

**UNIVERSITÉ TOULOUSE III PAUL SABATIER
FACULTÉ DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

ANNÉE : 2015

THÈSE : 2015 / TOU3 / 2005

THÈSE

POUR LE DIPLOME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement
par

MARC MARIE-ÈVE

**PLACE DE L'ÉVÉROLIMUS DANS LA PRISE
EN CHARGE DES COMPLICATIONS DE LA
SCLÉROSE TUBÉREUSE DE BOURNEVILLE**

Le : 08 janvier 2015

Directeur de thèse : M. Le Docteur PEDESPAN Jean-Michel

JURY

Président :	M. Le Professeur SEGUI Bruno
1 ^{er} assesseur :	M. Le Docteur SIMONNET André
2 ^{ème} assesseur :	Mme. Le Docteur MOHR Catherine

**PERSONNEL ENSEIGNANT
de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier
au 1^{er} octobre 2014**

Professeurs Émérites

M. BASTIDE R	Pharmacie Clinique
M. BERNADOU J	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G	Physiologie
M. CHAVANT L	Mycologie
Mme FOURASTÉ I	Pharmacognosie
M. MOULIS C	Pharmacognosie
M. ROUGE P	Biologie Cellulaire

Professeurs des Universités

Hospitalo-Universitaires		Universitaires	
M. CHATELUT E	Pharmacologie	Mme BARRE A	Biologie
M. FAVRE G	Biochimie	Mme BAZIARD G	Chimie pharmaceutique
M. HOUIN G	Pharmacologie	Mme BENDERBOUS S	Mathématiques – Biostat.
M. PARINI A	Physiologie	M. BENOIST H	Immunologie
M. PASQUIER C (Doyen)	Bactériologie - Virologie	Mme BERNARDES-GÉNISSON V	Chimie thérapeutique
Mme ROQUES C	Bactériologie - Virologie	Mme COUDERC B	Biochimie
Mme ROUSSIN A	Pharmacologie	M. CUSSAC D (Vice-Doyen)	Physiologie
Mme SALLERIN B	Pharmacie Clinique	Mme DOISNEAU-SIXOU S	Biochimie
M. SIÉ P	Hématologie	M. FABRE N	Pharmacognosie
M. VALENTIN A	Parasitologie	M. GAIRIN J-E	Pharmacologie
		Mme MULLER-STAUMONT C	Toxicologie - Sémiologie
		Mme NEPVEU F	Chimie analytique
		M. SALLES B	Toxicologie
		Mme SAUTEREAU A-M	Pharmacie galénique
		M. SÉGUI B	Biologie Cellulaire
		M. SOUCHARD J-P	Chimie analytique
		Mme TABOULET F	Droit Pharmaceutique
		M. VERHAEGHE P	Chimie Thérapeutique

Maîtres de Conférences des Universités

Hospitalo-Universitaires		Universitaires	
M. CESTAC P	Pharmacie Clinique	Mme ARÉLLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme GANDIA-MAILLY P (*)	Pharmacologie	Mme AUTHIER H	Parasitologie
Mme JUILLARD-CONDAT B	Droit Pharmaceutique	M. BERGÉ M. (*)	Bactériologie - Virologie
M. PUISSET F	Pharmacie Clinique	Mme BON C	Biophysique
Mme SÉRONIE-VIVIEN S	Biochimie	M. BOUJILA J (*)	Chimie analytique
Mme THOMAS F	Pharmacologie	Mme BOUTET E	Toxicologie - Sémiologie
		M. BROUILLET F	Pharmacie Galénique
		Mme CABOU C	Physiologie
		Mme CAZALBOU S (*)	Pharmacie Galénique
		Mme CHAPUY-REGAUD S	Bactériologie - Virologie
		Mme COSTE A (*)	Parasitologie
		M. DELCOURT N	Biochimie
		Mme DERA EVE C	Chimie Thérapeutique
		Mme ÉCHINARD-DOUIN V	Physiologie
		Mme EL GARAH F	Chimie Pharmaceutique
		Mme EL HAGE S	Chimie Pharmaceutique
		Mme FALLONE F	Toxicologie
		Mme GIROD-FULLANA S (*)	Pharmacie Galénique
		Mme HALOVA-LAJOIE B	Chimie Pharmaceutique
		Mme JOUANJUS E	Pharmacologie
		Mme LAJOIE-MAZENC I	Biochimie
		Mme LEFEVRE L	Physiologie
		Mme LE LAMER A-C	Pharmacognosie
		M. LEMARIE A	Biochimie
		M. MARTI G	Pharmacognosie
		Mme MIREY G (*)	Toxicologie
		Mme MONTFERRAN S	Biochimie
		M. OLICHON A	Biochimie
		M. PERE D	Pharmacognosie
		Mme PHILIBERT C	Toxicologie
		Mme PORTHE G	Immunologie
		Mme REYBIER-VUATTOUX K (*)	Chimie Analytique
		M. SAINTE-MARIE Y	Physiologie
		M. STIGLIANI J-L	Chimie Pharmaceutique
		M. SUDOR J	Chimie Analytique
		Mme TERRISSE A-D	Hématologie
		Mme TOURRETTE A	Pharmacie Galénique
		Mme VANSTEELANDT M	Pharmacognosie
		Mme WHITE-KONING M	Mathématiques

(*) titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

Enseignants non titulaires

Assistants Hospitalo-Universitaires		Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche	
Mme COOL C (**)	Physiologie	Mme PALOQUE L	Parasitologie
Mme FONTAN C	Biophysique	Mme GIRARDI C	Pharmacognosie
Mme KELLER L	Biochimie	M IBRAHIM H	Chimie anal. - galénique
M. PÉRES M. (**)	Immunologie		
Mme ROUCH L	Pharmacie Clinique		
Mme ROUZAUD-LABORDE C	Pharmacie Clinique		

(**) Nomination au 1^{er} novembre 2014

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je voudrais remercier grandement mon directeur de thèse Mr. PEDESPAN Jean-Michel pour sa disponibilité malgré ses nombreuses charges. Veuillez trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

Ensuite, je voudrais remercier le Professeur SEGUI Bruno d'avoir accepté d'être le président de mon jury de thèse. Je suis très honorée.

Mes remerciements vont également à M. SIMONNET André ainsi qu'à Mme. MOHR Catherine. J'ai été très sensible à l'intérêt que vous avez bien voulu accorder à ce travail en acceptant de le juger et suis honorée par votre présence dans ce jury.

À ma famille,

À mes parents : pour qui je porte un amour sincère. Merci de votre soutien au quotidien, des footings répétés et pour les relectures attentives.

À mon frère Marco, tu es une montagne de gentillesse, une montagne de calme et de sérénité, une montagne de sincérité et de simplicité, une montagne de sourire et de douceur. Si avec tout ça je ne t'ai pas fait une montagne de compliments... Merci d'avoir toujours été là pour moi.

À mes grands-parents que j'aime énormément.

À Cécile C et sa famille : merci de m'avoir fait confiance et de m'avoir donné une formation exemplaire.

À mes amis de longues dates, avec qui les soirées albigeoises ont un goût de reviens-y. Merci pour toutes ces soirées « vins-belotes » que je finis toujours par gagner... Merci d'équilibrer ma vie, de me donner confiance et d'être toujours là quand j'ai besoin de vous.

P'tit Pierre : merci d'être toi, avec toute ta générosité, tes bonnes idées, ta bonne humeur, ton mordant, ta tortue et bientôt... ton petit chat.

Mathieu : merci pour nos innombrables et incontrôlables fous rires dont nous étions les seuls à en percevoir la subtile origine...

Lélène : ton bonheur actuel me va droit au cœur, merci pour toutes ces années fac et nos années à venir.

Chacha : une partie de mon cœur est avec toi à la Réunion et je serai toujours prête à braver les déserts avec toi.

Je n'oublie pas non plus le groupe des réunionnais, pour certains, encore bordelais.
Cathy : je ne sais toujours pas comment tu as fait pour passer ta thèse en moins de 3 mois...
Samir : assied-toi !!! j'ai un truc super important à te dire... Merci à vous deux de m'héberger dès que Bordeaux m'appelle.
Gilou : merci pour ta gentillesse, ta douceur, ta positivité, « Ou mank amwin » AMBIANCE !!!
Guillaume : merci pour nos moments complices, ton franc parler, ton humour et nos très bonnes soirées. « ou mank amwin osi ».
Caro et Jean Phi : merci pour votre accueil toujours aussi agréable.
Nono : promis, un jour je te présenterai la sœur de Samir...
Safi : Pour ma part, « Thérèse » va mieux alors je pense beaucoup à toi. À toutes nos discussions intimes...
France, Flo et vos « gardes du corps ». Promis après ma soutenance je viens vous voir sur Limoges.

Il m'est impossible d'oublier,

Aziza : la vie est faite d'une alternance de rêves et de réalités. Tu l'avais compris bien avant moi.

Pierre P : merci pour ces bonnes parties de rigolades.

Colin : il m'est impossible d'écrire ton surnom sur cette page... Pierre me dit que tu es une personne de bon goût... je le crois sur parole. Au fait tu dois toujours du gros sel à Lélène !!!

Marie L : l'amphi de nuit, les sous-sols et le toit de l'hôpital se souviennent encore de nous.

Ingrid : merci pour tous ces moments partagés.

Sylvain : j'espère que tu reviendras avec ta « troisième étoile » en poche.

Lucie : merci pour ton accueil à l'aveyronnaise et pour tous les bons moments passés ensemble.

Jérémy : Un petit bonhomme qui a pris beaucoup de place dans mon cœur.

Nico : pour qui les Sept Merveilles du monde n'ont maintenant plus de secrets.

Nicole et Lionel : merci de votre écoute, de vos conseils pertinents et surtout de votre accueil.

Une place à part est réservée à Anthony avec qui j'ai partagé tant de choses ces dernières années.

Je n'oublie pas non plus Anne ; Dédé et Leslie ; Aurélien B et Ludo ; Flor ; Charley, Anne et Estéban ; Alix et sa famille ; Lislot, Yann et Adèle ; Aurélien, Barbara et Zoé ; Gaetan ; Leila, Cacahuète et Ciboulette ; Emilie et Arthur ; Maxou ; Mary, Max et Manon, Sarah,

TABLE DES MATIÈRES

INDEX DES TABLEAUX	12
INDEX DES FIGURES	13
INDEX DES ILLUSTRATIONS	14
LISTE DES ABRÉVIATIONS	15
INTRODUCTION.....	18
PARTIE 1 : LA SCLÉROSE TUBÉREUSE DE BOURNEVILLE	19
1 PRÉSENTATION DE LA STB.....	19
2 HISTORIQUE	19
2.1 Avant Désiré Magloire Bourneville	19
2.2 La description des lésions par M. Bourneville	20
2.3 Les découvertes de 1980 à nos jours.....	21
3 GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS.....	22
3.1 Épidémiologie descriptive.....	22
3.1.1 Incidence, prévalence, pénétrance.....	22
3.1.2 Race.....	22
3.1.3 Géographie.....	22
3.1.4 Âge et sexe.....	22
3.1.5 Mortalité et morbidité.....	23
3.2 Génétique moléculaire.....	23
3.2.1 Généralités.....	23
3.2.2 Le mosaïcisme	24

3.2.3 TSC1 et TSC2.....	24
4 CORRÉLATION GÉNOTYPE / PHÉNOTYPE.....	25
5 ANATOMOPATHOLOGIE ET MANIFESTATIONS CLINIQUES.....	26
5.1 Introduction.....	26
5.2 Lésions dermatologiques.....	26
5.2.1 Les taches achromiques.....	27
5.2.2 Les plaques peau de chagrin.....	27
5.2.3 Les adénomes sébacés de Pringle ou angiofibromes.....	27
5.2.4 Les fibromes unguéaux ou tumeurs de Koënen.....	28
5.2.5 Prévalence des manifestations cutanées.....	28
5.3 Les lésions du système nerveux central.....	28
5.3.1 Nodules sous-épendymaires.....	28
5.3.2 Les tubers corticaux.....	29
5.3.3 Les astrocytomes sous-épendymaires à cellules géantes ou SEGA.....	29
5.3.4 Anomalies de la substance blanche.....	29
5.4 Atteintes rénales.....	30
5.4.1 Hamartomes rénaux ou angiomyolipomes	30
5.4.2 Kystes rénaux	30
5.4.3 Carcinome rénal	31
5.5 Atteintes oculaires.....	31
5.6 Atteintes pulmonaires.....	31
5.7 Atteintes cardiaques.....	31
5.8 Atteintes hépatiques (51).....	32
5.9 Atteintes osseuses.....	32
5.10 Atteintes endocriniennes.....	32
6 SYMPTOMATOLOGIE DE L'ATTEINTE NEUROLOGIQUE.....	32
6.1 Épilepsie.....	33
6.2 Retard mental.....	33
6.3 Troubles du spectre autistique.....	33
6.4 Autres troubles.....	34
7 PHYSIOPATHOLOGIE.....	34
7.1 Génétique : perte d'hétérozygotie	34
7.2 Suractivation de la voie de signalisation mTOR.....	34

7.3 Dérégulation de la différenciation, de la prolifération et de la migration cellulaire.....	35
7.4 Relation entre les spasmes infantiles, les tubers et les fonctions intellectuelles (67).....	35
7.5 Relation entre les crises épileptiques précoces et les troubles autistiques (69).....	36
7.6 Relation entre la microstructure de la substance blanche et les troubles du spectre autistique (tractographie).....	37
8 DIAGNOSTIC.....	38
8.1 Diagnostic positif.....	38
8.1.1 Les critères diagnostiques.....	38
8.1.2 Examens complémentaires.....	40
8.1.3 Surveillance.....	40
8.2 Les tests génétiques (30)	40
8.2.1 Confirmation diagnostique chez le sujet atteint.....	40
8.2.2 Stratégie diagnostique pour l'analyse des gènes TSC1 et TSC2 dans le cadre d'un diagnostic génétique de sclérose tubéreuse de Bourneville	41
8.2.3 Diagnostic prénatal.....	41
8.2.3.1 Imagerie.....	41
8.2.3.2 Diagnostic prénatal moléculaire.....	41
8.3 Diagnostics différentiels.....	42
8.3.1 Lésions dermatologiques.....	42
8.3.2 Les atteintes rénales, cardiaques et pulmonaires.....	43
8.3.3 Les lésions du SNC	43
9 TRAITEMENT.....	43
9.1 Traitement des manifestations neurologiques.....	43
9.1.1 Traitement de l'épilepsie	43
9.1.1.1 Stratégie thérapeutique.....	43
9.1.1.2 Physiopathologie de l'épilepsie.....	44
9.1.1.3 Mécanismes d'action des antiépileptiques.....	44
9.1.1.4 Traitement des spasmes infantiles par le Vigabatrin.....	45
9.1.1.5 Traitement par les antiépileptiques classiques.....	45
9.1.1.6 Suivi thérapeutique.....	48
9.1.1.7 Générique et substitution.....	48
9.1.1.8 Traitement dans le cas particulier de co-morbidité épilepsie/autisme.....	49

9.1.1.9 Traitement chirurgical.....	50
9.1.1.10 Régime cétoène.....	50
9.1.1.11 Traitement antiépileptique préventif.....	50
9.1.2 Traitement des troubles du comportement et du syndrome autistique.....	50
9.1.2.1 Traitements non pharmacologiques	50
9.1.2.2 Traitements médicamenteux	51
9.1.2.3 Amélioration des apprentissages (104).....	51
9.1.2.4 La psychothérapie d'inspiration analytique	52
9.2 Traitement des manifestations dermatologiques.....	52
9.3 Traitement des manifestations rénales.....	52
9.4 Traitement des manifestations cardiaques.....	53
9.5 Traitement des manifestations pulmonaires.....	53
9.6 Place de l'évérolimus dans la stratégie thérapeutique.....	53
PARTIE 2 : DÉVELOPPEMENT DE L'ÉVÉROLIMUS.....	54
1 GÉNÉRALITÉS	54
1.1 Présentation et historique.....	54
1.1.1 Présentation	54
1.1.1.1 Un dérivé du sirolimus.....	54
1.1.1.2 Classe pharmacothérapeutique.....	54
1.1.2 Quelques dates de l'histoire de la molécule.....	54
1.2 Structure et propriétés physico-chimiques	56
1.2.1 Structure chimique de l'évérolimus.....	56
1.2.2 Fonctions des différents groupements	56
1.2.3 Propriétés physico-chimiques.....	57
2 MONOGRAPHIE DE VOTUBIA® (RCP VOTUBIA®).....	57
2.1 Données cliniques.....	57
2.1.1 Indications thérapeutiques.....	57
2.1.2 Posologie et mode d'administration.....	57
2.1.3 Suivi thérapeutique pharmacologique.....	58
2.1.4 Contre-indications.....	58
2.1.5 Interactions médicamenteuses.....	58
2.1.6 Mises en garde spéciales et précautions d'emploi.....	58
2.1.7 Analyses biologiques et surveillance.....	59

2.1.8 Effets indésirables.....	59
2.2 Propriétés pharmacologiques.....	59
2.2.1 Propriétés pharmacodynamiques.....	59
2.2.2 Propriétés pharmacocinétiques.....	59
2.2.2.1 Absorption	59
2.2.2.2 Distribution.....	59
2.2.2.3 Biotransformation.....	59
2.2.2.4 Élimination.....	60
2.2.2.5 Pharmacocinétique à l'état d'équilibre.....	60
3 DE LA TRANSPLANTATION À L'ONCOLOGIE.....	60
3.1 Évériolimus en transplantation	61
3.1.1 Données pharmaceutiques.....	61
3.1.2 Données pharmacologiques.....	61
3.1.3 Données cliniques (clinicaltrials).....	61
3.1.3.1 En transplantation rénale.....	62
3.1.3.2 En transplantation cardiaque.....	64
3.1.3.3 En transplantation hépatique.....	65
3.2 Évériolimus en oncologie.....	66
3.2.1 Données pharmaceutiques.....	66
3.2.2 Données pharmacologiques.....	66
3.2.3 Données cliniques.....	67
3.2.3.1 Cancer du rein avancé.....	67
3.2.3.2 Tumeurs neuroendocriniennes d'origine pancréatique (pNET).....	67
3.2.3.3 Cancer avancé du sein.....	68
3.3 Autre utilisation de l'évérolimus	68
3.3.1 Stents à libération contrôlée d'évérolimus.....	68
3.3.2 Autres voies de développement et perspectives d'avenir.....	68
PARTIE 3 : LA VOIE DE SIGNALISATION DE MTOR.....	77
1 LA VOIE DE SIGNALISATION MTOR	77
1.1 Présentation de mTOR.....	77
1.2 Complexe mTOR : mTORC1 et mTORC2.....	78
1.2.1 Composants communs à mTORC1 et mTORC2.....	78
1.2.2 Composition de mTORC1	79

1.2.3 Composition de mTORC2.....	79
2 RÉGULATION EN AMONT DE MTOR.....	80
2.1 Régulation en amont de mTORC1	81
2.1.1 De la PI3K à mTORC1 : voie classique de régulation de mTOR.....	81
2.1.1.1 Des récepteurs à tyrosine kinase à l'activation de AKT par l'intermédiaire de la PI3K.....	81
2.1.1.2 De l'activation de AKT à l'activation de mTORC1.....	82
2.1.2 Activation de mTORC1 par les nutriments.....	83
2.1.3 Activation de mTORC1 par les facteurs de croissance et par l'insuline.....	83
2.1.3.1 La voie PI3K/AKT/mTORC1.....	83
2.1.3.2 Voie impliquant la phospholipase D	83
2.1.3.3 Voie ERK ou voie des MAP kinases	84
2.1.4 Contrôle de la voie de signalisation mTORC1 en réponse à une privation de glucose / Stress énergétique.....	84
2.1.5 Contrôle de la voie de signalisation mTORC1 en réponse à l'hypoxie.....	85
2.1.6 Contrôle de la voie de signalisation mTORC1 en réponse à des dommages de l'ADN.....	86
2.1.7 Contrôle de la voie de signalisation mTORC1 en réponse à d'autres signaux.....	86
2.2 Régulation en amont de mTORC2.....	86
3 EN AVAL DE MTOR.....	87
3.1 Cibles et fonctions de mTORC1.....	88
3.1.1 mTORC1 régule la machinerie traductionnelle.....	88
3.1.1.1 4EBP1.....	88
3.1.1.2 La sérine/thréonine kinase S6	89
3.1.2 mTORC1 régule l'autophagie.....	89
3.1.3 mTORC1 régule la survie, la croissance et la prolifération cellulaire	90
3.1.3.1 La survie cellulaire.....	90
3.1.3.2 La croissance cellulaire	91
3.1.3.3 La prolifération cellulaire	91
3.1.4 mTORC1 régule l'angiogenèse.....	91
3.2 En aval de mTORC2	92
4 PATHOLOGIES ASSOCIÉES À LA VOIE MTOR.....	93
4.1 Cancers.....	93
4.1.1 Les différentes anomalies à l'origine de certains cancers.....	93
4.1.2 Implication de la voie mTOR dans la formation des tumeurs malignes.....	95

4.2 La signalisation de mTOR dans les tissus et son rôle dans les maladies métaboliques.....	96
4.2.1 Rôle de mTORC1 dans le métabolisme.....	96
4.2.2 Le diabète de type 2.....	97
4.3 Maladies génétiques.....	98
4.3.1 La sclérose tubéreuse de Bourneville.....	98
4.3.1.1 Implication de la voie mTOR dans la formation des angiomyolipomes	98
4.3.1.2 Implication de la voie mTOR dans les lésions cérébrales.....	99
4.3.1.3 Implication de la voie mTOR dans les symptômes neurologiques.....	100
4.3.2 La lymphangioliomyomatose.....	102
4.3.3 La polykystose rénale.....	102
4.3.4 La neurofibromatose de type 1	102
4.3.5 Syndrome de l'X fragile	102
4.3.6 Maladies génétiques liées à PTEN	103
4.4 Maladies neurodégénératives.....	103
4.5 Psoriasis.....	103
5 INHIBITEURS DE MTOR.....	103
5.1 Structures chimiques communes à toutes les molécules inhibitrices de mTOR.....	104
5.2 Développement des inhibiteurs de mTOR.....	104
5.2.1 Le Sirolimus (RCP Rapamune®).....	104
5.2.1.1 Histoire de la molécule.....	104
5.2.1.2 Description de la molécule.....	104
5.2.1.3 Indications, posologie et conditionnement.....	105
5.2.2 Évérolimus ou RAD001	105
5.2.3 Temsirolimus ou CCI-779 (RCP Torisel®).....	105
5.2.3.1 Description de la molécule.....	105
5.2.3.2 Indications, posologie et conditionnement	106
5.2.4 Ridaforolimus ou AP23573 (RCP Jenzyl®).....	107
5.2.4.1 Description de la molécule.....	107
5.2.4.2 Développement de la molécule.....	107
5.3 Résultats des études de phase 1 des trois principaux analogues de la rapamycine	108
5.4 Mécanismes de résistance (232).....	109

PARTIE 4 : EFFICACITÉ ET INNOCUITÉ DE L'ÉVÉROLIMUS DANS LE TRAITEMENT DES COMPLICATIONS DE LA STB.....112

1 EFFICACITÉ DE L'ÉVÉROLIMUS DANS SES INDICATIONS : SEGA ET ANGIOMYOLIPOMES RÉNAUX.....112

1.1 Efficacité de l'évérolimus dans le traitement des SEGA.....	112
1.1.1 Essai NCT00411619.....	112
1.1.1.1 Description	112
1.1.1.2 Caractéristiques des patients.....	113
1.1.1.3 Résultats	114
1.1.2 Essai EXIST-I.....	115
1.1.2.1 Description.....	115
1.1.2.2 Caractéristiques des patients	115
1.1.2.3 Résultats	116
1.2 Efficacité de l'évérolimus dans le traitement des angiomyolipomes rénaux	117
1.2.1 Essai EXIST-II.....	117
1.2.1.1 Description.....	117
1.2.1.2 Caractéristiques des patients.....	118
1.2.1.3 Résultats.....	119
1.2.2 Essai EXIST-I.....	119
1.3 Conclusion et perspectives d'avenir.....	120

2 EFFICACITÉ DE L'ÉVÉROLIMUS SUR LES AUTRES MANIFESTATIONS ET SYMPTÔMES CLINIQUES DE LA STB.....121

2.1 Efficacité de l'évérolimus sur les symptômes neurologiques.....	121
2.1.1 Épilepsie.....	121
2.1.1.1 Essai NCT00411619 et EXIST-I.....	121
2.1.1.2 Essai NCT01070316.....	121
2.1.2 Qualité de vie et développement cognitif.....	122
2.1.2.1 Essai NCT00411619	122
2.1.2.2 Essai NCT01070316.....	123
2.2 Efficacité de l'évérolimus sur les lésions cutanées.....	123
2.3 Événement comme traitement des rhabdomyomes cardiaques associés à la STB.....	124
2.4 Conclusion et perspectives d'avenir	124

3 EFFICACITÉ DE L'ÉVÉROLIMUS COMME TRAITEMENT PRÉVENTIF DANS LA STB (272).....	126
4 INNOCUITÉ DE L'ÉVÉROLIMUS DANS LE TRAITEMENT DE LA STB.....	127
4.1 Étude pré-clinique d'innocuité de l'évérolimus.....	127
4.2 Profil de tolérance de l'évérolimus.....	128
4.3 Évènements indésirables provoqués par des interactions médicamenteuses	130
4.4 Précautions d'emploi et mises en garde.....	133
CONCLUSION	134

INDEX DES TABLEAUX

Tableau 1 : Description des gènes TSC1 et TSC2.....	24
Tableau 2 : Prévalence des manifestations cutanées en fonction de l'âge (39).....	28
Tableau 3 : Critères diagnostiques de la sclérose tubéreuse de Bourneville : d'après Roach et al 1998 (2).....	39
Tableau 4 : Synthèse des antiépileptiques.....	48
Tableau 5 : Dose initiale de Votubia® chez les patients présentant un SEGA en fonction de la surface corporelle (Rcp Votubia®).....	57
Tableau 6 : Résultats des études B201et B251.....	63
Tableau 7 : Résultats des études A2306 et A2307 à 12 mois.....	64
Tableau 8 : Résultats de l'essai B253.....	64
Tableau 9 : Résultats de l'essai H2304.....	65
Tableau 10 : Essais en cours de phase 1 de l'évérolimus	70
Tableau 11 : Essais de phase 2 étudiant l'efficacité et l'innocuité de l'évérolimus.	71
Tableau 12 : Essais de phase 2 comparant l'efficacité et l'innocuité de l'évérolimus versus placebo.	71
Tableau 13 : Essais de phase 2 comparant l'efficacité et l'innocuité de l'évérolimus versus autres traitements ayant fait leurs preuves.	71
Tableau 14 : Essais de phase 2 étudiant l'efficacité et l'innocuité de l'évérolimus en association avec d'autres molécules.....	73
Tableau 15 : Essais de phase 3 : étude comparative de l'efficacité de l'évérolimus.....	74
Tableau 16 : Essais de phase 4 : suivi à long terme de l'évérolimus.....	75
Tableau 17 : Résultats des études de phase 1 des trois principaux analogues de la rapamycine (226).....	109
Tableau 18 : Relation entre les caractéristiques de la tumeur et sa sensibilité aux rapalogues (232).....	110
Tableau 19 : Caractéristiques des patients de l'essai de phase 1 et 2 : NCT00411619.....	115
Tableau 20 : Résultats d'efficacité de l'évérolimus sur le volume des SEGA : essai NCT00411619.....	115
Tableau 21 : Caractéristiques des patients de l'essai de phase 3 : EXIST-I.....	116
Tableau 22 : Taux de réponse des SEGA dans l'essai EXIST-I.....	117
Tableau 23 : Pourcentage de réduction des volumes de SEGA en fonction des mois : essai EXIST-I.....	117
Tableau 24 : Caractéristiques des patients de l'étude de phase 3 : EXIST-II.....	119
Tableau 25 : Résultats de l'étude d'efficacité de l'évérolimus sur les angiomyolipomes : essai EXIST- II. (RCP Votubia®).....	120
Tableau 26 : Résultats de l'étude NCT01070316.....	123
Tableau 27 : Profil de tolérance de l'évérolimus selon les classes de système d'organes (MeDRA).....	130
Tableau 28 : Effets des inhibiteurs puissants du CYP3A4 et la Pgp sur la pharmacocinétique de l'évérolimus.....	132
Tableau 29 : Effets des inhibiteurs modérés de CYP3A4/PgP sur la pharmacocinétique de l'évérolimus.....	132
Tableau 30 : Effets des inducteurs puissants sur la pharmacocinétique de l'évérolimus.....	133

INDEX DES FIGURES

Figure 1 : Relation entre le nombre de tubers, le QI et les antécédents de spasmes infantiles (67).....	36
Figure 2 : Formule semi-développée de l'évérolimus.	56
Figure 3 : Sites de fixation de la rapamycine sur l'immunophiline FKBP12 et la protéine mTOR (109).....	56
Figure 4 : Principaux sites de métabolisation du sirolimus.....	59
Figure 5 : Principaux sites de métabolisation de l'évérolimus.....	59
Figure 6 : Composition de mTORC1.....	79
Figure 7 : Composition de mTORC2.....	79
Figure 8 : Régulation de la voie mTOR. Cascades d'activations ou d'inhibitions convergeant sur TSC et mTOR à partir des différents signaux extracellulaires (274).....	80
Figure 9 : La voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR (275).	81
Figure 10 : Contrôle de la voie de signalisation mTORC1 en réponse à un stress énergétique (276).....	84
Figure 11 : Contrôle de la voie de signalisation mTORC1 en réponse à l'hypoxie (277).....	85
Figure 12 : Voie de signalisation mTOR (278).....	88
Figure 13 : Contrôle de la synthèse protéique par mTORC1 en présence de quantités suffisantes de nutriments, facteurs de croissances et d'hormones (279).....	89
Figure 14 : Régulation de l'autophagie par la voie mTORC1 (276).....	90
Figure 15 : Régulation du facteur HIF-1 (280).....	92
Figure 16 : La voie PI3K/AKT mTOR dans l'angiogénèse (281).....	92
Figure 17 : Rôle de la voie mTORC1 dans le métabolisme (205).....	97
Figure 18 : Rôle de mTOR dans le métabolisme et la résistance à l'insuline (282).....	98
Figure 19 : Rôle de la voie mTORC1 dans l'épilepsie et les troubles du comportement (69).	102
Figure 20 : Possible rôle pathogène de la perte du complexe TSC dans les manifestations neurologiques de la STB (283).....	102
Figure 21 : Formule semi-développée du sirolimus.....	105
Figure 22 : Formule semi- développée du temsirolimus.....	107
Figure 23 : Formule semi-développée du ridaforolimus.....	108

INDEX DES ILLUSTRATIONS

Illustration 1 : Végétations vasculaires de Pierre Olive RAYER (3).	20
Illustration 2 : Désiré Magloire BOURNEVILLE.....	20
Illustration 3: Phacome rétinien de Van der HOEVE.....	21
Illustration 4 : Photo de taches achromiques.	27
Illustration 5 : Photo d'une poliose.....	27
Illustration 6 : Photo de plaques peau de chagrin.....	27
Illustration 7 : Photo d'adénomes sébacés de Pringle ou angiofibromes.....	27
Illustration 8 : Photo d'un fibrome unguéal ou tumeur de Koënen.....	28
Illustration 9: Les différents domaines de la protéine mTOR (284).....	77
Illustration 10 : Dérégulation de la voie PI3K dans les cancers humains (181).....	95
Illustration 11 : IRM de SEGA chez un patient x inclus dans l'étude EXIST I à J0.....	117
Illustration 12 : IRM de SEGA chez un patient x inclus dans l'étude EXIST I à S12.....	117

LISTE DES ABREVIATIONS

AA : Acides Aminés
AF : Faisceau Arqué
AKT ou PKB : Protéin Kinase B
ALAT : Alanine Amino Transferase
AMM : Autorisation de Mise sur le Marché
AMP : Adenosine Monophosphate
AMPK5' : AMP-activated protein kinase
ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé
AP23573 : Ridaforolimus
ARN : Acide Ribonucleique
ARNm : Acide Ribonucleique Messenger
ASAT : Aspartate aminotransferase
ATCD: Antécédent
Atg13 : Autophagy-related protein 13
Atg101 : Autophagy-related protein 101
ATP : Adenosine Tri Phosphate
AVC : Accident Vasculaire Cérébral
AZA : Azathioprine
BAD : Pro-apoptotic protein
BCL2 : B-Cell Lymphoma 2
C : Choline
CBZ : Carnamazépine
CCI-779 : Temsirolimus
CDK : Cyclin-Dependent Kinase
CHMP : Committee for Medicinal Products for Human Use
Cl creat : Clairance de la créatinine
Cmax : Concentration maximale
CPAM : Caisse Primaire d'Assurance Maladie
CYP3A4 : Cytochrome P450 3A4
DHPLC : Denaturing High Performance Liquid Chromatography
DEPTO : DEP domain-containing mTOR-interacting protein
EEG : Electro-Encéphalographie
EF3 : Hypoxia markers
EGF : Epidemal Growth Factor
EGFR : Epidermal Growth Factor Receptor
EMA : Agence Européenne des médicaments
EPI-LOIA : Epilepsy-Low Intelligence-Adenoma sebaceum
EIF4EBP1 : Eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1
ERK1 / 2 : Extracellular signal-regulated kinases
FA : Fraction d'Anisotropie
FDA : Food and Drug Administration
FIP200 : famille de protéines kinases
FKBP12 : FK Binding Proteine appartenant à la famille des immunophilines
FKBP38 : FK506-Binding Protein 8
FRAP : FKBP12-Rapamycin-Associated Protein
GABA : Acide Gamma-Aminobutyrique
GAP : GTPase Activating Proteine
GDP : Guanosine Diphosphate
GEF: Guanine Exchange Factor

GRB2 : Growth Factor Receptor-bound Protein
GSK3beta : Glycogen Synthase Kinase 3 beta
GTP : Guanosine Triphosphate
HAS : Haute autorité de santé
HER2 : Human Epidermal Growth factor Receptor-2
HIF1 α : Hypoxia-Inducible Factor 1 α
HTAP : Hypertension Artérielle Pulmonaire
HTIC : Hypertension Intracrânienne
HDL : High Density Lipoprotein
IC : Intervalle de Confiance
IGF : Insulin-like Growth Factor
IGF-R1 : Insuline like Growth Factor-1-Receptor
IRM : Imagerie de Résonance Magnétique
IRS1 : Insulin Receptor Substrate 1
KB : Kilo Base
KDa : Kilo Dalton
LAM : Lymphangioliomyomatose
Lck : Lymphocyte-specific protein tyrosine kinase
LC/MS-MS : Chromatographie Liquide, couplée à la Spectrométrie de Masse en tandem
LDL : Low Density Lipoprotein
LKB1: Liver Kinase B1
LOH : Loss Of Heterozygosity
LPPR : Liste des Produits et Prestations Remboursables
MAP kinases : Mitogen-Activated Protein kinases
mTORC1, mTORC2 : mammalian Target Of Rapamycin Complex 1 et 2
MedDRA : Medical Dictionary for Regulatory Activities
Mek : Map kinase kinase
mLST8/G β L : mammalian Lethal with Sec 13 protein 8
MAPK kinase : Ras-Mitogen-Activated protein Kinase
MMF : Mycophénolate Mofétil
MPLA : Multiplex Ligation-dépendent Probe Amplification
mSin1: Mammalian stress-activated
mTOR : mammalian Target Of Rapamycin
NF1: Neurofibromatose de type 1
NFS : Numération de Formule Sanguine
NO : Oxyde nitrique
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
PA : Acide Phosphatidique
PC: Phosphatidylcholine
PDGF : Platelet-Derivated Growth Factor
PDK1 : 3'-Phosphoinositide Dependent Kinase 1
PET SCAN : Tomographie par Emission de Positron
PGA : Physician's Global Assessment
PIP2 : Phosphatidyl-Inositol-4,5-biphosphate
PIP3 : Phosphatidyl-Inositol-3,4,5-triphosphate
PLD : Phospholipase D
pNET : primitive Neuroectodermal Tumors
PgP : P-glycoprotein 1
PI3K : Phosphoinositide 3-kinase
PKC : Proteine Kinase C

PKD1 : Phosphoinositide-Dependent Kinase-1
PLP1 : Proteolipid Protein 1
PP2A : Protein phosphatase 2
PRAS40 : Proline-rich Akt Substrate of 40 kDa
PTEN : Phosphatase and Tensin omologue gene
QI : Quotient Intellectuel
RAD001 : Éverolimus
Raf : Map kinase kinase kinase
RAF1 : Proto-oncogene serine/threonine-protein kinase
RAPTOR : Regulatory-Associated Proteine of mTOR
RCP : Résumé des Caractéristiques du Produit
RHEB : Ras Homolog Enriched in Brain
RICTOR : Rapamycin Insensitive Companion of mTOR
RT-PCR : Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
SEGA : Subependymal Giant Cell Astrocytoma
Ser : Serine
S6K : Ribosomal Protein S6 kinase
SNC : Système Nerveux Central
STB : Sclérose Tubéreuse de Bourneville
STP : Suivi Thérapeutique Pharmacologique
tmax : temps pour atteindre la Cmax
TNF α : Tumor Necrosis Factor α
TSA : Trouble du Syndrome Autistique
TSC1 : Tuberous Sclerosis Complex 1
TSC2 : Tuberous Sclerosis Complex 2
Tyr : Tyrosine
ULK1 et ULK2 : Uncoordinated 51-Like Kinase 1 et 2
VEGF : Vascular Endothelium Growth Factor
VHL : Von Hippel-Lindau
VPA : Valproate de sodium
VS : Versus
WISC4 : Wechsler Intelligence Scale for Children
WPPSI III : Preschool and Primary Scale of Intelligence

INTRODUCTION

L'évérolimus est un inhibiteur puissant et sélectif de mTOR (mammalian target of rapamycine). Son mécanisme d'action a permis son développement dans différentes voies en clinique. Cette molécule déjà disponible sur le marché comme agent antirejet, est utilisée en pratique courante lors de transplantation d'organe et a prouvé son efficacité dans la prévention du rejet aigu chez les patients recevant une allogreffe rénale ou cardiaque. L'activité de mTOR étant dérégulée dans de nombreux types de cancers humains, cette molécule apporte de nouvelles stratégies thérapeutiques en cancérologie.

La sclérose tubéreuse de Bourneville est une maladie génétique multisystémique se traduisant par la présence de tumeurs bénignes ou hamartomes pouvant atteindre la plupart des organes principalement le cerveau, la peau, les reins, les poumons, le cœur et la rétine (1). Cette pathologie est caractérisée par une dérégulation du complexe TSC1/TSC2 impliqué dans la voie de signalisation mTOR, ce qui aboutit à une croissance cellulaire incontrôlée et la formation de ces tumeurs.

Il n'existe actuellement aucun traitement systémique de la sclérose tubéreuse de Bourneville. Toutefois, en septembre 2011, une autorisation de mise sur le marché dite « conditionnelle » a été délivrée pour le médicament Votubia® dans le traitement des astrocytomes sous-épendymaires à cellules géantes pour les patients qui ne sont pas candidats à une chirurgie. Un an plus tard, le CHMP donne un avis favorable à une extension d'indication de l'évérolimus dans le traitement des angiomyolipomes rénaux. Mais les travaux en recherche clinique ne s'arrêtent pas là.

Ce travail réalisé ici a pour objectif de mettre en avant l'intérêt de la recherche clinique incluant l'évérolimus dans le traitement de la sclérose tubéreuse de Bourneville. Par regroupements de données issues de la littérature, nous allons rassembler les connaissances nécessaires à sa bonne utilisation dans ces indications.

La première partie est consacrée à une revue des connaissances concernant la sclérose tubéreuse de Bourneville. C'est une maladie génétique rare qui se caractérise par une grande variété génotypique et phénotypique. Les formes graves de la maladie avec présence d'hamartomes dans la plupart des organes et principalement le cerveau et le rein ont un impact sévère sur la qualité de vie du patient. Les symptômes ainsi que les complications associés à ces deux atteintes sont les causes principales de morbidité et de mortalité de la maladie.

La seconde partie retrace l'histoire clinique de la molécule. En effet, ce dérivé de la rapamycine a montré qu'il possédait de nombreux atouts en thérapeutique liés à son effet antiprolifératif sur de nombreux types cellulaires. Nous allons étudier son efficacité dans ces différentes voies en clinique, en particulier l'immunosuppression et la cancérologie.

La troisième partie se consacre à la voie de signalisation impliquant mTOR. mTOR agit en tant que commutateur répondant à divers stimuli physiologiques et pathologiques en vue de réguler la croissance cellulaire, la prolifération cellulaire, l'angiogenèse et la survie de la cellule ; ce qui constitue un centre d'intérêt important dans l'étude de l'oncogénèse. En effet, une mutation de l'un des différents gènes suppresseurs de tumeurs constituant cette voie de signalisation peut favoriser le développement tumoral.

Enfin, nous nous intéresserons aux différents essais cliniques incluant l'évérolimus dans la sclérose tubéreuse de Bourneville afin de démontrer son efficacité et son innocuité dans le traitement des différentes complications et symptômes cliniques de la maladie. Évérolimus est une molécule avec de nombreuses perspectives dans le traitement de la sclérose tubéreuse de Bourneville ; nous étudierons sa place dans la stratégie thérapeutique.

PARTIE 1 : LA SCLÉROSE TUBÉREUSE DE BOURNEVILLE

1 PRÉSENTATION DE LA STB

La sclérose tubéreuse de Bourneville (STB) est classée parmi les neuroectodermoses qui regroupent l'ensemble des maladies héréditaires associant un syndrome neurologique et des manifestations cutanées. Elle a longtemps été intégrée dans la catégorie des phacomatoses. Le terme de phacomatose a été proposé au début du xx^{ème} siècle par Van Der Hoeve (1933), un ophtalmologiste hollandais. Cette sclérose a été décrite comme d'aspect tubéreux en 1880, par Désiré-Magloire Bourneville qui lui donnera le nom de sclérose tubéreuse de Bourneville utilisé de nos jours.

La sclérose tubéreuse de Bourneville a longtemps été définie par la triade : adénome sébacé du visage, déficience mentale et épilepsie. Par la suite, le concept de complexe de la sclérose tubéreuse de Bourneville s'est développé avec la notion de lésions dysplasiques ou hamartomes pouvant atteindre la plupart des organes, principalement le cerveau, la peau, les reins, les poumons, le cœur et la rétine (1). Cette pathologie est donc multisystémique.

C'est une maladie génétique à transmission autosomique dominante. Elle se caractérise par une grande variabilité génotypique et phénotypique ainsi qu'une variabilité interindividuelle de distribution et de nombre de ces hamartomes. On retrouve donc une grande diversité de formes cliniques allant de formes pratiquement inapparentes à des atteintes sévères de plusieurs organes.

Le diagnostic repose sur des critères cliniques, radiologiques et neuropathologiques, classés en critères majeurs et mineurs d'après Roach et al (2).

Les traitements reposent sur la prise en charge des différentes manifestations cliniques.

2 HISTORIQUE

2.1 Avant Désiré Magloire Bourneville

En 1835, un dermatologue français Pierre-François-Olive RAYER a publié un atlas pour illustrer son traité sur les maladies de la peau (3). On y retrouve un dessin coloré nommé « végétations vasculaires » qui représente le visage d'un homme atteint de nombreuses papules érythémateuses. Celles-ci sont distribuées essentiellement sur le nez et autour de la bouche et ressemblent à l'angiofibrome facial présent dans la STB. C'est la première fois dans l'histoire de la maladie que ce type de lésion a été rapporté et illustré.



Illustration 1 : Végétations vasculaires de Pierre Olive RAYER (3).

En 1862, un physicien allemand Friedrich Daniel Von RECKLINGHAUSEN a présenté un rapport constituant la première description de la STB. Il a découvert (en post-mortem chez un nouveau né) la présence de plusieurs tumeurs : des rhabdomyomes au niveau du cœur et des tubers corticaux imputables à la sclérose tubéreuse.

2.2 La description des lésions par M. Bourneville

En 1880, un neurologue français, Désiré Magloire BOURNEVILLE, va donner son nom à la maladie. L'autopsie réalisée sur une jeune fille de 15 ans lui permet de décrire des lésions blanchâtres et fermes sur de nombreuses circonvolutions cérébrales ainsi que des tumeurs nodulaires dans le cerveau. Cette jeune fille était atteinte d'épilepsie, de retard mental et d'éruptions papulo-vasculaires sur le nez. Il en conclut que ces masses sont à l'origine de son épilepsie.

BOURNEVILLE donne le nom "sclérose d'aspect tubéreux des circonvolutions cérébrales" (4). Le terme de sclérose fut donné pour l'aspect dur des formations et le mot tubéreux (du latin *tuberosus* « garni de protubérances »), pour décrire l'aspect proéminent des lésions.



Illustration 2 : Désiré Magloire BOURNEVILLE.

2.3 Les découvertes de 1980 à nos jours

En 1885, deux dermatologues français François Henri HALLOPEAU et Émile LEREDDE mettent en relation des rashes cutanés de la face et épilepsie (5).

En 1890, le dermatologue écossais John James PRINGLE met en relation le retard mental d'une femme et des lésions rugueuses sur les bras et les jambes ainsi qu'une éruption papuleuse au niveau de la face.

En 1901, le physicien italien GB PELLIZI étudie les lésions cérébrales, identifie leur nature dysplasique, l'hétérotopie corticale ainsi qu'un défaut de myélinisation. Il va classer les tubers en deux catégories (6) :

- type 1 : surface plane
- type 2 : avec des dépressions centrales.

En 1906, le neurologue australien Alfred Walter CAMPBELL décrit les lésions cérébrales, de la peau, du cœur et des reins comme étant les manifestations cliniques d'une seule et même pathologie.

Il sera le premier à décrire des manifestations oculaires (7).

En 1908, le neuro-pédiatre allemand Heinrich VOGT établit les critères diagnostiques de la STB associant une éruption de la face, des complications neuronales ainsi que des tubers corticaux (8).

En 1910, un allemand J. KIRPICZNICK est le premier à décrire la maladie comme une maladie génétique.

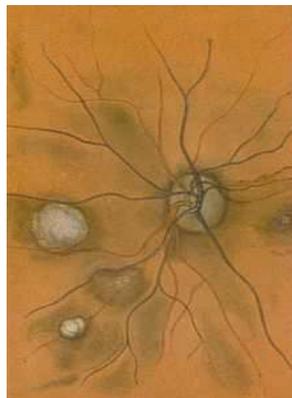
En 1911, SHERLOCK propose le terme « epiploia » pour désigner la triple association, épilepsie, débilité mentale et adénomes sébacés de la face.

En 1913, H. BERG met en évidence la nature héréditaire de la maladie.

En 1918, le physicien René LUTENBACHER met en évidence une complication touchant quasiment uniquement les femmes qui est connue maintenant sous le nom de lymphangioliéomyomatose (LAM).

En 1935, H. BERG décrit le mode de transmission après l'étude de cas familiaux.

En 1923, ROGER inclut la STB au sein des neuroectodermatoses, et Van der HOEVE, en 1933, l'intègre dans le cadre des phacomatoses.



*Illustration 3:
Phacome rétinien de
Van der HOEVE.*

À partir des années 80, l'avancée des techniques d'imagerie permet d'identifier les régions cérébrales atteintes par la pathologie et de définir certains critères de gravité.

C'est à partir de là que les études se sont axées principalement sur la pathogénie. Ainsi deux gènes ont été identifiés.

- En 1987, un gène a été identifié sur le chromosome 9 (9).
- En 1993, un autre sur le chromosome 16 (10).

En 2001, le lien entre génotype et phénotype a été étudié.

En 2002, la voie de signalisation impliquant TSC1 et TSC2 a été étudiée ainsi que le rôle de ces derniers dans la régulation de la prolifération cellulaire.

Les premières études sur le traitement de la STB par la rapamycine ont vu le jour à partir de 2002 dans le modèle murin.

À partir de 2006, commencent les études cliniques visant à analyser l'intérêt thérapeutique, l'efficacité et l'innocuité de la rapamycine et de l'évérolimus dans le traitement de la STB.

3 GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS

3.1 Épidémiologie descriptive

3.1.1 Incidence, prévalence, pénétrance

L'incidence de la maladie est de 1 naissance sur 10 000 (11) à 1 pour 6 000 (12).

La prévalence dans la population générale est estimée à 8,8 pour 100 000 en Europe ; sachant que la prévalence des maladies rares est comprise entre 1 et 9 pour 100 000 personnes. Cette prévalence rapportée à la population française correspond à environ 5 800 patients. (Orphanet) La STB est l'affection génétique dominante la plus commune à l'origine d'une épilepsie et d'une déficience mentale. C'est une maladie rare, mais pas exceptionnelle.

La pénétrance est de 95%, avec une expressivité variable à l'intérieur d'une même famille (13). La fréquence de la maladie estimée chez les enfants de moins de 10 ans va de 1 pour 12 000 à 1 pour 14 000 (14).

3.1.2 Race

La STB atteint indifféremment toutes les populations sans prédominance raciale ou ethnique.

3.1.3 Géographie

La prévalence la plus élevée a été rapportée dans une population suédoise d'enfants de 11 à 15 ans : elle est de 1 sur 6 800 (15).

3.1.4 Âge et sexe

L'âge de début de la maladie ne correspond pas à l'âge d'apparition des premiers symptômes. La maladie débute in utero et se développe différemment au cours de l'enfance et de l'adolescence (16).

L'âge de découverte de la maladie est très variable. In utéro, c'est la découverte de rhabdomyomes qui permet d'orienter le diagnostic prénatal. Au cours des premiers mois ou des premières années de vie, les manifestations neurologiques (crises épileptiques) ou dermatologiques (taches achromiques) constituent, le plus souvent, les premiers motifs de consultation. Certains cas peu symptomatiques sont diagnostiqués de manière fortuite suite à la découverte de la maladie dans leur descendance.

La STB atteint aussi bien les hommes que les femmes. Par contre, les atteintes pulmonaires avec présence de kystes caractéristiques de la lymphangioléiomyomatose (LAM) touchent presque exclusivement les femmes (17).

3.1.5 Mortalité et morbidité

Les complications neurologiques (crises d'épilepsie et présence de SEGA pouvant se compliquer d'une hydrocéphalie) sont les causes les plus communes de mortalité et de morbidité dans la STB.

On trouve ensuite les complications rénales : les angiomyolipomes rénaux et les kystes pouvant se rompre dans un tableau d'hémorragie rétropéritonéale mais également, s'ils progressent trop en taille, ils peuvent conduire à une destruction du parenchyme rénal et à une insuffisance rénale terminale. Les angiomyolipomes rénaux dont la taille est supérieure ou égale à 4 cm sont à haut risque de rupture hémorragique.

Les rhabdomyomes cardiaques peuvent être à l'origine de décès dans la période néonatale et les premières années de vie, soit par arythmie cardiaque soit par complication d'une insuffisance cardiaque congestive.

Les complications pulmonaires, avec développement d'une lymphangioléiomyomatose qui apparaît à l'âge adulte, peut évoluer vers une insuffisance respiratoire et le décès.

3.2 Génétique moléculaire

3.2.1 Généralités

La STB est une maladie à transmission autosomique dominante, ce qui signifie qu'elle se transmet de génération en génération, sans saut de génération. Un malade a 50% de risque de transmettre la maladie à ses enfants, indifféremment de leur sexe.

Les symptômes sont très variables d'un individu à l'autre et au sein d'une même famille. Il n'existe aucun lien entre la gravité des symptômes retrouvés chez un parent et celle de l'enfant. Donc la STB présente une grande hétérogénéité génétique et clinique.

Néanmoins, dans deux cas sur trois, l'enfant atteint est né de parents indemnes, ce qui correspond à des néo-mutations. On ne peut affirmer qu'il s'agit d'une néo-mutation que si les deux parents ont subi un examen clinique approfondi, ainsi qu'une analyse moléculaire du gène afin d'éliminer chez eux une forme peu symptomatique et non diagnostiquée de la maladie.

Les tests de génétique moléculaire de *TSC1* et *TSC2* sont compliqués à réaliser ; sont mis en cause : la grande taille des deux gènes, le grand nombre de mutations pathogènes et le taux élevé de mosaïques somatiques (18).

3.2.2 Le mosaïcisme

Il existe deux types de mosaïcismes que l'on peut retrouver dans la STB : le mosaïcisme somatique et le mosaïcisme germinale.

Le mosaïcisme somatique est retrouvé chez un individu malade. Seule une partie de ses cellules sera porteuse de la mutation, ce qui s'explique par l'apparition de la mutation au cours du développement embryonnaire. Le pourcentage de cellules mutées est dès lors corrélé avec le moment d'apparition de la mutation au cours de l'embryogenèse. Plus la mutation survient tôt dans le développement de l'embryon, plus la proportion de cellules mutées est importante. Ce type de mosaïcisme pourrait expliquer quelques cas de patients qui sont porteurs de STB clinique, mais dont la mutation n'a pas pu être retrouvée. Un certain nombre de cas porteurs d'une mosaïque somatique ont été identifiés dans la STB, mais il est difficile d'en estimer leur fréquence.

Le mosaïcisme germinale touche certains individus sains. Ces individus peuvent présenter une double population de cellules germinales, certaines étant porteuses d'une mutation des gènes *TSC1* et/ou *TSC2*, et d'autres étant indemnes. Le porteur d'une mutation germinale en mosaïque peut donc la transmettre à sa descendance, mais est lui-même indemne de la maladie.

La possibilité d'une mosaïque germinale rend difficile le conseil génétique de diagnostic prénatal, car il est impossible, après le premier enfant atteint, de savoir si l'un des parents présente une mosaïque germinale, et dans quelle proportion.

3.2.3 *TSC1* et *TSC2*

Le premier gène, *TSC1*, localisé en 1987, est situé sur le bras long du chromosome 9 à l'emplacement 9q34.13 (19). Il code pour une protéine de 130 kDa nommée hamartine. Il se compose de 23 exons dont 21 exons codants (20).

Le deuxième gène, *TSC2*, a été identifié en 1993. Il est localisé sur le bras long du chromosome 16 à l'emplacement cytogénétique 16p13.3 (21). Celui-ci code pour une protéine de 180 kDa nommée tubérine. Il se compose de 42 exons dont 41 exons codants (22). Le long du gène *TSC2*, les mutations sont distribuées de façon homogène et tous les types sont représentés : délétions, insertions, duplications, non sens, faux-sens (23–25).

TSC2 est contigu au gène *PKD1* responsable de la polykystose rénale autosomique dominante. Ces deux gènes sont des gènes suppresseurs de tumeurs.

	<i>TSC1</i>	<i>TSC2</i>
Localisation chromosomique	9q34	16p13.3
Taille	55 kb	44 kb
Nombre d'exons	23	42
Nombre d'exons codants	21	41
Protéine	hamartine	tubérine
Taille de la protéine	1164 aa	1807 aa
Poids moléculaire de la protéine	130 kDa	180 kDa

Tableau 1 : Description des gènes *TSC1* et *TSC2*.

Mutations des gènes *TSC1* et *TSC2* :

Les mutations sont retrouvées dans plus des trois quarts des cas (26).

Les mutations de *TSC2* sont plus fréquentes que celles de *TSC1*, ces dernières représentant 12 à 19% des cas (26–28). Ces taux seraient très similaires dans les cas sporadiques et familiaux, mais ceci est très controversé. Les hypothèses pour expliquer cette différence sont : une plus petite taille des régions codantes du gène *TSC1* et un nombre moins important d'exons.

Autre hypothèse : les patients avec un génotype *TSC1* ont tendance à avoir un phénotype moins grave que les patients avec un génotype *TSC2* et seraient donc sous diagnostiqués (OMIM).

Une étude de Jones et al (29) révèle que les mutations *TSC1* et *TSC2* ne sont pas réparties de manière égale entre les cas sporadiques et familiaux. Plus précisément, les mutations *TSC1* se sont révélées relativement rares parmi les cas de mutations sporadiques comparé aux cas familiaux.

Dans la grande majorité des cas, la mutation responsable de la STB correspond à une mutation ponctuelle qu'elle soit exonique ou intronique, c'est-à-dire une insertion ou une délétion de petite taille dans les gènes *TSC1* ou *TSC2*.

Dans 5 à 10% des cas, il s'agit d'une délétion de grande taille emportant la totalité du gène *TSC1* ou *TSC2* (30).

Par ailleurs, chez environ 15% des patients, aucune mutation n'a été identifiée (31).

Plusieurs explications peuvent être données pour expliquer ce pourcentage (30) :

- Les méthodes d'identifications ne sont pas suffisamment sensibles.
- Les mutations présentes dans les introns ou le promoteur peuvent perturber l'expression des gènes et sont difficilement détectables.
- La présence d'une mosaïque somatique.
- L'éventuelle présence de loci supplémentaires non encore identifiés.

Dans 2 à 3% des cas, une large délétion dans *TSC2* affecte également le gène adjacent *PKD1*, responsable de la polykystose rénale de type 1 (32).

4 CORRÉLATION GÉNOTYPE / PHÉNOTYPE

Depuis 2001, de nombreuses études se sont axées sur la corrélation génotype/phénotype avec des résultats différents.

Jones et al (29) ont été les premiers à publier un rapport montrant des différences entre les phénotypes *TSC1* et *TSC2*. Cette étude révèle que les génotypes *TSC1* ont un plus faible taux de retard mental. Elle met en évidence une différence de sévérité entre les deux phénotypes.

Lewis et al (33) ont réalisé une étude sur la corrélation entre génotype et phénotype psychologique, sur une cohorte de 92 patients présentant des mutations dans les gènes *TSC1* et *TSC2*. Ils en déduisent que le phénotype *TSC2* a un risque plus élevé de faible QI.

L'étude d'Au et al (34) sur 325 patients atteints de STB a montré que les patients possédant la mutation *TSC2* ont un nombre beaucoup plus important de macules hypomélaniques, ainsi que des difficultés supérieures d'apprentissage comparé à ceux possédant la mutation *TSC1*. Les individus porteurs de mutations *TSC2* présentent donc des symptômes plus graves.

Jozwiak et al, (35) sur 154 patients atteints de STB, observent une incidence des rhabdomyomes cardiaques plus élevée dans les génotypes *TSC2* que dans les génotypes *TSC1*.

L'étude rétrospective de Chu-Shore et al (36) recueillant l'image du cerveau par IRM de 173 patients atteints de STB a révélé que 46% des patients avaient au moins un tuber cortical. Cette étude leur a permis de conclure que les patients portant la mutation *TSC2* étaient plus susceptibles d'avoir un tuber cortical que les patients portant la mutation *TSC1* ou n'ayant pas de mutations identifiées.

L'étude de De Vries et Bolton (37) s'est portée sur les résultats de questionnaires réalisés sur 510 familles. Ces questionnaires portaient sur la présence ou l'absence de caractéristiques physiques de la maladie, sur le moment d'apparition des troubles psychologiques et du comportement ainsi que sur le moment d'apparition de problèmes psychiatriques. Aucune différence n'a été trouvée au niveau des caractéristiques physiques ainsi qu'au niveau de la présence/absence d'anomalies du cerveau (tubers corticaux ou nodules subépendymaires). Cependant, ils concluent qu'il y a une proportion significativement plus importante de retard mental dans les cas sporadiques versus les cas familiaux.

L'étude de Jansen et al (38) sur la comparaison des caractéristiques cliniques de 17 patients avec mutation de *TSC1* et 31 patients avec mutation *TSC2* a montré que le phénotype TSC2 avait tendance à avoir un début plus précoce des crises, une incidence plus élevée de spasmes infantiles, ainsi que des scores cognitifs plus faibles comparé au phénotype TSC1. L'étude du nombre de tubers a aussi confirmé cette tendance avec un nombre plus important retrouvé dans le phénotype TSC2. Mais leurs résultats se chevauchent. Malgré ces différences observées, ils concluent que le phénotype des patients atteints de STB ne doit pas être basé sur les mutations *TSC1* ou *TSC2*.

Toutes ces études se sont focalisées sur la corrélation génotype/phénotype dans la sclérose tubéreuse de Bourneville et il en résulte, pour la plupart, d'un risque plus élevé, pour les patients ayant une mutation *TSC2*, de développer des symptômes plus graves de la maladie. Mais les études de Jansen et al et de De Vries et al remettent en cause ces résultats. Donc la corrélation entre le phénotype et le génotype dans la STB reste encore discutée.

5 ANATOMOPATHOLOGIE ET MANIFESTATIONS CLINIQUES

5.1 Introduction

La STB est caractérisée par la présence de tumeurs bénignes, appelées hamartomes, dans la quasi totalité des tissus mais plus communément dans le système nerveux central, la peau et les phanères, les reins, les poumons, le foie et le cœur (1). Les manifestations cliniques et symptômes associés sont dépendants du système ou organes impliqués ainsi que de l'âge du patient. En effet, certaines manifestations apparaissent très tôt dès la période péri-natale, alors que d'autres n'apparaissent qu'à l'âge adulte.

L'expression clinique de la STB se caractérise par son polymorphisme et sa variabilité interindividuelle.

5.2 Lésions dermatologiques

Les atteintes dermatologiques sont présentes chez presque 100% des personnes atteintes de STB. On retrouve des taches achromiques, des plaques peau de chagrin, des angiofibromes ainsi que les fibromes unguéaux. Parmi ces atteintes dermatologiques ce sont les angiofibromes qui sont à l'origine du plus gros préjudice physique.

5.2.1 Les taches achromiques



Illustration 4 : Photo de taches achromiques.



Illustration 5 : Photo d'une poliose.

Les taches achromiques sont le signe cutané le plus précoce et sont fréquemment observées chez les enfants atteints de STB. Cependant, elles ne sont pas spécifiques de la maladie. Elles peuvent être présentes dès la naissance mais apparaissent généralement dans la première année de vie.

Elles sont isolées ou regroupées et de formes plus ou moins régulières. Leur nombre varie de 3 à une dizaine, rarement davantage. Elles sont de forme lancéolée et parfois à bord dentelé, qui évoque la feuille de sorbier avec une extrémité effilée et l'autre arrondie.

Elles sont localisées surtout sur le tronc et à la racine des membres, mais peuvent également être retrouvées sur les fesses et les extrémités.

Ces taches rougissent au frottement et n'ont pas d'aspect histologique spécifique. La lampe de Wood permet de mieux les mettre en évidence.

En zone pileuse, ces taches achromiques peuvent s'accompagner d'une poliose qui est un blanchiment anormal des poils et peut donc se traduire par une mèche de cheveux ou une partie de sourcils dépigmentée.

5.2.2 Les plaques peau de chagrin



Illustration 6 : Photo de plaques peau de chagrin.

Elles apparaissent plus tardivement et sont localisées de manière préférentielle dans la région lombo-sacrée. Elles ont la forme d'une plaque à peine surélevée, de surface fripée et de couleur jaunâtre.

5.2.3 Les adénomes sébacés de Pringle ou angiofibromes



Illustration 7 : Photo d'adénomes sébacés de Pringle ou angiofibromes.

Ils sont présents dans 70 à 90% des cas et apparaissent habituellement après l'âge de 6 ans. Ils sont pathognomonique de la maladie. Ils touchent électivement la zone médio-faciale. Ces petites masses de 1 à 10 mm de diamètre sont groupées symétriquement au niveau du nez, des joues ainsi qu'au niveau de la partie médiane du menton. Ce sont des nodules charnus, roses, de surface lisse, arrondis, et multiple mais leur nombre est très variable. Lorsqu'ils sont multiples et bilatéraux, ils représentent un signe très évocateur de la STB, mais de rares cas ont été rapportés. L'examen histologique montrerait une prolifération fibreuse et vasculaire.

5.2.4 Les fibromes unguéaux ou tumeurs de Koënen



Illustration 8 : Photo d'un fibrome unguéal ou tumeur de Koënen.

Ce sont des angiofibromes qui siègent dans le sillon de l'ongle des orteils ou des doigts. Ils sont plus rares et apparaissent après la puberté. Ce sont des petites proliférations charnues, rosées, poussant parallèlement à l'ongle en déprimant celui-ci sous forme d'une gouttière longitudinale.

5.2.5 Prévalence des manifestations cutanées

Ces manifestations cutanées et des phanères sont très souvent présentes dans la STB et ont donc une grande valeur diagnostique. Selon GOMEZ MR et WEBB DW, 96% des patients auraient une atteinte cutanée.

Âge	< 5 ans	De 5 à 14 ans	De 15 à 29 ans	> 30 ans
Taches achromiques	100,00%	95,00%	83,00%	58,00%
Peau de chagrin	25,00%	54,00%	54,00%	55,00%
Adénomes sébacés de Pringle	0,00%	81,00%	86,00%	88,00%
Tumeurs de Koënen	0,00%	81,00%	68,00%	88,00%

Tableau 2 : Prévalence des manifestations cutanées en fonction de l'âge (39).

5.3 Les lésions du système nerveux central

Les atteintes cérébrales sont dominantes dans la STB. Les principales lésions résultent d'anomalies dans la neurogenèse et sont observées de la surface ventriculaire jusqu'au cortex.

5.3.1 Nodules sous-épendymaires

Leur fréquence est élevée et leur nombre augmente jusqu'à l'âge de 10 ans.

Ils sont localisés au niveau des ventricules latéraux, dans leur partie antérieure, à proximité des noyaux caudés. Ils sont souvent bilatéraux, de distribution asymétrique et en nombre variable. Ils sont constitués de cellules gliales multinucléées, d'astrocytes et recouverts d'épendyme. La majorité des nodules sous-épendymaires sont calcifiés et la densité de calcification augmente avec l'âge. La présence d'au moins deux calcifications périventriculaires constitue un critère diagnostique majeur.

Ces nodules sous-épendymaires sont le signe neuro-radiologique le plus constant. Le scanner cérébral est l'examen complémentaire référent pour la mise en évidence de ces nodules.

5.3.2 Les tubers corticaux

Ils se développent durant la vie fœtale et se localisent préférentiellement au niveau cortical et cérébelleux.

Leur nombre est variable et leur distribution est asymétrique. Leur aspect varie en fonction de l'âge. Au scanner, sans produit de contraste, ils sont hypodenses chez les nourrissons et isodenses chez les enfants et les adultes, mais certains peuvent se calcifier. Dans la substance blanche sous-corticale adjacente aux tubers corticaux, on retrouve des anomalies de myélinisation.

L'étude histopathologique des tumeurs révèle un nombre important de cellules gliales et neuronales, ainsi que des cellules « géantes » qui expriment des marqueurs histologiques des lignées neuronales et gliales (40).

Ces tubers proviennent d'un développement neurologique anormal pendant les stades de développement cortical.

Ils sont tenus responsables des principaux symptômes neurologiques que sont l'épilepsie et le retard mental.

5.3.3 Les astrocytomes sous-épendymaires à cellules géantes ou SEGA

Leur localisation préférentielle est sous-épendymaire, près des trous de Monro. Ils sont histologiquement bénins et ont une croissance lente et progressive. Le principal risque évolutif est l'obstruction des trous de Monro. Ils provoquent alors une hypertension intracrânienne par hydrocéphalie, qui se manifeste par des céphalées, des vomissements et un flou papillaire au fond d'œil. Le plus souvent, cette HTIC a un début insidieux, pouvant durer plusieurs mois et peut entraîner une recrudescence de l'épilepsie, une modification du comportement et une diminution des capacités intellectuelles.

La chirurgie d'exérèse est le traitement le plus approprié pour les patients atteints de SEGA symptomatiques ou asymptomatiques avec une forte augmentation du volume. Cependant, la localisation profonde de ces tumeurs peut rendre la chirurgie difficile et les patients ne sont pas tous éligibles à cette résection chirurgicale. De plus, les SEGA incomplètement réséqués reviennent invariablement.

L'évérolimus peut être une option de traitement prometteuse pour les patients non candidats à la chirurgie afin de stabiliser ou involuer ces SEGA.

5.3.4 Anomalies de la substance blanche

Elles peuvent revêtir différents aspects :

- Hypomyélinisation et gliose de la substance blanche sous-corticale adjacente aux tubers corticaux. Ce sont les anomalies les plus fréquentes.
- Anomalies linéaires appelées lignes de migration radiaire.
- Lésions kystiques.
- Séquelles d'accidents vasculaires cérébraux (dysplasies vasculaires des artères cérébrales).

5.4 Atteintes rénales

Les atteintes rénales peuvent être présentes jusqu'à 80% des enfants atteints de STB (41).

Le décès par survenue d'accidents hémorragiques, d'insuffisance rénale chronique terminale ou la transformation maligne en font la deuxième cause de mortalité dans la STB après l'atteinte neurologique.

L'atteinte rénale doit donc être systématiquement recherchée chez ces patients : tension artérielle, hématurie, protéinurie, dosage de la créatinine, ainsi que la mesure du débit de filtration glomérulaire. Une surveillance échographique est fortement recommandée.

F. Ben Hamida (42) a publié, en 2006, une étude portée sur 9 cas de sclérose tubéreuse de Bourneville avec atteinte rénale. Elle a montré que l'hématurie est le signe clinique le plus fréquent (90%), la protéinurie est retrouvée chez 77% des malades, et l'hypertension artérielle a été observée chez 34% des malades. Les lésions rénales incluaient des angiomyolipomes isolés chez un malade, des kystes isolés chez quatre malades et des angiomyolipomes associés à des kystes chez les quatre autres. Au moment du diagnostic de la maladie, cinq malades soit 55% avaient une insuffisance rénale chronique, dont quatre au stade terminal. Deux patients avaient subi une néphrectomie. Cette étude montre bien que l'hématurie et les angiomyolipomes sont les manifestations les plus fréquentes au cours de l'atteinte rénale.

5.4.1 Hamartomes rénaux ou angiomyolipomes

Ils sont retrouvés dans 85% des cas d'atteinte rénale (43).

Ils sont le plus souvent multiples, bilatéraux et volumineux. La taille d'un angiomyolipome rénal peut varier de quelques millimètres à 20 cm de diamètre.

Ils apparaissent dans l'enfance et progressent rapidement. L'évolution d'une telle lésion est variable dans le temps ; le pourcentage de croissance annuel est estimé à 5% en cas de lésion unique, 22% en cas de lésions multiples sans association avec une STB et 18% en association à une STB (44–46).

Ce sont des tumeurs bénignes mais susceptibles d'entraîner une insuffisance rénale ou de se rompre spontanément, source d'hémorragie rétropéritonéale nécessitant une néphrectomie en urgence (47). Les angiomyolipomes de moins de 4 cm et asymptomatiques ne nécessitent aucun traitement. Les angiomyolipomes de plus de 4 cm avec un contingent vasculaire sont ceux qui présentent le plus de risque de rupture. Une douleur lombaire inhabituelle doit alerter l'équipe médicale. Une surveillance échographique est nécessaire au moins deux fois par an pour évaluer leur croissance.

Ils peuvent se manifester par des douleurs, une hématurie, une anémie ainsi qu'une HTA.

Ces angiomyolipomes font partie des critères de morbidité dans la STB. Même s'ils ont un caractère bénin, ils sont à l'origine de manifestations rénales graves qui peuvent engager le pronostic vital du patient. Le traitement le plus efficace est l'exérèse des angiomyolipomes d'un volume important et à haut risque hémorragique. Chez les patients ne nécessitant pas une résection chirurgicale immédiate, l'évérolimus est approuvé pour le traitement de ces angiomyolipomes rénaux.

5.4.2 Kystes rénaux

Ils sont identifiés dans 45% des cas d'atteinte rénale (43) et apparaissent au cours de l'évolution de la maladie. Ils sont le plus souvent asymptomatiques.

Ces kystes sont identiques à ceux que l'on observe dans la polykystose rénale.

Ils peuvent être isolés ou associés à des angiomyolipomes.

5.4.3 Carcinome rénal

Le risque de développer des tumeurs malignes du rein est augmenté chez les patients atteints d'une STB (48).

Ils sont retrouvés dans 4% des cas d'atteinte rénale (43).

Ces tumeurs peuvent être uniques ou multiples, uni- ou bilatérales, et ont une croissance rapide (42).

Elles sont généralement de bon pronostic si le diagnostic a été réalisé précocement.

5.5 Atteintes oculaires

L'atteinte oculaire de la STB est connue depuis les travaux de Van der Hoeve (1930).

Les hamartomes rétiens, appelés aussi phacomés, sont les plus fréquents et se retrouvent dès l'enfance. Leur fréquence est estimée à 40-50% (49). Ces lésions sont souvent asymptomatiques, mais peuvent provoquer dans de rares cas une baisse d'acuité visuelle. Dans ces cas là, elles représentent une grande valeur diagnostique. L'examen du fond d'œil permet de mettre en évidence ces lésions et l'angiographie à la fluorescéine leur composante vasculaire.

On retrouve aussi d'autres atteintes oculaires comme des taches hypopigmentées de l'iris, ou des astrocytomes à cellules géantes de la rétine.

5.6 Atteintes pulmonaires

Elles sont rares et concernent environ 30% des femmes atteintes de STB (17).

Leur découverte est souvent tardive et elles concernent presque exclusivement les femmes en âge de procréer (âge moyen de diagnostic des lésions pulmonaires : 34 ans). Ces résultats appuient la recommandation pour un dépistage par tomodensitométrie pour toutes les femmes atteintes de STB.

L'aspect de ces lésions est identique à la lymphangioléiomyomatose, maladie caractérisée par la présence de nombreux kystes dans le parenchyme pulmonaire. La lymphangioléiomyomatose associée à la STB aurait un phénotype moins étendu avec une atteinte pulmonaire moindre comparé à la lymphangioléiomyomatose sporadique (50). Ces lymphangioléiomyofibromes correspondent à une prolifération de cellules musculaires lisses, anormales, conduisant à des lésions kystiques multiples. La maladie se manifeste généralement par une dyspnée progressive à l'effort. Un pneumothorax, des épanchements pleuraux par obstruction des vaisseaux lymphatiques ou une HTAP sont également des symptômes fréquents.

Parfois, des symptômes tels que la toux et une hémoptysie (par obstruction des vaisseaux sanguins) peuvent être retrouvés. Le scanner thoracique est l'examen de choix pour le diagnostic de la lymphangioléiomyomatose par mise en évidence des lésions kystiques caractéristiques. Les épreuves fonctionnelles respiratoires sont utiles pour évaluer la gravité de l'atteinte pulmonaire (17).

5.7 Atteintes cardiaques

Les rhabdomyomes cardiaques sont des tumeurs bénignes, uniques ou multiples, qui se manifestent en période périnatale. Ces tumeurs sont présentes dans 47-67% des cas (26–28).

Ces rhabdomyomes cardiaques sont généralement découverts par échographie en anténatal et involuent après la naissance. Ils sont détectables dès la 22^{ème} semaine d'aménorrhée (49) et ont une grande valeur diagnostique.

Les manifestations cliniques dépendent de la localisation de ces rhabdomyomes et de leur taille. Ils restent souvent asymptomatiques, mais en cas de localisation auriculaire, ils peuvent entraîner des troubles du rythme, à type de syndrome de Wolff-Parkinson-White.

De très rares cas de tumeurs très volumineuses entraînant une insuffisance cardiaque congestive ont également été décrits.

Après la période néonatale, le pronostic est en général favorable ; il n'a jamais été décrit d'augmentation de volume des hamartomes cardiaques après la naissance.

La surveillance échocardiographique est nécessaire en cas d'abstention thérapeutique pour vérifier l'involution de ces rhabdomyomes.

5.8 Atteintes hépatiques (51)

Dans la littérature, on retrouve une incidence des angiomyolipomes hépatiques de 13 à 23,5% des patients atteints de STB (51).

Ces lésions sont asymptomatiques et ne sont pas décrites comme pouvant être une cause possible de décès. Les hamartomes hépatiques étant rares en dehors de la sclérose tubéreuse de Bourneville, leur présence doit faire rechercher la maladie.

Un examen échographique du foie est par ailleurs recommandé dans le cadre d'une surveillance.

5.9 Atteintes osseuses

Les localisations osseuses sont à type de lésions kystiques siégeant sur les métacarpes, les métatarses ou sur les phalanges des mains et des pieds. On peut également retrouver un épaississement du périoste.

5.10 Atteintes endocriniennes

Des désordres endocriniens ont été décrits au niveau de la thyroïde, parathyroïde, surrénales, hypothalamus, hypophyse et des gonades.

Une puberté précoce (52) ou un déficit en hormone de croissance sont les principales manifestations cliniques retrouvées chez les patients atteints de STB.

De très rares cas d'insulinome et de diabète insipide, survenant généralement à l'âge adulte, ont également été décrits.

6 SYMPTOMATOLOGIE DE L'ATTEINTE NEUROLOGIQUE

L'épilepsie, le retard mental et les troubles du spectre autistique sont les manifestations neurologiques les plus répandues. Mais il existe une grande hétérogénéité dans ces manifestations. Le spectre clinique englobe des patients avec une intelligence normale sans crise épileptique et des patients avec un retard intellectuel profond et une épilepsie sévère.

Ce sont les causes les plus importantes de morbi-mortalité et d'impact sur la qualité de vie du malade et de son entourage.

6.1 Épilepsie

La STB est associée à des crises épileptiques dans plus de 70% des cas (53).

L'épilepsie débute le plus souvent dans l'enfance et sa clinique est très hétérogène. De nombreux types de crises, partielles et généralisées, sont retrouvés chez les patients atteints de STB. Elles sont souvent très difficiles à contrôler avec des traitements conventionnels (54).

Les spasmes infantiles, ou syndrome de West, sont retrouvés dans à peu près 75% des cas d'enfants atteints d'une forme neurologique de STB et constituent un facteur de risque du développement des troubles autistiques (55). Les spasmes infantiles associés à la STB représentent 25% des cas de syndrome de West (Orphanet). Le risque d'évolution vers un syndrome de Lennox-Gastaut est fréquemment rapporté et représente 20 à 50% des patients atteints de spasmes infantiles (56).

Les crises partielles motrices ou complexes sont, après les spasmes infantiles, les plus fréquemment notées. Chez le grand enfant, les différents types de crises : toniques, atoniques ou absences peuvent coexister.

6.2 Retard mental

Il est démontré dans la littérature que le retard intellectuel et les troubles des apprentissages sont étroitement liés avec un antécédent d'épilepsie. Ainsi les antécédents d'épilepsie, et particulièrement de syndrome de West, seraient prédictifs du degré de déficience intellectuelle. On retrouve aussi une corrélation entre l'âge précoce du début des crises et le pronostic intellectuel.

Une étude de Joinson C. et al (57) sur une cohorte de 108 patients atteints de STB montre une distribution bi-modale du coefficient intellectuel : 55,5% des patients avaient un QI dans la fourchette normale avec une moyenne de 93,6 (ce qui est légèrement inférieur à une population normale), 14% ont une légère déficience mentale et 30,5% ont un handicap profond avec un QI inférieur à 21. On notera donc que 44% des patients atteints de STB avérée présentaient un QI inférieur à 70.

Le suivi des capacités intellectuelles de ces patients est effectué par des bilans neuropsychologiques et psychométriques réguliers :

Le WPPSI III (Preschool and Primary Scale of Intelligence), réalisable jusqu'à 7 ans, va donner un quotient intellectuel verbal, un quotient intellectuel performance, un indice de vitesse de traitement et un quotient intellectuel total.

Le WISC4 (Wechsler Intelligence Scale for Children), réalisé de 6 à 16 ans, détermine quatre indices ainsi qu'un quotient intellectuel total. Cette échelle renseigne sur la compréhension verbale et ses différentes composantes, sur le raisonnement perceptif (représentation spatiale, attention, analyse), sur la mémoire de travail ainsi que la vitesse de traitement.

Les déficits de la mémoire chez certains des patients atteints de STB sont probablement liés à mTOR. En effet, mTOR est impliqué dans les mécanismes cellulaires de la mémoire (58).

6.3 Troubles du spectre autistique

La classification internationale de l'OMS le définit comme un « trouble envahissant du développement caractérisé par la présence d'un développement anormal ou déficient qui se manifeste avant l'âge de trois ans, une perturbation caractéristique du fonctionnement dans chacun des trois domaines suivants de la psychopathologie : interactions sociales, communication, comportement au caractère restreint, stéréotypé et répétitif ».

La prévalence des troubles autistiques chez les enfants atteints de STB est très élevée avec des taux variant de 17 à 58% (59,60) alors qu'elle n'est que de 0,4 à 2% (61) dans la population infantile générale.

La cause de l'association entre troubles autistiques et STB reste inconnue, mais certains liens ont été établis :

D'après une étude de De Vries PJ (62), un enfant atteint de déficit intellectuel a plus de risque de développer un trouble autistique.

Une étude de Eluvathingal (63) met en relation les troubles autistiques avec le nombre et la localisation cérébelleuse des tubers corticaux.

Une étude de Bolton PF (64) met en relation la localisation occipitale des tubers corticaux et le risque de développer un trouble autistique.

6.4 Autres troubles

Chez les patients atteints de STB, on retrouve d'autres troubles du comportement tels que des troubles de l'endormissement, une anxiété, une humeur dépressive, une agressivité ou une hyperactivité (62).

7 PHYSIOPATHOLOGIE

7.1 Génétique : perte d'hétérozygotie

L'apparition des tumeurs est liée à une perte d'hétérozygotie (LOH). Selon la théorie de Knudson (65), une première mutation germinale survient dans un premier temps, laissant en place une seule copie fonctionnelle du gène *TSC* avec réduction de 50% de l'activité de la protéine sécrétée. Dans un deuxième temps, survient une deuxième mutation qui emporte l'allèle normal du gène. Cette deuxième mutation somatique n'intéresserait que les cellules précurseurs des cellules musculaires, vasculaires et adipeuses. Cette hypothèse est renforcée par la mise en évidence d'une homozygotie tumorale dans certains hamartomes, alors que les autres cellules de l'organisme restent hétérozygotes. Cette perte d'hétérozygotie expliquerait qu'un individu porteur d'une mutation ne développe des lésions qu'après mutation de l'autre copie du gène.

Cette perte d'hétérozygotie est surtout mise en évidence dans les angiomyolipomes rénaux, les angiofibromes et les rhabdomyomes, mais ne serait pas nécessaire et ne concernerait pas les lésions du système nerveux central, ce qui impliquerait une différence dans les mécanismes de la pathogénie des lésions du SNC et des autres organes (66).

7.2 Suractivation de la voie de signalisation mTOR

Les mutations de *TSC1* ou *TSC2* entraînent une dérégulation du complexe TSC1/TSC2 impliqué dans la voie de signalisation mTOR. Il en résulte une régulation à la hausse de la voie mTORC1.

La dysrégulation de cette voie de signalisation interviendrait dans la tumorigenèse de la STB, mais jouerait aussi un grand rôle dans l'épileptogénèse ainsi que dans les autres manifestations cliniques de la STB.

7.3 Dérégulation de la différenciation, de la prolifération et de la migration cellulaire

L'origine commune de toutes les lésions cérébrales est une cellule de la matrice germinative qui porte la mutation et la transmet à sa descendance lors de la division cellulaire. Cette cellule dysplasique est une cellule géante très primitive qui ne se différencie pas clairement en précurseur de neurones ou d'astrocytes. Elle porte d'ailleurs les caractéristiques des deux cellules.

Ces cellules ne vont pas proliférer normalement. En effet, les lésions cérébrales retrouvées dans la STB sont des masses dysplasiques très cellulaires.

Par ailleurs, elles ne migrent pas correctement et vont être à l'origine des différentes lésions cérébrales observées dans la STB. Soit elles restent dans la matrice germinative et vont être à l'origine des nodules sous-épendymaires ou des astrocytomes à cellules géantes, soit elles migrent partiellement donnant des hétérotopies dans la substance blanche.

Des cellules plus différenciées peuvent également migrer vers le cortex et former les tubers corticaux.

7.4 Relation entre les spasmes infantiles, les tubers et les fonctions intellectuelles (67)

Dans la STB, deux principales hypothèses sont proposées pour expliquer le développement de troubles cognitifs :

- La première est que le nombre de tubers corticaux détermine le niveau cognitif, calculé par le QI.
- La deuxième est que l'historique de spasmes infantiles est déterminant pour les futures fonctions intellectuelles. En effet, chez une personne atteinte de STB, il est très rare de retrouver de grosses difficultés d'apprentissages sans un début précoce de crises épileptiques.

Une étude de O'Callaghan (67) et al, incluant 41 patients atteints de STB, étudie la relation entre le nombre de tubers, l'historique des spasmes infantiles et le QI. Les résultats sont exposés ci-dessous.

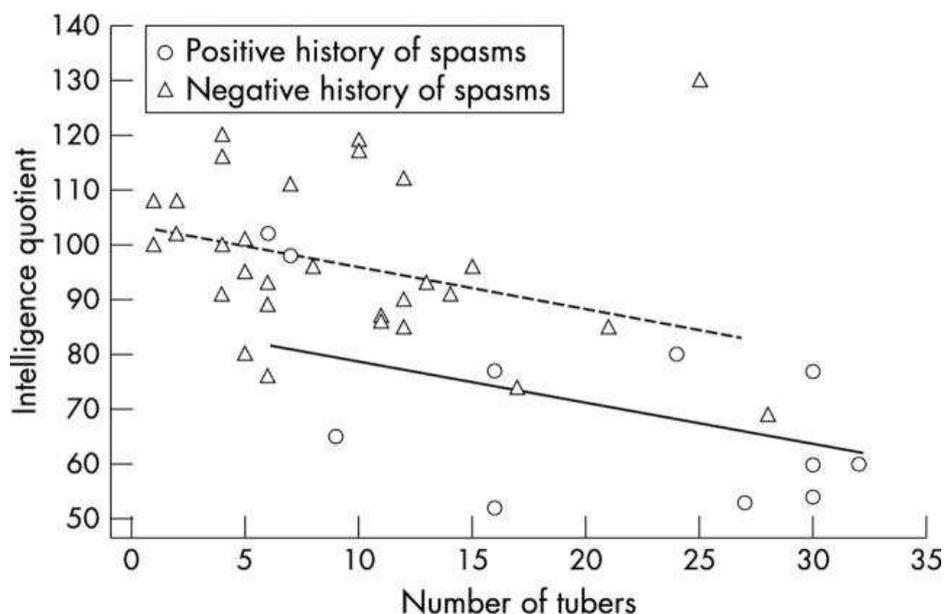


Figure 1 : Relation entre le nombre de tubers, le *QI* et les antécédents de spasmes infantiles (67).

Cette figure montre bien la relation étroite entre le nombre de tubers et le quotient intellectuel ($p < 0,001$). De plus, l'historique de syndrome de West est significativement corrélé au *QI* : ces patients ont un *QI* médian de 70,7 ; comparé à 97,3 pour le groupe sans historique de spasmes infantiles.

La moyenne du nombre de tubers est de 20 pour les patients ayant présenté des spasmes infantiles contre une moyenne de 8 pour l'autre groupe.

Cette étude est la première à montrer que le nombre de tubers et l'historique de spasmes infantiles sont associés aux déficits cognitifs dans la STB indépendamment l'un de l'autre. Cette étude s'intéresse aussi à la corrélation potentielle entre le nombre de tubers dans les différents lobes du cerveau et le *QI*. Il en résulte que seul le nombre de tubers dans le lobe occipital peut être prédictif du *QI* (67).

Par ailleurs, une étude de Zaroff et al (68) concernant 27 patients atteints de STB a prouvé que les troubles intellectuels étaient significativement plus fréquents et plus profonds chez les patients avec des tubers corticaux bilatéraux, comparé aux patients avec des tubers unilatéraux.

7.5 Relation entre les crises épileptiques précoces et les troubles autistiques (69)

Les crises épileptiques précoces peuvent entraîner des déficits cognitifs et des troubles du comportement tels que les troubles du spectre autistique (TSA). Inversement, l'épilepsie est fréquente chez les enfants autistes. Le taux de comorbidité est de 20-25% (70).

La voie mTORC1 serait impliquée dans cette comorbidité en régulant la croissance neuronale, la plasticité synaptique et la consolidation de la mémoire (71).

Talos et al (69), dans une étude réalisée sur un modèle de rongeurs, ont mis en évidence la relation entre l'apparition de crises épileptiques précoces et le développement de TSA. L'induction de crises aiguës chez des nouveaux-nés a mené à une augmentation à long terme de l'excitabilité neuronale, une susceptibilité aux crises, des crises spontanées et au développement de TSA. La relation entre ces manifestations fait intervenir la voie mTORC1.

Malgré le lien clinique entre l'épilepsie et les déficits neuro-comportementaux et la preuve expérimentale que mTORC1 joue un rôle dans l'épileptogénèse à l'âge adulte, il reste de nombreuses interrogations : comment l'apparition de crises précoces peut changer la voie de signalisation mTORC1 et comment ce changement a-t-il un impact sur le comportement et l'épilepsie ?

7.6 Relation entre la microstructure de la substance blanche et les troubles du spectre autistique (tractographie)

La neuro-imagerie permet la détection précoce et la caractérisation des anomalies cérébrales qui peuvent être utiles pour le diagnostic de troubles du spectre autistique. La tractographie a déjà été utilisée pour caractériser les propriétés de diffusion des tubers corticaux chez les patients atteints de STB (72). Néanmoins, la relation entre le nombre, la localisation, le volume des tubers corticaux et les troubles neurologiques reste mal définie. La cause des déficits neurologiques chez les patients atteints de STB est une question non encore résolue.

En plus de l'hypothèse que les tubers corticaux perturbent l'architecture cérébrale locale, les chercheurs ont étudié l'hypothèse que la désorganisation de la substance blanche et les circuits neuronaux anormaux contribuent aux symptômes neurologiques chez les patients atteints de STB. Un tel mécanisme mettrait en relation la déficience intellectuelle et l'autisme. Par conséquent, des études sont en cours pour comprendre ce qui détermine le phénotype clinique et pour identifier des indicateurs pronostiques potentiels. Ces études utilisent la tractographie qui est une IRM avec tenseur de diffusion. C'est l'unique modalité d'imagerie en mesure de caractériser *in vivo* l'architecture et l'intégrité des fibres de la substance blanche. Cette technique permet de quantifier les mouvements des molécules d'eau à l'échelle microscopique en fonction de leur direction préférentielle dans un faisceau de la substance blanche. Avec cette technique, il est possible d'étudier la direction globale du faisceau et de reconstituer le trajet des fibres de la substance blanche. Le nombre de fibres, la fraction d'anisotropie (degré de contrainte des mouvements des molécules d'eau), le taux relatif d'anisotropie, ainsi que la vitesse de diffusion peuvent être calculés.

La substance blanche, d'apparence normale, examinée par tractographie chez des patients atteints de STB a révélé une anomalie diffuse et diffère de celle des sujets contrôles (73). La faible anisotropie fractionnelle chez les patients atteints de STB suggère la présence d'axones peu myélinisés et désorganisés avec baisse de l'intégrité structurelle (74,75). De même, chez les patients atteints de STB, la tractographie a permis d'identifier une myélinisation anormale ainsi qu'une astroglie. Cette même substance blanche n'a révélé aucune anomalie à l'IRM conventionnelle (76,77).

L'étude de Krishnan et al (78) a révélé des différences de régions impliquées dans le traitement des stimuli sociaux, auditifs et visuels, chez des patients atteints de STB comparé au groupe contrôle. Compte tenu de la fréquence élevée de l'autisme et des troubles du comportement dans la STB, ce constat soulève la question de savoir si cette anomalie du faisceau dans la substance blanche est corrélée avec le phénotype comportemental et cognitif. Des différences dans les caractéristiques de diffusion ont été trouvées principalement dans le tractus gastro-géniculocalcarine et dans le bourrelet du corps calleux (qui sont tous deux fortement impliqués dans la transmission de l'information visuelle), dans la branche antérieure de la capsule interne et dans le gyrus temporal supérieur.

Une étude de Peters et al (79) s'est focalisée sur l'anisotropie fractionnelle moyenne (AFA) chez des patients atteints de STB. Résultat : les patients atteints de STB + TSA ont eu des valeurs significativement plus faibles par rapport aux patients STB sans TSA qui ont des

valeurs de l'AFA similaires au groupe témoin.

Dans des études sur des enfants atteints d'autisme idiopathique, l'analyse des corps calleux par tractographie a identifié des anomalies (80,81). Le corps calleux représente une des voies inter-hémisphérique majeure. Des anomalies de la microstructure de cette voie seraient liées au développement anormal du cerveau avec des fonctions altérées. Cette étude de Peters et al (79) confirme une microstructure anormale de la substance blanche des corps calleux chez les patients atteints de STB et encore plus chez les patients STB + TSA. Le constat des différences de l'AFA soulève la possibilité d'utiliser l'AFA du corps calleux comme un biomarqueur précoce pour prédire les troubles autistiques dans une population STB.

Le but de l'étude de Lewis et al (82) a été d'examiner la relation entre les voies du langage et les troubles du spectre autistique chez les patients atteints de STB. Le faisceau arqué (AF) est une voie importante du langage dans le cerveau humain reliant l'aire de Broca dans le lobe frontal à l'aire de Wernicke dans le lobe temporal. Des travaux antérieurs sur les TSA idiopathiques (83,84) ont suggéré que l'AF, dans son ensemble, a été modifié chez les patients atteints de TSA. Lewis et al ont choisi d'étudier si les changements dans la fraction d'anisotropie (FA) ont également été trouvés chez les patients STB atteints de TSA, mais aussi de déterminer s'ils étaient spécifiques à un segment particulier. Les patients atteints de STB sans TSA ont eu une FA dans le faisceau arqué inférieur au groupe contrôle. Les patients atteints de STB + TSA ont même eu une FA inférieure à la FA des patients STB sans TSA.

La question se pose : pourquoi existe-il de telles différences de phénotype neuropsychologique notamment au niveau des troubles du syndrome autistique (différence au niveau du langage et du comportement social) chez les patients atteints de STB ? Les résultats de l'étude sur le faisceau arqué suggèrent que la voie du langage peut servir de marqueur du risque de TSA chez les patients atteints de STB.

8 DIAGNOSTIC

Le diagnostic engage le médecin à plusieurs niveaux :

- diagnostique : pour une prise en charge précoce de la maladie.
- pronostique : par la recherche de localisations asymptomatiques.
- préventif : au niveau familial par le conseil génétique.
- pathogénique : dans le cadre d'une corrélation génotype/phénotype.

Il est essentiel de remarquer que toutes les manifestations ne surviennent pas au même âge et n'ont pas le même profil évolutif.

8.1 Diagnostic positif

8.1.1 Les critères diagnostiques

Le diagnostic repose sur des critères cliniques. Mais les examens radiologiques et plus rarement histologiques peuvent aider.

Étant une maladie génétique, la STB est présente dès la naissance mais le diagnostic n'est souvent établi que plus tardivement. Chez les enfants, les manifestations de la maladie peuvent être plus discrètes que chez les adultes, dans ce cas, le diagnostic est plus difficile à poser. Il faut toujours garder en tête qu'il existe une grande variabilité interindividuelle en terme de phénotype.

Dans les années 80, Gomez MR a classé les critères de diagnostic de la maladie en fonction de leur valeur prédictive. Les critères majeurs étaient considérés comme pathognomoniques et donc la présence d'un seul de ces critères suffisait pour établir le diagnostic de la STB. Les critères mineurs, eux, ne permettaient pas d'affirmer un diagnostic mais seulement de l'orienter (85).

Ces critères ont été modifiés en juin 1998 lors de la conférence de consensus sur la STB et sont encore utilisés en pratique clinique. Ces nouveaux critères diagnostiques (2) sont, eux aussi classés en deux catégories : critères majeurs et mineurs.

Critères majeurs	Critères mineurs
Angiofibromes faciaux	Défaut de l'émail dentaire : trous multiples à répartition diffuse
Adénomes sébacés	Polypes rectaux hamartomateux
Fibromes unguéaux, péri-unguéraux de Koënen	Kystes osseux
Taches achromiques (plus de 3)	Anomalie de la substance blanche : troubles de migration radiale
Plaques « peau de chagrin »	Fibromes gingivaux
Phacomés rétiens multiples	Hamartomes non rénaux
Nodules sous-épendymaires multiples et/ou calcifiés	Taches achromiques de la rétine
Tubers du cortex cérébral	Lésions cutanées en « confetti »
Astrocytomes à cellules géantes sous-épendymaires	Kystes rénaux multiples
Rhabdomyomes cardiaques	
Lymphangioliéomyomatose pulmonaire	
Angiomyolipomes rénaux	

Tableau 3 : Critères diagnostiques de la sclérose tubéreuse de Bourneville : d'après Roach et al 1998 (2).

La présence d'une combinaison de signes classés comme majeurs ou mineurs est nécessaire afin d'établir le diagnostic clinique.

- La présence de deux critères majeurs ou d'un critère majeur et deux mineurs établit une **STB certaine**.
- La présence d'un critère majeur et d'un critère mineur évoque une **STB probable**.
- La présence d'un critère majeur ou de deux critères mineurs oriente vers une **STB possible**.

Exceptions :

Un tuber cortical unique associé à des lignes de migration de la substance blanche constitue un critère majeur.

L'association d'une lymphangioliéomyomatose et d'un angiomyolipome rénal nécessite un autre critère pour que le diagnostic de STB soit retenu.

Le diagnostic peut être évident dans les formes classiques avec présence d'une épilepsie, retard mental, signes cutanés; mais les signes cliniques peuvent aussi être plus discrets voire quasi inexistants. De plus, de nombreuses manifestations de la STB ne sont pas spécifiques et peuvent apparaître de manière isolée, ou être un des symptômes d'une autre affection.

8.1.2 Examens complémentaires

Les examens complémentaires vont aider au diagnostic lorsque les manifestations cliniques sont discrètes, ils permettent aussi d'évaluer les atteintes afin d'élaborer le pronostic. Ces examens servent aussi à surveiller l'évolution de la maladie.

- Interrogatoire sur les antécédents médicaux, à la recherche de symptômes de la STB.
- Antécédents familiaux.
- L'examen de la peau sous lumière de Wood permet de mettre en évidence les taches achromiques.
- Un examen ophtalmologique avec fond d'œil et l'angiographie à la fluorescéine recherchent des phacomés réiniens.
- L'échographie rénale permettra de mettre en évidence les tumeurs et les kystes.
- L'échographie cardiaque recherche des rhabdomyomes.
- Un examen en résonance magnétique nucléaire encéphalique (IRM) est proposé de manière régulière et systématique. Cet examen permet de rechercher la présence ou l'évolution des lésions caractéristiques de la STB (tubers corticaux, nodules sous-épendymaires et astrocytomes sous-épendymaires à cellules géantes).
- Un électroencéphalogramme en cas de crises convulsives. L'EEG précise le tracé de fond et le type d'anomalie paroxystique, donc le type d'épilepsie.
- Une évaluation du développement neuropsychologique et comportemental.
- Une consultation de génétique médicale.

8.1.3 Surveillance

Dès le diagnostic établi, une surveillance personnalisée doit être mise en place pour étudier l'évolution des lésions préexistantes ou pour le diagnostic éventuel de nouvelles lésions.

Une IRM cérébrale doit être systématique avant 2 ans ainsi qu'un bilan complet (clinique, ophtalmologique, cardiologique, dermatologique, rénal), tous les 3 à 6 mois puis tous les ans. Ces rendez-vous sont moins fréquents à l'âge adulte.

8.2 Les tests génétiques (30)

Dans la plupart des cas, il s'agit d'une néo-mutation. Cette néo-mutation ne peut être confirmée que par un examen clinique complet des parents et une analyse génétique des gènes mis en cause dans la maladie. Si aucun des deux parents n'est porteur de la mutation, le risque d'avoir un deuxième enfant malade est de l'ordre de 1 à 2%. Ce pourcentage correspond à la probabilité que l'un des parents soit alors porteur d'une mosaïque germinale. C'est un phénomène rare, mais qu'il ne faut pas négliger. Cette mosaïque germinale ne peut pas être mise en évidence par les tests génétiques. Dans ce cas, un diagnostic prénatal peut être proposé au couple même si le risque est faible.

Dans 20 à 40% des cas, un des deux parents est porteur de la mutation qu'il en ait connaissance ou pas. Dans ce cas, le risque de récurrence à chaque grossesse est de 50%.

8.2.1 Confirmation diagnostique chez le sujet atteint

Pour toute étude moléculaire de STB chez un patient atteint, le clinicien prescripteur doit remplir une fiche de renseignements phénotypiques concernant le patient ainsi que ses proches parents afin de réaliser une étude familiale. Des changements de séquences non répertoriés dans la littérature peuvent être ainsi identifiés et enrichir les bases de données.

Pour environ 20% des patients, aucune mutation n'est détectée.

8.2.2 Stratégie diagnostique pour l'analyse des gènes *TSC1* et *TSC2* dans le cadre d'un diagnostic génétique de sclérose tubéreuse de Bourneville

- Recherche de délétion dans *TSC1* ou *TSC2* par Multiplex Ligation-dépendent Probe Amplification (MPLA) ou autres techniques
- ou
- Étude de l'exon *TSC1* ou *TSC2* par Denaturing High Performance Liquid Chromatography (DHPLC) et séquençage
- ou
- Étude de l'ARNm de *TSC1* ou *TSC2* par Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) et séquençage

Cette stratégie donne les lignes directrices mais chaque cas est particulier et certains peuvent nécessiter la mise en œuvre de techniques complémentaires.

8.2.3 Diagnostic prénatal

Les difficultés du diagnostic prénatal sont liées d'une part à la fréquence des mutations sporadiques (pas d'antécédents familiaux) et d'autre part par l'expressivité variable du gène qui rend difficile le dépistage familial.

8.2.3.1 Imagerie

L'échographie de routine est le seul examen pouvant orienter le diagnostic de novo par la mise en évidence de rhabdomyomes cardiaques qui peuvent apparaître dès la 22^{ème} semaine d'aménorrhée (86). La présence de ces tumeurs cardiaques n'affirme pas le diagnostic de STB. Néanmoins, la probabilité en est d'autant plus élevée qu'il y a plusieurs tumeurs.

Les tumeurs cérébrales ne peuvent pas être détectées à l'échographie, sauf si elles ont un retentissement important sur les structures médianes (87). L'IRM in utero est réalisée s'il existe des signes d'appel à l'échographie de routine et est le seul examen qui peut authentifier les tubers corticaux.

Si dans la famille, il y a au moins une personne atteinte de STB mais que la mutation n'est pas connue, le diagnostic prénatal est réalisé par échocardiographie et une IRM cérébrale fœtale à 30 semaines d'aménorrhée. Cependant, ces examens ne permettent pas de déceler tous les cas de STB en anténatal.

8.2.3.2 Diagnostic prénatal moléculaire

Ce diagnostic prénatal est réalisé dans deux cas précis :

- au moins une personne atteinte de STB dans la famille



la mutation est connue dans la famille



diagnostic prénatal par analyse moléculaire du gène (prélèvement par amniocentèse et/ou choriocentèse)

- pas de cas connu dans la famille et l'échographie prénatale a mis en évidence chez le fœtus des rhabdomyomes cardiaques



réalisation d'une IRM cérébrale et proposition au couple d'un diagnostic prénatal génétique (prélèvement par ponction des villosités choriales)



vérification systématique de la non contamination maternelle du prélèvement ainsi que l'étude parallèle des parents.

8.3 Diagnostics différentiels

8.3.1 Lésions dermatologiques

Les taches achromiques : Elles peuvent s'observer chez des personnes indemnes de toute maladie ou entrer dans le cadre de maladies de la peau.

- Le leucoderme post-inflammatoire. Si l'anamnèse révèle une dermatose inflammatoire, dans ce cas, le diagnostic de leucoderme post-inflammatoire peut être évoqué.
- Le pityriasis versicolor : les lésions peuvent s'accompagner d'une fine desquamation. Le « scotch test » permet de réaliser un échantillon. L'observation microscopique révèle des amas de levures en forme de grappe de raisin. À la lampe de Wood, on observe une fluorescence pâle de couleur jaune verdâtre. Le traitement de l'échantillon par l'hydroxyde de potassium révèle la présence de levures.
- Le pityriasis alba est une affection de type eczématiforme. L'érythème initial évolue vers une dépigmentation qui va par la suite laisser la place à une macule hypopigmentée, finement squameuse puis tout à fait lisse.
- Leucodermie chimique : on retrouve à l'interrogatoire un antécédent d'exposition à des produits chimiques tels que les désinfectants phénoliques.
- Lèpre : la maladie se regroupe en zone endémique.
- Sclérodémie de type Morphée : elle débute par une tache rosée lilacée dont le centre devient progressivement blanc nacré brillant et induré, impossible à plisser mais qui reste entouré d'un halo rose lilacé.
- Vitiligo : on retrouve des macules ou plaques hypochromiques qui évoluent en dépigmentation complète. Un traumatisme local, par exemple un frottement, provoque l'apparition de ces taches dépigmentées.
- Lupus érythémateux hypopigmenté : on retrouvera d'autres caractéristiques cliniques du lupus.
- Piébaldisme : c'est une maladie héréditaire à transmission autosomique dominante caractérisée par des zones de dépigmentation cutanée. Une dépigmentation d'une mèche de cheveux est souvent retrouvée.
- Naevus anémique est une malformation vasculaire congénitale et localisée.
- Syndrome de Vogt-Koyanagi-Harada avec présence d'une poliose affectant les cils et les sourcils et plus rarement le cuir chevelu et les cheveux.

Les fibromes unguéaux :

- Exostose sous-unguéale : c'est une excroissance osseuse pouvant résulter d'un traumatisme touchant le gros orteil et placé sous les ongles.

Angiofibromes du visage :

- Acné vulgaire chez l'adolescent ou l'adulte ou acné rosacée. Le risque est de ne pas penser aux angiofibromes de la sclérose tubéreuse de Bourneville qui peuvent parfois constituer la seule manifestation clinique de la maladie.
- Naevus conjonctifs.
- Trichoepithelioma Papulosum Multiplex.

La biopsie permet de facilement les différencier entre eux.

8.3.2 Les atteintes rénales, cardiaques et pulmonaires

Ces trois manifestations peuvent aussi survenir chez des personnes n'ayant pas de STB.

Les kystes rénaux peuvent s'observer dans la population générale, mais les cas dans une population inférieure à 30 ans sont très rares (88).

C'est surtout l'association de plusieurs manifestations plus que ces manifestations prises isolément, qui permet d'orienter vers ou d'établir le diagnostic de la maladie.

8.3.3 Les lésions du SNC

Ces lésions sont caractéristiques de la STB.

9 TRAITEMENT

Il n'y a pas à ce jour de traitement spécifique de la STB, la prise en charge se concentre sur le contrôle des différentes manifestations.

9.1 Traitement des manifestations neurologiques

9.1.1 Traitement de l'épilepsie

9.1.1.1 Stratégie thérapeutique

La prise en charge médicale de l'épilepsie suit certaines règles et doit être adaptée au type de crises ainsi qu'au patient. Cette prise en charge vise à prévenir, soulager et traiter les crises épileptiques.

La démarche diagnostique pour établir le type d'épilepsie repose sur un examen clinique approfondi associé à un interrogatoire de l'enfant et de son entourage. Ce diagnostic est conforté par l'EEG qui est la seule technique pouvant argumenter le diagnostic positif de la crise épileptique. Il prend aussi en compte le degré de sévérité de la maladie et la recherche des complications éventuelles. La maladie, son évolution ainsi que les traitements (effets secondaires, absence de contre-indication) doivent être expliqués au patients.

Le choix de la molécule est guidé par le type et l'étiologie de la crise et du syndrome épileptique, l'âge et les caractéristiques du patient ainsi que la balance bénéfice/risque de la ou des molécules utilisées.

Le traitement est toujours initié par une monothérapie. L'efficacité du traitement sera évaluée en fonction de la fréquence des crises avant l'instauration du traitement, de la molécule utilisée et repose sur la persistance des crises, leur durée ainsi que leur fréquence. En cas d'inefficacité de la première monothérapie, une seconde ligne de monothérapie est débutée après s'être assuré de la bonne observance du traitement. Un ajustement thérapeutique avec augmentation de la dose se fait selon l'efficacité clinique, les effets secondaires et la posologie théorique rapportée au poids. Après échec de cet ajustement de dose, une bithérapie est instaurée.

À chaque modification du traitement, il est recommandé de varier les classes thérapeutiques utilisées et de modifier la posologie d'un seul antiépileptique à la fois. Une épilepsie est dite pharmacorésistante si les 3 premières lignes de traitement bien conduites ont échoué ; dans ce cas-là une évaluation chirurgicale doit être réalisée.

Le traitement par les antiépileptiques doit être arrêté progressivement afin d'éviter l'apparition d'un phénomène rebond.

L'éducation thérapeutique d'un patient épileptique est essentielle pour améliorer la conduite à tenir face aux crises, pour la compréhension des bénéfices de son traitement, pour l'adoption d'une l'hygiène de vie et une organisation de la vie quotidienne des plus adaptées.

9.1.1.2 Physiopathologie de l'épilepsie

La physiopathologie des épilepsies est méconnue. Les hypothèses les plus fréquemment retenues sont soit une diminution de l'inhibition GABAergique, soit une augmentation de l'activation par les excitateurs centraux (glutamate, aspartate). Ces anomalies provoqueraient une hyperexcitabilité neuronale à l'origine de la crise. L'objectif thérapeutique est d'améliorer la qualité de vie de l'enfant par suppression ou diminution de la fréquence et/ou de la sévérité des crises tout en préservant le développement moteur et cognitif.

9.1.1.3 Mécanismes d'action des antiépileptiques

L'action des antiépileptiques va s'exercer sur trois mécanismes principaux :

- Mécanismes favorisant l'action de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA) : Inhibition de sa dégradation par la GABA-transaminase, activation du récepteur GABA, inhibition de la recapture du GABA.
- Mécanismes bloquant la transmission glutamatergique : inhibition de l'action du glutamate sur certains récepteurs et modulation du récepteur N-Methyl-D-aspartate (NMDA).
- Mécanismes bloquant les canaux cationiques : blocage des canaux calciques de type T (transitoires) dans les neurones thalamiques, et blocage des canaux sodiques.

9.1.1.4 Traitement des spasmes infantiles par le Vigabatrin

En pratique, tous les antiépileptiques peuvent être utilisés dans la STB, mais une place à part est réservée au vigabatrin (Sabril®). Il est le traitement de choix en première ligne thérapeutique et en monothérapie, des spasmes infantiles (syndrome de West). Le vigabatrin est un antiépileptique dont le mécanisme d'action est clairement défini. Il entraîne une augmentation de la concentration du GABA. Le vigabatrin est un inhibiteur irréversible et sélectif de la GABA transaminase, enzyme responsable du catabolisme du GABA (RCP Sabril®). La FDA l'a approuvé pour le traitement des spasmes infantiles même s'il a des effets secondaires importants. Une étude de Curatolo et al (89) a mis en évidence l'efficacité du vigabatrin. En moins de 10 jours, 95% des enfants traités par vigabatrin avec une dose de 100 mg/kg/j, ont présenté un arrêt des spasmes infantiles.

Les spasmes infantiles sont souvent résistants aux antiépileptiques classiques mais répondent au vigabatrin. De plus, la cessation des spasmes est associée à une nette amélioration du comportement et du développement mental (89).

Des états de somnolence peuvent être provoqués à l'instauration du traitement, pouvant dans certains cas réaliser un tableau d'encéphalopathie aiguë et réversible à l'arrêt du traitement. Ces effets indésirables peuvent être diminués par des posologies lentement progressives. La survenue d'effets secondaires d'apparition tardive, comme une réduction concentrique du champ visuel périphérique, s'observe chez 50% des patients (89). Un examen du champ visuel est donc nécessaire en début de traitement, puis tous les 3 mois pendant les 18 premiers mois, puis enfin tous les 6 mois pendant toute la durée du traitement (90). Cette surveillance reste difficile voire impossible chez les enfants de moins de 6 ans.

9.1.1.5 Traitement par les antiépileptiques classiques

Molécule Spécialité	Forme galénique	Posologie	Mode d'action	Indications	Effets indésirables majeurs
Première génération					
Valproate de sodium (VPA) Depakine® Depakine chrono® Micropakine®	Sol. Buv Sirop cp 200, 500 mg cp LP sécable 500 mg	20-30 mg/kg/j 2 prises (3 prises pour sol buvable)	Potentialisation d'une inhibition régulée par le GABA par l'intermédiaire d'un effet présynaptique sur le métabolisme du GABA et/ou d'un effet post-synaptique direct sur les canaux ioniques de la membrane neuronale.	<ul style="list-style-type: none"> • Crises généralisées • Crises partielles 	Somnolence Vertiges Prise de poids Troubles digestifs Bilan hépatique et pancréatique Chute de cheveux Tremblements Présence possible de granules dans les selles → Eviter la prise avec boisson gazeuse, lait
Carbamazépine (CBZ) Tégrétol®	Sol buv cp sécable 200 mg cp LP 200, 400 mg	10-20 mg/kg/j forme LI : 2 ou 3 prises forme LP : 2 prises	Stabilise l'excitation excessive des membranes nerveuses, ralentit les décharges neuronales répétitives et réduit la propagation synaptique des impulsions excitatrices.	<ul style="list-style-type: none"> • Crises tonico-cloniques et épilepsies partielles 	Prise de poids Éruption cutanée, Prurit, Nausées, Ataxie, Vertiges Somnolence Hyponatrémie Bilan hématologique → Risque d'inefficacité des œstrogénostatifs → Éviter : jus de pamplemousse et repas gras

Phénytoïne Dilantin® Di-hydan®	Susp inj (250 mg/5 mL) Cp sécable 100 mg	DC : 15-20 mg/kg (IV) DE : 5-8 mg/kg/j (PO) 1 ou 2 prises	déprime les excitations répétitives aussi bien sur les neurones que sur les fibres nerveuses car elle réduit la potentialisation post-tétanique en hyperpolarisant la membrane cellulaire. Elle réduit donc l'excitabilité et la conductibilité. Elle semble inhiber les voies afférentes	• Crises tonico-cloniques et épilepsies partielles	Bilan hématologique Réaction anaphylactique Troubles digestifs, Hypertrophie gingivale Céphalées, Vertiges Carence vitamines D → Éviter : repas gras → Séparer la prise de Mg et Ca d'au moins 2h,
Phénobarbital Gardenal® Kaneuron® Alepsal® Aparoxal®	Cp 10, 50, 100 mg inj 200 mg/4 mL Inj 40 mg/2 mL Sol buv Cp 15, 50, 100, 150 mg	DC : 15-20 mg/kg (IV) DE : 3-4 mg/kg/j (PO) 1 prise	élève le seuil épileptogène et inhibe la propagation de l'activité épileptique en potentialisant l'effet du GABA.	• Traitement des épilepsies généralisées et partielles	Somnolence Bilan rénal et hépatique → Inhibiteur enzymatique → Prise le soir au coucher → Sol. buv : dilution → Cp : écrasable
Benzodiazépine Clobazam Urbanyl® Clonazepam Rivotril® Diazepam Valium® Midazolam Buccolam® Nitrazepam Mogadon®	Cp sécable ,gel Sol buv Inj. Sol. Bucc	0.3-1 mg/kg/j 2 prises 0.05-0,1 mg/kg/j 2 ou 3 prises IV ou IR : 0,5 mg/kg/prise 10 mg 5mg	Les benzodiazépines se fixent spécifiquement sur le récepteur GABA-A entraînant la pénétration de ions Cl ⁻ et une hyperpolarisation cellulaire. Ce sont des agonistes qui favorisent l'ouverture du canal Cl par le GABA et ont donc un effet inhibiteur.	• État de mal épileptique	Somnolence Hypotension Déresse respiratoire Dépendance Tolérance Phénomène de rebond Trouble du comportement Amnésie
Éthosuccimide Zarontin®	Sol buv	20-30 mg/kg/j 2 prises	Il supprime l'activité paroxystique pointes-ondes à 3 cycles par seconde, associée aux pertes de conscience, caractéristiques des crises d'absences.	• Spécifique des absences	Douleurs abdominales, Vomissements Hirsutisme → Dilution dans le lait possible
Deuxième génération					
Lamotrigine Lamictal®	Cp 25,50 mg cp dispersible 2, 5, 25, 50,100 mg	5-15 mg/kg/j 1 ou 2 prises	La lamotrigine agit au niveau des canaux sodiques sensibles aux potentiels d'action en stabilisant la membrane neuronale et empêche la libération d'acides aminés neurotransmetteurs excitateurs, notamment celle du glutamate et de l'aspartate.	• En association dans les épilepsies partielles et généralisées. • En monothérapie dans les absences typiques.	Allergie cutanée (syndrome de Lyell notamment en cas d'association avec le Valproate) Conjonctivite Photosensibilité
Vigabatrin Sabril®	Cp sécable 500 mg Sach. 500 mg	Ep. partielle : 50-80 mg/kg/j 2 prises Spasmes : 100-150 mg/kg/j 2 prises	augmentation de la concentration du GABA : inhibiteur irréversible et sélectif de la GABA transaminase, enzyme responsable du catabolisme du GABA	• Syndrome de West	Rétrécissement concentrique du champ visuel → Suivi ophtalmologique Somnolence à l'initiation

Oxcarbamazépine Trileptal®	Sol buv cp sécable 150, 300, 600 mg	10-40 mg/kg/j 2 prises	blocage des canaux sodiques voltage-dépendants, ce qui a pour effet de stabiliser les membranes neuronales hyperexcitées, d'inhiber les décharges neuronales répétitives et de diminuer la propagation des influx synaptiques.	• Crises épileptiques partielles	Éruption cutanée Céphalées, Hyponatrémie, Prise de poids Nausées, Ataxie, Vertiges → Risque d'inefficacité des oestrogénostatifs
Topiramate Eptimax®	Gel 15, 25, 50 mg cp 50, 100, 200 mg	1-9 mg/kg/j 2 prises	le mécanisme précis par lequel il exerce son effet anticonvulsivant n'est pas connu.	• En monothérapie dans l'épilepsie partielle + les crises tonico-cloniques généralisées à partir de 6 ans. • En association à partir de 2 ans dans les mêmes indications.	Anorexie, Perte de poids Trouble de l'humeur Risque de glaucome → Suivi ophtalmologique Lithiase rénale, Acidose métabolique → Bilan rénal
Felbamate Taloxa®	Sol buv cp sécable 400, 600 mg	15-45 mg/kg/j 2 prises	Son mécanisme d'action précis n'est pas élucidé.	Il n'est pas indiqué comme traitement antiépileptique de première intention	Agranulocytose Insuffisance hépatocellulaire aiguë Bilan biologique : NFS/plaquettes, ALAT/ASAT, bilirubine, GGT. → Toutes les 2 sem. pendant 6 mois, puis 1 fois par mois
Gabapentine Neurontin®	Gel 100, 300, 400 mg Cp 600, 800 mg	10-50 mg/kg/j 2 ou 3 prises	Le mode d'action exact de la gabapentine n'est pas connu	• En association dans le traitement des épilepsies partielles à partir de 6 ans. • En monothérapie dans le traitement des épilepsies partielles à partir de 12 ans.	Perte d'appétit Vertiges Somnolence
Stiripentol Diacomit®	Sach. 250, 500 mg Gel 250, 500 mg	75-100 mg/kg/j 2 ou 3 prises	Il potentialise l'effet d'autres anticonvulsifs tels que carbamazépine, valproate de sodium, phénytoïne, phénobarbital et de nombreuses benzodiazépines	• En association au valproate de sodium et au clobazam dans le traitement des convulsions tonico-cloniques généralisées chez des patients atteints d'une épilepsie myoclonique sévère.	Trouble du sommeil, Irritabilité Neutropénie → bilan hématologique et hépatique) Interaction médicamenteuse : → Réduire de 30 % le VPA et de 25 % la CBZ
autres					
Lévétiracétam Keppra®	Inj 100 mg/mL(G) Sol buv 100 mg/mL(G) Cp 250, 500 mg(G)	15-60 mg/kg/j 2 prises	son mécanisme d'action n'est pas complètement élucidé	• En monothérapie dans les crises partielles à partir de 16 ans. • En association dans les crises partielles à partir de 1 mois. • Traitement des crises myocloniques à partir de 12 ans. • Traitement des crises généralisées tonico-cloniques à partir de 12 ans.	Somnolence, Troubles de l'humeur et du comportement, Vertiges

Zonisamide Zonegran®	Gel 25, 50, 100 mg	25-500 mg/j En 1 à 2 prises	son mécanisme d'action n'est pas totalement élucidé, mais il semblerait qu'il agisse sur les canaux sodiques et calciques voltage-dépendants,	<ul style="list-style-type: none"> • Monothérapie dans le traitement de l'épilepsie partielle avec ou sans généralisation secondaire, chez le patient adulte présentant une épilepsie nouvellement diagnostiquée. • En association dans le traitement de l'épilepsie partielle avec ou sans généralisation secondaire chez les adultes, adolescents et enfants à partir de 6 ans. 	Lithiase rénale, Acidose → Suivi fonction rénale notamment en cas d'association avec le topiramate
Lacosamide Vimpat®	Cp 50, 100, 200 mg Sirop 10 mg/mL (50 mg/graduati on)	50-400 mg/j En 2 prises	Le mécanisme d'action n'est pas complètement élucidé	<ul style="list-style-type: none"> • En association dans le traitement des crises partielles chez l'adulte et l'adolescent (16 -18 ans) 	Fonction rénale Fonction hépatique Céphalées Vertiges Allongement de l'intervalle PR
Rufinamide Inovelon®	Cp sécable 100, 200, 400 mg	< 30 kg : Sans VPA : 200-3 600 mg/j Avec VPA : 200-600 mg/j 30-70 kg : 400-4 000 mg/j En 2 prises	Le rufinamide module l'activité des canaux sodiques, prolongeant leur état inactif	<ul style="list-style-type: none"> • Traitement adjuvant des crises d'épilepsie associées au syndrome de Lennox-Gastaut chez les patients âgés de 4 ans ou plus. 	Interaction médicamenteuse → Diminuer la posologie du Rufinamide en cas d'association avec l'acide valproïque. Céphalées Vertiges Asthénie modérée → Prendre au cours d'un repas → Écrasement possible → Dilution dans l'eau possible

Tableau 4 : Synthèse des antiépileptiques.

9.1.1.6 Suivi thérapeutique

Le suivi thérapeutique se réalise en premier au niveau clinique, le praticien va relever la fréquence et la sévérité des crises ainsi que l'apparition d'effets indésirables imputables aux antiépileptiques comme des troubles du comportement, des problèmes ophtalmologiques, cutanés, gastro-intestinaux. Une surveillance biologique est aussi nécessaire avec réalisation d'hémogrammes, de bilans de la fonction hépatique et de la fonction rénale, ammoniémie et bilirubinémie. Les bilans biologiques ne sont pas réalisés en systématique mais souvent en cas de suspicion d'effets indésirables. La plupart des antiépileptiques ont une marge thérapeutique étroite ainsi qu'une variabilité pharmacocinétique importante. De nombreux antiépileptiques sont des substrats enzymatiques : inducteurs enzymatiques comme le phénobarbital, la phénytoïne, la carbamazépine et l'oxcarbamazépine ou inhibiteurs enzymatiques comme le valproate, le felbamate et le stiripentol. Cet effet enzymatique est à l'origine de nombreuses interactions médicamenteuses.

9.1.1.7 Générique et substitution

Au sein de la communauté médicale, il existe une controverse quant à la substitution obligatoire des antiépileptiques. La loi n'exige pas une correspondance à 100% entre le médicament princeps et le générique. Même si le principe actif est identique, les excipients peuvent différer, ce qui peut modifier les propriétés galéniques. Une marge de 20% est tolérée entre la biodisponibilité du princeps et du générique avec un intervalle de confiance de 90%, ce qui signifie que 10% des génériques peuvent être au-delà de cette limite de 20%.

Plusieurs études chez des patients épileptiques ont montré que la biodisponibilité de formulations génériques pouvaient varier de 74 à 142% par rapport à la biodisponibilité du princeps (91). Or les antiépileptiques sont des médicaments à marge thérapeutique étroite.

L'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des Produits de Santé (ANSM) a engagé, en avril 2007, une démarche d'évaluation sur les effets de la substitution des médicaments antiépileptiques. La responsabilité des médicaments génériques n'a pu être affirmée dans la survenue de crises épileptiques observées chez les patients à l'occasion de la substitution d'un médicament antiépileptique. Les données disponibles n'ont pas permis d'apporter la démonstration scientifique d'une relation entre la substitution et le déséquilibre de l'épilepsie.

À contrario, une étude de Berg et al en 2008 (92), chez des patients épileptiques contrôlés sous médicaments princeps, affirme que la substitution d'un princeps par un générique peut entraîner des convulsions et qu'il peut donc y avoir un risque quant au passage du princeps à une marque générique.

En France, l'Académie de médecine a émis un rapport sur les génériques le 14 février 2012 dans lequel elle reconnaît le bénéfice apporté en termes d'économie des dépenses de santé. Néanmoins, elle signale le risque encouru par la substitution des médicaments à marge thérapeutique étroite. Elle recommande donc, en accord avec le Centre National de Pharmacovigilance (CNPV), une utilisation prudente des génériques pour ces médicaments. Elle recommande aussi un suivi étroit de pharmacovigilance et de pharmacoépidémiologie sur tous les génériques ainsi qu'une mise à disposition par les pharmacies d'officine de toutes les marques de génériques (93).

Il n'y a pas de position claire sur la conduite à tenir ; il est donc nécessaire aujourd'hui de réaliser des études plus approfondies sur les risques de substitution des antiépileptiques.

La CPAM a délivré un message aux officinaux précisant que la substitution des antiépileptiques n'était plus obligatoire.

9.1.1.8 Traitement dans le cas particulier de co-morbidité épilepsie/autisme

Une étude de Gillberg et al (94) dénonce les effets néfastes des anticonvulsivants sur les symptômes de l'autisme (retrait, inertie, manque de motivation) avec des effets sur le comportement, la cognition et le langage mais il expose l'amélioration de la symptomatologie autistique sous carbamazépine.

La lamotrigine a été étudiée (95) chez 45 enfants et adolescents atteints d'épilepsie réfractaire. La plupart de ces enfants avaient des troubles neurologiques associés comme un retard mental et/ou un syndrome autistique. Pour 24 des 45 enfants traités par la lamotrigine, les parents ont signalé une amélioration de leur état mental avec une augmentation de la durée de concentration et une augmentation de la vigilance. Chez 8 des 13 enfants autistes, les symptômes ont diminué au cours du traitement. Chez ces enfants épileptiques et ayant des troubles autistiques, le traitement par la lamotrigine a diminué de 62% les symptômes liés à l'autisme.

Le lévitéracétam réduirait l'hyperactivité, l'impulsivité ainsi que la labilité affective (96).

Le divalproate de sodium a montré une amélioration des différents symptômes de l'autisme comme les troubles du langage, l'instabilité affective, l'agressivité et améliore aussi le comportement en société (97-99).

9.1.1.9 Traitement chirurgical

Les formes graves d'épilepsie incontrôlée et associée à la STB provoquent d'importants troubles cognitifs et sont très invalidantes pour la vie du patient. Le contrôle de ces crises est donc capital. Or ces crises peuvent être réfractaires aux traitements médicamenteux. Dans ce cas et en l'absence de contre-indication, la chirurgie peut être proposée.

L'identification et la localisation des tubers corticaux réalisées au PET Scan (Tomographie par Émission de Positrons) sont nécessaires à cette prise en charge chirurgicale. Celle-ci consiste en la résection des tubers corticaux agissant comme foyer épileptogène. Cette technique semble avoir un bon pronostic avec un faible risque de récurrence, à condition évidemment que le foyer épileptogène ait été clairement identifié (100).

9.1.1.10 Régime cétogène

Le régime cétogène est un traitement basé sur l'instauration d'un régime alimentaire strict. Il est caractérisé par une forte teneur en lipides, une faible teneur en glucides et un apport protidique et énergétique équilibré. Une supplémentation en vitamines et en calcium est nécessaire afin d'éviter des carences alimentaires.

Ce régime permet d'imiter le métabolisme observé dans le jeûne. L'organisme couvre ses besoins énergétiques grâce aux acides gras ce qui provoque une augmentation des corps cétoniques dans le sang. Le principe est de limiter l'apport de sucre au niveau des neurones ce qui permet de baisser le seuil épileptogène.

Ce régime s'adresse aux patients dont l'épilepsie est réfractaire aux traitements usuels. Il doit être strictement contrôlé par une diététicienne. Elle doit bien entendu former le patient ainsi que la famille à la préparation des repas. Trois mères d'enfants épileptiques sous régime cétogène ont imaginé 150 recettes salées et « presque » sucrées en dispensant de petits conseils et astuces pour égayer le régime cétogène auquel les patients sont contraints (101). Un lait adapté à ce régime est disponible pour les nourrissons (Ketocal®).

L'effet sur certaines épilepsies réfractaires est parfois important. On note aussi, plus largement, une amélioration comportementale des patients atteints d'encéphalopathie épileptique sévère.

9.1.1.11 Traitement antiépileptique préventif

Le traitement antiépileptique préventif chez les nourrissons atteints de STB avec un risque élevé d'épilepsie améliore nettement leur développement neurologique et réduit l'incidence des crises pharmaco-résistantes (102).

9.1.2 Traitement des troubles du comportement et du syndrome autistique

9.1.2.1 Traitements non pharmacologiques

Les approches récentes de traitement de l'autisme incluent divers traitements non pharmacologiques tels que les compléments alimentaires, vitamine C, la pyridoxine, le magnésium, la mélatonine ainsi que les acides gras omega-3. L'oxygénothérapie hyperbare augmente la perfusion cérébrale, permet de diminuer la neuro-inflammation ainsi que le stress oxydatif. Un traitement par des probiotiques a été proposé.

9.1.2.2 Traitements médicamenteux

Le traitement de l'autisme inclut des traitements médicamenteux par des molécules psychotropes. Celles-ci sont utilisées dans le traitement de divers symptômes comportementaux. Les inhibiteurs spécifiques de la recapture de la sérotonine (fluoxétine, sertraline, citalopram) sont utilisés pour diminuer l'anxiété et les comportements répétitifs. Les antidépresseurs imipraminiques (imipramine, clomipramine), les anticonvulsivants (lamotrigine) ainsi que les antipsychotiques atypiques (clozapine, risperidone, olanzapine) sont utilisés pour le traitement des crises d'agitation, de l'agressivité ou pour des comportements d'automutilation. Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase - la rivastigmine et le méthylphénydate - ainsi qu'un antagoniste opioïde - le naltrexone - sont utilisés pour traiter l'hyperactivité.

Mais le risque de toxicité médicamenteuse doit toujours être mis en balance avec les bénéfices sur les symptômes de l'autisme (103).

Depuis quelques années, une étude française [NCT01078714] menée par le Docteur Lemonnier porte sur l'efficacité d'un traitement diurétique, le bumétanide, dans une population d'enfants autistes. C'est une étude interventionnelle en double aveugle. La posologie est de 1mg/24h en deux prises par jour. L'hypothèse, dans cette étude, est que les autistes ont une concentration de chlore intracellulaire élevée au niveau des neurones corticaux. Le bumétanide agirait en diminuant cette concentration de chlore et améliorerait le comportement de l'enfant. Un enrichissement du langage ainsi qu'une amélioration de la mémoire sont attendus mais les résultats de l'étude n'ont pas encore été publiés.

9.1.2.3 Amélioration des apprentissages (104)

Il n'existe actuellement aucun traitement curatif de l'autisme, mais le traitement recommandé et parfois controversé de l'autisme implique des thérapies éducatives. Les troubles du comportement sont généralement masqués au cours de la première année de vie par la présence d'un retard du développement, des difficultés d'apprentissage et les troubles de la communication.

Une variété d'interventions permettent d'atténuer les symptômes du trouble autistique et d'améliorer les apprentissages. Une évaluation dans plusieurs domaines ainsi qu'un suivi régulier de l'enfant ou de l'adolescent autiste est nécessaire.

Ce suivi, d'après les recommandations de l'HAS, doit être réalisé au minimum une fois par an. Les évaluations ci-dessous comprennent, par domaine, l'évaluation fonctionnelle du développement de l'enfant/adolescent et l'observation continue permettant le suivi de l'efficacité de ces interventions.

- Évaluation dans le domaine de la communication et du langage (la communication non verbale, le langage dans ses versants réceptifs et expressifs et dans ses différentes dimensions : phonologique, lexicale, sémantique, syntaxique et pragmatique).
- Évaluation dans le domaine des interactions sociales (des habiletés au jeu).
- Évaluation dans le domaine cognitif (le suivi du développement de l'attention, de la mémoire, de la représentation dans le temps et dans l'espace, de l'anticipation et planification des actions, du processus de pensée et du langage).
- Évaluation dans le domaine sensoriel et moteur (le repérage des troubles sensoriels, un suivi du développement des acquisitions motrices globales et de la motricité fine, de la régulation tonique, du schéma corporel, de l'organisation spatio-temporelle, des praxies et gnosies).

- Évaluation dans le domaine des émotions et du comportement (un suivi du développement psychoaffectif, une évaluation de la reconnaissance et de l'expression des émotions, l'identification des intérêts spécifiques de l'enfant/adolescent, l'identification des comportements alimentaires particuliers et leurs conditions de survenue, l'identification des problèmes de comportement et leurs conditions de survenue, l'identification de nouveaux signes pouvant être liés aux effets indésirables de traitements médicamenteux, la prise en compte du retentissement de la puberté sur le comportement dans ses dimensions affectives et sexuelles).
- Évaluation dans le domaine somatique (l'état de santé général de l'enfant et de l'adolescent)
- Évaluation dans le domaine de l'autonomie dans les activités quotidiennes (en particulier les capacités liées à l'entretien personnel, la vie domestique, la vie communautaire, sociale et civique).
- Évaluation dans le domaine des apprentissages (scolaires et préprofessionnels).
- Évaluation de l'environnement familial et matériel.

Les professionnels doivent s'assurer que le choix des outils de l'évaluation cognitive et intellectuelle et les modalités de réalisation des tests sont adaptés. La traduction des résultats obtenus en projet personnalisé d'intervention est élaborée et mise en œuvre par l'ensemble des professionnels qui interviennent de façon coordonnée auprès de l'enfant/adolescent. L'hétérogénéité des profils cliniques et de l'évolution de ces enfants/adolescents au cours de leur développement nécessite que les réponses éducatives, pédagogiques et thérapeutiques soient diversifiées. Les interventions pluridisciplinaires mises en œuvre doivent être complémentaires et adaptées aux besoins singuliers de chaque enfant/adolescent.

9.1.2.4 La psychothérapie d'inspiration analytique

La psychothérapie d'inspiration analytique considère que le psychisme humain fonctionne sur la base des conflits liés au développement de la personne. Elle fait souvent partie du dispositif de soin en France. Elle consiste à mettre en évidence la signification inconsciente des paroles, des actions, des productions imaginaires d'une personne.

Quelle que soit la thérapie, plus elle est entreprise rapidement, meilleurs sont les résultats. Cependant, il n'est jamais trop tard pour intervenir et les traitements seront bénéfiques peu importe l'âge des patients diagnostiqués.

9.2 Traitement des manifestations dermatologiques

Les adénomes sébacés de Pringle constituent souvent la principale gêne chez le patient. En cas de préjudice esthétique, un traitement par laser ou par électrocoagulation peut être entrepris, mais il existe une possibilité de récurrence.

Les tumeurs de Koënen peuvent être traitées par chirurgie mais il existe aussi une possibilité de récurrence.

9.3 Traitement des manifestations rénales

L'embolisation artérielle est le traitement de première intention. Elle peut être réalisée de manière préventive pour éviter les complications provoquées par les angiomyolipomes asymptomatiques mais aussi de manière curative dans la prise en charge en urgence des angiomyolipomes hémorragiques (105).

Une néphrectomie partielle doit être réservée aux formes compliquées et doit être la plus conservatrice possible.

Les patients atteints d'insuffisance rénale au stade terminal doivent bénéficier d'une hémodialyse ou d'une transplantation rénale.

Le traitement de l'hypertension artérielle et des troubles électrolytiques est nécessaire.

9.4 Traitement des manifestations cardiaques

Les rhabdomyomes sont souvent asymptomatiques et régressent spontanément en taille et/ou en nombre chez un grand nombre de patients âgés de plus de 4 ans (106).

Une simple surveillance échocardiographique régulière est nécessaire.

Un traitement antiarythmique seul peut être bénéfique en cas d'arythmies symptomatiques.

9.5 Traitement des manifestations pulmonaires

La lymphangioliomyomatose peut se manifester par une dyspnée progressive à l'effort, un pneumothorax, des épanchements pleuraux, une toux et une hémoptysie. Les chylothorax peuvent être traités par une diète sans gras, une alimentation parentérale totale ou un traitement par la progestérone. Ce dernier, bien que son efficacité soit incertaine, est proposé dans les formes évolutives de la maladie. L'échec du traitement médical du chylothorax est généralement traité par chirurgie (107). Le pneumothorax sera traité par drainage. Les soins de soutien avec l'oxygène et/ou les bronchodilatateurs sont très importants dans le traitement des symptômes pulmonaires. Les patients en stades avancés de la maladie peuvent nécessiter une transplantation pulmonaire (108).

9.6 Place de l'évérolimus dans la stratégie thérapeutique

Les progrès en matière de génétique moléculaire et de pathogénie ont permis de mettre en évidence le rôle potentiel que joue la kinase mTOR dans la formation et le développement tumoral responsables des différentes manifestations cliniques de la STB.

Certains chercheurs tentent d'identifier tous les composants de la voie de signalisation dans laquelle sont impliqués le complexe TSC et la protéine mTOR. D'autres études se focalisent sur la compréhension du développement de la maladie afin de mieux contrôler son évolution.

Enfin, de nombreux essais cliniques de l'évérolimus ont été réalisés. Ceux-ci sont axés sur l'intérêt potentiel de l'évérolimus sur le contrôle de l'évolution de certains des hamartomes et sur la diminution de certains symptômes de la maladie dans le but d'améliorer la qualité de vie du patient.

Actuellement, l'évérolimus est indiqué dans le traitement des SEGA ainsi que dans le traitement des angiomyolipomes rénaux qui présentent un risque de complication mais qui ne nécessitent pas de chirurgie immédiate.

L'évérolimus est un traitement palliatif qui permet une diminution voire une stabilisation du volume des SEGA ainsi qu'une diminution de volume des angiomyolipomes rénaux, sans les détruire complètement. Il n'est donc pas une alternative à la chirurgie qui, elle, est curative.

Les résultats de ces études réalisées avec l'évérolimus sont inconstants mais c'est la première fois qu'un traitement médical systémique est validé par les autorités compétentes pour son utilisation dans le traitement de la STB.

PARTIE 2 : DÉVELOPPEMENT DE L'ÉVÉROLIMUS

1 GÉNÉRALITÉS

1.1 Présentation et historique

1.1.1 Présentation

1.1.1.1 Un dérivé du sirolimus

L'évérolimus est une substance hémi-synthétique dérivée du sirolimus. Le sirolimus (molécule thérapeutique) dérive de la rapamycine isolée pour la première fois à partir d'échantillons de sol collectés sur l'île de Pâques (Rapa Nui), au début des années 1970, dans le cadre de la recherche de nouveaux agents antifongiques. La rapamycine est produite naturellement à partir de *streptomyces hygroscopicus* qui est une bactérie filamenteuse.

Cette molécule a tout d'abord montré une activité puissante chez l'animal contre la levure *Candida Albicans* ainsi qu'une activité immunosuppressive dans des modèles de maladies auto-immunes chez le rat. Ce n'est qu'en 1995 que son activité sur la prévention du rejet de greffe a été découverte ; la marque Rapamune® (sirolimus) est alors déposée et obtient l'autorisation de mise sur le marché pour les greffes rénales.

1.1.1.2 Classe pharmacothérapeutique

Évérolimus (Certican®) appartient à la classe pharmacothérapeutique des immunosuppresseurs sélectifs.

Évérolimus (Afinitor®, Votubia®) appartient à la classe pharmacothérapeutique des agents antinéoplasiques : c'est un inhibiteur de protéines kinase.

1.1.2 Quelques dates de l'histoire de la molécule

- 15 avril 2004 : autorisation de mise sur le marché de Certican® dans la prévention du rejet d'organe chez les patients adultes présentant un risque immunologique faible à modéré recevant une allogreffe rénale ou cardiaque. (Vidal)
- 5 juin 2007 : l'EMA désigne Afinitor® comme médicament orphelin dans le traitement du carcinome rénal. (EMA)
- 14 novembre 2007 : l'EMA désigne Afinitor® comme médicament orphelin dans le traitement des tumeurs neuroendocrines d'origine pancréatique. (EMA)
- le 24 janvier 2008 : inscription au titre III de XIENCE V®.

C'est une endoprothèse coronaire enrobée d'évérolimus, sur la liste des produits et prestations (LPPR) dans l'indication suivante : traitement de l'insuffisance coronaire imputable à des lésions de novo des artères coronaires natives chez certains sous-groupes de patients à haut risque de resténose. Sont exclus les patients ayant un infarctus du myocarde datant de moins de 72 heures, une fraction d'éjection ventriculaire gauche < 30%, une intolérance au traitement antiagrégant plaquettaire, à l'héparine, au métal composant la plate-forme du stent ou au produit de contraste angiographique et aussi les femmes enceintes. Sont également exclues les sténoses du tronc commun gauche non protégées, les lésions présentant des calcifications ne pouvant être pré-dilatées par ballon ou athérectomie rotationnelle. (HAS)

- 3 août 2009 : AMM délivrée à Afinitor® dans le traitement du cancer du rein avancé chez les patients dont le cancer a progressé sous ou après une thérapie ciblée anti-VEGF. (HAS)
- Fin mars 2010 : Afinitor® est disponible dans les pharmacies en France dans le traitement du cancer du rein avancé. (HAS)
- 14 avril 2010 : inscription au titre III de XIENCE PRIME® (endoprothèse coronaire enrobée d'évérolimus) sur la liste des produits et prestations (LPPR) dans la même indication que XIENCE V®. (EMA)
- 4 août 2010 : l'EMA désigne Votubia® comme médicament orphelin dans le traitement de la STB (EU/3/10/764). (EMA)
- 21 février 2011 : extension des indications des stents XIENCE PRIME® et XIENCE V® aux patients ayant des lésions pluritronculaires. (HAS)
- 24 août 2011 : rectificatif d'AMM pour Afinitor® avec une extension d'indication dans les tumeurs neuroendocrines d'origine pancréatique non résecables ou métastatiques bien ou moyennement différenciées avec progression de la maladie chez l'adulte. (HAS)
- 30 août 2011 : l'EMA désigne Afinitor® comme médicament orphelin (EU/3/11/894) dans le traitement des cancers gastriques. (EMA)
- 2 septembre 2011 : une autorisation de mise sur le marché dite « conditionnelle » a été délivrée pour le médicament Votubia® indiqué chez les patients âgés de trois ans et plus ayant un astrocytome sous-épendymaire à cellules géantes (SEGA) associé à une sclérose tubéreuse de Bourneville (STB). Ces patients nécessitent une intervention chirurgicale mais ne sont pas candidats à la résection chirurgicale. (HAS)
- 6 septembre 2011 : levée d'exclusion pour le stent XIENCE PRIME® et XIENCE V® concernant les patients ayant un infarctus du myocarde datant de moins de 72 heures (ou Syndrome Coronaire Aigu avec sus-décalage du segment ST). (HAS)
- 21 juin 2012 : le comité des médicaments à usage humain (CHMP) a adopté une nouvelle indication pour Afinitor®: traitement du cancer du sein avancé avec récepteurs hormonaux positifs, en association avec l'exémestane chez les femmes ménopausées sans atteinte viscérale symptomatique, dès récurrence ou progression de la maladie et précédemment traitées par un inhibiteur non-stéroïdien de l'aromatase. (EMA)
- 20 septembre 2012 : le CHMP donne un avis favorable à une extension d'indication de Votubia® dans le traitement des angiomyolipomes rénaux associés à une STB chez les patients adultes. (EMA)
- 26 juin 2013 : extension d'indication de Certican® dans la prévention du rejet d'organe en transplantation hépatique en association avec le tacrolimus et des corticoïdes. (HAS)

1.2 Structure et propriétés physico-chimiques

1.2.1 Structure chimique de l'évérolimus

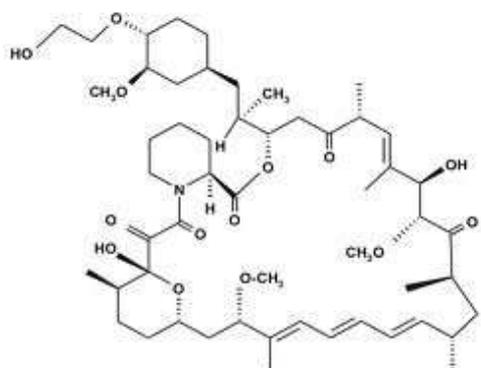


Figure 2 : Formule semi-développée de l'évérolimus.

Nom chimique :

(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28E,30S,32S,35R)-1,18-dihydroxy-12-[(1R)-2-[(1S,3R,4R)-4-(2-hydroxyéthoxy)-3-méthoxycyclohexyl]-1-méthyléthyl]-19,30 diméthoxy-15,17,21,23,29,35-hexaméthyl-11,36-dioxa-4-azatricyclo[30.3.1.04,9]hexatriaconta-16,24,26,28-tétraène-2,3,10,14,20-pentone

Formule brute de l'évérolimus : C₅₃H₈₃NO₁

Synonymes : 40-o-(2-Hydroxyéthyl)-rapamycin

Nom : Afinitor[®], Certican[®], Votubia[®], RAD001, SDZ RAD

Poids moléculaire : 958.224426 g/mol

1.2.2 Fonctions des différents groupements

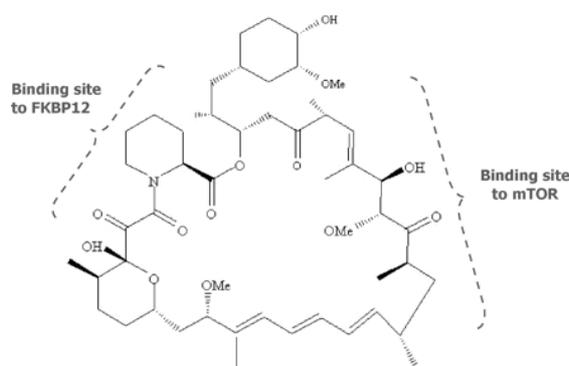


Figure 3 : Sites de fixation de la rapamycine sur l'immunophiline FKBP12 et la protéine mTOR (109).

La figure ci-dessus met en évidence deux sites de liaisons de la rapamycine via son groupement méthoxy :

- Un site de fixation à FKBP12 (une immunophiline)
- Un site de fixation à mTOR

Après fixation de la molécule à la protéine FKBP12, le complexe molécule-FKBP12 interagit spécifiquement avec la protéine mTORC1 pour inhiber la voie de signalisation mTOR et donc l'inhibition de ses cibles en aval. L'évérolimus qui est le 40-o-(2-Hydroxyéthyl)-rapamycine est un dérivé de la rapamycine et possède ces deux mêmes sites de liaison. Cette similitude structurale fait que ces deux molécules ont le même mécanisme d'action (109).

1.2.3 Propriétés physico-chimiques

C'est une poudre blanche à blanchâtre. La substance pharmaceutique est pratiquement insoluble dans l'eau mais soluble dans les solvants organiques. La molécule d'évérolimus est amorphe et stabilisée avec un antioxydant. Elle est instable à température excédant les 25 degrés Celsius et est sensible à la lumière.

L'évérolimus est obtenu en 4 étapes : la première étape est un processus de fermentation d'où on va extraire la rapamycine, suivi d'une modification chimique de celle-ci ; ainsi après purification et stabilisation avec de l'hydroxytoluène butylé, on obtient l'évérolimus composé de différents isomères en équilibre les uns avec les autres. (EMEA)

2 MONOGRAPHIE DE VOTUBIA® (RCP VOTUBIA®)

2.1 Données cliniques

2.1.1 Indications thérapeutiques

- Angiomyolipome rénal associé à la sclérose tubéreuse de Bourneville chez les adultes qui présentent un facteur de risque : la taille de la tumeur, la présence d'un anévrisme ou la présence de tumeurs multiples ou bilatérales.
- Astrocytome sous-épendymaire à cellules géantes (SEGA) associé à la sclérose tubéreuse de Bourneville chez les patients qui nécessitent une intervention chirurgicale mais qui ne sont pas candidats.

2.1.2 Posologie et mode d'administration

Angiomyolipome rénal associé à une STB : la dose recommandée de Votubia® est de 10 mg une fois par jour pour les adultes.

La dose initiale recommandée de Votubia® chez les patients présentant un SEGA est fonction de la surface corporelle.

Surface corporelle SC	Dose quotidienne initiale
Inférieur à 1,2 m ²	2,5 mg
1,3 à 2,1 m ²	5 mg
Supérieur ou égale à 2,2 m ²	7,5 mg

Tableau 5 : Dose initiale de Votubia® chez les patients présentant un SEGA en fonction de la surface corporelle (Rcp Votubia®)

Votubia® doit être pris par voie orale une fois par jour à la même heure. Les comprimés de Votubia® doivent être avalés entiers avec un verre d'eau. Pour les patients incapables d'avaler des comprimés, ils peuvent être dissous complètement dans un verre d'eau.

2.1.3 Suivi thérapeutique pharmacologique

Le traitement par Votubia® doit être instauré par un médecin ayant l'expérience de la prise en charge des patients présentant une STB et du suivi thérapeutique pharmacologique.

Le suivi thérapeutique des concentrations sanguines d'évérolimus à l'aide d'un dosage validé est obligatoire chez les patients traités pour un SEGA et une option à considérer chez les patients traités pour un angiomyolipome rénal associé à une STB. Les concentrations résiduelles doivent être déterminées environ 2 semaines après la première dose, après toute modification de dose, après l'instauration ou la modification d'un traitement concomitant par des inducteurs ou des inhibiteurs du CYP3A4 ou après toute modification de la fonction hépatique.

Le suivi thérapeutique de l'évérolimus par dosages sanguins représente un moyen d'augmenter la sécurité et l'efficacité de ce traitement. Cette approche ne remplace pas le suivi clinique, mais peut le compléter par des données objectives.

Les deux buts principaux du STP sont donc de diminuer le taux d'échecs thérapeutiques lié à une exposition insuffisante et de diminuer la fréquence des effets indésirables et/ou toxiques des médicaments liés à une exposition excessive.

Dans le cas du traitement des SEGA, la posologie sera adaptée pour obtenir une concentration résiduelle de 5 à 15 ng/mL.

Si la concentration résiduelle est inférieure à 5 ng/mL, la dose quotidienne peut être augmentée de 2,5 mg toutes les deux semaines, en fonction de la tolérance.

La dose de Votubia® doit être diminuée en cas de concentration résiduelle supérieure à 15 ng/mL.

Technique du dosage sanguin

La méthode de dosage de référence est la chromatographie liquide, couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC/MS-MS).

Il existe une autre technique, par dosage immunologique par polarisation de fluorescence sur TDx® reposant sur le principe de compétition.

Cette dernière technique correspond au seul kit actuellement commercialisé pour le dosage de l'évérolimus sanguin en France, et semblerait d'une fiabilité, d'une reproductibilité et d'une précision satisfaisantes par rapport à la technique de référence par LC/MS-MS. (HAS)

2.1.4 Contre-indications

Votubia® est contre-indiqué en cas d'hypersensibilité à la substance active ou aux autres dérivés de la rapamycine, et en cas d'hypersensibilité à l'un des excipients.

2.1.5 Interactions médicamenteuses

L'administration concomitante de ce médicament avec des agents possédant un potentiel d'induction ou d'inhibition du CYP3A4/5 fort, ou modéré du CYP3A4 doit être évitée.

2.1.6 Mises en garde spéciales et précautions d'emploi

Un risque infectieux peut être retrouvé sous traitement par évérolimus et est imputable à ses propriétés immunosuppressives. Le patient doit alerter le médecin en cas de réactions d'hypersensibilité, d'ulcérations buccales, d'une pneumopathie non infectieuse et devra connaître le risque hémorragique en cas de prise concomitante de médicaments anticoagulants. Des précautions d'emploi devront être mises en place en cas d'insuffisance rénale et hépatique.

Enfin, il est recommandé pour les femmes en âge de procréer d'utiliser une méthode contraceptive efficace pendant le traitement.

2.1.7 Analyses biologiques et surveillance

- Surveillance de la fonction rénale : urémie, protéinurie et créatininémie
- Glycémie et lipidémie : glycémie à jeun, cholestérol total, cholestérol LDL et HDL et les triglycérides
- Paramètres hématologiques : des diminutions de l'hémoglobine, des lymphocytes, des neutrophiles et des plaquettes ont été observées.

2.1.8 Effets indésirables

La tolérance de l'évérolimus dans le traitement a été étudiée à partir de trois études :

- EXIST-1 (110) et EXIST-2 (111).
- Une étude NCT00411619 (112).

Les effets indésirables les plus fréquents au cours de ces études sont les stomatites et les infections des voies aériennes supérieures.

2.2 Propriétés pharmacologiques

2.2.1 Propriétés pharmacodynamiques

L'évérolimus est un inhibiteur sélectif de mTOR.

2.2.2 Propriétés pharmacocinétiques

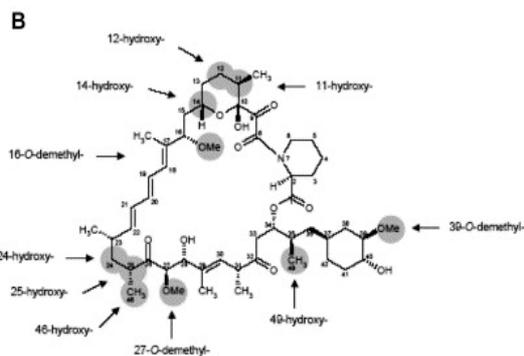
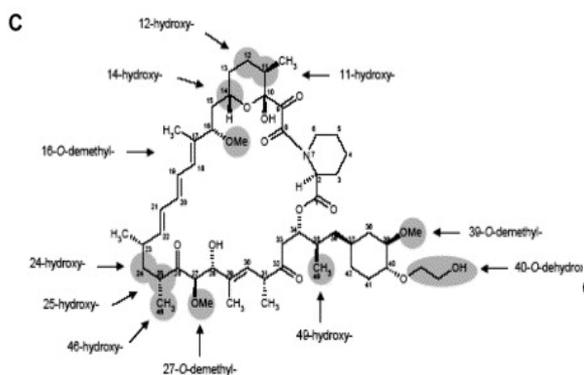
2.2.2.1 Absorption

Les concentrations maximales d'évérolimus sont atteintes après une durée médiane d'une heure après l'administration quotidienne d'une dose orale de 5 à 10 mg à jeun ou avec un repas léger sans matières grasses. L'évérolimus est un substrat et un inhibiteur modéré de la Pgp.

2.2.2.2 Distribution

La liaison aux protéines plasmatiques est d'environ 74% .

2.2.2.3 Biotransformation



L'évérolimus est un substrat du CYP3A4. De nombreux métabolites ont été mis en évidence (113) à partir de microsomes hépatiques humains dont les plus majoritairement retrouvés sont :

- Le 46-, 24-, 25-, 12-, 11-, 14- et 49-hydroxy-évérolimus
- Le 39-O-, 27-O- et 16-O- déméthyl-évérolimus
- Le 40-O-déhydroxyéthyl-évérolimus (= sirolimus)

Les sites de métabolisation de l'évérolimus sont identiques à ceux du sirolimus mais il existe des différences dans les proportions des différents métabolites formés. Par exemple la forme 39-O-déméthyl- est formée en moindre proportion lors du métabolisme de l'évérolimus que du sirolimus.

L'évérolimus est considéré comme responsable de la majorité de l'activité pharmacologique globale.

2.2.2.4 Élimination

La valeur moyenne de la clairance orale (CL/F) de l'évérolimus chez des patients ayant des tumeurs solides recevant une dose de 10 mg/jour est de 24,5 L/h.

La valeur moyenne de la demi-vie d'élimination est approximativement de 30 heures.

D'après les études réalisées chez les patients transplantés traités par évérolimus radiomarqué associé à la ciclosporine, 80% de la radioactivité a été retrouvée dans les fèces et 5% a été excrétée dans les urines. La molécule mère n'a été détectée ni dans les urines, ni dans les fèces.

2.2.2.5 Pharmacocinétique à l'état d'équilibre

Chez les patients ayant des tumeurs solides :

L'état d'équilibre a été atteint en deux semaines. La Cmax est proportionnelle à la dose entre 5 mg et 10 mg. Le Tmax est atteint 1 à 2 heures après l'administration.

3 DE LA TRANSPLANTATION À L'ONCOLOGIE

Évérolimus a été largement étudié en transplantation et est maintenant approuvé dans plus de 90 pays comme traitement antirejet en transplantation cardiaque et rénale, et dans plus de 50 pays en transplantation hépatique.

L'étude préclinique d'Edinger a permis de mettre en évidence une activité anti-tumorale des inhibiteurs du mTOR mais à des degrés divers : certaines cellules ont été détruites par de faibles doses, de l'ordre du nanogramme, tandis que d'autres ont nécessité des doses beaucoup plus importantes. Un troisième groupe de cellules était non-répondant (114). Son activité antinéoplasique en a fait un sujet d'étude dans de nombreux cancers, dont pour certains il a obtenu une AMM en France.

L'avancée des connaissances sur la voie de signalisation mTOR en biologie tumorale ainsi que sur la pathogénicité de la STB amène logiquement à l'étude de l'évérolimus dans le traitement de cette maladie.

Les indications de l'évérolimus varient selon les pays. Le profil d'innocuité et d'efficacité de l'évérolimus n'a pas encore été démontré en dehors des indications approuvées mais il fait partie de nombreux essais cliniques visant son approbation dans de nouvelles indications.

3.1 Évériolimus en transplantation

Certican® : Antinéoplasiques et immunomodulateurs
L04 Immunosuppresseurs
L04A Immunosuppresseurs
L04AA Immunosuppresseurs sélectifs
L04AA18 Évériolimus

3.1.1 Données pharmaceutiques

Une autorisation de mise sur le marché a été accordée pour la spécialité Certican® dans la prévention du rejet d'organe chez les patients adultes présentant un risque immunologique faible à modéré recevant une allogreffe rénale ou cardiaque et récemment en transplantation hépatique.

3.1.2 Données pharmacologiques

Les lymphocytes T CD4 sont les éléments clés de la réponse allo-immune. L'activation d'un lymphocyte T requiert 3 signaux :

- Le signal 1 consiste en la reconnaissance, par le récepteur spécifique (RCT) présent sur la surface du clone lymphocytaire, du complexe majeur d'histocompatibilité (HLA) et du peptide porté par la cellule présentatrice d'antigène (CPA). Ce signal aboutit à la déphosphorylation de deux kinases [Proto-oncogene tyrosine-protein kinase (Fyn) et lymphocyte-specific protein tyrosine kinase (Lck)] qui activent une cascade de phosphorylation ; ce qui provoque une augmentation de la concentration intracellulaire en calcium puis l'activation de la calcineurine. L'activation de la calcineurine aboutit à la translocation nucléaire de facteurs de transcription. Ce signal 1 aboutit aussi par une autre cascade de phosphorylation à la production d'interleukine-2 (IL-2 qui est un facteur de croissance lymphocytaire).
- Ce signal 2 ou signal de co-stimulation est nécessaire à l'activation lymphocytaire. Il correspond à de nombreuses interactions existant entre les CPA d'une part et des lymphocytes T d'autre part, régulant de façon positive ou négative la réponse immune. La conjonction des signaux 1 et 2 permet au lymphocyte de passer de la phase G0 (repos) à la phase G1 (transformation lymphoblastique) au cours de laquelle un grand nombre de gènes sont transcrits (notamment ceux de l'IL-2 et du CD25).
- Le signal 3 est initié par l'IL-2 et correspond à la fixation de l'IL-2 sur son récepteur. Le récepteur à l'IL-2, comprenant la molécule CD25, n'est présent qu'à la surface des lymphocytes activés. Il provoque une cascade de phosphorylation recrutant les protéines PI3K et AKT puis mTORC1 et aboutit donc à la prolifération lymphocytaire.

Les inhibiteurs de mTOR bloquent spécifiquement le 3^{ème} signal et agissent uniquement sur les lymphocytes T activés. Ils n'inhibent pas le premier signal contrairement aux inhibiteurs de la calcineurine. (urofrance)

3.1.3 Données cliniques (clinical trials)

Les spécialités à base d'évériolimus font partie de protocoles thérapeutiques en association avec des immunosuppresseurs et des corticoïdes dans le cadre de prévention de rejets d'organes chez des patients adultes.

En transplantation rénale et cardiaque, Certican® doit être utilisé en association avec de la ciclosporine et des corticoïdes. Certican® est une possibilité thérapeutique supplémentaire dans la stratégie actuelle chez les patients adultes présentant un risque immunologique faible à modéré recevant une allogreffe rénale. Il peut être une alternative au Cellcept® (mycophénolate mofétil) ou au sirolimus en association à d'autres immunosuppresseurs.

En transplantation cardiaque Certican® peut être une alternative à Imurel® (azathioprine) et pourrait être une alternative au Cellcept®.

En transplantation hépatique, il doit être utilisé en association avec du tacrolimus et des corticoïdes. Il est utilisé en première intention et permet de réduire la dose de tacrolimus afin de limiter la toxicité rénale.

La posologie initiale recommandée pour la population générale de patients transplantés rénaux et cardiaques est de 0,75 mg deux fois par jour, à débiter dès que possible après la transplantation. La dose de 1,0 mg deux fois par jour est recommandée pour la population de patients transplantés hépatiques, la dose initiale étant administrée environ 4 semaines après la transplantation.

Le rapport efficacité/effets indésirables pour l'évérolimus dans le cadre de ces associations est important.

3.1.3.1 En transplantation rénale

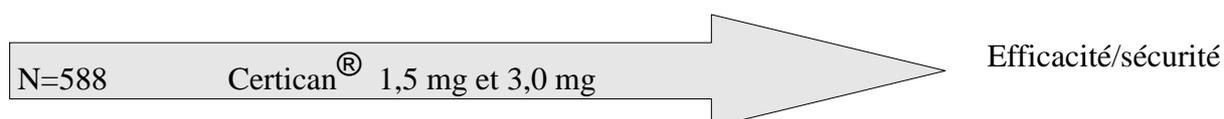
Deux essais de phase 3 (B201 et B251) ainsi que deux essais de phase 3b (A2306 et A2307) ont été réalisés chez des patients transplantés rénaux de novo dans le but d'étudier l'efficacité et la tolérance de Certican®.

Essais B201 et B251

Description :

Essais comparatifs versus MMF (mycophénolate mofétil) à une posologie de 1g 2f/j.

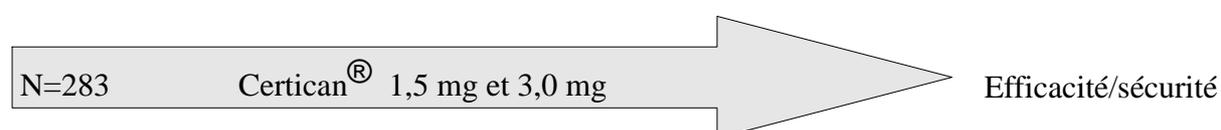
Essai B201



En association avec des doses standard de ciclosporine et des corticoïdes.

Durée : 1 an double-insu puis 2 ans en ouvert.

Essai B251



En association avec des doses standard de ciclosporine et des corticoïdes.

Durée : 2 ans en double-insu puis 1 an en ouvert.

Résultats :

Études	Incidence de rejet aigu à 6 mois
B201 Certican® 1,5 mg	21,6
B201 Certican® 3 mg	18,2
B201 MMF	23,5
B251 Certican® 1,5 mg	17,1
B251 Certican® 3 mg	20,1
B251 MMF	23,5

Tableau 6 : Résultats des études B201 et B251.

Dans ces essais, Certican® a globalement démontré une efficacité équivalente à celle du MMF. Une diminution de la fonction du greffon accompagnée d'une élévation de la créatininémie a été observée plus fréquemment chez les sujets recevant Certican® en association avec une dose standard de ciclosporine sous forme de microémulsion que chez les patients sous MMF. Cet effet suggère que Certican® potentialise la néphrotoxicité de la ciclosporine. Cet effet est potentiellement réversible avec une réduction de doses de ciclosporine.

Certican® a montré une meilleure tolérance concernant le risque d'infections virales.

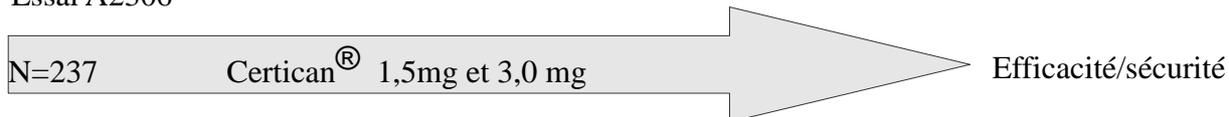
Essais A2306 et A2307

Description :

Ces 2 études sont des études complémentaires non comparatives avec des doses réduites de ciclosporine. ; évaluation de l'efficacité (critère secondaire) et de la tolérance (critère principal).

Différence entre les 2 études : dans l'essai A2307 : administration de deux doses de 20 mg de basiliximab au jour 0 et au jour 4, et des valeurs cibles de C2 (2 heures après administration) de ciclosporine plus faibles pendant les 8 premières semaines suivant la transplantation.

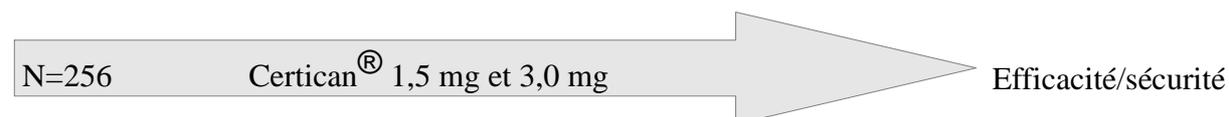
Essai A2306



En association avec des doses réduites de ciclosporine adaptées sur la valeur de la C2 et des corticoïdes.

Durée : 1 an en double insu.

Essai A2307



En association avec des doses réduites de ciclosporine adaptées sur la valeur de la C2 et des corticoïdes .

Durée : 1 an en double insu.

Résultats des études A2306 et A2307 à 12 mois :

	Incidence de rejet en %
A2306 Certican® 1,5 mg	25,90%
A2306 Certican® 3mg	19,20%
A2307 Certican® 1,5 mg	13,70%
A2307 Certican® 3 mg	15,80%

Tableau 7 : Résultats des études A2306 et A2307 à 12 mois.

Dans les études A2306 et A2307 (avec des doses réduites de ciclosporine) il est rapporté une meilleure fonction du greffon que dans les études B201 et B251 (avec des doses standard de ciclosporine).

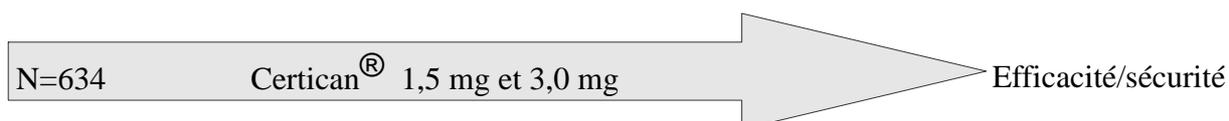
L'analyse des résultats de ces quatre études a confirmé d'une part que l'efficacité du Certican® est d'autant plus importante que la ciclosporinémie est élevée. D'autre part, que les patients dont la ciclosporinémie était réduite conformément aux objectifs du protocole présentaient une efficacité préservée du Certican®. Il a donc été conclu que la réduction des doses de ciclosporine ne nuit pas significativement à l'efficacité du Certican®.

3.1.3.2 En transplantation cardiaque

Un essai de phase 3 (B253) a été réalisé chez des patients transplantés cardiaques de novo dans le but d'étudier l'efficacité et la tolérance de Certican®.

Description :

Essai comparatif versus azathioprine (AZA) à des doses de 1 à 3 mg/kg/jour.



En association avec des doses standard de ciclosporine et des corticoïdes.
Durée : 2 ans en double insu.

Résultats de l'essai B253 :

	Incidence du rejet aigu au 6^{me} mois
Certican® 1,5 mg	27,8
Certican® 3 mg	19
AZA	41,6

Tableau 8 : Résultats de l'essai B253.

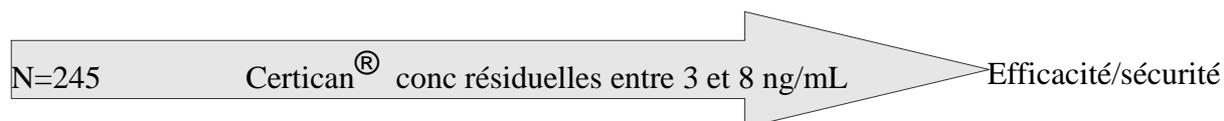
Les deux doses de Certican® ont montré une efficacité supérieure sur le rejet aigu comparé à l'azathioprine

De plus Certican® a été significativement plus efficace que l'AZA dans la prévention de la maladie coronaire du greffon (reconnue comme étant un facteur de risque important de perte du greffon à long terme) ainsi qu'une meilleure tolérance vis à vis du risque d'infections virales. À contrario, il a montré une tolérance lipidique et rénale moins bonne.

3.1.3.3 En transplantation hépatique

Description :

Un essai de phase 3 (H2304), contrôlé, randomisé, en ouvert, évalue l'évérolimus en association au tacrolimus à dose réduite versus tacrolimus.



En association avec des doses réduites de tacrolimus et des corticoïdes.

Durée : 2 ans.

Résultats de l'essai H2304 :

	Incidence du taux d'échec du traitement
Everolimus + tacrolimus 12 mois	6,7
Everolimus + tacrolimus 24 mois	10,3
Tacrolimus 12 mois	9,7
Tacrolimus 24 mois	12,5

Tableau 9 : Résultats de l'essai H2304.

Au total, l'analyse à 12 mois a montré que l'incidence du taux d'échec du traitement était plus faible dans le bras Certican® + tacrolimus réduit (6,7%) par rapport au bras contrôle tacrolimus (9,7%), ce qui a été confirmé par les résultats observés à 24 mois.

Deux autres essais de phase 3 : RESCUE et PROTECT ont été réalisés. Leur but était d'évaluer les effets de l'évérolimus sur la fonction rénale en transplantation hépatique. Aucun des deux n'a été pris en compte dans l'évaluation de l'efficacité et de la tolérance de l'évérolimus dans la prévention du rejet en transplantation hépatique.

Cause : les modalités d'administration de Certican® dans ces 2 études étaient non conformes à son AMM.

3.2 Évériolimus en oncologie

Classe pharmacothérapeutique : Agents anti-néoplasiques, autres agents anti-néoplasiques, inhibiteurs de protéine kinase.

Code ATC : L01XE10

3.2.1 Données pharmaceutiques

Une autorisation de mise sur le marché a été obtenue pour la spécialité Afinitor® dans le traitement du cancer du rein. Dans cette indication, il constitue un traitement de deuxième ou troisième ligne du cancer du rein métastatique après échec d'une thérapie ciblée anti-VEGF (sunitinib, sorafénib, bévacizumab).

Dans le traitement des tumeurs neuroendocrines d'origine pancréatique, Afinitor® constitue une nouvelle option de traitement et a montré son efficacité, en terme de survie sans progression, dans les tumeurs non résecables ou métastatiques bien ou moyennement différenciées avec progression de la maladie.

Dans le cancer du sein avancé, avec récepteurs hormonaux positifs HER2/neu négatif, l'association de Afinitor® avec l'exémestane est un traitement de deuxième ligne chez les femmes ménopausées sans atteinte viscérale symptomatique dès récurrence ou progression de la maladie et précédemment traitées par un inhibiteur non-stéroïdien de l'aromatase (létrozole ou anastrozole). La place de cette association dans la stratégie thérapeutique reste à préciser.

3.2.2 Données pharmacologiques

L'évérolimus est un inhibiteur sélectif de mTOR qui est une kinase dont l'activité est dérégulée dans de nombreux cas de cancers humains. L'évérolimus a un effet inhibiteur puissant de la croissance et de la prolifération des cellules tumorales. Il a reçu l'AMM pour les trois types de cancers cités ci-dessus mais est en cours d'essais cliniques dans de nombreux autres types de cancers humains.

La néo-angiogenèse est un mécanisme important dans le développement du cancer du rein. En effet, l'angiogenèse est augmentée par la perte du gène *VHL*, ce qui conduit à une augmentation de la production du facteur de transcription Hypoxia Inducible Factor (HIF-1), donc à une augmentation de la production du Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) (115). mTOR et PI3K sont indispensables pour l'activité du VEGF sur la prolifération, la survie et la migration des cellules endothéliales. La protéine mTOR régule l'activité du HIF-1 dont dépend la néo-angiogenèse. Les inhibiteurs de mTOR, en diminuant l'expression du HIF-1 et en empêchant le VEGF d'exercer son action, agissent sur l'angiogenèse tumorale et la prolifération cellulaire (116). L'évérolimus permet aussi de contourner la résistance aux inhibiteurs de tyrosine kinase et de re-sensibiliser les patients à ces derniers (Novartis).

Selon le Groupe d'Etude des Tumeurs Endocrines, la fréquence des pertes d'expression de deux protéines clés de la voie mTOR (PTEN et TSC2), dans ce type de cancer, est de 85% ; ce qui entraîne une activation constitutive de la voie mTOR. Donc l'évérolimus a également sa place dans la stratégie thérapeutique.

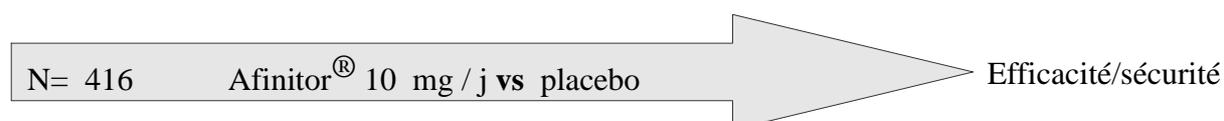
Enfin, le développement de résistances à l'hormonothérapie représente le problème clinique majeur au cours du traitement du cancer du sein positif pour les récepteurs hormonaux. La voie mTOR étant impliquée dans ce mécanisme de résistance, un traitement associé par évériolimus est donc indiqué (Novartis).

3.2.3 Données cliniques

3.2.3.1 Cancer du rein avancé

Description :

RECORD-1 : Une étude de phase III, multicentrique, randomisée en double aveugle compare Afinitor® 10 mg/jour au placebo, administrés tous les deux en association avec un traitement symptomatique optimal chez 416 patients ayant un cancer du rein métastatique ayant progressé sous ou après un traitement par un inhibiteur de la tyrosine kinase du récepteur du facteur de croissance de l'endothélium vasculaire. Les patients randomisés dans le groupe placebo, après documentation d'une progression radiologique, ont pu recevoir Afinitor® 10 mg/jour en ouvert.



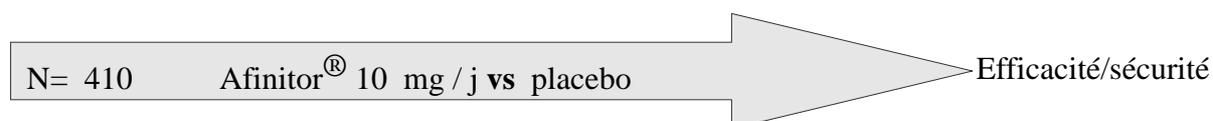
Résultats :

Les taux de survie sans progression à 6 mois étaient de 36% dans le groupe Afinitor® comparé à 9% dans le groupe placebo ; cependant les résultats ne montrent aucune différence statistiquement significative entre les traitements sur la survie globale. Le traitement par Afinitor® en ouvert après progression chez les patients qui avaient reçu préalablement le placebo ne permettait pas la mise en évidence d'une différence pour le critère de survie globale.

3.2.3.2 Tumeurs neuroendocriniennes d'origine pancréatique (pNET)

Description :

RADIANT-3 : Une étude de phase 3, multicentrique, randomisée, en double aveugle compare Afinitor® 10 mg/jour au placebo chez 410 patients atteints de pNET avancées.



Résultats :

Cette étude a démontré un bénéfice clinique statistiquement significatif. Elle révèle que le traitement par Afinitor® a augmenté la survie sans progression médiane pour la porter à 11 mois contre 4,6 mois pour le placebo, ce qui correspond à un allongement de 2,4 fois de la survie sans progression médiane.

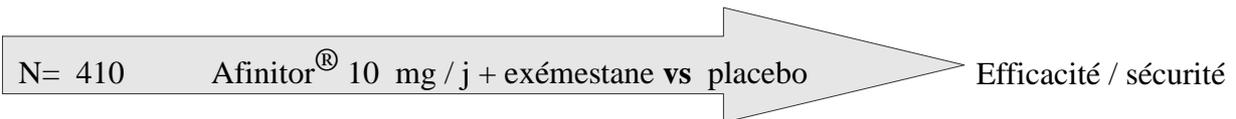
3.2.3.3 Cancer avancé du sein

Description :

BOLERO-2 : Une étude de phase 3, randomisée, en double-aveugle, compare l'association évérolimus/exémestane à l'exémestane seul chez 724 patientes ménopausées atteintes d'un cancer du sein localement avancé ou métastatique avec des récepteurs hormonaux positifs et ne surexprimant pas HER2, ayant récidivé ou progressé à la suite d'un traitement par létrozole ou anastrozole.

groupe 1 (N=485) : évérolimus (10 mg par jour) + exémestane (25 mg par jour) per os

groupe 2 (N=239) : placebo + exémestane (25 mg par jour) per os.



Résultats :

Cette étude révèle que le traitement Afinitor® + exémestane a augmenté la survie sans progression médiane pour la porter à 7,8 mois contre 3,2 mois pour l'exémestane seul.

Donc Afinitor® retarde significativement la croissance des tumeurs dans le cancer avancé du sein.

3.3 Autre utilisation de l'évérolimus

3.3.1 Stents à libération contrôlée d'évérolimus

L'intérêt de l'évérolimus dans cette indication est vite reconnu. Ces dispositifs médicaux implantables à libération contrôlée de principe actif sont indiqués dans le traitement de l'insuffisance coronaire, imputable à des lésions de novo des artères coronaires natives chez certains sous-groupes de patients à haut risque de re-sténose ou chez les patients diabétiques. Ils sont aussi indiqués dans le traitement de certaines lésions pluritronculaires de novo des artères coronaires natives accessibles à l'angioplastie mais dont le risque chirurgical est élevé. SPIRIT 2, 3, 4 ainsi que l'étude COMPARE visent à comparer l'efficacité et l'innocuité des stents à élution d'évérolimus versus stents à élution de paclitaxel.

Il a été démontré dans ces études que les stents à élution d'évérolimus réduisaient le taux de décès, d'infarctus du myocarde ainsi que la thrombose sur stent. Les stents à élution d'évérolimus ont une meilleure efficacité ainsi qu'une innocuité supérieure aux stents à élution de paclitaxel.

La pose du stent implique une bithérapie antiplaquettaire pendant une période allant de 6 à 12 mois. Ce traitement impose une bonne observance du traitement, ainsi qu'une bonne connaissance des effets indésirables et des contre-indications. (clinicaltrials.gov)

3.3.2 Autres voies de développement et perspectives d'avenir

L'évérolimus fait l'objet de plusieurs centaines d'essais cliniques. Ils servent à constituer un dossier permettant d'en valider l'utilisation auprès d'instances nationales ou internationales. Ces essais en cours se portent majoritairement sur l'étude de l'efficacité et l'innocuité de l'évérolimus dans le traitement de nombreux cancers. Évérolimus pourra dans le futur être un enjeu majeur en cancérologie et obtenir l'AMM pour de nouvelles indications ou pour des extensions d'indication.

Études en cours de phase 1 : ces études de phase 1 visent à évaluer l'innocuité de l'évérolimus, sa cinétique, son métabolisme, son seuil de tolérance ainsi que ses effets indésirables.

Type de cancer	Description de l'essai
Adénocarcinome colorectal métastatique	Évaluation de la sécurité RAD001 + cétuximab + irinotécan comme thérapie de deuxième ligne après traitement par FOLFOX (acide folinique-5FU-oxaliplatine) + bévacizumab
Sarcomes	Innocuité et dose la plus élevée RAD001 + Figitumumab
Cancer avancé de l'estomac	RAD001 + capécitabine + oxaliplatine
Myélome multiple réfractaire ou en rechute	RAD001 + lénalidomide
Lymphome non hodkinien réfractaire ou en rechute	Doses croissantes de RAD001
Tumeurs solides avancées	Doses croissantes de RAD001 + R1507 anticorps monoclonal inhibiteur de l'IGF-1R
Cancer du poumon à petites cellules non traité par chimiothérapie	RAD001 + cisplatine + étoposide et RAD001 + carboplatine + étoposide
Stade avancé du cancer de l'endomètre	RAD001 + topotécan
Tumeurs solides avancées	RAD001 + XELOX-A (bévacizumab-oxaliplatine-capécitabine) amélioration des résultats en comparaison avec XELOX-A seul
Leucémie myéloïde aiguë chez patients de plus de 65 ans et en rechute depuis plus de 1 an après rémission complète	RAD001 + aracytine + daunorubicine
Leucémie myélome aiguë ou syndrome myélodysplasique réfractaire, en rechute ou de mauvais pronostic	Doses croissantes de RAD001 + PKC412 (midostaurine)
Tumeurs solides avancées	RAD001 + vatalanib
Tumeurs solides ou tumeurs cérébrales dans une population pédiatrique	RAD001
Cancer du poumon non à petites cellules et non préalablement traité	RAD001 + carboplatine + paclitaxel + bévacizumab
Cancer du sein métastatique surexprimant HER-2	Différents schémas posologiques et de dose RAD001 + trastuzumab + paclitaxel
Tumeurs solides avancées lymphome non hodkinien	Effets secondaires et dose optimale de RAD001 + vatalanib
Cancer colorectal métastatique réfractaire	Dose maximale tolérée de RAD001 + OSI-906
Cancer gastrique avancé	RAD001 + mitomycine C
Glioblastome et gliosarcome	Dose maximale tolérée et la dose toxique de RAD001 + imatinib + doses fixes de hydroxyurée
Tumeurs solides réfractaires	Toxicité + pharmacocinétique + efficacité préliminaire de RAD001 + bévacizumab + panitumumab
Tumeurs solides avancées	Innocuité de RAD001 + bevacizumab + LBH589 (Panobinostat)
Cancer du poumon à petites cellules réfractaire ou en rechute	Dose maximale tolérée de RAD001 + paclitaxel

Cancer de l'estomac métastatique ou cancer de l'œsophage	Effets secondaires et dose optimale de RAD001 + chimiothérapie d'association
Carcinome rénal	RAD001 + sunitinib
Cancer bronchique non à petites cellules	Ajout de RAD001 aux rayonnements et à une chimiothérapie standard par cisplatine et du pémétréxed
Tumeurs solides réfractaires et inopérables	Effets secondaires et dose optimale de RAD001 + gemcitabine + cisplatine
Cancer du sein	Effets secondaires et dose optimale RAD001 + Erlotinib
Cancer du poumon à petites cellules	RAD001 + pémétréxed
Tumeurs solides avancées	RAD001 + BEZ235 (inhibiteur de la PI3K-mTOR kinase)
Cancer de la tête et du cou	RAD001 + docétaxel + cisplatine
SEGA dans la STB	RAD001
Tumeurs solides avancées	RAD001 + pazaponib
Leucémie myéloïde aiguë	RAD001 + cytarabine à faible dose

Tableau 10 : Essais en cours de phase 1 de l'évérolimus

Phase 2 : l'objectif de ces phases 2 est d'étudier les relations entre les doses administrées et les effets thérapeutiques observés afin de rechercher la plus petite dose efficace et donc de déterminer la dose optimale. Ces phases 2 permettent d'étudier l'efficacité de la molécule et ses éventuels effets indésirables.

Essais de phase 2 étudiant l'efficacité et l'innocuité de l'évérolimus

Mélanome métastatique de phase 4	Gliome de bas grade
Angiomyolipomes dans STB et lymphangiomyomatose sporadique	Cancer pancréatique avancé
Neurofibromatose de type 2	Cancer colorectal métastatique ayant échoué à la thérapie ciblée et à la chimiothérapie
Adénocarcinomes de l'œsophage et de l'estomac métastatiques ou non résécables	Glioblastome multiforme récidivé
Cancer de la thyroïde réfractaire	Tumeur gliale
Cancer de l'endomètre récidivant	Cancer de la vessie
Sarcomes rétropéritonéales	Sarcome de kaposi
Carcinome gastrique avancé malgré un traitement préalable	maladie de Waldenström
Sarcomes métastatiques ou récidivants	Patients présentant une insuffisance hépatique vs volontaires sains
Cancer du pancréas métastatique préalablement traité	lymphangiomyomatoses
Cancer de la prostate hormono-résistant	Épilepsie chez patients atteints de STB
Lymphomes réfractaires ou intolérants au velcadeR Bortezomib	Cancer du poumon non à petites cellules
Syndrome myélodyslasique	Angiomyolipomes rénaux associés à la STB

cholangiocarcinome	Cancer localisé de la prostate
Cancer du pancréas localement avancé ou métastatique	Mésothéliome pleural malin
Carcinome hépatocellulaire avancé	Cancer du sein métastatique
Mélanomes métastatiques	Leucémie myéloïde aiguë, chronique leucémie lymphoïde aiguë
Carcinome rénal métastatique	Mastocytose systémique
Lymphome réfractaire	Sarcome
Tumeur de l'estomac	Cancer de la prostate
Neurofibromatose de type 1 neurofibromatose de type 2 (enfants et adultes)	

Tableau 11 : Essais de phase 2 étudiant l'efficacité et l'innocuité de l'évérolimus.

Essais de phase 2 comparant l'efficacité et l'innocuité de l'évérolimus versus placebo.

Cancer du sein avec métastase osseuse	Efficacité de RAD001 vs placebo
Cancer du sein métastatique	RAD001 + bévécizumab + paclitaxel vs placebo + bévécizumab + paclitaxel
Carcinome hépatocellulaire	Efficacité RAD001 vs placebo
PKD polikystose rénale	Efficacité et innocuité et itérabilité RAD001 vs placebo dans la prévention de l'insuffisance rénale

Tableau 12 : Essais de phase 2 comparant l'efficacité et l'innocuité de l'évérolimus versus placebo.

Essais de phase 2 comparant l'efficacité et l'innocuité de l'évérolimus versus autre traitement ayant fait ses preuves .

Carcinome rénal métastatique	Compare l'efficacité et la sécurité de RAD001 comme première ligne suivi de sunitinib vs sunitinib en première ligne suivi de RAD001
Carcinome rénal métastatique	Compare l'activité anti-tumorale de RAD001 vs sunitinib
Cancer du rein	Compare RAD001+ bévécizumab vs interféron α -2a + bévécizumab
Carcinome rénal à cellules claires	Compare RAD001 vs BNC105P (un inhibiteur de la polymérisation de la tubuline)

Tableau 13 : Essais de phase 2 comparant l'efficacité et l'innocuité de l'évérolimus versus autres traitements ayant fait leurs preuves.

Essais de phase 2 étudiant l'efficacité et l'innocuité de l'évérolimus en association avec d'autres molécules.

Tumeur gastro-intestinale progressive chez les patients résistant à l'initinib	RAD001 + imitinib
Cancer colorectal métastatique réfractaire	RAD001 + AV-951
Tumeur du pancréas avancé	RAD001 + témozolomide
cancer du sein métastatique triple négatif	RAD001 + carboplatine
Cancer du poumon non à petites cellules récidivant ou métastatique	RAD001 + docétaxel
Cancer de la prostate androgéno-indépendant	RAD001 + docétaxel
Carcinome spinocellulaire de la tête et du cou inopérable ou localement avancé	RAD001 hebdo + carboplatine + paclitaxel
Leucémie myéloïde chronique qui n'a pas complètement répondu à l'imatinib seul	RAD001 + imatinib
Cancer du sein métastatique	RAD001 + cisplatine + paclitaxel
Cancer de la prostate métastatique pré-traité par carboplatine	RAD001 + carboplatine
Tumeur gastrointestinale réfractaire	RAD001 + imatinib
Mélanome métastatique	RAD001 + bévacizumab
Carcinome hépatocellulaire avancé	RAD001 + sorafénid
Carcinome rénal	RAD001 + imatinib
Carcinome rénal métastatique	RAD001 + sorafénid
Carcinome neuroendocrine inopérable	RAD001 + octréotide
Carcinome hépatocellulaire avancé	RAD001 + pasiréotide
Leucémie lymphoïde chronique réfractaire ou en rechute	RAD001 + alemtuzumab
Carcinome rénal avancé	RAD001 + bévacizumab
Cancer du sein métastatique après échec d'inhibiteurs de l'aromatase	RAD001 + fulvestrant
Lymphome diffus à grandes cellules B	RAD001 + rituximab
Cancer gastrique métastatique inopérable	RAD001 + cisplatine+ 5-FU + leucovorine
Leucémie lymphoblastique aiguë	RAD001 + chimiothérapie dose tolérable la plus élevée
Glioblastome multiforme	RAD001 + temozolomide + radiothérapie effets secondaires et dose optimale de RAD001 efficacité
Cancer métastatique de la tête et du cou récidive	RAD001 + docétaxel effets secondaires et dose optimale de RAD001
lymphome non-hodgkinien réfractaire ou en rechute	RAD001 + lénalidomide
Cancer colorectal métastatique	RAD001 + cétuximab + irinotécan
glioblastome multiforme progressive ou cancer de la prostate métastatique progressif	RAD001 + géfitinib effets secondaires et dose optimale

cancer du sein chez les patients qui sont obèses ou en surpoids et en post-ménopause, cancer du sein avec des récepteurs hormonaux positifs qui s'est propagé à d'autres parties du corps.	RAD001 + exemestane + metformine
Cancer du sein métastatique HER2 positif	RAD001 + trastazumab innocuité et dose la plus élevée
Sarcome des tissus mous récidivants ou métastatique	RAD001 + imatinib effets secondaires et dose optimale
Cancer du pancréas métastatique qui ne répond pas à la gencitabine ou tumeur solide avancée	RAD001 + sorafénid effets secondaires et dose optimale
Méningiome récidivant après résection chirurgicale et radiothérapie	RAD001 + bévacizumab efficacité
Cancer du sein chez la femme ménopausée après échec du traitement par tamoxifène anastrozole ou exemestane	RAD001 + létrozole
Cancer colorectal métastatique	RAD001 + bévacizumab innocuité et dose efficace
Tumeur neuroendocrine du pancréas localement avancé ou métastatique non opérable	RAD001 + octréotide efficacité
Cancer avancé du pancréas	RAD001 + erlotinib
Mélanome métastatique	RAD001 + paclitaxel + carboplatine
Cancer de l'endomètre en rechute ou en progression	RAD001 + letrozole
Cancer de la vessie ayant échoué après traitement par une platine	RAD001 + paclitaxel
Cancer de la thyroïde	RAD001 + sorafénid
Ostéosarcome métastatique ou en rechute	RAD001 + sorafénid
Macroglobulinémie de Waldenström	RAD001 + bortézomib et ou tituximab
Carcinome neuroendocrine	RAD001 + bévacizumab
Lymphome	RAD001 + panobinostat
Transplantation cardiaque et pulmonaire	Amélioration de la fonction rénale de RAD001 + diminution des inhibiteurs de la calcineurine
DMLA	Innocuité et efficacité RAD001 seul ou en association avec Lucentis®

Tableau 14 : Essais de phase 2 étudiant l'efficacité et l'innocuité de l'évérolimus en association avec d'autres molécules.

Phase 3

La phase 3 est l'étude comparative d'efficacité à proprement dite. Elles compare le traitement soit à un placebo soit à un traitement de référence et permet de mettre en évidence les interactions médicamenteuses avec les traitements administrés simultanément.

Essais de phase 3 : étude comparative de l'efficacité de l'évérolimus.

Transplantation rénale chez l'enfant	Innocuité et efficacité
Greffe de cœur	Étude de la fonction rénale combinaison RAD001 + néoral vs MMF + néoral
Greffe du rein	Innocuité et tolérance de RAD001 + basiliximab + corticostéroïde vs tacrolimus

Greffe du rein	Efficacité et innocuité de deux doses de RAD001 + dose réduite de ciclosporine vs MMF + ciclosporine dose normale
Transplantation cardiaque	Sécurité et efficacité de RAD001 instauration du traitement au début vs différé
Greffe du foie	Efficacité et sécurité + évolution de la fonction rénale RAD001+ tacrolimus
Carcinome hépatocellulaire avancé après échec par sorafénid	Efficacité et sécurité RAD001 vs placebo
Cancer avancé de l'estomac	Efficacité de RAD001 vs placebo
Angiomyolipome associé à la STB	Efficacité de RAD001 vs placebo
Transplantation pulmonaire	Efficacité
Transplantation hépatique	Étude de la fonction rénale RAD001 vs basiliximab
Transplantation cardiaque	Étude de la réduction de nombre de nouveaux cas de cancer de la peau avec RAD001 vs inhibiteurs de la calcineurine
Transplantation hépatique chez les patients avec insuffisance rénale	Étude de la fonction rénale
Cancer du sein	Efficacité RAD001 + bévacizumab + lapatinib
Tumeur carcinoïde avancée	Étude de l'allongement de la survie sans progression RAD001 vs octréotide
Transplantation rénale chez les personnes âgées	Efficacité et sécurité évérolimus vs ciclosporine
Transplantation rénale	Efficacité et sécurité de différents schémas posologiques de RAD001+ ciclosporine + corticoïdes
SEGA associés à la STB	Efficacité et sécurité RAD001 vs placebo
Transplantation rénale	Innocuité et efficacité RAD001 + basiliximab + stéroïdes + ou ciclosporine
Tumeurs neuroendocrines	RAD001 vs placebo. RADIANT-3
Cancer du rein ayant progressé après un traitement de première ligne	Efficacité RAD001 vs bévacizumab
Transplantation rénale après traitement par basiliximab et corticoïdes	RAD001 + dose réduite de ciclosporine vs MMF + dose standard ciclosporine
Cancer du rein métastatique après traitement par sorafénid et ou sunitinib	RAD001 Vs placebo
Tumeur neuroendocrine	RAD001 Vs placebo
Transplantation cardiaque	Efficacité et sécurité RAD001 + dose réduite ciclosporine vs MMF+ dose normale de ciclosporine

Tableau 15 : Essais de phase 3 : étude comparative de l'efficacité de l'évérolimus.

Phase 4

La phase 4 est le suivi à long terme d'un traitement alors que le traitement est autorisé sur le marché. Elle doit permettre de dépister des effets secondaires rares ou des complications tardives.

Essais de phase 4 : suivi à long terme de l'évérolimus

Transplantation rénale	Innocuité et tolérance et efficacité RAD001 + antagoniste des récepteurs IL-2 + deux différentes doses de tacrolimus
Transplantation cardiaque	Innocuité et efficacité RAD001 + faibles doses de ciclosporine pour minimiser la dysfonction rénale
Transplantation rénale en entretien	RAD001 + faible dose d'inhibiteurs de la calcineurine
Transplantation rénale	Amélioration de la fonction rénale par une conversion anticipée de la ciclosporine par le RAD001
Transplantation rénale	Évaluation si l'administration retardée d'évérolimus peut réduire certains effets indésirables de l'évérolimus tout en maintenant son efficacité vs administration immédiate
Transplantation cardiaque	Évaluation de la fonction rénale RAD001 + ciclosporine
Carcinome rénal métastatique après progression sous bévacizumab	Efficacité RAD001
Pathologie cardiaque	comparaison efficacité stent + évérolimus vs stent + sirolimus en terme de revascularisation à 1 an .

Tableau 16 : Essais de phase 4 : suivi à long terme de l'évérolimus.

Résultats de ces études :

Essais cliniques d'un intérêt certain.

L'essai clinique NOCTET a montré que l'introduction de l'évérolimus à une dose réduite d'inhibiteurs de la calcineurine en transplantation pulmonaire avait significativement amélioré la fonction rénale chez les patients atteints préalablement d'une insuffisance rénale avancée (117).

L'essai de phase 2 de l'évérolimus dans le traitement de la maladie de Waldenström montre une activité antitumorale intéressante de l'évérolimus en monothérapie mais soulève des mécanismes de résistance des cellules tumorales aux inhibiteurs de mTOR (118).

L'étude de phase 2 de l'évérolimus dans le traitement du lymphome de Hodgkin (119) ou dans d'autres types de lymphomes agressifs (120) a montré une activité certaine de l'évérolimus en monothérapie et montre que l'étude de cette voie d'inhibition de mTOR dans le traitement des lymphomes est cliniquement intéressante.

Un essai de phase 2 associant l'évérolimus et le bévacizumab chez les patients atteints de carcinome rénal avancé à cellules claires a permis d'étudier l'efficacité et la toxicité de cette combinaison. Cette association est active et bien tolérée par les patients aussi bien dans le traitement de première ligne que post traitement par sunitinib et/ou sorafénid. Mais les avantages de cette association nécessitent une étude plus approfondie (121).

Essais cliniques d'un intérêt modéré

L'étude de phase 2 évaluant l'évérolimus en monothérapie dans le traitement des tumeurs malignes récidivantes et particulièrement les leucémies lymphoïdes chroniques n'a démontré qu'un intérêt modeste de l'évérolimus dans ce type de leucémie (122).

L'étude de phase 2 analysant l'activité et la tolérance de la combinaison évérolimus/bévacizumab dans le traitement de patients atteints de mélanomes métastatiques n'a démontré qu'un intérêt modeste en terme d'efficacité (123).

Pas d'amélioration

L'étude de phase 2 de l'association évérolimus/paclitaxel et carboplatine chez les patients atteints de mélanome métastatique n'a suggérée aucune amélioration de l'efficacité par rapport au traitement par paclitaxel et carboplatine seuls (124).

PARTIE 3 : LA VOIE DE SIGNALISATION DE MTOR

1 LA VOIE DE SIGNALISATION MTOR

1.1 Présentation de mTOR

mTOR pour Mammalian Target of Rapamycin ou cible de la Rapamycine chez les mammifères est une sérine/thréonine kinase de la famille des phosphatidylinositol kinase related protein kinase (PIKK) intracellulaire. Cette protéine de poids moléculaire de 289 kDa est formée de 2549 acides aminés (125). La sérine/thréonine kinase TOR (Target of Rapamycin) fut découverte chez la levure en 1991 (126) et chez l'Homme en 1994 (125,127,128). C'est une enzyme qui est très conservée au cours du temps. Également appelée FRAP, RAF1 ou RAPT1, elle exerce un rôle primordial dans la régulation du cycle cellulaire et le métabolisme énergétique (129). Elle est la cible d'une famille récente de traitements antitumoraux : les analogues de la rapamycine ou rapalogues qui ont tous en commun leur mode d'action. Ce sont des inhibiteurs de mTOR.

Structurellement mTOR est constituée de plusieurs domaines :

- Extrémité N-terminale constituée d'une répétition en tandem de 20 motifs HEAT (Huntington)
- EF3, une sous-unité de PP2A, TOR1
- FAT (FRAP, ATM, TRAP)
- Domaine catalytique
- Domaine de régulation NDR (Negative Regulatory Domain)
- Le domaine FRB (FKBP12-rapamycin binding)
- FATC (FAT C-terminus) extrémité C terminale

Les motifs HEAT situés à l'extrémité amino-terminale ont une structure secondaire en double hélice alpha aliphatique. Ils seraient impliqués dans l'interaction protéine-protéine.

Les domaines FAT et FATC pourraient être impliqués dans la modulation de l'activité Ser/Thr kinase de mTOR via un mécanisme encore inconnu (130).

Le domaine de régulation NDR comprend plusieurs sites importants pour la régulation de mTOR dont la sérine et la thréonine. Le domaine FRB constitue le site de liaison du complexe FKBP1/rapamycine ce qui inhibe l'activité catalytique de mTOR.



Illustration 9: Les différents domaines de la protéine mTOR (284)

1.2 Complexe mTOR : mTORC1 et mTORC2

La présence des différents domaines d'interactions protéine-protéine et la capacité des détergents non-ioniques à réduire l'activité enzymatique de mTOR suggèrent que mTOR fait partie d'un complexe multiprotéique (131). En effet, lors de la purification de mTOR par chromatographie d'exclusion moléculaire, on isole un complexe de 1.5 à 2 MDa (131). Ainsi, les recherches pour identifier les protéines associées à mTOR ont permis de mettre en évidence deux complexes structurellement et fonctionnellement distincts de mTOR : mTORC1 (131) et mTORC2 (132).

mTORC1 est la mieux caractérisée et la mieux connue des 2 mTOR. Cet important pas réalisé dans la connaissance de la régulation de mTORC1 provient de la découverte du contrôle négatif du complexe TSC1/2 sur ses activités.

mTORC1 est très sensible à la rapamycine, alors que mTORC2 est relativement insensible à la rapamycine (133). Cependant un traitement prolongé par la rapamycine réduirait les taux de mTORC2 qui sont inférieurs à ceux nécessaires pour maintenir la signalisation d'AKT (134). La rapamycine, en association avec la protéine de liaison FKBP12, a été rapportée pour interagir avec mTORC1 d'une manière compétitive avec l'acide phosphatidique (PA), le produit métabolique de la phospholipase D (PLD) (135).

1.2.1 Composants communs à mTORC1 et mTORC2

mTORC1 et mTORC2 contiennent des protéines associées communes dont les fonctions moléculaires restent encore mal connues. Chaque complexe contient mTOR, mLST8/GβL et deptor. mLST8 s'associe au domaine kinase de mTOR et augmente l'activité intrinsèque de celui-ci (136) tandis que deptor agit comme inhibiteur de ces deux complexes.

D'autres protéines associées permettent de distinguer les deux complexes.

1.2.2 Composition de mTORC1

mTORC1 contient exclusivement Raptor (regulatory -associated protein of mTOR) et PRAS40.

Raptor est une protéine ubiquitaire de 150 kDa (131). L'analyse de la séquence de cette protéine révèle de nombreux domaines d'interaction protéine-protéine dont les domaines HEAT, RNC (Raptor N-terminal Conservée) et WD40 mais Raptor n'a pas de fonction enzymatique. Des études de mutagenèse ont révélé que tous ces domaines sont impliqués dans la liaison entre mTOR et Raptor (131). Ce dernier occupe un rôle important dans l'activation des effecteurs Ribosomal Protein S6 kinase ou S6K et Eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein-1 ou 4EBP1 par mTOR. Raptor recrute ces effecteurs par l'intermédiaire de TOS (TOR signaling) présents sur S6K et 4EBP1 (137). Raptor permet de relier la kinase de mTORC1 aux différents substrats. Raptor a donc un rôle essentiel pour l'activité de mTORC1 en réponse à l'insuline, les nutriments et le niveau d'énergie.

PRAS40 est une autre sous-unité de mTORC1 et agirait comme un inhibiteur direct de mTOR (138), PRAS40 a été identifié comme étant un substrat de la protéine kinase B ou AKT et est directement phosphorylé sur T246 (139). De cette phosphorylation en découle une inhibition de mTORC1. PRAS40 s'associe à mTORC1 via Raptor par son domaine FVMDE. Des sites de phosphorylation par mTORC1 ont également été identifiés sur PRAS40 (140).

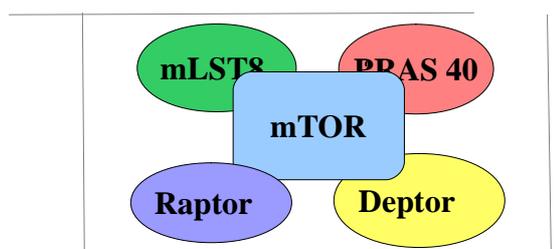


Figure 6 : Composition de mTORC1.

1.2.3 Composition de mTORC2

mTORC2 contient exclusivement Rictor (rapamycin insensitive companion of mTOR), mSin1 (mammalian stress-activated) ainsi que PRR5/protor.

Rictor est une protéine ubiquitaire de 200 kDa dont la structure et la fonction exacte sont encore très peu définies, il semble servir de protéine d'échafaudage au même titre que Raptor mais ne peut pas recruter les protéines avec la séquence TOS (132). Raptor influencerait l'activité des protéines en aval de mTORC2, dont la phosphorylation de AKT et de la protéine kinase C ou PKC.

Rictor et mSin1 sont nécessaires à l'assemblage et à la fonction de signalisation de mTORC2. La fonction de PRR5/protor reste inconnue (141).

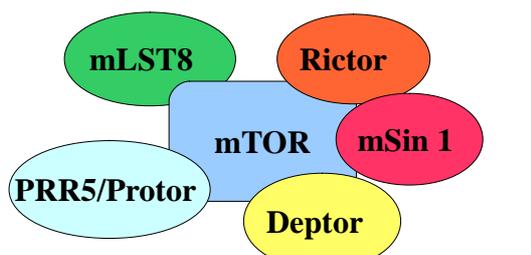


Figure 7 : Composition de mTORC2.

2 RÉGULATION EN AMONT DE MTOR

L'activité de mTOR est modulée de façon directe par l'environnement, en effet mTOR intègre de nombreux signaux dont les nutriments, les facteurs de croissance ainsi que le métabolisme énergétique afin de s'assurer que l'environnement peut subvenir aux besoins des différentes fonctions de la voie mTOR (129). Toutes les voies de régulation que nous allons voir concernent en majorité la régulation de mTORC1.

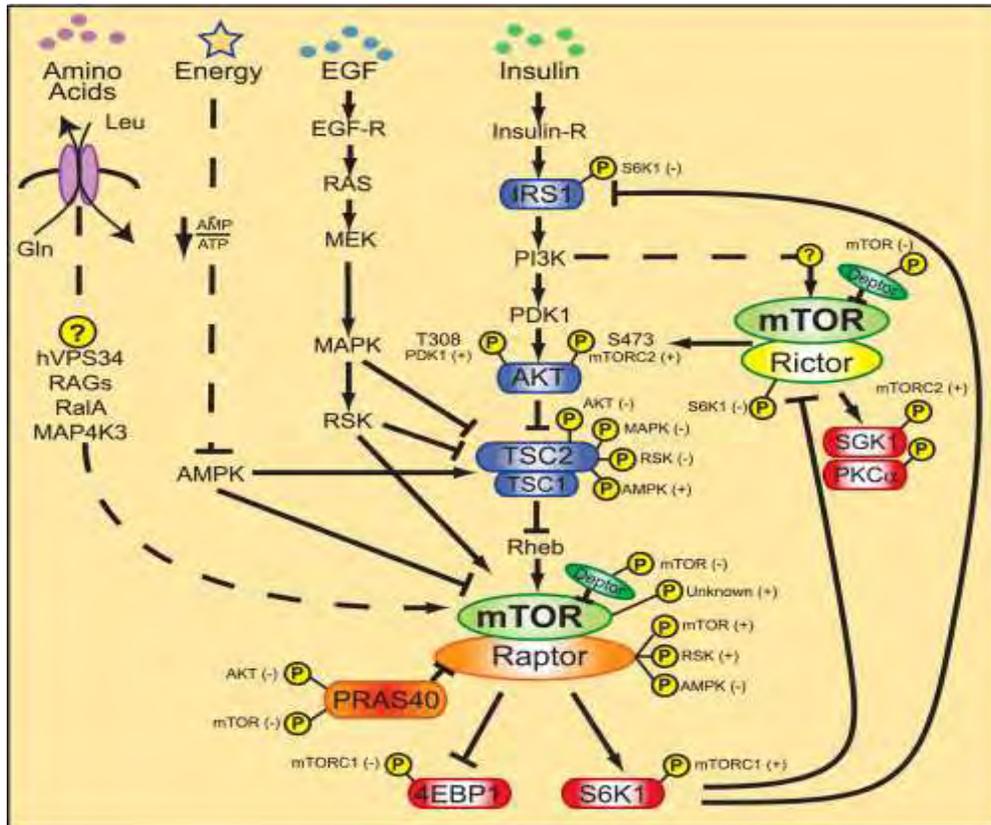


Figure 8 : Régulation de la voie mTOR. Cascades d'activations ou d'inhibitions convergeant sur TSC et mTOR à partir des différents signaux extracellulaires (274).

-  activation
-  inhibition
- (+) phosphorylation
- (-) déphosphorylation

2.1 Régulation en amont de mTORC1

2.1.1 De la PI3K à mTORC1 : voie classique de régulation de mTOR

Cette voie dite « classique » est la voie principale de régulation et de contrôle de l'activité de mTORC1 qui permet de réguler la croissance cellulaire par l'intermédiaire de signaux comme l'insuline ou des facteurs de croissance. Certains de ces composants interviennent aussi dans la réponse à d'autres stimuli comme le niveau d'énergie, le stress ou les nutriments.

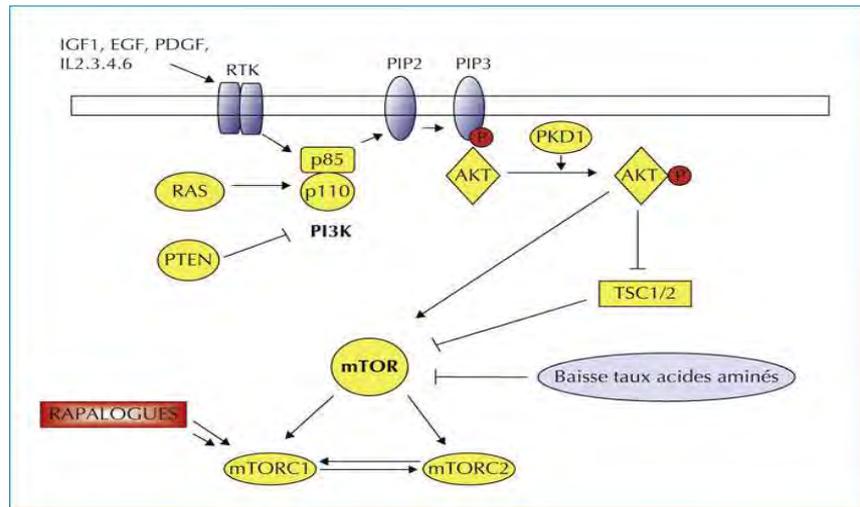


Figure 9 : La voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR (275).

2.1.1.1 Des récepteurs à tyrosine kinase à l'activation de AKT par l'intermédiaire de la PI3K

Récepteur à tyrosine kinase :

Les récepteurs à tyrosine kinase (RTK) sont des protéines situées au niveau de la membrane cellulaire. Elles possèdent un domaine extracellulaire, un domaine transmembranaire et un domaine intracellulaire. Le domaine extracellulaire est le domaine d'affinité pour le ligand. En l'absence de ligand, ces récepteurs existent sous forme de monomères inactifs. La fixation d'un ligand - facteurs de croissance (IGF, PDGF, EGF, VEGF etc), des cytokines (interleukines 1,2,3 etc) ainsi que l'insuline ou IGFs (insuline-like growth factor) - entraîne l'association de 2 monomères formant un dimère actif. La dimérisation induit l'activation de l'activité tyrosine kinase ce qui va se traduire par la phosphorylation de résidus tyrosine présents sur les récepteurs eux-mêmes.

Pour chaque phosphorylation, une molécule d'ATP est consommée.

Ces événements vont entraîner l'activation de diverses cascades de signalisation dont la PI3K et la phospholipase C (142).

La PI3 kinase

La PI3K est constituée d'une sous-unité régulatrice p85 et d'une sous-unité catalytique p110.

La sous-unité régulatrice contient un domaine SH2, qui reconnaît les tyrosines phosphorylées des récepteurs activés. La fixation de p85 sur les groupements tyrosines phosphorylées induit un changement conformationnel qui entraîne un rapprochement de la kinase PI3K et de son substrat.

La fixation de p85 sur ces groupements lui permet d'activer la sous-unité catalytique et ainsi de stimuler son activité kinase.

L'activation de la voie de la PI3K peut se faire directement par certains récepteurs à activité tyrosine kinase ou par l'intermédiaire de RAS activée.

Une fois activée, la PI3K phosphoryle des phospholipides membranaires et permet de générer le phosphatidyl-inositol-3,4,5-triphosphate (PIP3) à partir du phosphatidyl-inositol-4,5-biphosphate (PIP2).

activation de AKT

La présence de ce groupement phosphate sur le carbone 3 de l'inositol va être reconnue par AKT qui possède un domaine PH (Pleckstrin Homology). AKT est alors recrutée à la membrane plasmique où elle va être phosphorylée et activée par la 3'-phosphoinositide dependent kinase 1 (PDK1). AKT est un proto-oncogène qui régule de nombreuses cibles en aval dont mTOR.

mTOR est régulée par AKT par au moins 2 mécanismes différents : de manière directe par phosphorylation ou de manière indirecte par phosphorylation et inactivation de TSC2 (143).

régulation de l'activation de AKT

PTEN pour (phosphatase and tensin homologue gene) est une phosphatase capable de déphosphoryler le PIP3 en PIP2 s'opposant ainsi à la fonction de PI3K ce qui conduit à l'inactivation de AKT et donc de mTOR. Cette phosphatase est donc un contrôle négatif de la voie PI3K.

2.1.1.2 De l'activation de AKT à l'activation de mTORC1

Le complexe TSC1/TSC2

TSC1 et *TSC2* sont des gènes suppresseurs de tumeurs mutés dans la sclérose tubéreuse de Bourneville. Leurs produits de gènes, respectivement l'hamartine ou TSC1 et la tubérine ou TSC2, forment un complexe TSC. TSC2 possède un domaine à activité GAP (GTPase Activating Proteine) ce qui est essentiel pour le fonctionnement du complexe.

Dans les conditions favorables de croissance, AKT phosphoryle et inactive TSC2 ce qui aboutit à une inactivation de son activité GAP. Cette activité GAP inhibe la protéine Ras Homolog Enriched in Brain (RHEB) qui va passer de la forme couplée au GTP à la forme couplée au GDP. Cette dernière va inactiver mTORC1. L'inactivation de TSC2 aboutit donc à une activation de mTORC1 (143).

TSC1 ne possède pas d'activité GAP mais serait nécessaire pour stabiliser TSC2.

Ce complexe joue un rôle clé dans l'activation de mTOR et est considéré comme le régulateur inhibiteur principal en amont de mTORC1. Ce complexe agit comme un commutateur, en cas de stress, il inhibe l'activité de mTORC1 ce qui a pour but de limiter la croissance cellulaire et lève l'inhibition dans les conditions favorables.

La protéine RHEB

RHEB fait partie de la superfamille Ras qui semble être conservée chez tous les eucaryotes. RHEB existe sous deux formes, une forme désactivée liée au GDP et une forme activée liée au GTP. Le mécanisme par lequel RHEB/GTP active mTORC1 n'est pas entièrement connu. Il a été constaté que RHEB peut interagir directement avec la FKBP38 et cette interaction semble plus forte lorsque RHEB est liée au GTP (144). RHEB/GTP, liée à FKBP38, prévient l'interaction de cette dernière avec mTORC1 ; ce qui stimule l'activité de mTORC1.

La surexpression de RHEB conduit à une stimulation de l'activité kinase de mTORC1 et donc à une augmentation de la phosphorylation de S6K1 et 4EBP1 qui sont des indicateurs de l'activité de mTORC1. Cet effet peut être inversé par l'inhibition de la protéine mTORC1 par la rapamycine.

2.1.2 Activation de mTORC1 par les nutriments

L'activation de la voie mTORC1 est dépendante de la présence d'acides aminés dans le milieu (129). Ce mécanisme assure que la cellule aura accès à suffisamment de substrats pour la synthèse protéique afin de permettre le maintien de la croissance cellulaire. La privation d'acides aminés et en particulier de la leucine amène à une rapide déphosphorylation des effecteurs S6K1 et 4E-BP1 en aval de mTORC1 et à l'inverse, la réintroduction d'acides aminés aboutit à leur rephosphorylation. La présence d'acides aminés permet un changement conformationnel du complexe mTOR/Raptor/mLST8 ce qui permet une meilleure interaction entre Raptor et les effecteurs et augmente l'accessibilité des substrats de mTOR et des kinases associées. Ces hypothèses restent à confirmer (129).

Plusieurs hypothèses expliquent par quelles voies les acides aminés activeraient mTORC1 :

- par l'intermédiaire de l'inhibition du complexe TSC (145).
- ils activeraient RHEB indépendamment du complexe TSC (146).
- la participation d'autres kinases, dont hVPS34 (mammalian vacuolar protein sorting 34 homolog), IPMK (inositol polyphosphate monokinase) et MAP4k3 (mitogen-activated protein kinase kinase kinase 4), qui interviendraient dans l'activation de mTORC1 par les acides aminés, a été évoquée dans la littérature sans que leurs rôles respectifs n'aient été clairement établis (147–149).

2.1.3 Activation de mTORC1 par les facteurs de croissance et par l'insuline

L'activité de mTORC1 est régulée par les facteurs de croissances et par l'insuline par plusieurs voies : l'une impliquant la voie PI3K/AKT/mTORC1, l'autre impliquant la phospholipase D (PLD) et enfin une autre impliquant la voie Extracellular signal-regulated kinases (ERK) ou la voie des Ras–mitogen-activated protein kinase (MAPK).

2.1.3.1 La voie PI3K/AKT/mTORC1

La régulation de l'activité mTORC1 par les facteurs de croissance médiée par la voie PI3K/AKT, conduit par une cascade de phosphorylation, à l'inhibition de l'activité GAP de TSC2 par AKT et donc à l'activation de RHEB qui va rester sous sa forme liée au GTP qui va à son tour activer mTORC1.

2.1.3.2 Voie impliquant la phospholipase D

Un autre médiateur de l'activation de la voie mTORC1 par les facteurs de croissance et l'insuline a été identifié, l'acide phosphatidique (PA). La PLD hydrolyse la phosphatidylcholine (PC) des membranes cellulaires, générant ainsi le messenger qui est l'acide phosphatidique (PA) et la choline (C). Le PA a la capacité de lier le domaine FRB de mTOR. Pour le moment, il n'est pas déterminé si cette régulation est indépendante de la voie PI3K/AKT/TSC2/RHEB. Par contre, puisque la sur-expression du complexe TSC altère la signalisation du PA, il a été suggéré que ces deux voies de signalisation sont dépendantes l'une de l'autre (150). Cette théorie a été appuyée dans une étude de Sun et al (151) qui montre que :

- La surexpression de RHEB, l'inhibition ou la délétion du complexe TSC active la PLD dans les cellules.
- La surexpression de TSC2 inhibe l'activité de PLD.

D'après cette étude, PI3K et AMPK, les deux régulateurs établis de TSC2, se situeraient en amont de PLD. De plus l'activation de la PLD dépendrait de la suffisance en acides aminés. Enfin, RHEB se lie et active PLD in vitro de façon GTP-dépendante, suggérant que PLD est un effecteur pour RHEB. Par conséquent, ces résultats révèlent une interaction inattendue entre deux cascades de signalisation des voies d'activation de mTOR : la voie classique et la voie de la phospholipase D.

2.1.3.3 Voie ERK ou voie des MAP kinases

Cette voie comprend un certain nombre de kinases, étant chacune activée par phosphorylation. Cette cascade de phosphorylations et donc l'activation de cette voie de signalisation MAPK (mitogen-activated protein kinase) stimule l'activité de mTORC1.

L'Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) est le principal récepteur membranaire capable d'activer la voie Ras/MAPK.

La fixation du ligand Epidermal Growth Factor (EGF) entraîne une homo et/ou hétérodimérisation de l'EGFR avec d'autres récepteurs tels que Human Epidermal Growth factor Receptor-2 (HER2) ainsi qu'une autophosphorylation de ces récepteurs à activité tyrosine kinase intrinsèque. Les résidus tyrosine phosphorylés servent de site d'amarrage pour un certain nombre de protéines intracellulaires contenant un domaine SH2 Src homology-2 comme le complexe Grb2/Sos ; Grb2 étant une protéine adaptatrice et Sos une GEF (guanine exchange factor) activatrice de Ras. Ce complexe facilite la conversion de la forme inactive de Ras (liant le GDP) en forme active (liant le GTP). La protéine Ras-GTP permet l'activation successive de trois sérine/thréonine kinases : une Map kinase kinase kinase (Raf) qui active une Map kinase kinase (Mek) qui active une Map kinase (ERK). ERK va phosphoryler TSC2 sur la Ser 664. Il en résulte la dissociation et donc une inhibition du complexe TSC qui va activer mTORC1. Le complexe Grb2/Sos va aussi activer la protéine PI3K.

Ainsi, l'activation de l'EGFR, est responsable de l'activation de voies de signalisation intracellulaires situées en aval que sont la voie Ras/MAPK et la voie PI3K/AKT (152).

2.1.4 Contrôle de la voie de signalisation mTORC1 en réponse à une privation de glucose / Stress énergétique

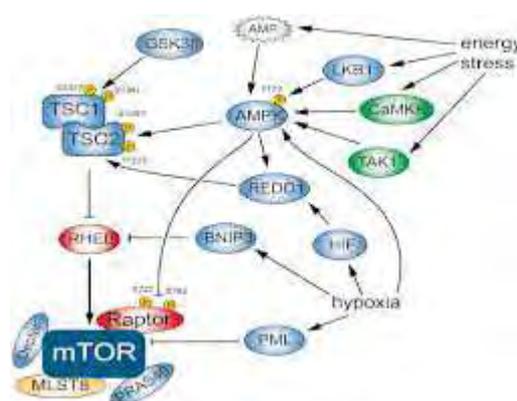


Figure 10 : Contrôle de la voie de signalisation mTORC1 en réponse à un stress énergétique (276).

L'AMPK, une sérine/thréonine kinase activée par l'AMP, est un capteur d'énergie. L'AMPK est constituée de 3 sous-unités, une sous-unité catalytique (α) et deux régulatrices (β et γ).

Lors d'un stress énergétique caractérisé par un rapport AMP/ATP élevé, l'AMP se lie directement sur la sous-unité γ de l'AMPK qui lui permet d'être phosphorylée par la kinase LKB1. Cette phosphorylation est indispensable pour l'activation de l'AMPK. L'AMPK activée va phosphoryler TSC2 qui va à son tour inhiber l'activité de mTORC1. La diminution de l'activité de mTORC1 a été mesurée par le taux de phosphorylation de S6K1 (153). L'AMPK phosphoryle TSC2 sur les résidus thréonines et sérines autres que ceux phosphorylés par AKT ; ce qui a pour effet l'augmentation de l'activité GAP de TSC2. Ainsi, la conversion de RHEB/GTP en RHEB/GDP conduit à l'inhibition de mTORC1 et la cascade de signalisation en aval. L'analyse de la séquence primaire de TSC2 a démontré qu'il y avait huit sites de reconnaissance pour l'AMPK (129).

Une étude montre que le taux énergétique cellulaire peut contrôler mTORC1 indépendamment du complexe TSC. En effet, l'AMPK peut phosphoryler Raptor ce qui conduit à une suppression directe de l'activité kinase de mTORC1 (154). Cette découverte souligne l'importance de la régulation négative de mTORC1 en réponse à un stress énergétique qui peut se faire de manière directe et indirecte.

L'action de l'AMPK permet d'inhiber les fonctions nécessitant beaucoup d'énergie et d'activer les voies cataboliques pour restaurer le pool énergétique.

2.1.5 Contrôle de la voie de signalisation mTORC1 en réponse à l'hypoxie

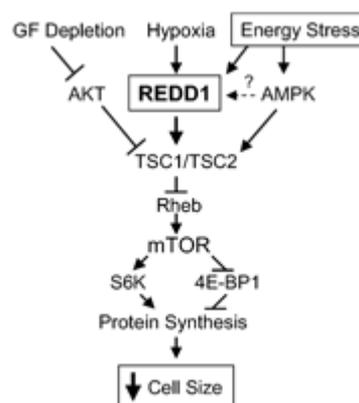


Figure 11 : Contrôle de la voie de signalisation mTORC1 en réponse à l'hypoxie (277).

L'hypoxie induit des changements rapides dans le métabolisme cellulaire grâce à l'inhibition de mTORC1. Cette régulation à la baisse de l'activité de mTORC1 induit par l'hypoxie nécessite l'expression du gène *REDD1*. *REDD1* agit sur TSC2 en l'activant par un mécanisme peu connu et permet l'inhibition de mTORC1 (155).

REDD1 agirait sur TSC2 en se liant à la protéine inhibitrice 14-3-3 et provoquant sa dissociation de TSC2 ce qui induit une activation de TSC2 et donc une diminution de l'activité de mTORC1.

In vitro, la perte de *REDD1* augmente les taux de HIF-1 et favorise la croissance et la prolifération cellulaire sous hypoxie. Enfin, la régulation négative de l'expression de *REDD1* est observée dans un sous-ensemble de cancers humains que sont les carcinomes (156).

La perte de l'expression de *REDD1* est un mécanisme intervenant dans la tumorigenèse du cancer du sein primaire (157).

2.1.6 Contrôle de la voie de signalisation mTORC1 en réponse à des dommages de l'ADN

Le facteur de transcription p53 codé par *TP53*, un gène suppresseur de tumeur, est activé suite à des stress génotoxiques. L'activation de p53 inhibe l'activité de mTORC1 et dérégule ses fonctions, y compris l'autophagie, un processus modulant la progression tumorale. Ces mécanismes par lesquels p53 inhibe mTORC1 impliquent l'activation de l'AMPK et le complexe TSC (158).

2.1.7 Contrôle de la voie de signalisation mTORC1 en réponse à d'autres signaux

La signalisation mTOR peut être activée par des cytokines pro-inflammatoires comme le TNF alpha (tumor necrosis factor alfa). Ainsi, l'IKK β , une kinase majeure de la signalisation de cytokines pro-inflammatoires phosphoryle et inhibe TSC1 aboutissant à l'activation de la voie mTORC1 (159).

D'autre part, Wnt (wingless related), une famille de glycoprotéines riches en cystéines d'environ 350 acides aminés et sécrétées dans le milieu extracellulaire jouent un rôle important dans l'embryogenèse et la croissance ainsi que dans la prolifération chez l'adulte. La voie de Wnt prévient la glycogen synthesis kinase 3 beta (GSK3 β) de phosphoryler et stimuler l'activité GAP de TSC2, facilitant ainsi l'activation de mTORC1 (160).

2.2 Régulation en amont de mTORC2

Comparée à mTORC1, la régulation en amont de la voie de signalisation mTORC2 est peu connue. Le complexe rapamycine-FKBP12 ne se lie pas directement à mTORC2 mais le traitement de longue durée par la rapamycine perturbe l'assemblage des éléments constitutifs de mTORC2 des cellules cancéreuses par un mécanisme inconnu (134).

mTORC2 est insensible aux nutriments et au stress énergétique mais est sensible aux facteurs de croissance par un mécanisme faisant appel à la PI3K mais contrairement à mTORC1 le mécanisme de régulation est méconnu. Cette voie, dépendante du PI3K, serait différente et indépendante de la voie faisant intervenir PI3K de mTORC1 (161,162).

3 EN AVAL DE MTOR

mTOR est au centre de plusieurs voies cellulaires clés. Ces voies conduisent à plusieurs processus y compris la croissance cellulaire, l'expression de transporteurs de nutriments situés à la surface de la membrane plasmique, la régulation de la machinerie traductionnelle et de la synthèse protéique, la biogenèse des ribosomes, la régulation de la progression du cycle cellulaire, la réponse aux nutriments et au stress cellulaire, l'angiogénèse, la polarité cellulaire ainsi que l'organisation du cytosquelette. mTOR a également un rôle dans l'autophagie.

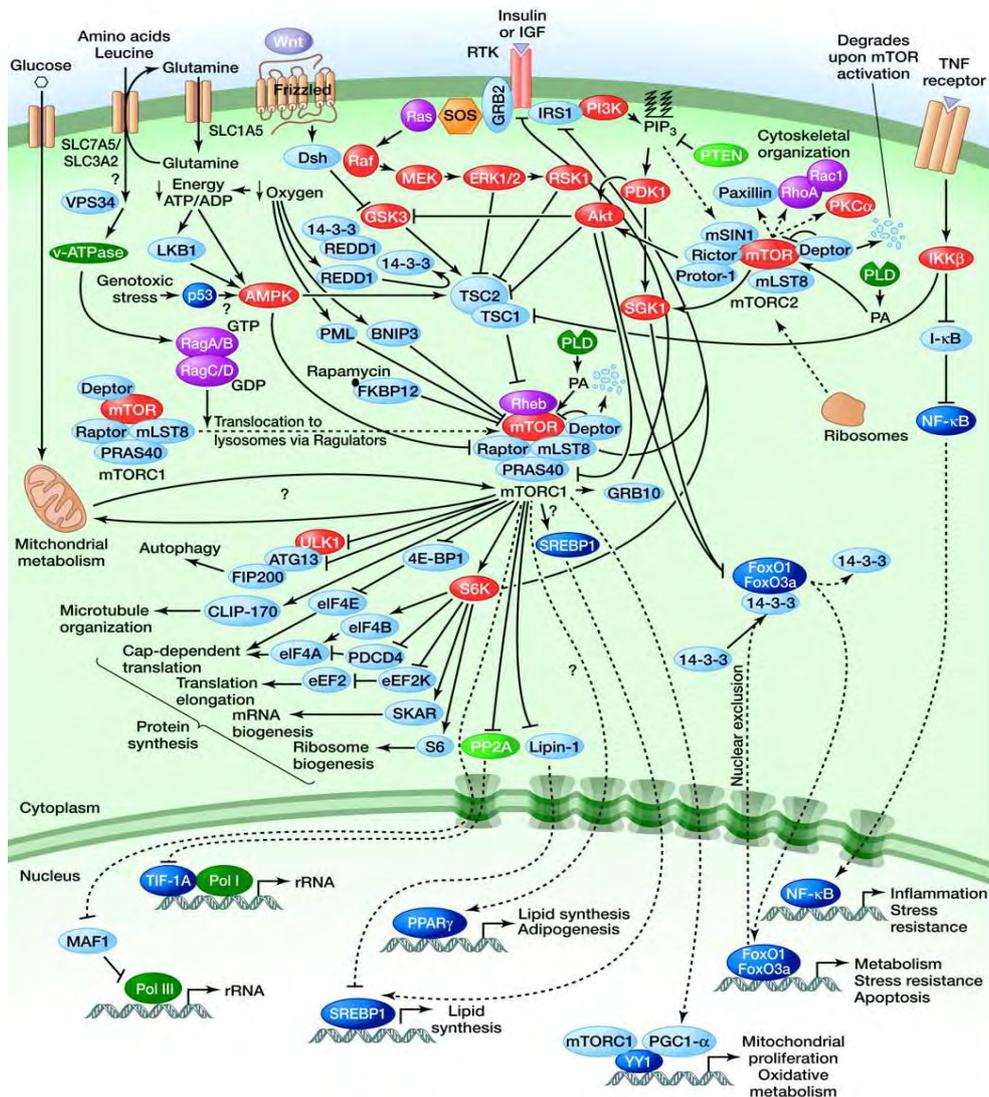


Figure 12 : Voie de signalisation mTOR (278).

3.1 Cibles et fonctions de mTORC1

3.1.1 mTORC1 régule la machinerie traductionnelle

Après activation, mTORC1 va phosphoryler en aval d'autres protéines qui vont réguler des processus cellulaires impliqués dans la croissance et la prolifération cellulaire.

Les deux effecteurs de mTORC1 sont l'EIF4E-BP1 (Eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1) abrégé par 4E-BP1 et la S6K1 (sérine/thréonine kinase S6). Ces 2 molécules régulent la synthèse protéique.

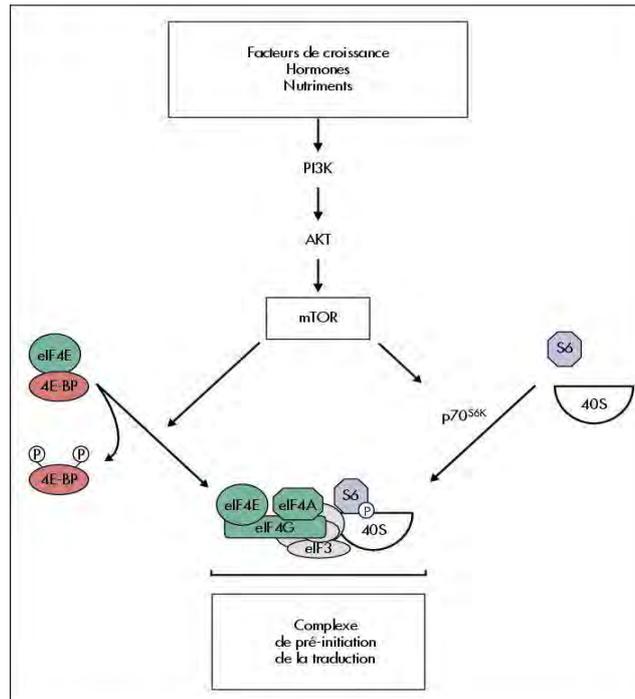


Figure 13 : Contrôle de la synthèse protéique par mTORC1 en présence de quantités suffisantes de nutriments, facteurs de croissances et d'hormones (279).

3.1.1.1 4EBP1

À l'état basal, la protéine mTORC1 est associée à un facteur d'initiation de la traduction eIF4E par l'intermédiaire d'une protéine de répression 4EBP1. En absence de phosphorylation de 4EBP1, le facteur eIF4E ne peut pas être libéré pour recruter les ribosomes et démarrer le processus de traduction de l'ARNm en protéines. L'activation de mTORC1 lui permet de phosphoryler 4EBP1 ce qui libère eIF4E qui peut alors faciliter la synthèse des protéines en recrutant d'autres facteurs d'initiation de la traduction eIF4G et eIF4A et ainsi assembler le complexe de traduction en 5' de l'ARNm (143).

eIF4E est impliqué dans la direction du ribosome vers la structure en coiffe de l'ARNm située en 5' de celui-ci. eIF4E se retrouve sous forme libre, mais il va s'associer avec eIF4A et eIF4G pour former un complexe multiprotéique appelé eIF4F. eIF4A possède une hélicase dépendant de l'ATP et eIF4G est une protéine de structure.

Ce complexe va se lier à l'extrémité 5' de l'ARNm et permettre son déroulement pour faciliter la liaison des ribosomes. eIF4G recrute la petite sous-unité ribosomale grâce à eIF3. 4E-BP1 et eIF4G sont en concurrence puisqu'ils possèdent le même site de liaison à l'eIF4E (163). 4E-BP1 hypophosphorylé interagit fortement avec eIF4E, alors que la forme hyperphosphorylée se lie faiblement (164).

L'inhibition de mTORC1 empêche donc la phosphorylation de 4E-BP1 qui lorsqu'il est hypophosphorylé a la possibilité d'inhiber la libération du facteur traductionnel eIF4E et donc d'inhiber la synthèse protéique.

3.1.1.2 La sérine/thréonine kinase S6

L'effet de la S6K sur la traduction de l'ARNm est indirect. S6K agit sur plusieurs substrats dont le plus connu est la protéine ribosomale S6 qui est une composante de la sous-unité 40 S du ribosome. La phosphorylation de S6 est un bon reflet de l'activité de S6K et constitue le biomarqueur de l'activité de mTORC1.

Les cellules de mammifères contiennent deux S6 kinases similaires qui sont codées par 2 gènes différents (165). En absence de stimuli extracellulaires, S6K est associée à eIF3. Lors de l'addition de facteurs de croissance ou des éléments nutritifs, la mTOR/Raptor est recrutée par eIF3 et phosphoryle S6K. Cette phosphorylation conduit à sa dissociation de eIF3. Lorsqu'elle est phosphorylée par mTORC1, S6K participe à la phosphorylation ou au recrutement de multiples protéines en aval : eEF2 (eucaryotic elongation factor 2) qui intervient dans l'élongation de la chaîne polypeptidique en cours de synthèse, eIF4B qui intervient dans la synthèse protéique. En effet, eIF4B est nécessaire pour le recrutement du ribosome sur l'ARNm et active de manière spécifique l'ATPase et la RNA hélicase de eIF4A (166).

La phosphorylation de S6K entraîne un rétrocontrôle négatif de la voie PI3K/AKT empêchant toute suractivation de la traduction (167).

3.1.2 mTORC1 régule l'autophagie



Figure 14 : Régulation de l'autophagie par la voie mTORC1 (276)

L'autophagie est un processus de dégradation cellulaire qui génère des nutriments et de l'énergie pour maintenir les activités cellulaires essentielles en cas de privation de nutriments. Elle peut avoir un rôle suppresseur de tumeur en éliminant les cellules présentant des dommages irréversibles qui peuvent évoluer vers une transformation maligne. Les protéines et organites endommagés sont transférés vers les lysosomes pour y être dégradés. Ce processus, très conservé de la levure aux mammifères, est impliqué dans le cancer et les troubles neurodégénératifs. L'autophagie est initiée par un complexe protéique. ULK1 et ULK2 forment ce complexe avec Atg13, FIP200 et Atg17 (168).

L'activation de l'autophagie nécessite des facteurs supplémentaires comme Atg101. Atg101 est essentiel pour l'autophagie et interagit avec ULK1 (169).

mTORC1 activée a été rapportée pour phosphoryler directement ULK1 et Atg13 (170). mTORC1 se lie au complexe ULK et l'inactive par l'intermédiaire de Raptor lors de conditions de suffisance en éléments nutritifs et se dissocie du complexe et l'active en cas de déficience (171). L'activation de mTORC1 va inhiber l'autophagie alors qu'une inhibition de mTORC1 va l'activer.

En cas de déficience en nutriments, l'AMPK joue un rôle dans l'induction de l'autophagie par phosphorylation de TSC2 ce qui a pour effet l'augmentation de l'activité GAP de TSC2 et donc une inactivation de mTORC1. L'AMPK va aussi provoquer l'induction de l'autophagie par l'intermédiaire de Raptor. Cette activation directe ou indirecte de mTOR aboutit à une activation du complexe ULK.

L'AMPK peut aussi interagir par phosphorylation directe de ULK1 de façon dépendant du niveau de nutriments (172). Les sites de phosphorylation de ULK1 par mTORC1 ou l'AMPK ont été cartographiés et très peu de sites se chevauchent (173).

L'effet de la phosphorylation de l'AMPK sur le complexe ULK n'est pas bien connu et on retrouve des études contradictoires quant à ses effets comme inducteur ou inhibiteur de l'autophagie. L'étude de Kim et al (173) suggère une activation de ULK en cas de privation de glucose alors que l'étude de Shang (174) suggère un effet inhibiteur de l'AMPK sur l'autophagie en cas de privation en acides aminés.

3.1.3 mTORC1 régule la survie, la croissance et la prolifération cellulaire

3.1.3.1 La survie cellulaire

L'apoptose ou mort cellulaire programmée est une fonction cellulaire normale qui contrôle une prolifération excessive par autodestruction en réponse à un stimulus. Les cellules cancéreuses ont mis au point de nombreux mécanismes qui permettent d'inhiber l'apoptose et ainsi prolonger leur survie.

AKT a une fonction anti-apoptotique et les mécanismes par lequel il protège les cellules de la mort programmée est multifactorielle.

- AKT phosphoryle la protéine BAD. BAD est une protéine pro-apoptotique de la famille des BCL-2 qui promeut la mort cellulaire lorsqu'elle est associée à un facteur de survie BCL-XL. La phosphorylation de BAD par AKT empêche cette interaction donc BCL-XL peut garder sa fonction anti-apoptotique (175).
- AKT phosphoryle aussi une protéase : la caspase-9 et inhibe ainsi son activité catalytique ce qui prolonge la survie cellulaire (176).
- AKT phosphoryle FKHR qui fait partie des facteurs de transcription et empêche sa translocation dans le noyau et l'activation de protéines pro-apoptotiques (177).
- AKT peut phosphoryler et ainsi activer IKB kinase (IKK) qui va dégrader l'inhibiteur du facteur de transcription NF- κ B qui promeut la survie cellulaire (178).
- AKT peut aussi phosphoryler Mdm2 qui est la p53 binding protéine qui inhibe les fonctions de p53 qui est une protéine pro-apoptotique (179).

ERK est aussi une kinase inhibitrice de l'apoptose, au même titre que AKT, par phosphorylation de nombreuses molécules anti-apoptotiques comme Bcl-2 et Mcl-1 ou pro-apoptotiques comme Bad, Bim, CREB, Foxo, Caspase-9 (180).

3.1.3.2 La croissance cellulaire

La synthèse de macromolécules qui amène à une augmentation de la masse et de la taille cellulaire est un processus important dans la tumorigenèse.

Le régulateur central de cette croissance cellulaire est la protéine mTORC1. mTORC1 régule la biogenèse par phosphorylation de S6K (qui améliore la traduction des ARNm) et le 4EBP1 (qui est un répresseur de la traduction et qui va être inactivé). mTORC1 est une molécule senseur qui régule la synthèse protéique en fonction de la disponibilité des nutriments (181).

3.1.3.3 La prolifération cellulaire

AKT influe sur la machinerie du cycle cellulaire. Le cycle cellulaire est régulé par l'action coordonnée de CDK (cyclin-dependent kinase) ainsi que des CKI qui sont des inhibiteurs de CDK.

Le taux de cycline D1 est important pour le passage de la cellule de la phase G1 à la phase S. Ce taux est régulé par AKT qui prévient la dégradation de la cycline D1 par le contrôle de l'activité de la GSK3 β (D1 cyclin glycogen synthase kinase-3beta). La GSK3 β phosphoryle la cycline D1 qui va être dégradée. La phosphorylation induisant l'inhibition de l'activité kinase de GSK3 β par AKT permet une augmentation du taux de la cycline D1 (182).

AKT va aussi réguler négativement l'expression des inhibiteurs de CDK comme le KIP1 (ou p27) ou WAF1 (aussi connu sous p21) (183).

Le blocage pharmacologique de PI3K ou de AKT peut donc provoquer un arrêt du cycle cellulaire.

3.1.4 mTORC1 régule l'angiogenèse

La voie PI3K joue un rôle important dans la régulation de l'angiogenèse à la fois dans les tissus normaux et dans les cancers.

HIF-1 est un composant central d'un mécanisme de détection de l'oxygène dans les cellules (115). La variation de la concentration en oxygène intracellulaire est le stimulus principal qui permet la régulation de l'activité de l'HIF-1 mais il existe des facteurs indépendants de l'oxygène comme par exemple : des facteurs de croissance (insuline, EGF, PDGF), des cytokines (TNF α , IL-1 β), une dérégulation d'oncogènes ou de gènes suppresseurs de tumeur (115).

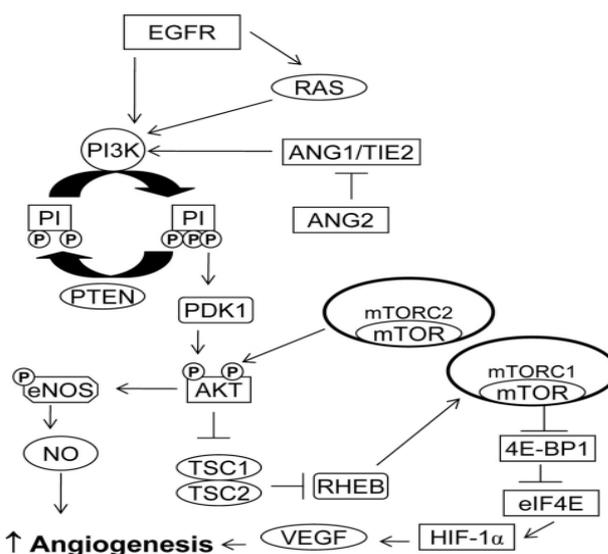


Figure 16 : La voie PI3K/AKT mTOR dans l'angiogenèse (281).

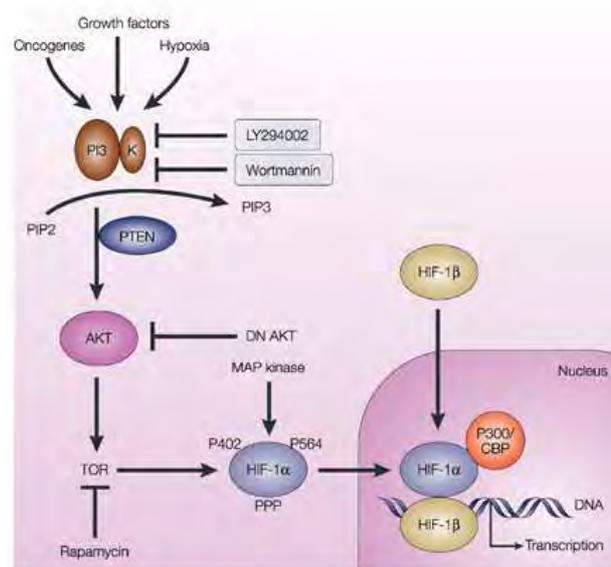


Figure 15 : Régulation du facteur HIF-1 (280).

Sous hypoxie le facteur HIF-1 α est rapidement stabilisé alors qu'il a une durée de demi-vie courte lorsque le taux d'oxygène est normal.

HIF-1 est un facteur de transcription qui régule l'expression de nombreux gènes dont les produits jouent un rôle dans l'angiogenèse, le métabolisme cellulaire, la prolifération, la mobilité, l'adhésion et la survie. L'hypoxie conduit à la formation de l'hétérodimère HIF-1 α /HIF-1 β qui se lie à de nombreux promoteurs contenant des domaines HRE (élément de réponse à l'hypoxie). Il en résulte la transcription de nombreux gènes dont celui codant le VEGF. Le VEGF est impliqué dans l'angiogenèse et est le régulateur de la formation de nouveaux vaisseaux sanguins. L'activation du récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR), et la voie PI3K/AKT contribuent à l'expression de HIF-1 α . EGFR est un récepteur trans-membranaire qui est surexprimé et activé dans de nombreux cancers (116) comme par exemple le cancer du poumon non à petite cellule métastatique ou le cancer du sein. La voie PI3K/AKT joue également un rôle dans l'angiogenèse par son implication dans la régulation de la voie de signalisation de l'oxyde nitrique (NO) dans les cellules endothéliales. De plus, des études antérieures ont montré que le VEGF peut induire la production de NO. Le NO est responsable de la vasodilatation et agit à la fois comme acteur et directeur de l'angiogenèse physiologique et pathologique (184).

3.2 En aval de mTORC2

Contrairement à mTORC1, la signalisation de la voie mTORC2 est moins connue.

Les principales fonctions biologiques de mTORC2 comprennent la régulation de l'organisation du cytosquelette et la promotion de la survie cellulaire.

La régulation de la survie cellulaire est médiée par l'activation d'AKT, en effet mTORC2 phosphoryle AKT sur la Ser473 (185).

Les mécanismes qui régulent la réorganisation du cytosquelette ne sont pas bien définis. Rho, Rac, Cdc42, PKC α ont été démontrées pour être impliquées dans l'assemblage et le démontage du cytosquelette d'actine (186). Il a été suggéré que mTORC2, peut en amont de Rho, réguler le cytosquelette d'actine (187).

mTORC2 a aussi un rôle dans la régulation de l'autophagie par l'intermédiaire de la voie AKT-FOXO. En effet mTORC2 va activer AKT qui inhibe FOXO ; FOXO étant nécessaire à l'induction de l'autophagie dans les muscles squelettiques (188). Cette découverte indique que mTORC1 et mTORC2 sont toutes les deux impliquées dans la régulation négative de l'autophagie.

mTORC2 et PDK1 mais pas mTORC1 jouent un rôle essentiel dans la phosphorylation directe et le contrôle de l'activité de SGK1 (serum-and glucocorticoid-induced protein kinase 1). SGK1 phosphoryle des protéines régulatrices qui contrôlent les processus cellulaires tels que le transport ionique et la croissance (189).

4 PATHOLOGIES ASSOCIÉES À LA VOIE MTOR

La connaissance des composants de la régulation en amont et en aval de mTOR a permis de mettre en évidence les liens existants entre les troubles observés dans la signalisation de mTOR et le développement de pathologies.

4.1 Cancers

La voie PI3K/AKT/PTEN joue un rôle important dans de multiples fonctions cellulaires or cette voie est fréquemment dérégulée dans les cellules cancéreuses. Une des caractéristiques des cellules cancéreuses est la rupture de l'équilibre entre la survie et la mort cellulaire entraînant une prolifération cellulaire non contrôlée. Différentes anomalies comme l'amplification de l'expression des récepteurs à tyrosine-kinase ou la perte de gènes suppresseurs de tumeur sont identifiées dans divers types de tumeurs solides. Par contre, de rares mutations de mTOR sont connues à ce jour.

Nous allons voir ci-dessous les différentes anomalies impliquées dans le développement de tumeurs ainsi que le rôle joué par la voie PI3K/AKT/mTOR dans la tumorigenèse.

4.1.1 Les différentes anomalies à l'origine de certains cancers

- Activation des récepteurs à tyrosine-kinase intrinsèque : des mutations entraînent une surexpression ou une activation constitutive des récepteurs à activité tyrosine kinase. Les cellules cancéreuses deviennent autonomes vis-à-vis des facteurs de croissance.
- Mutation activatrice de PI3K : le gène *PI3KCA* est situé sur le chromosome 3 et code pour la protéine p110 α . *PI3KCA* est considéré comme l'un des oncogènes les plus fréquemment mutés chez l'Homme et est à l'origine de nombreux cancers. Ces mutations géniques se composent exclusivement de mutations somatiques faux-sens et sont retrouvées dans le cancer du colon, du cerveau, du sein, de l'ovaire et de l'estomac. Des mutations dans la sous-unité régulatrice p85 sont retrouvées dans des cancers de l'ovaire et du colon (181). Ces mutations confèrent à PI3K une meilleure activité enzymatique dans ces cancers. L'augmentation de l'activité de PI3K induit des taux élevés d'AKT phosphorylée. AKT est constitutivement phosphorylée, à la fois en présence et en l'absence de facteurs de croissance ce qui lui donne un rôle important dans la transformation oncogénique (190,191).
- Mutation du gène *AKT2* : on retrouve un phénomène d'amplification génique du gène *AKT2* dans certains cancers ovariens, du sein et du pancréas (181).
- Mutation de *PTEN* : le gène codant PTEN se trouve sur le chromosome 10q23. La perte d'hétérozygotie par mutation génique ou méthylation du promoteur peut induire une perte fonctionnelle du gène ce qui aboutit à une altération de sa fonction de suppresseur de tumeur. Ces mécanismes sont fréquemment retrouvés dans de nombreux cancers comme le cancer de l'endomètre, de la prostate, de l'ovaire, ainsi que dans les glioblastomes et les mélanomes. L'inactivation de PTEN aboutit à l'activation de mTORC1 par la voie PI3K/AKT (192).
- Mutation LKB1 : LKB1 est une protéine de la famille des sérine-thréonine kinases qui est codée par le gène *STK11* (19p13.3). Ce gène est un gène suppresseur de tumeur et est responsable dans 70% des cas du syndrome de Peutz Jeghers qui est une maladie rare à transmission autosomique dominante. Ce syndrome est caractérisé par une polypose hamartomateuse de l'ensemble du tube digestif qui s'accompagne d'une lentiginose labile de la muqueuse buccale, de la sphère anale et des doigts. Ces patients ont un risque accru de développer des tumeurs de l'ovaire, des testicules, du col utérin et du pancréas. (Orphanet)

- Mutations des gènes *TSC1* et/ou *TSC2* : ces mutations sont responsables de la sclérose tubéreuse de Bourneville que nous verrons plus en détail ci-dessous.
- Mutation ou délétion du gène *VHL* : cette anomalie est fréquente dans de nombreux carcinomes rénaux. La perte de fonction de gène *VHL* est un mécanisme clé de l'angiogenèse tumorale potentialisant les effets de l'hypoxie sur le VEGF. En effet, une altération du gène *VHL* conduit à une activation de la transcription du gène codant le VEGF due à l'expression constitutive du facteur HIF (193).
- Mutation de mTOR : Les mutations de mTOR aboutissent à une hyperactivité de la kinase et un fort pouvoir oncogénique mais il ne semble pas que ces mutations soient récurrentes dans les cancers. On retrouve ce type de mutation dans le cancer du rein.
- Le gène qui code pour S6K1 est amplifié dans environ 9% des cancers du sein primaires (194).
- Par contre aucune mutation du gène codant 4EBP1 n'a été identifiée.

Table 1 | **Evidence of PI3K-signalling deregulation in human malignancies**

Cancer type	Type of alteration	References
Glioblastoma	<i>PTEN</i> mutation	133
Ovarian	Allelic imbalance and mutations of <i>PTEN</i> gene	134
	Elevated AKT1 kinase activity	135
	<i>AKT2</i> amplification and overexpression	71
	PI3K <i>p110α</i> amplification	70
	PI3K <i>p85α</i> mutation	74
Breast	Elevated AKT1 kinase activity	135
	<i>AKT2</i> amplification and overexpression	71
	<i>RSK</i> amplification and overexpression	78,79
	Loss of heterozygosity at <i>PTEN</i> locus	136
	PI3K and <i>AKT2</i> overactivation	137
Endometrial	<i>PTEN</i> mutation	138
	<i>PTEN</i> silencing	139
Hepatocellular carcinoma	<i>PTEN</i> mutation	140
Melanoma	<i>PTEN</i> mutation	141
	<i>PTEN</i> silencing	142
Digestive tract	Aberrant <i>PTEN</i> transcripts	143
	PI3K <i>p85α</i> mutation	74
Lung	<i>PTEN</i> inactivation	144
Renal-cell carcinoma	<i>PTEN</i> mutations	145
Thyroid	<i>PTEN</i> mutations	146–148
	AKT overexpression and overactivation	149
Lymphoid	<i>PTEN</i> mutations	150,151
	<i>p85-EPH</i> fusion (only one case reported)	75

EPH, ephrin; PI3K, phosphatidylinositol 3-kinase.

Illustration 10 : Dérégulation de la voie PI3K dans les cancers humains (181).

4.1.2 Implication de la voie mTOR dans la formation des tumeurs malignes.

"Quand la traduction sort de sa TORpeur" (167).

Les mutations retrouvées dans certains types de cancers humains aboutissent à une suractivation de la voie AKT/mTOR. La surexpression d'eIF4E qui en découle aboutit à un dérèglement de la synthèse protéique et du fonctionnement cellulaire et en particulier à une augmentation de la traduction des ARNm. La suractivation de la voie mTOR conduit à une plus grande disponibilité en nutriments et permet ainsi la croissance et la survie de la tumeur.

La présence d'une hypoxie au sein même de la tumeur est un des facteurs essentiels responsables de l'activation de l'angiogénèse tumorale. Cette dernière est le résultat d'un déséquilibre entre les facteurs pro-angiogéniques comme le VEGF ou le bFGF, et des facteurs anti-angiogéniques tels que l'angiostatine et l'endostatine. La sécrétion de ces facteurs pro-angiogéniques est plus importante par les cellules cancéreuses. L'adaptation à l'hypoxie contribue donc à la tumorigénèse et permet de faciliter la néovascularisation afin que les cellules cancéreuses puissent proliférer et se disséminer.

L'autophagie est un mécanisme de survie cellulaire qui génère des métabolites en cas de privation de nutriments et empêche l'accumulation de composants endommagés et/ou toxiques qui pourrait conduire à une transformation maligne des cellules. Mais une fois la tumeur formée, ce mécanisme permet aux cellules tumorales de survivre en cas de privation de nutriments ou pour lutter contre les effets néfastes de la chimiothérapie. L'utilisation d'inhibiteurs de mTOR permet une activation de l'autophagie ce qui peut être un frein à leur efficacité dans le traitement de certains cancers. Dans ce cas là, l'inhibition de l'autophagie par ciblage de ULK peut s'avérer bénéfique. La valeur potentielle de ULK comme un marqueur pronostique de certains cancers est en cours d'évaluation (195,196). Il est à noter qu'une autophagie excessive peut conduire à une mort cellulaire programmée de type II permettant l'élimination des cellules cancéreuses. De plus, ce processus conduit à une mort dite immunogène facilitant le développement d'une réponse immunitaire anti-tumorale par libération d'ATP par les cellules tumorales mourantes (197).

4.2 La signalisation de mTOR dans les tissus et son rôle dans les maladies métaboliques

4.2.1 Rôle de mTORC1 dans le métabolisme

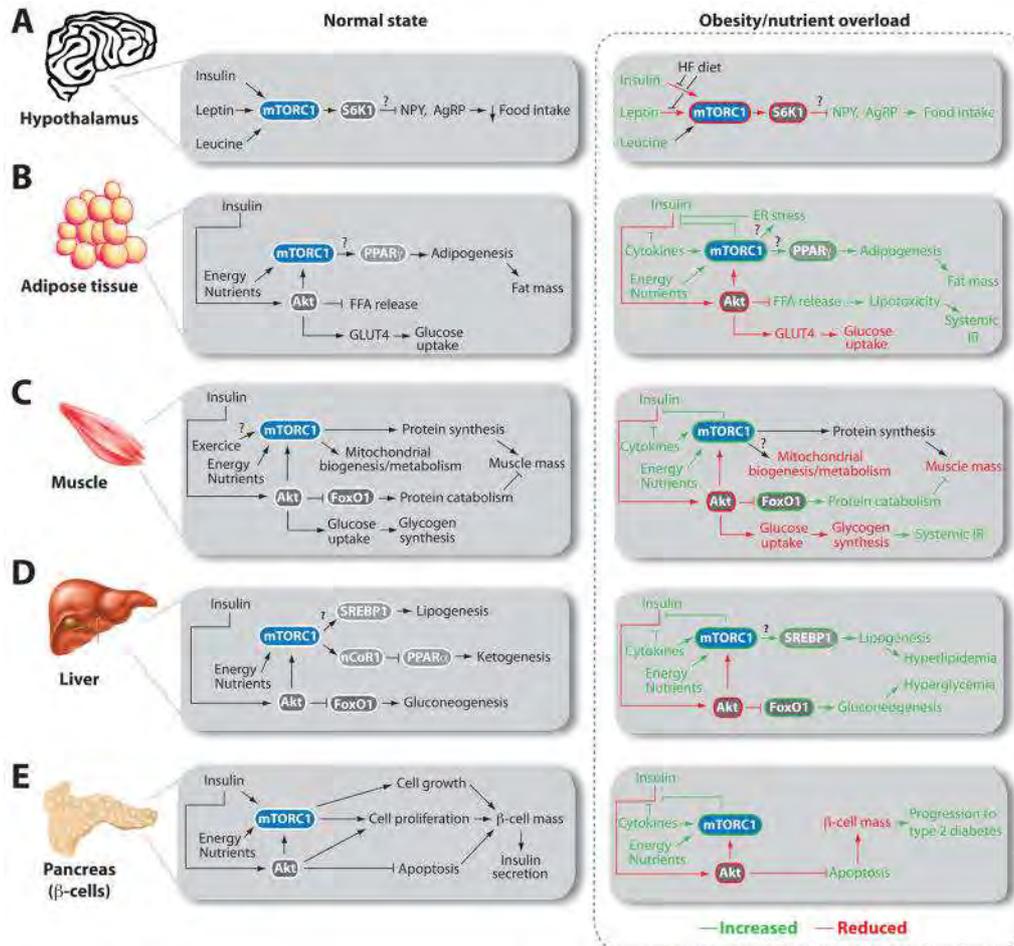


Figure 17 : Rôle de la voie mTORC1 dans le métabolisme (205).

Des niveaux élevés de nutriments et de facteurs de croissance conduisent à la synthèse de glycogène dans les muscles et le foie, l'absorption des lipides dans le tissu adipeux, tout en réduisant la dégradation des protéines dans les muscles, la néoglucogenèse dans le foie, et la lipolyse dans le tissu adipeux. mTORC1 contrôle aussi la production hépatique de corps cétoniques qui vont être utilisés par les tissus périphériques comme source d'énergie pendant le jeûne. mTORC1 favorise également l'anabolisme, à l'état d'équilibre alimentaire, par le contrôle de la lipogenèse hépatique. La voie mTORC1 répond à des niveaux de nutriments et de facteurs de croissance et a un rôle important dans la régulation du métabolisme normal et pathologique.

Inhibition de mTOR :

De manière inattendue, chez des rongeurs, la rapamycine réduit la taille du tissu adipeux, la masse et la fonction des cellules β et provoque une hyperlipidémie, une résistance à l'insuline, une intolérance au glucose, et favorise la néoglucogenèse hépatique (198–201).

4.2.2 Le diabète de type 2

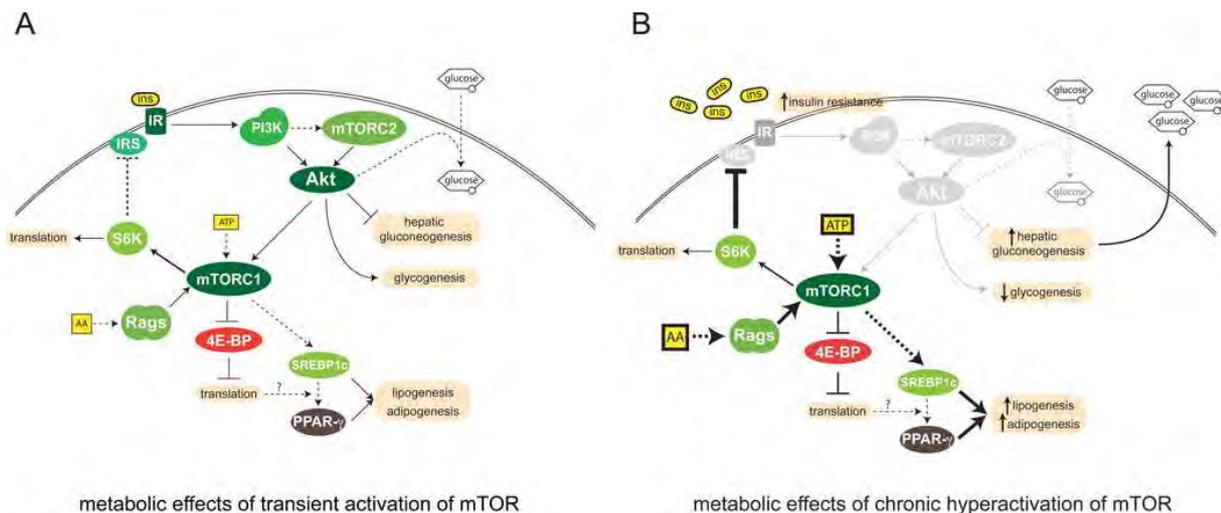


Figure 18 : Rôle de mTOR dans le métabolisme et la résistance à l'insuline (282).

La relation entre l'obésité et le diabète de type 2 a été mise en évidence et implique des cytokines pro-inflammatoires secrétées par le tissu adipeux, une augmentation du taux d'acides aminés plasmatiques, une résistance à l'insuline et une dysfonction du métabolisme des acides gras. Deux études ont démontré que les concentrations d'acides aminés étaient plus élevées chez les sujets obèses (202,203).

L'activation d'AKT par l'insuline est essentielle pour le maintien de l'homéostasie glucidique puisqu'elle régule le transport du glucose, la glycogénèse et la lipogenèse respectivement par le recrutement des transporteurs de glucose 4 (GLUT4) à la surface membranaire, la phosphorylation de la kinase glycogène synthétase 3 (GSK-3) et l'activation de la lipoprotéine lipase (204). L'activation de mTOR qui en découle conduit à l'activation de S6K. S6K phosphoryle la protéine ribosomale S6 qui par une boucle de rétroactivation peut inhiber les protéines IRS. Une présence chronique d'insuline, d'IGF1 et un excès de nutriments comme les acides aminés et les acides gras libres, ainsi qu'un excès de cytokines inflammatoires provoquent une activation aberrante de la voie mTOR/S6K1. La phosphorylation excessive de la protéine ribosomale S6 par S6K1 va, par rétroaction, inhiber les protéines IRS et donc inhiber la voie de signalisation de l'insuline/IGF1, ce qui provoque une résistance à l'insuline. Cette rétroactivation de la protéine ribosomale S6 sur IRS empêche la captation du glucose médiée par AKT. Par conséquent, les taux d'acides aminés et autres nutriments peuvent avoir un effet sur la sensibilité à l'insuline des tissus périphériques, tels que tissus graisseux et le muscle squelettique. La suractivation de mTORC1 dans le muscle réduit l'absorption du glucose par celui-ci et contribue à la résistance à l'insuline. Cette altération de la voie de signalisation de l'insuline contribue à la perte de masse musculaire observée dans l'obésité et à la résistance à l'insuline en favorisant le catabolisme des protéines. Une suractivation de mTORC1 induit une augmentation de la taille et du nombre des cellules β du pancréas ce qui tend vers une augmentation de la production et de la sécrétion d'insuline. Ce phénomène peut conduire à un épuisement de ces cellules β et au développement du diabète de type 2. L'altération de la signalisation PI3K-AKT dans le foie favorise la néoglucogénèse et contribue à l'hyperglycémie et l'hyperinsulinémie observées dans le diabète insulino-résistant de type 2. Enfin, l'hypothalamus est une région importante du cerveau qui intègre les signaux comme les nutriments (glucose, acides aminés, lipides) et les hormones [leptine (effet anorexigène), insuline] pour contrôler l'équilibre énergétique.

La surcharge d'éléments nutritifs ainsi que l'alimentation riche en graisses bloquent la capacité de la leptine à activer mTORC1 dans l'hypothalamus et donc à réduire l'apport alimentaire. La dérégulation de la voie de mTOR joue un rôle dans le développement de l'obésité en favorisant la résistance aux signaux anorexigènes et par la promotion de l'hyperphagie après un régime riche en graisse (205).

4.3 Maladies génétiques

4.3.1 La sclérose tubéreuse de Bourneville

La STB se manifeste par le développement d'hamartomes, touchant de multiples organes. La perte d'un des deux gènes suppresseurs de tumeurs *TSC1* et *TSC2* est à l'origine de la maladie. Lorsque l'un des deux gènes est muté, le complexe TSC ne fonctionne plus correctement. On a donc une hyperactivation de mTORC1. La pathogénicité de la STB ainsi que l'implication de la voie mTORC1 ne sont pas totalement connues.

4.3.1.1 Implication de la voie mTOR dans la formation des angiomyolipomes

Les angiomyolipomes sont des tumeurs bénignes principalement composées de cellules musculaires lisses, de tissu adipeux et de vaisseaux sanguins (47). L'étude de Kenerson et al (206) démontre des taux élevés de mTORC1 phosphorylée et de ses effecteurs (S6K, 4E-BP1) dans les tumeurs associées à la STB. L'activation aberrante de la voie mTORC1 est observée dans les angiomyolipomes rénaux de patients STB dans lesquels l'inactivation bi-allélique de TSC est commune.

Ces angiomyolipomes sont associés à une forte prolifération de tissu fibreux chez les patients STB mais les mécanismes ne sont pas totalement élucidés.

Deux études récentes de Liang et al mettent en évidence le rôle de TSC2 dans la régulation de cette fibrose :

La première (207) porte sur les cadhérines, des glycoprotéines transmembranaires d'adhérence, qui jouent un rôle dans l'adhésion cellule-cellule. La régulation négative de TSC2 a entraîné une diminution de l'expression de la N-cadhérine et l'augmentation de l'expression de la vimentine (protéine favorisant la fibrose) dans les angiomyolipomes rénaux. Cette étude décrit un des mécanismes potentiels de la formation de fibroses et de la progression de la tumeur.

La seconde (208) démontre que la carence en tubérine est associée à une expression accrue de α SMA (alpha-smooth muscle actin) dans des cellules des angiomyolipomes. Le traitement des cellules par des inhibiteurs de mTOR a diminué de manière significative l'accumulation de α SMA ; cette accumulation est une caractéristique des maladies fibrotiques (209). La tubérine joue un rôle important dans la protection des cellules contre la fibrose.

Hypothèse expliquant la nature angiogénique des angiomyolipomes : il a déjà été démontré que TSC2 était impliqué dans la régulation négative de HIF-1 et que dans des cellules déficientes en TSC2 on retrouvait une surexpression de gènes régulés par HIF dont le VEGF (210). La surproduction de VEGF expliquerait la nature angiogénique des angiomyolipomes observés dans la sclérose tubéreuse de Bourneville. Cette surexpression de VEGF jouerait aussi un rôle dans la lymphangioliomyomatose. Cette lymphangiogenèse pulmonaire aggraverait l'hypoxie ce qui augmenterait l'accumulation de HIF et donc une augmentation de VEGF (155).

4.3.1.2 Implication de la voie mTOR dans les lésions cérébrales

Contrairement aux angiomyolipomes rénaux, une faible incidence de perte d'hétérozygotie est rapportée dans les lésions cérébrales (66).

Une étude de Ma et al (211) s'est portée sur 25 patients atteints soit de tubers corticaux soit de SEGA associés à la STB. Ils concluent que la phosphorylation de TSC2 (en particulier sur S664) médiée par la voie ERK se produit avec une incidence élevée et intervient dans la pathogenèse de la STB .

L'étude de Han (212) et al indique que AKT et PDK1 sont activées dans les SEGA mais pas dans les angiomyolipomes. Or AKT et PDK1 se trouvent en amont de TSC2 donc il y a une phosphorylation et une inactivation constitutive de TSC2 dans les SEGA. Cette inactivation semble impliquer un mécanisme distinct de l'inactivation allélique rencontrée dans les angiomyolipomes. Dans les lésions du système nerveux central, le mécanisme qui active AKT et la voie des MAPK n'a pas été déterminé.

Hypothèse : le micro-environnement, qui est unique à ces lésions, peut activer ces voies de signalisation comme :

- des facteurs de croissance sécrétés par les cellules interstitielles adjacentes ou des lésions STB.
- des neurotrophines (NT-3 et NT-4) : l'expression de leurs récepteurs augmente dans les neurones dysplasiques et les cellules géantes des tubers corticaux associés à la STB (213).

Lors d'une étude sur des cellules SEGA (214), des gènes ont été identifiés codant pour des protéines qui se répartissent en deux grandes catégories :

- Les protéines qui interviennent dans la tumorigenèse et qui sont régulées à la hausse dans les SEGA
- les protéines impliquées dans le développement du système nerveux et la différenciation qui sont régulées à la baisse.

Les protéines régulées à la hausse sont par exemple l'annexine A1, GPNMB, S100A11, LTF, RND3 et SFRP4. Ces protéines seraient responsables du caractère bénin et peu invasif de ces tumeurs.

Les protéines régulées à la baisse regroupent de façon non exhaustive :

- les protéines basiques de la myéline (MBP) qui régulent la morphologie des cellules.
- la pentraxine neuronale 1 (NPTX1), un marqueur de la lignée neuronale qui intervient dans la formation des synapses et du remodelage.
- La neuro D1/BETA2, un membre de la famille des facteurs de transcription bHLH qui joue un rôle essentiel dans la différenciation terminale de cellules progénitrices neurales.

Il est possible que l'expression réduite de ces gènes soit liée à des défauts dans la différenciation cellulaire et à l'origine glioneuronale mixte des SEGA. La régulation à la baisse de ces gènes pourrait être liée à l'apparition de troubles neurologiques, comme des convulsions ou un retard mental. La rapamycine n'a pas influencé ni la migration des cellules ni l'arrangement du cytosquelette d'actine des SEGA, mais elle a diminué la taille des cellules. D'autre part, l'inhibition de MEK1/2 diminue la prolifération, la migration des cellules SEGA ainsi que leur forme par réarrangement du cytosquelette d'actine sans affecter leur taille ni leur survie. La suppression combinée de mTOR et des voies de signalisation ERK entraîne la diminution de la viabilité cellulaire des SEGA, de leur prolifération et entraîne le réarrangement du cytosquelette d'actine.

Ces résultats suggèrent que les voies de signalisation mTOR et ERK peuvent être responsables de la pathogenèse et de la progression des SEGA. L'inhibition combinée des deux voies doit être considérée comme une stratégie prometteuse pour le traitement de ces tumeurs.

4.3.1.3 Implication de la voie mTOR dans les symptômes neurologiques

Les tubers corticaux sont caractérisés par une prolifération de cellules gliales, de neurones dysplasiques et de cellules géantes. Dans les tubers corticaux, les cellules dysplasiques expriment un niveau élevé de S6 ; ce qui traduit une hyperactivation de mTOR. Dans ces cellules, on retrouve une expression des récepteurs ionotropes du glutamate compatible avec un état excité et rappellent ceux présents sur les neurones et astrocytes immatures du cortex en développement normal (215).

Dans ces tubers, on retrouve aussi des défauts dans les transporteurs de GABA ainsi qu'une baisse de l'inhibition GABAergique (216). La déficience des interneurons GABAergiques expliquerait l'apparition précoce et la gravité des crises chez les patients STB (217). L'importance du système inhibiteur GABAergique est confirmé par l'efficacité particulière du vigabatrin.

Des études suggèrent une implication de la signalisation du glutamate médiée par les récepteurs mGluR dans la régulation de la prolifération et de la survie des cellules souches neuronales ainsi que dans le contrôle de la croissance tumorale (218).

De nombreuses données expérimentales mettent en évidence un effet direct des mutations TSC dans la croissance neuronale, dans la plasticité synaptique, dans l'excitabilité ainsi que dans la consolidation de la mémoire mais les mécanismes exacts de l'épileptogenèse dans la STB ne sont pas encore entièrement compris.

La plupart des phénotypes avec des troubles cognitifs et neurocomportementaux importants ont des antécédents de crises convulsives réfractaires, une mutation du gène *TSC2* et la présence de tubers corticaux (219). L'interaction entre l'épilepsie et l'autisme est susceptible d'être multifactorielle, mais l'étude de Talos et al confirme le rôle important des perturbations de la voie mTORC1. Cette étude démontre que les convulsions néonatales induisent une activité synaptique intense suivie d'une augmentation rapide de glutamate et de brain-derived neurotrophic factor (BDNF) ; ce qui amène dans les heures qui suivent, à une activation de la voie PI3K/AKT/mTOR et de la voie des MAPK et donc à une augmentation de l'excitabilité synaptique à court terme mais aussi à long terme (69).

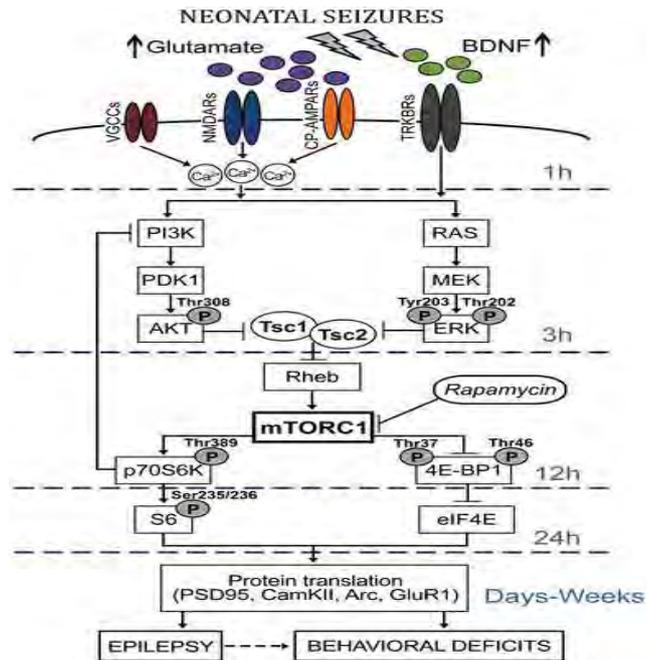


Figure 19 : Rôle de la voie mTORC1 dans l'épilepsie et les troubles du comportement (69).

Récemment, des études se concentrent sur le rôle de l'autophagie dans des symptômes neurologiques. La dérégulation de celle-ci interviendrait dans le mécanisme de l'épileptogenèse et dans les déficits comportementaux observés dans les TSA (par l'intermédiaire de son rôle dans « l'élagage » des épines dendritiques) (220,221).

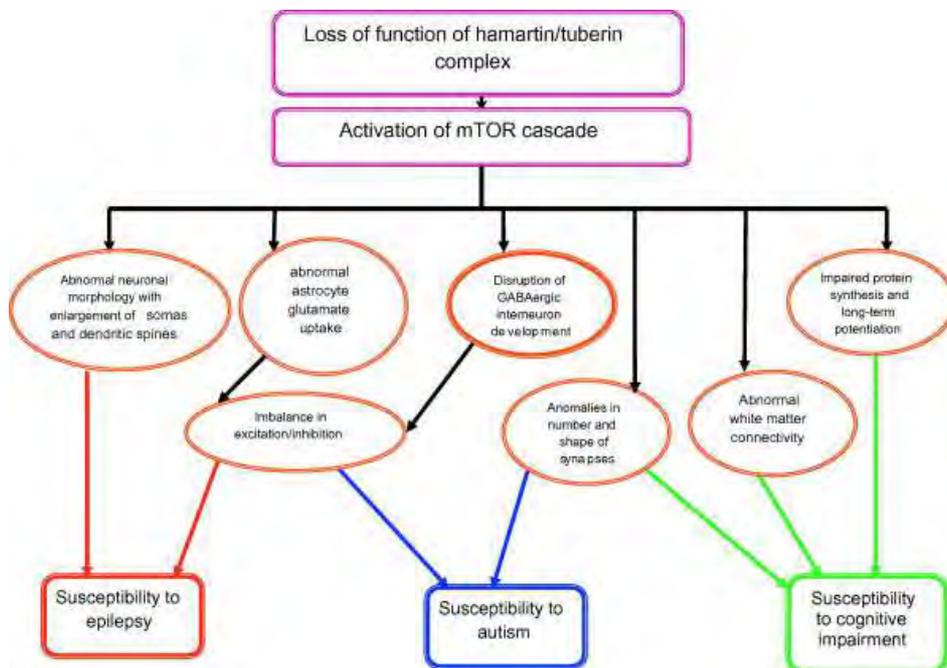


Figure 20 : Possible rôle pathogène de la perte du complexe TSC dans les manifestations neurologiques de la STB (283).

4.3.2 La lymphangioléiomyomatose

La lymphangioléiomyomatose (LAM) se caractérise par la prolifération de cellules musculaires lisses non néoplasiques, principalement au niveau pulmonaire. Des manifestations extra-thoraciques de la maladie sont possibles, telles que des angiomyolipomes ou des tumeurs bénignes utérines. Elle apparaît soit de manière isolée soit chez les patients atteints de la sclérose tubéreuse de Bourneville. Des mutations somatiques de *TSC2* ont été rapportées au niveau des angiomyolipomes et des cellules musculaires lisses pulmonaires anormales au cours de la LAM sporadique. (Orphanet)

L'origine des cellules LAM est inconnue de plus ces tumeurs réapparaissent après transplantation pulmonaire et s'observent presque exclusivement chez les femmes. Enfin, La LAM partage des caractéristiques avec les léiomyomes utérins. À partir de ces observations, Prizant et al ont émis l'hypothèse que les cellules LAM pourraient provenir de léiomyomes utérins contenant des mutations TSC (222).

4.3.3 La polykystose rénale

C'est une maladie qui est caractérisée par le développement de nombreux kystes au niveau du rein mais aussi au niveau du foie. Elle est responsable de 7 à 10% des patients hémodialysés et transplantés rénaux. Les formes génétiques peuvent être liées à des mutations dans de nombreux gènes dont la plus fréquente touche deux gènes *PKD1* et *PKD2* codant pour les polycystines Pc1 et Pc2. Leurs fonctions restent incertaines et de nombreux travaux leurs sont consacrés. Ils auraient un rôle, entre autres, dans la modulation de la transduction de signaux intracellulaires (voie Wnt et mTOR) ainsi que dans la division cellulaire orientée et la polarité planaire des tissus. (Orphanet)

4.3.4 La neurofibromatose de type 1

La neurofibromatose de type 1 (NF1) est une maladie causée par une mutation génétique dans le gène *NF1*. Elle se caractérise par la présence de neurofibromes qui sont des taches café au lait, des nodules de Lisch (au niveau de l'iris) et des anomalies squelettiques. La déficience cognitive est le syndrome le plus fréquent des troubles neurologiques chez les enfants atteints de NF1. Des mutations dans le gène *NF1* conduisent à une suractivation de l'activité de Ras, suivie par une activation de la voie de signalisation Ras-MAPK ainsi que la PI3K permettant l'activation de mTOR. (Orphanet)

4.3.5 Syndrome de l'X fragile

Le syndrome de l'X fragile est la principale cause de déficience intellectuelle héritée. Les troubles neurologiques associés incluent l'autisme, l'anxiété et le retard mental. La perte de FMRP (Fragile X Mental Retardation Protein) provoque l'inhibition de PIKE (PI3K enhancer) qui active la PI3K et conduit à une activité accrue de la protéine mTOR. (Orphanet)

4.3.6 Maladies génétiques liées à PTEN

Plusieurs maladies génétiques sont liées à PTEN mais la plus connue est le syndrome de Cowden. C'est une maladie génétique rare à transmission autosomique dominante caractérisée par la présence d'hamartomes multiples sur la peau, la poitrine, la thyroïde, le tractus gastrointestinal, l'endomètre et le cerveau ainsi qu'une prédisposition aux tumeurs malignes : cancers du sein et de la thyroïde .

On retrouve aussi, le syndrome de Nannayan-Riley-Ruvalcaba, le syndrome de Protée et le syndrome de Protée-like. (Orphanet)

4.4 Maladies neurodégénératives

Les maladies neurodégénératives comme la maladie de Parkinson, d'Alzheimer, maladie de Huntington ou la sclérose latérale amyotrophique (maladie de Charcot) sont toutes associées à une perte de la structure et de la fonction neuronale. Dans ces maladies, la voie de dégradation des protéines intracellulaires est dérégulée. L'inhibition de mTORC1 par la rapamycine favorise l'autophagie et réduit la sévérité de la neurodégénérescence in vivo, mais le rôle de mTOR dans la neurodégénérescence doit être mieux clarifié (205).

4.5 Psoriasis

Le psoriasis est une maladie inflammatoire chronique de la peau. Bien que sa pathogénicité n'ait pas été encore totalement élucidée, la surexpression de la voie PIK3/AKT/mTOR observée dans la maladie semble jouer un rôle important par la régulation de l'immunopathogénicité, l'hyperplasie épidermique et/ou l'angiogénèse (223).

5 INHIBITEURS DE MTOR

Découverte de la rapamycine :

À partir de streptomyces hygroscopicus, une bactérie tellurique de l'île de Pâques, une molécule possédant une activité antibiotique a été isolée. Le nom polynésien de l'île de Pâques étant Rapa Nui, ils nommèrent la molécule rapamycine. En raison de sa faible activité antimicrobienne in vitro, le projet d'étude de la rapamycine fut abandonnée. En l'administrant à des rats, MARTEL a montré que cette molécule était capable d'inhiber la réponse immunitaire. En 1983, HOUCHENS a publié la première description de l'effet antitumoral de la rapamycine en démontrant qu'elle pouvait inhiber la croissance de xénotransplantation de tumeurs cérébrales humaines. En 1989, les premiers résultats de l'utilisation de la rapamycine comme immunosuppresseur dans des modèles expérimentaux d'allogreffe chez l'animal ont été rapportés par CALNE.

Les dérivés de la rapamycine ou rapalogues :

Ils constituent une nouvelle classe de thérapie ciblée. Actuellement deux inhibiteurs de mTOR sont développés en cancérologie : le temsirolimus et l'évérolimus. Un dernier, le ridaforolimus, a fait l'objet de multiples études ; toutefois, le retrait à une demande d'autorisation de mise sur le marché a été formulé par le laboratoire estimant que les données fournies ne permettaient pas au comité de conclure un bon rapport bénéfices/risques. Le sirolimus, n'est utilisé qu'en transplantation mais il fait parti de nombreuses études dans le traitement des SEGA et angiomyolipomes associés à la STB.

5.1 Structures chimiques communes à toutes les molécules inhibitrices de mTOR

Les inhibiteurs de mTOR présentent la même structure chimique que la rapamycine ; une lactone macrocyclique. Les rapalogues ont la capacité de se lier sur le domaine hydrophobe (FRB) de mTOR situé à coté de la région de la kinase. D'abord ils vont se lier à l'immunophiline FKBP-12 puis former un complexe qui va se lier à mTOR (224). La phosphorylation des substrats de mTOR (4EBP1 et S6K1) ne peut plus se faire correctement, celle-ci nécessitant l'intégrité du complexe.

5.2 Développement des inhibiteurs de mTOR

La rapamycine et donc le sirolimus sont difficilement solubles dans l'eau et ne présentent pas une bonne stabilité chimique, de plus ils subissent l'effet d'un premier passage hépatique important ce qui en fait une molécule avec une faible absorption ainsi qu'une exposition variant d'un individu à un autre. Ces caractéristiques ont poussé au développement d'analogues de la rapamycine (225).

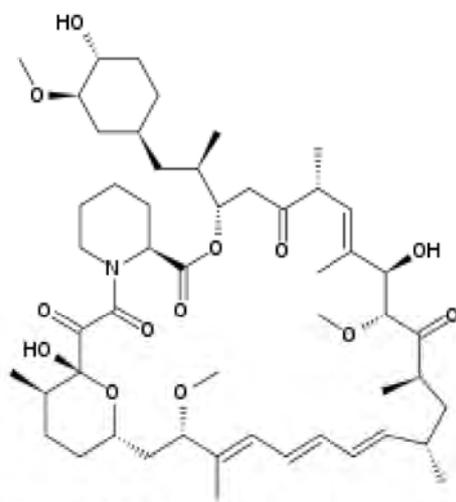
Des modifications ont donc été effectuées afin d'améliorer sa solubilité sans perdre l'activité immunosuppressive, antifongique et antiproliférative de la molécule. Les modifications concernent le carbone C40 du radical cyclohexyl-, avec remplacement de la fonction hydroxyle par un groupement éthoxy 2-hydroxyéthyl pour l'évérolimus (RAD001) et par un groupement ester pour le temsirolimus (CC1779) et le ridaforolimus (AP23573). Ces dérivés de la rapamycine possèdent donc des caractéristiques pharmacocinétiques plus adéquates.

5.2.1 Le Sirolimus (RCP Rapamune®)

5.2.1.1 Histoire de la molécule

C'est en 1991 qu'a eu lieu la première administration chez l'Homme recevant une allotransplantation rénale. Cette molécule s'est développée comme substitution aux inhibiteurs de la calcineurine en raison de leurs effets secondaires. (urofrance)

5.2.1.2 Description de la molécule



Dénomination commune : Sirolimus

Nom chimique :

(3S,6R,7E,9R,10R,12R,14S,15E,17E,19E,21S,23S,26R,27R,34aS)-

9,10,12,13,14,21,22,23,24,25,26,27,32,33,34,34a-hexadécahydro-9,27-dihydroxy-3-

[(1R)-2-[(1S,3R,4R)-4-hydroxy-3-méthoxycyclohexyl]-1-méthyléthyl]-10,21-diméthoxy-

6,8,12,14,20,26-hexaméthyl-23,27-époxy-3H-pyrido[2,1-c][1,4]

oxaazacyclohentriacontine-1,5,11,28,29(4H,6H,31H)-pentone

Formule moléculaire : C₅₁H₇₉NO₁₃

Masse moléculaire : 914,2 g/mol

Figure 21 : Formule semi-développée du sirolimus.

5.2.1.3 Indications, posologie et conditionnement

Le sirolimus, commercialisé sous le nom de Rapamune® est indiqué en prévention du rejet d'organe chez les patients adultes présentant un risque immunologique faible à modéré recevant une transplantation rénale. Il est recommandé d'initier le traitement par Rapamune® en association avec la ciclosporine microémulsion et les corticoïdes pendant 2 à 3 mois. Rapamune® peut être poursuivi en traitement d'entretien avec des corticoïdes seulement si la ciclosporine microémulsion peut être arrêtée progressivement. (RCP Rapamune®)

À l'instauration du traitement, une dose de charge de 6 mg est administrée suivie d'une dose de 2 mg une fois par jour. Cette dose doit être adaptée afin d'obtenir une concentration résiduelle dans le sang total comprise entre 4 et 12 ng/mL (dosage chromatographique).

En traitement d'entretien, après arrêt de la ciclosporine, Rapamune® doit être ajusté afin d'obtenir des concentrations résiduelles dans le sang total comprises entre 12 et 20 ng/mL (dosage chromatographique).

Par ailleurs, elle diminue le risque de re-sténose coronaire après pose de stent et a reçu une AMM dans cette indication (stents dits « actifs » imprégnés de sirolimus).

Formes posologiques, conditionnement :

Le sirolimus est administré par voie orale soit sous forme de solution buvable en flacon de 60 mL dosé à 1 mg/mL soit sous forme de comprimés dosés à 1 mg ou 2 mg.

L'AMM pour la solution buvable a été obtenue le 13 mars 2000, pour le comprimé enrobé de 1 mg le 12 avril 2002, pour le comprimé enrobé de 2 mg le 10 janvier 2003.

5.2.2 Évériolimus ou RAD001

Le RAD001, 40-O-(2-hydroxyéthyl)-rapamycine ou évériolimus est un dérivé hydroxyéthyl éther de la rapamycine, disponible par voie orale. La présence d'un o-hydroxyéthyl en position 40 lui confère une hydrosolubilité supérieure par rapport au sirolimus.

5.2.3 Temsirolimus ou CCI-779 (RCP Torisel®)

5.2.3.1 Description de la molécule

propriétés :

Le CCI779 (cell-cycle inhibitor 779), ou temsirolimus, est un dérivé du sirolimus doté d'une meilleure solubilité dans l'eau, propriété qui rend possible son utilisation par voie intraveineuse. Les études précliniques ont démontré son activité antitumorale dans plusieurs lignées cellulaires issues de tumeurs humaines (prostate, sein, glioblastome, mélanome...). Il entraîne également une inhibition de la croissance tumorale dans les modèles de xénogreffe de tumeurs humaines, avec peu de cas de régression tumorale (226).

C'est une prodrogue. Après administration dans l'organisme, il se transforme en sirolimus par hydrolyse.

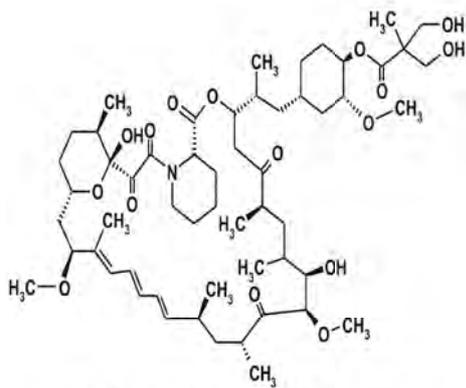


Figure 22 : Formule semi-développée du temsirolimus.

Dénomination commune : Temsirolimus

Nom chimique : 4'-[2,2-bis(hydroxyméthyl)propionate] (3S,6R,7E,9R,10R,12R,14S,15E,17E,19E,21S,23S,26R,27R,34aS)-9,10,12,13,14,21,22,23,24,25,26,27,32,33,34,34a-hexadécahydro-9,27-dihydroxy-3-[(1R)-2-[(1S,3R,4R)-4-hydroxy-3-méthoxycyclohexyl]-1-méthyléthyl]-10,21-diméthoxy-6,8,12,14,20,26-hexaméthyl-23,27-époxy-3H-pyrido[2,1-c][1,4]oxaazacycloheptane-1,5,11,28,29(4H,6H,31H)-pentone; ou 42-[3-hydroxy-2-(hydroxyméthyl)-2-méthylpropanoate] de rapamycine

Formule moléculaire : C₅₆H₈₇NO₁₆

Masse moléculaire : 1030,30 g/mol

5.2.3.2 Indications, posologie et conditionnement

Le temsirolimus commercialisé sous le nom de Torisel® est indiqué dans le traitement de première intention du carcinome rénal avancé chez les patients présentant au moins 3 des 6 facteurs de risque pronostique. Le laboratoire a obtenu l'AMM de Torisel® dans cette indication le 19 novembre 2007.

La posologie recommandée pour le traitement du carcinome rénal avancé est de 25 mg administrés en perfusion intraveineuse d'une durée de 30 à 60 minutes, une fois par semaine.

Une extension d'indication a été obtenue le 21 août 2009 dans le traitement du lymphome des cellules du manteau (LCM) chez les patients adultes en rechute et/ou réfractaire. Pour cette indication, la posologie recommandée est de 175 mg administrés en perfusion d'une durée de 30 à 60 minutes, une fois par semaine pendant 3 semaines, suivi par des doses hebdomadaires de 75 mg administrés en perfusion d'une durée de 30 à 60 minutes.

Ce médicament est réservé à l'usage hospitalier. La prescription est réservée aux spécialistes en oncologie ou en hématologie ou aux médecins compétents en cancérologie.

C'est un médicament nécessitant une surveillance particulière pendant le traitement.

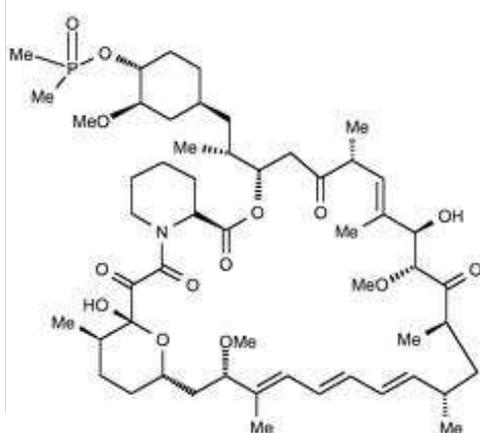
L'EMA lui a délivré le statut de médicament orphelin.

forme posologiques conditionnement :

Chaque flacon de 1,2 mL de Torisel® solution à diluer contient 30 mg de temsirolimus.

5.2.4 Ridaforolimus ou AP23573 (RCP Jenzyl®)

5.2.4.1 Description de la molécule



Dénomination commune : ridaforolimus

Nom chimique : (1R,2R,4S)-4-[(2R)-2-[(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23,24E,26E,28Z,30S,32S,35R)-1,18-dihydroxy-19,30-dimethoxy-15,17,21,23,29,35-hexaméthyl-2,3,10,14,20-pentaoxo-11,36-dioxa-4-azatricyclo[30.3.1.0 4,9]hexatriaconta-16,24,26,28-tetraen-12-yl]propyl]-2-méthoxycyclohexyl diméthylphosphinate

Formule moléculaire : C₅₃H₈₄NO₁₄P

Figure 23 : Formule semi-développée du ridaforolimus.

5.2.4.2 Développement de la molécule

Cet agent a montré une action antiproliférative intéressante dans des modèles de lignées cellulaires issues de tumeurs humaines et a montré des résultats prometteurs dans plusieurs types de cancer, sarcomes, tumeurs du sein, du colon, du poumon, de la prostate, du pancréas et tumeurs gliales. Quelques essais ont été conduits en phase 2 notamment dans les sarcomes (227,228) et dans les cancers de l'endomètre (229) ou hémopathies malignes réfractaires (230). L'étude de phase 3 du ridaforolimus dans le traitement des sarcomes a donné des résultats positifs, le médicament a permis de réduire le risque de progression de la maladie de 28% par rapport au placebo (231).

Une demande d'autorisation de commercialisation pour le Jenzyl® 10 mg dans le traitement des sarcomes des tissus mous ou des os a été soumise à L'Agence Européenne des Médicaments le 25 juin 2011. Le 27 novembre 2012, le laboratoire a officiellement notifié au Comité de l'Agence des Médicaments à Usage Humain (CHMP) de son souhait de retirer sa demande d'autorisation de mise sur le marché de Jenzyl® estimant que les données fournies ne permettaient pas au Comité de conclure un bon rapport bénéfices/risques. Au moment du retrait, il était à l'étude par le CHMP.

5.3 Résultats des études de phase 1 des trois principaux analogues de la rapamycine

	CCI779	RAD001	AP23573
Phases 1			
Schémas d'administration	<ul style="list-style-type: none"> • 7,5-220 mg/m²/sem • 0,75-19,1 mg/m²/j x 5 J, toutes les 2 semaines • 25-100 mg/j x 5 J, toutes les 2 semaines 	<ul style="list-style-type: none"> • 5-30 mg/sem 	<ul style="list-style-type: none"> • 6,25-100 mg/sem • 3-28 mg/j x 5 J, toutes les 2 semaines
Voie d'administration	Intraveineuse	Orale	Intraveineuse
Pharmacocinétique	<ul style="list-style-type: none"> • T1/2 : 15,2-17,3 heures • Métabolite : sirolimus • Clairance ↑ avec dose 	<ul style="list-style-type: none"> • T1/2 : 26-38 heures • C plateau à partir de 20 mg • Métabolite : sirolimus 	<ul style="list-style-type: none"> • T1/2 : 39-52 heures • Pas de transformation en sirolimus • Clairance ↑ avec dose
Toxicité	<ul style="list-style-type: none"> • Toxicité cutanée • Thrombopénie • Asthénie • Anorexie • Mucite • Nausées, Vomissements • Diarrhées • Hypercholestérolémie • Hypertriglycémie • ↑ Transaminases 	<ul style="list-style-type: none"> • Anorexie, Fatigue • Mucite • Céphalées • Toxicité cutanée 	<ul style="list-style-type: none"> • Anémie, Fatigue • Anorexie • Mucite • Rash cutané • Diarrhées • ↑ Transaminases

Tableau 17 : Résultats des études de phase 1 des trois principaux analogues de la rapamycine (226).

5.4 Mécanismes de résistance (232)

Les rapalogues ont prouvé leur efficacité dans le traitement de nombreux cancers, cependant, l'émergence d'une résistance à ces molécules après un traitement prolongé peut limiter l'utilisation de ces médicaments. L'étude approfondie de ces différents mécanismes de résistance est nécessaire pour améliorer leur efficacité. Nous allons voir ici les mécanismes de résistance potentiels ainsi que les stratégies qui peuvent être mises en place pour améliorer la thérapie par les rapalogues. Les inhibiteurs de mTOR sont actifs et efficaces sur de nombreux types de cancer, mais seulement une portion de personnes traitées avec ces médicaments ont un bénéfice clinique important. De nombreuses associations ont été faites entre les caractéristiques moléculaires des différents types de cancer et la sensibilité de ceux-ci aux rapalogues. Des études supplémentaires seront nécessaires pour identifier avec plus de précision le profil moléculaire de la tumeur et pouvoir en déduire sa sensibilité aux rapalogues. Le développement de résistances aux rapalogues a été démontré dans le traitement des cancers mais non prouvé dans le traitement de la sclérose tubéreuse de Bourneville.

Association entre caractéristique moléculaire et sensibilité aux rapalogues :

Caractéristique de la tumeur	Sensible	Résistante
Voie de signalisation redondante		+
Déficiences de PTEN	+	
Activation de la boucle de rétrocontrôle		+
Activité PI3K-Akt-mTOR constitutive	+	
Perte de la sous-unité régulatrice de PPA2		+
Déficiences en VHL ou surexpression de la cycline D1	+	
Mutation de KRAS ou BRAF		+
Voie de signalisation de l'apoptose non fonctionnelle		+
Voie de signalisation de l'apoptose normale	+	
Taux faible de p27		+
Diminution de l'expression de 4E-BP1		+
Surexpression de eIF4E		+

Tableau 18 : Relation entre les caractéristiques de la tumeur et sa sensibilité aux rapalogues (232).

Mécanismes de résistance aux rapalogues

- Mutation de FKBP-12 ou mTOR :

Les rapalogues se lient à la protéine FKBP-12 ; une mutation de celle-ci ou du domaine FRB de mTOR peut réduire l'affinité de la liaison et donc l'efficacité de ces rapalogues (233–235). Pour pallier ce mécanisme de résistance potentiel, les inhibiteurs de mTOR de deuxième génération (TORK inhibs) inhibent l'activité serine/thréonine kinase de mTOR d'une manière indépendante de FKBP-12, ce qui pourrait contourner ce mécanisme de résistance (236–238).

- Activation de la voie PI3K-AKT :

L'inhibition de mTORC1 augmenterait l'activation de AKT dans de nombreux cancers (185,239–241); or les rapalogues inhibent l'activité de mTORC1 tout en gardant l'intégrité de mTORC2. Cette activité augmentée de AKT serait due à une possible augmentation de l'activité de mTORC2 pour contrebalancer l'inhibition de mTORC1. En effet, mTORC2 phosphoryle AKT directement sur la sérine 473 (185). Autre hypothèse : l'inhibition de mTORC1 conduirait à l'activation de AKT via une régulation à la hausse de IGF-1R (boucle de rétroactivation négative du à l'inhibition de S6K) (241). L'activation de AKT a été démontrée comme un élément essentiel dans la diminution de la sensibilité de certaines tumeurs aux rapalogues (242).

Pour pallier à ce mécanisme de résistance :

Il faudrait inhiber PI3K en plus de mTORC1. PI-103 et NVP-BEZ235 sont des molécules qui inhibent en même temps mTORC1 et PI3K et ont montré une meilleure efficacité par rapport à une inhibition seule de mTORC1 ou PI3K (243–247).

Une autre solution est de cibler la voie de signalisation IGF-1/IGF-1R. L'inhibition de l'IGF-1R pourrait améliorer l'efficacité des thérapies par les inhibiteurs de mTOR (241,248–250).

Troisième possibilité est le développement d'une molécule PP242 (un TORKinhibs) qui se lie directement sur le site de liaison à l'ATP de mTOR et donc qui inhibe conjointement mTORC1 et mTORC2 (236).

- Augmentation de la signalisation de ERK/ MAPK :

L'inhibition de mTORC1 par les rapalogues mène à une augmentation de la voie de signalisation ERK/MAPK (in vitro et in vivo) dans des études précliniques. L'inhibition de MEK1/2 par l'U0126 augmente donc l'effet anticancer des rapalogues (251).

- Activation de PIM kinases :

Les PIM kinases sont une autre famille de kinases dont l'activité a été augmentée après le traitement par les rapalogues (252). Elles jouent un rôle dans la croissance et la progression des cancers (253). Les substrats des PIM kinases tels que c-myc, p27, CDC25A et BAD ont un rôle essentiels dans la biologie des cancers. Les PIM kinases augmentent l'activité de mTORC1 via la phosphorylation de 4E-BP1, eIF4E, et PRAS40 (252–254). De par ces observations, le lien a été établi entre l'activité des PIM kinases et la résistance aux rapalogues. La combinaison d'inhibiteurs de PIM kinases avec un rapalogue améliorerait le traitement anticancer (255,256).

- Activation de la PDK1 :

Après traitement par la rapamycine, la phosphorylation de MYC (une oncoprotéine) par la PDK1 indépendamment de PI3K et de AKT contribue à la résistance aux rapalogues (257).

- Expression altérée de eIF4E et 4E-BP1 :

Le substrat majoritaire en aval de mTOR est le 4E-BP1 qui supprime l'activité de eIF4E. Un trop faible taux de 4E-BP1 est incapable d'inhiber l'activité de eIF4E et se traduit par une résistance à la rapamycine. En effet, une surexpression de eIF4E conduit à la progression de la tumeur de par son rôle dans la traduction (258).

- Dérégulation de p27:

Un mécanisme de résistance à la rapamycine a été rapporté dans des fibroblastes et des lymphocytes T déficients en p27. p27 est une CDK (cyclin-dépendant kinase) impliquée dans la prolifération cellulaire. Le traitement par la rapamycine provoque la régulation négative de p27 et donc diminue la prolifération cellulaire. Les cellules pauvres en p27 et traitées par la rapamycine pourraient avoir une réponse moins importante sur la croissance cellulaire (259).

- Stress oxydatif :

Un taux élevé de superoxyde induirait une résistance à la rapamycine (260). Une augmentation du stress oxydatif déclenche une modification de mTORC1 et le rendrait incapable de se lier au complexe FKBP-12/rapamycine. Ce stress oxydatif augmente la prolifération cellulaire, la survie, et réduit la sensibilité de ces tumeurs aux traitements conventionnels. Les inhibiteurs de mTOR de deuxième génération (TORK inhbs) seraient capables de pallier ce mécanisme de résistance par leur action inhibitrice FKBP12 indépendante.

- Les régulateurs de l'apoptose.

L'induction de l'apoptose dans les cellules cancéreuses résulte dans la balance entre différents taux de protéines pro (Bax, Bak, Bim, Bid, ...) et anti (Bcl-2, Bcl-x, Mcl-1, ...) apoptotiques. Une étude sur des cellules surexprimant Bcl-2 montre que les rapalogues bloquent la signalisation mTOR et suppriment la prolifération, mais la présence d'un taux élevé de Bcl-2 inhibe l'apoptose et participe à une résistance partielle aux rapalogues (261).

Une autre famille de protéines a une fonction anti-apoptotique, c'est la famille des inhibiteurs de l'apoptose (IAP). La surexpression de cette famille peut aussi participer à la résistance aux rapalogues (262).

- Angiogenèse :

Dans de nombreux types de cancer, on retrouve une augmentation de la production de facteurs pro-angiogéniques comme le VEGF ou le PDGF. HIF-1 α contrôle la transcription de nombreux gènes pro-angiogéniques et son expression est diminuée par le traitement par la rapamycine. De par ce mécanisme d'action, la résistance aux rapalogues peut émerger dans les tumeurs qui régulent à la hausse la sécrétion de facteurs pro-angiogéniques.

- Stimulation de l'autophagie :

Une augmentation de l'autophagie a été rapportée après de nombreux traitements anticancers.

Pour certains cancers, le seul traitement par les rapalogues n'est pas suffisamment efficace. Les mécanismes de résistance observés sont un réel problème émergeant. Les rapalogues devraient être utilisés en combinaison avec d'autres molécules en vue d'une meilleure efficacité. Les inhibiteurs de mTOR de deuxième génération (TORKinhbs) ciblent mTORC1 et mTORC2 et inhibent à la fois la voie PI3K et mTOR. Ils ont le potentiel de contourner certaines résistances aux rapalogues et pourraient donc avoir une meilleure efficacité que ces derniers.

PARTIE 4 : EFFICACITÉ ET INNOCUITÉ DE L'ÉVÉROLIMUS DANS LE TRAITEMENT DES COMPLICATIONS DE LA STB

1 EFFICACITÉ DE L'ÉVÉROLIMUS DANS SES INDICATIONS : SEGA ET ANGIOMYOLIPOMES RÉNAUX

L'évérolimus a montré sa capacité d'inhibition de la croissance et de la prolifération cellulaire à travers une multitude d'études *in vitro* sur des lignées cellulaires de nombreux types de cancers humains. Les résultats positifs de ces études ont été accompagnés d'études *in vivo* sur des modèles murins de STB. Évérolimus provoque une inhibition de la voie de signalisation mTOR ce qui mène à une réduction de la taille des cellules, ainsi qu'une amélioration de la myélinisation (263). L'amélioration des symptômes de la STB ainsi que la survie de ces animaux ont été démontrées. Ensuite, trois études (une de phase 1 et 2 et deux de phase 3) se sont focalisées sur l'efficacité de l'évérolimus dans le traitement de la STB. Nous verrons ici la description de ces études ainsi que leurs résultats.

1.1 Efficacité de l'évérolimus dans le traitement des SEGA

En septembre 2011, Votubia® a reçu une autorisation de mise sur le marché dite « conditionnelle » pour le traitement des SEGA. Il est indiqué chez les patients âgés de trois ans et plus ayant un SEGA associé à une STB qui nécessiterait une intervention chirurgicale mais ils ne sont pas candidats à cette résection. Nous allons étudier l'efficacité de l'évérolimus en se basant sur les résultats des critères d'évaluation primaire de deux études : l'essai NCT00411619 (112) et l'essai EXIST-I (110).

1.1.1 Essai NCT00411619

1.1.1.1 Description

L'efficacité de l'évérolimus dans le traitement de la STB a été démontrée en premier dans une étude de phase 1 et 2 chez 28 patients atteints de SEGA associés à la STB. Les patients éligibles pour cette étude devaient avoir plus de 3 ans et avoir reçu un diagnostic définitif de STB [selon les critères modifiés de GOMEZ (2)] ou avoir un test génétique positif. Les patients intégrés dans l'étude devaient présenter une augmentation de taille d'un SEGA, validée par 2 IRM et être médicalement stables. C'est une étude prospective, ouverte, de phase 1 et 2, analysant l'innocuité et l'efficacité de l'évérolimus dans le traitement des SEGA.

L'étude de base de 6 mois peut être continuée en extension : c'est l'étude NCT00792766.

L'évérolimus a été administré par voie orale à une dose quotidienne de 3 mg/m²/j et a été ajusté jusqu'à l'obtention d'une concentration sanguine de 5 à 15 ng/mL. La dose a été diminuée de 25% chez les patients ayant eu des effets indésirables graves. L'évaluation primaire s'est portée sur les différences de volumes de SEGA analysés par une IRM cérébrale à 3 et 6 mois, puis tous les 6 mois. Les critères d'évaluation secondaire se sont basés sur la fréquence des crises épileptiques, la qualité de vie ainsi que sur la neurocognition. Un questionnaire (quality-of-life in childhood epilepsy) a été réalisé au début de l'étude, à 3 et 6 mois alors qu'une évaluation psychologique a été réalisée au début de l'étude et à 6 mois. Les événements indésirables ont été relevés au cours de l'étude. Le protocole mentionnait que toute survenue d'infection était considérée comme liée au traitement. Des analyses biologiques ont été réalisées régulièrement et les valeurs de l'hémoglobine, ALAT, ASAT, phosphatase alcaline, albumine, créatinine, glucose, potassium, sodium, cholestérol total et TG, mais aussi globules blancs et plaquettes ont été relevées.

Cet essai a conduit à l'approbation de la FDA en 2010 et de l'EMA en 2011 pour le traitement de SEGA chez les patients atteints de STB. Il est le premier essai à montrer une réduction marquée du volume des SEGA.

1.1.1.2 Caractéristiques des patients

Caractéristiques	Valeur	Pourcentage %
Âge médian	11 (entre 3 et 34 ans)	
3 -12 ans	16	57
12 -18 ans	6	21
≥ 18 ans	6	21
Sexe		
Mâle	17	61
Femelle	11	39
Nombre de SEGA		
1	15	54
2	13	46
SEGA Bilatéral	12	43
Hydrocéphale	6	21
Angiofibrome du visage	25	89
ATCD de chirurgie de SEGA	5	18
ATCD chirurgie	4	14
ATCD Thérapie systémique	2	7
Traitement antiépileptique	23	82
1	10	36
2	10	36
> à 3	3	11

Génotypage	15	83,3
Mutation TSC1	4	26,7
Mutation TSC2	10	66,7
Pas de mutations identifiées	1	6,7

Tableau 19 : Caractéristiques des patients de l'essai de phase 1 et 2 : NCT00411619.

1.1.1.3 Résultats

Réduction du volume de SEGA	3 mois N = 26		6 mois N = 27		12 mois N = 26		18 mois N = 18		24 mois N = 8	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
≥ à 50%	9	35	11	41	9	35	6	33	2	25
≥ à 30%	16	62	20	74	21	81	13	72	6	75
> à 0%	25	96	27	100	26	100	17	94	7	88
Pas de changement	1	4	0	0	0	0	1	6	0	0
Augmentation du volume de la tumeur	0	0	0	0	0	0	0	0	1	12

Tableau 20 : Résultats d'efficacité de l'évérolimus sur le volume des SEGA : essai NCT00411619.

Dans cette étude, l'évérolimus a été associé à une réduction cliniquement et statistiquement significative du volume de SEGA à 6 mois par rapport au début de l'étude ($p < 0,001$) :

- 75% des patients ont obtenu une réduction d'au moins 30% du volume de SEGA
- 32% une diminution d'au moins 50%

Cette régression de la tumeur a été plus rapide au cours des 3 premiers mois.

La régression du volume total des SEGA est également significative.

Avant le traitement par évérolimus, l'augmentation moyenne du volume des SEGA était de $0,57 \text{ cm}^3$ par an. Après le traitement, il était de $-0,57 \text{ cm}^3$ par an. Le pourcentage de réduction de la tumeur pendant l'étude a été corrélé à la grosseur de SEGA. Plus son volume était important plus la réduction en pourcentage était grande.

La résolution de l'hydrocéphalie et du parenchyme dysplasique a aussi été relevée chez 2 patients. Aucun des patients n'a eu d'aggravation d'hydrocéphalie ou d'un symptôme d'une HTIC. Aucune nouvelle lésion n'est apparue.

L'étude a aussi montré une diminution des volumes ventriculaires qui étaient en moyenne au départ :

- de $15,5 \text{ cm}^3$ pour atteindre $12,3 \text{ cm}^3$ à 6 mois pour le ventricule gauche
- de $17,3 \text{ cm}^3$ pour atteindre $14,4 \text{ cm}^3$ à 6 mois pour le ventricule droit

1.1.2 Essai EXIST-I

1.1.2.1 Description

Cette étude de phase 3, randomisée, en double aveugle versus placebo, évalue l'efficacité et l'innocuité de l'évérolimus dans le traitement de patients âgés de 0 à 65 ans atteints de SEGA associés à la STB. L'évérolimus a été administré par voie orale à une dose de départ de 4,5 mg/m²/j et par la suite, titrée pour atteindre une concentration sanguine de 5 à 15 ng/mL. Elle étudie comme critère primaire le taux de réponse, c'est-à-dire la diminution de plus de 50% du volume de SEGA par rapport au début de l'étude. Une IRM cérébrale est effectuée au début, à S12, S24, S48 puis tous les ans pendant 5 ans. Cet essai évalue aussi l'efficacité potentielle de l'évérolimus sur la fréquence des crises par 24H jusqu'à la 24^{ème} semaine. De même, le taux de réponse des lésions dermatologiques est évalué par l'échelle PGA (Physician's Global Assessment) dans laquelle les grades de 1 à 3 signifient qu'il y a une réponse partielle avec une régression de plus de 50% mais non complète. Une étude des biomarqueurs de l'angiogenèse est effectuée à S4, S12, S36, S48. L'innocuité de l'évérolimus et plus particulièrement ses effets secondaires sur la fonction rénale ont été étudiés à l'aide du taux de filtration glomérulaire et de la clairance de la créatinine tout au long de l'étude. Enfin, elle rapporte la mesure du temps soit jusqu'à la progression du volume de SEGA de plus de 25% par rapport au volume de base, soit jusqu'à l'apparition de nouvelles lésions SEGA de plus de 1 cm de diamètre, soit jusqu'à l'apparition ou l'aggravation d'une hydrocéphalie.

1.1.2.2 Caractéristiques des patients

	Évérolimus	Placebo	Total
Nombre de participants	78	39	117
Âge moyen ± écart type	10,1 ± 5,9	10,3 ± 7,3	10,2 ± 6,4
Âge			
< 3 ans	13	7	20
3-18ans	55	26	81
≥ 18 ans	10	6	16
Sexe			
Femme	29	21	50
Homme	49	18	67
Nombre de SEGA			
1	51,00%	64,00%	
2	44,00%	36,00%	
Lésions cutanées			
Lésions cutanées	72	38	110
Angiomyolipomes	30	14	44
Hydrocéphalie	8	0	8

Tableau 21 : Caractéristiques des patients de l'essai de phase 3 : EXIST-I.

Les données démographiques ainsi que les caractéristiques cliniques sont relativement équilibrées entre les deux groupes. Mais des différences subsistent ; dans le groupe traité par évérolimus on retrouve une plus grande proportion d'hommes ainsi qu'une petite proportion (8%) de patients atteints d'hydrocéphalie comparé au groupe placebo .

1.1.2.3 Résultats

IRM de SEGA à J0 et S12 : évolution du volume de SEGA chez un patient du groupe évérolimus : essai EXIST-I.

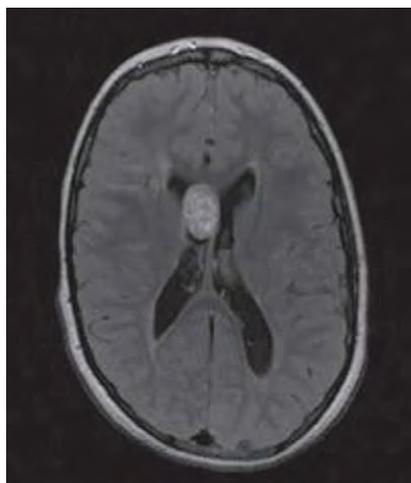


Illustration 11 : IRM de SEGA chez un patient x inclus dans l'étude EXIST I à J0.

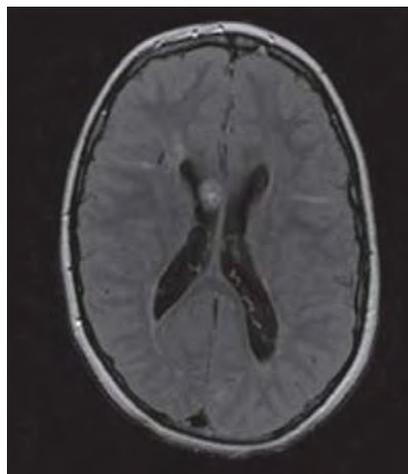


Illustration 12 : IRM de SEGA chez un patient x inclus dans l'étude EXIST I à S12.

Taux de réponse des SEGA	Évérolimus N = 78	Placebo N = 39
En % $p < 0,0001$	34,6	0
IC en %	(24,2, 46,2)	(0,0, 9,0)

Tableau 22 : Taux de réponse des SEGA dans l'essai EXIST-I.

Réduction en % par rapport à la valeur initiale	6 mois n = 27		12 mois n = 26		24 mois n = 24		36 mois n = 23		48 mois n = 10	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
≥ 50 %	9	33,3	9	34,6	12	50	10	43,5	5	50
≥ 30 %	21	77,8	20	76,9	19	79,2	18	78,3	9	90
> 0 %	27	100,0	26	100	23	95,8	23	100	10	100
Pas de modification	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Augmentation	0	0	0	0	1	4,2	0	0	0	0

Tableau 23 : Pourcentage de réduction des volumes de SEGA en fonction des mois : essai EXIST-I.

Après une durée médiane de suivi du protocole de 9,7 mois, 97% des patients du groupe évérolimus et 79% des patients du groupe placebo ont continué l'essai. L'arrêt de l'étude est principalement dû à la progression de la maladie qui a été uniquement relevée dans le groupe placebo. La durée médiane de traitement est de 41,9 semaines pour le groupe évérolimus contre 36,1 semaine pour le groupe placebo.

Le taux de réponse des SEGA qui correspond à la proportion de patients avec une réduction du volume total des lésions SEGA cible $\geq 50\%$ par rapport au début de l'étude est de 35% (IC 95% : [24% ; 46%]) dans le groupe recevant évérolimus et de 0% (IC 95% : [0% ; 9%]) dans le groupe recevant le placebo.

À la semaine 24 :

- 42% des patients du groupe évérolimus contre 3% des patients du groupe placebo ont eu une réduction du volume total des SEGA d'au moins 50%.
- 78% des patients du groupe évérolimus versus 15% des patients du groupe placebo ont eu une réduction du volume total des SEGA d'au moins 30%.

Le temps médian soit jusqu'à la progression du volume de SEGA de plus de 25% par rapport au volume de base soit jusqu'à l'apparition de nouvelles lésions SEGA de plus de 1 cm de diamètre, soit jusqu'à l'apparition ou l'aggravation d'une hydrocéphalie n'a pas été atteint dans les deux bras de l'étude. Les taux estimés sans progression à 6 mois étaient de 100% pour l'évérolimus et 86% pour le placebo.

Aucun cas d'augmentation du volume des SEGA n'a été observé dans le groupe évérolimus alors que 6 patients du groupe placebo en ont eu une (110).

1.2 Efficacité de l'évérolimus dans le traitement des angiomyolipomes rénaux

En septembre 2012, le CHMP donne un avis favorable à une extension d'indication de l'évérolimus dans le traitement des angiomyolipomes rénaux associés à une STB. Le traitement par évérolimus est indiqué chez les adultes qui présentent un risque de complications (sur la base de facteurs de risque tels que la taille de la tumeur, la présence d'un anévrisme ou la présence de tumeurs multiples ou bilatérales) mais qui ne nécessitent pas d'intervention chirurgicale immédiate. Nous allons étudier l'efficacité de l'évérolimus dans cette nouvelle indication en se basant sur les résultats des critères d'évaluation primaire de l'étude EXIST-II ainsi que sur les résultats d'un des critères d'évaluation secondaire de EXIST-I.

1.2.1 Essai EXIST-II

1.2.1.1 Description

Cette étude randomisée, en double-aveugle versus placebo, évalue l'efficacité et l'innocuité de RAD0001 dans le traitement des angiomyolipomes associés soit à la STB soit à la LAM. L'évérolimus a été administré à la posologie de 10 mg par jour chez des patients adultes de plus de 18 ans qui ont au moins 1 angiomyolipome ≥ 3 cm.

L'étude se porte en priorité sur le taux de réponse des angiomyolipomes c'est-à-dire l'obtention d'une réduction du volume de plus de 50% par rapport au volume de départ. Une IRM est réalisée au début de l'étude, à la semaine 12, 24 et 48 puis annuellement pendant 4 ans. Elle rapporte aussi la mesure du temps soit jusqu'à la progression du volume des angiomyolipomes de plus de 25% par rapport au volume de base, soit jusqu'à l'apparition d'un nouvel angiomyolipome de plus de 1 cm de diamètre soit jusqu'à l'augmentation du volume du rein de plus de 20%, soit jusqu'à l'apparition d'une hémorragie liée à la lésion de grade supérieur à 2. Le taux de réponse des lésions de la peau ainsi que l'évolution de la fonction rénale sont étudiés en parallèle pendant toute la durée de l'essai.

1.2.1.2 Caractéristiques des patients

	Évérolimus	Placebo	Total
Nombre de participants	79	39	118
Age moyen \pm écart type	32,5 \pm 10,37	31,0 \pm 9,64	32,0 \pm 10,12
Âge			
< 30 ans	35	20	55
\geq 30 ans	44	9	63
Sexe			
Femelle	52	26	78
Mâle	27	13	40
Angiomyolipomes			
% de personnes dans chaque groupe ayant un diamètre des angiomyolipomes $>$ à 4 cm*	57	49	
Nombre de patients avec 0 angiomyolipome	1	1	2
De 1 à 5 angiomyolipomes	32	15	47
De 6 à 10 angiomyolipomes	46	23	69
Angiomyolipomes bilatéraux en %	83	71	
Autres lésions			
% de patients dans chaque groupe ayant des lésions SEGA	54	36	
Nbre de pers ayant une ou plusieurs lésions de la peau	77	37	114

Tableau 24 : Caractéristiques des patients de l'étude de phase 3 : EXIST-II.

* Lésions \geq 4 cm sont à risque de rupture hémorragique.

Les données démographiques ainsi que les caractéristiques cliniques sont relativement équilibrées entre des deux groupes. On note une proportion de patients plus importante ayant des lésions SEGA dans le groupe évérolimus comparé au groupe placebo.

1.2.1.3 Résultats

Taux de réponse de l'angiomyolipome	Évérolimus N = 79	Placebo N = 39
En % p < 0,0001	41,8	0
IC 95%	[30,8 ; 53,4]	[0,0 ; 9,0]

Tableau 25 : Résultats de l'étude d'efficacité de l'évérolimus sur les angiomyolipomes : essai EXIST- II. (RCP Votubia®).

La durée médiane de traitement a été de 38 semaines pour l'évérolimus et de 34 semaines pour le groupe placebo.

Le taux de réponse des angiomyolipomes, défini comme le pourcentage de patients ayant une réduction $\geq 50\%$ de la somme des volumes des angiomyolipomes par rapport au début de l'essai, est de 42% pour l'évérolimus et de 0% dans le groupe placebo. Ce qui se traduit par une différence significative de 42% (IC 95% : [23,5% ; 8,4%] ; $p < 0,0001$).

À la semaine 24 :

- 55% des patients du groupe évérolimus contre 0% des patients du groupe placebo ont eu une réduction du volume total des SEGA d'au moins 50%.
- 80% des patients du groupe évérolimus versus 0% des patients du groupe placebo ont eu une réduction du volume total des SEGA d'au moins 30%.

Le temps jusqu'à la progression des angiomyolipomes était significativement plus long avec l'évérolimus versus placebo ($p=0,08$; IC 95% : [0,02 ; 0,37]). 3 patients, ce qui correspond à 4% des patients du groupe évérolimus, et 8 patients (21%) du groupe placebo ont eu une progression des angiomyolipomes.

Le taux sans progression pour l'évérolimus versus placebo :

- À 6 mois, 98% (IC 95% : [89% ; 100%]) pour l'évérolimus contre 83% (IC 95% : [65% ; 93%]) pour le placebo
- À 12 mois, 92% (IC 95% : [65% ; 98%]) pour l'évérolimus contre 25% (IC 95% : [1% ; 64%]) pour le placebo.

Le temps médian jusqu'à la progression des angiomyolipomes était de 11,4 mois pour le placebo et n'a pas été atteint pour l'évérolimus.

20 patients sur les 118 ont arrêté l'étude principalement à cause de la progression de la maladie. Ces patients appartiennent tous au groupe placebo (111).

1.2.2 Essai EXIST-I

Sur 30 patients dans le groupe évérolimus présentant au moins un angiomyolipome au début de l'étude, 16 patients (53%) ont eu une réponse définie comme la réduction de la somme des volumes de toutes les lésions cibles $\geq 50\%$ par rapport aux volumes de référence. Sur 14 patients présentant au moins 1 angiomyolipome dans le groupe placebo, aucun patient n'a eu de réponse (110).

1.3 Conclusion et perspectives d'avenir

Les résultats de ces études montrent le bénéfice de l'évérolimus dans le traitement des SEGA ainsi que dans le traitement des angiomyolipomes associés à la STB. Dans l'étude EXIST-I, la réduction des volumes des SEGA est statistiquement significative dans le groupe évérolimus comparé au groupe placebo. Le bénéfice clinique associé à cette diminution de volume est important. En effet, la grosseur des SEGA est associée au risque d'hydrocéphalie, source de complications sévères et de risque vital. Donc la réduction de la taille de la tumeur permet de réduire la morbidité. Les résultats de EXIST-I confirment les résultats de l'essai NCT00411619 qui avait déjà montré le bénéfice de l'évérolimus sur les volumes de SEGA. Contrairement à la chirurgie qui est dans la majorité des cas curative par ablation complète de la tumeur, le traitement par évérolimus permet de réduire le volume des SEGA mais ne permet pas de les détruire totalement. Un fait intéressant a été relevé dans l'étude EXIST-I où le taux de réponse des SEGA était plus faible dans le groupe des patients avec une mutation TSC2 versus TSC1. Dans l'étude EXIST-II, le taux de réponse globale des angiomyolipomes est significativement plus élevé dans le groupe évérolimus comparé au groupe placebo. L'intérêt clinique d'une diminution du volume des angiomyolipomes est une réduction du risque hémorragique ainsi qu'une préservation des fonctions rénales.

L'arrêt du traitement conduit à une reprise de la croissance des tumeurs rendant le traitement nécessairement chronique alors que l'innocuité et l'efficacité d'une posologie cumulative élevée est inconnue. Ces études se poursuivent dans leurs phases d'extension dans le but d'établir l'innocuité à long terme et le profil d'efficacité de l'évérolimus chez les patients atteints de STB. En effet, une étude de suivi à long terme, ouverte aux patients inclus dans l'essai EXIST-I et qui répondent aux critères de cette étude est en cours. Dans cette étude, le profil d'innocuité, l'efficacité de l'évérolimus sur les SEGA ainsi que les effets potentiels de l'évérolimus sur la croissance, le développement et la maturation des organes sexuels dans la population pédiatrique sont étudiés.

Une étude de suivi à long terme, ouverte aux patients inclus dans l'essai EXIST-II et qui répondent aux critères de cette étude est aussi en cours. L'innocuité de l'évérolimus est étudiée comme critère d'évaluation primaire alors que la variation des volumes des angiomyolipomes est étudiée comme critère d'évaluation secondaire. L'hypothèse retenue dans cette étude est que l'évérolimus inhibe la croissance des angiomyolipomes et peut même causer leur régression.

2 EFFICACITÉ DE L'ÉVÉROLIMUS SUR LES AUTRES MANIFESTATIONS ET SYMPTÔMES CLINIQUES DE LA STB

2.1 Efficacité de l'évérolimus sur les symptômes neurologiques

2.1.1 Épilepsie

2.1.1.1 Essai NCT00411619 et EXIST-I

Ils ont montré une diminution cliniquement significative de la fréquence des crises.

Dans l'essai NCT00411619, l'étude de l'efficacité de l'évérolimus sur la fréquence des crises (nombre total de crises pendant la période de 6 mois avant l'étude) s'est portée sur 16 patients. Leurs vidéos EEG sur 24h ont été recueillies entre le début de l'étude et 6 mois.

9 patients ont eu une diminution de la fréquence des crises, 6 n'ont eu aucun changement et 1 a eu une augmentation de fréquence.

Au début de l'étude EXIST-I, la médiane de la fréquence des crises dans le groupe placebo est de 11 par 24h (1,0 à 78,9) et dans le groupe évérolimus de 5,9 par 24h (1,0 à 42,6). Elle est donc supérieure dans le groupe placebo.

À la semaine 24, cette médiane a évolué de -2,9 crises par 24h (IC 95% : [-4,0 ; -1,0]) pour le groupe évérolimus et de - 4,1 crises par 24h (IC95% : [-10,89 ; 5,78]) pour le groupe placebo (p = 0,2988). Cette analyse de la variation de la fréquence des crises n'a pas été concluante, un fait qui a été attribué à la méthode d'évaluation et donc du nombre limité de patients évalués. La fréquence des crises a été analysée comme critère secondaire donc les patients inclus dans l'étude ont été sélectionnés sur l'évolution du volume des SEGA et non pas sur la présence de crises (110).

2.1.1.2 Essai NCT01070316

Malgré ces résultats peu concluants, une étude plus récente : l'étude NCT01070316 a été réalisée pour analyser l'effet de l'évérolimus sur la fréquence des crises. C'est une étude prospective de phase 1, 2 incluant 23 patients d'âge supérieur à 2 ans dont 20 ont reçu une dose d'évérolimus sur une durée de 12 semaines. Ces patients ont tous été diagnostiqués STB avec une épilepsie réfractaire. Le critère d'évaluation primaire est le pourcentage de patients qui ont une réduction de la fréquence des crises de plus de 50% après une période de 4 semaines avant l'introduction de l'évérolimus et 4 semaines après le début du traitement par l'évérolimus. Pendant les quatre premières semaines, les patients devaient relever chaque jour le nombre, la durée ainsi que la description des crises. Seuls, les patients ayant plus de 8 crises pouvaient continuer l'étude. À partir de la cinquième semaine ils ont reçu l'évérolimus à la posologie de 5 mg/m²/j.

résultats de l'étude :

Pourcentage de réponse	Nombre de patients
Réponse > 50%	12
Réponse de 25% à 50%	3
Réponse < 25%	5

Tableau 26 : Résultats de l'étude NCT01070316.

À 4 semaines de traitement, chez 12 des 20 patients, la fréquence des crises a été réduite de plus de 50% ce qui correspondait au critère d'évaluation primaire.

Après les 12 mois de traitement, on retrouve une diminution cliniquement et statistiquement significative de la fréquence des crises. Sur les 20 patients qui ont été traités par évérolimus 12 (60%) ont eu un réponse au traitement, 3 (15%) ont eu une réponse partielle et 5 (25%) n'ont pas répondu au traitement. 4 patients soit (20%) n'ont plus eu de crises et 7 (35%) ont relevé une diminution de la fréquence des crises d'au moins 90%.

La médiane de la fréquence des crises a diminué de 73% (31 vs 8,5 crises par 28 jours) $p < 0,001$. La médiane de la durée cumulée des crises a aussi diminué de 70% ($p = 0,020$). Une amélioration dans la fréquence et dans la durée des crises a été aussi observée grâce aux EEG sur 23h réalisés avec vidéo avant et après le traitement par évérolimus. La médiane de la fréquence des crises a diminué de 3,5 à 1,5 (IC95% [-33 ; +3]) $p = 0,007$.

Globalement, cette réponse s'explique par la réduction des crises partielles ($p = 0,048$) mais ils ont remarqué que les 2 patients qui avaient le plus grand nombre de crises généralisées ont eu la plus forte amélioration.

Le nombre médian de crises a été réduit de 45% pendant les 4 premières semaines de traitement et de 39 % pendant les 4 semaines suivantes mais aucun de ces deux résultats n'est statistiquement significatif.

Par contre, cette étude montre une diminution statistiquement significative de la fréquence des crises durant les 4 dernières semaines $p < 0,05$.

C'est la première étude qui démontre l'efficacité de l'évérolimus dans le traitement des crises chez des patients atteints d'une épilepsie réfractaire mais cette étude a ses limites notamment le nombre relativement faible de patients inclus. L'étude EXIST-III, actuellement en phase de recrutement, permettra peut-être de confirmer l'efficacité de l'évérolimus dans le traitement de l'épilepsie réfractaire associée à la STB (264).

2.1.2 Qualité de vie et développement cognitif

2.1.2.1 Essai NCT00411619

Dans l'étude NCT00411619, le questionnaire Quality of Life for Children with Epilepsy (QOLCE) est utilisé pour évaluer la qualité de vie chez les enfants et peut varier de 0 à 100. Plus le score est élevé meilleure est la qualité de vie de l'enfant.

Les scores totaux de ce questionnaire ont été relevés au début de l'étude, à 3 mois et à 6 mois.

La moyenne au début de l'étude était de $57,8 \pm 14$ pour atteindre $63,4 \pm 12,4$ à 3 mois et enfin $62,1 \pm 14,2$ à 6 mois. On voit une amélioration de la qualité de vie chez ces patients.

Les données neuropsychologiques étaient disponibles pour 24 patients mais aucun changement n'a été observé dans le développement cognitif ou les données neuropsychologiques. L'évaluation neuropsychologique et du développement cognitif sont basés sur une batterie standard d'outils spécifiques adaptés à une tranche d'âge :

Pour les plus petits, ils se basent sur des épreuves de langage, de logique non verbale, de vitesse de traitement de l'information, sur une évaluation de la compréhension des concepts et acquisition des concepts de base ainsi que sur le test : le Berry Visual-Motor Integration qui permet de dépister les déficits visuo-moteurs.

Pour les plus grands, le concept d'intelligence globale est calculé en fonction de l'indice de compréhension verbale, l'indice de raisonnement perceptif, l'indice de mémoire, de travail et l'indice de vitesse de traitement.

Les comportements et les émotions des patients sont étudiés sous trois angles pour assurer une évaluation équilibrée, d'un point de vue du patient lui-même, de ses parents ainsi que de l'enseignant ; ce système d'évaluation concerne les enfants, les adolescents et les jeunes adultes. Des tests de flexibilité mentale, de capacité à lire des mots, à comprendre des phrases, l'orthographe et des tests de résolution de problèmes mathématiques sont aussi utilisés chez les enfants comme chez les adultes.

Pour les adultes uniquement, l'échelle d'intelligence de Wechsler pour adultes est utilisée pour déterminer le QI.

2.1.2.2 Essai NCT01070316

Dans l'étude NCT01070316, le Nisonger Child Behavioral Rating Form (NCBRF) a été utilisé comme outil d'évaluation du comportement de l'enfant et de l'adolescent. Il permet de rapporter les comportements dits positifs ou négatifs. Cette étude montre une amélioration des comportements positifs ($p = 0,083$) tels que l'adaptation sociale et une diminution des comportements négatifs ($p = 0,021$) tels que les sentiments d'insécurité ou d'anxiété.

L'évérolimus a eu un impact plus important sur la réduction des comportements négatifs versus augmentation des comportements positifs.

Dans cette même étude, un autre outil, le QOLCE pour Quality of Life for Children with Epilepsy a permis d'analyser la qualité de vie. Une amélioration de celle-ci a été statistiquement prouvée ($p < 0,001$) et est médiée par une amélioration de l'attention, de la concentration, du comportement, des interactions sociales, ainsi qu'une amélioration des limitations physiques. Cette étude nécessite des essais supplémentaires afin de confirmer ces résultats (264).

2.2 Efficacité de l'évérolimus sur les lésions cutanées

Dans l'étude EXIST-I, 42% des patients inclus dans le bras de l'évérolimus et 11% des patients du groupe placebo ont eu une réponse des lésions de la peau ($P = 0,0004$) (110).

De plus, dans l'étude EXIST-II, le taux de réponse des lésions de la peau est de 26% (IC 95% : [17% ; 37%]) dans le bras de l'évérolimus et de 0% (IC95% : [0% ; 10%]) dans le groupe placebo ($p = 0,0002$) (111).

Ces deux études montrent un taux de réponse nettement plus élevé dans le groupe évérolimus versus le groupe placebo mais aucune réponse n'a été complète.

Une étude récente a testé l'efficacité et l'innocuité d'une pommade à base d'évérolimus pour le traitement des angiofibromes du visage chez une jeune fille de 10 ans. Le traitement a été efficace et sans effets indésirables. Des études plus approfondies seront nécessaires pour confirmer l'efficacité et l'innocuité de cette pommade mais son utilisation en topique pourrait être, dans l'avenir, une option de traitement des angiofibromes du visage (265).

2.3 Évériolimus comme traitement des rhabdomyomes cardiaques associés à la STB

Un enfant de 5 ans atteint de SEGA associé à la STB est inclus dans une étude ouverte qui propose l'évérolimus pour réduire le volume de sa tumeur. Cet enfant est né avec une grosse tumeur du ventricule gauche avec une dysfonction ventriculaire. Aucune régression du rhabdomyome n'a été observée depuis sa naissance. Une échographie cardiaque est réalisée 2 mois avant l'étude pour la surveillance du rhabdomyome. 13 mois après le début de l'étude, la fonction ventriculaire est normale, les valves cardiaques ne sont plus obstruées et cliniquement il n'a aucun symptôme cardiovasculaire. L'impact de l'évérolimus sur la régression de rhabdomyomes cardiaques n'a pas encore été étudié et reste inconnu mais la connaissance de l'implication de la voie mTOR dans les rhabdomyomes cardiaques indique que la régression observée au niveau du volume de SEGA pourrait aussi s'appliquer aux rhabdomyomes cardiaques. En effet, une étude de Kotulska et al (266) s'est portée sur l'expression de nombreux effecteurs de la voie mTOR dans des échantillons de rhabdomyomes cardiaques. Cette équipe a découvert une expression à la hausse de Bax (protéine pro apoptotique), mTOR, pS6K, pErk et 4E- BP1 ce qui montre une dérégulation de la voie mTOR dans les rhabdomyomes cardiaques. Dans la STB, les rhabdomyomes cardiaques involuent naturellement donc il est possible que chez cet enfant, il est involué naturellement. Une régression spontanée de ces rhabdomyomes est aussi parfois la règle ; de nombreuses études décrivent des résorptions spontanées chez des patients atteints de STB quelle que soit la taille ou le nombre de ces tumeurs (267–270). Chez cet enfant de 5 ans, la rapidité avec laquelle il a involué ajouté à cela la corrélation de cette diminution de volume avec le début du traitement par évériolimus suggère fortement son implication. D'autres études seront nécessaires pour confirmer ou infirmer cette hypothèse (271).

2.4 Conclusion et perspectives d'avenir

Les symptômes neurologiques caractérisés par une épilepsie, un retard mental, des troubles du comportement ainsi que des troubles du spectre autistique sont les premières causes de l'altération de la qualité de vie chez les patients atteints de STB.

L'efficacité et l'innocuité de l'évérolimus dans le traitement des crises épileptiques ont été étudiées dans deux essais : comme critère d'évaluation secondaire dans l'étude NCT00411619 et comme critère d'évaluation primaire dans l'étude NCT01070316.

Une diminution de la fréquence des crises a été observée dans les deux études ainsi qu'une diminution de la durée des crises dans la deuxième. Mais la faible taille de leurs échantillons est un critère limitant. D'autres études évaluant l'efficacité et l'innocuité de l'évérolimus dans le traitement de l'épilepsie sont en cours, notamment l'essai EXIST-III qui utilise évériolimus en deux dosages comme traitement adjuvant chez les patients ayant des crises partielles réfractaires associées à la STB. C'est une étude à 3 bras, randomisée, en double aveugle versus placebo qui a pour objectif l'évaluation du taux de réponse avec au moins une réduction de 50% de la fréquence des crises ainsi que le pourcentage de cette réduction. Elle permettra d'évaluer, en sus, le nombre de patients sans crise, la proportion de patients avec une réduction d'au moins 25% de la fréquence des crises, ainsi que l'innocuité de l'évérolimus avec la fréquence des effets indésirables. Un autre essai de phase 1 et 2, l'étude NCT01070316 qui est en cours, étudie l'évérolimus comme thérapie de l'épilepsie chez les patients atteints de STB. Elle a pour objectif l'étude du pourcentage de patients qui auront une diminution de la fréquence des crises sur 16 semaines et le pourcentage de patients continuant l'étude. Les résultats de ces études sont attendus pour confirmer les résultats déjà obtenus.

L'épilepsie, les troubles intellectuels ainsi que les troubles du comportement sont étroitement liés dans la STB donc il n'est pas étonnant de relever une amélioration de la qualité de vie ainsi que des troubles du comportement associés à cette diminution de la fréquence et de la durée des crises. Trois études en cours étudient l'efficacité de l'évérolimus sur ces symptômes. L'étude NCT01289912 de phase 2, randomisée, en double aveugle versus placebo, permettra d'identifier les avantages possibles de l'évérolimus sur les troubles de la neurocognition pendant une période de 6 mois. Il y sera étudié l'amélioration de la fréquence des crises, des troubles du sommeil par le remplissage d'un questionnaire du sommeil pédiatrique, l'évolution des troubles du spectre autistique mesurée par ADOS et SRS, des performances intellectuelles par WRAT4 et des troubles du comportement mesurés par des échelles d'évaluation comportementale. L'étude NCT01730209 randomisée, en double aveugle versus placebo, étudie l'efficacité de RAD001 dans les troubles autistiques et neuropsychologiques chez les enfants atteints de STB. Elle évalue les capacités d'apprentissage mesurées par le QI ainsi que l'évolution des troubles autistiques, des compétences sociales et communicationnelles, la mémoire de travail et d'attention, le traitement de l'information, le comportement de l'enfant, le fonctionnement exécutif, les troubles du sommeil, la santé de l'enfant, les difficultés sensorielles et l'épilepsie. Les enfants ont entre 4 et 15 ans avec un QI inférieur à 80 ou avec de forts troubles de l'apprentissage nécessitant une éducation spécialisée. L'étude NCT01954693 randomisée, en double aveugle versus placebo, étudie les capacités d'apprentissage ainsi que la mémoire de travail chez des patients atteints de STB avec un QI supérieur à 60 et un déficit neurocognitif significatif sur une période de 6 mois. D'autres critères d'évaluation comprenant entre autres la qualité de vie, le comportement social, la communication seront étudiés en parallèle. Ces études amèneront des résultats plus précis sur l'impact de l'évérolimus comme traitement des symptômes neurologiques chez les patients atteints de STB.

L'efficacité de l'évérolimus sur les lésions de la peau a été démontrée dans les études EXIST-I et II. Même si elles ne font pas partie des critères de morbidité de la STB le bénéfice esthétique apporté par cette diminution des lésions reste important.

Les rhabdomyomes cardiaques sont le plus souvent asymptomatiques et involuent naturellement mais la localisation auriculaire peut entraîner des troubles du rythme. La découverte empirique d'une régression rapide de la tumeur cardiaque chez un patient traité par évérolimus suggère une potentielle efficacité de l'évérolimus pour le traitement de ces tumeurs. Pour l'instant aucun essai n'est en cours pour étudier spécifiquement l'innocuité et l'efficacité de l'évérolimus dans le traitement des rhabdomyomes cardiaques chez les patients atteints de STB.

Étude du taux de VEGF-D et de collagène IV.

La perte de TSC1 ou TSC2 a été associée à la production accrue du VEGF (facteur de croissance endothélial vasculaire). Il a été démontré que les inhibiteurs de mTOR avaient un effet inhibiteur sur la production de VEGF, la croissance tumorale et l'angiogenèse, à la fois in vitro et in vivo. L'étude EXIST-II montre une diminution des taux de VEGF-D plasmatique ainsi que du collagène IV à la semaine 24, par rapport au début de l'étude, uniquement dans le groupe de l'évérolimus. La concentration médiane de VEGF-D a diminué de 62% dans le groupe évérolimus et a augmenté de 6% dans le groupe placebo. La concentration médiane de collagène IV a diminué de 42% dans le groupe évérolimus et n'a pas changé dans le groupe placebo. Les concentrations de VEGF-D et du collagène IV ont été statistiquement corrélées aux volumes des angiomyolipomes (111). Le VEGF ainsi que le collagène IV pourraient être utilisés comme des marqueurs de l'involution de ces tumeurs et ainsi suivre la réponse à l'évérolimus en complément des examens radiologiques.

3 EFFICACITÉ DE L'ÉVÉROLIMUS COMME TRAITEMENT PRÉVENTIF DANS LA STB (272)

L'efficacité de l'évérolimus dans le traitement de certaines manifestations de la STB a été démontrée ci-dessus ou est en cours d'étude. La STB est une pathologie qui a une grande diversité d'expressions ainsi qu'une histoire naturelle complexe. En effet, certaines manifestations peuvent apparaître chez certains patients et se développer au cours de leur vie. La question se pose de l'impact d'un traitement préventif par l'évérolimus sur le développement ou l'aggravation de ces manifestations. L'évérolimus peut-il empêcher et pendant combien de temps le développement ou l'aggravation de ces manifestations ? Peut-il retarder et pendant combien de temps leur développement ou leur aggravation ? Les observations seront-elles imputables à l'évérolimus ou à l'histoire naturelle de la maladie ? Quelle devra être la durée du traitement préventif ?

La question d'un éventuel traitement préventif dans la STB s'est posée à partir de l'étude de deux sœurs, jumelles. Cette étude de cas a été rapportée dans la littérature. Elles sont nées de parents indemnes de la maladie et ont développé toutes les deux des spasmes infantiles à l'âge de 4 mois. De plus, elles présentaient des rhabdomyomes, de multiples macules hypomélaniques ainsi que des calcifications périventriculaires. Un retard psychomoteur ainsi que des troubles autistiques sont présents chez ces jumelles. Les seules différences dans ces manifestations sont la localisation des macules hypomélaniques et la présence de malformations osseuses au niveau de la hanche et du fémur chez une des jumelles (ZU). Le diagnostic de STB a été posé chez les deux enfants. L'analyse génétique a trouvé le même génotype avec une mutation faux-sens dans le gène TSC2. L'IRM rapporte, chez les jumelles, la présence de tubers corticaux multiples ainsi que des SEGA localisés dans les ventricules latéraux. Chez une des jumelles (ZU), l'augmentation de volume de ces SEGA a été révélée grâce à des IRM successives mais non démontrée chez JU (absence d'images antérieures disponibles). Le volume des SEGA est identique chez les jumelles. Vers l'âge de 3 ans, ZU est incluse dans l'essai EXIST-I ; JU ne remplissait pas tous les critères d'inclusion de l'essai. ZU reçoit une dose de départ d'évérolimus de 4,5 mg/m²/j qui est ajustée en vue de l'obtention d'une concentration sanguine d'évérolimus entre 5 et 15 ng/mL. Cette dose a été réduite à 3,38 mg/m²/j dès l'apparition d'effets indésirables (stomatite de grade 3 et une diminution du taux de fibrinogène plasmatique). Après cette diminution de dose, l'évérolimus a été bien toléré. La jumelle non traitée par évérolimus a développé de nombreux angiomyolipomes au niveau rénal, des kystes corticaux et de nombreux angiofibromes au niveau cutané. La jumelle recevant l'évérolimus n'a pas développé toutes ces manifestations de la maladie. De petites différences dans les manifestations de la STB sont retrouvées chez les jumeaux mais à un degré moindre que dans ce cas. La question s'est donc posée du rôle du traitement par l'évérolimus dans cette absence de développement des angiomyolipomes et des angiofibromes chez la jumelle traitée. L'efficacité de l'évérolimus sur certaines manifestations de la STB a été prouvée mais son impact sur l'histoire naturelle de la maladie n'a pas encore été démontré. Des études sur modèles animaux, chez la souris atteinte de STB, ont démontré que le traitement précoce par la rapamycine prévenait l'apparition de l'épilepsie et des malformations cérébrales (273).

Il s'agit de la première approche d'un possible traitement préventif par un inhibiteur de mTOR. Dans le cas des jumelles, des études ultérieures seront nécessaires pour prouver l'impact à long terme d'un traitement préventif de la STB. L'hypothèse que l'évérolimus peut inhiber ou retarder le développement de certaines manifestations de la STB reste encore à démontrer.

4 INNOCUITÉ DE L'ÉVÉROLIMUS DANS LE TRAITEMENT DE LA STB

4.1 Étude pré-clinique d'innocuité de l'évérolimus

Le profil de sécurité pré-clinique de l'évérolimus a été évalué chez la souris, le rat, le cochon nain, le singe et le lapin. Ces études se sont focalisées sur les organes de reproduction mâle et femelle, les poumons, le pancréas et les yeux.

Une dégénérescence tubulaire testiculaire, une diminution de la quantité de sperme dans les épидидymes ainsi qu'une atrophie utérine ont été observées chez plusieurs espèces. Au cours d'une étude de fertilité chez le rat mâle, la morphologie testiculaire a été affectée à des doses égales ou supérieures à 0,5 mg/kg. La motilité et le nombre de spermatozoïdes, le taux plasmatique de testostérone, ont été diminués à la dose de 5 mg/kg, ce qui a entraîné une diminution de la fertilité des mâles. Ces altérations ont été réversibles. Au cours des études réalisées chez l'animal, sur la fonction de reproduction, aucune incidence sur la fertilité des femelles n'a été relevée.

La prolifération des macrophages alvéolaires pulmonaires a été observée chez le rat et la souris. Une dégranulation et apparition de vacuoles dans les cellules exocrines pancréatiques ont été retrouvées chez les singes et les cochons nains. Une dégénérescence des cellules des îlots de Langerhans a été identifiée uniquement chez les singes. Enfin une opacité des fibres antérieures du cristallin a été observée seulement chez le rat.

Au niveau rénal, seules des modifications mineures ont été observées chez le rat : une exacerbation liée à l'âge de la lipofuscine dans l'épithélium tubulaire ainsi qu'une augmentation de l'hydronéphrose. Une aggravation de lésions rénales préexistantes a été observée chez la souris. Aucun signe de néphrotoxicité n'a été observé chez le singe et le cochon nain.

En dehors de ces effets sur un organe cible, l'évérolimus a semblé exacerber spontanément des pathologies préexistantes (myocardites, infections, lésions de la peau). Ces effets ont été généralement observés à des niveaux d'exposition systémique équivalents ou supérieurs aux niveaux d'exposition thérapeutique, à l'exception des effets observés chez le rat, qui se sont produits à des niveaux inférieurs à l'exposition thérapeutique en raison d'une distribution tissulaire élevée.

L'évérolimus passe à travers la barrière placentaire et s'est avéré toxique pour le fœtus. Chez le rat, l'évérolimus a provoqué une embry/foetotoxicité se traduisant par une mortalité et une réduction du poids fœtal, à une dose inférieure à la dose thérapeutique. Chez le lapin, l'embryotoxicité s'est manifestée par une augmentation des résorptions tardives.

Les études de génotoxicité n'ont pas mis en évidence d'activité mutagène. Une exposition de la souris et du rat à l'évérolimus pendant 2 ans n'a pas révélé de potentiel oncogène alors que les doses administrées pouvaient atteindre respectivement 3,9 et 0,2 fois l'exposition clinique estimée. (RCP Votubia®).

4.2 Profil de tolérance de l'évérolimus

De nombreuses études évaluant l'innocuité de l'évérolimus ont largement été réalisées notamment dans le rejet de greffe et en oncologie. Dans le traitement de la STB, pour une population de patients âgés de 3 ans et plus, l'évérolimus semble avoir un profil d'innocuité qui correspond au profil d'innocuité déjà connu. Dans les trois essais cliniques, l'évérolimus donne un profil de sécurité comparable. Les événements indésirables sont dans la majorité des cas de grade 1 ou de grade 2. Les inflammations de la muqueuse buccale ainsi que les infections des voies aériennes supérieures représentent la majorité des effets indésirables retrouvés dans ces essais cliniques.

Profil de tolérance de l'évérolimus selon les classes de systèmes d'organes (MedDRA) :

Classes de systèmes d'organes MedDRA.	Très fréquent ≥ 1/10	Fréquent ≥ 1/100, < 1/10	Peu fréquent ≥ 1/1 000, < 1/100
Infections et infestations	Infections des voies respiratoires supérieures Sinusite Otite moyenne Rhinopharyngite Zona		
Affections hématologiques et du système lymphatique		Thrombocytopénie Anémie Leucopénie Neutropénie	
Affections du système immunitaire			Hypersensibilité
Troubles du métabolisme et de la nutrition	Hypercholestérolémie	Hypertriglycémie Hyperlipidémie Hypophosphatémie Diminution de l'appétit	
Affections psychiatriques			Insomnie Agitation
Affections du système nerveux		Convulsion Céphalées Dysgueusie	Agressivité
Affections oculaires		Conjonctivite	
Affections vasculaires		Hypertension artérielle Hémorragie	
Affections respiratoires, thoraciques et médiastinales		Toux	Pneumopathie incluant: Pneumopathie interstitielle, Infiltration pulmonaire, Hémorragie alvéolaire pulmonaire, Toxicité pulmonaire Alvéolite

Affections gastro-intestinales	Stomatite incluant: Ulcération buccale stomatite Aphteuse Douleur gingivale Glossite Ulcération des lèvres	Gastrite Diarrhée Vomissements Nausées Gingivite Douleur abdominale Flatulence Constipation	
Affections de la peau et du tissu sous-cutané		Rash incluant: Érythème Éruption érythémateuse Éruption maculaire Éruption maculo papulaire, Éruption généralisée Acné Dermatite acnéiforme Sécheresse cutanée Prurit Alopécie	Œdème de Quincke
Affections musculo-squelettiques et systémiques			Rhabdomyolyse
Affections du rein et des voies urinaires		Protéinurie	
Affections des organes de reproduction et du sein		Aménorrhée Augmentation de l'hormone lutéinisante Menstruation irrégulière Menstruation retardée Ménorragie Mémorragie vaginale Kyste ovarien	
Troubles généraux et anomalies au site d'administration		Fatigue Fièvre Irritabilité	Démarche anormale
Investigations		Augmentation du taux sanguin de lactate déshydrogénase Perte de poids	

Tableau 27 : Profil de tolérance de l'évérolimus selon les classes de système d'organes (MeDRA).

Les stomatites, rhinopharyngites, lésions cutanées de type acnéiques, maux de tête, toux et hypercholestérolémie sont les effets indésirables les plus couramment retrouvés dans l'étude EXIST-II et chacun concerne plus de 11% des patients mais sont majoritairement de grade 1 ou 2. Les effets indésirables les plus couramment rencontrés dans l'étude EXIST-I sont les ulcérations et inflammations de la muqueuse buccale ainsi que la fièvre et des convulsions. Aucun patient n'a interrompu son traitement en raison d'effets indésirables dans l'étude EXIST-I, et quelques patients ont arrêté en raison d'effets indésirables dans EXIST-II dont un est dû à une diminution de phosphore dans le sang (grade 2), un deuxième par réaction d'hypersensibilité de grade 3 avec œdème de Quincke et bronchospasme ainsi qu'un patient ayant eu des convulsions non imputables au médicament étudié.

Aucune anomalie de laboratoire n'a été relevée, à l'exception de l'augmentation des concentrations de cholestérol total et de triglycérides. Le profil de sécurité dans la phase d'extension continue à être conforme à celui rapporté dans l'analyse originale, et aucun patient n'a interrompu le traitement en raison d'effets indésirables.

L'aménorrhée secondaire a été observée dans les deux études EXIST-I et EXIST-II :

- Dans EXIST-I, trois des huit femmes traitées par évérolimus ont eu une aménorrhée, aucune sous placebo.
- Dans EXIST-II, sept femmes sur 52 traitées par évérolimus et une sur 26 femmes du groupe placebo ont eu une aménorrhée.

On ne connaît pas la durée optimale du traitement par évérolimus or cette connaissance sera nécessaire afin de définir son profil d'innocuité optimal. Les effets indésirables étaient le plus souvent bénins et étaient généralement gérés tout en continuant le traitement par évérolimus. Du point de vue de la sécurité du traitement, évérolimus offre une option pharmacologique de traitement chez les patients atteints de STB.

4.3 Évènements indésirables provoqués par des interactions médicamenteuses

L'interaction médicamenteuse est un aspect important de l'étude de l'innocuité d'un nouveau traitement. Lorsqu'un médicament est utilisé en association avec d'autres médicaments, l'une des principales préoccupations est le changement de l'exposition, y compris la vitesse et le degré d'absorption du médicament, la distribution, le métabolisme et l'élimination. Pour répondre à ces préoccupations, une pratique courante consiste à mesurer l'exposition et de présenter ses augmentations (ou diminutions) lorsque le médicament est utilisé en présence d'une médication concomitante par rapport à son utilisation seule.

Le plus souvent, les différences entre les expositions sont basées sur les trois mesures ci-après: l'aire sous la courbe (AUC) qui est une mesure de l'exposition totale, la concentration plasmatique maximale (C_{max}) qui est une mesure de l'ampleur de l'exposition et enfin, le temps de la C_{max} (t_{max}) qui est une mesure de la vitesse de l'exposition.

Pour être retenue, une interaction doit avoir une traduction clinique significative c'est-à-dire être capable de provoquer ou de majorer des effets indésirables ou au contraire de diminuer l'efficacité des traitements.

L'évérolimus est un substrat du cytochrome P450 3A4 (CYP3A4) et un substrat et un inhibiteur modéré de la glycoprotéine P (PgP). Par conséquent, l'absorption puis l'élimination de l'évérolimus peuvent être influencées par les médicaments qui agissent sur le CYP3A4 et/ou la PgP.

Les inhibiteurs du CYP3A4 ou de la PgP peuvent augmenter les concentrations sanguines de l'évérolimus en diminuant le métabolisme ou l'efflux de l'évérolimus des cellules intestinales. Les inducteurs du CYP3A4 et de la PgP peuvent diminuer les concentrations sanguines de l'évérolimus en augmentant le métabolisme de l'évérolimus ou l'efflux de l'évérolimus des cellules intestinales.

Les inducteurs de la PgP regroupent de façon non exhaustive la rifampicine, le millepertuis, le ritonavir, la phénytoïne, la dexaméthasone, la vinblastine et la doxorubicine. On retrouve comme inhibiteurs de la PgP l'amiodarone, le diltiazem, le vérapamil, l'atorvastatine, le tamoxifène, la clarithromycine, la méfloquine, les antifongiques azolés, les inhibiteurs de la protéase du HIV, la ciclosporine et le jus de pamplemousse.

Un grand nombre de substrats de la Pgp sont également substrats du cytochrome CYP3A4.

Les tableaux ci-dessous référencent les interactions connues avec les inhibiteurs et les inducteurs enzymatiques. Certaines de ces interactions ont été étudiées, on notera donc les changements observés de l'AUC ainsi que de la Cmax. (RCP Votubia®)

Les inhibiteurs puissants du CYP3A4 et la Pgp :

Molécules	Variation de l'AUC	Variation de la Cmax
Ketoconazole	AUC ↑15,3 fois (intervalle 11,2-22,5)	Cmax ↑4,1 fois (intervalle 2,6-7,0)
Itraconazole, Posaconazole, Voriconazole	Non étudiés mais une augmentation importante des concentrations de l'évérolimus est attendue.	
Télithromycine, Clarithromycine		
Nefazodone		
Ritonavir, Atazanavir, Saquinavir, Darunavir, Indinavir, Nelfinavir		

Tableau 28 : Effets des inhibiteurs puissants du CYP3A4 et la Pgp sur la pharmacocinétique de l'évérolimus.

Les inhibiteurs modérés de CYP3A4/PgP :

Molécules	Variation de l'AUC	Variation de la Cmax
Érythromycine	AUC ↑4,4 fois (intervalle 2,0-12,6)	Cmax ↑2,0 fois (intervalle 0,9-3,5)
Imatinib	AUC ↑ 3,7 fois	Cmax ↑ 2,2 fois
Vérapamil	AUC ↑3,5 fois (intervalle 2,2-6,3)	Cmax ↑2,3 fois (intervalle 1,3-3,8)
Ciclosporine orale	AUC ↑2,7 fois (intervalle 1,5-4,7)	Cmax ↑1,8 fois (intervalle 1,3-2,6)
Fluconazole	Non étudiés. Exposition accrue attendue	
Diltiazem		
Dronédarone		
Amprenavir, Fosamprenavir		
Jus de pamplemousse ou autres aliments ayant un effet sur les CYP3A4/PgP		

Tableau 29 : Effets des inhibiteurs modérés de CYP3A4/PgP sur la pharmacocinétique de l'évérolimus.

Les inducteurs puissants du CYP3A4 :

Molécules	Variation de l'AUC	Variation de la Cmax
Rifampicine	AUC ↓63% (intervalle 0-80%)	Cmax ↓58% (intervalle 10-70%)
Corticostéroïdes	Non étudiés. Diminution de l'exposition attendue.	
Antiepileptiques (Carbamazépine, Phénobarbital, Phénytoïne)		
Éfavirenz, Nevirapine		
Millepertuis (Hypericum Perforatum)		

Tableau 30 : Effets des inducteurs puissants sur la pharmacocinétique de l'évérolimus.

Chez les patients présentant un SEGA associé à une STB, l'administration concomitante d'un inhibiteur du CYP3A4 ou de la Pgp doit s'accompagner d'une réduction de la posologie d'au moins 50%. Les concentrations résiduelles doivent être mesurées deux semaines après l'instauration du traitement. À l'arrêt du traitement concomitant, la dose de l'évérolimus doit être augmentée jusqu'à la dose prise avant ce traitement. En cas d'administration concomitante d'un inducteur du CYP 3A4 et de la Pgp, une augmentation de la dose d'évérolimus peut être nécessaire afin d'obtenir une concentration résiduelle comprise entre 5 et 15 ng/mL. L'augmentation de dose se fera de 2,5 mg toutes les deux semaines après contrôle de la concentration résiduelle ainsi que l'absence d'effets indésirables. À l'arrêt du traitement, la dose sera diminuée à celle de départ.

Chez les patients atteints d'un angiomyolipome rénal associé à une STB, l'administration concomitante d'un inhibiteur du CYP3A4 et du Pgp nécessite une réduction de la dose d'évérolimus administrée à 5 voire 2,5 mg par jour au lieu de 10 mg/jour ainsi qu'une surveillance d'éventuels effets indésirables et des concentrations sanguines résiduelles. En cas d'association avec un inducteur puissant, une augmentation de la dose d'évérolimus peut être nécessaire pour atteindre 20 mg/jour. Cette augmentation se fera par deux paliers de 5 mg.

Dans ces différentes études, on retrouve une variation dans les concentrations sanguines d'évérolimus associées à une dose spécifique. Cette variation est imputable à une association concomitante d'antiépileptiques qui pour certains sont de puissants inducteurs enzymatiques comme le phénobarbital, la phénytoïne, la carbamazépine et l'oxcarbamazépine et d'autres sont des inhibiteurs enzymatiques comme le valproate, le felbamate et le stiripentol. Les ajustements de dose sont donc nécessaires afin d'obtenir des concentrations sanguines dans la fourchette thérapeutique. L'emploi concomitant d'un ou plusieurs antiépileptiques est quasi systématique dans le traitement de la STB et sont susceptibles de perturber la biotransformation de l'évérolimus. Une surveillance étroite de la concentration de l'évérolimus est donc nécessaire. Cette variation dans les concentrations sanguines est aussi due à des variabilités inter et intra individuelles.

4.4 Précautions d'emploi et mises en garde

- Avant traitement, et pendant le traitement il est nécessaire de disposer d'une étude de la fonction rénale ; des cas graves d'insuffisance rénale aiguë ont été observés chez des patients traités par évérolimus. La fonction rénale des patients doit être surveillée particulièrement lorsque les patients présentent des facteurs de risques associés. La glycémie à jeun, la cholestérolémie, la triglycéridémie, la numération formule sanguine (NFS) et la fonction hépatique (bilirubine, albumine, TP) doivent être surveillées tout au long du traitement. En effet, une altération de la fonction hépatique peut provoquer une accumulation de l'évérolimus dans l'organisme et donc l'apparition d'effets secondaires.
- Des pneumopathies non infectieuses ont été décrites très fréquemment et sont un effet de classe des rapalogues.
- Des cas graves d'hémorragie ont été rapportés chez des patients traités par évérolimus en oncologie. Une surveillance étroite est nécessaire en cas de traitements anticoagulants concomitants.
- Le médicament interagit avec le CYP3A4 et la Pgp, ce qui permet d'identifier les interactions médicamenteuses possibles et théoriquement nombreuses. La consommation de pamplemousse, de jus de pamplemousse, de carambole ou de bigaradier doit être évitée pendant le traitement. Le patient doit éviter toute préparation contenant ou à base de millepertuis.
- Le risque infectieux accru par l'évérolimus, du fait de ses propriétés immunosuppressives, expose le patient à des complications comme des stomatites, des infections des voies aériennes supérieures pendant la durée du traitement. Devant tout signe d'infections respiratoires, une radiographie thoracique à la recherche d'une pneumopathie doit être réalisée. En cas d'aphte ou de stomatite, éviter les bains de bouche avec des produits contenant de l'alcool, du peroxyde d'hydrogène ou de l'iode car ces produits peuvent aggraver les ulcères.

Le traitement par évérolimus ne doit pas être débuté en cas d'infection évolutive.

La vaccination par un vaccin vivant est à proscrire pendant la durée du traitement dû à l'altération par l'évérolimus de la réponse immunitaire.

- L'évérolimus peut diminuer la fertilité masculine et provoquer une aménorrhée chez la femme. Ces effets peuvent se poursuivre après l'arrêt du traitement et justifient une contraception du couple pendant la durée du traitement et pendant 8 semaines après la fin du traitement.

Au sujet de l'allaitement, aucune étude n'a été réalisée.

- Pour les enfants de moins de 3 ans, l'efficacité et l'innocuité de l'évérolimus dans le traitement de la STB n'ont pas été démontrées.
- Troubles électrolytiques : l'évérolimus peut provoquer des changements dans les taux sanguins d'électrolytes, comme le potassium, le sodium, le chlorure, le calcium et le phosphore. Une consultation en urgence s'impose en cas de douleurs musculaires ou des crampes, de sécheresse buccale, d'un engourdissement des mains, des pieds ou des lèvres ainsi que d'une accélération du rythme cardiaque.
- Troubles dans le métabolisme glucidique : l'évérolimus peut causer une augmentation de la glycémie ainsi que des variations dans la tolérance au glucose. Les patients diabétiques sont amenés à vérifier la glycémie plus souvent durant le traitement par évérolimus.

Les professionnels de santé ont un rôle important à jouer dans la surveillance des effets indésirables en les détectant rapidement. De plus, l'éducation thérapeutique du patient est nécessaire pour acquérir ou maintenir les connaissances et les compétences sur le bon usage de l'évérolimus dans le traitement de la STB. Devant le moindre effet inhabituel, le patient devra en informer le plus rapidement possible le médecin et les professionnels de santé.

CONCLUSION

L'évérolimus, un inhibiteur puissant et sélectif de mTOR, est la première molécule pharmacologique approuvée pour le traitement de la sclérose tubéreuse de Bourneville ; c'est une thérapie systémique ciblée. Les connaissances actuelles sur les conséquences de la suractivation de la voie mTORC1 permettent de révéler certains rôles qu'elle joue dans la formation des différents hamartomes et dans les complications de la STB. Les implications cliniques et thérapeutiques de cette voie de signalisation intracellulaire dans la STB continuent de se développer grâce à une recherche active.

Trois études principales, l'étude NCT00411619, EXIST-I et EXIST-II étudient l'efficacité et l'innocuité de l'évérolimus dans le traitement des SEGA et des angiomyolipomes rénaux ; ces deux manifestations constituent ses uniques indications dans la STB.

SEGA : à 6 mois, 75% des patients (NCT00411619) traités par évérolimus ont eu une diminution du volume de SEGA d'au moins 30% et 32% des patients d'au moins 50% par rapport au volume de référence. Cette régression a été la plus rapide au cours des 3 premiers mois. Ces résultats à 6 mois sont identiques pour l'essai EXIST-I. Dans cette étude, à 48 mois, 90% des patients ont eu une diminution du volume de SEGA d'au moins 30% et 50% des patients d'au moins 50% par rapport au volume de référence. Lors de cette étude, aucun cas de progression n'a été observé dans le groupe évérolimus et 6 patients du groupe placebo ont eu une augmentation de volume.

Angiomyolipomes rénaux : à 6 mois, 80% des patients (EXIST-II) traités par évérolimus ont eu une diminution du volume des angiomyolipomes d'au moins 30% et 55% d'au moins 50% par rapport au volume de référence.

L'efficacité de l'évérolimus, statistiquement démontrée par le taux de réponse des SEGA et des angiomyolipomes rénaux, se traduit par des bénéfices cliniques importants comme la diminution du risque d'hydrocéphalie, du risque hémorragique au niveau rénal ainsi qu'une préservation des fonctions rénales. Le profil de tolérance de l'évérolimus dans ces trois études est comparable à celui déjà connu ; les ulcérations buccales et les infections respiratoires sont les effets secondaires les plus fréquemment retrouvés. Une variation importante de la concentration sanguine résiduelle d'évérolimus est retrouvée dans ces études et est imputable à l'administration concomitante d'antiépileptiques dont beaucoup sont des substrats enzymatiques ; une adaptation posologique est donc nécessaire.

La STB est la maladie la plus commune à l'origine d'une comorbidité épilepsie/trouble du syndrome autistique/retard mental qui sont les premières causes de l'altération de la qualité de vie des patients et de leur entourage. Une diminution de la fréquence et de la durée des crises ainsi qu'une amélioration de la qualité de vie ont été statistiquement démontrées dans la littérature alors que l'évérolimus n'a montré qu'une efficacité relative au niveau du développement cognitif et des troubles neuropsychologiques.

Cette thérapie offre donc aux patients à la fois une alternative de traitement aux procédures chirurgicales et un moyen de soulagement des symptômes neurologiques avec amélioration de la qualité de vie.

Le traitement par évérolimus permet de réduire le volume des SEGA et des angiomyolipomes rénaux mais ne permet pas de les détruire complètement; l'arrêt du traitement peut conduire à une reprise de la croissance tumorale ; dans ce cas un traitement chronique semble nécessaire. Or les études de sécurité cliniques ne permettent pas de connaître le profil d'innocuité d'une posologie cumulative élevée. Cette limite pourrait modérer son utilisation comme traitement palliatif mais aussi comme traitement préventif dont l'efficacité n'est pas encore démontrée.

La sclérose tubéreuse de Bourneville reste une maladie très peu connue, conséquence de sa complexité mais aussi de son manque d'exposition médiatique alors que c'est une maladie rare mais pas exceptionnelle. Pour remédier à cette constatation ; une journée mondiale de la sclérose tubéreuse de Bourneville a été créée le 15 mai afin de sensibiliser le grand public et faire avancer la recherche

BIBLIOGRAPHIE

1. Krueger DA, Franz DN. Current management of tuberous sclerosis complex. *Paediatr Drugs*. 2008;10(5):299–313.
2. Roach ES, Gomez MR, Northrup H. Tuberous sclerosis complex consensus conference: revised clinical diagnostic criteria. *J Child Neurol*. 1998 Dec;13(12):624–8.
3. Rayer P-F-O. *Traité des maladies de la peau: Atlas*. J B Baillière. 1835.
4. Bourneville D. Sclérose tubéreuse des circonvolutions cérébrales: Idiotie et épilepsie hémiplégique. 1880 :81–91.
5. Hallopeau F, Leredde É. Sur un CAS d'adenomes sébacés à forme sclereuse. 1885 :473-9.
6. Pellizzi GB. atelier de dell'idiozia de Contributo: rivisita Sperimentale di medicina e freniatria legale delle alienazioni mentali. 1901:265–9.
7. Campbell AW. Sclérose cérébrale. 1906:382–96.
8. Vogt H. Zur Diagnostik der tuberösen Sklerose. 1908:1–16.
9. Chalmers A, Connor JM. Evidence that the gene for tuberous sclerosis is on chromosome 9. *Lancet*. 1987 Mar 21;1(8534):659–61.
10. européenne chromosome 16 sclérose tubéreuse de Bourneville Consortium. Identification et caractérisation du gène de la sclérose tubéreuse de Bourneville sur le chromosome 16. :1305–15.
11. Wiederholt WC, Gomez MR, Kurland LT. Incidence and prevalence of tuberous sclerosis in Rochester, Minnesota, 1950 through 1982. *Neurology*. 1985 Apr;35(4):600–3.
12. Osborne JP, Fryer A, Webb D. Epidemiology of tuberous sclerosis. *Ann N Y Acad Sci*. 1991;615:125–7.
13. Wolkenstein P. neurofibromatoses et sclérose tubéreuse de bourneville. *Journal of Neuroradiology*. 2005 juin;32(3):174–9.
14. Curatolo P, Bombardieri R, Jozwiak S. Tuberous sclerosis. *Lancet*. 2008 Aug 23;372(9639):657–68.
15. Ahlsén G, Gillberg IC, Lindblom R, Gillberg C. Tuberous sclerosis in Western Sweden. A population study of cases with early childhood onset. *Arch Neurol*. 1994 Jan;51(1):76–81.
16. Kandt RS. Tuberous sclerosis complex and neurofibromatosis type 1: the two most common neurocutaneous diseases. *Neurol Clin*. 2003 Nov;21(4):983–1004.
17. Costello LC, Hartman TE, Ryu JH. High frequency of pulmonary lymphangioliomyomatosis in women with tuberous sclerosis complex. *Mayo Clin Proc*. 2000 Jun;75(6):591–4.

18. Sampson JR, Maheshwar MM, Aspinwall R, Thompson P, Cheadle JP, Ravine D, Roy S, Haan E, Bernstein J, et Harris PC. Renal cystic disease in tuberous sclerosis: role of the polycystic kidney disease 1 gene. *Am J Hum Genet.* 1997;61(4) :843–51.
19. Fryer AE, Chalmers A, Connor JM, Fraser I, Povey S, Yates AD, et al. Evidence that the gene for tuberous sclerosis is on chromosome 9. *Lancet.* 1987 Mar 21;1(8534):659–61.
20. Van Slegtenhorst M, de Hoogt R, Hermans C, Nellist M, Janssen B, Verhoef S, et al. Identification of the tuberous sclerosis gene TSC1 on chromosome 9q34. *Science.* 1997 Aug 8;277(5327):805–8.
21. Identification and characterization of the tuberous sclerosis gene on chromosome 16. *Cell.* 1993 Dec 31;75(7):1305–15.
22. Van Bakel I, Sepp T, Ward S, Yates JR, Green AJ. Mutations in the TSC2 gene: analysis of the complete coding sequence using the protein truncation test (PTT). *Hum Mol Genet.* 1997 Sept;6(9):1409–14.
23. Narayanan V. Tuberous sclerosis complex: genetics to pathogenesis. *Pediatr Neurol.* 2003 Nov;29(5):404–9.
24. Rosser T, Panigrahy A, McClintock W. The diverse clinical manifestations of tuberous sclerosis complex: a review. *Semin Pediatr Neurol.* 2006 Mar;13(1):27–36.
25. Cheadle JP, Reeve MP, Sampson JR, Kwiatkowski DJ. Molecular genetic advances in tuberous sclerosis. *Hum Genet.* 2000 Aug;107(2):97–114.
26. Sancak O, Nellist M, Goedbloed M, Elfferich P, Wouters C, Maat-Kievit A, et al. Mutational analysis of the TSC1 and TSC2 genes in a diagnostic setting: genotype--phenotype correlations and comparison of diagnostic DNA techniques in Tuberous Sclerosis Complex. *Eur J Hum Genet.* 2005 Jun;13(6):731–41.
27. Jones AC, Shyamsundar MM, Thomas MW et al. Comprehensive mutation analysis of TSC1 and TSC2 and phenotypic correlation in 150 families with tuberous sclerosis. *Am J Hum Genet.* 1999;64(5):1305–15.
28. Dabora SL, Jozwiak S, Franz DN, Roberts PS, Nieto A, Chung J, et al. Mutational Analysis in a Cohort of 224 Tuberous Sclerosis Patients Indicates Increased Severity of TSC2, Compared with TSC1, Disease in Multiple Organs. *The American Journal of Human Genetics.* 2001 Jan;68(1):64–80.
29. Jones AC, Daniells CE, Snell RG, Tachataki M, Idziaszczyk SA, Krawczak M, Sampson JR, Cheadle JP. Molecular Genetic and Phenotypic Analysis Reveals Differences between TSC1 and TSC2 Associated Familial and Sporadic Tuberous Sclerosis. *Hum Mol Genet.* 1997;6(12):2155–61.
30. Association nationale des praticiens de génétique moléculaire (France). génétique moléculaire médicale en France : réflexion critique et prospective : livre blanc / de l'association nationale des praticiens de génétique moléculaire [Internet]. ANPGM; 1998. Available from: http://www.stbsuisse.ch/files/ANPGM_018.pdf
31. Qin W, Kozlowski P, Taillon BE, Bouffard P, Holmes AJ, Janne P, et al. Ultra deep

- sequencing detects a low rate of mosaic mutations in Tuberous Sclerosis Complex. *Hum Genet.* 2010 Mar;127(5):573–82.
32. Sampson JR, Maheshwar MM, Aspinwall R, Thompson P, Cheadle JP, Ravine D, et al. Renal cystic disease in tuberous sclerosis: role of the polycystic kidney disease 1 gene. *Am J Hum Genet.* 1997 Oct;61(4):843–51.
 33. Lewis JC, Thomas HV, Murphy KC, Sampson JR. Genotype and psychological phenotype in tuberous sclerosis. *J Med Genet.* 2004 Mar;41(3):203–7.
 34. Au KS, Williams AT, Roach ES, Batchelor L, Sparagana SP, Delgado MR, et al. Genotype/phenotype correlation in 325 individuals referred for a diagnosis of tuberous sclerosis complex in the United States. *Genet Med.* 2007 Feb;9(2):88–100.
 35. Józwiak S, Kotulska K, Kasprzyk-Obara J, Domańska-Pakieła D, Tomyn-Drabik M, Roberts P, et al. Clinical and genotype studies of cardiac tumors in 154 patients with tuberous sclerosis complex. *Pediatrics.* 2006 Oct;118(4):1146–51.
 36. Chu-Shore CJ, Major P, Montenegro M, Thiele E. Cyst-like tubers are associated with TSC2 and epilepsy in tuberous sclerosis complex. *Neurology.* 2009 Mar 31;72(13):1165–9.
 37. De Vries PJ, Bolton P. Genotype-phenotype correlations in tuberous sclerosis. *J Med Genet.* 2000 May; 37(5):E3.
 38. Jansen FE, Braams O, Vincken KL, Algra A, Anbeek P, Jennekens-Schinkel A, et al. Overlapping neurologic and cognitive phenotypes in patients with TSC1 or TSC2 mutations. *Neurology.* 2008 Mar 18;70(12):908–15.
 39. Webb DW, Clarke A, Fryer A, Osborne JP. The cutaneous features of tuberous sclerosis: a population study. *Br J Dermatol.* 1996 Jul;135(1):1–5.
 40. Lee A, Maldonado M, Baybis M, Walsh CA, Scheithauer B, Yeung R, et al. Markers of cellular proliferation are expressed in cortical tubers. *Ann Neurol.* 2003 May;53(5):668–73.
 41. Ewalt DH, Sheffield E, Sparagana SP, Delgado MR, Roach ES. Renal lesion growth in children with tuberous sclerosis complex. *J Urol.* 1998 Jul;160(1) :141–5.
 42. Ben Hamida F, Gorsane I, Gharbi C, Kaaroud H, Barbouch S, Smaoui W, et al. [Renal manifestations in tuberous sclerosis]. *Rev Med Interne.* 2006 Nov;27(11):836–42.
 43. Rakowski SK, Winterkorn EB, Paul E, Steele DJR, Halpern EF, Thiele EA. Renal manifestations of tuberous sclerosis complex: Incidence, prognosis, and predictive factors. *Kidney Int.* 2006 Nov;70(10):1777–82.
 44. Lemaitre L, Robert Y, Dubrulle F, Claudon M, Duhamel A, Danjou P, et al. Renal angiomyolipoma: growth followed up with CT and/or US. *Radiology.* 1995 Dec;197(3):598–602.
 45. Chen SS, Lin AT, Chen KK, Chang LS. Renal angiomyolipoma--experience of 20 years in Taiwan. *Eur Urol.* 1997;32(2):175–8.

46. De Luca S, Terrone C, Rossetti SR. Management of renal angiomyolipoma: a report of 53 cases. *BJU Int.* 1999 Feb;83(3):215–8.
47. Nelson CP, Sanda MG. Contemporary diagnosis and management of renal angiomyolipoma. *J Urol.* 2002 Oct;168(4 Pt 1):1315–25.
48. Patel U, Simpson E, Kingswood JC, Saggarr-Malik AK. Tuberosc sclerosis complex: analysis of growth rates aids differentiation of renal cell carcinoma from atypical or minimal-fat-containing angiomyolipoma. *Clin Radiol.* 2005 Jun;60(6):665–73.
49. Franz DN. Non-neurologic manifestations of tuberous sclerosis complex. *J Child Neurol.* 2004 Sep;19(9):690–8.
50. Avila NA, Dwyer AJ, Rabel A, Moss J. Sporadic lymphangioliomyomatosis and tuberous sclerosis complex with lymphangioliomyomatosis: comparison of CT features. *Radiology.* 2007 Jan;242(1):277–85.
51. Jóźwiak S, Pedich M, Rajszyś P, Michalowicz R. Incidence of hepatic hamartomas in tuberous sclerosis. *Arch Dis Child.* 1992 Nov;67(11):1363–5.
52. De Cornulier M, David A, Cohen JY. Precocious puberty revealing Bourneville tuberous sclerosis. *Arch Fr Pediatr.* 1993 May;50(5):421–3.
53. Bolton PF. Neuroepileptic correlates of autistic symptomatology in tuberous sclerosis. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev.* 2004;10(2):126–31.
54. Holmes GL, Stafstrom CE, Tuberous Sclerosis Study Group. Tuberous sclerosis complex and epilepsy: recent developments and future challenges. *Epilepsia.* 2007 Apr;48(4):617–30.
55. Thiele EA. Managing epilepsy in tuberous sclerosis complex. *J Child Neurol.* 2004 Sep;19(9):680–6.
56. Zupanc ML. Infantile spasms. *Expert Opin Pharmacother.* 2003 Nov;4(11):2039–48.
57. Joinson C, O’Callaghan FJ, Osborne JP, Martyn C, Harris T, Bolton PF. Learning disability and epilepsy in an epidemiological sample of individuals with tuberous sclerosis complex. *Psychol Med.* 2003 Feb;33(2):335–44.
58. Kelleher RJ 3rd, Govindarajan A, Tonegawa S. Translational regulatory mechanisms in persistent forms of synaptic plasticity. *Neuron.* 2004 Sep 30;44(1):59–73.
59. Curatolo P, Porfirio MC, Manzi B, Seri S. Autism in tuberous sclerosis. *Eur J Paediatr Neurol.* 2004;8(6):327–32.
60. Smalley SL. Autism and tuberous sclerosis. *J Autism Dev Disord.* 1998 Oct;28(5):407–14.
61. Curatolo P, Verdecchia M, Bombardieri R. Tuberous sclerosis complex: a review of neurological aspects. *Eur J Paediatr Neurol.* 2002;6(1):15–23.
62. De Vries PJ, Hunt A, Bolton PF. The psychopathologies of children and adolescents

- with tuberous sclerosis complex (TSC): a postal survey of UK families. *Eur Child Adolesc Psychiatry*. 2007 Feb;16(1):16–24.
63. Eluvathingal TJ, Behen ME, Chugani HT, Janisse J, Bernardi B, Chakraborty P, et al. Cerebellar lesions in tuberous sclerosis complex: neurobehavioral and neuroimaging correlates. *J Child Neurol*. 2006 Oct;21(10):846–51.
 64. Bolton PF, Griffiths PD. Association of tuberous sclerosis of temporal lobes with autism and atypical autism. *Lancet*. 1997 Feb 8;349(9049):392–5.
 65. Knudson AG. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1971 Apr;68(4):820–3.
 66. Henske EP, Scheithauer BW, Short MP, Wollmann R, Nahmias J, Hornigold N, et al. Allelic loss is frequent in tuberous sclerosis kidney lesions but rare in brain lesions. *Am J Hum Genet*. 1996 Aug;59(2):400–6.
 67. O'Callaghan F, Harris T, Joinson C, Bolton P, Noakes M, Presdee D, et al. The relation of infantile spasms, tubers, and intelligence in tuberous sclerosis complex. *Arch Dis Child*. 2004 Jun;89(6):530–3.
 68. Zaroff CM, Barr WB, Carlson C, LaJoie J, Madhavan D, Miles DK, et al. Mental retardation and relation to seizure and tuber burden in tuberous sclerosis complex. *Seizure*. 2006 Oct;15(7):558–62.
 69. Talos DM, Sun H, Zhou X, Fitzgerald EC, Jackson MC, Klein PM, et al. The interaction between early life epilepsy and autistic-like behavioral consequences: a role for the mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway. *PLoS ONE*. 2012;7(5):e35885.
 70. Canitano R. Epilepsy in autism spectrum disorders. *Eur Child Adolesc Psychiatry*. 2007 Feb;16(1):61–6.
 71. Tavazoie SF, Alvarez VA, Ridenour DA, Kwiatkowski DJ, Sabatini BL. Regulation of neuronal morphology and function by the tumor suppressors Tsc1 and Tsc2. *Nat Neurosci*. 2005 Dec;8(12):1727–34.
 72. Asano E, Chugani DC, Muzik O, Behen M, Janisse J, Rothermel R, et al. Autism in tuberous sclerosis complex is related to both cortical and subcortical dysfunction. *Neurology*. 2001 Oct 9;57(7):1269–77.
 73. Makki MI, Chugani DC, Janisse J, Chugani HT. Characteristics of abnormal diffusivity in normal-appearing white matter investigated with diffusion tensor MR imaging in tuberous sclerosis complex. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2007 Oct;28(9):1662–7.
 74. Drobyshevsky A, Song S-K, Gamkrelidze G, Wyrwicz AM, Derrick M, Meng F, et al. Developmental changes in diffusion anisotropy coincide with immature oligodendrocyte progression and maturation of compound action potential. *J Neurosci*. 2005 Jun 22;25(25):5988–97.
 75. Beaulieu C, Allen PS. Determinants of anisotropic water diffusion in nerves. *Magn Reson Med*. 1994 Apr;31(4):394–400.

76. Arulrajah S, Ertan G, Jordan L, Tekes A, Khaykin E, Izbudak I, et al. Magnetic resonance imaging and diffusion-weighted imaging of normal-appearing white matter in children and young adults with tuberous sclerosis complex. *Neuroradiology*. 2009 Nov;51(11):781–6.
77. Simao G, Raybaud C, Chuang S, Go C, Snead OC, Widjaja E. Diffusion tensor imaging of commissural and projection white matter in tuberous sclerosis complex and correlation with tuber load. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2010 Aug;31(7):1273–7.
78. Krishnan ML, Commowick O, Jeste SS, Weisenfeld N, Hans A, Gregas MC, et al. Diffusion features of white matter in tuberous sclerosis with tractography. *Pediatr Neurol*. 2010 Feb;42(2):101–6.
79. Peters JM, Sahin M, Vogel-Farley VK, Jeste SS, Nelson CA, Gregas MC, et al. Loss of white matter microstructural integrity is associated with adverse neurological outcome in tuberous sclerosis complex. *Acad Radiol*. 2012 Jan;19(1):17–25.
80. Alexander AL, Lee JE, Lazar M, Boudos R, DuBray MB, Oakes TR, et al. Diffusion tensor imaging of the corpus callosum in Autism. *Neuroimage*. 2007 Jan 1;34(1):61–73.
81. Keller TA, Kana RK, Just MA. A developmental study of the structural integrity of white matter in autism. *Neuroreport*. 2007 Jan 8;18(1):23–7.
82. Lewis WW, Sahin M, Scherrer B, Peters JM, Suarez RO, Vogel-Farley VK, et al. Impaired language pathways in tuberous sclerosis complex patients with autism spectrum disorders. *Cereb Cortex*. 2013 Jul;23(7):1526–32.
83. Fletcher PT, Whitaker RT, Tao R, DuBray MB, Froehlich A, Ravichandran C, et al. Microstructural connectivity of the arcuate fasciculus in adolescents with high-functioning autism. *Neuroimage*. 2010 Jul 1;51(3):1117–25.
84. Knaus TA, Silver AM, Kennedy M, Lindgren KA, Dominick KC, Siegel J, et al. Language laterality in autism spectrum disorder and typical controls: a functional, volumetric, and diffusion tensor MRI study. *Brain Lang*. 2010 Feb;112(2):113–20.
85. Gomez MR. *Tuberous Sclerosis*. Second edition. Raven Press. New York; 1988 :p9-19 .
86. Werner HJ, Mirlesse V, Jacquemard F, Sonigo P, Delezoide AL, Gonzales M, et al. Prenatal diagnosis of tuberous sclerosis. Use of magnetic resonance imaging and its implications for prognosis. *Prenat Diagn*. 1994 Dec;14(12):1151–4.
87. Brackley KJ, Farndon PA, Weaver JB, Dow DJ, Chapman S, Kilby MD. Prenatal diagnosis of tuberous sclerosis with intracerebral signs at 14 weeks' gestation. *Prenat Diagn*. 1999 Jun;19(6):575–9.
88. Becker JA, Schneider M. Simple cyst of the kidney. *Semin Roentgenol*. 1975 Apr;10(2):103–11.
89. Curatolo P, Verdecchia M, Bombardieri R. Vigabatrin for tuberous sclerosis complex. *Brain Dev*. 2001 Nov;23(7):649–53.
90. Willmore LJ, Abelson MB, Ben-Menachem E, Pellock JM, Shields WD. Vigabatrin:

- 2008 update. *Epilepsia*. 2009 Feb;50(2):163–73.
91. Nuwer MR, Browne TR, Dodson WE, Dreifuss FE, Engel J, Leppik IE, et al. Generic substitutions for antiepileptic drugs. *Neurology*. 1990 Nov;40(11):1647–51.
 92. Berg MJ, Gross RA, Tomaszewski KJ, Zingaro WM, Haskins LS. Generic substitution in the treatment of epilepsy: case evidence of breakthrough seizures. *Neurology*. 2008 Aug 12;71(7):525–30.
 93. Académie nationale de médecine. Rapport sur la place des génériques dans la prescription. [Internet]. 2012 fev. Available from: <http://www.academie-medecine.fr/>
 94. Gillberg C. The treatment of epilepsy in autism. *J Autism Dev Disord*. 1991 Mar;21(1):61–77.
 95. Uvebrant P, Bauzienne R. Intractable epilepsy in children. The efficacy of lamotrigine treatment, including non-seizure-related benefits. *Neuropediatrics*. 1994 Dec;25(6):284–9.
 96. Rugino TA, Samscock TC. Levetiracetam in autistic children: an open-label study. *J Dev Behav Pediatr*. 2002 Aug;23(4):225–30.
 97. Anagnostou E, Esposito K, Soorya L, Chaplin W, Wasserman S, Hollander E. Divalproex versus placebo for the prevention of irritability associated with fluoxetine treatment in autism spectrum disorder. *J Clin Psychopharmacol*. 2006 Aug;26(4):444–6.
 98. Hollander E, Chaplin W, Soorya L, Wasserman S, Novotny S, Rusoff J, et al. Divalproex sodium vs placebo for the treatment of irritability in children and adolescents with autism spectrum disorders. *Neuropsychopharmacology*. 2010 Mar;35(4):990–8.
 99. Hollander E, Soorya L, Wasserman S, Esposito K, Chaplin W, Anagnostou E. Divalproex sodium vs. placebo in the treatment of repetitive behaviours in autism spectrum disorder. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2006 Apr;9(2):209–13.
 100. Jarrar RG, Buchhalter JR, Raffel C. Long-term outcome of epilepsy surgery in patients with tuberous sclerosis. *Neurology*. 2004 Feb 10;62(3):479–81.
 101. Affaton K, Roy S, Sazy-Hercent C. *Petits plaisirs céto-gènes*. Jonh Libbey Eurotext. 2011.
 102. Józwiak S, Kotulska K, Domańska-Pakiela D, Lojszczyk B, Syczewska M, Chmielewski D, et al. Antiepileptic treatment before the onset of seizures reduces epilepsy severity and risk of mental retardation in infants with tuberous sclerosis complex. *Eur J Paediatr Neurol*. 2011 Sep;15(5):424–31.
 103. Kumar B, Prakash A, Sewal RK, Medhi B, Modi M. Drug therapy in autism: a present and future perspective. *Pharmacol Rep*. 2012;64(6):1291–304.
 104. has. *Autisme et autres troubles envahissants du développement : interventions éducatives et thérapeutiques coordonnées chez l'enfant et l'adolescent*. [Internet]. 2012 Mar. Available from: <http://www.has-sante.fr>

105. Dabbeche C, Chaker M, Chemali R, Perot V et al. Role of embolization in renal angiomyolipomas. *Journal de radiologie*. 2006 déc;87(12):1859–67.
106. Nir A, Tajik AJ, Freeman WK, Seward JB, Offord KP, Edwards WD, et al. Tuberos sclerotic and cardiac rhabdomyoma. *Am J Cardiol*. 1995 Aug 15;76(5):419–21.
107. Csiszkó A, Herr G, Sz Kiss S, Hallay J, Gyöngyösi Z, Szentkereszty Z. VATS therapy of chylothorax caused by leiomyomatosis complicated with tuberous sclerosis complex. *J Minim Access Surg*. 2013 Apr;9(2):84–6.
108. Mavroudi M, Zarogoulidis P, Katsikogiannis N, Tsakiridis K, Huang H, Sakkas A, et al. Lymphangioliomyomatosis: current and future. *J Thorac Dis*. 2013 Feb;5(1):74–9.
109. Vignot S, Faivre S, Aguirre D, Raymond E. mTOR-targeted therapy of cancer with rapamycin derivatives. *Ann Oncol*. 2005 Apr;16(4):525–37.
110. Franz DN, Belousova E, Sparagana S, Bebin EM, Frost M, Kuperman R, et al. Efficacy and safety of everolimus for subependymal giant cell astrocytomas associated with tuberous sclerosis complex (EXIST-1): a multicentre, randomised, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet*. 2013 Jan 12;381(9861):125–32.
111. Bissler JJ, Kingswood JC, Radzikowska E, Zonnenberg BA, Frost M, Belousova E, et al. Everolimus for angiomyolipoma associated with tuberous sclerosis complex or sporadic lymphangioliomyomatosis (EXIST-2): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2013 Mar 9;381(9869):817–24.
112. Krueger DA, Care MM, Holland K, Agricola K, Tudor C, Mangeshkar P, et al. Everolimus for subependymal giant-cell astrocytomas in tuberous sclerosis. *N Engl J Med*. 2010 Nov 4;363(19):1801–11.
113. Jacobsen W, Serkova N, Hausen B, Morris RE, Benet LZ, Christians U. Comparison of the in vitro metabolism of the macrolide immunosuppressants sirolimus and RAD. *Transplant Proc*. 2001 Mar;33(1-2):514–5.
114. Edinger AL, Linardic CM, Chiang GG, Thompson CB, Abraham RT. Differential effects of rapamycin on mammalian target of rapamycin signaling functions in mammalian cells. *Cancer Res*. 2003 Dec 1;63(23):8451–60.
115. Agani F, Jiang B-H. Oxygen-independent regulation of HIF-1: novel involvement of PI3K/AKT/mTOR pathway in cancer. *Curr Cancer Drug Targets*. 2013 Mar;13(3):245–51.
116. Hudson CC, Liu M, Chiang GG, Otterness DM, Loomis DC, Kaper F, et al. Regulation of hypoxia-inducible factor 1alpha expression and function by the mammalian target of rapamycin. *Mol Cell Biol*. 2002 Oct;22(20):7004–14.
117. Arora S, Gude E, Sigurdardottir V, Mortensen SA, Eiskjær H, Riise G, et al. Improvement in renal function after everolimus introduction and calcineurin inhibitor reduction in maintenance thoracic transplant recipients: the significance of baseline glomerular filtration rate. *J Heart Lung Transplant*. 2012 Mar;31(3):259–65.
118. Ghobrial IM, Gertz M, Laplant B, Camoriano J, Hayman S, Lacy M, et al. Phase II trial

- of the oral mammalian target of rapamycin inhibitor everolimus in relapsed or refractory Waldenstrom macroglobulinemia. *J Clin Oncol*. 2010 Mar 10;28(8):1408–14.
119. Johnston PB, Inwards DJ, Colgan JP, Laplant BR, Kabat BF, Habermann TM, et al. A Phase II trial of the oral mTOR inhibitor everolimus in relapsed Hodgkin lymphoma. *Am J Hematol*. 2010 May;85(5):320–4.
 120. Witzig TE, Reeder CB, LaPlant BR, Gupta M, Johnston PB, Micallef IN, et al. A phase II trial of the oral mTOR inhibitor everolimus in relapsed aggressive lymphoma. *Leukemia*. 2011 Feb;25(2):341–7.
 121. Hainsworth JD, Spigel DR, Burris HA 3rd, Waterhouse D, Clark BL, Whorf R. Phase II trial of bevacizumab and everolimus in patients with advanced renal cell carcinoma. *J Clin Oncol*. 2010 May 1;28(13):2131–6.
 122. Zent CS, LaPlant BR, Johnston PB, Call TG, Habermann TM, Micallef IN, et al. The treatment of recurrent/refractory chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma (CLL) with everolimus results in clinical responses and mobilization of CLL cells into the circulation. *Cancer*. 2010 May 1;116(9):2201–7.
 123. Hainsworth JD, Infante JR, Spigel DR, Peyton JD, Thompson DS, Lane CM, et al. Bevacizumab and everolimus in the treatment of patients with metastatic melanoma: a phase 2 trial of the Sarah Cannon Oncology Research Consortium. *Cancer*. 2010 Sep 1;116(17):4122–9.
 124. Hauke RJ, Infante JR, Rubin MS, Shih KC, Arrowsmith ER, Hainsworth JD. Everolimus in combination with paclitaxel and carboplatin in patients with metastatic melanoma: a phase II trial of the Sarah Cannon Research Institute Oncology Research Consortium. *Melanoma Res*. 2013 Dec;23(6):468–73.
 125. Brown EJ, Albers MW, Shin TB, Ichikawa K, Keith CT, Lane WS, et al. A mammalian protein targeted by G1-arresting rapamycin-receptor complex. *Nature*. 1994 Jun 30;369(6483):756–8.
 126. Heitman J, Movva NR, Hall MN. Targets for cell cycle arrest by the immunosuppressant rapamycin in yeast. *Science*. 1991 Aug 23;253(5022):905–9.
 127. Chiu MI, Katz H, Berlin V. RAPT1, a mammalian homolog of yeast Tor, interacts with the FKBP12/rapamycin complex. *PNAS*. 1994 Dec 20;91(26):12574–8.
 128. Sabatini DM, Erdjument-Bromage H, Lui M, Tempst P, Snyder SH. RAFT1: a mammalian protein that binds to FKBP12 in a rapamycin-dependent fashion and is homologous to yeast TORs. *Cell*. 1994 Jul 15;78(1):35–43.
 129. Hay N, Sonenberg N. Upstream and downstream of mTOR. *Genes Dev*. 2004 Aug 15;18(16):1926–45.
 130. Yang Q, Guan K-L. Expanding mTOR signaling. *Cell Res*. 2007 Aug;17(8):666–81.
 131. Kim D-H, Sarbassov DD, Ali SM, King JE, Latek RR, Erdjument-Bromage H, et al. mTOR interacts with raptor to form a nutrient-sensitive complex that signals to the cell growth machinery. *Cell*. 2002 Jul 26;110(2):163–75.

132. Sarbassov DD, Ali SM, Kim D-H, Guertin DA, Latek RR, Erdjument-Bromage H, et al. Rictor, a novel binding partner of mTOR, defines a rapamycin-insensitive and raptor-independent pathway that regulates the cytoskeleton. *Curr Biol*. 2004 Jul 27;14(14):1296–302.
133. Sabatini DM. mTOR and cancer: insights into a complex relationship. *Nat Rev Cancer*. 2006 Sep;6(9):729–34.
134. Sarbassov DD, Ali SM, Sengupta S, Sheen J-H, Hsu PP, Bagley AF, et al. Prolonged rapamycin treatment inhibits mTORC2 assembly and Akt/PKB. *Mol Cell*. 2006 Apr 21;22(2):159–68.
135. Chen Y, Zheng Y, Foster DA. Phospholipase D confers rapamycin resistance in human breast cancer cells. *Oncogene*. 2003 Jun 19;22(25):3937–42.
136. Kim D-H, Sarbassov DD, Ali SM, Latek RR, Guntur KVP, Erdjument-Bromage H, et al. GbetaL, a positive regulator of the rapamycin-sensitive pathway required for the nutrient-sensitive interaction between raptor and mTOR. *Mol Cell*. 2003 Apr;11(4):895–904.
137. Schalm SS, Blenis J. Identification of a conserved motif required for mTOR signaling. *Curr Biol*. 2002 Apr 16;12(8):632–9.
138. Sancak Y, Thoreen CC, Peterson TR, Lindquist RA, Kang SA, Spooner E, et al. PRAS40 is an insulin-regulated inhibitor of the mTORC1 protein kinase. *Mol Cell*. 2007 Mar 23;25(6):903–15.
139. Kovacina KS, Park GY, Bae SS, Guzzetta AW, Schaefer E, Birnbaum MJ, et al. Identification of a proline-rich Akt substrate as a 14-3-3 binding partner. *J Biol Chem*. 2003 Mar 21;278(12):10189–94.
140. Wang L, Harris TE, Lawrence JC Jr. Regulation of proline-rich Akt substrate of 40 kDa (PRAS40) function by mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1)-mediated phosphorylation. *J Biol Chem*. 2008 Jun 6;283(23):15619–27.
141. Dunlop EA, Tee AR. Mammalian target of rapamycin complex 1: signalling inputs, substrates and feedback mechanisms. *Cell Signal*. 2009 Jun;21(6):827–35.
142. Hubert P. Les facteurs de croissance de la famille de l'EGF et leurs récepteurs. *Bull Cancer*. 2006;(Hors série):17–24.
143. Magri L, Galli R. mTOR signaling in neural stem cells: from basic biology to disease. *Cell Mol Life Sci*. 2013 Aug;70(16):2887–98
144. Bai X, Ma D, Liu A, Shen X, Wang QJ, Liu Y, et al. Rheb activates mTOR by antagonizing its endogenous inhibitor, FKBP38. *Science*. 2007 Nov 9;318(5852):977–80.
145. Gao X, Zhang Y, Arrazola P, Hino O, Kobayashi T, Yeung RS, et al. Tsc tumour suppressor proteins antagonize amino-acid-TOR signalling. *Nat Cell Biol*. 2002 Sep;4(9):699–704.

146. Smith EM, Finn SG, Tee AR, Browne GJ, Proud CG. The tuberous sclerosis protein TSC2 is not required for the regulation of the mammalian target of rapamycin by amino acids and certain cellular stresses. *J Biol Chem*. 2005 May 13;280(19):18717–27.
147. Kim S, Kim SF, Maag D, Maxwell MJ, Resnick AC, Juluri KR, et al. Amino acid signaling to mTOR mediated by inositol polyphosphate multikinase. *Cell Metab*. 2011 Feb 2;13(2):215–21.
148. Yan L, Mieulet V, Burgess D, Findlay GM, Sully K, Procter J, et al. PP2A T61 epsilon is an inhibitor of MAP4K3 in nutrient signaling to mTOR. *Mol Cell*. 2010 Mar 12;37(5):633–42.
149. Nobukuni T, Joaquin M, Roccio M, Dann SG, Kim SY, Gulati P, et al. Amino acids mediate mTOR/raptor signaling through activation of class 3 phosphatidylinositol 3OH-kinase. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005 Oct 4;102(40):14238–43.
150. Fang Y, Vilella-Bach M, Bachmann R, Flanigan A, Chen J. Phosphatidic acid-mediated mitogenic activation of mTOR signaling. *Science*. 2001 Nov 30;294(5548):1942–5.
151. Sun Y, Fang Y, Yoon M-S, Zhang C, Roccio M, Zwartkruis FJ, et al. Phospholipase D1 is an effector of Rheb in the mTOR pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Jun 17;105(24):8286–91.
152. Lièvre A, Laurent-Puig P. La voie de signalisation RAS/MAPK. *Cancero Dig*. 2010;2(1):38–42.
153. Kimura N., Tokunaga, C., Dalal, S., Richardson, C., Yoshino, K., Hara, K., Kemp, B.E., Witters, L.A., Mimura, O., and Yonezawa. A possible linkage between AMP-activated protein kinase (AMPK) and mammalian target of rapamycin (mTOR) signalling pathway. *genes cells*. 2003;8(1):65–79.
154. Gwinn DM, Shackelford DB, Egan DF, Mihaylova MM, Mery A, Vasquez DS, et al. AMPK phosphorylation of raptor mediates a metabolic checkpoint. *Mol Cell*. 2008 Apr 25;30(2):214–26.
155. Brugarolas J, Lei K, et al. Regulation of mTOR function in response to hypoxia by REDD1 and the TSC1/TSC2 tumor suppressor complex. *Genes and Dev*. 2004;18(23):2894–904.
156. DeYoung MP, Horak P, Sofer A, Sgroi D, Ellisen LW. Hypoxia regulates TSC1/2-mTOR signaling and tumor suppression through REDD1-mediated 14-3-3 shuttling. *Genes Dev*. 2008 Jan 15;22(2):239–51.
157. Horak P, Crawford AR, Vadysirisack DD, Nash ZM, DeYoung MP, Sgroi D, et al. Negative feedback control of HIF-1 through REDD1-regulated ROS suppresses tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010 Mar 9;107(10):4675–80.
158. Feng Z, Zhang H, Levine AJ, Jin S. The coordinate regulation of the p53 and mTOR pathways in cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005 Jun 7;102(23):8204–9.
159. Lee D-F, Kuo H-P, Chen C-T, Hsu J-M, Chou C-K, Wei Y, et al. IKK beta suppression of TSC1 links inflammation and tumor angiogenesis via the mTOR pathway. *Cell*. 2007

Aug 10;130(3):440–55.

160. Polak P, Hall MN. mTOR and the control of whole body metabolism. *Curr Opin Cell Biol.* 2009 Apr;21(2):209–18.
161. Lee S, Comer FI, Sasaki A, McLeod IX, Duong Y, Okumura K, et al. TOR complex 2 integrates cell movement during chemotaxis and signal relay in *Dictyostelium*. *Mol Biol Cell.* 2005 Oct;16(10):4572–83.
162. Dalle Pezze P, Sonntag AG, Thien A, Prentzell MT, Gödel M, Fischer S, et al. A dynamic network model of mTOR signaling reveals TSC-independent mTORC2 regulation. *Sci Signal.* 2012 Mar 27;5(217):ra25.
163. Marcotrigiano J, Gingras AC, Sonenberg N, Burley SK. Cap-dependent translation initiation in eukaryotes is regulated by a molecular mimic of eIF4G. *Mol Cell.* 1999 Jun;3(6):707–16.
164. Gingras AC, Raught B, Gygi SP, Niedzwiecka A, Miron M, Burley SK, et al. Hierarchical phosphorylation of the translation inhibitor 4E-BP1. *Genes Dev.* 2001 Nov 1;15(21):2852–64.
165. Shima H, Pende M, Chen Y, Fumagalli S, Thomas G, Kozma SC. Disruption of the p70(s6k)/p85(s6k) gene reveals a small mouse phenotype and a new functional S6 kinase. *EMBO J.* 1998 Nov 16;17(22):6649–59.
166. Rogers GW Jr, Komar AA, Merrick WC. eIF4A: the godfather of the DEAD box helicases. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol.* 2002;72:307–31.
167. Le Bacqueur O, Martineau Y, Mamane Y. Quand la traduction sort de sa TORpeur. *M/S.* 2006;22(5):514–8.
168. Chan EYW, Longatti A, McKnight NC, Tooze SA. Kinase-inactivated ULK proteins inhibit autophagy via their conserved C-terminal domains using an Atg13-independent mechanism. *Mol Cell Biol.* 2009 Jan;29(1):157–71.
169. Mercer CA, Kaliappan A, Dennis PB. A novel, human Atg13 binding protein, Atg101, interacts with ULK1 and is essential for macroautophagy. *Autophagy.* 2009 Jul;5(5):649–62.
170. Jung CH, Jun CB, Ro S-H, Kim Y-M, Otto NM, Cao J, et al. ULK-Atg13-FIP200 complexes mediate mTOR signaling to the autophagy machinery. *Mol Biol Cell.* 2009 Apr;20(7):1992–2003.
171. Hosokawa N, Hara T, Kaizuka T, Kishi C, Takamura A, Miura Y, et al. Nutrient-dependent mTORC1 association with the ULK1-Atg13-FIP200 complex required for autophagy. *Mol Biol Cell.* 2009 Apr;20(7):1981–91.
172. Mack HID, Zheng B, Asara JM, Thomas SM. AMPK-dependent phosphorylation of ULK1 regulates ATG9 localization. *Autophagy.* 2012 Aug;8(8):1197–214.
173. Kim J, Kundu M, Viollet B, Guan K-L. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1. *Nat Cell Biol.* 2011 Feb;13(2):132–41.

174. Shang L, Chen S, Du F, Li S, Zhao L, Wang X. Nutrient starvation elicits an acute autophagic response mediated by Ulk1 dephosphorylation and its subsequent dissociation from AMPK. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011 Mar 22;108(12):4788–93.
175. Datta SR, Dudek H, Tao X, Masters S, Fu H, Gotoh Y, et al. Akt phosphorylation of BAD couples survival signals to the cell-intrinsic death machinery. *Cell*. 1997 Oct 17;91(2):231–41.
176. Cardone MH, Roy N, Stennicke HR, Salvesen GS, Franke TF, Stanbridge E, et al. Regulation of cell death protease caspase-9 by phosphorylation. *Science*. 1998 Nov 13;282(5392):1318–21.
177. Brunet A, Bonni A, Zigmond MJ, Lin MZ, Juo P, Hu LS, et al. Akt promotes cell survival by phosphorylating and inhibiting a Forkhead transcription factor. *Cell*. 1999 Mar 19;96(6):857–68.
178. Romashkova JA, Makarov SS. NF-kappaB is a target of AKT in anti-apoptotic PDGF signalling. *Nature*. 1999 Sep 2;401(6748):86–90.
179. Mayo LD, Donner DB. A phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway promotes translocation of Mdm2 from the cytoplasm to the nucleus. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001 Sep 25;98(20):11598–603.
180. Linda S. Steelman,^{1,2} William H. Chappell,¹ Stephen L. Abrams,¹ C. Ruth Kempf,² Jacquelyn Long,² Piotr Laidler,³ Sanja Mijatovic,⁴ Danijela Maksimovic-Ivanic,⁴ Franca Stivala,⁵ Maria C. Mazzarino,⁵ Marco Donia,⁵ Paolo Fagone,⁵ Graziella Malaponte,⁵ Ferdinando Nicoletti,⁵ Massimo Libra,⁵ Michele Milella,⁶ Agostino Tafuri,⁷ Antonio Bonati,⁸ Jörg Bäsecke,⁹ Lucio Cocco,¹⁰ Camilla Evangelisti,¹⁰ Alberto M. Martelli,^{10,11} Giuseppe Montalto,¹² Melchiorre Cervello,¹³ and James A. McCubrey¹. Roles of the Raf/MEK/ERK and PI3K/PTEN/Akt/mTOR pathways in controlling growth and sensitivity to therapy-implications for cancer and aging. *aging*. 2011;3(3):192–222.
181. Vivanco I, Sawyers CL. The phosphatidylinositol 3-Kinase AKT pathway in human cancer. *Nat Rev Cancer*. 2002 Jul;2(7):489–501.
182. Diehl JA, Cheng M, Roussel MF, Sherr CJ. Glycogen synthase kinase-3beta regulates cyclin D1 proteolysis and subcellular localization. *Genes Dev*. 1998 Nov 15;12(22):3499–511.
183. Graff JR, Konicek BW, McNulty AM, Wang Z, Houck K, Allen S, et al. Increased AKT activity contributes to prostate cancer progression by dramatically accelerating prostate tumor growth and diminishing p27Kip1 expression. *J Biol Chem*. 2000 Aug 11;275(32):24500–5.
184. Ziche M, Morbidelli L. Nitric oxide and angiogenesis. *J Neurooncol*. 2000 Nov;50(1-2):139–48.
185. Sarbassov DD, Guertin DA, Ali SM, Sabatini DM. Phosphorylation and regulation of Akt/PKB by the rictor-mTOR complex. *Science*. 2005 Feb 18;307(5712):1098–101.
186. Etienne-Manneville S, Hall A. Rho GTPases in cell biology. *Nature*. 2002 Dec

- 12;420(6916):629–35.
187. Jacinto E, Loewith R, Schmidt A, Lin S, Rüegg MA, Hall A, et al. Mammalian TOR complex 2 controls the actin cytoskeleton and is rapamycin insensitive. *Nat Cell Biol.* 2004 Nov;6(11):1122–8.
 188. Mammucari C, Milan G, Romanello V, Masiero E, Rudolf R, Del Piccolo P, et al. FoxO3 controls autophagy in skeletal muscle in vivo. *Cell Metab.* 2007 Dec;6(6):458–71.
 189. García-Martínez JM, Alessi DR. mTOR complex 2 (mTORC2) controls hydrophobic motif phosphorylation and activation of serum- and glucocorticoid-induced protein kinase 1 (SGK1). *Biochem J.* 2008 Dec 15;416(3):375–85.
 190. Kang S, Bader AG, Vogt PK. Phosphatidylinositol 3-kinase mutations identified in human cancer are oncogenic. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005 Jan 18;102(3):802–7.
 191. Philp AJ, Campbell IG, Leet C, Vincan E, Rockman SP, Whitehead RH, et al. The Phosphatidylinositol 3'-kinase p85 α Gene Is an Oncogene in Human Ovarian and Colon Tumors. *Cancer Res.* 2001 Oct 15;61(20):7426–9.
 192. Markman B, Dienstmann R, Taberero J. Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway--beyond rapalogs. *Oncotarget.* 2010 Nov;1(7):530–43.
 193. Fergelot P, Rioux-Leclercq N, Pataud JJ. Molecular pathways of tumour angiogenesis and new targeted therapeutic approaches in renal cancer. *Prog Urol.* 2005 Dec;15(6):1021–9.
 194. Wu GJ, Sinclair CS, Paape J, Ingle JN, Roche PC, James CD, et al. 17q23 amplifications in breast cancer involve the PAT1, RAD51C, PS6K, and SIGMA1B genes. *Cancer Res.* 2000 Oct 1;60(19):5371–5.
 195. Tang J, Deng R, Luo R-Z, Shen G-P, Cai M-Y, Du Z-M, et al. Low expression of ULK1 is associated with operable breast cancer progression and is an adverse prognostic marker of survival for patients. *Breast Cancer Res Treat.* 2012 Jul;134(2):549–60.
 196. Jiang S, Li Y, Zhu Y-H, Wu X-Q, Tang J, Li Z, et al. Intensive expression of UNC-51-like kinase 1 is a novel biomarker of poor prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Sci.* 2011 Aug;102(8):1568–75.
 197. Michaud M, Martins I, Sukkurwala AQ, Adjemian S, Ma Y, Pellegatti P, et al. Autophagy-dependent anticancer immune responses induced by chemotherapeutic agents in mice. *Science.* 2011 Dec 16;334(6062):1573–7.
 198. Aggarwal D, Fernandez ML, Soliman GA. Rapamycin, an mTOR inhibitor, disrupts triglyceride metabolism in guinea pigs. *Metab Clin Exp.* 2006 Jun;55(6):794–802.
 199. Cunningham JT, Rodgers JT, Arlow DH, Vazquez F, Mootha VK, Puigserver P. mTOR controls mitochondrial oxidative function through a YY1-PGC-1 α transcriptional complex. *Nature.* 2007 Nov 29;450(7170):736–40.
 200. Fraenkel M, Ketzinel-Gilad M, Ariav Y, Pappo O, Karaca M, Castel J, et al. mTOR

- inhibition by rapamycin prevents beta-cell adaptation to hyperglycemia and exacerbates the metabolic state in type 2 diabetes. *Diabetes*. 2008 Apr;57(4):945–57.
201. Houde VP, Brûlé S, Festuccia WT, Blanchard P-G, Bellmann K, Deshaies Y, et al. Chronic rapamycin treatment causes glucose intolerance and hyperlipidemia by upregulating hepatic gluconeogenesis and impairing lipid deposition in adipose tissue. *Diabetes*. 2010 Jun;59(6):1338–48.
 202. Adibi SA. Influence of dietary deprivations on plasma concentration of free amino acids of man. *J Appl Physiol*. 1968 Jul;25(1):52–7.
 203. Felig P, Marliss E, Cahill GF Jr. Plasma amino acid levels and insulin secretion in obesity. *N Engl J Med*. 1969 Oct 9;281(15):811–6.
 204. Farese RV, Sajan MP, Standaert ML. Insulin-Sensitive Protein Kinases (Atypical Protein Kinase C and Protein Kinase B/Akt): Actions and Defects in Obesity and Type II Diabetes. *Experimental Biology and Medicine*. 2005 Oct 1;230(9):593–605.
 205. Laplante M, Sabatini DM. mTOR signaling in growth control and disease. *Cell*. 2012 Apr 13;149(2):274–93.
 206. Kenerson H, Dundon TA, Yeung RS. Effects of rapamycin in the Eker rat model of tuberous sclerosis complex. *Pediatr Res*. 2005 Jan;57(1):67–75.
 207. Liang S, Salas T, Gencaslan E, Li B, Habib SL. Tuberin-deficiency downregulates N-cadherin and upregulates vimentin in kidney tumor of TSC patients. *Oncotarget*. 2014 Aug 30;5(16):6936–46.
 208. Liang S, Cuevas G, Tizani S, Salas T, Liu H, Li B, et al. Novel mechanism of regulation of fibrosis in kidney tumor with tuberous sclerosis. *Mol Cancer*. 2013;12:49.
 209. Abdalla M, Goc A, Segar L, Somanath PR. Akt1 mediates α -smooth muscle actin expression and myofibroblast differentiation via myocardin and serum response factor. *J Biol Chem*. 2013 Nov 15;288(46):33483–93.
 210. Nguyen-Vu PA, Fackler I, Rust A, DeClue JE, Sander CA, Volkenandt M, et al. Loss of tuberin, the tuberous-sclerosis-complex-2 gene product is associated with angiogenesis. *J Cutan Pathol*. 2001 Oct;28(9):470–5.
 211. Ma L, Teruya-Feldstein J, Bonner P, Bernardi R, Franz DN, Witte D, et al. Identification of S664 TSC2 phosphorylation as a marker for extracellular signal-regulated kinase mediated mTOR activation in tuberous sclerosis and human cancer. *Cancer Res*. 2007 Aug 1;67(15):7106–12.
 212. Han S, Santos TM, Puga A, Roy J, Thiele EA, McCollin M, et al. Phosphorylation of tuberin as a novel mechanism for somatic inactivation of the tuberous sclerosis complex proteins in brain lesions. *Cancer Res*. 2004 Feb 1;64(3):812–6.
 213. Kyin R, Hua Y, Baybis M, Scheithauer B, Kolson D, Uhlmann E, et al. Differential cellular expression of neurotrophins in cortical tubers of the tuberous sclerosis complex. *Am J Pathol*. 2001 Oct;159(4):1541–54.

214. Tyburczy ME, Kotulska K, Pokarowski P, Mieczkowski J, Kucharska J, Grajkowska W, et al. Novel proteins regulated by mTOR in subependymal giant cell astrocytomas of patients with tuberous sclerosis complex and new therapeutic implications. *Am J Pathol.* 2010 Apr;176(4):1878–90.
215. Talos DM, Fishman RE, Park H, Folkerth RD, Follett PL, Volpe JJ, et al. Developmental regulation of alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionic acid receptor subunit expression in forebrain and relationship to regional susceptibility to hypoxic/ischemic injury. *J Comp Neurol.* 2006;497(1):42–60.
216. Calcagnotto ME, Paredes MF, Tihan T, Barbaro NM, Baraban SC. Dysfunction of synaptic inhibition in epilepsy associated with focal cortical dysplasia. *J Neurosci.* 2005 Oct 19;25(42):9649–57.
217. Wang Y, Greenwood JSF, Calcagnotto ME, Kirsch HE, Barbaro NM, Baraban SC. Neocortical hyperexcitability in a human case of tuberous sclerosis complex and mice lacking neuronal expression of TSC1. *Ann Neurol.* 2007 Feb;61(2):139–52.
218. Catania MV, D'Antoni S, Bonaccorso CM, Aronica E, Bear MF, Nicoletti F. Group I metabotropic glutamate receptors: a role in neurodevelopmental disorders? *Mol Neurobiol.* 2007 Jun;35(3):98–307.
219. Ridler K, Suckling J, Higgins NJ, de Vries PJ, Stephenson CME, Bolton PF, et al. Neuroanatomical correlates of memory deficits in tuberous sclerosis complex. *Cereb Cortex.* 2007 Feb;17(2):261–71.
220. Tang G, Gudsnuk K, Kuo SH, Cotrina ML et al. Loss of mTOR-Dependent Macroautophagy Causes Autistic-like Synaptic Pruning Deficits. *Neuron.* 2014 Sept 3;83(5):1131–43.
221. Giorgi FS, Biagioni F, Lenzi P, Frati A, Fornai F. The role of autophagy in epileptogenesis and in epilepsy-induced neuronal alterations. *J Neural Transm.* 2014 Sep 14.
222. Prizant H, Sen A, Light A, Cho S-N, DeMayo FJ, Lydon JP, et al. Uterine-specific loss of Tsc2 leads to myometrial tumors in both the uterus and lungs. *Mol Endocrinol.* 2013 Sep;27(9):1403–14.
223. Raychaudhuri SK, Raychaudhuri SP. mTOR Signaling Cascade in Psoriatic Disease: Double Kinase mTOR Inhibitor a Novel Therapeutic Target. *Indian J Dermatol.* 2014 Jan;59(1):67–70.
224. Bauer A, Brönstrup M. Industrial natural product chemistry for drug discovery and development. 2014 Jan; 31(1) :35–60.
225. Boni JP, Hug B, Leister C, Sonnichsen D. Intravenous temsirolimus in cancer patients: clinical pharmacology and dosing considerations. *Semin Oncol.* 2009 Dec;36 Suppl 3:S18–25.
226. Cortot A, Armand JP, Soria JC. Les inhibiteurs de la voie PI3 kinase-AKT-mTOR. *Bull Cancer.* 2006;93(1):19–26.

227. Mita MM, Poplin E, Britten CD, Tap WD, Rubin EH, Scott BB, et al. Phase I/IIa trial of the mammalian target of rapamycin inhibitor ridaforolimus (AP23573; MK-8669) administered orally in patients with refractory or advanced malignancies and sarcoma. *Ann Oncol.* 2013Apr;24(4):1104-1011.
228. Chawla SP, Staddon AP, Baker LH, Schuetze SM, Tolcher AW, D'Amato GZ, et al. Phase II study of the mammalian target of rapamycin inhibitor ridaforolimus in patients with advanced bone and soft tissue sarcomas. *J Clin Oncol.* 2012 Jan 1;30(1):78–84.
229. Colombo N, McMeekin DS, Schwartz PE, Sessa C, Gehrig PA, Holloway R, et al. Ridaforolimus as a single agent in advanced endometrial cancer: results of a single-arm, phase 2 trial. *Br J Cancer.* 2013 Mar 19;108(5):1021-6.
230. Rizzieri DA, Feldman E, Dipersio JF, Gabrail N, Stock W, Strair R, et al. A phase 2 clinical trial of deforolimus (AP23573, MK-8669), a novel mammalian target of rapamycin inhibitor, in patients with relapsed or refractory hematologic malignancies. *Clin Cancer Res.* 2008 May 1;14(9):2756–62.
231. MERCK AND CO INC : Données positives sur le ridaforolimus lors de l'asco [Internet]. www.tradingsat.com. [cited 2013 Mar 5]. Available from: <http://www.tradingsat.com/merck-and-co-inc-US58933Y1055/actualites/merck-and-co-inc-donnees-positives-sur-le-ridaforolimus-lors-de-l-asco-245617.html>
232. Carew JS, Kelly KR, Nawrocki ST. Mechanisms of mTOR inhibitor resistance in cancer therapy. *Target Oncol.* 2011 Mar;6(1):17–27.
233. Dumont FJ, Staruch MJ, Grammer T, Blenis J, Kastner CA, Rupprecht KM. Dominant mutations confer resistance to the immunosuppressant, rapamycin, in variants of a T cell lymphoma. *Cell Immunol.* 1995 Jun;163(1):70–9.
234. Fruman DA, Wood MA, Gjertson CK, Katz HR, Burakoff SJ, Bierer BE. FK506 binding protein 12 mediates sensitivity to both FK506 and rapamycin in murine mast cells. *Eur J Immunol.* 1995 Feb;25(2):563–71.
235. Lorenz MC, Heitman J. TOR mutations confer rapamycin resistance by preventing interaction with FKBP12-rapamycin. *J Biol Chem.* 1995 Nov 17;270(46):27531–7.
236. Feldman ME, Apsel B, Uotila A, Loewith R, Knight ZA, Ruggero D, et al. Active-site inhibitors of mTOR target rapamycin-resistant outputs of mTORC1 and mTORC2. *PLoS Biol.* 2009 Feb 10;7(2):e38.
237. Thoreen CC, Kang SA, Chang JW, Liu Q, Zhang J, Gao Y, et al. An ATP-competitive mammalian target of rapamycin inhibitor reveals rapamycin-resistant functions of mTORC1. *J Biol Chem.* 2009 Mar 20;284(12):8023–32.
238. Yu K, Toral-Barza L, Shi C, Zhang W-G, Lucas J, Shor B, et al. Biochemical, cellular, and in vivo activity of novel ATP-competitive and selective inhibitors of the mammalian target of rapamycin. *Cancer Res.* 2009 Aug 1;69(15):6232–40.
239. Bhatt AP, Bhende PM, Sin S-H, Roy D, Dittmer DP, Damania B. Dual inhibition of PI3K and mTOR inhibits autocrine and paracrine proliferative loops in PI3K/Akt/mTOR-addicted lymphomas. *Blood.* 2010 Jun 3;115(22):4455–63.

240. Kharas MG, Janes MR, Scarfone VM, Lilly MB, Knight ZA, Shokat KM, et al. Ablation of PI3K blocks BCR-ABL leukemogenesis in mice, and a dual PI3K/mTOR inhibitor prevents expansion of human BCR-ABL+ leukemia cells. *J Clin Invest.* 2008 Sep;118(9):3038–50.
241. Tamburini J, Chapuis N, Bardet V, Park S, Sujobert P, Willems L, et al. Mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibition activates phosphatidylinositol 3-kinase/Akt by up-regulating insulin-like growth factor-1 receptor signaling in acute myeloid leukemia: rationale for therapeutic inhibition of both pathways. *Blood.* 2008 Jan 1;111(1):379–82.
242. Gupta M, Ansell SM, Novak AJ, Kumar S, Kaufmann SH, Witzig TE. Inhibition of histone deacetylase overcomes rapamycin-mediated resistance in diffuse large B-cell lymphoma by inhibiting Akt signaling through mTORC2. *Blood.* 2009 Oct 1;114(14):2926–35.
243. Chiarini F, Grimaldi C, Ricci F, Tazzari PL, Evangelisti C, Ognibene A, et al. Activity of the novel dual phosphatidylinositol 3-kinase/mammalian target of rapamycin inhibitor NVP-BEZ235 against T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Res.* 2010 Oct 15;70(20):8097–107.
244. Cho DC, Cohen MB, Panka DJ, Collins M, Ghebremichael M, Atkins MB, et al. The efficacy of the novel dual PI3-kinase/mTOR inhibitor NVP-BEZ235 compared with rapamycin in renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2010 Jul 15;16(14):3628–38.
245. López-Fauqued M, Gil R, Grueso J, Hernandez-Losa J, Pujol A, Moliné T, et al. The dual PI3K/mTOR inhibitor PI-103 promotes immunosuppression, in vivo tumor growth and increases survival of sorafenib-treated melanoma cells. *Int J Cancer.* 2010 Apr 1;126(7):1549–61.
246. Maira S-M, Stauffer F, Brueggen J, Furet P, Schnell C, Fritsch C, et al. Identification and characterization of NVP-BEZ235, a new orally available dual phosphatidylinositol 3-kinase/mammalian target of rapamycin inhibitor with potent in vivo antitumor activity. *Mol Cancer Ther.* 2008 Jul;7(7):1851–63.
247. McMillin DW, Ooi M, Delmore J, Negri J, Hayden P, Mitsiades N, et al. Antimyeloma activity of the orally bioavailable dual phosphatidylinositol 3-kinase/mammalian target of rapamycin inhibitor NVP-BEZ235. *Cancer Res.* 2009 Jul 15;69(14):5835–42.
248. Dilling MB, Dias P, Shapiro DN, Germain GS, Johnson RK, Houghton PJ. Rapamycin selectively inhibits the growth of childhood rhabdomyosarcoma cells through inhibition of signaling via the type I insulin-like growth factor receptor. *Cancer Res.* 1994 Feb 15;54(4):903–7.
249. Wan X, Harkavy B, Shen N, Grohar P, Helman LJ. Rapamycin induces feedback activation of Akt signaling through an IGF-1R-dependent mechanism. *Oncogene.* 2007 Mar 22;26(13):1932–40.
250. Wang X, Yue P, Chan C-B, Ye K, Ueda T, Watanabe-Fukunaga R, et al. Inhibition of mammalian target of rapamycin induces phosphatidylinositol 3-kinase-dependent and Mnk-mediated eukaryotic translation initiation factor 4E phosphorylation. *Mol Cell Biol.* 2007 Nov;27(21):7405–13.

251. Carracedo A, Ma L, Teruya-Feldstein J, Rojo F, Salmena L, Alimonti A, et al. Inhibition of mTORC1 leads to MAPK pathway activation through a PI3K-dependent feedback loop in human cancer. *J Clin Invest*. 2008 Sep;118(9):3065–74.
252. Hammerman PS, Fox CJ, Birnbaum MJ, Thompson CB. Pim and Akt oncogenes are independent regulators of hematopoietic cell growth and survival. *Blood*. 2005 Jun 1;105(11):4477–83.
253. Beharry Z, Mahajan S, Zemskova M, Lin Y-W, Tholanikunnel BG, Xia Z, et al. The Pim protein kinases regulate energy metabolism and cell growth. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011 Jan 11;108(2):528–33.
254. Zhang F, Beharry ZM, Harris TE, Lilly MB, Smith CD, Mahajan S, et al. PIM1 protein kinase regulates PRAS40 phosphorylation and mTOR activity in FDCP1 cells. *Cancer Biol Ther*. 2009 May;8(9):846–53.
255. Beharry Z, Zemskova M, Mahajan S, Zhang F, Ma J, Xia Z, et al. Novel benzylidene-thiazolidine-2,4-diones inhibit Pim protein kinase activity and induce cell cycle arrest in leukemia and prostate cancer cells. *Mol Cancer Ther*. 2009 Jun;8(6):1473–83.
256. Fox CJ, Hammerman PS, Thompson CB. The Pim kinases control rapamycin-resistant T cell survival and activation. *J Exp Med*. 2005 Jan 17;201(2):259–66.
257. Tan J, Lee PL, Li Z, Jiang X, Lim YC, Hooi SC, et al. B55 β -associated PP2A complex controls PDK1-directed myc signaling and modulates rapamycin sensitivity in colorectal cancer. *Cancer Cell*. 2010 Nov 16;18(5):459–71.
258. Dilling MB, Germain GS, Dudkin L, Jayaraman AL, Zhang X, Harwood FC, et al. 4E-binding proteins, the suppressors of eukaryotic initiation factor 4E, are down-regulated in cells with acquired or intrinsic resistance to rapamycin. *J Biol Chem*. 2002 Apr 19;277(16):13907–17.
259. Luo Y, Marx SO, Kiyokawa H, Koff A, Massagué J, Marks AR. Rapamycin resistance tied to defective regulation of p27Kip1. *Mol Cell Biol*. 1996 Dec;16(12):6744–51.
260. Neklesa TK, Davis RW. Superoxide anions regulate TORC1 and its ability to bind Fpr1:rapamycin complex. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008 Sep 30;105(39):15166–71.
261. Majumder PK, Febbo PG, Bikoff R, Berger R, Xue Q, McMahon LM, et al. mTOR inhibition reverses Akt-dependent prostate intraepithelial neoplasia through regulation of apoptotic and HIF-1-dependent pathways. *Nat Med*. 2004 Jun;10(6):594–601.
262. Mahalingam D, Medina EC, Esquivel JA, Espitia CM, Smith S, Oberheu K, et al. Vorinostat enhances the activity of temsirolimus in renal cell carcinoma through suppression of survivin levels. *Clin Cancer Res*. 2010 Jan 1;16(1):141–53.
263. Meikle L, Pollizzi K, Egnor A, Kramvis I, Lane H, Sahin M, et al. Response of a neuronal model of tuberous sclerosis to mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitors: effects on mTORC1 and Akt signaling lead to improved survival and function. *J Neurosci*. 2008 May 21;28(21):5422–32.
264. Krueger DA, Wilfong AA, Holland-Bouley K, Anderson AE, Agricola K, Tudor C, et al.

- Everolimus treatment of refractory epilepsy in tuberous sclerosis complex. *Ann Neurol*. 2013 Nov;74(5):679–87.
265. Truchuelo T, Díaz-Ley B, Ríos L, Alcántara J, Jaén P. Facial angiofibromas treated with topical rapamycin: an excellent choice with fast response. *Dermatol Online J*. 2012 Jan;18(1):15.
 266. Kotulska K, Larysz-Brysz M, Grajkowska W, Józwiak J, Włodarski P, Sahin M, et al. Cardiac rhabdomyomas in tuberous sclerosis complex show apoptosis regulation and mTOR pathway abnormalities. *Pediatr Dev Pathol*. 2009 Apr;12(2):89–95.
 267. Batmaz G, Besikçi R, Arslan G, Kafadar I, Ahunbay G. Spontaneous regression of huge cardiac rhabdomyoma in an infant. *Images Paediatr Cardiol*. 2000 Oct;2(4):4–10.
 268. DiMario FJ, Diana D, Leopold H, Chameides L. Evolution of cardiac rhabdomyoma in tuberous sclerosis complex. *Clin Pediatr (Phila)*. 1996 Dec;35(12):615–9.
 269. De Conti F, Piovesana P, Viena P, Pantaleoni A. [The complete regression of multiple cardiac rhabdomyomas in childhood]. *G Ital Cardiol*. 1993 Aug;23(8):793–6.
 270. Farooki ZQ, Ross RD, Paridon SM, Humes RA, Karpawich PP, Pinsky WW. Spontaneous regression of cardiac rhabdomyoma. *Am J cardiol*. 1991 Apr 15;67(9) :897–9.
 271. Tiberio D, Franz DN, Phillips JR. Regression of a cardiac rhabdomyoma in a patient receiving everolimus. *Pediatrics*. 2011 May;127(5):e1335–7.
 272. Kotulska K, Borkowska J, Jozwiak S. Possible prevention of tuberous sclerosis complex lesions. *Pediatrics*. 2013 Jul;132(1):e239–42.
 273. Zeng L-H, Xu L, Gutmann DH, Wong M. Rapamycin prevents epilepsy in a mouse model of tuberous sclerosis complex. *Ann Neurol*. 2008 Apr;63(4):444–53.
 274. Foster KG, Fingar DC. Mammalian target of rapamycin (mTOR): conducting the cellular signaling symphony. *J Biol Chem*. 2010 May 7;285(19):14071–7.
 275. Coutte L, Dreyer C, Sablin MP, Faivre S, Raymond E. PI3K-AKT-mTOR pathway and cancer. *Bull Cancer*. 2012 feb 1;99(2):173-80
 276. Tchekvina E, Komelkov A. Protein Phosphorylation as a Key Mechanism of mTORC1/2 Signaling Pathways. In: Huang C, editor. *Protein Phosphorylation in Human Health* [Internet]. InTech; 2012 [cited 2014 May 24]. Available from: <http://www.intechopen.com/books/protein-phosphorylation-in-human-health/protein-phosphorylation-as-a-key-mechanism-of-mtorc1-2-signaling-pathways>
 277. Sofer A, Lei K, Johannessen CM, Ellisen LW. Regulation of mTOR and Cell Growth in Response to Energy Stress by REDD1. *Mol Cell Biol*. 2005 Jul;25(14):5834–45.
 278. Laplante M, Sabatini DM. mTOR signaling. *Cold spring harb Perspect Biol*. 2012 Feb 1;4(2):pii: a011593.
 279. Bousquet C, Pyronnet S, Susini C. Modes d'action du SOM230 et du RAD001 : intérêt

- thérapeutique de l'association. *hepato gastro*. 2009;16:56–66.
280. Giaccia A, Siim BG, Johnson RS. HIF-1 as a target for drug development. *nat Rev Drug Disco*. 2003 Oct;2(10):808–11.
281. Karar J, Maity A. PI3K/AKT/mTOR Pathway in Angiogenesis. *Front Mol Neurosci* [Internet]. 2011 Dec 2 [cited 2013 Mar 1];4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3228996/>
282. Zoncu R, Sabatini DM, Efeyan A. mTOR: from growth signal integration to cancer, diabetes and ageing. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2011;12(1):21–35.
283. Napolioni V, Moavero R, Curatolo P. Recent advances in neurobiology of Tuberous Sclerosis Complex. *Brain Dev*. 2009 Feb;31(2):104–13.
284. Lipton JO, Sahin M. The Neurology of mTOR. *Neuron*. 2014 Oct 22;84(2):275–91.

PLACE OF EVEROLIMUS IN THE TREATMENT OF COMPLICATIONS OF TUBEROUS SCLEROSIS COMPLEX

ABSTRACT :

Initially prescribed as an anti-rejection drug, everolimus has developed in recent years in oncology. Tuberous sclerosis complex (TSC) is a multi-system disease characterized by the development of hamartomas that can affect multiple organs : mainly the brain, skin, kidneys, lungs, heart and retina (1). Epilepsy, mental retardation and autistic spectrum disorder are the most important causes of morbidity, mortality and impact on quality of life of the patient and his family.

There is no treatment of STB ; however, everolimus has obtained a conditional drug marketing approval for the treatment of tuberous sclerosis associated subependymal giant cell astrocytomas (SEGA) and renal angiomyolipomas.

Everolimus is a potent and selective mTOR inhibitor ; *TSC1* or *TSC2* mutations are responsible of the disease and modulate mTOR pathway with an upregulation of the mTORC1 pathway .

The safety and efficacy of a systemic treatment that can simultaneously target the growth of these hamartomas and neurological symptoms are being studied . Results of these trials can be used for developing future treatment strategy.

KEYWORDS : Everolimus, Tuberous sclerosis complex, mTOR, subependymal giant cell astrocytoma (SEGA), renal angiomyolipoma , autistic spectrum disorder , epilepsy

RÉSUMÉ

L'évérolimus, initialement prescrit comme médicament antirejet, s'est développé depuis quelques années en cancérologie. La sclérose tubéreuse de Bourneville (STB) est une maladie multisystémique qui se caractérise par le développement d'hamartomes pouvant toucher de multiples organes principalement le cerveau, la peau, les reins, les poumons, le cœur et la rétine (1). L'épilepsie, le retard mental ainsi que les troubles du spectre autistique sont les causes les plus importantes de morbi-mortalité et d'impact sur la qualité de vie du patient et de son entourage.

Il n'existe aucun traitement de la STB ; cependant, l'évérolimus a obtenu une autorisation de mise sur le marché (AMM) dite « conditionnelle » pour le traitement des astrocytomes sous-épendymaires à cellules géantes (SEGA) et dans le traitement des angiomyolipomes rénaux associés à la STB.

L'évérolimus est un inhibiteur puissant et sélectif de mTOR ; or les mutations de *TSC1* ou *TSC2*, à l'origine de la maladie, entraînent une dérégulation de la voie mTOR avec activation de la voie mTORC1.

L'efficacité et l'innocuité d'un traitement systémique qui peut cibler simultanément la croissance de ces différents hamartomes et les symptômes neurologiques sont en cours d'étude. Les résultats de ces essais permettent d'orienter les futures recommandations de stratégie thérapeutique.

Titre et résumé en Anglais : voir au recto de la dernière page de la thèse

Discipline administrative : pharmacie officine

MOTS-CLES : Évérolimus, Sclérose tubéreuse de Bourneville, mTOR, Astrocytomes sous-épendymaires à cellules géantes (SEGA), Angiomyolipomes rénaux, Trouble du syndrome autistique, Épilepsie.

Directeur de thèse : M . le Docteur PEDESPAN Jean-Michel