

JUIN 2017

AVIS

Détection des mutations C228T et
C250T du promoteur du gène
TERT par Snapshot^{MC}

Transmission au ministre : 28 avril 2017

Publication officielle : 27 juin 2017

Une production de l'Institut national
d'excellence en santé
et en services sociaux (INESSS)

DÉTECTION DES MUTATIONS C228T ET C250T DU PROMOTEUR DU GÈNE *TERT* PAR SNaPshot^{MC} (RÉFÉRENCE – 2016.03.004)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 Demandeur :** Centre universitaire de santé McGill (CUSM)
1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 28 avril 2017
1.3 Date de publication de l'avis : 27 juin 2017

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information déposée par le demandeur ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

Conflit d'intérêts

Le D^r David Rosenblatt et le D^r Cédric Yansouni n'ont pas participé aux délibérations et se sont retirés au moment de formuler la recommandation.

Lecture externe et accompagnement scientifique

La lecture externe et l'accompagnement scientifique sont des mécanismes utilisés par l'INESSS pour assurer la qualité de ses travaux. Les lecteurs externes et les experts accompagnateurs valident les aspects méthodologiques de l'évaluation, de même que l'exactitude du contenu, en fonction de leur domaine d'expertise respectif.

Aux fins de validation du présent avis, les experts consultés sont :

- D^r Benjamin Ellezam, neuropathologiste, CHU Ste-Justine
- D^r Maxime Richer, neuropathologiste, CHU de Sherbrooke

2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

2.1 Nom de l'analyse

Détection des mutations C228T et C250T du promoteur du gène *TERT* par SNaPshot^{MC}

2.2 Description brève de l'analyse et précisions techniques et cliniques

Une réaction de polymérase en chaîne est effectuée en premier lieu avec une paire d'amorces spécifiques au promoteur du gène *TERT* (pTERT). La réaction de SNaPshot^{MC} est ensuite réalisée sur les amplicons. Tout comme pour un séquençage de type Sanger, l'élongation de l'amorce s'arrête si le nucléotide à incorporer dans la chaîne n'est pas disponible ou si ce dernier ne contient pas d'extrémité 3'OH (didésoxynucléotide – ddNTP) [Sanger *et al.*, 1977]. Dans ce cas-ci, on parle d'un mini-séquençage car l'extension de l'amorce (non marquée) se fait sur une seule base (*single base extension* ou élongation de

base unique). L'amorce doit s'apparier directement en amont du polymorphisme visé. L'ADN polymérase Taq insère un seul ddNTP marqué par un fluorophore spécifique à chacune des bases [Pastinen *et al.*, 1996]. Le demandeur réalise deux réactions d'extension de base avec des amorces de tailles différentes. Une électrophorèse par capillaire permet ensuite de distinguer les amorces en fonction de leur taille et de la fluorescence émise par le ddNTP incorporé. La liste des amorces est présentée dans le tableau 1 et des exemples d'électrophorégramme sont illustrés dans la figure 1.

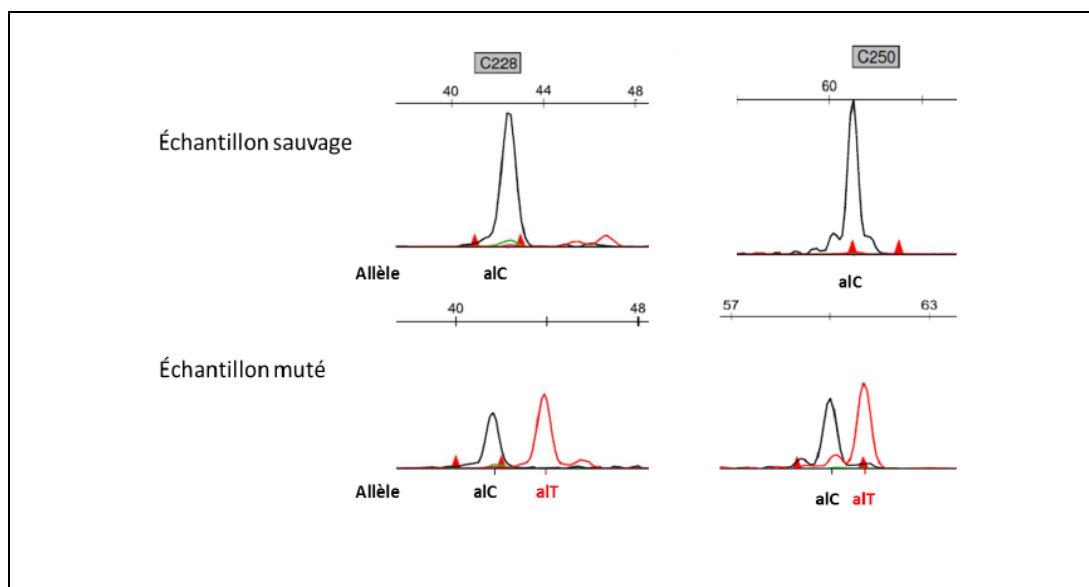
Tableau 1. Liste des amorces utilisées dans la réaction de SNaPshot^{MC} pour la détection des mutations C228T et C250T de pTERT

AMORCES POUR LA RÉACTION DE POLYMÉRASE EN CHAÎNE			
SÉQUENCE (5'→3')	GÈNE/POSITION	TAILLE DE L'AMPLICON (pb)	BRIN D'ADN
AGCGCTGCCTGAAACTCG	Promoteur du gène <i>TERT</i>	155	Sens
CCCTTCACCTTCCAGCTC			Antisens
AMORCES POUR L'EXTENSION DE BASE			
SÉQUENCE (5'→3')	POSITION	TAILLE DE L'AMORCE (b)	BRIN D'ADN
T38-GCCCCGTCCCGACCCCT	-146 (C250)	55	Sens
T18-GTCCCCGGCCAGCCCC	-124 (C228)	35	Sens

Abréviations : b : bases; pb : paires de bases.

Source : Tableau tiré du « Rapport de validation pour le test de détection des mutations dans le gène *TERT* » (Andréa Gomez, Ph.D.).

Figure 1 Types d'électrophorégrammes obtenus lors du génotypage de pTERT



Source : Figures tirées du Rapport de validation pour le test de détection des mutations dans le gène *TERT* (Andréa Gomez, Ph.D.).

2.3 Modalités d'administration du test

Les échantillons proviennent du laboratoire de neuropathologie de l'Institut et hôpital neurologiques de Montréal, qui est un centre de référence provincial en matière de tumeurs cérébrales. Les échantillons sont ensuite acheminés au laboratoire de biologie moléculaire du CUSM où l'ADN est extrait et le génotypage réalisé. Si nécessaire, une confirmation est effectuée par séquençage Sanger.

Il s'agit d'une analyse réalisée en 5 jours ouvrables.

2.4 Société ou concepteur

La méthode proposée par le demandeur est une analyse maison adaptée de la méthode publiée par Dubbink et ses collaborateurs [2014]. Des modifications mineures ont été apportées sur les amorces pour l'extension de base.

2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

Test maison non homologué

2.6 Valeur pondérée : 81,35

3 CONTEXTE

3.1 Patients ciblés

La détection des mutations C228T et C250T dans le promoteur du gène *TERT* par SNaPshot^{MC} sera effectuée sur les échantillons tumoraux provenant de patients qui ont reçu un diagnostic de :

- Gliome de grades II et III de statut IDH non muté;
- Glioblastome de statut IDH non muté;
- Glioblastome de statut IDH non muté en lien avec le statut méthylationnel du promoteur du gène *MGMT* (pMGMT);
- Méningiome.

3.2 Description de la maladie visée

3.2.1 Les gliomes

Les gliomes sont des tumeurs cérébrales à différenciation gliale, astrocytaire ou oligodendrogliale, retrouvées au niveau de l'encéphale ou de la moelle épinière. Entre 2009 et 2013 aux États-Unis, les gliomes représentaient 24,7 % des tumeurs primaires cérébrales et des autres tumeurs du système nerveux central (SNC) [Ostrom *et al.*, 2016].

La classification traditionnelle utilisée est celle de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) qui distribue les gliomes en quatre grades (OMS grades I à IV) selon leurs caractéristiques histopathologiques, leur degré de malignité et plus récemment leur profil d'expression moléculaire [Louis *et al.*, 2016].

Le grade I s'applique à des lésions au potentiel de prolifération peu élevé et dont la résection chirurgicale est généralement suffisante pour guérir les patients. À partir du grade II, les gliomes sont généralement de nature infiltrante. On parle alors de gliomes diffus. En dépit d'une faible prolifération, ils sont souvent récurrents. La plupart des gliomes de grade II tendent à progresser vers des degrés plus avancés de malignité [Louis *et al.*, 2016].

La désignation de grade III est généralement réservée aux lésions présentant des caractéristiques histologiques évidentes de malignité, notamment une augmentation de l'activité mitotique. On les nomme gliomes diffus anaplasiques ou gliomes anaplasiques [Louis *et al.*, 2016].

Les gliomes à différenciation astrocytaire de grade IV sont appelés glioblastomes. En plus d'être diffus et de montrer une activité mitotique soutenue, ils présentent également de la nécrose et de la prolifération microvasculaire ou l'un des deux. Le glioblastome est la forme la plus agressive des gliomes. Chez l'adulte, son incidence est estimée à 3,20 cas pour

100 000 habitants [Ostrom *et al.*, 2016]. Son pronostic varie entre 10 et 31 mois [Louis *et al.*, 2016].

Des anomalies moléculaires récurrentes permettent de stratifier les glioblastomes en trois groupes principaux : IDH¹ non muté, IDH muté ; et NOS² [Louis *et al.*, 2016]. Le glioblastome IDH non muté ou primaire survient dans 90 % des cas, et atteint les patients à un âge médian de 62 ans, tandis que le glioblastome IDH muté ou secondaire couvre 10 % des cas et atteint les patients à un âge médian de 44 ans. Le glioblastome secondaire a toutefois un pronostic plus favorable que le glioblastome primaire [Louis *et al.*, 2016].

3.2.2 Les méningiomes

Les méningiomes sont des tumeurs à différenciation méningée retrouvées au niveau de l'encéphale et de la moelle épinière. Entre 2009 et 2013 aux États-Unis, les méningiomes représentaient 36,6 % des tumeurs cérébrales et du système nerveux central. Les méningiomes sont diagnostiqués à un âge médian de 66 ans. Leur incidence est croissante avec l'âge, elle passe de 0,14 cas par 100 000 habitant chez les moins de 20 ans à 52,28 cas par 100 000 habitants chez les 85 ans et plus [Ostrom *et al.*, 2016].

Les patients atteints d'un méningiome de grades I et II ont un taux de survie à 5 ans de 86,4 %, ceux atteints d'un méningiome de grade III ont un taux de survie à 5 ans de 64,9 % [Ostrom *et al.*, 2016].

3.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

Selon l'opinion d'experts, un usage progressif du test est prévu. Il serait alors effectué chez 30 %, 40 % et 50 % des patients atteints de gliomes pour chacune des trois prochaines années suivant son ajout au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* (ci-après nommé *Répertoire*). Ainsi 176, 238 et 301 analyses seraient réalisées pour cette période.

3.4 Spécialités médicales concernées

Neuropathologie, neuro-oncologie, neurochirurgie

3.5 Brève description de la situation actuelle

La situation actuelle correspond à l'algorithme de 2016 proposé par l'OMS (Annexe A) qui n'implique pas le statut mutationnel de pTERT. Ainsi les gliomes sont évalués en pathologie pour en déterminer le grade et l'histologie. Le pronostic des patients est également précisé par l'analyse de différents marqueurs moléculaires dont la mutation des gènes *IDH1* et *IDH2* (IDH), la codélétion 1p/19q, le statut méthylationnel de pMGMT et la perte d'expression de la protéine ATRX.

Actuellement, Orphanet³ ne rapporte aucun laboratoire clinique canadien offrant la détection des mutations C228T et C250T de pTERT.

¹ IDH de l'anglais « isocitrate dehydrogenase gene ».

² NOS de l'anglais « Not Otherwise Specified » terme pour identifier les tumeurs dont le statut moléculaire de l'une des altérations génétiques utilisées pour le diagnostic n'est pas connu.

³ Orphanet. Rechercher un test diagnostique [site Web]. Disponible à : http://www.orpha.net/consor/www/cgi-bin/ClinicalLabs_Search_Simple.php?lng=FR (consulté le 19 décembre 2016).

3.6 Données médico-administratives

L'analyse proposée n'est pas inscrite actuellement dans le *Répertoire*. Concernant les analyses réalisées par les établissements du réseau au cours de la période 2015-2016 ainsi que celles envoyées hors Québec pour la période 2014-2015, les bases de données du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS) ne contiennent aucune statistique de production concernant l'analyse du promoteur du gène *TERT*.

3.7 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

L'analyse du statut mutationnel de pTERT dans les gliomes diffus de grades II et III de statut IDH non muté permettra de compléter la stratification pronostique des patients atteints.

En plus du statut méthylationnel de pMGMT et du statut mutationnel des gènes IDH, ce test permettra de compléter la stratification pronostique des patients atteints d'un glioblastome.

La présence d'une mutation de pTERT associée à un mauvais pronostic pourrait éventuellement être utilisée comme cible thérapeutique.

La mutation de pTERT est également un marqueur de mauvais pronostic dans les méningiomes [Sahm *et al.*, 2016; Goutagny *et al.*, 2014]. Bien que celles-ci soient peu fréquentes dans les méningiomes, aucun autre marqueur moléculaire n'est encore disponible pour préciser le pronostic de ce type de tumeurs [Louis *et al.*, 2016].

3.8 Assurance qualité

Selon le laboratoire du demandeur, l'analyse proposée sera réalisée selon les normes du Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI). Des contrôles de qualité seront réalisés à chaque étape du test, de la réception de l'échantillon jusqu'à l'émission du rapport. Pour chaque test, des contrôles positifs et négatifs seront inclus. Les résultats seront analysés en première instance par les technologistes médicaux, puis par le professionnel responsable de l'analyse et le neuropathologiste validera l'analyse finale.

Le laboratoire prévoit participer à un échange d'échantillons inter-laboratoire afin d'assurer la qualité de l'analyse. Si le College of American Pathologists (CAP) ajoute l'analyse du statut mutationnel de pTERT à son programme de contrôle de qualité, le laboratoire participera à celui-ci.

3.9 Remplacement d'un autre test

Cette analyse ne remplace aucune procédure inscrite dans le *Répertoire*. Selon le demandeur, cette analyse permettrait de répondre à un besoin clinique qui n'est pas couvert actuellement. Elle est complémentaire à l'analyse des mutations *IDH1* R132 et *IDH2* R172 et du statut méthylationnel de pMGMT.

4 DONNÉES PROBANTES

4.1 Valeur diagnostique

Aucune étude n'a été retenue parce que la détermination du statut mutationnel du promoteur du gène *TERT* par SNaPshot^{MC} n'a pas pour objectif d'établir ou de préciser un diagnostic.

4.2 Valeur pronostique

Revues avec méta-analyses

L'impact pronostique des mutations C228T et C250T de pTERT dans les gliomes a fait l'objet de cinq revues avec méta-analyse [Geng *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2016; Yuan *et al.*, 2016a; Yuan *et al.*, 2016b; Thuy *et al.*, 2015]. Néanmoins aucune d'elles n'a évalué la valeur pronostique des mutations de pTERT spécifiquement dans les gliomes de statut IDH non muté. Les revues avec méta-analyse n'ont de ce fait pas été retenues.

Études primaires

Seules les études abordant la valeur pronostique des mutations C228T et C250T de pTERT chez les patients atteints d'un gliome diffus de statut IDH non muté ont été retenues. Celles-ci peuvent être classées en trois groupes :

Les études évaluant la valeur pronostique de :

- pTERT chez les patients atteints de gliomes diffus IDH non muté de grades II et III;
- pTERT chez les patients atteints de gliomes diffus IDH non muté de grade IV;
- pTERT et la méthylation de pMGMT pour les patients atteints de glioblastome IDH non muté.

En plus d'une valeur pronostique dans les gliomes, le demandeur et un des experts ont formulé un intérêt pour le marqueur pTERT chez les patients atteints d'un méningiome. De ce fait, les études évaluant la valeur pronostique des mutations de pTERT dans le méningiome ont également été discutées.

4.2.1 Mutation de pTERT chez les patients atteints de gliomes de grades II et III IDH non muté

La valeur pronostique des mutations C228T et C250T de pTERT dans les gliomes de grades II-III a été relevée dans 3 études rétrospectives. Les publications retenues sont les suivantes :

- Chan et ses collaborateurs [2015] ont réalisé une analyse mutationnelle de pTERT dans le but d'évaluer sa validité clinique dans la classification et le pronostic de 231 patients avec un gliome de grades II-III;
- Yang et ses collaborateurs [2016] ont réalisé une étude rétrospective visant à déterminer la prévalence et l'impact pronostique de la mutation de pTERT dans une série de 377 patients avec un gliome de grades II-III;
- Eckel-Passow et ses collaborateurs [2015] ont réalisé une étude multicentrique visant à classer 586 patients avec un gliome de grades II-III.

Survie globale

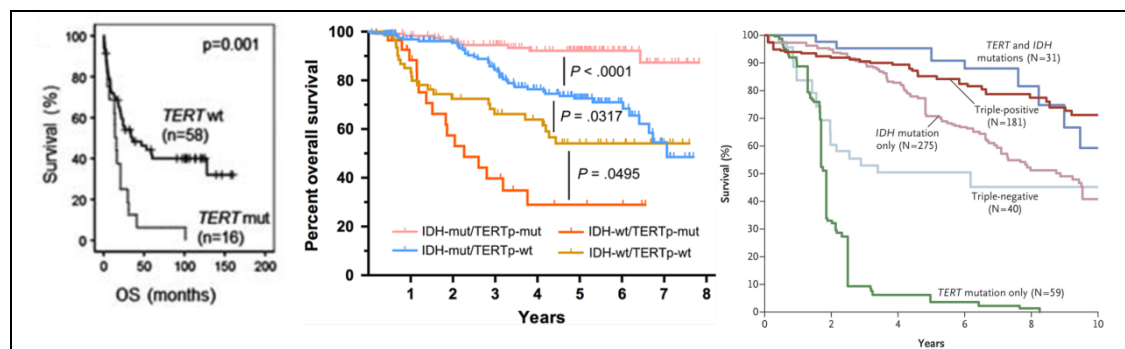
Les études de Chan [2015] et de Yang [2016] ont déterminé la survie globale (SG) des patients de statut IDH non muté selon la présence ou l'absence de mutation de pTERT. Dans les deux études, la médiane de survie globale était plus courte lorsque pTERT était muté.

En effet, Chan et ses collaborateurs [2015] précisent que les patients avec un gliome de grades II-III IDH non muté sans l'analyse de pTERT présentent une médiane de SG de 24 mois. Toutefois, la détermination du statut de pTERT permet alors de distinguer deux sous-groupes entre lesquels une différence significative des médianes de SG est constatée (pTERT non muté : 36 mois contre pTERT muté : 14,1 mois; $p = 0,001$).

Les analyses réalisées à partir des données de Yang et ses collaborateurs [2016] ont montré que l'utilisation combinée des marqueurs IDH et pTERT permet de stratifier la survie des patients atteints d'un gliome de grades II-III en 4 sous-groupes distincts. Bien que les cas de statut IDH muté présentent une différence de survie significative selon le statut de pTERT, celle-ci n'est pas rapportée dans le présent avis. Parmi les patients démontrés de statut IDH non muté, les porteurs d'une mutation de pTERT ont présenté une médiane de SG significativement plus faible que ceux de statut pTERT non muté ($p = 0,0495$). La combinaison des statuts IDH non muté et pTERT muté a permis d'isoler un sous-groupe de patients dont le pronostic est significativement plus sombre (SG médiane de 27,7 mois; taux de survie à 5 ans de 29 %). À titre comparatif, les patients du sous-groupe IDH/pTERT non muté présentaient une médiane de SG de 92 mois et un taux de survie à 5 ans de 54 % (figure 2).

L'étude d'Eckel-Passow et ses collaborateurs [2015] comprenait 1 087 patients atteints d'un gliome de grades II à IV. À l'intérieur du sous-groupe de grades II-III, ceux dont le gliome était IDH non muté et pTERT muté constituaient une minorité (10 % : 59/586) contrairement à une majorité de glioblastomes (73 % : 347/470). Parmi les gliomes de grades II-III, 99 patients avaient un gliome IDH non muté et 59 d'entre eux présentaient une mutation de pTERT. Les courbes de survie Kaplan-Meier réalisées par les auteurs montrent que ces 59 patients représentent un sous-groupe moléculaire distinct et dont le pronostic est significativement défavorable (figure 2).

Figure 2 Courbes de survie des patients atteints d'un gliome de grades II-III IDH non muté en fonction du statut de pTERT



Source : Figures tirées des articles de Chan *et al.*, 2015, Eckel-Passow *et al.*, 2015 et Yang *et al.*, 2016.

Analyses du risque de décès

Eckel-Passow et ses collaborateurs montrent que le risque de décès des patients atteints d'un gliome de grades II-III IDH non muté est plus élevé en présence d'une mutation somatique de pTERT. En effet, selon le rapport des risques instantanés (RRI) de décès calculé entre les deux groupes, la présence d'une mutation pTERT est associée à une augmentation significative du risque de décès de plus de 5 fois celui des cas dont la tumeur est non mutée. Cette augmentation du risque est restée statistiquement significative en analyse multivariée de survie réalisée d'après le modèle de Cox, et ce, indépendamment de l'âge au diagnostic et du grade de la tumeur (tableau 2) [Eckel-Passow *et al.*, 2015].

Dans l'étude Chan et ses collaborateurs [2015], les patients IDH non muté dont pTERT était muté présentaient un âge au diagnostic significativement plus âgé que ceux dont le promoteur était intact (51 ans contre 36,3 ans; $p < 0,001$). Des analyses multivariées ont été

réalisées en tenant compte de l'âge au diagnostic, du grade de la tumeur et de l'histologie. Dans ces conditions, la mutation de pTERT n'atteignait pas le seuil de significativité mais présentait tout de même une tendance à augmenter le risque de décès des patients atteints de gliomes de grades II-III (RRI : 1,83; $p = 0,07$).

Dans l'étude de Yang et ses collaborateurs [2016], l'analyse multivariée d'après le modèle de Cox a été réalisée en insérant les variables d'âge au diagnostic et de score de performance de Karnofsky. D'après celle-ci, la mutation de pTERT n'était pas associée à la survie globale des patients atteints de gliomes de grades II-III.

Tableau 2. Analyses multivariées de l'impact des mutations de pTERT sur la survie globale des patients atteints d'un gliome de grades II-III de statut IDH non muté

ÉTUDES	GLIOMES DE GRADES II-III IDH NON MUTÉ		CALCULS DE RISQUE DE DÉCÈS		
	TOTAL	pTERT MUTÉ (%)	UNIVARIÉ	MULTIVARIÉ	VARIABLES
			RRI (IC95 %)	RRI (IC95 %)	
Yang <i>et al.</i> , 2016	92	28 (30)	ND; $p = 0,049$	1,44 [0,74 à 2,80]; $p = 0,287$	Âge et KPS
Chan <i>et al.</i> , 2015	74	16 (22)	ND; $p = 0,001$	1,83 [ND]; $p = 0,07$	Âge, grade et histologie
Eckel-Passow <i>et al.</i> , 2015	99	59 (60)	5,41 [2,88 à 10,18]; $p = \text{ND}$	3,64 [1,85 à 7,17]; $p = \text{ND}$	Âge et grade

Abréviations : IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; KPS : indice de performance de Karnofsky de l'anglais : *Karnofsky performance score*; ND : données non disponibles; RRI : rapport des risques instantanés.

Bilan de la valeur pronostique de pTERT dans les gliomes de grades II-III IDH non muté

Toutes les données présentées montrent que la combinaison des marqueurs IDH et pTERT aide à stratifier le pronostic des gliomes de bas grades, notamment en précisant un sous-groupe de cas où les tumeurs de statut IDH non muté et pTERT muté sont associées à une survie globale plus courte. Toutefois, une seule des trois études démontre que le statut de pTERT possède une valeur de mauvais pronostic indépendante de l'âge et du grade de la tumeur.

4.2.2 Mutation de pTERT chez les patients atteints de glioblastome IDH non muté

La valeur pronostique des mutations C228T et C250T de pTERT pour les cas atteints d'un glioblastome de statut IDH non muté a été relevée dans 8 études de cohorte. Les publications retenues sont les suivantes :

- Nonoguchi et ses collaborateurs [2013] ont réalisé une étude visant à décrire la fréquence et la valeur pronostique des mutations de pTERT chez 358 patients atteints d'un glioblastome;
- Killela et ses collaborateurs [2014] ont réalisé une étude visant à déterminer la prévalence et le pronostic associé aux mutations de pTERT chez 240 patients atteints d'un glioblastome;
- Labussiere et ses collaborateurs [2014] ont réalisé une étude visant à évaluer la prévalence et la valeur pronostique des mutations de pTERT chez 395 patients atteints d'un glioblastome;

- Eckel-Passow et ses collaborateurs [2015] ont réalisé une étude multicentrique visant à classer 470 patients atteints d'un glioblastome;
- Simon et ses collaborateurs [2015] ont réalisé une étude visant à caractériser les mutations de pTERT dans une cohorte de 192 patients atteints de glioblastome;
- Mosrati et ses collaborateurs [2015] ont réalisé une étude visant à déterminer la relation entre les mutations de pTERT et l'expression de l'ARN messager de *TERT*, les cytokines pro-inflammatoires et la survie globale chez 128 patients atteints d'un glioblastome;
- Spiegl-Kreinecker et ses collaborateurs [2015] ont réalisé une étude visant à déterminer l'impact des mutations de pTERT sur la réactivation de la télomérase, leur interaction avec des polymorphismes et leur impact sur la survie de 126 patients atteints d'un glioblastome;
- Heidenreich et ses collaborateurs [2015] ont réalisé une étude visant à décrire la relation entre la mutation de pTERT et d'autres marqueurs moléculaires et leur effet sur la survie de 303 patients atteints de gliomes diffus.

Les huit études ont réalisé des analyses multivariées visant à déterminer le risque de décès indépendamment associé à la mutation de pTERT dans un glioblastome. En fonction des variables considérées dans les différents modèles présentés dans 6 études, le risque de décès associé à la présence d'une mutation de pTERT était significativement augmenté d'un facteur variant entre 1,4 et 4,0 fois celui des patients atteints d'un GBM de statut pTERT non muté. Considérant également le statut mutationnel des gènes *IDH1/2*, les études réalisées par [Mosrati *et al.*, 2015; Simon *et al.*, 2015; Spiegl-Kreinecker *et al.*, 2015; Labussiere *et al.*, 2014] ont montré que la présence d'une mutation pTERT est un facteur indépendant de mauvais pronostic (tableau 3).

Nonoguchi et ses collaborateurs [2013] ont réalisé une étude dont les objectifs étaient d'établir la fréquence et la valeur pronostique d'une mutation du promoteur de *TERT* à l'intérieur d'une cohorte de 358 glioblastomes. La présence d'une mutation *IDH1* a été utilisée comme signature moléculaire des GBM secondaires ($n = 36$), permettant ainsi la distinction avec les GBM primaires (*IDH1* non muté; $n = 322$). Les mutations de pTERT étaient significativement plus fréquentes à l'intérieur des GBM primaires (187/322; 58 %) que dans les GBM secondaires (10/36, 28 %; $p = 0,0056$). Les analyses de survie réalisées sur tous les GBM dont les données étaient disponibles ($n = 197$), ont montré que la présence d'une mutation de pTERT est associée à une SG plus courte, et ce, comparativement à l'absence d'une mutation pTERT (univariée : médiane de 9,3 mois c. 10,5 mois $p = 0,015$). Cette différence est demeurée significative dans un modèle considérant l'âge au diagnostic et le genre du patient. Toutefois, dans un modèle incluant d'autres altérations génétiques, la valeur de pTERT n'était plus significative (tableau 3). Les auteurs expliquent ce résultat par le fait que les GBM pTERT muté portent rarement des mutations dans *IDH1*, considéré comme un marqueur de bon pronostic dans les GBM secondaires.

Tableau 3 Analyses multivariées du risque de décès lié à la mutation de pTERT dans les glioblastomes

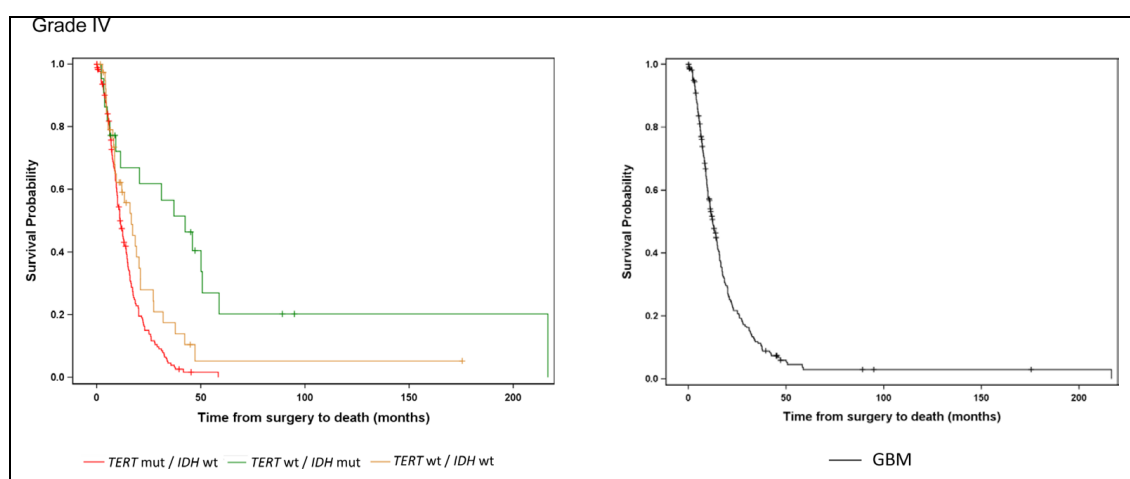
ÉTUDES	GBM (N)	pTERT MUTÉ (%)	SURVIE GLOBALE (MOIS) pTERT MUTÉ CONTRE NON MUTÉ	RRI MULTIVARIÉ (IC95 %)	VALEUR p	VARIABLES
Nonoguchi, 2013	358	55	9,3 c. 10,5; p = 0,015	1,38 (1,01-1,88)	0,041	Âge, genre
				1,44 (0,83-2,48)	NS	Âge, genre et autres mutations
Killela, 2014*	240	73,3	Voir figure 3	1,9 (1,2-2,9)	ND	Âge
Labussiere, 2014	395	75,7	13,8 c. 18,4; p < 0,0001	1,624 (1,122-2,350)	0,0105	Âge, IDH, KPS, chir., Tx, autres
Heidenreich, 2015	165	80	14,0 c. 14,0; p = 0,7	0,77 (0,45 – 1,31)	NS	Âge, IDH, Tx, autres mutations
Eckel-Passow, 2015*	470	73,8	Voir figure 4	0,99 (0,75 – 1,31)	NS	Âge
Simon, 2015	176	80,1	11,0 c. 16,0; p = 0,038	2,05 (1,30-3,23)	0,002	Âge, IDH, KPS, chir., Tx, autres
Mosrati, 2015	92	85,9	C228T : 11 c. 20; p = 0,002 C250T : 12 c. 20; p = 0,04	4,04 (1,55-10,51) 3,7 (1,3-10,51)	0,004 0,04	Âge, genre, IDH
Spiegel-Kreinecker, 2015	126	73	11,5 c. 23,1; p < 0,0001	1,683 (1,048-2,703)	0,031	Âge, genre, IDH, KPS, Tx,

Abréviations : Chir. : étendue de la résection chirurgicale; GBM : glioblastomes; KPS : indice de performance de Karnofsky; NS : non significatif; RRI : rapport des risques instantanés; Tx : traitement.

*Études réalisées sur des glioblastomes de statut IDH non muté.

Les analyses réalisées à partir des données de Killela et ses collaborateurs [2014] ont montré qu'une majorité de GBM présentait un statut IDH non muté/pTERT muté ($n = 176$; 73 %). Cette signature moléculaire a été associée à la médiane de SG la plus faible, soit 11,3 mois. L'utilisation combinée des marqueurs IDH et pTERT permet de stratifier la survie des patients atteints d'un gliome de grade IV en 3 sous-groupes distincts ($p < 0,001$) (figure 3); cette différence demeurerait significative en considérant l'âge et le diagnostic. La valeur prédictive d'une SG plus courte associée à une mutation pTERT chez les patients atteints d'un GBM demeure significative lorsque IDH est de statut non muté (RRI = 1,9 [IC95 % : 1,2 à 2,9]). Selon les auteurs, le génotypage du promoteur de *TERT* est d'un intérêt particulier pour les cliniciens puisqu'il permettrait de stratifier les patients avec un GBM IDH1/2 non muté en plus de faciliter la prise en charge clinique.

Figure 3 Courbes de survie des patients atteints d'un gliome de grade IV lorsque stratifiés en fonction des statuts d'IDH et de pTERT

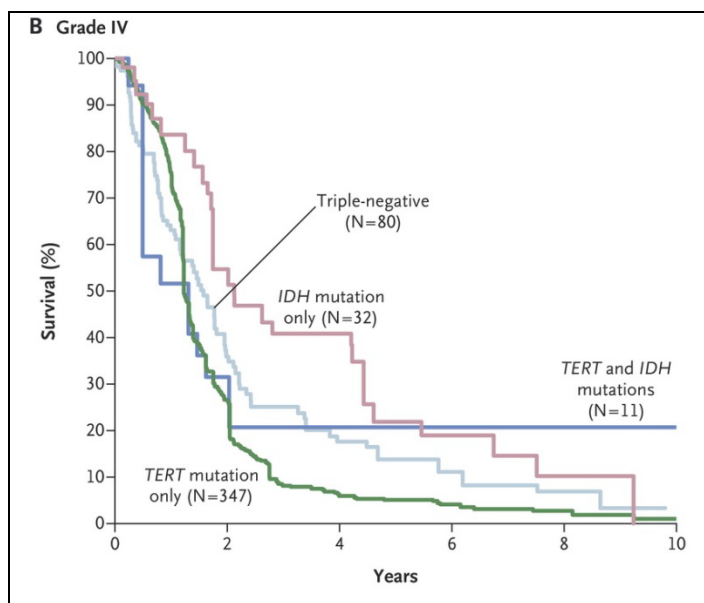


Source : Figure tirée de l'article de Killela *et al.*, 2014.

Les données publiées par Heidenreich [2015] montrent également qu'une majorité de GBM présentait un statut IDH non muté/pTERT muté ($n = 132$; 80 %) et que cette signature moléculaire identifie un sous-groupe de tumeur dont la SG est la plus faible, soit 14,6 mois. Contrairement aux données présentées par Killela et ses collaborateurs, les analyses de survie réalisées sur les GBM primaires n'ont pas démontré que les mutations de pTERT avaient un impact pronostic significatif (SG médianes avec ou sans mutation de pTERT de 14,0 mois). Un modèle multivarié incluant l'âge, les traitements, le statut d'IDH, la codélétion 1p/19q et la perte de *CDKN2A/B* n'a pas montré que la présence d'une mutation de pTERT avait une influence sur la survie globale des patients atteints d'un GBM (tableau 3).

L'étude d'Eckel-Passow [2015], traitée plus haut dans le volet des gliomes de bas grade, comportait également une série de 470 glioblastomes. Dans le but de raffiner le pronostic des patients selon le statut mutationnel de 3 marqueurs moléculaires, soit IDH, pTERT et codélétion 1p/19q, différents sous-groupes ont été réalisés. La majorité était IDH non muté et pTERT muté ($n = 347$; 73 %). Parmi les gliomes de grade IV, une association significative avec la survie globale a été constatée suite à la formation de ces groupes moléculaires, mais dans un modèle univarié seulement (figure 4). Bien que les variables de l'âge au diagnostic et le sous-groupe moléculaire soient toutes deux des variables associées à la SG, celles-ci n'étaient pas indépendantes l'une de l'autre.

Figure 4 Courbes de survie des patients atteints d'un gliome de grade IV lorsque stratifiés en fonction des statuts d'IDH et de pTERT



Source : Figure tirée de l'article d'Eckel-Passow *et al.*, 2015.

Bilan de la valeur pronostique de pTERT dans les glioblastomes

La majorité des études retenues démontrent que la mutation du promoteur du gène *TERT* est un marqueur pronostique associé à un plus grand risque de décès dans les glioblastomes IDH non muté.

4.2.3 Mutation de pTERT et méthylation de pMGMT chez les patients atteints d'un glioblastome primaire (IDH non muté)

La valeur pronostique des mutations C228T et C250T de pTERT en lien avec la méthylation de pMGMT dans les glioblastomes a été relevée dans 3 études rétrospectives. Les publications retenues sont les suivantes :

- Arita et ses collaborateurs [2016] ont étudié l'utilité d'une classification moléculaire basée sur la mutation de pTERT chez 453 patients atteints de glioblastome primaire;
- Nguyen et ses collaborateurs [2017] ont investigué le potentiel de marqueur pronostique de mutations de pTERT dans une cohorte de 303 patients atteints de glioblastome primaire (*IDH1* non muté);
- Purkait et ses collaborateurs [2016] ont réalisé une étude visant à déterminer les altérations génétiques qui ont la meilleure valeur pronostique chez 73 patients atteints d'un glioblastome.

Les patients des trois études avaient reçu des traitements concomitants de témozolomide et de radiothérapie.

Survie globale

Les trois études ont stratifié les patients en groupes moléculaires selon la survie associée à la mutation de pTERT et à la méthylation de pMGMT (tableau 4).

Tableau 4 Médiane de survie globale des patients atteints de glioblastome selon les marqueurs pTERT et pMGMT

MARQUEURS MOLÉCULAIRES		ARITA <i>ET AL.</i> , 2016		NGUYEN <i>ET AL.</i> , 2017		PURKAIT <i>ET AL.</i> , 2016	
pTERT	pMGMT	PATIENTS	SG	PATIENTS	SG	PATIENTS	SG
Muté	Méthylé	88	30,0	93	28,3	37 [†]	20,8 [†]
Non muté	Méthylé	64	26,6	25	19,1	12	NA
Non muté	Non méthylé	126	18,8	50	17,8	37 [†]	20,8 [†]
Muté	Non méthylé	175	14,6	135	15,9	24	7,7

Abréviations : NA : non atteinte; pMGMT : promoteur du gène *MGMT*; pTERT : promoteur du gène *TERT*; SG : survie globale.

*Les valeurs de survie globale sont des médianes présentées en mois.

[†]Les patients dont pTERT était muté et pMGMT méthylé ont été regroupés avec les patients dont pTERT était non muté et pMGMT non méthylé par les auteurs de l'étude.

Dans la première étude, l'analyse de Kaplan-Meier d'Arita et ses collaborateurs [2016] démontre que la stratification de la survie globale était significative ($p < 0,0001$). De plus le groupe pTERT muté et pMGMT non méthylé a présenté une survie globale significativement plus courte que le groupe pTERT non muté et pMGMT non méthylé (14,6 mois contre 18,8 mois; $p < 0,0001$).

Dans la deuxième étude, Nguyen et ses collaborateurs [2017] démontrent que pour les patients atteints d'un glioblastome primaire, le statut pMGMT méthylé est associé à un gain de survie globale seulement pour les porteurs d'une mutation de pTERT (médianes de 28,3 mois contre 15,9 mois; $p < 0,0001$). De plus, l'analyse de Kaplan-Meier démontre que la mutation de pTERT est associée à une médiane de survie globale plus longue chez les patients dont le glioblastome présente pMGMT méthylé (médianes de 28,3 mois contre 19,1 mois; $p = 0,0231$).

L'analyse de survie réalisée par Purkait et ses collaborateurs [2016], contrairement aux deux premières études, indiquait que le groupe de patients avec le meilleur pronostic était celui qui présentait seulement la méthylation de pMGMT (12 patients dont la survie médiane n'a pas été atteinte sur une durée de suivi non précisée). Le groupe présentant le pire pronostic demeurait, en accord avec les deux autres études, celui qui ne présentait que la mutation de pTERT (survie globale de 7,7 mois).

Risque de décès

Arita et ses collaborateurs [2016] ont réalisé une régression multivariée d'après le modèle de Cox en tenant compte des variables suivantes :

- l'âge;
- le statut de performance de Karnofsky;
- la mutation de pTERT;
- la méthylation de pMGMT;
- l'étendue de la résection chirurgicale.

Celle-ci a démontré qu'une interaction significative était présente entre pMGMT et pTERT

pour la survie globale des patients ($p = 0,006$) [Arita *et al.*, 2016]. L'analyse multivariée est présentée au tableau 5. Comparativement aux GBM pTERT muté/MGMT non méthylé (groupe de référence), le risque de décès était le plus faible pour le groupe pTERT muté/MGMT méthylé (0,266).

Tableau 5 Analyse multivariée du risque de décès associé à pTERT et pMGMT des patients atteints de glioblastomes de l'étude d'Arita

STATUT DES MARQUEURS MOLÉCULAIRES		RRI DE DÉCÈS
pTERT	pMGMT	
Muté	Méthylé	0,266
Non muté	Méthylé	0,317
Non muté	Non méthylé	0,542
Muté	Non méthylé	1,00 (référence)

Abréviations : pMGMT : promoteur du gène MGMT; pTERT : promoteur du gène *TERT*; RRI : rapport des risques instantanés.

La régression multivariée d'après le modèle de Cox réalisée par Nguyen et ses collaborateurs [2017] a été effectuée en tenant compte des variables suivantes :

- l'âge;
- le genre;
- le statut de performance de Karnofsky;
- la mutation de pTERT;
- la méthylation de pMGMT;
- l'étendue de la résection chirurgicale;
- le traitement au bévacicumab.

Quatre groupes de patients ont été formés en fonction du statut des marqueurs moléculaires pTERT et pMGMT. Le groupe de référence était celui dont les patients ne présentaient ni méthylation de pMGMT, ni mutation de pTERT (tableau 6).

Tableau 6 Analyse multivariée du risque de décès associé à pTERT et pMGMT des patients atteints d'un glioblastome de l'étude de Nguyen

STATUT DES MARQUEURS MOLÉCULAIRES		SURVIE GLOBALE	
pTERT	pMGMT	RRI (IC95 %)	VALEUR p
Muté	Méthylé	0,53 (0,34-0,82)	0,0047
Non muté	Méthylé	0,85 (0,48-1,52)	NS
Non muté	Non méthylé	1,00 (référence)	-
Muté	Non méthylé	1,68 (1,13-2,50)	0,0098

Abréviations : IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; NS : non significatif; pMGMT : promoteur du gène *MGMT*; pTERT : promoteur du gène *TERT*; RRI : rapport des risques instantanés.

Ainsi, parmi les patients ne présentant pas de méthylation de pMGMT, la mutation de pTERT a été associée à une augmentation significative du risque de décès de 68 % ($p = 0,0098$) comparativement à l'absence de mutation pTERT [Nguyen *et al.*, 2017].

L'analyse multivariée d'après le modèle de Cox réalisée par Purkait et ses collaborateurs [2016], a pris en compte les variables suivantes :

- l'âge;
- la mutation du gène *TP53*;
- l'amplification du gène *EGFR*;
- l'amplification du gène *PDGFRA*;
- l'expression du gène *NF1*.

Conformément aux deux autres études, celle-ci a validé que le groupe de patients atteints d'un glioblastome présentant seulement la mutation de pTERT avait le risque de décès le plus élevé (RRI : 11,12 [1,99 à 61,99]; $p = 0,006$). Les analyses multivariées sont présentées au tableau 7.

Tableau 7 Analyses multivariées de risque de décès associé à pTERT et pMGMT des patients atteints d'un glioblastome IDH non muté de l'étude de Purkait

STATUT DES MARQUEURS MOLÉCULAIRES	SURVIE GLOBALE	
	RRI (IC95 %)	VALEUR p
pTERT non muté, pMGMT méthylé	1,00 (Référence)	-
pTERT muté, pMGMT méthylé et pTERT non muté, pMGMT non méthylé	2,42 (0,42-13,97)	NS
pTERT muté, pMGMT non méthylé	11,12 (1,99-61,99)	0,006

Abréviations : IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; NS : non significatif; RRI : rapport des risques instantanés.

Bilan de survie globale

Les trois études présentent des groupes selon les marqueurs moléculaires pTERT et pMGMT. Les rapports de risques indiquent dans les trois études que les patients dont le glioblastome IDH non muté dont seulement pTERT est muté, présentent le plus grand risque de décès.

Survie sans progression

Les trois études ont stratifié les patients en groupes moléculaires selon la mutation de pTERT et de la méthylation de pMGMT (tableau 8).

Tableau 8 Médiane de survie sans progression des patients atteints de glioblastome selon les marqueurs pTERT et pMGMT

MARQUEURS MOLÉCULAIRES		ARITA <i>ET AL.</i> , 2016		NGUYEN <i>ET AL.</i> , 2017		PURKAIT <i>ET AL.</i> , 2016	
pTERT	pMGMT	PATIENTS	SSP	PATIENTS	SSP	PATIENTS	SSP
Muté	Méthylé	83	14,5	89	15,4	37 [†]	11,1 [†]
Non muté	Méthylé	57	12,8	25	10,8	12	19,4
Non muté	Non méthylé	117	9,8	50	6,94	37 [†]	11,1 [†]
Muté	Non méthylé	168	7,2	135	7,86	24	4,6

Abréviations : NA : non atteinte; pMGMT : promoteur du gène *MGMT*; pTERT : promoteur du gène *TERT*; SSP : survie sans progression.

*Les valeurs de survie sans progression sont des médianes présentées en mois.

[†]Les patients dont pTERT était muté et pMGMT méthylé ont été regroupés avec les patients dont pTERT était non muté et pMGMT non méthylé par les auteurs de l'étude.

Dans la première étude, Arita et ses collaborateurs [2016] démontrent que la stratification de la survie sans progression était significative ($P < 0,0001$). De plus, le groupe pTERT muté et pMGMT non méthylé a présenté une survie sans progression significativement plus

courte que le groupe pTERT non muté et pMGMT non méthylé (7,2 mois contre 9,8 mois; $p = 0,0003$).

Dans la deuxième étude, Nguyen et ses collaborateurs [2017] démontrent que pour les patients atteints d'un glioblastome primaire, le statut pMGMT méthylé est associé à un gain de survie sans progression seulement pour les porteurs d'une mutation de pTERT (15,4 mois contre 7,86 mois; $p < 0,0001$). De plus, l'analyse de Kaplan-Meier démontre que la mutation de pTERT est associée à une médiane de survie sans progression plus longue lorsque le glioblastome présente pMGMT méthylé (15,4 mois contre 10,8 mois; $p = 0,0318$).

Risque de progression de la tumeur

La régression multivariée d'après le modèle de Cox réalisée par Arita et ses collaborateurs [2016] dans les conditions décrites précédemment a démontré que les mutations de pTERT et la méthylation de pMGMT étaient des facteurs indépendants influençant la survie sans progression des patients atteints d'un glioblastome primaire (tableau 9).

Tableau 9 Analyses multivariées de risque de progression d'un glioblastome primaire de l'étude d'Arita

MARQUEURS MOLÉCULAIRES	RRI (IC95 %)	VALEUR p
pMGMT méthylé contre non méthylé	0,48 (0,368-0,613)	< 0,0001
pTERT non muté contre muté	0,65 (0,513-0,821)	0,0003

Abréviations : pMGMT : promoteur du gène *MGMT*; pTERT : promoteur du gène *TERT*; RRI : rapport des risques instantanés.

Ainsi Arita et ses collaborateurs [2016] démontrent que le risque de progression d'un glioblastome primaire est réduit de 35 % lorsque pTERT est non muté ($p = 0,0003$), et ce, indépendamment du statut méthylationnel de pMGMT.

Nguyen et ses collaborateurs [2017] ont réalisé une régression multivariée d'après le modèle de Cox dans des conditions décrites précédemment formant les mêmes groupes moléculaires. Les données sont présentées au tableau 10.

Tableau 10 Analyse multivariée du risque de progression d'un glioblastome associé à la mutation de pTERT et à la méthylation de pMGMT de l'étude de Nguyen

STATUT DES MARQUEURS MOLÉCULAIRES		SURVIE SANS PROGRESSION	
pTERT	pMGMT	RRI (IC95 %)	VALEUR p
Muté	Méthylé	0,57 (0,37-0,89)	0,0121
Non muté	Méthylé	0,88 (0,47-1,65)	NS
Non muté	Non méthylé	1,00 (référence)	-
Muté	Non méthylé	1,57 (1,05-2,36)	0,0287

Abréviations : IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; NS : non significatif; pMGMT : promoteur du gène *MGMT*; pTERT : promoteur du gène *TERT*; RRI : rapport des risques instantanés.

Le groupe formé des patients atteints d'un glioblastome pTERT muté et pMGMT non méthylé avaient le risque de progression de la tumeur le plus élevé comparativement aux patients dont la tumeur ne présentait ni mutation de pTERT ni méthylation de pMGMT (RRI : 1,57 [1,05 à 2,36]; $p = 0,0287$) [Nguyen *et al.*, 2017].

L'analyse multivariée d'après le modèle de Cox réalisée par Purkait et ses collaborateurs, [2016] conformément aux deux autres études, a validé que le groupe de patients atteints d'un glioblastome présentant seulement la mutation de pTERT avait le risque de progression de la tumeur le plus élevé (RRI : 10,44 [3,21 à 33,09]; $p < 0,001$). Les analyses multivariées

sont présentées au tableau 11.

Tableau 11 Analyses multivariées de risque de progression d'un glioblastome associé à la mutation de pTERT et à la méthylation de pMGMT de l'étude de Purkait

STATUT DES MARQUEURS MOLÉCULAIRES	SURVIE SANS PROGRESSION	
	RRI (IC95 %)	VALEUR p
pTERT non muté, pMGMT méthylé	1,00 (Référence)	-
Groupe pTERT muté, pMGMT méthylé et groupe pTERT non muté, pMGMT non méthylé	2,67 (0,81-8,75)	NS
pTERT muté, pMGMT non méthylé	10,44 (3,21-33,09)	< 0,001

Abréviations : IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; NS : non significatif; pMGMT : promoteur du gène MGMT; pTERT : promoteur du gène *TERT*; RRI : rapport des risques instantanés.

Bilan de survie sans progression

Les trois études démontrent que les glioblastomes de statut IDH non muté dont pTERT est muté et pMGMT n'est pas méthylé forment le groupe moléculaire présentant le plus grand risque de progression de la tumeur.

4.2.4 Mutation pTERT chez les patients atteints de méningiomes

Deux études concernant la valeur pronostique des mutations du promoteur du gène *TERT* (pTERT) ont été retenues.

Étude réalisée par Sahm *et al.*, 2016

Sahm et ses collaborateurs [2016] ont réalisé une étude rétrospective visant à déterminer le statut mutationnel de pTERT de 252 patients atteints d'un méningiome (grades I à III) et de comparer sa valeur pronostique à celle de la classification de l'OMS. Des mutations pTERT ont été identifiées dans 1,7 % (2/119) des méningiomes de grade I, 5,7 % (5/88) de grade II et 20 % (9/45) de grade III. Les patients avaient été suivis pendant une durée médiane de 66,87 mois.

Parmi les méningiomes de grade I, la mutation de pTERT était significativement associée à une récurrence à morphologie progressive, c'est-à-dire une récurrence avec progression du grade du méningiome ($p = 0,01$). Parmi les méningiomes de grades II et III, la mutation de pTERT était également associée à la récurrence de la tumeur (respectivement : $p = 0,02$; $p = 0,009$).

Dans tous les méningiomes, la mutation de pTERT était associée à un délai avant la progression de la tumeur (TTP, de l'anglais *time to progression*) significativement plus court ($p < 0,001$). Entre autres, chez les patients dont le méningiome était de grade III, le statut pTERT muté a été associé à un TTP médian de 10,1 mois contre 179 mois pour les cas pTERT non muté ($p < 0,001$).

Outre la mutation de pTERT, le grade de la tumeur et le genre masculin ont montré une association défavorable avec la récurrence des méningiomes (respectivement $p = 0,005$ et $p < 0,001$). Des analyses multivariées ont été réalisées d'après le modèle de Cox en tenant compte du grade de la tumeur, du genre des patients et du statut mutationnel de pTERT. D'après ces analyses, le statut pTERT muté s'est avéré être le marqueur ayant le plus d'influence sur le TTP d'un méningiome, soit une augmentation significative de 7,67 fois de voir ce délai raccourci comparativement au statut pTERT non muté (tableau 12).

Tableau 12. Analyse multivariée de l'influence du grade, du genre et de la mutation de pTERT sur le délai avant la progression d'un méningiome

VARIABLES	DÉLAI AVANT LA PROGRESSION	
	RAPPORT DES RISQUES INSTANTANÉS (IC95 %)	VALEUR p
Grade de la tumeur :		
▪ II contre I	1,99 (1,23-3,21)	0,005
▪ III contre I	3,42 (1,97-5,90)	< 0,001
Genre (masculin contre féminin)	1,49 (0,97-2,29)	NS
pTERT (muté contre non muté)	7,67 (4,00-14,72)	< 0,001

Abréviations : IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; NS : non significatif; pTERT : promoteur du gène *TERT*.

Selon les auteurs, le statut mutationnel de pTERT possède une meilleure valeur pronostique en termes de délai avant la progression de la tumeur que la gradation des méningiomes de l'OMS. Les mutations de pTERT sont associées à un grade élevé et à une récurrence précoce des méningiomes, ce qui en fait un outil pertinent pour établir le pronostic des patients atteints de méningiome [Sahm *et al.*, 2016].

Étude réalisée par Goutagny *et al.*, 2014

Goutagny et ses collaborateurs [2014] ont réalisé une étude visant à vérifier l'implication des mutations de pTERT dans la progression tumorale des méningiomes. Au total, 85 échantillons de méningiomes provenant de 73 patients ont été testés pour la présence de ces mutations. Les patients étaient classés en trois groupes; 35 patients sans récurrence de la tumeur, 20 patients avec récurrence sans progression du grade et 18 avec récurrence et progression du grade.

Des mutations de pTERT ont été identifiées chez 6 patients (8 %) dont 5 du groupe avec récurrence et progression du grade. Ainsi, le méningiome de 83 % des patients présentant une mutation de pTERT avait progressé en grade lors de la récurrence contre 19 % des patients dont pTERT était non muté ($p = 0,0029$). Les données sont présentées dans le tableau 13.

Tableau 13. Répartition des méningiomes selon le statut mutationnel de pTERT

GROUPE DE PATIENTS	STATUT DE pTERT		VALEUR p
	MUTÉ (%)	NON MUTÉ (%)	
Total (73)	6 (100)	67 (100)	-
Récurrence avec progression (18)	5 (83)	13 (19)	0,0029
Récurrence sans progression (20)	0 (0)	20 (30)	0,017
Sans récurrence (35)	1* (17)	34 (51)	ND

Abréviations : ND : non disponible; pTERT : promoteur du gène *TERT*.

*Le patient était atteint d'un méningiome agressif de grade II et est décédé rapidement après l'opération avant qu'une progression puisse avoir lieu.

Les auteurs suggèrent que l'identification de mutations de pTERT dans des méningiomes phénotypiquement bénins pourrait être un marqueur prédictif du risque de progression à un grade histologique plus élevé. Une fois ces données validées par une étude prospective sur une cohorte plus importante, l'identification de mutations de pTERT pourrait mener à une prise en charge différente pour ces patients [Goutagny *et al.*, 2014].

Bilan de la valeur pronostique de la mutation de pTERT dans les méningiomes

Les deux études ont identifié des mutations de pTERT dans le méningiome de 6 % à 8 % des patients. Les études démontrent que la mutation de pTERT est associée à la récurrence et à la progression en grade des méningiomes.

4.3 Valeur thérapeutique

Aucune étude n'a été retenue sur ce sujet parce que la recherche de mutations dans le promoteur du gène *TERT* n'a pas pour objectif de prévoir la réponse à un traitement ou d'évaluer l'efficacité.

4.4 Validité analytique

Au total, 8 études ont été répertoriées utilisant la méthode SNaPshot^{MC} pour la recherche des mutations C228T et C250T de pTERT. Toutefois, aucune étude ne permet d'apprécier la performance de la méthode SNaPshot^{MC} pour la détection des mutations C228T et C250T de pTERT dans des échantillons de gliomes diffus de grades II, III et IV.

4.5 Données fournies par le demandeur

La méthode proposée par le demandeur pour déterminer le génotype des positions C228 et C250 de pTERT s'inspire de la méthode de mini-séquençage par réactions multiplexes publiée par [Dubbink *et al.*, 2014]. Des modifications mineures ont été apportées quant au sens et à la longueur des amorces. Les amorces utilisées étaient respectivement de 35 nucléotides (nts) pour l'extension de base à la position C228 et de 55 nts pour l'extension à la position C250.

La méthode a initialement été optimisée avec un contrôle négatif commercial (Horizon Diagnostics, UK). La validation locale de la méthode a été réalisée sur 57 échantillons de tissus fixés au formaldéhyde et enrobés de paraffine. Il s'agissait de 43 échantillons de gliomes et 14 échantillons de lymphomes (contrôles négatifs). Les échantillons contenaient un minimum de 20 % de cellules tumorales.

Dans le tableau 14, on retrouve la taille du produit une fois que l'extension d'une seule base est réalisée. Toutefois, il y a une différence entre la taille théorique et celle observée après la réaction d'extension. Dans le cas de la mutation C228T, la taille de l'amorce après l'extension pour le nucléotide sauvage est de $41,75 \pm 0,34$ nts et celle pour le nucléotide muté est de $44,01 \pm 0,52$ nts. Dans le cas de la mutation C250T, la taille de l'amorce après l'extension pour le nucléotide sauvage est de $60,208 \pm 0,38$ nts et celle pour le nucléotide muté est de $61,06 \pm 0,45$ nts.

Tableau 14. Validation de la détection des allèles non mutés et mutés

STATUT pTERT DES PATIENTS	TAILLE DE LA RÉACTION D'EXTENSION (nt)			
	POSITION C228		POSITION C250	
	NON MUTÉ	MUTÉ	NON MUTÉ	MUTÉ
Non muté	$41,756 \pm 0,34$	-	$60,208 \pm 0,38$	-
Muté C228T	$41,756 \pm 0,34$	$44,016 \pm 0,52^{\dagger}$	$60,208 \pm 0,38$	-
Muté C250T	$41,756 \pm 0,34$	-	$60,208 \pm 0,38$	$61,06 \pm 0,45^{\ddagger}$

Abréviations : nt : nucléotides; pTERT : promoteur du gène *TERT*.

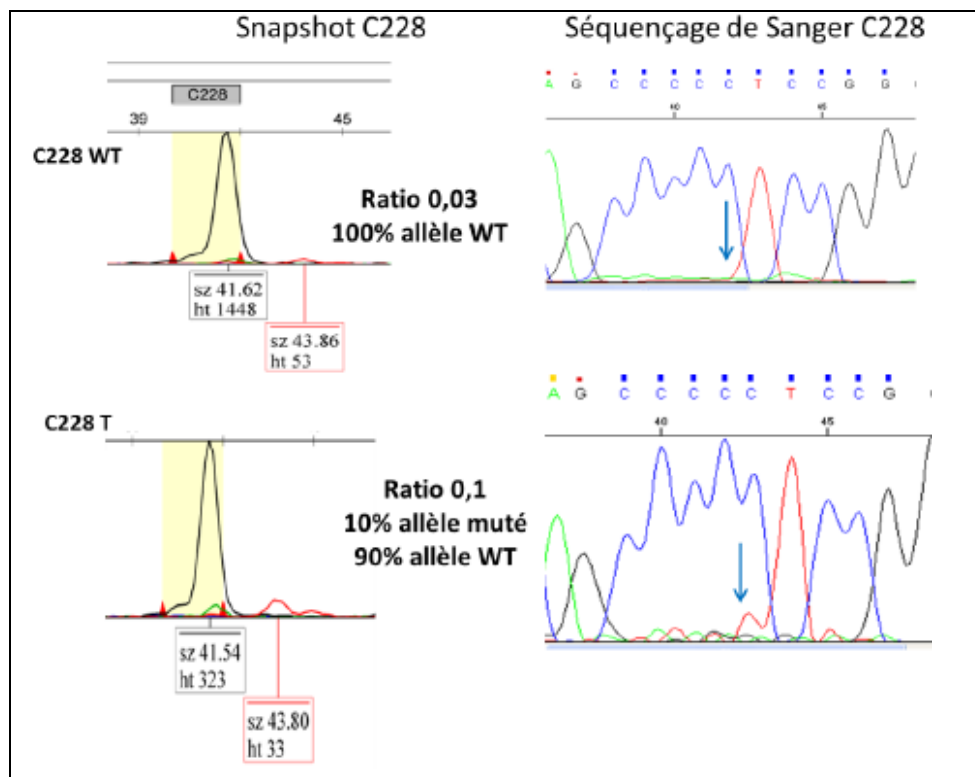
Ces données ont été déterminées en testant un minimum de 57 échantillons pour les positions non mutées. Les positions C228T et C250T ont respectivement été validées avec un minimum de 26 échantillons et avec 10 échantillons.

Afin de déterminer la limite de détection de l'analyse par SNaPshot^{MC}, le laboratoire a déterminé que le pic muté devait avoir une intensité d'au moins 3 fois supérieure à celle du bruit de fond habituellement rencontré à ces positions pour déterminer que le pic est réel. La présence de bruit de fond a respectivement été déterminée en testant 37 et 48 échantillons négatifs pour les positions C228T et C250T. Ces analyses ont permis de déterminer qu'un bruit de fond était présent seulement à la position C228T mais pas à la position C250T (figures 5 et 6). À partir de ces observations, il a été déterminé que la limite de détection était de :

- C228T : rapport pic muté / pic non muté > 6 %;
- C250T : rapport pic muté / pic non muté > 1 %.

Étant donné que le séquençage de Sanger a une limite de détection de 25 à 30 % d'allèle muté, seuls les échantillons qui ont présenté un rapport muté / non muté supérieur à 0,1 par SNaPshot^{MC} ont été validés par séquençage de Sanger (figures 5 et 6).

Figure 5 Position C228 et mutation C228T de pTERT analysés par SNaPshot^{MC} et par Sanger



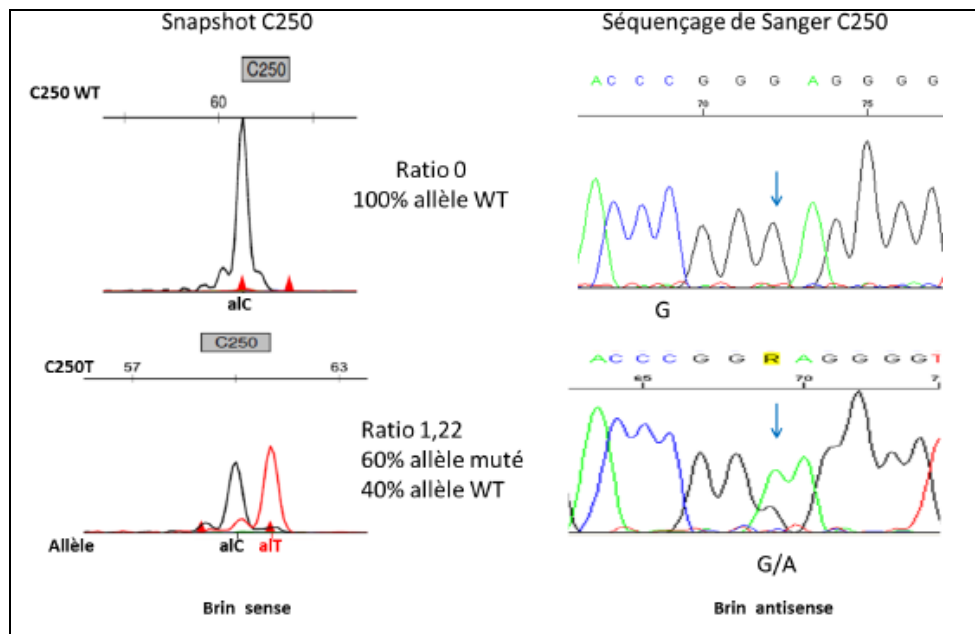
Source : Figure tirée du Rapport de validation pour le test de détection des mutations dans le gène *TERT* (Andréa Gomez, Ph.D.).

Abréviations : ht : hauteur du pic; sz : taille de l'extension de base; WT : non muté.

Les mutants C228T et C250T de pTERT ont respectivement été identifiés à 20 et 10 reprises parmi les échantillons de gliomes et à aucune reprise parmi les échantillons de lymphomes. Les 30 échantillons présentant des mutations ont été contrôlés par séquençage de Sanger et ont présenté la performance suivante :

- Sensibilité C228T : 100 % (IC95 % : 83,16-100);
- Sensibilité C250T : 100 % (IC95 % : 69,15-100);
- Spécificité C228T : 100 % (IC95 % : 69,15-100);
- Spécificité C250T : 100 % (IC95 % : 83,16-100).

Figure 6 Position C250 et mutation C250T de pTERT analysés par SNaPshot^{MC} et par Sanger



Source : Figure tirée du Rapport de validation pour le test de détection des mutations dans le gène *TERT* (Andréa Gomez, Ph.D.).

Abréviation : WT : non muté.

5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* de l'analyse détectant les mutations C228T et C250T de pTERT par SNaPshot^{MC}. Celle-ci serait réalisée chez les patients avec un diagnostic de gliomes. Les coûts sont projetés sur un horizon temporel de 3 ans selon la perspective du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS). L'analyse repose sur des données épidémiologiques, ainsi que sur des hypothèses appuyées par des études cliniques et l'opinion d'experts. L'évaluation des coûts est présentée au tableau 15. Les principales hypothèses émises pour les fins de l'analyse sont les suivantes :

- Selon les statistiques canadiennes sur le cancer :
 - 830 nouveaux cas de cancer de l'encéphale et du système nerveux central étaient prévus en 2016;
 - L'augmentation annuelle du nombre de nouveaux cas est estimée à 1,2 %;
 - Les gliomes représentent environ 70 % de toutes les tumeurs malignes (haut grade) du système nerveux central (SNC). [Ostrom *et al.*, 2016; SCC, 2016].
- Cette analyse serait complémentaire à la recherche de mutations dans les gènes *IDH1* et *IDH2* et à la détermination du statut de méthylation du promoteur du gène *MGMT*. Ces deux analyses figurent actuellement au *Répertoire*.
- Selon l'opinion d'experts, un usage progressif du test est prévu. Il serait alors effectué chez 30 %, 40 % et 50 % des patients atteints de gliomes pour chacune des trois premières années suivant son ajout au *Répertoire*.
- Ainsi, 176, 238 et 301 analyses seraient réalisées pour cette période.
- Ces analyses représenteraient 100 % des analyses prévues pour les patients du système de santé public québécois.
- L'analyse proposée n'a fait l'objet d'aucun envoi hors Québec au cours des dernières années.
- La valeur pondérée proposée par le demandeur est de 81,35.
- Aucune modification significative de la prise en charge des patients n'est anticipée suivant cette analyse.

Tableau 15. Coûts directs liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse détectant les mutations C228T et C250T de pTERT par SNaPshot^{MC} chez les patients atteints de gliomes

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Nombre d'analyses anticipées	176	238	301	715
Coûts si introduction de l'analyse	14 349 \$	19 362 \$	24 493 \$	58 205 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, coûts les plus faibles			41 575 \$
	Pour 3 ans, coûts les plus élevés			87 250 \$

Ainsi, les coûts liés à l'introduction de l'analyse au *Répertoire* sont environ de 58 000 \$ pour le total des trois premières années.

6 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

La mise à jour de 2016 de la classification des tumeurs cérébrales de l'OMS représente une avancée substantielle sur la version de 2007 du fait que des paramètres moléculaires sont utilisés dans le diagnostic des tumeurs. Il est probable que la version de 2016 sera éventuellement perçue comme un stade intermédiaire de l'évolution de cette classification lors de l'incorporation subséquente de marqueurs moléculaires objectifs [Louis *et al.*, 2016].

Il est en effet possible que des études pangénomiques de typage (panels de séquençage nouvelle génération, essais de méthylation) soient proposées dans les prochaines révisions de cette classification⁴.

Cette même mise à jour de la classification des tumeurs cérébrales propose la détection des mutations IDH1/2 pour évaluer le pronostic de survie des patients atteints d'un glioblastome. De plus, la mise à jour de 2016 ne propose toujours aucun marqueur moléculaire pour stratifier le pronostic des patients atteints d'un méningiome [Louis *et al.*, 2016].

7 POSITIONS OU ORIENTATIONS DES PRINCIPALES ORGANISATIONS CONCERNANT L'ANALYSE ÉVALUÉE

L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) a publié une mise à jour de la classification des tumeurs cérébrales en 2016. Celle-ci intègre désormais des marqueurs moléculaires pour le diagnostic intégré des différents types de gliomes diffus mais ne recommande pas l'analyse des mutations du promoteur *TERT* [Louis *et al.*, 2016].

L'European Association of Neuro-Oncology a publié un guide de pratique pour le diagnostic et le traitement des gliomes anaplasiques et des glioblastomes dans lequel le rôle de pTERT n'est pas abordé [Weller *et al.*, 2014].

L'European Society for Medical Oncology a publié un guide de pratique pour le diagnostic, le traitement et le suivi des patients atteints de gliomes de haut grade dans lequel le rôle de pTERT n'est pas abordé [Stupp *et al.*, 2014].

Le guide de pratique du National Comprehensive Cancer Network traitant des cancers du système nerveux central n'aborde pas non plus les mutations du promoteur du gène *TERT* [NCCN, 2016].

⁴ Informations transmises par D^r Maxime Richer, neuropathologiste le 8 mars 2017.

8 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

Dans le contexte actuel, la classification des gliomes diffus de l'OMS incorpore désormais l'utilisation de marqueurs moléculaires afin de préciser le pronostic des patients. L'analyse proposée vise à préciser le pronostic des patients atteints de gliomes diffus de statut IDH non muté. De plus, l'analyse est proposée pour préciser le pronostic des patients atteints de méningiome, pour lesquels aucun marqueur moléculaire n'est présentement disponible.

Dans les gliomes de grade II et III IDH non muté, l'association de la mutation de pTERT à la survie globale est démontrée par les trois études sélectionnées.

Dans les glioblastomes primaires (gliomes de grade IV IDH non muté), l'association de la mutation de pTERT à la survie globale des patients est démontrée dans cinq des huit études sélectionnées. De plus, la présence de la mutation de pTERT en absence de la méthylation de pMGMT permet d'identifier un groupe de patients dont la survie globale est plus courte. Les analyses de risques démontrent également que le risque de décès et le risque de progression de la maladie de ces patients sont plus élevés en présence de la mutation de pTERT.

Dans les méningiomes, les deux études démontrent une association de la mutation de pTERT avec le risque de récurrence et de progression de la tumeur à un grade supérieur.

La littérature ne permet pas d'apprécier la performance de la méthode SNaPshot^{MC} pour la détection des mutations C228T et C250T du promoteur du gène *TERT* dans les gliomes et les méningiomes. Toutefois, le laboratoire formulant la demande a validé l'analyse sur des échantillons et comparé les résultats avec le séquençage de Sanger.

Les coûts liés à l'introduction de l'analyse au *Répertoire* sont d'environ 58 000 \$ pour le total des trois premières années.

À ce jour, aucun organisme ne recommande l'analyse mutationnelle C228T et C250T du promoteur du gène *TERT*, toutefois les évidences identifiées sont très récentes.

9 RECOMMANDATION de l'INESSS

Détection des mutations C228T et C250T du promoteur du gène *TERT* par SNaPshot^{MC}

La recommandation de l'INESSS

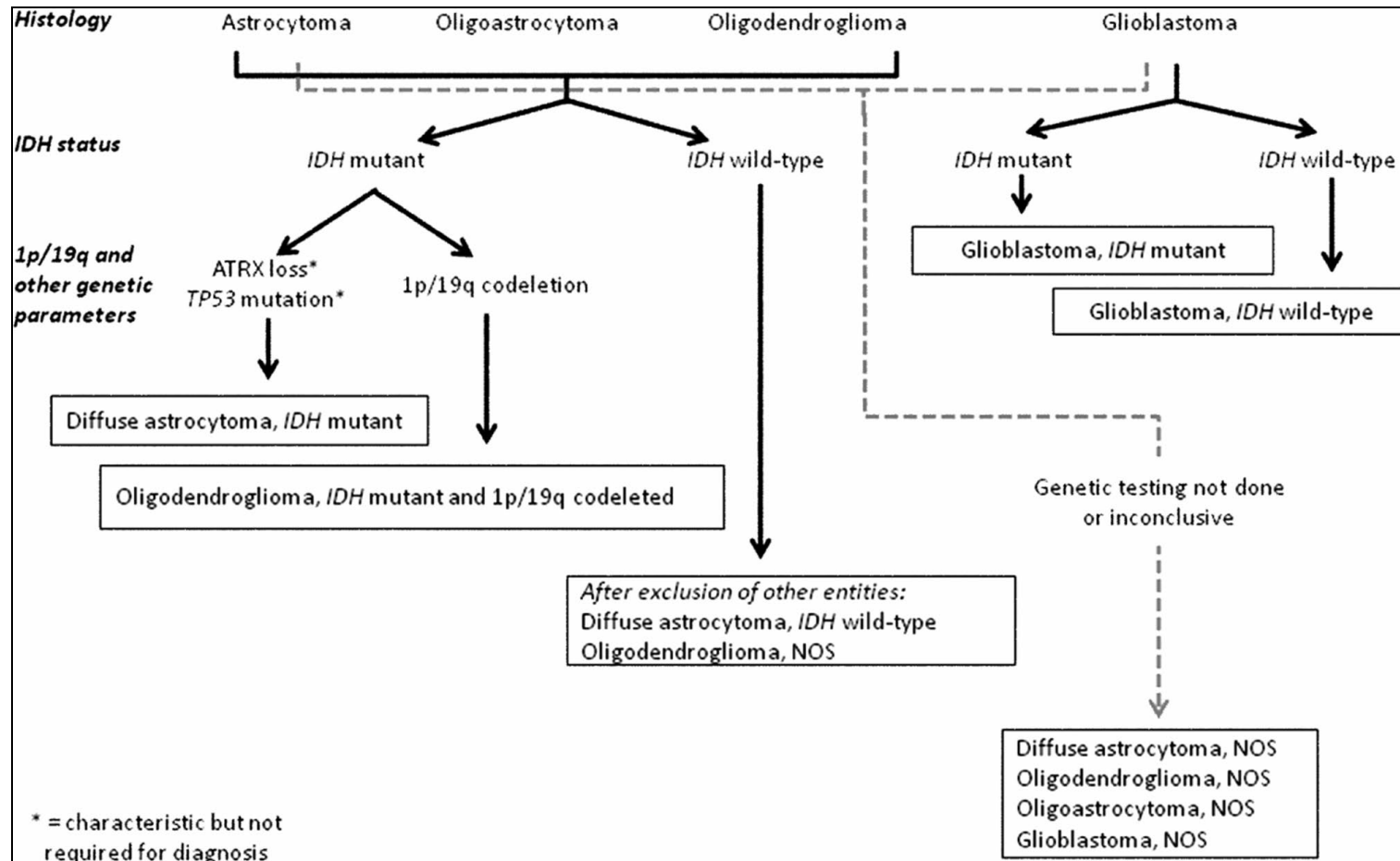
- ☐ Introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☒ Refus d'introduction de l'analyse dans le *Répertoire*

Précision accompagnant la recommandation

- ✓ Les membres du comité reconnaissent le caractère innovateur de l'analyse proposée. Toutefois, les preuves scientifiques publiées sont insuffisantes pour appuyer l'utilité clinique de l'analyse.

ANNEXE A

Algorithme simplifié de la classification des gliomes diffus basés sur des caractéristiques histologiques et génétiques



Source : Figure tirée de Louis *et al.*, 2016.

RÉFÉRENCES

- Arita H, Yamasaki K, Matsushita Y, Nakamura T, Shimokawa A, Takami H, et al. A combination of TERT promoter mutation and MGMT methylation status predicts clinically relevant subgroups of newly diagnosed glioblastomas. *Acta Neuropathol Commun* 2016;4(1):79.
- Chan AK, Yao Y, Zhang Z, Chung NY, Liu JS, Li KK, et al. TERT promoter mutations contribute to subset prognostication of lower-grade gliomas. *Mod Pathol* 2015;28(2):177-86.
- Dubbink HJ, Bakels H, Post E, Zwarthoff EC, Verdijk RM. TERT promoter mutations and BRAF mutations are rare in sporadic, and TERT promoter mutations are absent in NF1-related malignant peripheral nerve sheath tumors. *J Neurooncol* 2014;120(2):267-72.
- Eckel-Passow JE, Lachance DH, Molinaro AM, Walsh KM, Decker PA, Sicotte H, et al. Glioma groups based on 1p/19q, IDH, and TERT promoter mutations in tumors. *N Engl J Med* 2015;372(26):2499-508.
- Geng P, Zhao X, Ou J, Li J, Sa R, Liang H. TERT genetic mutations as prognostic marker in glioma. *Mol Neurobiol* 2017;54(5):3665-9.
- Goutagny S, Nault JC, Mallet M, Henin D, Rossi JZ, Kalamarides M. High incidence of activating TERT promoter mutations in meningiomas undergoing malignant progression. *Brain Pathol* 2014;24(2):184-9.
- Heidenreich B, Rachakonda PS, Hosen I, Volz F, Hemminki K, Weyerbrock A, Kumar R. TERT promoter mutations and telomere length in adult malignant gliomas and recurrences. *Oncotarget* 2015;6(12):10617-33.
- Killela PJ, Pirozzi CJ, Healy P, Reitman ZJ, Lipp E, Rasheed BA, et al. Mutations in IDH1, IDH2, and in the TERT promoter define clinically distinct subgroups of adult malignant gliomas. *Oncotarget* 2014;5(6):1515-25.
- Labussiere M, Boisselier B, Mokhtari K, Di Stefano A, Rahimian A, Saulnier O, et al. Combined analysis of TERT, EGFR, and IDH status define distinct prognostic classes of glioblastoma. *Neuro Oncol* 2014;16(Suppl 2):ii14 [abstract O6.08].
- Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: A summary. *Acta Neuropathol* 2016;131(6):803-20.
- Mosrati MA, Malmstrom A, Lysiak M, Krysztofiak A, Hallbeck M, Milos P, et al. TERT promoter mutations and polymorphisms as prognostic factors in primary glioblastoma. *Oncotarget* 2015;6(18):16663-73.
- National Comprehensive Cancer Network (NCCN). Central nervous system cancers. Version 1.2016. Clinical Practice Guidelines in Oncology. Fort Washington, PA : NCCN; 2016. Disponible à : https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp.
- Nguyen HN, Lie A, Li T, Chowdhury R, Liu F, Ozer B, et al. Human TERT promoter mutation enables survival advantage from MGMT promoter methylation in IDH1 wild-type primary glioblastoma treated by standard chemoradiotherapy. *Neuro Oncol* 2017;19(3):394-404.
- Nonoguchi N, Ohta T, Oh JE, Kim YH, Kleihues P, Ohgaki H. TERT promoter mutations in primary and secondary glioblastomas. *Acta Neuropathol* 2013;126(6):931-7.

- Ostrom QT, Gittleman H, Fulop J, Xu J, Kromer C, Wolinsky Y, et al. CBTRUS statistical report: Primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2009-2013. *Neuro Oncol* 2016;18(Suppl 5):v1-v75.
- Pastinen T, Partanen J, Syvanen AC. Multiplex, fluorescent, solid-phase minisequencing for efficient screening of DNA sequence variation. *Clin Chem* 1996;42(9):1391-7.
- Purkait S, Mallick S, Sharma V, Kumar A, Pathak P, Jha P, et al. Prognostic stratification of GBMs using combinatorial assessment of IDH1 mutation, MGMT promoter methylation, and TERT mutation status: Experience from a tertiary care center in India. *Transl Oncol* 2016;9(4):371-6.
- Sahm F, Schrimpf D, Olar A, Koelsche C, Reuss D, Bissel J, et al. TERT promoter mutations and risk of recurrence in meningioma. *J Natl Cancer Inst* 2016;108(5):djv377.
- Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1977;74(12):5463-7.
- Simon M, Hosen I, Gousias K, Rachakonda S, Heidenreich B, Gessi M, et al. TERT promoter mutations: A novel independent prognostic factor in primary glioblastomas. *Neuro Oncol* 2015;17(1):45-52.
- Société canadienne du cancer (SCC). Statistiques canadiennes sur le cancer 2016. Toronto, ON : SCC; 2016. Disponible à : <http://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-101/canadian-cancer-statistics-publication/?region=qc>.
- Spiegel-Kreinecker S, Lotsch D, Ghanim B, Pirker C, Mohr T, Laaber M, et al. Prognostic quality of activating TERT promoter mutations in glioblastoma: Interaction with the rs2853669 polymorphism and patient age at diagnosis. *Neuro Oncol* 2015;17(9):1231-40.
- Stupp R, Brada M, van den Bent MJ, Tonn JC, Pentheroudakis G. High-grade glioma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2014;25(Suppl 3):iii93-101.
- Thuy MN, Kam JK, Lee GC, Tao PL, Ling DQ, Cheng M, et al. A novel literature-based approach to identify genetic and molecular predictors of survival in glioblastoma multiforme: Analysis of 14,678 patients using systematic review and meta-analytical tools. *J Clin Neurosci* 2015;22(5):785-99.
- Wang X, Li X, Xu F, Zhang Y, Liu H, Tao Y. Association of telomerase reverse transcriptase promoter mutations with the prognosis of glioma patients: A meta-analysis. *Mol Neurobiol* 2016;53(4):2726-32.
- Weller M, van den Bent M, Hopkins K, Tonn JC, Stupp R, Falini A, et al. EANO guideline for the diagnosis and treatment of anaplastic gliomas and glioblastoma. *Lancet Oncol* 2014;15(9):e395-403.
- Yang P, Cai J, Yan W, Zhang W, Wang Y, Chen B, et al. Classification based on mutations of TERT promoter and IDH characterizes subtypes in grade II/III gliomas. *Neuro Oncol* 2016;18(8):1099-108.
- Yuan P, Cao JL, Abuduwufuer A, Wang LM, Yuan XS, Lv W, Hu J. Clinical characteristics and prognostic significance of TERT promoter mutations in cancer: A cohort study and a meta-analysis. *PLoS One* 2016a;11(1):e0146803.
- Yuan Y, Qi C, Maling G, Xiang W, Yanhui L, Ruofei L, et al. TERT mutation in glioma: Frequency, prognosis and risk. *J Clin Neurosci* 2016b;26:57-62.