

DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **1^{er} décembre 2023**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Monsieur BARTHELEMY David**

Titre de la thèse : « *Caractérisation des facteurs de variation de l'efficacité et de la toxicité des thérapies anticancéreuses dans le cancer bronchique non à petites cellules* »



Résumé

Le cancer bronchique non à petites cellules (CBNPC) se caractérise par une complexité moléculaire qui rend sa prise en charge à la fois fascinante et complexe. L'équipe IBISCUS du Centre d'Innovation en Cancérologie de Lyon (CICLY ER3738), se positionne à l'avant-garde de cette bataille. Nous évaluons de nouveaux outils de diagnostic moléculaire associés à l'identification de nouveaux biomarqueurs circulants afin d'améliorer la prise en charge thérapeutique des patients. Dans cette démarche de prise en charge non invasive, l'exploration de l'ADN tumoral circulant (ADNtc), des cellules tumorales circulantes (CTC) et des complexes protéiques de l'ADN (nucléosomes), peuvent permettre d'accéder à une vision plus complète et plus dynamique de la maladie. Ceci permet de mieux identifier les patients éligibles à une thérapie ciblée et de mieux appréhender le choix thérapeutique de deuxième ligne lors d'un échappement thérapeutique. En complément de cette approche, l'étude moléculaire du patrimoine pharmacogénétique des patients représente un axe prometteur permettant de limiter la toxicité de certains traitements (anticancéreux, soins de supports) tout en améliorant la qualité de vie des patients. Nous cherchons également à mieux comprendre les mécanismes d'adaptation pharmacologique mis en place par la tumeur sous pression thérapeutique aux thérapies ciblées.

Pour cela, nous évaluons l'apport des données « -omics », générées à partir de modèles expérimentaux innovants, pour la prédiction de l'évolution tumorale après exposition à certaines thérapies ciblées actuellement utilisées dans le CBNPC. Ce travail de thèse s'articule autour de 3 thématiques abordant successivement la détection des altérations moléculaires sur ADNtc ainsi que l'étude des mécanismes d'adaptation pharmacologique à une thérapie ciblée (**Thématique 1 – Travaux n°1 et n°2**), l'étude des CTC (**Thématique 2 - Travaux n°3 et n°4**) et la détection de régions génomiques complexes en pharmacogénétique (**Thématique 3 - Travail n°5**).

Dans le **Travail n°1**, nous avons optimisé les performances des tests moléculaires de recherche des altérations somatiques dans l'ADNtc au diagnostic et à la progression. Notre plus récent travail a permis de choisir un test NGS de haute sensibilité et spécificité pour la détection des altérations ciblables concernant *EGFR*, *KRAS*, *NRAS*, *BRAF* et *PIK3CA* (Barthelemy et al., *Cancers*, 2023, 1^{er} auteur) (1). Cependant, toutes les tumeurs n'acquiescent pas d'altérations somatiques. Afin de mieux caractériser les tumeurs dans ce cas de figure, il a été associé à un dosage plasmatique de l'histone H3K27Me3 du nucléosome dans lequel l'ADNtc est inséré. Ceci a permis de mieux caractériser les profils moléculaires sans altérations moléculaires avec un indicateur de fiabilité accru pour l'interprétation (Grolleau et al., *Cancers*, 2023, 4^{ème} auteur) (2). Dans le **Travail n°2**, nous avons développé des xénogreffes de lignée cellulaire dans un modèle de CAM (membrane chorioallantoïque) d'œufs de poulet embryonnés *in ovo* afin de mieux comprendre les mécanismes d'adaptation aux thérapies ciblées et être en mesure de prédire leurs impacts potentiels sur les lignes thérapeutiques suivantes chez les patients. L'utilisation de ce modèle a permis d'étudier à l'échelle transcriptomique les mécanismes d'adaptation pharmacologique après exposition des xénogreffes à l'osimertinib (inhibiteur de tyrosine kinase). Cet anti-EGFR est actuellement la thérapeutique utilisée en 1^{ère} ligne de traitement pour les patients présentant une altération de l'*EGFR* (Barthelemy et al., soumis dans la revue *International Journal of Oncology* en 2023, 1^{er} auteur). Dans le **Travail n°3**, nous avons cette fois mis au point une preuve de concept basée sur la génération de xénogreffes *in ovo* issues de CTC de patients atteints de cancer. (Rousset et al., *Cancers*, 2022, 4^{ème} auteur) (3). Dans le **Travail n°4**, nous avons évalué les performances d'une

nouvelle méthode d'enrichissement et d'énumération des CTC en microfluidique (Barthélémy et al., 2024, 1^{er} auteur). Nous avons comparé cette nouvelle méthode avec celle actuellement utilisée pour l'énumération et la mesure d'expression de PD-L1 sur CTC. (Garcia et al., Jove, 2019, 2^{ème} auteur) (4). Actuellement, notre équipe évalue la valeur prédictive du biomarqueur PD-L1 sur CTC dans l'étude clinique MADMAS en cours au CICYL. Le nombre de CTC et leur statut PD-L1 est confronté à la clairance de l'IPCI, le taux sérique de nucléosomes, et le statut moléculaire de la tumeur avant traitement. Le critère de jugement principal basé sur l'évaluation la survie sans progression (SSP) et de la survie globale (SG) est en cours d'évaluation (Barthelemy et al., 2025, 1^{er} auteur). Dans le **Travail n°5**, nous avons mesuré la prédisposition/variabilité génétique des individus et son impact sur la réponse pharmacologique aux thérapies anticancéreuses et soins de support. Avec l'évolution des techniques de séquençage à haut débit et la compréhension accrue des principaux pharmacogènes, la pharmacogénétique (PG) occupe une place de plus en plus grande pour l'optimisation de l'efficacité des traitements et l'amélioration de la qualité de vie des patients. Nous avons réalisé une étude visant à évaluer la variabilité des profils pharmacogénétiques associés aux gènes *CYP2D6*, *UGT1A1* et *NAT2* des patients qui nous ont été référés. Ce travail a permis d'évaluer l'intérêt du séquençage long fragment (SLF) utilisant le phasage direct par rapport aux méthodes classiques de séquençage court fragments (SCF) utilisant le phasage indirect (Barthelemy et al., soumis dans la revue *Journal of Personalized Medicine* en 2023, 1^{er} auteur). Il est essentiel d'intégrer ces données pharmacogénétiques à la prise en charge thérapeutique des patients traités par anticancéreux et soins de supports. En conclusion, la fonction de biologiste dans notre laboratoire permet de mettre à profit les connaissances acquises en pharmacologie, pharmacogénétique et toxicologie pour consolider la prédiction de l'impact des variants somatiques et constitutionnels sur la pharmacologie des traitements utilisés dans le cancer. Cette approche individualisée représente l'avenir de la prise en charge du CBNPC mais aussi des autres cancers, promettant des traitements plus ciblés, plus efficaces, moins toxiques et limitant les interactions médicamenteuses à hauts risques pour les patients.

