité cellulaire et peuvent pousser des cellules différenciées vers un état souche (Dahan et al. 2014), ce phénomène étant appelé reprogrammation et serait un mécanisme de radiorésistance. Les voies contrôlant cette reprogrammation pourraient être des cibles thérapeutiques.

Enfin, plus récemment il vient d'être montré également par la même équipe, que l'irradiation pouvait dans le modèle de glioblastome induire une transdifférentiation de la cellule souche de glioblastome en cellule ayant les caractéristiques des cellules endothéliales, ce qui pourrait alors induire une revascularisation et permettre ensuite une récurrence tumorale (Deshors et al. 2019).

III – 2b Effet du microenvironnement tumoral

Hypoxie

Les cellules hypoxiques ont une néovascularisation anormale et non fonctionnelle, induisant ou entretenant l'hypoxie intratumorale.

L'hypoxie n'est pas tant un facteur de radiorésistance *a posteriori* du rayonnement qu'*a priori* ; la radiorésistance des cellules hypoxiques s'explique d'une part par le phénomène de sélection naturelle des cellules les plus agressives en situation de stress, donc plus résistantes à l'apoptose et d'autre part l'effet oxygène γ est absent, (moins d'oxygène donc moins de radicaux libres) nécessitant de plus fortes doses de RI pour un même résultat (Supiot et al. 2011).

L'hypoxie induit l'expression de HIF1 α qui permet, lui, la transcription du facteur de néoangiogénèse VEGF entretenant selon un cercle vicieux cet état de stress hypoxique. (Cruz-Gregorio et al. 2019)

HIF1 α est retrouvé surexprimé au-delà du taux normal dans de nombreux cancers (poumon, estomac, tumeurs cérébrales, etc). Son expression dans les cellules cancéreuses est un facteur pronostique défavorable (Aebersold et al. 2001). L'équipe de E. Moyal a montré que HIF1 α contrôlait la radiorésistance des glioblastomes et que son inhibition induisait une radiosensibilisation (Lanvin et al. 2013).

Au-delà de la néoangiogénèse, l'hypoxie a d'autres effets protumoraux. Les cellules souches, facteur clé de radiorésistance, sont maintenues à l'état « souche » par l'hypoxie. De plus, l'hypoxie augmente ce pool de CSC en induisant une reprogrammation des cellules différenciées à l'état souche (Dahan et al.

2014). La transition épithélio-mésenchymateuse est favorisée par l'hypoxie, et le métabolisme aérobie selon l'effet Warburg également.

Cette voie de résistance est l'une des plus anciennes connues et les études portant sur des moyens contrant l'hypoxie ont été réalisées ; des essais de radiothérapie sous oxygène hyperbares (avec des résultats cliniques intéressants mais une procédure trop complexe pour être utilisée), ou avec adjonction d'érythropoïétine (EPO) afin d'augmenter le taux d'hémoglobine (résultats discordants, avec parfois des plus mauvais taux de réponse : effet « facteur de croissance » de l'EPO ?), ajout de la metformine etc. (Wilson and Hay 2011; Horsman and Overgaard 2016).

L'imagerie, que ce soit par TEP ou IRM n'a pas permis de modifier l'attitude clinique vis-à-vis des zones hypoxiques. Pour l'instant, aucune donnée d'essai avec dose-painting des zones d'hypoxie n'est convaincante, et au-delà, le ciblage même des zones hypoxiques n'est pas sans difficulté, y compris en utilisant des traceurs autre que le 18-FDG (Supiot et al. 2011; Gérard et al. 2019)

Sur le plan clinique, les anti-angiogéniques ont été développés afin de contrôler la croissance tumorale. Rakesh Jain a publié en 2005 dans Science l'idée d'une fenêtre thérapeutique ; les antiangiogéniques permettent temporairement une normalisation de la vascularisation et de l'oxygénation des tumeurs. Cependant, cet intervalle de temps bénéfique est court et est suivi, même en cas de régression tumorale, par une nouvelle phase hypoxique (Jain 2005).

Matrice extracellulaire et rigidité

La matrice extracellulaire (MEC) procure un cadre structurel et moléculaire aux cellules tumorales, notamment pour les cellules cancéreuses épithéliales.

Schématiquement, si la densité fibreuse est élevée, le maillage matriciel se resserre, empêchant les cellules tumorales de passer et limite la croissance. (Deville and Cordes 2019).

Inversement, la croissance tumorale augmente la pression sur son environnement, correspondant à un stress pour les cellules stromales. Les cellules stromales produisent en réponse des facteurs de stress à l'encontre des cellules tumorales. Pour dépasser cette réponse et pouvoir continuer sa croissance, la tumeur modifie sa rigidité et celle de son environnement, ainsi que sa porosité et son organisation. (Deville and Cordes 2019).

La réorganisation de la matrice extracellulaire passant par la voie de signalisation médiée par l'intégrine est un facteur clé de la réponse à la chimiothérapie et à la radiothérapie.

Afin de modifier la rigidité de la MEC les cellules tumorales et les fibroblastes associés aux cellules tumorales sécrètent des enzymes comme les Metalloprotéases (MMPs) qui permettent la dégradation de la matrice existante et l'augmentation et la réorganisation des fibrilles de collagènes dans le stroma.

La desmoplasie est une réponse fibrotique intense caractérisée par une MEC dense. Les tumeurs avec une forte desmoplasie sont considérées comme plus agressives et de plus mauvais pronostic. La rigidité de la MEC est aussi un facteur d'induction de transition épithélio-mésenchymateuse (Deville and Cordes 2019).

En augmentant la pression dans la tumeur par cette rigidité physique, la distribution vasculaire s'en trouve modifiée. Elle donnerait lieu à une constriction vasculaire limitant ainsi la pénétration intratumorale des nutriments, des traitements et favoriserait l'hypoxie (Deville and Cordes 2019).

Cependant, la corrélation radiorésistance – rigidité cellulaire n'est pas mise en évidence dans tous les primitifs. A titre d'exemple, aucun modèle pertinent n'a pu être développé pour explorer les effets de la rigidité cellulaire dans le glioblastome (Erickson et al. 2018).

Vascularisation

Les rayonnements ionisants induisent des lésions voire la mort des cellules endothéliales, ce qui augmente la sécrétion de cytokines et de chemokines pro-inflammatoires. L'inflammation chronique, qui induit la fibrose des cellules endothéliales, produit par ce biais des facteurs tels que le TGF β ou les intégrines qui sont, comme vu plus haut, facteurs de radiorésistance (Cruz-Gregorio et al. 2019) (Kowalski-Chauvel et al. 2018). Les RI réduisent le diamètre vasculaire, augmentant le relargage de HIF1 α et de VEGF par les cellules endothéliales (Cruz-Gregorio et al. 2019).

Sur la néovascularisation, un phénomène de transdifférenciation des cellules tumorales (de glioblastome) vers un phénotype endothélial a été décrit, induit par les RI (Deshors et al. 2019).

Fibroblastes et macrophages associés au cancer (CAF et CAM)

Les fibroblastes associés au cancer (CAF) sont des cellules clés du microenvironnement. Lorsqu'ils sont exposés aux RI, ils relarguent des facteurs tels TGF α/β , VEGF, EGF¹⁸, interleukine 6, des modulateurs de la MEC et des cytokines, favorisant la croissance cellulaire. Ils sont aussi activement impliqués dans la desmoplasie, la synthèse des protéines de la MEC, des MMPs. (Cruz-Gregorio et al. 2019)

Les échanges entre CAF et cellules tumorales (notamment par exosomes) induisent la croissance tumorale, l'invasion métastatique, mais aussi les reprogrammations métaboliques.

Il est intéressant de noter que les CAF sont capables de migrer en accompagnant les cellules tumorales vers leur lieu d'ensemencement métastatique, favorisant ainsi l'invasion en milieu *a priori* hostile (Ansems and Span 2020).

Les fibroblastes ne sont pas les seules cellules de soutien des cancers. Les macrophages de type 2 (« M2 ») peuvent être associés au cancer (CAM : cancer associated macrophage) mais échangent aussi avec les CAF qui sont capables, par le biais de facteurs de signalisation, de polariser des macrophages normaux en cellules protumorigènes. Réciproquement, les CAM peuvent recruter des CAF. (Ansems and Span 2020)

Les CAM favorisent l'angiogénèse et la progression tumorale à travers la membrane basale, toujours en relarguant des enzymes et des inhibiteurs qui régulent la dégradation de la MEC (cathépsine, MMPs, protéases sérines etc.). La production de MMP par les CAM est stimulée par le TNF α . Ce TNF α sécrété par les macrophages est également un facteur d'activation de NF- κ B, les CAM augmenteraient aussi la transition épithélio-mésenchymateuse par le biais de la voie NF- κ B. (Taddei et al. 2013). Ces macrophages associés aux tumeurs sont connus pour être plus radiorésistants (Leblond et al. 2017).

¹⁸ EGF : Epithelial growth factor

IV - Hypothèse à l'origine de l'étude

Les mécanismes de radiorésistance sont donc nombreux et font intervenir les processus cellulaires à différents niveaux (ADN, organite, facteurs de signalisation, microenvironnement).

Un des problèmes pour lever la radiorésistance est l'identification des facteurs à l'origine des cascades de signalisation qui peuvent varier selon les primitifs et métastases. Les identifier permettrait de développer de nouvelles cibles thérapeutiques en combinaison avec la radiothérapie. Par ailleurs, les métastases cérébrales sont fréquentes, posent de réels problèmes sur la survie et la qualité de vie des patients et ne répondent pas toujours aux traitements systémiques et locaux.

L'équipe du Dr Valiente du *Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas* (CNIO) de Madrid a donc travaillé sur la question des voies de résistances des métastases cérébrales, notamment par l'identification d'une signature génomique.

Lors d'une étude *in vitro* et *in vivo*, des cellules murines de métastases cérébrales de cancer bronchique ont été étudiées avant et après irradiation. Le profil transcriptomique des cellules radiorésistantes a été comparé à celui des cellules radiosensibles. Une dizaine de gènes, dont celui codant pour la protéine S100A9, a été retrouvé surexprimée avant le traitement par radiothérapie. S100A9 est un inducteur de la voie de NF- κ B qui est, comme décrit plus haut, un facteur clé de la radiorésistance, notamment des tumeurs cérébrales primitives.

V - Voie de signalisation S100A9

V – 1 Structure

La famille de protéine S100 inclut plus de vingt protéines intracellulaires de bas poids moléculaire, dont S100A9.

La protéine S100A9 est aussi connue sous le nom Calgranuline, calprotin B (dimères S100A8/A9), MRP (myeloid related protein), p14 ou MRP14 (Markowitz and Carson 2013). S100A9 existe majoritairement en tant que monomère ou dimère. Le dimère peut être l'homodimère S100A9/S100A9 ou l'hétérodimère S100A8/S100A9.

La protéine est retrouvée dans le cytoplasme, la membrane cytoplasmique ou le noyau en fonction du type de cellule. Elle peut se lier au cytosquelette et est indépendante de la voie réticulum endoplasmique / appareil de golgi. On peut également assister à une sécrétion extracellulaire de S100A9 (comme S100A8 et S100B) (Markowitz and Carson 2013; Hermani et al. 2006).

V – 2 Localisation et rôles généraux

La protéine S100A9 a été décrite pour la première fois en 1987 dans un contexte inflammatoire (arthrite rhumatoïde) comme une protéine exprimée par les macrophages infiltrants. Plus tard, elle est aussi décrite dans les neutrophiles et les monocytes par Edgeworth en 1991. (Edgeworth et al. 1991)

Les protéines S100 ont des fonctions intracellulaires : la régulation de l'homéostasie calcique, du cycle cellulaire, de la croissance cellulaire, de la migration cellulaire et la régulation de la phosphorylation de facteurs transcriptionnels. Ce sont de forts chémoattractants pour les neutrophiles et les monocytes (Najafi et al., n.d.).

Elles ont aussi des fonctions extracellulaires, la liaison avec le facteur TNF α , l'interleukine 1 (IL-1), IL-6, les chémokines, les MMPs permet l'activation des cascades de signalisation intracellulaire (Najafi et al., n.d.).

Différentes études ont montré l'importance de S100A9 dans les pathologies cancéreuses, notamment son rôle dans le potentiel métastatique, la croissance tumorale, la protection contre l'apoptose, l'activation de processus inflammatoire, l'adhésion cellulaire et la migration cellulaire. (Hiratsuka et al. 2006; Németh et al. 2009; Kawai, Minamiya, and Takahashi 2011).

La protéine S100A9 est surexprimée dans différents types de cancer : sein (canalaire infiltrant), colon (sur colites chroniques), foie, estomac, poumon, colorectal, apocrine du sein, épidermoïde cervical. (Hermani et al. 2006)

Ainsi, dans les carcinomes bronchiques non à petites cellules, S100A9 est associée à un mauvais pronostic, y compris à un stade local, avec une mauvaise survie globale à 5 ans. (Kawai, Minamiya, and Takahashi 2011)

D'autres études montraient que la localisation de l'expression variait selon les groupes de survie : dans les groupes avec une courte médiane de survie, l'expression de S100A8/A9 était augmentée dans le stroma (hors macrophages), alors que dans le groupe avec la plus longue survie, S100A8/A9 était augmentée dans les îlots de cellules tumorales. (Hiratsuka et al. 2006)

Cependant, S100A9 pourrait promouvoir ou inhiber la croissance tumorale en fonction du microenvironnement moléculaire ; la liaison avec les macrophages serait en faveur de la suppression tumorale tandis que les voies par TGF- β , TNF- α , VEGF- α augmenteraient la croissance tumorale et promouvraient l'échappement métastatique (essentiellement via TGF- β). (Hiratsuka et al. 2006).

Comme de nombreuses protéines, S100A9 est impliquée dans de nombreuses voies d'aval, et notamment l'activation de NF- κ B par le biais de RAGE (receptor for advanced glycosylation end-products).

V – 3 Voie de signalisation d'intérêt

Avant radiothérapie, selon Monteiro, le taux de cytokines inflammatoires telles que TNF α augmente dans le microenvironnement après la colonisation cérébrale métastatique (seike 2011, Xing 2015), activant le récepteur 1 au TNF α (TNFR1) présent sur les cellules tumorales métastatiques et les cellules du microenvironnement. L'activation du TNFR1 mène à l'induction de l'expression de S100A9. (bianchi, giambanco et donato, 2019)

D'autres cytokines proinflammatoires telles que TNF α ou les interleukines 6 et 1 permettent la surexpression de S100A9.

Les trois principaux récepteurs de S100A9 sont RAGE, TLR (Toll-like receptor) et les extracellular inducer MMP (EMMPRIN).

La voie qui nous intéresse est celle médiée par le RAGE. RAGE a été décrit comme étant pourvoyeur de croissance cellulaire, de la mobilité cellulaire, du potentiel invasif.

Après contact, on retrouve S100A8/A9 et RAGE colocalisés dans les mêmes sous-structures cellulaires dans le cytoplasme ou en périnucléaire (on parle de translocation).

Une fois les cellules irradiées, dans l'étude de Monteiro, on observe à la fois une augmentation de l'expression du ligand S100A9 et du récepteur RAGE.

L'interaction entre RAGE et différents ligands comme la protéine HMGB1 (high mobility group box 1), qui est une cytokine inflammatoire, active la translocation nucléaire de NF- κ B. Ainsi, la voie de signalisation conduit à l'activation de NF- κ B et de sa fonction de facteur transcriptionnel pro-oncogène.

Cette cascade est impliquée dans la prolifération, l'invasion et l'apparition de métastases. (Fiuza et al. 2003).

Dans le carcinome hépato-cellulaire (CHC), NF- κ B se lie au promoteur de S100A9 et augmente sa transcription. La protéine S100A9 active des voies de signalisation dépendantes des espèces réactives de l'oxygène et protège ainsi le CHC de l'apoptose. (Németh et al. 2009)

Dans les cancers de prostate, les patients avec un score de Gleason élevé montraient une tendance à avoir de plus hauts niveaux d'expression de S100A9 et de RAGE, activant ainsi des voies de signalisation inflammatoires comme NF- κ B. (Hermani et al. 2006)

Deininger et al ont mené une étude sur la présence de S100A9 dans les macrophages et la microglie infiltrant les glioblastomes. Le taux de S100A9 était augmenté dans les rechutes après irradiation par rapport aux rechutes sans irradiation. En revanche, le taux de protéine n'était pas modifié entre la tumeur initiale et l'échantillon lors de la rechute. (Deininger et al., n.d.)

VI – Problématique du sujet de recherche

Le Dr Monteiro, de l'équipe du Dr Valiente au CNIO, a mené son travail de recherche sur l'expression et la régulation de la protéine S100A9 dans les métastases cérébrales de cancer bronchopulmonaire (Monteiro 2020). L'étude a montré que l'inhibition de S100A9 n'empêchait pas le développement de métastases intracérébrales mais augmentait la radiosensibilité. En effet, les souris dont l'expression de S100A9 était inhibée présentaient une régression plus importante des métastases cérébrales que le groupe contrôle après une irradiation type panencéphalique à la dose de 30Gy en 10x3 Gy.

Cette voie de signalisation pourvoyeuse de radiorésistance n'avait jamais été étudiée auparavant. L'équipe du Dr Valiente a mené les premiers travaux *in vitro* sur oncosphères et *in vivo* sur des lignées de souris.

Devant les résultats prometteurs, montrant une plus forte radiorésistance chez les souris exprimant un fort taux de S100A9, nous avons cherché à savoir si cela était retrouvé *in vivo* chez les patients humains (Monteiro 2020).

Le sujet de recherche de ce travail de thèse est alors l'étude de l'expression de la protéine S100A9 dans la réponse à la radiothérapie des métastases cérébrales pulmonaires.

Sur une série rétrospective de patients opérés et irradiés d'une métastase cérébrale de primitif bronchopulmonaire, nous avons étudié si l'expression native de S100A9 dans les cellules tumorales et les cellules du stroma de la métastase cérébrale était prédictive de la réponse clinique à la radiothérapie et ce en fonction du type de radiothérapie délivrée.

MATERIEL ET METHODES

I – Sélection des patients

Soixante-dix patients ont été inclus dans cette étude rétrospective, monocentrique et non interventionnelle. Tous les patients ont été traités dans le service de radiothérapie de l'Institut Claudius Regaud, Toulouse, entre janvier 2011 et février 2019. Les critères d'inclusion comprenaient la présence de métastase cérébrale de cancer bronchopulmonaire dont au moins une avait été excisée chirurgicalement, la réalisation d'une radiothérapie adjuvante, la présence de matériel inclus en paraffine disponible pour les tests immunohistochimiques et au moins un examen d'imagerie par résonance magnétique (IRM) réalisé dans le suivi. Toutes les histologies de cancer d'origine primitive bronchopulmonaire ont été incluses (adénocarcinome, carcinome épidermoïde, carcinome neuro-endocrine à petites cellules, carcinome neuro-endocrine à grandes cellules).

Les critères d'exclusion étaient : le décès avant la première IRM de suivi, la radiothérapie adjuvante réalisée en gamma-knife, l'absence de matériel tumoral sur les blocs de paraffine disponibles.

Une IRM a été réalisée au diagnostic de métastases cérébrales pour tous les patients, utilisant les séquences pondérées en T1, T1 avec injection de gadolinium, en T2 avec annulation du signal de l'eau (FLAIR). Une imagerie post-opératoire était généralement réalisée, par scanner ou IRM, dans les 48 heures.

II – Traitements

Tous les patients ont reçu une exérèse chirurgicale dont le caractère complet ou partiel a été évalué par le chirurgien et / ou par l'imagerie post-opérative.

Le diagnostic histologique a été posé par un médecin anatomo-pathologiste du Centre Hospitalier Universitaire de Toulouse.

Les modalités de traitement adjuvant étaient variées : les patients ont pu recevoir un WBRT simple, un WBRT avec un complément de dose sur le lit opératoire (le « boost » : WBRT + boost), une radiothérapie en condition stéréotaxique (SRT) sans irradiation du parenchyme cérébral sain, de manière multifractionnée (MF-SRT) ou en dose unique (single fraction SF-SRT). La dose unique était uniquement réalisée sur les lésions en place.

L'irradiation panencéphalique était réalisée en radiothérapie conformationnelle 3D à la dose standard de 30Gy en 10x3 Gy ou 37.7 Gy en 15x2.5 Gy. Le boost sur le lit opératoire était réalisé en radiothérapie conformationnelle avec modulation d'intensité (RCMI). En cas de boost ou de MF-SRT, les doses

standards délivrées étaient de 30 Gy en 5x6 Gy pour le lit opératoire. Les lésions non opérées recevaient 27 Gy en 3x9Gy ou une dose unique de 20 Gy.

Les traitements systémiques administrés après le diagnostic de métastase cérébrale ont été collectés. Un traitement était considéré comme concomitant à la radiothérapie si cette dernière était réalisée dans les 15 jours précédant ou suivant l'administration.

La tolérance du traitement a été analysée et les toxicités gradées selon le CTCAE V4.

La description de la population et des résultats a été faite dans les sous-groupes prévus *a priori* : population WBRT et population WBRT+boost / SRT afin de tenir compte de la différence de dose reçue par la cible.

III – Analyse par immunohistochimie de la protéine S100A9

Les échantillons tissulaires ont été construits à partir de tumeurs conservées dans des blocs de paraffine après fixation au formol, provenant de l'exérèse initiale de la MC.

Toutes les lames originelles d'hématoxyline-éosine (HE) ont été relues par un anatomo-pathologiste expert, le Dr Rouquette du CHU de Toulouse, afin de sélectionner le bloc de paraffine le plus représentatif.

L'immunohistochimie a été réalisée sur des coupes sérielles de 4 µm d'épaisseur coupées au microtome. Le marquage immunohistochimique a été réalisé par le laboratoire du Dr Valiente au CNIO de Madrid. L'automate Autostainer Link de Dako a été utilisé.

Les lames ont été incubées avec l'anticorps murin Anti-S100A8/S100A9 (Myeloid/histocyte Antigen, MAC 387 ; M0747 Dako) pour marquer la protéine S100A9 et l'anticorps de lapin polyclonal anti-p65 phosphorylé (S536) (1/200, Abcam, ab86299) pour marquer le facteur NF-κB.

Pour la révélation, les lames ont ensuite été incubées dans le système de visualisation (EnVision FLEX + et FLEX Rabbit, Dako) conjugué à la peroxydase de raifort. Ensuite, la réaction a été développée en utilisant du tétrahydrochlorure de 3, 3'-diaminobenzidine (DAB), y compris dans le kit FLEX et les noyaux ont été contre-colorés avec de l'hématoxyline de Carazzi. Enfin, les lames ont été déshydratées, nettoyées et montées avec un support de montage permanent pour une évaluation microscopique. L'expression de S100A9 était cytoplasmique et celle de NF-κB nucléaire.

La lecture des lames a été faite à l'Institut Universitaire du Cancer Toulouse. Les résultats du marquage en immunohistochimie obtenus avec les anticorps ont été analysés indépendamment des données cliniques de manière conjointe entre Céline Dalmasso et le Dr Siegfried pathologiste experte du CHU de Toulouse (A.S.).

L'intensité du marquage a été évaluée comme : négative (0), faible (1+), modérée (2+), élevée (3+)

Le pourcentage de cellules marquées a été évalué pour chaque catégorie d'intensité de marquage. Cette mesure a été faite séparément pour les cellules tumorales et les cellules du stroma. Les cellules tumorales (CT) ont été caractérisées comme telles par des critères morphologiques. Les cellules du stroma (CS) incluaient les fibroblastes et les lymphocytes. Les macrophages ont été exclus du comptage car leur marquage était considéré comme aspécifique.

Le marquage de la protéine S100A9 a été évalué comme une variable catégorielle (positive ou négative) : un échantillon dont la somme des cellules marquées (faible, modéré ou intense) tumorales ou du stroma était supérieure ou égale à 5% était considéré comme positif.

$$\sum (\%CT (1+,2+,3+) + \%CS (1+,2+,3+)) \geq 5\%$$

Où \sum est la somme, %CT le pourcentage de cellules tumorales marquées, %CS le pourcentage de cellules stromales marquées, 1+ une intensité faible, 2+ une intensité modérée, 3+ une intensité forte

Le marquage de NF- κ B a été évalué par le score H afin de prendre en compte les différences d'intensité (Yilmaz et al. 2018). Le score H s'obtient par la formule suivante :

$$H\text{-score} = [1 \times (\% C1+) + 2 \times (\% C2+) + 3 \times (\% C3+)]$$

Où

%C1+ est le pourcentage de cellules tumorales et stromales marquées faiblement (1+),

%C2+ est le pourcentage de cellules tumorales et stromales marquées modérément (2+),

%C3+ est le pourcentage de cellules tumorales et stromales marquées intensément (3+)

IV – Suivi

L'évaluation clinique et en imagerie IRM ou scanner a été réalisée au terme de deux mois après le traitement puis tous les 2 - 3 mois, en utilisant les séquences pondérées en T1 avec injection de gadolinium. La rechute locale était définie comme la progression d'une lésion irradiée. La rechute régionale était définie comme l'apparition d'une nouvelle lésion sur l'IRM ou le scanner.

La radionécrose a été évaluée par l'IRM en séquences anatomiques, en séquence de perfusion ou par biopsie chirurgicale en fonction de la situation clinique.

V – Analyse statistique

Les données sont décrites à l'aide des statistiques usuelles : nombre de données manquantes, nombre et pourcentage de chaque modalité pour les variables qualitatives ; médiane, minimum, maximum et nombre de données manquantes pour les variables continues.

La comparaison entre les groupes est effectuée à l'aide du test du Chi-deux ou du test exact de Fisher pour les variables qualitatives et à l'aide du test de Kruskal-Wallis pour les variables continues.

Pour toutes les analyses de survie, la date de référence est la date de début de la radiothérapie.

La survie globale est définie par le délai entre la date de référence et la date de décès ou de dernières nouvelles (données censurées).

La survie sans progression locale est définie par le délai entre la date de référence et la date du premier événement d'intérêt survenu : la progression locale (progression d'une lésion irradiée) et le décès. Les patients sans événements d'intérêt sont censurés à la date de leurs dernières nouvelles.

Le temps jusqu'à progression d'une lésion irradiée est défini par le délai entre la date de référence et la date de progression d'une lésion irradiée. Les patients sans progression d'une lésion irradiée sont censurés à leur date de dernières nouvelles (ou décès).

Le temps jusqu'à apparition d'une nouvelle lésion est défini par le délai entre la date de référence et la date d'apparition d'une nouvelle lésion. Les patients sans nouvelle lésion sont censurés à leur date de dernières nouvelles (ou décès).

Tous les taux de survie sont estimés à l'aide de la méthode de Kaplan-Meier et présentés avec leur intervalle de confiance à 95%. Des analyses univariées sont réalisées à l'aide du test du logrank pour

les variables qualitatives et du modèle à risques proportionnels de Cox pour les variables continues. Les variables associées avec une p-value inférieure à 5% en analyse univariable sont prises en compte dans l'analyse multivariable qui est réalisée à l'aide du modèle à risques proportionnels de Cox. Le hazard ratio (HR) et l'intervalle de confiance à 95 % sont présentés pour chaque covariable.

Toutes les analyses ont été effectuées avec le logiciel STATA 16 et tous les tests utilisés sont bilatéraux avec un seuil α à 5%.

RESULTATS

I – Caractéristiques de la population et des traitements

Soixante-neuf patients ont été inclus. Le type histologique le plus fréquent était l'adénocarcinome (87%) suivi par le carcinome neuroendocrine à grandes cellules (6%), le carcinome neuroendocrine à petites cellules (4%) et le carcinome épidermoïde (3%). Les chirurgies étaient considérées comme complètes dans 65 % des cas.

Dix-huit patients (26%) ont été traités en adjuvant par une irradiation encéphalique totale ou whole brain radiation therapy (WBRT) sans boost, 15 (22%) patients ont reçu le WBRT avec un complément de dose (WBRT+boost), et trente-six patients (52%) n'ont été traités que sur le lit opératoire en radiothérapie en condition stéréotaxique (SRT).

La population a ensuite été décrite en fonction du type de traitement (WBRT, WBRT+ boost, SRT). Les 3 groupes étaient comparables entre eux sur les caractéristiques épidémiologiques (sexe, tabagisme, tabagisme en paquets-année, âge à la métastase cérébrale opérée). La circonstance du diagnostic de la MC était également comparable avec respectivement 89%, 87% et 86% des atteintes cérébrales diagnostiquées à l'occasion d'un symptôme ($p=1.000$) pour les groupes WBRT, WBRT+boost et SRT. Excepté un patient du groupe SRT, tous ont été inclus lors de la survenue de la 1^{ère} métastase cérébrale. Le caractère complet de l'exérèse était comparable entre les 3 groupes ($p=0.3015$) mais il y avait respectivement 27% et 54% d'exérèses considérées comme incomplètes dans les groupes WBRT et WBRT+boost (31% dans le groupe SRT). Le nombre de métastases cérébrales au moment de la chirurgie a été regroupé en 3 catégories : 1, 2-4 et ≥ 5 . Sur les 12 patients avec ≥ 5 MC, 6 étaient dans le groupe WBRT, 3 dans le groupe WBRT+boost et 3 dans le groupe SRT. Trente-trois patients avaient une lésion unique dont 22 (61%) étaient dans le groupe SRT et 24 patients avaient entre 2 à 4 MC dont 11 (31%) étaient dans le groupe SRT.

Peu de patients étaient en cours de traitement systémique au moment de l'apparition de la métastase opérée (7 patients sur 69, groupes comparables). Le reste des caractéristiques cliniques de la population est retranscrite dans le tableau 3.

Type de radiothérapie	Tout type (n=69)	WBRT (n=18)	WBRT+ boost (n=15)	SRT (n=36)
Sexe				
-Masculin	42 (61%)	12 (67%)	8 (53%)	22 (61%)
-Féminin	27 (39%)	6 (33%)	7 (47%)	14 (39%)
Tabac				
-Non	11 (17%)	1 (6%)	4 (27%)	6 (18%)
-Oui	54 (83%)	15 (94%)	11 (73%)	28 (82%)
-Donnée manquante	4	2	0	2
Age à la 1ere MC				
- < 60 ans	35 (51%)	10 (56%)	8 (53%)	17 (47%)
- ≥ 60 ans	34 (49%)	8 (44%)	7 (47%)	19 (53%)
Circonstance du diagnostic				
-Bilan d'imagerie	9 (13%)	2 (11%)	2 (13%)	5 (14%)
-Symptôme	60 (87%)	16 (89%)	13 (87%)	31 (86%)
Statut TNM				
-T1/T2	42 (65%)	12 (71%)	8 (57%)	22 (65%)
-T3/T4	23 (35%)	5 (29%)	6 (43%)	12 (35%)
-Donnée manquante	4	1	1	2
-N0	25 (37%)	5 (28%)	4 (27%)	16 (46%)
-N+	43 (63%)	13 (72%)	11 (73%)	19 (54%)
-Donnée manquante	1	0	0	1
-M1b	35 (51%)	8 (44%)	6 (40%)	21 (58%)
-M1c	34 (49%)	10 (56%)	9 (60%)	15 (42%)
Performans Statut OMS (n = 68)				
-PS OMS 0/1	56 (82%)	15 (83%)	10 (67%)	31 (89%)
- PS OMS 2/3	12 (18%)	3 (17%)	5 (33%)	4 (11%)
-Donnée manquante	1	0	0	1
Localisation de la MC prélevée				
-Sus tentorielle	55 (80%)	16 (89%)	12 (80%)	27 (75%)
-Fosse postérieure	14 (20%)	2 (11%)	3 (20%)	9 (25%)
Exérèse complète				
-Oui	21 (35%)	4 (27%)	7 (54%)	10 (31%)
-Non	39 (65%)	11 (73%)	6 (46%)	22 (69%)
-Donnée manquante	9	3	2	4
Nombre de métastases cérébrales à la chirurgie				
-1	33 (48%)	5 (28%)	6 (40%)	22 (61%)
-2-4	24 (35%)	7 (39%)	6 (40%)	11 (31%)
-≥5	12 (17%)	6 (33%)	3 (20%)	3 (8%)
Mutation connue				
-KRAS (n=55)	20 (36%)	7 (44%)	3 (25%)	10 (37%)
-EGFR (n=55)	8 (15%)	1 (6%)	3 (25%)	4 (15%)
-ALK (n=58)	1 (2%)	0	0	1 (4%)
-ROS1(n=42)	0	0	0	0
-BRAF (n=54)	0	0	0	0
-Her2 (n=40)	2 (5%)	0	0	2 (9%)
-MET (exon 14) (n=26)	2 (8%)	0	0	2 (12%)
Statut PDL1 (n=29)				
- <1 % (négatif)	18 (62%)	3 (75%)	3 (60%)	12 (60%)
- ≥ 1% (positif)	11 (38%)	1 (25%)	2 (40%)	8 (40%)
Données manquantes	40	14	10	16

Tableau 3 : Caractéristiques de la population à l'inclusion

II – Caractéristiques du traitement de radiothérapie

Le délai médian entre la chirurgie et la radiothérapie était de 1.7 mois (min-max : 0.6 ; 3.5), avec une différence significative entre les 3 groupes : WBRT (1.3 mois [0.6 ; 2.4]) vs WBRT+boost (1.1 mois [0.6 ; 2.0]) vs SRT (2.1mois [0.6 ; 3.5]), $p < 0.00001$.

La dose délivrée sur le parenchyme cérébral était de 30 Gy en 10x3 Gy pour 67% des patients du groupe WBRT et 33% des patients du groupe WBRT+boost, versus respectivement 22% (WBRT) et 40% (WBRT+boost) pour la dose de 37.5 Gy en 15x2.5

La dose médiane délivrée sur la cavité opératoire en boost était de 45 Gy. Aucun patient n'a eu d'hypofractionnement en dessous de 10 séances dans ce groupe WBRT+Boost.

A contrario, dans le groupe SRT, les lits opératoires ont été traités en médiane avec une dose de 30 Gy en 5x6Gy (17 cavités d'exérèses chez 17 patients sur 36). Sept patients de ce groupe avaient également une lésion en place, et 1 patient avait 2 lésions en place en plus du lit opératoire. Quatre patients, dont celui avec 2 lésions en place, ont été traités par radiochirurgie, c'est-à-dire par fraction unique. Deux patients parmi ceux-là ont été traités au gammaknife sur cette lésion en place.

Le nombre de lésions traitées est décrit dans le tableau 4.

Nombre de patients	Tout type (n=69)	WBRT (n=18)	WBRT+boost (n=15)	SRT (n=36)	Différence entre les 3 groupes
Délai chirurgie – radiothérapie Médiane, mois (intervalle)	1.7 (0.6 ; 3.5)	1.3 (0.6 ; 2.4)	1.1 (0.6 ; 2.0)	2.1 (0.6 ; 3.5)	p<0.0001
Nb de lésions traitées					p=0.0006
1	40 (58%)	5 (28%)	7 (47%)	28 (78%)	
2-4	21 (30%)	8 (44%)	5 (33%)	8 (22%)	
≥ 5	8 (12%)	5 (28%)	3 (20%)	0	
<u>Si WBRT, dose totale à l'encéphale</u>					
30 Gy	22 (69%)	13 (76%)	9 (60%)		
37.5 Gy	10 (31%)	4 (24%)	6 (40%)		
Donnée manquante	1	1	0		
<u>Si WBRT, nb de fractions</u>					
10	17 (53%)	12 (71%)	5 (33%)		
15	15 (47%)	5 (29%)	10 (67%)		
Donnée manquante	1	1	0		
Nombre de lésions			WBRT + boost (n=22)	SRT (n=51)	
<u>Si Boost :</u>					
Sur cavité d'exérèse (n=22)					
Dose totale médiane (Gy)			45 (39 ; 48)		
Nb de fractions médian			15 (10 ; 19)		
Sur lésion en place (n=0)			NA		
<u>Si SRT :</u>					
Sur cavité d'exérèse :					
Dose totale médiane (Gy)				30 (23 ; 50)	
Nb de fraction médian				5 (3 ; 25)	
Sur lésion en place : (n=9)					
Dose totale médiane (Gy)				27 (1.0 ; 35.0)	
Nb de fraction médian				1 (1 ; 5)	

Tableau 4 : Détail des lésions traitées en fonction de la technique de radiothérapie

III – Traitements systémiques

Un quart des patients traités par SRT n'ont eu aucun traitement systémique dans l'histoire de leur maladie, et un tiers n'a reçu qu'une ligne de traitement. *A contrario*, environ les 3/4 des patients ayant reçus un WBRT +/- Boost ont reçu entre 1 et 3 lignes de traitement. Les lignes de traitements systémiques reçus par chacun des groupes sont détaillées dans le tableau 5.

L'immunothérapie a été délivrée en concomitance à la radiothérapie pour 2 patients, tous les deux traités en SRT. L'un d'eux a reçu du NIVOLUMAB 9 jours après la fin du traitement et le deuxième du PEMBROLIZUMAB 2 jours avant le traitement, et une thérapie ciblée a été délivrée en concomitance à la RTE pour 3 patients (2 WBRT+boost, 1 SRT). Il s'agissait d'ERLOTINIB pour 2 patients, l'un sans arrêt du traitement, l'autre débuté le jour de la fin des rayons, et de GEFITINIB pour le patient avec SRT, interrompu 7j avant et repris 3j après. Aucun de ces patients n'a eu de toxicité radioinduite.

	Tout type (n=69)	WBRT (n=18)	WBRT+boost (n=15)	SRT (n=36)
Nb de ligne de traitement systémique				
Aucune	12 (18%)	2 (11%)	1 (7%)	9 (25%)
1	23 (33%)	6 (33%)	5 (33%)	12 (33%)
2	14 (20%)	4 (22%)	4 (27%)	6 (17%)
3	14 (20%)	5 (28%)	3 (20%)	6 (17%)
>3	6 (9%)	1 (6%)	2 (13%)	3 (8%)
Au moins une fois de l'immunothérapie				
Non	53 (77%)	15 (83%)	12 (80%)	26 (72%)
Oui	16 (23%)	3 (17%)	3 (20%)	10 (28%)
Au moins une fois une thérapie ciblée				
Non	59 (85%)	18 (100%)	11 (73%)	30 (83%)
Oui	10 (15%)	0	4 (27%)	6 (17%)
Traitement concomitant à la RTE :				
Immunothérapie	2 (3%)	0	0	2 (6%)
Thérapie ciblée	3 (4%)	0	2 (13%)	1 (3%)

Tableau 5 : Détails traitements systémiques selon les groupes de traitement

IV – Toxicité

Au moins une toxicité radioinduite a été rapportée chez 9 (13%) patients dont 7 dans le groupe SRT.

Dans le groupe SRT, il s'agissait de radionécrose pour 5 patients et d'œdème cérébral pour 2 patients.

La radionécrose était de grade 1 diagnostiquée sur IRM, non traitée pour un patient, de grade 1 diagnostiquée sur pièce opératoire pour suspicion de progression pour 1 patient, de grade 3 pour 3 patients, diagnostiquée sur chirurgie d'exérèse faite pour suspicion de progression, traités par corticostéroïdes et chirurgie. Tous les patients avec une radionécrose ont bien évolué sous traitement.

L'œdème cérébral était de grade 3 pour les 2 patients, conduisant pour l'un à un déficit moteur et un état confusionnel et à des crises comitiales pour le deuxième. Les 2 patients ont été améliorés par la corticothérapie. On peut noter que le 1^{er} patient a présenté cette toxicité alors qu'il était en cours d'irradiation pour une lésion sous cutanée en regard de la cavité d'exérèse cérébrale initiale.

Un patient avec WBRT a subi une toxicité de grade 4 avec état de mal épileptique, d'amélioration modérée après traitement, compliquée par une progression rapide.

Un patient du groupe WBRT + boost a présenté une crise comitiale de grade 1 secondaire à la radiothérapie, spontanément résolutive.

Aucune toxicité de grade 5 (décès) n'a été rapportée.

VI – Résultats de l'analyse immunohistochimique des protéines S100A9 et NF- κ B

VI – 1 S100A9

Au total, 22 patients (32%) avaient un échantillon positif pour le marquage de S100A9 (% de cellules tumorales ou stromales marquées supérieur ou égal à 5%). La répartition dans les trois groupes de traitement était la suivante : taux de positivité de 33%, 47% et 25% respectivement pour les groupes WBRT, WBRT+boost et SRT.

Sur les 22 patients positifs pour S100A9, 16 avaient une expression des cellules tumorales (toutes avaient au minimum 5% de cellules marquées avec une intensité modérée à forte, c'est-à-dire qu'aucun échantillon n'était positif uniquement sur un marquage faible).

Dix échantillons ne contenaient pas de cellules stromales intratumorales. Sur les 59 autres, 13 avaient un marquage positif de S100A9 sur les cellules stromales (>5% de cellules marquées quel que soit l'intensité).

Sur cette même population de 59 échantillons avec stroma, 22 avaient une infiltration lymphocytaire majoritaire (> 50% des cellules stromales étaient des lymphocytes), dont 5 étaient positifs pour S100A9.

Par ailleurs, sur les 49 échantillons avec du tissu cérébral sain en périphérie de la tumeur, aucun ne marquait S100A9 sur les cellules de ce tissu.

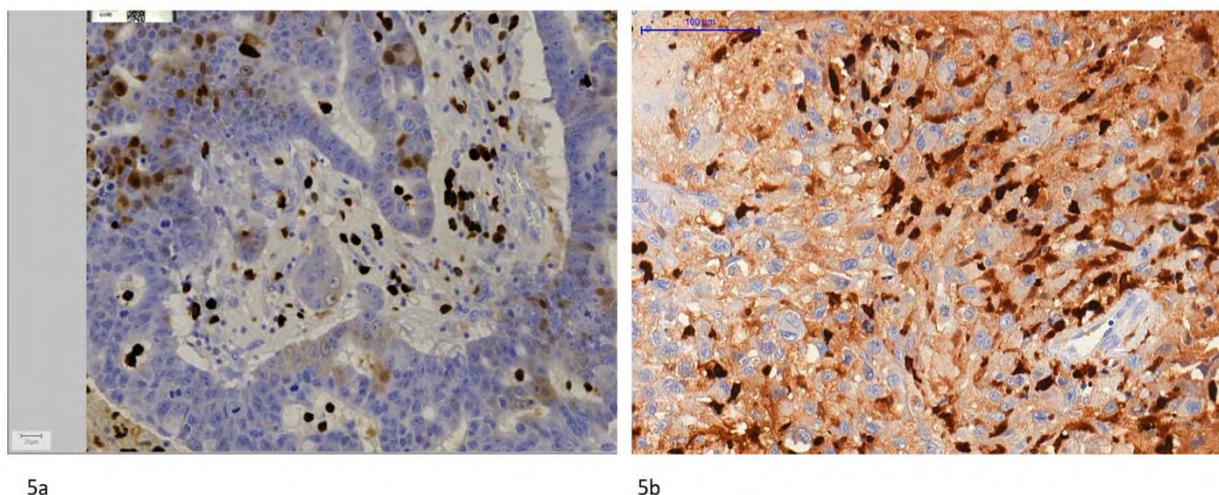


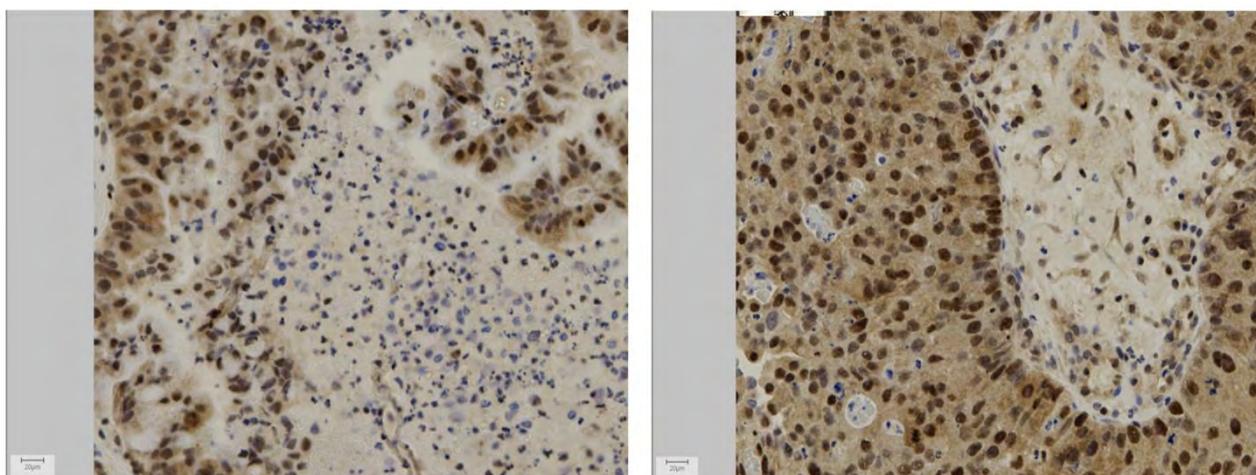
Figure 5 – Illustrations de l'expression immunohistochimique de S100A9 au microscope optique. L'expression est cytoplasmique. 5a : Expression par les cellules stromales (3+) et peu par les cellules tumorales (majorité de 1+), x200. 5b – Expression par les cellules tumorales de manière diffuse (3+), x400

VI – 2 NF-κB

Tous les échantillons exprimaient NF-κB dans les cellules tumorales ou le stroma. Trois patients n'exprimaient pas NF-κB sur le stroma. Le score H médian était de 230 pour la population (min 50- max 300). Le score H par terciles est représenté dans le tableau 6.

	Tout type (n=69)	WBRT (n=18)	WBRT+boost (n=15)	SRT (n=36)
Médiane (intervalle) (n=69)	230 (50 ; 300)	240 (100 ; 290)	260 (130 ; 290)	210 (50 ; 300)
Médiane (n=69)				
≤230	35 (51%)	9 (50%)	5 (33%)	21 (58%)
> 230	34 (49%)	9 (50%)	10 (67%)	15 (42%)
Terciles (n=69)				
≤180	25 (36%)	6 (33.3%)	3 (20%)	16 (44%)
]180 ;260]	24 (35%)	6 (33.3%)	7 (47%)	11 (31%)
> 260	20 (29%)	6 (33.3%)	5 (33%)	9 (25%)

Tableau 6 : Score H pour NF-κB selon le groupe de traitement



6a

6b

Figure 6 – Illustrations de l'expression immunohistochimique de NF-κB au microscope optique. L'expression est nucléaire. 5a : Expression par les cellules tumorales et stromales (majorité de 1+), x200. 5b – Expression par les cellules tumorales et stromales (majorité de 3+), x200

VII – Résultats sur la progression

Au total, 19% des patients ont présenté une progression locale (sur une lésion irradiée), 9 (50%) dans le groupe WBRT, 2 (13%) dans le groupe WBRT+boost et 2 (6%) dans le groupe SRT. La plupart de ces rechutes se sont produites sur la lésion opérée (67%), notamment dans le groupe WBRT+boost (100%).

Dans le groupe WBRT qui comporte le plus de rechute, la description permet de montrer que 3 patients ont rechuté sur une lésion opérée seulement, 3 patients sur une lésion restée en place seulement, 2 patients ont rechuté à la fois sur une zone opérée et une lésion en place et l'information était manquante pour 1 patient.

Les autres détails des progressions sont montrés dans le tableau 7.

Plus de la moitié des patients de l'étude ont rechuté sous la forme d'une apparition de nouvelle lésion (54%), majoritairement dans le groupe SRT (69% des patients du groupe), puis WBRT+ boost (40%, 6 patients) puis WBRT (33%, 6 patients).

Dans la population qui a reçu une irradiation encéphalique en totalité (WBRT et WBRT+boost), 12 patients sur 33 (57%) ont donc rechuté sous la forme d'une nouvelle lésion en zone irradiée (parenchyme cérébral initialement sain).

Les traitements de radiothérapie de sauvetage ont été décrits dans le tableau 7.

A la date des dernières nouvelles, respectivement 22%, 47% et 58% des patients étaient vivants dans les groupes WBRT, WBRT+boost et SRT. La maladie intracrânienne initiale était considérée comme contrôlée dans respectivement 100%, 100% et 91% des cas (WBRT, WBRT+boost, SRT). La maladie intracrânienne après progression vis-à-vis du statut initial était considérée comme contrôlée chez respectivement 3 (100%), 1 (50%) et 6 (38%) des patients vivants des groupes WBRT, WBRT+boost et SRT. Deux patients sont décédés de cause neurologique non liée au cancer : démence et hydrocéphalie. Un patient est décédé de la progression d'un 2nd cancer des voies aérodigestives supérieures. Les 34 autres décès constatés étaient liés au cancer broncho-pulmonaire (sans différenciation entre la maladie intracrânienne ou extra crânienne possible). L'analyse de survie a été faite à partir de la date de début de radiothérapie.

	WBRT (n=18)	WBRT + boost (n=15)	SRT (n=36)
Progression d'une lésion irradiée	9 (50%)	2 (13%)	2 (6%)
Site de la progression :			
Sur lit opératoire seulement	3 (38%)	2 (100%)	1 (50%)
Sur lésion en place seulement	3 (38%)	0	1 (50%)
Sur lit opératoire et lésion en place	2 (25%)	0	0
Donnée manquante sur le site de progression	1		
Apparition d'une nouvelle lésion	6 (33%)	6 (40%)	25 (69%)
Nouvelle irradiation	5 (28%)	1 (7%)	20 (56%)
Si oui :			
WBRT	0	0	7 (35%)
SRT ou RCMI (photonthérapie)	3 (60%)	0	6 (30%)
Radiochirurgie par gammaknife	2 (40%)	1 (100%)	7 (35%)
Si WBRT (n=7)	n= 0	n=0	n=7
Dose médiane (Gy) (sans cumul)	NA	NA	30 (20.0 ; 37.5)
Nb de fractions médian	NA	NA	10 (10 ; 15)
Si SRT / RCMI (n=7)	n=3	n=0	n=4
Dose médiane (Gy) (sans cumul)	24 (23 ; 24)	NA	29 (23 ; 42)
Nb de fractions médian	3 (3 ; 8)	NA	4 (3 ; 13)
Données manquantes sur la dose			2
Si radiochirurgie par gammaknife (n=4)	n=1	n=1	n=2
Dose médiane (Gy) (sans cumul)	20	22	20 (20 ; 20)
Nb de fractions médian	1	1	1 (1 ; 1)
Données manquantes sur la dose	1		5

Tableau 7 : Détails des progressions et second traitement selon le groupe de traitement

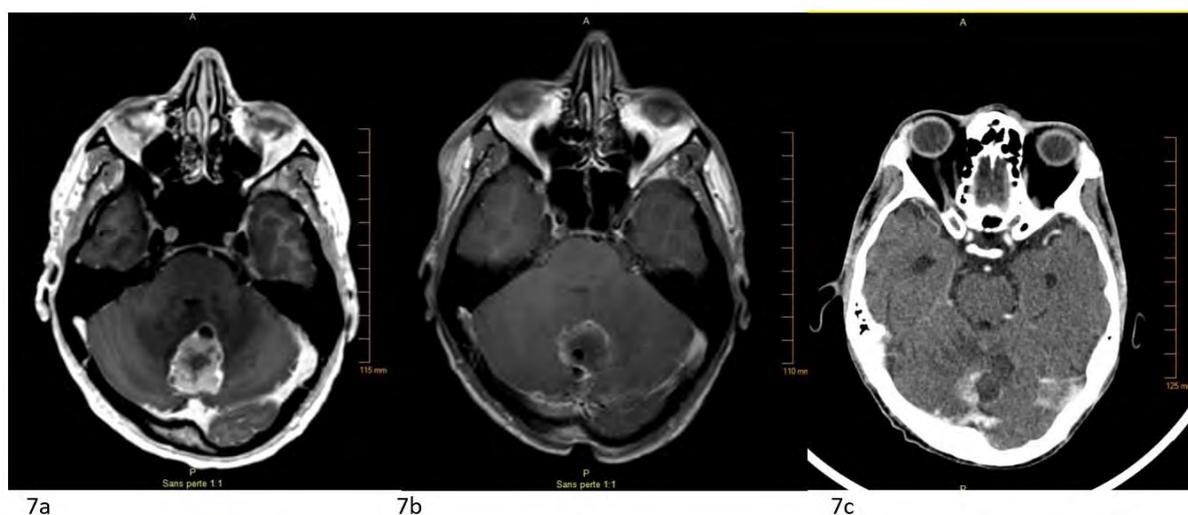


Figure 7 : Illustrations d'une métastase cérébelleuse traitée par chirurgie et WBRT : 7a : IRM pré-chirurgicale, 7b : IRM post-chirurgicale avant WBRT, 7c : scanner à la rechute sur le site irradié, après WBRT

VIII – Critère de jugement principal : temps jusqu'à progression d'une lésion irradiée

A deux ans, 74% des patients n'ont pas présenté de progression locale (95%IC [59 ; 85])

La médiane du temps jusqu'à progression est de 17.6 mois dans le groupe WBRT et n'est pas atteinte dans les autres groupes (figure 8a)

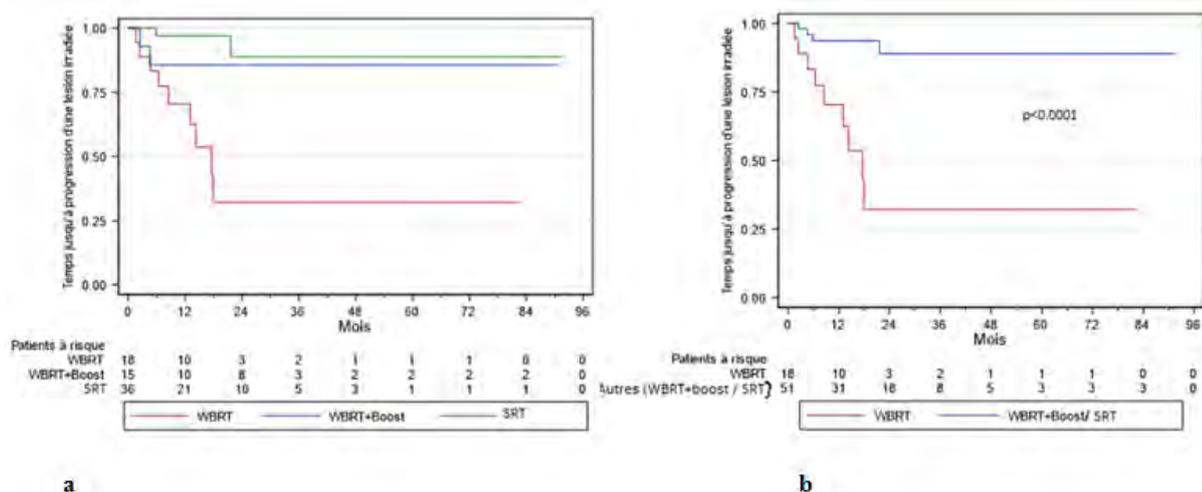


Figure 8 : a : Temps jusqu'à progression d'une lésion irradiée en fonction des 3 groupes de traitement.
 b : Temps jusqu'à progression d'une lésion irradiée selon le groupe WBRT ou autres (WBRT+boost, SRT)
 WBRT : whole brain radiation therapy, SRT : radiothérapie en condition stéréotaxique

Sur l'ensemble de la cohorte, l'analyse univariable sur le critère de jugement principal (temps jusqu'à progression locale) a inclus le type de radiothérapie (WBRT versus autre), le statut S100A9 (positif $\geq 5\%$ ou négatif), le score H pour l'expression de NF- κ B (1^{er}, 2^{eme} et 3^{eme} tercile) le sexe, l'âge ≥ 60 ans à la MC, le statut T, N, M (M1b vs M1c), le Performans Status OMS 0-1, 2-3 (tableau 8).

*Le statut de l'expression de S100A9 sur l'ensemble de la cohorte n'était pas significativement associé à un raccourcissement du temps à progression (HR = 1.58, 95%IC [0.52 ; 4.84] p = 0.4169).

*Les métastases traitées en WBRT sans boost rechutaient plus vite que les autres, autrement dit les patients traités par WBRT sans boost présentaient un temps jusqu'à progression significativement plus court que les patients traités soit par WBRT+boost, soit par stéréotaxie.

(HR=0.12, 95%IC [0.04 ; 0.39], p<0.0001) (figure 8b).

Nous avons ensuite étudié le critère de jugement principal sur la population WBRT seule. Cette population avait reçu une dose biologique moindre que celle reçue par les patients traités par SRT ou WBRT+boost.

Dans cette population de 18 patients, 12 avaient un statut S100A9 négatif dont 5 ont présenté une rechute locale (42%), et 6 avaient un statut S100A9 positif dont 4 (67%) ont présenté une rechute locale.

L'analyse univariable a été faite sur l'expression de S100A9, l'expression de NF-κB selon le score H et le nombre de lésions traitées (tableau 9).

L'expression en classe de S100A9 était pronostique de la progression d'une lésion irradiée (rechute locale) dans l'analyse univariable ($p=0.0254$) au sein de ce groupe de patients (figure 9)

En revanche, le score H pour l'expression de NF-κB n'était pas pronostique du temps jusqu'à progression d'une lésion irradiée ($p=0.9380$) (tableau 9).

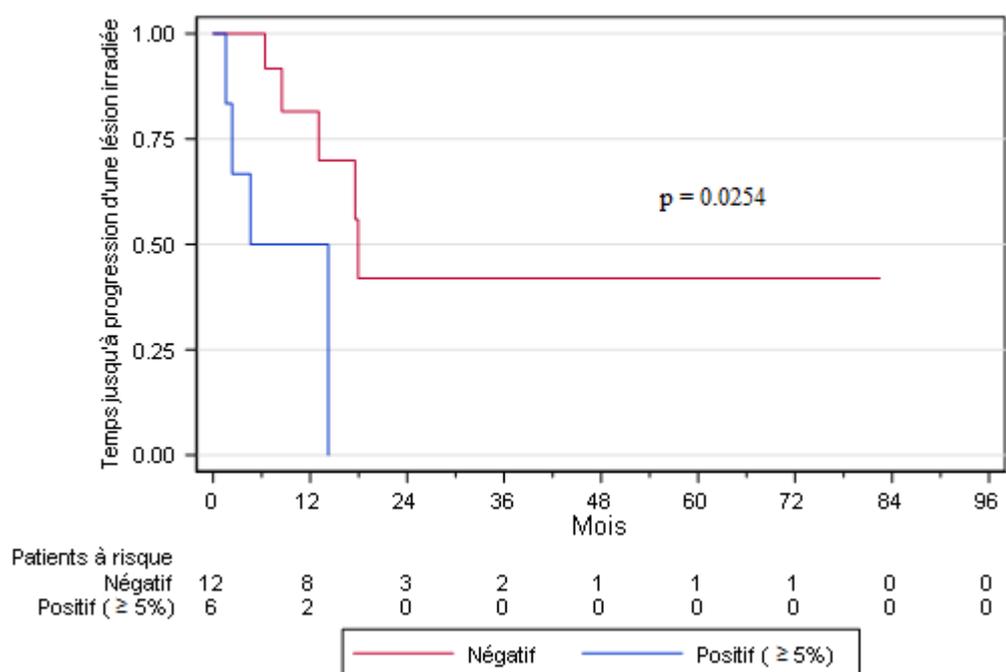


Figure 9: Temps jusqu'à progression d'une lésion irradiée en fonction de l'expression de S100A9 dans la population WBRT

Les détails des progressions (sur lésion opérée ou non) sont présents dans le tableau 10.

Les variables des progressions en fonction de S100A9 pour les autres populations WBRT + boost et SRT sont disponibles dans le tableau 10. Les analyses statistiques de survie n'ont pas été menées du fait du faible nombre d'évènements dans ces populations.

	EVT/N	S (t=12 mois) [95%IC]	HR [95%IC]
Sexe			p = 0.7332
Masculin	7/42	87% [72 ; 95]	1.00
Féminin	6/27	88% [67 ; 96]	1.21 [0.41 ; 3.61]
Age à la métastase cérébrale			p = 0.2219
< 60 ans	9 / 35	82% [64 ; 91]	1.00
≥ 60 ans	4 / 34	94% [77 ; 98]	0.49 [0.15 ; 1.58]
Histologie :			
Adénocarcinome	11 / 60	87 % [75 ; 94]	
Autres histologies	2 / 9	89% [43 ; 98]	
Statut T :			p = 0.2042
T1/T2	6 / 42	92% [78 ; 97]	1.00
T3/T4	6 / 23	78% [54 ; 90]	2.06 [0.66 ; 6.40]
			p = 0.1978
Statut N			
N0	3/25	90% [68 ; 98]	1.00
N+	10/43	85% [70 ; 93]	2.28 [0.63 ; 8.31]
Statut M :			p = 0.1793
M1b	5/35	88% [72 ; 96]	1.00
M1c	8/34	87% [68 ; 95]	2.12 [0.69 ; 6.52]
Statut OMS :			
OMS 0/1	11/56	88% [76 ; 95]	
OMS 2/3	2/12	83% [48 ; 96]	
Localisation :			
Sus tentorielle	11/55	85% [72 ; 92]	
Sous tentorielle	2/14	100% [. ; .]	
KRAS positif :			
Non	10/35		
Oui	1/20		
PDL1 :			
Négatif (<1%)	2/18		
Positif (≥1%)	0/11		
Type de radiothérapie			p < 0.0001
WBRT	9/18	70% [42 ; 87]	1.00
Autres (WBRT+boost et SRT)	4/51	94% [82 ; 98]	0.12 [0.04;0.39]
Nb de MC			
1	3/33	90% [73 ; 97]	
>1	10/36	85% [67 ; 93]	
Expression de S100A9			p = 0.4169
Négatif	8/47	91% [77 ; 97]	1.00
Positif	5/22	81% [57 ; 92]	1.58 [0.52;4.84]
Score H pour NF-κB (terciles)			p= 0.4399
≤180	4/25	88% [66 ; 96]	1.00
]180 ; 260]	3/24	86% [63 ; 95]	0.82 [0.18 ; 3.68]
> 260	6/20	90% [64 ; 97]	1.82 [0.51 ; 6.46]

Tableau 8 : Analyse univariable du temps jusqu'à progression d'une lésion irradiée dans la population totale

	EVT/N	S (t=12 mois) [95%IC]	
Expression de S100A9			p=0.0254
Négatif (<5%)	5/12	82% [44 ; 95]	
Positif (≥5%)	4/6	50% [11 ; 80]	
Score H NF-κB (cl médiane)			p=0.9380
≤260	4/9	67% [28 ; 88]	
>230	5/9	74% [29 ; 93]	
Dose totale (Gy)			
30 Gy	8/15		
35 Gy	1/4		
Nb de lésions traitées			p=0.1997
1 à 3 lésions	5/11	81% [42 ; 95]	
> 3	4/7	54% [13 ; 82%]	

Tableau 9 : Analyse univariable du temps jusqu'à progression d'une lésion irradiée dans la population WBRT

Cohorte WBRT	S100A9 négatif (n=12)	S100A9 positif (n=6)
Progression locale	5 (42%)	4 (67%)
Si progression :		
Sur lit opératoire seulement	2 (50%)	1 ((25%)
Sur lésion en place seulement	0	3 (75%)
Sur lit opératoire et lésion en place	2 (60%)	0
Donnée manquante	1	0
WBRT + boost	S100A9 négatif (n=8)	S100A9 positif (n=7)
Progression locale	1 (13%)	1 (14%)
Si prog, Sur lit opératoire seulement	1 (100%)	1 (100%)
SRT	S100A9 négatif (n=27)	S100A9 (n=9)
Progression locale	2 (7%)	0
Si prog :		
Sur lit opératoire seulement	1 (50%)	
Sur lésion en place	1 (50%)	

Tableau 10 : Progression en fonction de l'expression de S100A9 en fonction du groupe de traitement

IX – Critères de jugement secondaires

IX – 1 Temps jusqu'à l'apparition d'une nouvelle lésion (rechute régionale)

Cette analyse a été portée sur la population ayant reçu une WBRT (+/- boost) soit 33 patients. Les patients sans irradiation panencéphalique (SRT) en sont exclus *a priori*.

Sur 33 patients, 12 (36%) ont progressé sous la forme de l'apparition d'une nouvelle lésion. Le temps médian jusqu'à l'apparition d'une nouvelle lésion est de 25.7 mois (95%IC [13.3 ; NA]). L'estimation à 2 ans de l'apparition d'une nouvelle lésion est de 56.7% (95%IC [32.7 ; 75.0]).

L'analyse univariable de la rechute régionale sous la forme de temps jusqu'à apparition d'une nouvelle lésion a inclus le type de radiothérapie (WBRT ou WBRT+boost) et le statut S100A9. Ni le type de radiothérapie ($p = 0.8063$) ni le statut S100A9 ($p=0.2264$) n'était pronostique de l'apparition de nouvelle lésion (figure 10).

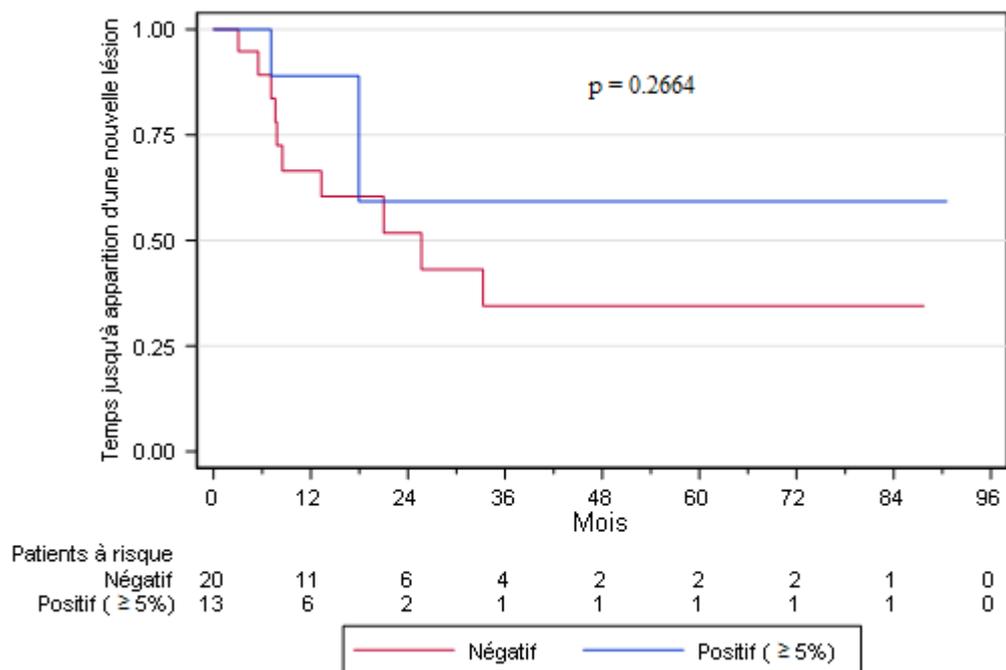


Figure 10 : Temps jusqu'à apparition d'une nouvelle lésion dans la population WBRT (+/- Boost) en fonction de l'expression de S100A9

IX – 2 Survie globale

La médiane de survie globale était de 24.1 mois dans la population totale (95% IC [16.4 ; 40.7]), de 15.9 mois (95%IC [8.1 ; 19.3]) et de 33.6 mois (95%IC [19.0 ; NA]) respectivement dans les groupes WBRT et autres (WBRT+boost/SRT) ($p=0.0180$) (figure 11).

Dans l'ensemble de la cohorte, l'analyse univariable pour la survie globale a inclus le sexe, l'âge ≥ 60 ans à la MC, l'histologie (adénocarcinome vs autres), le statut T, N, M (M1b vs M1c), le statut OMS 0-1, 2-3, la localisation sus ou sous tentorielle de la métastase prélevée, le statut Kras, PDL1, le type de radiothérapie (WBRT versus WBRT + boost et SRT), le statut S100A9 (en continu et en classes : positif si $\geq 5\%$ ou négatif) et le nombre de métastases cérébrales au moment de la chirurgie.

Sur les trois facteurs inclus dans l'analyse multivariable qui étaient le type de radiothérapie (WBRT vs autres), le nombre de métastases cérébrales (1 vs >1) et le statut S100A9 (en continu), 2 facteurs étaient pronostiques de la survie globale : le traitement WBRT+boost ou SRT était en faveur de la survie globale avec un HR à 0.46 [0.22 ; 0.93], $p=0.031$ et l'augmentation du S100A9 (par pas de 10) qui était en défaveur de la survie globale avec un HR à 1.19 [1.01 ; 1.40], $p=0.032$.

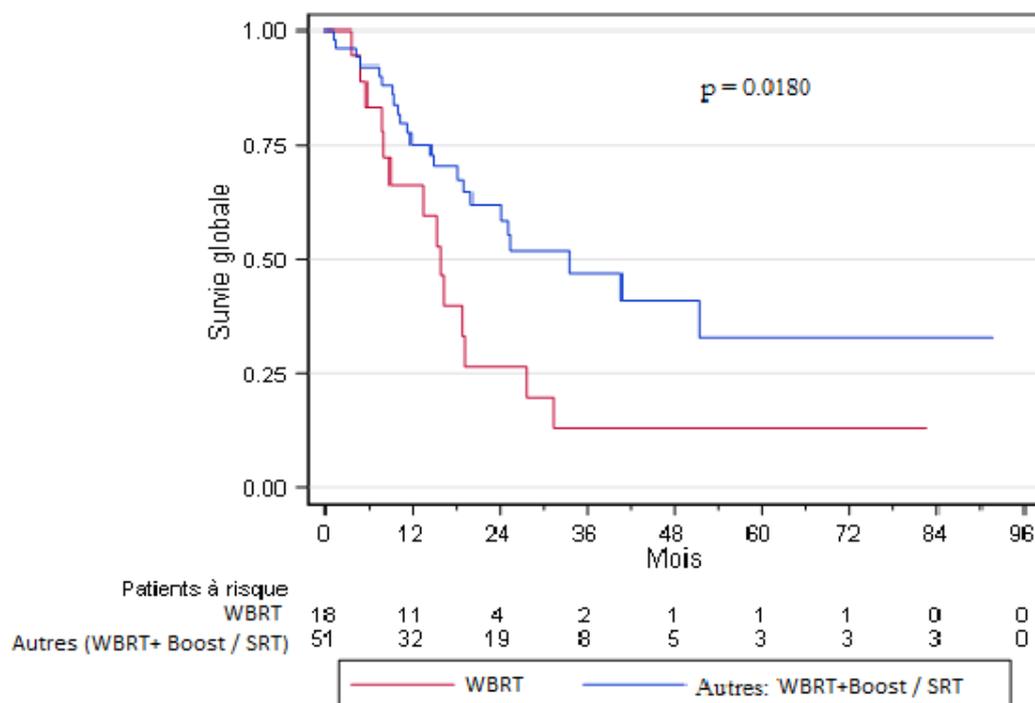


Figure 11 : Survie globale en fonction du type de traitement de radiothérapie

DISCUSSION

Cette étude originale est la première à étudier l'impact de l'expression de la protéine S100A9 sur la réponse à la radiothérapie des métastases cérébrales.

Malgré le faible nombre de patients, nos résultats soutiennent l'hypothèse initiale issue du laboratoire du Dr Valiente, que les tumeurs exprimant S100A9 sont moins sensibles à la radiothérapie et présentent un temps à progression plus rapide que les tumeurs n'exprimant pas S100A9.

Dans notre étude, nous montrons que l'expression indifférenciée de S100A9 par les cellules du stroma ou les cellules cancéreuses est corrélée à la radiorésistance, allant dans le sens des théories de plus en plus démontrées de l'intrication forte des cellules tumorales et de son microenvironnement. La manière dont les cellules communiquent entre elle après l'activation de S100A9 n'est pas connue, plusieurs hypothèses peuvent être proposées, notamment l'échange d'exosomes ou par communication intercellulaire directe par les nanotubes tunnélisés (Sun et al. 2012). En effet, ces extensions de la membrane cellulaire créent des ponts intercellulaires et permettent l'échange d'informations. Bien que leur fonctionnement ne soit pas encore entièrement connu, les nanotubes tunnélisés ont été décrits dans certains cancers, cellules immunes, astrocytes, avec une activation médiée par S100A4 et RAGE mise en évidence dans ces derniers.

Nos résultats mettent en évidence un effet péjoratif de S100A9 sur la population de métastases traitées par WBRT qui n'était pas retrouvé dans le cas des métastases traitées par SRT ou boost en complément du WBRT. Ces résultats, bien qu'ils soient montrés sur une faible population, reflètent les connaissances empiriques et radiobiologiques des différences entre les techniques. En effet, la radiothérapie en condition stéréotaxique délivre, par définition, une plus forte dose que le WBRT et permet un meilleur contrôle local, c'est d'ailleurs la raison de son utilisation en routine, levant les différences de radiosensibilités tumorales décrites selon le modèle linéaire quadratique. L'effet radiobiologique de la SRT est différent de la radiothérapie classique et ne s'explique pas uniquement par l'augmentation de la dose équivalente biologique (BED : biological equivalent dose). Mathématiquement, au-delà de 8 Gy par fraction, le modèle linéaire quadratique utilisé pour modéliser les courbes de survie cellulaire après irradiation ne sont plus valables. Biologiquement, on ne peut pas appliquer le modèle des 5R, le profil de mort cellulaire est différent, avec davantage de dommages vasculaires, d'apoptose des cellules endothéliales, un arrêt du métabolisme, une déplétion en cellules souches, une absence de repopulation du fait de l'étalement très court, un arrêt du cycle cellulaire (pas de redistribution dans le cycle) avec une redirection des cellules vers l'apoptose et la nécrose (et non vers la mort mitotique)

(Antoni et al. 2014). Les voies de radiorésistance activées par radiothérapie ne sont probablement pas les mêmes selon le niveau de dose par fraction. L'expression de S100A9 et l'activation des voies d'aval notamment de NF- κ B n'est probablement pas la voie de survie mise en jeu après radiothérapie stéréotaxique.

De manière intéressante, avoir dans notre étude 2 cohortes de traitements différents nous permet de renforcer notre hypothèse. Les études initiales à l'origine de ce sujet étaient réalisées *in vivo* avec un traitement par WBRT. Obtenir une négativité des résultats dans la population de métastases traitées par SRT et donc, justement, qui ne sont pas sensées réagir de la même manière à la radiothérapie renforce la validation de l'hypothèse de la voie de signalisation étudiée au laboratoire pour un fractionnement classique.

D'autres facteurs autres que le type de technique de radiothérapie pourraient être impliqués dans la réponse tumorale, notamment la présence d'un traitement concomitant. De nombreuses études rétrospectives ont étudié la concomitance de l'immunothérapie à la radiothérapie intracérébrale, notamment dans les mélanomes, montrant une survie sans progression plus allongée par rapport à la littérature mais avec parfois des taux de radionécrose important (15% dans la série de Minniti en 2019 mais 3% dans l'étude de Linda CHEN) (Aboudaram et al. 2017; Minniti et al. 2019; L. Chen et al. 2018; Ahmed et al. 2016). Cependant, à notre connaissance, cet effet positif n'est pas montré de manière aussi reproductible dans les MC d'origine bronchopulmonaire (Singh et al. 2019; L. Chen et al. 2018) Dans notre étude, aucune radionécrose n'a été développée par les patients qui avait un traitement concomitant à la radiothérapie. Le nombre de patient est trop faible pour pouvoir déduire un effet de l'immunothérapie en fonction du type de radiothérapie ou du statut S100A9.

L'échec du traitement local s'exprime par la progression d'une lésion mais aussi par l'apparition d'une nouvelle lésion. Nous avons voulu voir si l'apparition d'une nouvelle MC en territoire irradié était corrélée à l'expression de S100A9 en excluant les patients dont le parenchyme cérébral sain n'avait pas été irradié (les patients n'ayant reçu que de la SRT). Sur les 33 patients ayant reçu un WBRT (+/-boost), nous n'avons pas pu mettre en évidence de corrélation significative entre l'apparition de nouvelle MC et le statut S100A9. Ce résultat peut être dû à un manque de puissance de l'étude puisque peu de patients exprimaient S100A9 et que le nombre d'évènements était très faible dans ce groupe. En dehors de la cause statistique, nous pouvons supposer 2 autres situations : les micro-métastases présentes au moment de l'irradiation expriment S100A9 mais ce dernier n'est pas un facteur pronostique pour les micro-masses tumorales contrairement aux macro-métastases, ou bien l'hypothèse que toutes les métastases cérébrales se développant au même moment présentent la même expression de S100A9 est fausse.

Nous avons également posé cette hypothèse pour les macrométastases, supposant que toutes les métastases présentes au moment du traitement exprimaient S100A9 de manière homogène. En effet, tous les patients de l'étude sauf un ont été inclus au moment de la métastase cérébrale initiale (sous réserve de l'absence d'examen d'imagerie ancien avec potentiellement des MC préexistantes asymptomatiques).

Il avait été démontré sur des importantes séries de patients que les métastases cérébrales ont subi une évolution génomique et phénotypique différente de la tumeur primitive, leur permettant d'acquérir les capacités d'invasion nécessaire (Neagu et al. 2015; Shih et al. 2020). Récemment, Brastianos et al ont publié une étude portant sur 86 patients comparant les génomes des primitifs et des métastases cérébrales (38 primitifs bronchopulmonaires), et pour 15 patients, le séquençage a été réalisé sur plusieurs métastases cérébrales. L'hétérogénéité entre primitif et MC était retrouvée mais en revanche, les différentes MC et les échantillonnages intra-MC ont montré une grande homogénéité des mutations génétiques notamment oncogènes suggérant que les lésions dérivait probablement des mêmes clones (Brastianos et al. 2015).

Ces résultats nous confortent dans l'hypothèse que l'expression de S100A9 est probablement la même pour les MC d'apparition concomitante.

De manière pragmatique, cette hypothèse nous permettait d'inclure toutes les MC car, même en tenant compte du peu de patients, notre taux de positivité de la protéine S100A9 est bas, compliquant l'analyse des données. La quasi-majorité des études portant sur S100A9 est faite par western-blot ou PCR et très peu en immunohistochimie (Hermani et al. 2006). Dans le carcinome canalaire infiltrant du sein, Arai et al ont réalisé le marquage immunohistochimique et la dilution sur un autre clone et avaient une expression à la fois cytoplasmique et nucléaire contrairement à nos échantillons (Arai et al. 2008). Le seuil de positivité n'était pas précisé. Kawai et al ont étudié l'impact pronostique de S100A9 dans les cancers bronchiques à petites cellules en utilisant aussi l'immunohistochimie (Kawai, Minamiya, and Takahashi 2011). Une expression forte était définie par une intensité de 3 (sur 3) et une proportion de cellules marquée à 3 entre 1/3 et 2/3 (l'étude a confirmé le caractère péjoratif pronostique de S100A9). Les auteurs avaient eux aussi une discordance avec les résultats de l'équipe d'Arai et évoquaient une différence de l'interprétation du seuil de positivité. Notre étude apporte une 3eme méthode avec un autre seuil. Comme l'étude immunohistochimique de S100A9 n'est pas encore développée, les méthodes de marquage et la définition des seuils de positivité ne sont pas standardisées, variant d'un auteur à l'autre et diminuant la reproductibilité. Nous avons décrit précisément la méthode d'interprétation de l'expression de S100A9 afin que, si l'intérêt pour ce marqueur venait à se confirmer, les seuils de positivité puissent être réévalués.

Ce problème d'intensité et de diffusion du marquage s'est posé dans l'autre sens avec la protéine NF- κ B qui n'a pas été discriminant dans notre étude. Alors que l'implication de S100A9 dans la résistance aux traitements reste peu étudiée et n'est pas utilisée en routine, NF- κ B est plus connu des pathologistes et oncologues. En effet, il est exprimé dans de nombreuses tumeurs, en particulier cérébrales. Sa surexpression (par le biais de sa sous unité Rel-A) est un facteur pronostique défavorable majeur dans l'épendymome et a été ajouté à la nouvelle classification moléculaire en 2015 (Pajtler et al. 2015), amenant les pathologistes à rechercher l'expression de Rel-A en routine dans les épendymomes sustentoriels. Nous avons été confrontés dans notre étude à un marquage inhabituel de NF- κ B, nucléaire (correspondant à la fraction active) et exprimé de manière diffuse et hétérogène par l'ensemble des cellules tumorales, ne ressemblant pas au marquage habituellement réalisé dans notre laboratoire. Il est possible que l'absence de résultat, quel que soit le seuil de positivité choisi (données non montrées), soit liée à la mise au point de la technique d'immunohistochimie, le type de sous unité ou de dimère choisi. Ici, c'est le facteur RelA (p65) qui a été marqué. Cependant, l'absence de résultat positif peut aussi s'expliquer par le moment de l'analyse. En effet, NF- κ B est un facteur transcriptionnel, en bout de chaîne de signalisation, dont le taux et l'activité sont augmentés par les radiations ionisantes. Or, le prélèvement a été réalisé avant radiothérapie, suggérant que le taux de NF- κ B préthérapeutique n'est pas un marqueur de son activité contrôlant la radiorésistance. L'hypothèse la plus probable reste que la présence de NF- κ B en préthérapeutique est liée à son rôle majeur dans les nombreux mécanismes tumorigènes, médié par plusieurs voies de signalisation, et que l'une d'elle, S100A9, est stimulée après radiothérapie, activant davantage NF- κ B en aval.

Une des complexités des voies de signalisation réside dans l'hétérogénéité de leur activation et de leur spécificité en fonction des primitifs mais aussi de la localisation particulière des métastases dans l'encéphale.

L'étude de la radiorésistance tumorale spécifiquement dans le compartiment cérébral a été menée sur quelques voies de signalisation, notamment la Caveolin 1, la Caspin et TopBP1¹⁹, la Cox2²⁰, c-MET et les mutations activatrices connues des CBNPC : du gène de l'EGFR, de KRAS, de la translocation ALK.

L'analyse du profil d'expression génomique des métastases cérébrales de cancer bronchopulmonaire avec ou sans irradiation a permis à l'équipe de Seung Ho Choi de mettre en évidence que l'augmentation d'expression de la topoisomérase II bêta protéin I (TopBP1) et de la Caspin étaient significativement corrélées à la survie cellulaire des cellules après irradiation versus la population de cellules non irradiées

¹⁹ TopBP1topoisomérase II bêta protéin I

²⁰ Cox2 : cyclooxygénase 2

(Choi et al. 2014). L'inactivation de TopBP1 ou de la Claspin a montré une augmentation de la sensibilité à l'irradiation.

Autre exemple parmi les facteurs pronostiques et prédictifs de radiorésistance, la Caveolin1 (Cav1) a été associée à la radiorésistance des tumeurs pancréatiques et coliques, mais aussi des métastases cérébrales, tous types histologiques confondus. (Duregon et al. 2015). Il ressort de l'étude de Duregon que l'expression de Cav1 dans les métastases cérébrales de CBNPC était corrélée à un mauvais pronostic et que sa présence était prédictive de la radiorésistance (Duregon et al. 2015)

La complexité de mettre en évidence des facteurs prédictifs de réponse à la radiothérapie est notamment liée au fait que l'expression de certaines protéines ne soit pas la même entre le primitif et la MC. C'est le cas de la Cyclooxygénase-2 (Cox2) dont l'expression avait été corrélée à la radiorésistance. En partant de ce constat, une étude sur les MC de différents primitifs dit « radiorésistants » (Karim et al., n.d.) n'a pas pu montrer de corrélation entre l'expression de la Cox2 et la radiorésistance dans les métastases cérébrales de poumon et mélanome. Cependant l'étude a été faite sur 16 patients et seulement cinq d'entre eux avaient un primitif bronchopulmonaire.

Les quelques voies de signalisation prises en exemple ci-dessus ne sont pas très connues et ne sont pas recherchées en pratique clinique, contrairement aux altérations moléculaires principales des CBNPC qui sont les mutations EGFR, KRAS et la translocation ALK, altérations génétiques oncogènes et cibles thérapeutiques (sauf KRAS) des adénocarcinomes bronchiques.

Bien que l'ajout des thérapeutiques ciblées sur les altérations suscitées biaise l'interprétation de la réponse intracérébrale à la radiothérapie, les mutations EGFR, KRAS et la translocation ALK sont incontournables dans la prise en charge thérapeutique et l'évaluation pronostique des MC. Leur implication dans la réponse à la radiothérapie a été peu étudiée, notamment à cause des traitements ciblés.

Dans une série de patients mexicains très récente (avril 2020), la réponse au WBRT a été étudiée avant tout traitement par TKI en fonction des différentes mutations drivers (Arrieta et al. 2020). Le taux de réponse intracrânienne était significativement supérieur en cas de mutation EGFR (65%) et de translocation ALK (55%) par rapport aux patients KRAS mutés (20%) ou Wild Type (35%). On note que le contrôle intracrânien et le statut mutationnel étaient indépendamment associés à une meilleure survie globale dans cette étude (Arrieta et al. 2020) .

Au-delà de l'exploration d'une nouvelle voie de signalisation, la question principale de cette étude, et plus généralement la question de la radiorésistance des métastases cérébrales, reste l'intérêt *in fine* d'étudier des mécanismes de résistance qui n'existent plus à la dose ablative de la radiothérapie en condition stéréotaxique. En effet, la tendance actuelle est à l'abandon du WBRT et à la préférence de la SRT sur un nombre de plus en plus croissant de lésions, avec le recours parfois du gammaknife ou à d'autres techniques de stéréotaxie sur plusieurs localisations telles que la technique d'Hyperarc (Ruggieri et al. 2018) pouvant traiter un grand nombre de petites lésions sans recourir au WBRT qui n'a pas montré un avantage en survie globale et dégrade les fonctions cognitives (Mulvenna et al. 2016).

Cependant, à l'heure actuelle de nombreux patients sont encore traités par irradiation panencéphalique. Les capacités en pratique à traiter un grand nombre de lésions en stéréotaxie ne sont pas celles des études cliniques, où les lésions sont de petites tailles et probablement bien placées pour la dosimétrie.

De plus, avec les possibilités techniques de protections hippocampiques permettant de mieux préserver la neurocognition, les patients porteurs de plusieurs localisations cérébrales ne relevant pas d'indication de SRT, mais avec une espérance de vie de plus de 3 mois, peuvent tirer un bénéfice du WBRT avec des effets indésirables moindres.

Outre le traitement des MC macroscopiques en place, le WBRT est également toujours utilisé à visée prophylactique dans les cancers bronchopulmonaires à petites cellules en cas de maladie localisée avec une bonne réponse au traitement (Früh et al. 2013; Souquet 2020). Dans cette indication, l'intérêt de mieux cibler les micrométastases pourrait apporter un bénéfice. L'étude actuelle comportait 3 patients avec un CPC pour lesquels le marquage de S100A9 était négatif mais le marquage de NF- κ B positif. A notre connaissance, l'expression de S100A9 n'a pas été étudiée dans cette population. Une étude plus large sur la biologie des MC de CPC serait intéressante à réaliser dans ce contexte.

Pour le moment, à notre connaissance aucune étude préclinique en dehors du travail préliminaire de ce projet n'a testé *in vivo* l'efficacité d'un inhibiteur de S100A9 dans les métastases et primitifs cérébraux. Quelques études de phase préclinique ou de phase I existent évaluant l'apport du Tasquinimode, inhibiteur de S100A9, dans les pathologies inflammatoires (Björk et al. 2009) mais aussi dans le traitement du cancer de prostate (en association avec le cabazitaxel)(Armstrong et al. 2017).

L'étude préliminaire conduite par le Dr Valiente et le Dr Monteiro sur une population de souris a permis de montrer que l'inhibition de S100A9 *in vivo* entraînait une meilleure réponse des métastases cérébrales à la radiothérapie (WBRT, 30Gy 10x3 Gy) (Monteiro 2020) .

Ces résultats ainsi que ceux de notre étude confortant les données de laboratoire suggèrent que l'inhibition de la S100A9 chez les patients porteurs de métastases cérébrales pulmonaires exprimant cette protéine et relevant d'une irradiation par WBRT serait d'un intérêt clinique potentiel.

A contrario, si les résultats se confirmaient sur une plus large série, la présence de S100A9 pourrait être un critère de décision de ne pas traiter ces patients en WBRT considérant que le bénéfice théorique est insuffisant.

Même si notre étude portant sur un nombre limité de patients n'a pas mis en évidence de différence de survie sans progression chez les patients porteurs de MC traités par SRT, une étude sur une série plus large de patients serait d'un intérêt majeur pour confirmer nos résultats y compris chez les patients traités par SRT.

Nos résultats montrant d'autre part que l'expression de S100A9 est associée à une survie plus courte des patients porteurs de MC irradiées, l'inhibition de S100A9 associée à une irradiation par WBRT avec protection hippocampique pourrait potentiellement permettre d'augmenter la survie de ces patients tout en préservant la neurocognition.

Notre étude comporte plusieurs biais liés à la mise en place du protocole de recherche. En premier lieu, le nombre de patient est faible, d'autant plus lorsqu'on sépare les cohortes en fonction du type de traitement. L'étude de l'expression de S100A9 nécessite un échantillon tumoral et dès lors ne sélectionne que des patients ayant été opérés sur site avant irradiation. Alors que le traitement des MC est souvent réalisé sans chirurgie préalable, les patients ainsi sélectionnés ont reçu une chirurgie, impliquant un recrutement vers davantage de patients symptomatiques ou d'emblée métastatiques avec découverte synchrone du primitif et de la MC révélatrice de cancer bronchique, ce qui peut modifier la survie globale de la cohorte mais pas, *a priori*, le contrôle local. En revanche, nous avons exclu les patients qui n'ont pas pu recevoir de réévaluation cérébrale par imagerie, notamment ceux qui sont décédés rapidement avant traitement, excluant donc les patients de plus mauvais pronostic. S100A9 étant hypothétiquement un facteur de mauvais pronostic puisque de radiorésistance, nous avons potentiellement pu exclure des patients importants pour la qualification du marqueur. L'aspect rétrospectif pose les problèmes habituels de recueil des données, notamment dans la description des sites de récurrence et l'imputabilité des traitements dans les effets indésirables.

Cependant, cette sélection rigoureuse d'un petit nombre de patient nous permet d'avoir une cohorte « propre » de toute irradiation préalable et d'évaluer la voie de radiorésistance en fonction de la technique.

Outre les biais de sélection et le faible nombre de patients, nous avons été confrontés à des limites pragmatiques, notamment en raison du caractère rétrospectif. Contrairement aux études menées sur les souris, les patients ne sont pas réopérés après irradiation, ne permettant pas l'analyse de l'expression du marqueur aux deux temps. Deininger et al ont mené une étude sur la présence de S100A9 dans les macrophages et la microglie infiltrant les glioblastomes humains. Le taux de protéine n'était pas modifié entre la tumeur initiale et l'échantillon prélevé à la récurrence, mais S100A9 était augmenté dans les rechutes après irradiation par rapport aux rechutes sans irradiation, supportant la même hypothèse de facteur lié à la radiorésistance (Deininger et al., n.d.).

CONCLUSION

Les métastases cérébrales sont fréquentes dans les cancers bronchopulmonaires et restent un facteur de mauvais pronostic malgré l'amélioration de l'efficacité intracrânienne des traitements systémiques depuis l'émergence de l'immunothérapie et des thérapies ciblées. La place du traitement local par radiothérapie reste importante pour le contrôle intracérébral, mais certains patients présentent des maladies plus radiorésistantes qui récidivent malgré l'irradiation encéphalique.

L'étude des mécanismes de radiorésistance est complexe et nécessite la connaissance des voies de signalisations intracellulaires et des interactions entre la cellule cancéreuse et son micro-environnement.

Notre étude valide pour la première fois les données précliniques issues du laboratoire du Dr Valiente (CNIO) et montrent que l'expression de S100A9 dans les métastases cérébrales de cancer pulmonaire est associée à une moins bonne réponse à la radiothérapie par WBRT et à une survie courte.

Nos résultats qui pourraient être confirmés sur une plus grande étude, permettraient potentiellement des avancées thérapeutiques pour les patients porteurs de métastases cérébrales de cancer pulmonaires.

Vu permis à l'expertise
Le Doyen de la Faculté
de Médecine Toulouse - Purpan



Didier CARRIÉ



Accord

Professeur Julien MAZIERO
Praticien Hospitalier - Professeur des
SPM - Neurologie
Pole de Neurologie
CHU de Toulouse
29, rue
TSA 30050
Hôpital Larrey
Toulouse

BIBLIOGRAPHIE

- Aboudaram, Amélie, Anouchka Modesto, Léonor Chaltiel, Carlos Gomez-Roca, Serge Boulinguez, Vincent Sibaud, Jean-Pierre Delord, et al. 2017. “Concurrent Radiotherapy for Patients with Metastatic Melanoma and Receiving Anti-Programmed-Death 1 Therapy: A Safe and Effective Combination.” *Melanoma Research* 27 (5): 485–91. <https://doi.org/10.1097/CMR.0000000000000386>.
- Abrey, Lauren E, and Christos Christodoulou. 2001. “Temozolomide for Treating Brain Metastases.” *Seminars in Oncology*, Central Nervous System Malignancies: The Promise of Oral Chemotherapeutic Management, 28 (August): 34–42. [https://doi.org/10.1016/S0093-7754\(01\)90069-7](https://doi.org/10.1016/S0093-7754(01)90069-7).
- Achrol, Achal Singh, Robert C. Rennert, Carey Anders, Riccardo Soffiotti, Manmeet S. Ahluwalia, Lakshmi Nayak, Solange Peters, et al. 2019. “Brain Metastases.” *Nature Reviews Disease Primers* 5 (1): 1–26. <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0055-y>.
- Aebersold, D. M., P. Burri, K. T. Beer, J. Laissue, V. Djonov, R. H. Greiner, and G. L. Semenza. 2001. “Expression of Hypoxia-Inducible Factor-1alpha: A Novel Predictive and Prognostic Parameter in the Radiotherapy of Oropharyngeal Cancer.” *Cancer Research* 61 (7): 2911–16.
- Ahmed, K.A., Y.A. Abuodeh, M.I. Echevarria, J.A. Arrington, D.G. Stallworth, C. Hogue, A.O. Naghavi, et al. 2016. “Clinical Outcomes of Melanoma Brain Metastases Treated with Stereotactic Radiosurgery and Anti-PD-1 Therapy, Anti-CTLA-4 Therapy, BRAF/MEK Inhibitors, BRAF Inhibitor, or Conventional Chemotherapy.” *Annals of Oncology* 27 (12): 2288–94. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdw417>.
- Andarawewa, Kumari L., Anna C. Erickson, William S. Chou, Sylvain V. Costes, Philippe Gascard, Joni D. Mott, Mina J. Bissell, and Mary Helen Barcellos-Hoff. 2007. “Ionizing Radiation Predisposes Nonmalignant Human Mammary Epithelial Cells to Undergo Transforming Growth Factor Beta Induced Epithelial to Mesenchymal Transition.” *Cancer Research* 67 (18): 8662–70. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-1294>.
- Andrews, David W., Charles B. Scott, Paul W. Sperduto, Adam E. Flanders, Laurie E. Gaspar, Michael C. Schell, Maria Werner-Wasik, et al. 2004. “Whole Brain Radiation Therapy with or without Stereotactic Radiosurgery Boost for Patients with One to Three Brain Metastases: Phase III Results of the RTOG 9508 Randomised Trial.” *The Lancet* 363 (9422): 1665–72. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)16250-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)16250-8).
- Ansems, Marleen, and Paul N. Span. 2020. “The Tumor Microenvironment and Radiotherapy Response; a Central Role for Cancer-Associated Fibroblasts.” *Clinical and Translational Radiation Oncology* 22 (April): 90–97. <https://doi.org/10.1016/j.ctro.2020.04.001>.
- Antoni, D. N., H. Burckel, É. Josset, G. Noël, and F. Mornex. 2014. “Radiobiologie des doses ablatives en radiothérapie stéréotaxique : mise au point des données récentes.” *Cancer/Radiothérapie, Stéréotaxie extracrânienne*, 18 (4): 264–69. <https://doi.org/10.1016/j.canrad.2014.04.003>.
- Aoyama, Hidefumi, Hiroki Shirato, Masao Tago, Keiichi Nakagawa, Tatsuya Toyoda, Kazuo Hatano, Masahiro Kenjyo, et al. 2006. “Stereotactic Radiosurgery Plus Whole-Brain Radiation Therapy vs Stereotactic Radiosurgery Alone for Treatment of Brain Metastases: A Randomized Controlled Trial.” *JAMA* 295 (21): 2483. <https://doi.org/10.1001/jama.295.21.2483>.
- Arai, Kazumori, Sachiko Takano, Takumi Teratani, Yasuhiro Ito, and Toshihiro Yamada and Ryushi Nozawa. 2008. “S100A8 and S100A9 Overexpression Is Associated with Poor Pathological Parameters in Invasive Ductal Carcinoma of the Breast.” *Current Cancer Drug Targets*. May 31, 2008. <https://www.eurekaselect.com/67014/article>.

- Armstrong, Andrew J., Michael S. Humeniuk, Patrick Healy, Russell Szmulewitz, Carolyn Winters, Julie Kephart, Michael R. Harrison, et al. 2017. "Phase Ib Trial of Cabazitaxel and Tasquinimod in Men With Heavily Pretreated Metastatic Castration Resistant Prostate Cancer (MCRPC): The CATCH Trial." *The Prostate* 77 (4): 385–95. <https://doi.org/10.1002/pros.23277>.
- Arnold, Christoph Reinhold, Julian Mangesius, Ira-Ida Skvortsova, and Ute Ganswindt. 2020. "The Role of Cancer Stem Cells in Radiation Resistance." *Frontiers in Oncology* 10 (February). <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00164>.
- Arrieta, Oscar, Laura-Alejandra Ramírez-Tirado, Enrique Caballé-Perez, Alberto Mejía-Perez, Zyanya Lucia Zatarain-Barrón, Andrés F. Cardona, Francisco Lozano-Ruiz, et al. 2020. "Response Rate of Patients with Baseline Brain Metastases from Recently Diagnosed Non-small Cell Lung Cancer Receiving Radiotherapy According to *EGFR*, *ALK* and *KRAS* Mutation Status." *Thoracic Cancer* 11 (4): 1026–37. <https://doi.org/10.1111/1759-7714.13359>.
- Baliga, Sujith, Madhur K Garg, Jana Fox, Shalom Kalnicki, Patrick A Lasala, Mary R Welch, Wolfgang A Tomé, and Nitin Ohri. 2017. "Fractionated Stereotactic Radiation Therapy for Brain Metastases: A Systematic Review with Tumour Control Probability Modelling." *The British Journal of Radiology* 90 (1070): 20160666. <https://doi.org/10.1259/bjr.20160666>.
- Bao, Shideng, Qiulian Wu, Roger E. McLendon, Yueling Hao, Qing Shi, Anita B. Hjelmeland, Mark W. Dewhirst, Darell D. Bigner, and Jeremy N. Rich. 2006. "Glioma Stem Cells Promote Radioresistance by Preferential Activation of the DNA Damage Response." *Nature* 444 (7120): 756–60. <https://doi.org/10.1038/nature05236>.
- Barlesi, F., R. Gervais, H. Lena, J. Hureaux, H. Berard, D. Paillet, S. Bota, I. Monnet, A. Chajara, and G. Robinet. 2011. "Pemetrexed and Cisplatin as First-Line Chemotherapy for Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer (NSCLC) with Asymptomatic Inoperable Brain Metastases: A Multicenter Phase II Trial (GFPC 07-01)." *Annals of Oncology* 22 (11): 2466–70. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdr003>.
- Barnholtz-Sloan, Jill S., Andrew E. Sloan, Faith G. Davis, Fawn D. Vigneau, Ping Lai, and Raymond E. Sawaya. 2004. "Incidence Proportions of Brain Metastases in Patients Diagnosed (1973 to 2001) in the Metropolitan Detroit Cancer Surveillance System." *Journal of Clinical Oncology* 22 (14): 2865–72. <https://doi.org/10.1200/JCO.2004.12.149>.
- Besse, Benjamin, Sylvestre Le Moulec, Julien Mazières, Hélène Senellart, Fabrice Barlesi, Christos Chouaid, Eric Dansin, et al. 2015. "Bevacizumab in Patients with Nonsquamous Non-Small Cell Lung Cancer and Asymptomatic, Untreated Brain Metastases (BRAIN): A Nonrandomized, Phase II Study." *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 21 (8): 1896–1903. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-2082>.
- Bhatt, Anant Narayan, Ankit Chauhan, Suchit Khanna, Yogesh Rai, Saurabh Singh, Ravi Soni, Namita Kalra, and Bilikere S Dwarakanath. 2015. "Transient Elevation of Glycolysis Confers Radio-Resistance by Facilitating DNA Repair in Cells." *BMC Cancer* 15 (May). <https://doi.org/10.1186/s12885-015-1368-9>.
- Björk, Per, Anders Björk, Thomas Vogl, Martin Stenström, David Liberg, Anders Olsson, Johannes Roth, Fredrik Ivars, and Tomas Leanderson. 2009. "Identification of Human S100A9 as a Novel Target for Treatment of Autoimmune Disease via Binding to Quinoline-3-Carboxamides." *PLoS Biology* 7 (4): e97. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000097>.
- Borghaei, Hossein, Luis Paz-Ares, Leora Horn, David R. Spigel, Martin Steins, Neal E. Ready, Laura Q. Chow, et al. 2015. "Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer." *The New England Journal of Medicine* 373 (17): 1627–39. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1507643>.

- Brahmer, Julie, Karen L. Reckamp, Paul Baas, Lucio Crinò, Wilfried E. E. Eberhardt, Elena Poddubskaya, Scott Antonia, et al. 2015. "Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non-Small-Cell Lung Cancer." *The New England Journal of Medicine* 373 (2): 123–35. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1504627>.
- Brastianos, Priscilla K., Scott L. Carter, Sandro Santagata, Daniel P. Cahill, Amaro Taylor-Weiner, Robert T. Jones, Eliezer M. Van Allen, et al. 2015. "Genomic Characterization of Brain Metastases Reveals Branched Evolution and Potential Therapeutic Targets." *Cancer Discovery* 5 (11): 1164–77. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-15-0369>.
- Brown, Paul D., Karla V Ballman, Jane H Cerhan, S Keith Anderson, Xiomara W Carrero, Anthony C Whitton, Jeffrey Greenspoon, et al. 2017. "Postoperative Stereotactic Radiosurgery Compared with Whole Brain Radiotherapy for Resected Metastatic Brain Disease (NCCTG N107C/CEC-3): A Multicentre, Randomised, Controlled, Phase 3 Trial." *The Lancet Oncology* 18 (8): 1049–60. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30441-2](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30441-2).
- Brown, Paul D., Vinai Gondi, Stephanie Pugh, Wolfgang A. Tome, Jeffrey S. Wefel, Terri S. Armstrong, Joseph A. Bovi, et al. 2020. "Hippocampal Avoidance During Whole-Brain Radiotherapy Plus Memantine for Patients With Brain Metastases: Phase III Trial NRG Oncology CC001." *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 38 (10): 1019–29. <https://doi.org/10.1200/JCO.19.02767>.
- Brown, Paul D., Kurt Jaeckle, Karla V. Ballman, Elana Farace, Jane H. Cerhan, S. Keith Anderson, Xiomara W. Carrero, et al. 2016. "Effect of Radiosurgery Alone vs Radiosurgery With Whole Brain Radiation Therapy on Cognitive Function in Patients With 1 to 3 Brain Metastases: A Randomized Clinical Trial." *JAMA* 316 (4): 401. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.9839>.
- Cagney, Daniel N, Allison M Martin, Paul J Catalano, Amanda J Redig, Nancy U Lin, Eudocia Q Lee, Patrick Y Wen, et al. 2017. "Incidence and Prognosis of Patients with Brain Metastases at Diagnosis of Systemic Malignancy: A Population-Based Study." *Neuro-Oncology* 19 (11): 1511–21. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nox077>.
- Chen, Hong-Tao, Hao Liu, Min-Jie Mao, Yuan Tan, Xiang-Qiong Mo, Xiao-Jun Meng, Meng-Ting Cao, et al. 2019. "Crosstalk between Autophagy and Epithelial-Mesenchymal Transition and Its Application in Cancer Therapy." *Molecular Cancer* 18 (1): 101. <https://doi.org/10.1186/s12943-019-1030-2>.
- Chen, Linda, Jacqueline Douglass, Lawrence Kleinberg, Xiaobu Ye, Ariel E. Marciscano, Patrick M. Forde, Julie Brahmer, et al. 2018. "Concurrent Immune Checkpoint Inhibitors and Stereotactic Radiosurgery for Brain Metastases in Non-Small Cell Lung Cancer, Melanoma, and Renal Cell Carcinoma." *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics* 100 (4): 916–25. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2017.11.041>.
- Choi, Seung, Heekyoung Yang, Seung Lee, Joo-Hyun Ki, Do-Hyun Nam, and Hae Yoo. 2014. "TopBP1 and Claspin Contribute to the Radioresistance of Lung Cancer Brain Metastases." *Molecular Cancer* 13 (1): 211. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-13-211>.
- Cohen–Jonathan, Elizabeth, Eric J Bernhard, and W Gillies McKenna. 1999. "How Does Radiation Kill Cells?" *Current Opinion in Chemical Biology* 3 (1): 77–83. [https://doi.org/10.1016/S1367-5931\(99\)80014-3](https://doi.org/10.1016/S1367-5931(99)80014-3).
- Cortot, A. B., L. Gerinière, G. Robinet, J.-L. Breton, R. Corre, L. Falchero, H. Berard, et al. 2006. "Phase II Trial of Temozolomide and Cisplatin Followed by Whole Brain Radiotherapy in Non-Small-Cell Lung Cancer Patients with Brain Metastases: A GLOT-GFPC Study." *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology* 17 (9): 1412–17. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdl146>.

- Couraud, Pr Sébastien. 2020. “Référentiels Auvergne Rhône-Alpes en oncologie thoracique,” 73.
- Crinò, Lucio, Giuseppe Bronte, Paolo Bidoli, Paola Cravero, Elisa Minenza, Enrico Cortesi, Marina C. Garassino, et al. 2019. “Nivolumab and Brain Metastases in Patients with Advanced Non-Squamous Non-Small Cell Lung Cancer.” *Lung Cancer* 129 (March): 35–40. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2018.12.025>.
- Cruz-Gregorio, Alfredo, Imelda Martínez-Ramírez, José Pedraza-Chaverri, and Marcela Lizano. 2019. “Reprogramming of Energy Metabolism in Response to Radiotherapy in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma.” *Cancers* 11 (2): 182. <https://doi.org/10.3390/cancers11020182>.
- Dahan, P, J Martinez Gala, C Delmas, S Monferran, L Malric, D Zentkowski, V Lubrano, C Toulas, E Cohen-Jonathan Moyal, and A Lemarie. 2014. “Ionizing Radiations Sustain Glioblastoma Cell Dedifferentiation to a Stem-like Phenotype through Survivin: Possible Involvement in Radioresistance.” *Cell Death & Disease* 5 (11): e1543. <https://doi.org/10.1038/cddis.2014.509>.
- Deininger, Martin H, Sabine Pater, Herwig Strik, and Richard Meyermann. n.d. “Macrophage/Microglial Cell Subpopulations in Glioblastoma Multiforme Relapses Are Differentially Altered by Radiochemotherapy,” 7.
- Deshors, Pauline, Christine Toulas, Florent Arnauduc, Laure Malric, Aurore Siegfried, Yvan Nicaise, Anthony Lemarié, et al. 2019. “Ionizing Radiation Induces Endothelial Transdifferentiation of Glioblastoma Stem-like Cells through the Tie2 Signaling Pathway.” *Cell Death & Disease* 10 (11). <https://doi.org/10.1038/s41419-019-2055-6>.
- Deviers, Alexandra, Soléakhéna Ken, Thomas Filleron, Benjamin Rowland, Andrea Laruelo, Isabelle Catalaa, Vincent Lubrano, et al. 2014. “Evaluation of the Lactate-to-N-Acetyl-Aspartate Ratio Defined with Magnetic Resonance Spectroscopic Imaging before Radiation Therapy as a New Predictive Marker of the Site of Relapse in Patients with Glioblastoma Multiforme.” *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics* 90 (2): 385–93. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2014.06.009>.
- Deville, Sara Sofia, and Nils Cordes. 2019. “The Extracellular, Cellular, and Nuclear Stiffness, a Trinity in the Cancer Resistome—A Review.” *Frontiers in Oncology* 9. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.01376>.
- Diehn, Maximilian, Robert W. Cho, Neethan A. Lobo, Tomer Kalisky, Mary Jo Dorie, Angela N. Kulp, Dalong Qian, et al. 2009. “Association of Reactive Oxygen Species Levels and Radioresistance in Cancer Stem Cells.” *Nature* 458 (7239): 780–83. <https://doi.org/10.1038/nature07733>.
- Dolcet, Xavier, David Llobet, Judit Pallares, and Xavier Matias-Guiu. 2005. “NF-KB in Development and Progression of Human Cancer.” *Virchows Archiv* 446 (5): 475–82. <https://doi.org/10.1007/s00428-005-1264-9>.
- Duregon, Eleonora, Rebecca Senetta, Alessandra Pittaro, Ludovica Verdun di Cantogno, Giulia Stella, Pierpaolo De Blasi, Michele Zorzetto, Cristina Mantovani, Mauro Papotti, and Paola Cassoni. 2015. “CAVEOLIN-1 Expression in Brain Metastasis from Lung Cancer Predicts Worse Outcome and Radioresistance, Irrespective of Tumor Histotype.” *Oncotarget* 6 (30). <https://doi.org/10.18632/oncotarget.4988>.
- Edgeworth, J., M. Gorman, R. Bennett, P. Freemont, and N. Hogg. 1991. “Identification of P8,14 as a Highly Abundant Heterodimeric Calcium Binding Protein Complex of Myeloid Cells.” *The Journal of Biological Chemistry* 266 (12): 7706–13.
- Erickson, Ariane E., Sheeny K. Lan Levengood, Jialu Sun, Fei-Chien Chang, and Miqin Zhang. 2018. “Fabrication and Characterization of Chitosan–Hyaluronic Acid Scaffolds with Varying Stiffness for Glioblastoma Cell Culture.” *Advanced Healthcare Materials* 7 (15): 1800295. <https://doi.org/10.1002/adhm.201800295>.

- Fiuza, Carmen, Michael Bustin, Shefali Talwar, Margaret Tropea, Eric Gerstenberger, James H. Shelhamer, and Anthony F. Suffredini. 2003. "Inflammation-Promoting Activity of HMGB1 on Human Microvascular Endothelial Cells." *Blood* 101 (7): 2652–60. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-05-1300>.
- Foray, N. 2012. "Claudius Regaud (1870–1940) : relecture des archives d'un pionnier de la radiobiologie et de la radiothérapie." *Cancer/Radiothérapie* 16 (4): 315–21. <https://doi.org/10.1016/j.canrad.2012.05.006>.
- Foray, Nicolas, Catherine Colin, and Michel Bourguignon. 2013. "Radiosensibilité: L'évidence d'un facteur individuel." *médecine/sciences* 29 (4): 397–403. <https://doi.org/10.1051/medsci/2013294013>.
- Fouani, Leyla, Zaklina Kovacevic, and Des R. Richardson. 2017. "Targeting Oncogenic Nuclear Factor Kappa B Signaling with Redox-Active Agents for Cancer Treatment." *Antioxidants & Redox Signaling* 30 (8): 1096–1123. <https://doi.org/10.1089/ars.2017.7387>.
- Frisch, Steven M, and Robert A Screaton. 2001. "Anoikis Mechanisms." *Current Opinion in Cell Biology* 13 (5): 555–62. [https://doi.org/10.1016/S0955-0674\(00\)00251-9](https://doi.org/10.1016/S0955-0674(00)00251-9).
- Früh, M., D. De Ruyscher, S. Popat, L. Crinò, S. Peters, and E. Felip. 2013. "Small-Cell Lung Cancer (SCLC): ESMO Clinical Practice Guidelines for Diagnosis, Treatment and Follow-Up." *Annals of Oncology* 24 (October): vi99–105. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdt178>.
- Gadgeel, Shirish, Delvys Rodríguez-Abreu, Giovanna Speranza, Emilio Esteban, Enriqueta Felip, Manuel Dómine, Rina Hui, et al. 2020. "Updated Analysis From KEYNOTE-189: Pembrolizumab or Placebo Plus Pemetrexed and Platinum for Previously Untreated Metastatic Nonsquamous Non–Small-Cell Lung Cancer." *Journal of Clinical Oncology* 38 (14): 1505–17. <https://doi.org/10.1200/JCO.19.03136>.
- Gandhi, Leena, Delvys Rodríguez-Abreu, Shirish Gadgeel, Emilio Esteban, Enriqueta Felip, Flávia De Angelis, Manuel Domine, et al. 2018. "Pembrolizumab plus Chemotherapy in Metastatic Non–Small-Cell Lung Cancer." *New England Journal of Medicine*, April. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1801005>.
- Gérard, Michael, Aurélien Corroyer-Dulmont, Paul Lesueur, Solène Collet, Michel Chérel, Mickael Bourgeois, Dinu Stefan, et al. 2019. "Hypoxia Imaging and Adaptive Radiotherapy: A State-of-the-Art Approach in the Management of Glioma." *Frontiers in Medicine* 6 (June): 117. <https://doi.org/10.3389/fmed.2019.00117>.
- Goldberg, Sarah B, Scott N Gettinger, Amit Mahajan, Anne C Chiang, Roy S Herbst, Mario Sznol, Apostolos John Tsiouris, et al. 2016. "Pembrolizumab for Patients with Melanoma or Non-Small-Cell Lung Cancer and Untreated Brain Metastases: Early Analysis of a Non-Randomised, Open-Label, Phase 2 Trial." *The Lancet Oncology* 17 (7): 976–83. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(16\)30053-5](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(16)30053-5).
- Goncalves, Priscila H., Stephanie L. Peterson, Fawn D. Vigneau, Ronald D. Shore, William O. Quarshie, Khairul Islam, Ann G. Schwartz, Antoinette J. Wozniak, and Shirish M. Gadgeel. 2016. "Risk of Brain Metastases in Patients with Nonmetastatic Lung Cancer: Analysis of the Metropolitan Detroit Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Data: Brain Metastases in Patients With Lung Cancer." *Cancer* 122 (12): 1921–27. <https://doi.org/10.1002/cncr.30000>.
- Gondi, Vinai, Bruce P. Hermann, Minesh P. Mehta, and Wolfgang A. Tomé. 2013. "Hippocampal Dosimetry Predicts Neurocognitive Function Impairment after Fractionated Stereotactic Radiotherapy for Benign or Low-Grade Adult Brain Tumors." *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics* 85 (2): 348–54. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2012.11.031>.
- Gondi, Vinai, Stephanie L. Pugh, Wolfgang A. Tome, Chip Caine, Ben Corn, Andrew Kanner, Howard Rowley, et al. 2014. "Preservation of Memory With Conformal Avoidance of the Hippocampal Neural Stem-Cell Compartment During Whole-Brain

- Radiotherapy for Brain Metastases (RTOG 0933): A Phase II Multi-Institutional Trial.” *Journal of Clinical Oncology* 32 (34): 3810–16.
<https://doi.org/10.1200/JCO.2014.57.2909>.
- Griesinger, Frank, Julia Roeper, Christoph Pöttgen, Kay C. Willborn, and Wilfried E.E. Eberhardt. 2018. “Brain Metastases in ALK-Positive NSCLC – Time to Adjust Current Treatment Algorithms.” *Oncotarget* 9 (80).
<https://doi.org/10.18632/oncotarget.26073>.
- Hendriks, L. E. L., E. F. Smit, B. a. H. Vosse, W. W. Mellema, D. a. M. Heideman, G. P. Bootsma, M. Westenend, et al. 2014. “EGFR Mutated Non-Small Cell Lung Cancer Patients: More Prone to Development of Bone and Brain Metastases?” *Lung Cancer (Amsterdam, Netherlands)* 84 (1): 86–91.
<https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2014.01.006>.
- Hermani, A, B Deservi, S Medunjanin, P Tessier, and D Mayer. 2006. “S100A8 and S100A9 Activate MAP Kinase and NF-KB Signaling Pathways and Trigger Translocation of RAGE in Human Prostate Cancer Cells.” *Experimental Cell Research* 312 (2): 184–97. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2005.10.013>.
- Hiratsuka, Sachie, Akira Watanabe, Hiroyuki Aburatani, and Yoshiro Maru. 2006. “Tumour-Mediated Upregulation of Chemoattractants and Recruitment of Myeloid Cells Predetermines Lung Metastasis.” *Nature Cell Biology* 8 (12): 1369–75.
<https://doi.org/10.1038/ncb1507>.
- Horn, Leora, David R. Spigel, Everett E. Vokes, Esther Holgado, Neal Ready, Martin Steins, Elena Poddubskaya, et al. 2017. “Nivolumab Versus Docetaxel in Previously Treated Patients With Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer: Two-Year Outcomes From Two Randomized, Open-Label, Phase III Trials (CheckMate 017 and CheckMate 057).” *Journal of Clinical Oncology* 35 (35): 3924–33.
<https://doi.org/10.1200/JCO.2017.74.3062>.
- Horsman, Michael R., and Jens Overgaard. 2016. “The Impact of Hypoxia and Its Modification of the Outcome of Radiotherapy.” *Journal of Radiation Research* 57 (Suppl 1): i90–98. <https://doi.org/10.1093/jrr/rrw007>.
- Hunter, J. E., E. Willmore, J. a. E. Irving, Z. Hostomsky, S. J. Veuger, and B. W. Durkacz. 2012. “NF-KB Mediates Radio-Sensitization by the PARP-1 Inhibitor, AG-014699.” *Oncogene* 31 (2): 251–64. <https://doi.org/10.1038/onc.2011.229>.
- Jain, Rakesh K. 2005. “Normalization of Tumor Vasculature: An Emerging Concept in Antiangiogenic Therapy.” *Science (New York, N.Y.)* 307 (5706): 58–62.
<https://doi.org/10.1126/science.1104819>.
- Kam, Winnie Wai-Ying, and Richard B. Banati. 2013. “Effects of Ionizing Radiation on Mitochondria.” *Free Radical Biology & Medicine* 65 (December): 607–19.
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.07.024>.
- Karim, Aftab, Marjorie Fowler, Lamar Jones, Ravish Patwardhan, Prasad Vannemreddy, Kevin Mccarthy, and Anil Nanda. n.d. “Cyclooxygenase-2 Expression in Brain Metastases,” 3.
- Kawai, Hideki, Yoshihiro Minamiya, and Naoko Takahashi. 2011. “Prognostic Impact of S100A9 Overexpression in Non-Small Cell Lung Cancer.” *Tumor Biology* 32 (4): 641–46. <https://doi.org/10.1007/s13277-011-0163-8>.
- Khalifa, Jonathan, Sabrina Boyrie, and Élisabeth Moyal. 2012. “Réparation des lésions de l’ADN radio-induites et radiosensibilité,” 7.
- KOWALSKI-CHAUVEL, Aline, Valerie GOUAZE-ANDERSSON, Laurent BARICAULT, Elodie MARTIN, Caroline DELMAS, Christine TOULAS, Elizabeth COHEN-JONATHAN-MOYAL, and Catherine SEVA. 2019. “Alpha6-Integrin Regulates FGFR1 Expression through the ZEB1/YAP1 Transcription Complex in Glioblastoma Stem Cells Resulting in Enhanced Proliferation and Stemness.” *Cancers* 11 (3).
<https://doi.org/10.3390/cancers11030406>.

- Kowalski-Chauvel, Aline, Anouchka Modesto, Valerie Gouaze-andersson, Laurent Baricault, Julia Gilhodes, Caroline Delmas, Anthony Lemarie, Christine Toulas, Elizabeth Cohen-Jonathan-Moyal, and Catherine Seva. 2018. "Alpha-6 Integrin Promotes Radioresistance of Glioblastoma by Modulating DNA Damage Response and the Transcription Factor Zeb1." *Cell Death & Disease* 9 (9). <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0853-x>.
- Kreso, Antonija, and John E. Dick. 2014. "Evolution of the Cancer Stem Cell Model." *Cell Stem Cell* 14 (3): 275–91. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2014.02.006>.
- Kurose, Keisuke, Kristie Gilley, Satoshi Matsumoto, Peter H. Watson, Xiao-Ping Zhou, and Charis Eng. 2002. "Frequent Somatic Mutations in PTEN and TP53 Are Mutually Exclusive in the Stroma of Breast Carcinomas." *Nature Genetics* 32 (3): 355–57. <https://doi.org/10.1038/ng1013>.
- Lanvin, Olivia, Sylvie Monferran, Caroline Delmas, Bettina Couderc, Christine Toulas, and Elizabeth Cohen-Jonathan-Moyal. 2013. "Radiation-Induced Mitotic Cell Death and Glioblastoma Radioresistance: A New Regulating Pathway Controlled by Integrin-Linked Kinase, Hypoxia-Inducible Factor 1 Alpha and Survivin in U87 Cells." *European Journal of Cancer (Oxford, England: 1990)* 49 (13): 2884–91. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2013.05.003>.
- Laprie, Anne, Isabelle Catalaa, Emmanuelle Cassol, Tracy R. McKnight, Delphine Berchery, Delphine Marre, Jean-Marc Bachaud, Isabelle Berry, and Elizabeth Cohen-Jonathan Moyal. 2008. "Proton Magnetic Resonance Spectroscopic Imaging in Newly Diagnosed Glioblastoma: Predictive Value for the Site of Postradiotherapy Relapse in a Prospective Longitudinal Study." *International Journal of Radiation Oncology • Biology • Physics* 70 (3): 773–81. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2007.10.039>.
- Laprie, Anne, Soléakhéna Ken, Thomas Filleron, Vincent Lubrano, Laure Vieilleigne, Fatima Tensaouti, Isabelle Catalaa, et al. 2019. "Dose-Painting Multicenter Phase III Trial in Newly Diagnosed Glioblastoma: The SPECTRO-GLIO Trial Comparing Arm A Standard Radiochemotherapy to Arm B Radiochemotherapy with Simultaneous Integrated Boost Guided by MR Spectroscopic Imaging." *BMC Cancer* 19 (1): 167. <https://doi.org/10.1186/s12885-019-5317-x>.
- Leblond, Marine M., Elodie A. Pérès, Charly Helaine, Aurélie N. Gérault, Damien Moulin, Clément Anfray, Didier Divoux, Edwige Petit, Myriam Bernaudin, and Samuel Valable. 2017. "M2 Macrophages Are More Resistant than M1 Macrophages Following Radiation Therapy in the Context of Glioblastoma." *Oncotarget* 8 (42): 72597–612. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.19994>.
- Lee, Jung Soo, Ji Hyung Hong, Der Sheng Sun, Hye Sung Won, Yeo Hyung Kim, Mi Sun Ahn, Seok Yun Kang, Hyun Woo Lee, and Yoon Ho Ko. 2019. "The Impact of Systemic Treatment on Brain Metastasis in Patients with Non-Small-Cell Lung Cancer: A Retrospective Nationwide Population-Based Cohort Study." *Scientific Reports* 9 (1): 18689. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55150-6>.
- Lee, Young Joo, Hye Jin Choi, Se Kyu Kim, Joon Chang, Jin Wook Moon, In Kyu Park, Joo-Hang Kim, and Byoung Chul Cho. 2010. "Frequent Central Nervous System Failure after Clinical Benefit with Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitors in Korean Patients with Nonsmall-Cell Lung Cancer." *Cancer* 116 (5): 1336–43. <https://doi.org/10.1002/cncr.24877>.
- Li, Chunsun, Hongyan Chen, Fang Ding, Yu Zhang, Aiping Luo, Mingrong Wang, and Zhihua Liu. 2009. "A Novel P53 Target Gene, S100A9, Induces P53-Dependent Cellular Apoptosis and Mediates the P53 Apoptosis Pathway." *Biochemical Journal* 422 (2): 363–72. <https://doi.org/10.1042/BJ20090465>.
- Li, Lina, Shuimei Luo, Heng Lin, Haitao Yang, Huijuan Chen, Ziyuan Liao, Wanzun Lin, Weili Zheng, and Xianhe Xie. 2017. "Correlation between EGFR Mutation Status and

- the Incidence of Brain Metastases in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer.” *Journal of Thoracic Disease* 9 (8): 2510–20. <https://doi.org/10.21037/jtd.2017.07.57>.
- Liberti, Maria V., and Jason W. Locasale. 2016. “The Warburg Effect: How Does It Benefit Cancer Cells?” *Trends in Biochemical Sciences* 41 (3): 211–18. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2015.12.001>.
- Lischalk, Jonathan W., Eric Oermann, Sean P. Collins, Mani N. Nair, Vikram V. Nayar, Richa Bhasin, Jean-Marc Voyadzis, Sonali Rudra, Keith Unger, and Brian T. Collins. 2015. “Five-Fraction Stereotactic Radiosurgery (SRS) for Single Inoperable High-Risk Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Brain Metastases.” *Radiation Oncology* 10 (1): 216. <https://doi.org/10.1186/s13014-015-0525-2>.
- Lockney, Natalie A., Diana G. Wang, Philip H. Gutin, Cameron Brennan, Viviane Tabar, Ase Ballangrud, Xin Pei, et al. 2017. “Clinical Outcomes of Patients with Limited Brain Metastases Treated with Hypofractionated (5 × 6 Gy) Conformal Radiotherapy.” *Radiotherapy and Oncology* 123 (2): 203–8. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2017.03.018>.
- Long, Georgina V, Jean-Jacques Grob, Paul Nathan, Antoni Ribas, Caroline Robert, Dirk Schadendorf, Stephen R Lane, et al. 2016. “Factors Predictive of Response, Disease Progression, and Overall Survival after Dabrafenib and Trametinib Combination Treatment: A Pooled Analysis of Individual Patient Data from Randomised Trials.” *The Lancet Oncology* 17 (12): 1743–54. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(16\)30578-2](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(16)30578-2).
- Ma, Wenhua, Na Li, Yonghui An, Changpeng Zhou, Changwen Bo, and Guangyu Zhang. 2016. “Effects of Temozolomide and Radiotherapy on Brain Metastatic Tumor: A Systematic Review and Meta-Analysis.” *World Neurosurgery* 92 (August): 197–205. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2016.04.011>.
- Mahajan, Anita, Salmaan Ahmed, Mary Frances McAleer, Jeffrey S Weinberg, Jing Li, Paul Brown, Stephen Settle, et al. 2017. “Post-Operative Stereotactic Radiosurgery versus Observation for Completely Resected Brain Metastases: A Single-Centre, Randomised, Controlled, Phase 3 Trial.” *The Lancet Oncology* 18 (8): 1040–48. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30414-X](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30414-X).
- Malric, Laure, Sylvie Monferran, Caroline Delmas, Florent Arnauduc, Perrine Dahan, Sabrina Boyrie, Pauline Deshors, et al. 2019. “Inhibiting Integrin B8 to Differentiate and Radiosensitize Glioblastoma-Initiating Cells.” *Molecular Cancer Research* 17 (2): 384–97. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-18-0386>.
- Markowitz, Joseph, and William E. Carson. 2013. “Review of S100A9 Biology and Its Role in Cancer.” *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer* 1835 (1): 100–109. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2012.10.003>.
- Milia, Julie. 2005. “Implication de RHOB Dans Les Mécanismes Cellulaires de Réponse Aux Rayonnements Ionisants.” Thèse pour doctorat de physiopathologie moléculaire et cellulaire, Toulouse: université Paul Sabatier. http://thesesups.univ-tlse.fr/837/1/Milia_Julie.pdf.
- Minniti, Giuseppe, Dimitri Anzellini, Chiara Reverberi, Gian Carlo Antonini Cappellini, Luca Marchetti, Federico Bianciardi, Alessandro Bozzao, Mattia Osti, Pier Carlo Gentile, and Vincenzo Esposito. 2019. “Stereotactic Radiosurgery Combined with Nivolumab or Ipilimumab for Patients with Melanoma Brain Metastases: Evaluation of Brain Control and Toxicity.” *Journal for Immunotherapy of Cancer* 7 (1): 102. <https://doi.org/10.1186/s40425-019-0588-y>.
- Minniti, Giuseppe, Enrico Clarke, Gaetano Lanzetta, Mattia Falchetto Osti, Guido Trasimeni, Alessandro Bozzao, Andrea Romano, and Riccardo Maurizi Enrici. 2011. “Stereotactic Radiosurgery for Brain Metastases: Analysis of Outcome and Risk of Brain Radionecrosis.” *Radiation Oncology* 6 (1): 48. <https://doi.org/10.1186/1748-717X-6-48>.

- Minniti, Giuseppe, Claudia Scaringi, Sergio Paolini, Gaetano Lanzetta, Andrea Romano, Francesco Cicone, Mattia Osti, Riccardo Maurizi Enrici, and Vincenzo Esposito. 2016. "Single-Fraction Versus Multifraction (3×9 Gy) Stereotactic Radiosurgery for Large (>2 Cm) Brain Metastases: A Comparative Analysis of Local Control and Risk of Radiation-Induced Brain Necrosis." *International Journal of Radiation Oncology*Biophysics* 95 (4): 1142–48. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2016.03.013>.
- Mok, Tony S. K., Yi-Long Wu, Iveta Kudaba, Dariusz M. Kowalski, Byoung Chul Cho, Hande Z. Turna, Gilberto Castro, et al. 2019. "Pembrolizumab versus Chemotherapy for Previously Untreated, PD-L1-Expressing, Locally Advanced or Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer (KEYNOTE-042): A Randomised, Open-Label, Controlled, Phase 3 Trial." *Lancet (London, England)* 393 (10183): 1819–30. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32409-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32409-7).
- Monteiro, Cátia. 2020. "Molecular Mechanisms Underlying Radiation Resistance in Brain Metastasis." Madrid: Universidad Autonoma de madrid.
- Mulvenna, Paula, Matthew Nankivell, Rachael Barton, Corinne Faivre-Finn, Paula Wilson, Elaine McColl, Barbara Moore, et al. 2016. "Dexamethasone and Supportive Care with or without Whole Brain Radiotherapy in Treating Patients with Non-Small Cell Lung Cancer with Brain Metastases Unsuitable for Resection or Stereotactic Radiotherapy (QUARTZ): Results from a Phase 3, Non-Inferiority, Randomised Trial." *The Lancet* 388 (10055): 2004–14. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30825-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30825-X).
- Najafi, Mostafa, Safar Ali Alizadeh, Mehdi Azad, Taghi NASERPOUR Farivar, Farzad Rajaei, Kourosh HOTAM Sorouri, Babak Rahmani, and Nematollah Gheibi. n.d. "Effect of Calprotectin Subunit S100A9 on the Expression and Methylation of OCLN in Human Melanoma Cell Line A-375." *Turk J Biol*, 8.
- Nayak, Lakshmi, Eudocia Quant Lee, and Patrick Y. Wen. 2012. "Epidemiology of Brain Metastases." *Current Oncology Reports* 14 (1): 48–54. <https://doi.org/10.1007/s11912-011-0203-y>.
- Neagu, Martha R, Corey M Gill, Tracy T Batchelor, and Priscilla K Brastianos. 2015. "Genomic Profiling of Brain Metastases: Current Knowledge and New Frontiers." *Chinese Clinical Oncology* 4 (2): 14.
- Németh, Julia, Ilan Stein, Daniel Haag, Astrid Riehl, Thomas Longerich, Elad Horwitz, Kai Breuhahn, et al. 2009. "S100A8 and S100A9 Are Novel Nuclear Factor Kappa B Target Genes during Malignant Progression of Murine and Human Liver Carcinogenesis." *Hepatology* 50 (4): 1251–62. <https://doi.org/10.1002/hep.23099>.
- Neuhaus, T., Y. Ko, R. P. Muller, G. G. Grabenbauer, J. P. Hedde, H. Schueller, M. Kocher, S. Stier, and R. Fietkau. 2009. "A Phase III Trial of Topotecan and Whole Brain Radiation Therapy for Patients with CNS-Metastases Due to Lung Cancer." *British Journal of Cancer* 100 (2): 291–97. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6604835>.
- Pajtler, Kristian W., Hendrik Witt, Martin Sill, David T.W. Jones, Volker Hovestadt, Fabian Kratochwil, Khalida Wani, et al. 2015. "Molecular Classification of Ependymal Tumors across All CNS Compartments, Histopathological Grades, and Age Groups." *Cancer Cell* 27 (5): 728–43. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2015.04.002>.
- Pardridge, William M. 2016. "CSF, Blood-Brain Barrier, and Brain Drug Delivery." *Expert Opinion on Drug Delivery* 13 (7): 963–75. <https://doi.org/10.1517/17425247.2016.1171315>.
- Patchell, Roy A., Phillip A. Tibbs, John W. Walsh, Robert J. Dempsey, Yosh Maruyama, Richard J. Kryscio, William R. Markesbery, John S. Macdonald, and Byron Young. 1990. "A Randomized Trial of Surgery in the Treatment of Single Metastases to the Brain." *New England Journal of Medicine* 322 (8): 494–500. <https://doi.org/10.1056/NEJM199002223220802>.

- Peters, Solange, D. Ross Camidge, Alice T. Shaw, Shirish Gadgil, Jin S. Ahn, Dong-Wan Kim, Sai-Hong I. Ou, et al. 2017. "Alectinib versus Crizotinib in Untreated ALK-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer." Research-article. [Http://Dx.Doi.Org/10.1056/NEJMoa1704795](http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1704795). Massachusetts Medical Society. World. June 6, 2017. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1704795>.
- Planchard, D., S. Popat, K. Kerr, S. Novello, E.F. Smit, C. Faivre-Finn, T.S. Mok, et al. 2018. "Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for Diagnosis, Treatment and Follow-Up." *Annals of Oncology* 29 (October): iv192–237. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdy275>.
- Pordanjani, Sajjad Molavi, and Seyed Jalal Hosseinimehr. 2016. "The Role of NF-KB Inhibitors in Cell Response to Radiation." *Current Medicinal Chemistry* 23 (34): 3951–63. <https://doi.org/10.2174/0929867323666160824162718>.
- Remon, J., and Benjamin Besse. 2018. "Brain Metastases in Oncogene-Addicted Non-Small Cell Lung Cancer Patients: Incidence and Treatment." *Frontiers in Oncology* 8 (April). <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00088>.
- Robinet, G., P. Thomas, J.L. Breton, H. Léna, S. Gouva, G. Dabouis, J. Bennouna, et al. 2001. "Results of a Phase III Study of Early versus Delayed Whole Brain Radiotherapy with Concurrent Cisplatin and Vinorelbine Combination in Inoperable Brain Metastasis of Non-Small-Cell Lung Cancer: Groupe Français de Pneumo-Cancérologie (GFPC) Protocol 95-1." *Annals of Oncology* 12 (1): 59–67. <https://doi.org/10.1023/A:1008338312647>.
- Ruggieri, Ruggero, Stefania Naccarato, Rosario Mazzola, Francesco Ricchetti, Stefanie Corradini, Alba Fiorentino, and Filippo Alongi. 2018. "Linac-Based VMAT Radiosurgery for Multiple Brain Lesions: Comparison between a Conventional Multi-Isocenter Approach and a New Dedicated Mono-Isocenter Technique." *Radiation Oncology (London, England)* 13 (1): 38. <https://doi.org/10.1186/s13014-018-0985-2>.
- Sequist, L.V., R.S. Heist, A.T. Shaw, P. Fidias, R. Rosovsky, J.S. Temel, I.T. Lennes, et al. 2011. "Implementing Multiplexed Genotyping of Non-Small-Cell Lung Cancers into Routine Clinical Practice." *Annals of Oncology* 22 (12): 2616–24. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdr489>.
- Shaw, Alice T., and Benjamin Solomon. 2011. "Targeting Anaplastic Lymphoma Kinase in Lung Cancer." *Clinical Cancer Research* 17 (8): 2081–86. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-10-1591>.
- Shih, David J. H., Naema Nayyar, Ivanna Bihun, Ibiayi Dagogo-Jack, Corey M. Gill, Elisa Aquilanti, Mia Bertalan, et al. 2020. "Genomic Characterization of Human Brain Metastases Identifies Drivers of Metastatic Lung Adenocarcinoma." *Nature Genetics* 52 (4): 371–77. <https://doi.org/10.1038/s41588-020-0592-7>.
- Shuto, Takashi, Atsuya Akabane, Masaaki Yamamoto, Toru Serizawa, Yoshinori Higuchi, Yasunori Sato, Jun Kawagishi, et al. 2018. "Multiinstitutional Prospective Observational Study of Stereotactic Radiosurgery for Patients with Multiple Brain Metastases from Non-Small Cell Lung Cancer (JLGK0901 Study-NSCLC)." *Journal of Neurosurgery* 129 (Suppl1): 86–94. <https://doi.org/10.3171/2018.7.GKS181378>.
- Singh, Charu, Jack M. Qian, James B. Yu, and Veronica L. Chiang. 2019. "Local Tumor Response and Survival Outcomes after Combined Stereotactic Radiosurgery and Immunotherapy in Non-Small Cell Lung Cancer with Brain Metastases." *Journal of Neurosurgery* 132 (2): 512–17. <https://doi.org/10.3171/2018.10.JNS181371>.
- Soffiatti, Riccardo, Martin Kocher, Ufuk M. Abacioglu, Salvador Villa, François Fauchon, Brigitta G. Baumert, Laura Fariselli, et al. 2013. "A European Organisation for Research and Treatment of Cancer Phase III Trial of Adjuvant Whole-Brain Radiotherapy Versus Observation in Patients With One to Three Brain Metastases From Solid Tumors After Surgical Resection or Radiosurgery: Quality-of-Life

- Results.” *Journal of Clinical Oncology* 31 (1): 65–72.
<https://doi.org/10.1200/JCO.2011.41.0639>.
- Soria, Jean-Charles, Yuichiro Ohe, Johan Vansteenkiste, Thanyanan Reungwetwattana, Busyamas Chewaskulyong, Ki Hyeong Lee, Arunee Dechaphunkul, et al. 2017. “Osimertinib in Untreated EGFR-Mutated Advanced Non–Small-Cell Lung Cancer.” *New England Journal of Medicine*, November.
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1713137>.
- Souquet, Pr Pierre-Jean. 2020. “Référentiels Auvergne Rhône-Alpes en oncologie thoracique,” 19.
- Sperduto, Paul W., Samuel T. Chao, Penny K. Sneed, Xianghua Luo, John Suh, David Roberge, Amit Bhatt, et al. 2010. “Diagnosis-Specific Prognostic Factors, Indexes, and Treatment Outcomes for Patients With Newly Diagnosed Brain Metastases: A Multi-Institutional Analysis of 4,259 Patients.” *International Journal of Radiation Oncology*Biological*Physics* 77 (3): 655–61.
<https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2009.08.025>.
- Sperduto, Paul W., Norbert Kased, David Roberge, Zhiyuan Xu, Ryan Shanley, Xianghua Luo, Penny K. Sneed, et al. 2012. “Summary Report on the Graded Prognostic Assessment: An Accurate and Facile Diagnosis-Specific Tool to Estimate Survival for Patients With Brain Metastases.” *Journal of Clinical Oncology* 30 (4): 419–25.
<https://doi.org/10.1200/JCO.2011.38.0527>.
- Sperduto, Paul W., T. Jonathan Yang, Kathryn Beal, Hubert Pan, Paul D. Brown, Ananta Bangdiwala, Ryan Shanley, et al. 2017. “Estimating Survival in Patients With Lung Cancer and Brain Metastases: An Update of the Graded Prognostic Assessment for Lung Cancer Using Molecular Markers (Lung-MolGPA).” *JAMA Oncology* 3 (6): 827–31. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2016.3834>.
- Stupp, Roger, Michael Weller, Karl Belanger, Ulrich Bogdahn, Samuel K Ludwin, Denis Lacombe, and René O Mirimanoff. 2005. “Radiotherapy plus Concomitant and Adjuvant Temozolomide for Glioblastoma.” *The New England Journal of Medicine*, 10.
- Sun, X., Y. Wang, J. Zhang, J. Tu, X.-J. Wang, X.-D. Su, L. Wang, and Y. Zhang. 2012. “Tunneling-Nanotube Direction Determination in Neurons and Astrocytes.” *Cell Death & Disease* 3 (12): e438–e438. <https://doi.org/10.1038/cddis.2012.177>.
- Supiot, S., K. Clément-Colmou, V. Potiron, D. Visvikis, F. Kraeber-Bodere, C. Cheze Reste, and C. Rousseau. 2011. “Intérêt des traceurs de l’hypoxie en radiothérapie.” *Médecine Nucléaire, La médecine nucléaire et les grands plans de santé, La Baule* (23 au 25 juin 2011), 35 (11): 621–24. <https://doi.org/10.1016/j.mednuc.2011.09.001>.
- Taddei, Maria Letizia, Elisa Giannoni, Giuseppina Comito, and Paola Chiarugi. 2013. “Microenvironment and Tumor Cell Plasticity: An Easy Way Out.” *Cancer Letters, Cellular Plasticity, Cancer Stem Cells and Metastasis*, 341 (1): 80–96.
<https://doi.org/10.1016/j.canlet.2013.01.042>.
- Toyokawa, Gouji, Takashi Seto, Mitsuhiro Takenoyama, and Yukito Ichinose. 2015. “Insights into Brain Metastasis in Patients with ALK+ Lung Cancer: Is the Brain Truly a Sanctuary?” *Cancer and Metastasis Reviews* 34 (4): 797–805.
<https://doi.org/10.1007/s10555-015-9592-y>.
- Tubiana, Maurice. 2005. “Dose–Effect Relationship and Estimation of the Carcinogenic Effects of Low Doses of Ionizing Radiation: The Joint Report of the Académie Des Sciences (Paris) and of the Académie Nationale de Médecine.” *International Journal of Radiation Oncology • Biology • Physics* 63 (2): 317–19.
<https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2005.06.013>.
- Warburg, Otto. 1956. “On the Origin of Cancer Cells.” *Science* 123 (3191): 309–14.
<https://doi.org/10.1126/science.123.3191.309>.

- Ward, Patrick S., and Craig B. Thompson. 2012. "Metabolic Reprogramming: A Cancer Hallmark Even Warburg Did Not Anticipate." *Cancer Cell* 21 (3): 297–308. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2012.02.014>.
- Weidle, Ulrich H, Jens Niewöhner, and Georg Tiefenthaler. 2015. "The Blood–Brain Barrier Challenge for the Treatment of Brain Cancer, Secondary Brain Metastases, and Neurological Diseases." *CANCER GENOMICS*, 11.
- Wilson, William R., and Michael P. Hay. 2011. "Targeting Hypoxia in Cancer Therapy." *Nature Reviews. Cancer* 11 (6): 393–410. <https://doi.org/10.1038/nrc3064>.
- Yamamoto, Masaaki, Toru Serizawa, Takashi Shuto, Atsuya Akabane, Yoshinori Higuchi, Jun Kawagishi, Kazuhiro Yamanaka, et al. 2014. "Stereotactic Radiosurgery for Patients with Multiple Brain Metastases (JLGK0901): A Multi-Institutional Prospective Observational Study." *The Lancet. Oncology* 15 (4): 387–95. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)70061-0](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)70061-0).
- Yilmaz, Ercan, Mehmet Gul, Rauf Melekoglu, and Isil Koleli. 2018. "Immunohistochemical Analysis of Nuclear Factor Kappa Beta Expression in Etiopathogenesis of Ovarian Tumors." *Acta Cirurgica Brasileira* 33 (7): 641–50. <https://doi.org/10.1590/s0102-865020180070000009>.
- Zhang, Isabella, Nicholas G. Zaorsky, Joshua D. Palmer, Ranee Mehra, and Bo Lu. 2015. "Targeting Brain Metastases in ALK-Rearranged Non-Small-Cell Lung Cancer." *The Lancet. Oncology* 16 (13): e510-521. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(15\)00013-3](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(15)00013-3).
- Ziech, Dominique, Rodrigo Franco, Aglaia Pappa, and Mihalis I. Panayiotidis. 2011. "Reactive Oxygen Species (ROS)—Induced Genetic and Epigenetic Alterations in Human Carcinogenesis." *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 711 (1–2): 167–73. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2011.02.015>.
- Zimmermann, Stefan, Rafal Dziadziuszko, and Solange Peters. 2014. "Indications and Limitations of Chemotherapy and Targeted Agents in Non-Small Cell Lung Cancer Brain Metastases." *Cancer Treatment Reviews* 40 (6): 716–22. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2014.03.005>.

ETUDE DE L'EXPRESSION DE LA PROTEINE S100A9 DANS LA REPOSE A LA RADIOTHERAPIE DES METASTASES CEREBRALES DE PRIMITIF PULMONAIRE

RESUME EN FRANÇAIS :

Introduction : Les métastases cérébrales (MC) sont fréquentes et surviennent chez 20% des patients atteints d'un cancer du poumon. Le pronostic reste mauvais même à l'ère de l'immunothérapie et des thérapies ciblées. Le contrôle local obtenu par radiothérapie améliore la qualité de vie mais une importante partie des patients rechute sur les lésions irradiées. Les mécanismes moléculaires sous-jacents à la radiorésistance ont été étudiés *in vitro* et sur modèle animal, présentant la protéine S100A9 et sa voie de signalisation en aval par NF- κ B comme une cible importante. Nous étudions la corrélation entre l'expression du S100A9, de NF- κ B et la radiorésistance dans les MC du cancer du poumon.

Matériels et méthodes : Soixante-neuf patients irradiés à la suite de l'exérèse d'une MC d'un cancer primitif du poumon ont été inclus. Les patients ont été traités par Whole Brain Radiation Therapy (WBRT), WBRT avec un complément de dose sur le lit opératoire (WBRT + boost) ou par irradiation stéréotaxique (SRT). L'expression de S100A9 et de NF- κ B a été étudiée sur les cellules tumorales et stromales. Le critère de jugement principal était le délai de progression d'une lésion irradiée (lit chirurgical ou lésion en place). Les critères de jugement secondaires étaient le délai d'apparition d'une nouvelle lésion dans les groupes WBRT et WBRT + boost, la survie globale et la toxicité.

Résultats : Respectivement 18, 15 et 36 patients ont été traités par WBRT, WBRT + boost et SRT. Vingt-deux patients (32%) avaient une expression de S100A9 et tous avaient une expression de NF- κ B. La médiane de temps à progression locale était de 17,6 mois dans le groupe WBRT et n'a pas été atteinte dans les autres groupes. Le type de radiothérapie (WBRT versus autres) était pronostique de la rechute locale en analyse multivariable. Dans la cohorte WBRT, l'expression de S100A9 était significativement corrélée avec un temps plus court de progression locale ($p = 0,0254$). Ce résultat n'a pas été retrouvé dans les 2 autres groupes. L'expression de NF- κ B n'était pas corrélée avec le temps de progression locale. Dans les groupes WBRT et WBRT + boost, l'expression de S100A9 n'était pas pronostique de l'apparition d'une nouvelle lésion.

Conclusion : Dans le groupe WBRT, l'expression de S100A9 par les cellules cancéreuses ou du stroma était corrélée avec un temps à progression sur la lésion irradiée plus court. Ce résultat n'a pas été retrouvé pour le groupe WBRT + boost ou SRT, étayant l'hypothèse du rôle du S100A9 dans la résistance à la radiothérapie standard pour laquelle les mécanismes sont différents de ceux de la résistance à la radiothérapie à forte dose (boost et SRT).

TITRE EN ANGLAIS: Study of the S100A9 protein expression in the response to radiotherapy of cerebral metastases from pulmonary origin

DISCIPLINE ADMINISTRATIVE : Médecine spécialisée clinique : oncologie radiothérapie

MOTS-CLÉS : Métastases cérébrales, radiothérapie, cancers broncho-pulmonaires, radiorésistance, S100A9, NF- κ B

INTITULÉ ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

Université Toulouse III-Paul Sabatier
Faculté de médecine Toulouse-Purpan,
37 Allées Jules Guesde 31000 Toulouse

Directeur de thèse : Pr Elizabeth MOYAL