



Année 2017

N°

Thèse

Pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

Diplôme d'État

par

Benjamin ANON

Né le 01/08/1989 à Villeneuve D'Ascq (59)

TITRE

Etude de l'association entre le polymorphisme de répétitions CAG du canal potassique dépendant du calcium SK3 et la neurotoxicité induite par l'oxaliplatine chez des patients porteurs d'un cancer colorectal.

Présentée et soutenue publiquement le **6 juillet 2017** devant un jury composé de :

Président du Jury : Professeur Etienne DANQUECHIN DORVAL, gastroentérologie et hépatologie, Professeur émérite, Faculté de Médecine –Tours

Membres du Jury :

Docteur Chantal BARIN LE GUELLEC, MCU-PH, pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique, Faculté de Médecine-Tours

Professeur Thierry LECOMTE, gastroentérologie et hépatologie, PU-PH, Faculté de Médecine-Tours

Professeur Driffa MOUSSATA, PU-PH, gastroentérologie et hépatologie, Faculté de Médecine -Tours

Professeur Mehdi OUAISSI, PU-PH, chirurgie digestive, Faculté de Médecine-Tours

Professeur Christophe VANDIER, PU, Université François Rabelais-Tours

Directeur de thèse : **Professeur Thierry LECOMTE, gastroentérologie et hépatologie, PUPH, Faculté de Médecine –Tours**

UNIVERSITE FRANCOIS RABELAIS
FACULTE DE MEDECINE DE TOURS

DOYEN

Pr. Patrice DIOT

VICE-DOYEN

Pr. Henri MARRET

ASSESEURS

Pr. Denis ANGOULVANT, *Pédagogie*
Pr. Mathias BUCHLER, *Relations internationales*
Pr. Hubert LARDY, *Moyens – relations avec l'Université*
Pr. Anne-Marie LEHR-DRYLEWICZ, *Médecine générale*
Pr. François MAILLOT, *Formation Médicale Continue*
Pr. Patrick VOUREC'H, *Recherche*

SECRETAIRE GENERALE

Mme Fanny BOBLETER

DOYENS HONORAIRES

Pr. Emile ARON (†) – 1962-1966
Directeur de l'Ecole de Médecine - 1947-1962
Pr. Georges DESBUQUOIS (†)- 1966-1972
Pr. André GOUAZE - 1972-1994
Pr. Jean-Claude ROLLAND – 1994-2004
Pr. Dominique PERROTIN – 2004-2014

PROFESSEURS EMERITES

Pr. Catherine BARTHELEMY
Pr. Philippe BOUGNOUX
Pr. Etienne DANQUECHIN-DORVAL
Pr. Loïc DE LA LANDE DE CALAN
Pr. Noël HUTEN
Pr. Olivier LE FLOCH
Pr. Yvon LEBRANCU
Pr. Elisabeth LECA
Pr. Gérard LORETTE
Pr. Roland QUENTIN
Pr. Alain ROBIER

PROFESSEURS HONORAIRES

P. ANTHONIOZ – A. AUDURIER – A. AUTRET – P. BAGROS – G. BALLON – P. BARDOS – J.L. BAULIEU – C. BERGER – JC. BESNARD – P. BEUTTER – P. BONNET – M. BROCHIER – P. BURDIN – L. CASTELLANI – B. CHARBONNIER – P. CHOUTET – J.P. FAUCHIER – F. FETISSOF – J. FUSCIARDI – P. GAILLARD – G. GINIES – A. GOUAZE – J.L. GUILMOT – M. JAN – J.P. LAMAGNERE – F. LAMISSE – J. LANSAC – Y. LANSON – J. LAUGIER – P. LECOMTE – G. LELORD – E. LEMARIE – G. LEROY – Y. LHUINTE – M. MARCHAND – C. MAURAGE – C. MERCIER – J. MOLINE – C. MORAINÉ – J.P. MUH – J. MURAT – H. NIVET – L. POURCELOT – P. RAYNAUD – D. RICHARD-LENOBLE – M. ROBERT – J.C. ROLLAND – A. SAINDELLE – J.J. SANTINI – D. SAUVAGE – B. TOUMIEUX – J. WEILL

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

| | |
|--------------------------------------|---|
| ALISON Daniel | Radiologie et imagerie médicale |
| ANDRES Christian | Biochimie et biologie moléculaire |
| ANGOULVANT Denis | Cardiologie |
| ANGOULVANT Théodora | Pharmacologie clinique |
| ARBEILLE Philippe | Biophysique et médecine nucléaire |
| AUPART Michel..... | Chirurgie thoracique et cardiovasculaire |
| BABUTY Dominique | Cardiologie |
| BALLON Nicolas | Psychiatrie ; addictologie |
| BARILLOT Isabelle..... | Cancérologie ; radiothérapie |
| BARON Christophe | Immunologie |
| BERNARD Louis | Maladies infectieuses et maladies tropicales |
| BODY Gilles | Gynécologie et obstétrique |
| BONNARD Christian | Chirurgie infantile |
| BONNET-BRILHAULT Frédérique | Physiologie |
| BRILHAULT Jean..... | Chirurgie orthopédique et traumatologique |
| BRUNEREAU Laurent..... | Radiologie et imagerie médicale |
| BRUYERE Franck | Urologie |
| BUCHLER Matthias..... | Néphrologie |
| CALAIS Gilles..... | Cancérologie, radiothérapie |
| CAMUS Vincent | Psychiatrie d'adultes |
| CHANDENIER Jacques | Parasitologie, mycologie |
| CHANTEPIE Alain..... | Pédiatrie |
| COLOMBAT Philippe | Hématologie, transfusion |
| CONSTANS Thierry | Médecine interne, gériatrie |
| CORCIA Philippe..... | Neurologie |
| COSNAY Pierre..... | Cardiologie |
| COTTIER Jean-Philippe..... | Radiologie et imagerie médicale |
| COUET Charles..... | Nutrition |
| DE TOFFOL Bertrand | Neurologie |
| DEQUIN Pierre-François..... | Thérapeutique |
| DESTRIEUX Christophe | Anatomie |
| DIOT Patrice..... | Pneumologie |
| DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague | Anatomie & cytologie pathologiques |
| DUCLUZEAU Pierre-Henri | Endocrinologie, diabétologie, et nutrition |
| DUMONT Pascal..... | Chirurgie thoracique et cardiovasculaire |
| EL HAGE Wissam | Psychiatrie adultes |
| EHRMANN Stephan..... | Réanimation |
| FAUCHIER Laurent..... | Cardiologie |
| FAVARD Luc..... | Chirurgie orthopédique et traumatologique |
| FOUQUET Bernard | Médecine physique et de réadaptation |
| FRANCOIS Patrick | Neurochirurgie |
| FROMONT-HANKARD Gaëlle | Anatomie & cytologie pathologiques |
| GOGA Dominique | Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie |
| GOUDEAU Alain | Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière |
| GOUPILLE Philippe..... | Rhumatologie |
| GRUEL Yves | Hématologie, transfusion |
| GUERIF Fabrice..... | Biologie et médecine du développement et de la reproduction |
| GUYETANT Serge | Anatomie et cytologie pathologiques |
| GYAN Emmanuel | Hématologie, transfusion |
| HAILLOT Olivier | Urologie |
| HALIMI Jean-Michel | Thérapeutique |
| HANKARD Régis..... | Pédiatrie |
| HERAULT Olivier..... | Hématologie, transfusion |
| HERBRETEAU Denis..... | Radiologie et imagerie médicale |
| LABARTHE François..... | Pédiatrie |
| LAFFON Marc | Anesthésiologie et réanimation chirurgicale, médecine d'urgence |

| | |
|--------------------------------|---|
| LARDY Hubert..... | Chirurgie infantile |
| LARIBI Saïd..... | Médecine d'urgence |
| LARTIGUE Marie-Frédérique..... | Bactériologie-virologie |
| LAURE Boris..... | Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie |
| LECOMTE Thierry..... | Gastroentérologie, hépatologie |
| LESCANNE Emmanuel..... | Oto-rhino-laryngologie |
| LINASSIER Claude..... | Cancérologie, radiothérapie |
| MACHET Laurent..... | Dermato-vénéréologie |
| MAILLOT François..... | Médecine interne |
| MARCHAND-ADAM Sylvain..... | Pneumologie |
| MARRET Henri..... | Gynécologie-obstétrique |
| MARUANI Annabel..... | Dermatologie-vénéréologie |
| MEREGHETTI Laurent..... | Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière |
| MORINIERE Sylvain..... | Oto-rhino-laryngologie |
| MOUSSATA Driffa..... | Gastro-entérologie |
| MULLEMAN Denis..... | Rhumatologie |
| ODENT Thierry..... | Chirurgie infantile |
| OUAISSI Mehdi..... | Chirurgie digestive |
| PAGES Jean-Christophe..... | Biochimie et biologie moléculaire |
| PAINTAUD Gilles..... | Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique |
| PATAT Frédéric..... | Biophysique et médecine nucléaire |
| PERROTIN Dominique..... | Réanimation médicale, médecine d'urgence |
| PERROTIN Franck..... | Gynécologie-obstétrique |
| PISELLA Pierre-Jean..... | Ophthalmologie |
| QUENTIN Roland..... | Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière |
| REMERAND Francis..... | Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence |
| ROINGEARD Philippe..... | Biologie cellulaire |
| ROSSET Philippe..... | Chirurgie orthopédique et traumatologique |
| ROYERE Dominique..... | Biologie et médecine du développement et de la reproduction |
| RUSCH Emmanuel..... | Epidémiologie, économie de la santé et prévention |
| SAINT-MARTIN Pauline..... | Médecine légale et droit de la santé |
| SALAME Ephrem..... | Chirurgie digestive |
| SALIBA Elie..... | Biologie et médecine du développement et de la reproduction |
| SANTIAGO-RIBEIRO Maria..... | Biophysique et médecine nucléaire |
| SIRINELLI Dominique..... | Radiologie et imagerie médicale |
| THOMAS-CASTELNAU Pierre..... | Pédiatrie |
| TOUTAIN Annick..... | Génétique |
| VAILLANT Loïc..... | Dermato-vénéréologie |
| VELUT Stéphane..... | Anatomie |
| VOURC'H Patrick..... | Biochimie et biologie moléculaire |
| WATIER Hervé..... | Immunologie |

PROFESSEUR DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

LEBEAU Jean-Pierre
LEHR-DRYLEWICZ Anne-Marie

PROFESSEURS ASSOCIES

MALLET Donatien..... Soins palliatifs
POTIER Alain..... Médecine Générale
ROBERT Jean..... Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

BAKHOS David..... Physiologie

| | |
|-----------------------------------|--|
| BARBIER Louise | Chirurgie digestive |
| BERNARD-BRUNET Anne | Cardiologie |
| BERTRAND Philippe | Biostatistiques, informatique médical et technologies de communication |
| BLANCHARD Emmanuelle | Biologie cellulaire |
| BLASCO Hélène | Biochimie et biologie moléculaire |
| CAILLE Agnès | Biostatistiques, informatique médical et technologies de communication |
| DESOUBEAUX Guillaume | Parasitologie et mycologie |
| DOMELIER Anne-Sophie | Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière |
| DUFOUR Diane | Biophysique et médecine nucléaire |
| FOUQUET-BERGEMER Anne-Marie | Anatomie et cytologie pathologiques |
| GATAULT Philippe | Néphrologie |
| GAUDY-GRAFFIN Catherine | Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière |
| GOUILLEUX Valérie | Immunologie |
| GUILLON Antoine | Réanimation |
| GUILLON-GRAMMATICO Leslie | Epidémiologie, économie de la santé et prévention |
| HOARAU Cyrille | Immunologie |
| HOURIOUX Christophe | Biologie cellulaire |
| IVANES Fabrice | Physiologie |
| LE GUELLEC Chantal | Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique |
| MACHET Marie-Christine | Anatomie et cytologie pathologiques |
| PIVER Éric | Biochimie et biologie moléculaire |
| ROUMY Jérôme | Biophysique et médecine nucléaire |
| PLANTIER Laurent | Physiologie |
| SAMIMI Mahtab | Dermatologie-vénéréologie |
| TERNANT David | Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique |
| ZEMMOURA Ilyess | Neurochirurgie |

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

| | |
|--------------------------------|-----------------------------------|
| AGUILLON-HERNANDEZ Nadia | Neurosciences |
| DIBAO-DINA Clarisse | Médecine Générale |
| LEMOINE Maël | Philosophie |
| MONJAUZE Cécile | Sciences du langage - orthophonie |
| PATIENT Romuald | Biologie cellulaire |
| RENOUX-JACQUET Cécile | Médecine Générale |

CHERCHEURS INSERM - CNRS - INRA

| | |
|-------------------------------|--|
| BOUAKAZ Ayache | Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 930 |
| CHALON Sylvie | Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 930 |
| COURTY Yves | Chargé de Recherche CNRS – UMR INSERM 1100 |
| DE ROCQUIGNY Hugues | Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 966 |
| ESCOFFRE Jean-Michel | Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 930 |
| GILOT Philippe | Chargé de Recherche INRA – UMR INRA 1282 |
| GOUILLEUX Fabrice | Directeur de Recherche CNRS – UMR CNRS 7292 |
| GOMOT Marie | Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 930 |
| HEUZE-VOURCH Nathalie | Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100 |
| KORKMAZ Brice | Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100 |
| LAUMONNIER Frédéric | Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 930 |
| LE PAPE Alain | Directeur de Recherche CNRS – UMR INSERM 1100 |
| MAZURIER Frédéric | Directeur de Recherche INSERM – UMR CNRS 7292 |
| MEUNIER Jean-Christophe | Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 966 |
| PAGET Christophe | Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100 |

RAOUL William..... Chargé de Recherche INSERM – UMR CNRS 7292
SI TAHAR Mustapha Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM
1100
WARDAK Claire Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 930

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Pour l'Ecole d'Orthophonie

DELORE Claire Orthophoniste
GOUIN Jean-Marie..... Praticien Hospitalier
MONDON Karl..... Praticien Hospitalier
PERRIER Danièle Orthophoniste

Pour l'Ecole d'Orthoptie

LALA Emmanuelle..... Praticien Hospitalier
MAJZOUB Samuel Praticien Hospitalier

Pour l'Ethique Médicale

BIRMELE Béatrice Praticien Hospitalier

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Faculté,
de mes chers condisciples
et selon la tradition d'Hippocrate,
je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur
et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent,
et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux
ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira
les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas
à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres,
je rendrai à leurs enfants
l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime
si je suis fidèle à mes promesses.
Que je sois couvert d'opprobre
et méprisé de mes confrères
si j'y manque.

Remerciements

A Mr le Professeur Etienne Danquechin Dorval, je vous remercie d'avoir accepté de juger mon travail. J'espère que celui-ci sera à la hauteur de vos attentes.

A Mr le Professeur Thierry Lecomte, merci de m'avoir donné la possibilité de travailler avec vous, merci de votre accompagnement tout au long de mon internat, j'espère ne pas vous décevoir.

A Mme le Dr Chantal Barin Le Guellec, merci de votre aide, de votre disponibilité lors de l'élaboration de ce travail,

A Messieurs les professeurs Ouaisi et Vandier, je vous remercie d'avoir accepté de juger mon travail.

A mes autres maitres, les Drs Aubourg, Bacq, Barbieux, Caulet, D'Alteroche, Duvivier, Féau, Godart, Picon, Nicolas, Perarnau, Perray, merci pour votre patience et vos enseignements.

Aux gastro-entérologues de Blois et d'Orléans, merci de m'avoir accompagné lors de mes premiers pas dans la spécialité.

A mes co-internes, merci de m'avoir supporté durant ces longues journées de stage.

Aux équipes paramédicales, infirmières, aides-soignantes, secrétaires, merci pour vos enseignements au contact des malades.

A mes amis, de Tours et de Lille.

A toute ma famille, qui m'a toujours soutenu, et plus spécialement merci à mes parents qui m'ont donné les moyens de réussir.

A Claire, merci pour tout. Tu es mon soutien quotidien, nous continuerons cette aventure pour le meilleur et pour le pire !

Titre : Etude de l'association entre le polymorphisme de répétitions CAG du canal potassique dépendant du calcium SK3 et la neurotoxicité induite par l'oxaliplatine chez des patients porteurs d'un cancer colorectal.

Introduction : La neurotoxicité induite par l'oxaliplatine (NIO) est limitante et impacte la qualité de vie des patients. Des données récentes suggèrent un rôle du canal potassique SK3 dans sa physiopathologie. Le polymorphisme fonctionnel de répétitions CAG du gène *KCNN3* qui code le canal SK3 est un facteur susceptible d'être associé au risque de survenue d'une NIO.

Matériels et méthodes : Une étude préclinique a été réalisée sur des cellules HEK293 exprimant le canal SK3 de génotype variable pour le polymorphisme CAG du gène *KCNN3* (11 ou 24 répétitions CAG). Les amplitudes des courants SK3 associés à l'activité du canal SK3 de cellules HEK ont été analysées en absence ou en présence de 100 μ M d'oxaliplatine par la technique de *patch clamp*. Une étude clinique monocentrique rétrospective a été réalisée sur une série de patients porteurs d'un cancer colorectal et traités par une chimiothérapie à base d'oxaliplatine pour une période de 6 mois. Le génotypage de *KCNN3* pour le polymorphisme CAG a été réalisé sur les échantillons d'ADN génomique extraits à partir des leucocytes circulants des patients. La région d'intérêt a été ciblée puis amplifiée par PCR, puis une analyse de taille de fragment a été effectuée afin de déterminer le nombre de répétition CAG de chaque allèle. Les génotypes étaient classés en 3 classes : 2 allèles courts, 1 allèle court et un long, 2 allèles longs. Le critère de jugement principal était la NIO évaluée par une échelle spécifique pour l'oxaliplatine et classée en 2 catégories (grade 0-1 ou 2-3). Un test du Chi² a été utilisé pour évaluer l'association entre la NIO et le polymorphisme de *KCNN3*.

Résultats : Sur le modèle préclinique cellulaire, Il n'y avait pas de différence en terme de densité de courant mais l'oxaliplatine entraînait un effet différentiel sur la densité de courant normalisée entre les deux isoformes exprimées par les cellules HEK. Dans l'étude pharmacogénétique, 86 patients traités entre septembre 2008 et août 2015 par une chimiothérapie péri-opératoire à base d'oxaliplatine ont été inclus. La dose cumulée moyenne d'oxaliplatine administrée par patient était de 823 \pm 194 mg/m². 33 patients ont présenté une NCP maximale de grade 0 ou 1 et 53 patients une NCP de grade 2 ou 3. Quatorze patients étaient homozygotes pour le nombre de répétitions CAG du gène *KCNN3* et 72 étaient hétérozygotes. Vingt-quatre patients étaient porteurs de 2 allèles courts, 44 porteurs d'un allèle court et d'un allèle long, et 18 porteurs de 2 allèles longs. Nous n'avons pas observé d'association significative entre les génotypes du polymorphisme CAG du gène *KCNN3* et la survenue d'une NIO.

Conclusion : Nous avons observé une faible association entre la NIO et le polymorphisme de *KCNN3* mais uniquement sur le modèle cellulaire. Ces données ne suggèrent pas un rôle majeur de ce polymorphisme dans la genèse de la NIO.

Mots clés :

- Neuropathie, sels de platine
- *KCNN3*
- Canal potassique SK3
- Oxaliplatine

Title: Is polymorphism CAG of potassium channel SK3 gene/KCNN3 associated with oxaliplatin-induced neurotoxicity?

Abstract:

Introduction: Neurotoxicity is one of the most limiting side-effect of oxaliplatin. It alters patient's quality of life, and may result in significant disability. This may lead to dose reduction even though chemotherapy is effective. Recent data suggest a role of the potassium channel SK3 (*KCNN3* gene), in oxaliplatin-induced neurotoxicity (OIN). The length variations in the polymorphic CAG repeat in exon 1 of the *KCNN3* gene could be associated with the risk of OIN.

Materials and methods: Preclinical experiments were performed using HEK293 cells, expressing short (11 CAG repetitions) or long (24 CAG repetitions) SK3 channel isoforms. Patch clamp experiments were performed to test effects of oxaliplatin on current density. A retrospective study aiming at analysing the association between *KCNN3* genotype and neurotoxicity was carried out on patients with stage II, III or IVa colorectal cancer, who received an oxaliplatin-based chemotherapy for 6 months. DNA for *KCNN3* genotyping was extracted from peripheral blood leukocytes. The region containing the CAG repeats was targeted with specific primers and amplified by polymerase chain reaction (PCR). PCR products were separated using capillary electrophoresis for fragment length analysis. Alleles containing less than 19 CAG repeats were considered as "short", while those with 19 or more repeats were defined as "long". The patients were divided into 3 groups depending on whether they carried 2 short alleles, 1 short allele and 1 long allele, or 2 long alleles. The primary end point was the onset of a grade 2 or 3 neuropathy to oxaliplatin assessed by an oxaliplatin-specific toxicity scale. Chi² test was used to assess the association between OIN and *KCNN3* polymorphism.

Results: In preclinical investigations, there was no difference in the current density but oxaliplatin induced a differential effect on normalized apamin-sensitive current density between the two isoforms expressed in HEK cells. Eighty-six patients were included in the clinical study between September 2008 and August 2015 (57 men and 29 women). The mean cumulative dose of oxaliplatin was 823±194 mg/m². Thirty-three (38%) patients presented grade 0 or 1 and fifty-three (62%) patients grade 2 or 3 neurotoxicity. The mean number of CAG repeats was 18 ± 1,7. Fourteen patients were homozygous for long or short allele and seventy-two were heterozygous. Twenty-four (28%) patients had 2 short alleles, forty-four (51%) had a short allele and a long allele, and eighteen (21%) patients had 2 long alleles. There was no significant association between OIN and *KCNN3* polymorphism for the 3 groups.

Conclusion: We have only observed a slight association between OIN and CAG repeat polymorphism of *KCNN3* gene only in the electrophysiological model. Thus, this polymorphism does not seem to have a predominant role in the OIN.

Key words :

- Neuropathy
- Platinum
- *KCNN3*
- SK3 channel
- Oxaliplatin

Table des matières

Partie 1 : Mise au point sur la neurotoxicité induite par l'oxaliplatine 13

Partie 2 : Article original..... 30

Partie 1 : Mise au point sur la neurotoxicité induite par l'oxaliplatine

Résumé en français

L'oxaliplatine est un sel de platine de 3^{ème} génération très fréquemment utilisé en cancérologie digestive, notamment, dans le traitement du cancer colorectal. La principale toxicité de l'oxaliplatine est la neurotoxicité, limitante et impactant la qualité de vie des patients. Elle s'exprime sous une forme aiguë, spécifique, et sous une forme chronique. La forme aiguë, transitoire, est responsable d'une hyperexcitabilité neuronale et survient chez environ 80 % des patients. La forme chronique invalidante, cumulative et limitante survient chez 25 % des patients et peut persister au-delà de 2 ans après l'arrêt du traitement. La physiopathologie de la neurotoxicité induite par l'oxaliplatine n'est pas complètement connue. La prise en charge de la neurotoxicité à l'oxaliplatine repose essentiellement sur des mesures préventives. La pharmacogénétique apparaît aujourd'hui être une piste prometteuse. L'objectif de cette mise au point est de présenter la clinique, la physiopathologie, les traitements préventifs, la pharmacogénétique et la prise en charge de la neurotoxicité induite par l'oxaliplatine.

Abstract

Oxaliplatin is a third-generation platinum compound. It is one of the most used chemotherapy in digestive oncology and especially in colorectal cancer. Neurotoxicity is the most impacting toxicity on patient's quality of life. Its toxicity has 2 components: an acute presentation which is specific and a chronic form. Acute neurotoxicity is characterized by peripheral nerve hyperexcitability and occurs in 80% of treated patients. A disabling chronic neurotoxicity occurs in 25% of patients but can continue more than 2 years after treatment stop. Physiopathology of this major side effect remains not well known. Management of neurotoxicity is based of preventives measures. Pharmacogenomic appears to be a promising way. Main objectives of this review are to present clinic, physiopathology, preventives measures, pharmacogenomic and management of oxaliplatin-induced neurotoxicity.

Introduction

L'oxaliplatine ou trans-I oxalato-1,2-diaminocyclohexane platinumium (*figure 1*) est un sel de platine de 3^{ème} génération, synthétisé dans le but d'optimiser les effets thérapeutiques des générations précédentes (carboplatine et cisplatine), en termes de mécanismes de résistance et de profil de tolérance [1].

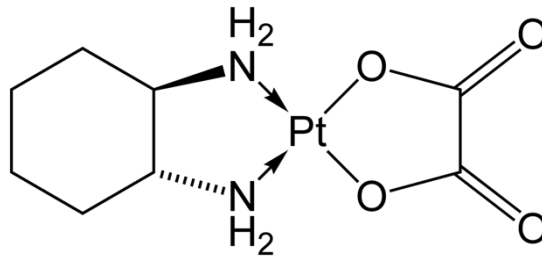


Figure 1 : structure chimique du trans-I oxalato-1,2-diaminocyclohexane platinumium (oxaliplatine)

La molécule a été découverte au Japon en 1976 mais ce n'est que 10 ans plus tard, en France, qu'elle a été développée en cancérologie [2]. L'efficacité de l'oxaliplatine a été largement démontrée dans la prise en charge des cancers digestifs et, notamment dans le cancer colorectal à titre curatif ou palliatif [3, 4]. Les principaux schémas de chimiothérapie à base d'oxaliplatine utilisés en cancérologie digestive sont détaillés dans le *tableau 1*.

Tableau 1: Principaux schémas de chimiothérapie prescrits en France contenant de l'oxaliplatine en cancérologie digestive.

| NOM DU PROTOCOLE | FREQUENCE | OXALIPLATINE | AUTRE MOLECULES | | |
|---------------------------|-----------------------|---|--|---|---|
| EOX | Toutes les 3 semaines | Oxaliplatine 130 mg/m ² en perfusion IV de 2h à J1 | Epirubicine 50 mg/m ² en perfusion IV de 30 minutes à J1 | Capécitabine 625 mg/m ² matin et soir de J2 à J21 | |
| FOLFOX 4 | Toutes les 2 semaines | Oxaliplatine 85 mg/m ² en perfusion IV de 2h à J1 | Acide folinique 200 mg/m ² en perfusion IV de 2h à J1 et J2 | 5-fluorouracile bolus de 400 mg/m ² en 10 min puis infusion continue de 600 mg/m ² sur 22h à J1 puis à J2 | |
| FOLFOX 4 SIMPLIFIE | Toutes les 2 semaines | Oxaliplatine 85 mg/m ² en perfusion IV de 2h à J1 | Acide folinique 400 mg/m ² en perfusion IV de 2h à J1 | 5-fluorouracile bolus de 400 mg/m ² en 10 min puis infusion continue de 2400 mg/m ² sur 46h | |
| FOLFOX 7 | Toutes les 2 semaines | Oxaliplatine 130 mg/m ² en perfusion IV de 2h à J1 | Acide folinique 400 mg/m ² en perfusion IV de 2h à J1 | 5-fluorouracile infusion continue de 2400 mg/m ² sur 46h | |
| FOLFOX 6 | Toutes les 2 semaines | Oxaliplatine 100 mg/m ² en perfusion IV de 2h à J1 | Acide folinique 400 mg/m ² en perfusion IV de 2h à J1 | 5-fluorouracile bolus de 400 mg/m ² en 10 min puis infusion continue de 2400 mg/m ² sur 46h | |
| FOLFIRINOX | Toutes les 2 semaines | Oxaliplatine 85 mg/m ² en perfusion IV de 2h à J1 | Irinotécan 180 mg/m ² en perfusion IV de 90 minutes à J1 | Acide folinique 400 mg/m ² en perfusion IV de 2h à J1 | 5-fluorouracile bolus de 400 mg/m ² en 10 min puis infusion continue de 2400 mg/m ² sur 46h |
| GEMOX | Toutes les 2 semaines | Oxaliplatine 100 mg/m ² en perfusion IV de 2h à J2 | Gemcitabine 1000 mg/m ² en perfusion IV de 100 min | | |
| TOMOX | Toutes les 3 semaines | Oxaliplatine 130 mg/m ² en perfusion IV de 2h à J1 | Raltitrexed 3 mg/m ² en perfusion IV de 15 min | | |
| XELOX | Toutes les 3 semaines | Oxaliplatine 130 mg/m ² en perfusion IV de 2h à J1 | Capécitabine 1000 mg/m ² matin et soir de J2 à J15 | | |

Pharmacologie de l'oxaliplatine

L'oxaliplatine est généralement administré par voie intraveineuse en 120 minutes. Le pic de concentration plasmatique est obtenu au bout de 2 heures de perfusion. Environ un tiers de la quantité de ce sel de platine administré se lie aux protéines plasmatiques et la moitié s'accumule dans les hématies. Le reste du produit diffuse et est fortement absorbé dans les tissus (son volume de distribution est de près de 500 litres). L'élimination de l'oxaliplatine et de ses dérivés est principalement urinaire [5]. L'oxaliplatine est métabolisé par réactions d'hydrolyse entraînant la perte du groupement oxalate. Plusieurs dérivés sont ainsi formés, notamment le dichloro-DACH-platine. Ce principal métabolite actif, très électrophile, forme des liaisons covalentes avec l'ADN conduisant à la formation d'adduits. La formation d'adduit bifonctionnel, intra ou inter brins sur deux guanines ou une adénine et une guanine adjacentes, a pour conséquence une distorsion des brins et la formation d'un obstacle mécanique sur l'ADN, empêchant la transcription et la réplication par l'ADN polymérase et induisant l'apoptose cellulaire [5].

Profil de tolérance neurologique de l'oxaliplatine

Le profil de tolérance clinique de l'oxaliplatine est meilleur que ceux des sels de platine des générations précédentes (carboplatine, cisplatine). En effet, l'alopécie est rare et les troubles digestifs (nausées, vomissements) sont bien contrôlés par les antagonistes des récepteurs 5-HT₃. Un risque d'allergie dans moins de 5 % des cas a été également rapporté. Le risque de cytopénie (thrombopénie, neutropénie ou anémie) est dépendant de la dose et il est plus élevé lors d'association avec le 5-FU. Le principal effet secondaire limitant de l'oxaliplatine est sa neurotoxicité périphérique qui s'exprime selon deux modalités. L'une est précoce, la neurotoxicité aiguë, spécifique de l'oxaliplatine, et l'autre tardive, dépendante de la dose et non spécifique (neurotoxicité chronique) [6].

La neuropathie aiguë est fréquente et a été rapportée pour 80 % des patients [7]. Elle peut s'aggraver au fur et à mesure des cures de chimiothérapies mais elle reste transitoire. Elle est généralement peu sévère et se présente le plus souvent sous la forme de dysesthésies transitoires des extrémités, déclenchées ou aggravées par l'exposition au froid. Elle peut durer plusieurs jours après l'administration du médicament. Chez certains patients, les manifestations sont plus sévères : contractures musculaires douloureuses faciales, dysesthésies pharyngo-laryngées voire pseudo-laryngospasme responsable d'une gêne respiratoire avec dyspnée [8].

La neurotoxicité chronique apparaît généralement après 6 mois de traitement ou après une dose cumulée d'oxaliplatine de 780 à 850 mg/m² [9]. Elle apparaît parfois de façon plus précoce dès le 3^{ème} mois de traitement. Cette neurotoxicité survient chez plus de la moitié des patients et devient invalidante (neuropathie de grade 3 ou 4) chez environ 10 à 25 % des malades après 12 cycles de chimiothérapie (*tableau 2*) [3, 4]. Ses facteurs de risques principaux sont : la dose cumulée d'oxaliplatine, une durée de perfusion courte et l'existence d'une neuropathie préexistante [10]. Les patients présentent alors une symptomatologie persistante entre les cures : paresthésies des extrémités aggravées par l'exposition au froid, puis une gêne fonctionnelle handicapante dans la vie quotidienne (écriture, laçage, boutonnage) en rapport avec l'hypoesthésie périphérique. La possibilité d'une récupération, définie par un retour à une neurotoxicité de grade ≤ 2 en cas de neurotoxicité de grade 3, est d'environ 75 % après 3 mois d'arrêt du traitement [3]. A plus long terme, certains travaux ont rapporté une réversibilité rapide, dans les 6 mois qui suivent l'arrêt du traitement [11], et d'autres, une probabilité d'uniquement 90 à 99,5% à 2 ans de l'arrêt du traitement [4, 12]. On peut considérer que dans environ 10 % des cas, la neuropathie de grade 3 va persister au-delà de 2 ans après l'arrêt du traitement.

L'oxaliplatine est également utilisé par voie intra-artérielle hépatique. Avec ce mode d'administration, on obtient une baisse de la concentration systémique d'oxaliplatine qui

permettrait d'en diminuer la toxicité. En effet, certains auteurs ont rapporté une moindre neurotoxicité induite, que ce soit en cas d'infusion intra-hépatique d'oxaliplatine en monothérapie [13-16] ou en association [17, 18]. Dans les populations étudiées, la neurotoxicité de grade 1 ou 2 varie de 40 à 70% des patients et celle de grade > 2 varie de 0 à 25% des cas, mais la distinction entre neurotoxicité aiguë et chronique n'était pas précisée.

Evaluation de la neurotoxicité induite par l'oxaliplatine

De nombreuses échelles existent pour évaluer la neurotoxicité induite par l'oxaliplatine. En pratique quotidienne, l'échelle de Levy modifiée [19], qui cote la NIO selon 4 grades est la plus utilisée car elle est simple d'utilisation (*tableau 2*). Cette échelle est bien corrélée à l'échelle standardisée NCI-CTCAE (National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events) qui est plus couramment utilisée dans les essais cliniques, mais plus difficilement applicable en pratique courante. D'autres classifications comme le score TNS (Total Neuropathy Score) ou EORTC (European Organization for Research and Treatment of Cancer) ont été validées [20].

Tableau 2 : Echelle de Levy modifiée

| Grade | Clinique |
|----------|--|
| 0 | Asymptomatique |
| 1 | Dysesthésies et paresthésies de courte durée. Régression complète avant la cure suivante |
| 2 | Paresthésies persistantes entre deux cures sans gêne fonctionnelle |
| 3 | Paresthésies persistantes avec gêne fonctionnelle |

Physiopathologie de la neurotoxicité induite par l'oxaliplatine

La physiopathologie des neurotoxicités aiguë et chronique induites par l'oxaliplatine est mal connue de même que le lien entre les composantes. Des études ont montré que les changements électrophysiologiques secondaires à la neurotoxicité aiguë étaient plus importants chez les patients qui développaient ensuite une neurotoxicité chronique, ce qui suggère un lien entre les deux composantes [21].

Concernant la neurotoxicité chronique, il a été mis en évidence une réduction de la vitesse de conduction et une diminution de l'amplitude des potentiels sensoriels avec un effet-dose. Des dysfonctions des axones sensoriels apparaissent avant ces marqueurs de dégénérescence axonale [22]. Une hypothèse proposée est l'accumulation de dérivés de l'oxaliplatine dans les ganglions spinaux de la racine postérieure de la moelle, non protégés par la barrière hémato-encéphalique, qui entraîne une dégénérescence neuronale [23, 24]. Une atrophie des corps cellulaires ganglionnaires et du cytosquelette neuronal ganglionnaire a été mis en évidence chez le rat traité avec de l'oxaliplatine [25, 26]. De plus, le transporteur CTR1, responsable du transport actif de l'oxaliplatine vers le compartiment intracellulaire, est fortement exprimé à la membrane des cellules des ganglions de la racine dorsale, ce qui favoriserait son passage intracellulaire dans ces structures [27]. Par ailleurs, l'utilisation de modèles précliniques *in vitro*, a permis de montrer que l'oxaliplatine induisait une apoptose des neurones ganglionnaires via la voie de signalisation des MAP kinases [28].

Dans le cadre de la neurotoxicité induite par l'oxaliplatine, une perte de fibres nerveuses intra-épidermiques dont les mécanismes sont encore peu clairs a également été observée [29].

La neurotoxicité aiguë est quant à elle caractérisée, en électrophysiologie, par un dysfonctionnement des motoneurones responsable d'une hyperexcitabilité musculaire associée à des potentiels d'action répétitifs, sous la forme de triplets [30, 31]. Cette toxicité est probablement multifactorielle. Le lien avec une altération de l'activité des canaux ioniques

dépendants du voltage a été évoqué [32]. Par la suite, d'autres travaux [21, 33] ont mis en évidence, chez des patients traités par oxaliplatine, une augmentation de l'influx sodique et l'abaissement du seuil de dépolarisation, pouvant être responsables de cette hyperexcitabilité. Une étude récente a mis en évidence sur les fibres myélinisées, dans un modèle de neurotoxicité induite par l'oxaliplatine, une diminution de l'activité des canaux potassiques et une augmentation de l'activité et de l'expression des canaux sodiques, à l'origine de la toxicité [34]. Par ailleurs, Grolleau *et al.*, ont émis l'hypothèse que l'oxalate et l'oxaliplatine chélaient le calcium impliqué dans une voie de régulation de l'activité des canaux sodiques calcium-dépendants de la membrane neuronale altérant ainsi l'excitabilité des neurones [35].

D'autres travaux rapportant l'implication probable de canaux potassiques dépendants du calcium, d'un stress oxydatif, de transporteurs membranaires (notamment TRPV1 et TRPA1, *transient receptor potential*), d'une dysfonction mitochondriale, et d'une altération de la neurotransmission et du transport axonal ont été proposés pour expliquer, au moins en partie, la physiopathologie de la neurotoxicité induite par l'oxaliplatine [36-40]. Ces travaux ont été, pour la plupart, réalisés sur des modèles murins et demandent des investigations supplémentaires afin de préciser le rôle de chacun.

Traitements préventifs de la neurotoxicité induite par l'oxaliplatine

Du fait de son retentissement important sur la qualité de vie, de nombreux traitements préventifs ou stratégies ont été évalués dans la prise en charge de cette neuropathie. Les principales études publiées sont résumées dans le **tableau 3** et les éléments majeurs sont brièvement rappelés ci-dessous [41-71].

Tout d'abord, il est intéressant de noter que des dysfonctions neuronales apparaissent en électrophysiologie avant les signes de dégénérescence axonale. Ainsi, une surveillance par

électromyographie régulière pourrait être utilisée pour anticiper la survenue d'une NIO chronique [22, 72, 73].

La stratégie du « *stop and go* » consiste à limiter à moins de 3 mois la durée des traitements par oxaliplatine afin de pouvoir le réintroduire par la suite. Cette technique s'avère efficace pour prévenir la NIO de grade 3 ou plus. Lors de l'arrêt de l'oxaliplatine, le 5-fluoro-uracile doit être poursuivi sous peine d'une diminution de la réponse au traitement [43].

La perfusion chronomodulée consiste à allonger le temps de perfusion de l'oxaliplatine dans le but de réduire le pic de concentration observée par la procédure classique pour diminuer l'incidence de la neurotoxicité. Une méta-analyse récente ne retient pas l'intérêt de cette technique [45]. La réalisation de perfusions de calcium et de magnésium semblait intéressante au vue des données physiopathologiques mais les données issues des nombreuses études réalisées sont contradictoires. Une méta-analyse récente ne met pas en évidence d'effet bénéfique à ces perfusions [46]. L'équipe de Cochin a mis en évidence un intérêt potentiel d'utiliser le mangafodipir, un dérivé de la vitamine B6 neuroprotecteur, dans la prévention et/ou le traitement de la neurotoxicité induite par l'oxaliplatine [71].

De nombreuses molécules telles que la carbamazépine, l'oxcarbazépine, la gabapentine, le xaliprodène, la venlafaxine, le glutathion ou l'amifostine ont été testés pour prévenir ou traiter la neuropathie induite par l'oxaliplatine. Les faibles effectifs et les populations hétérogènes ne permettent pas de conclure à leur efficacité. Ainsi, aucune étude n'a démontré le bénéfice d'un traitement médicamenteux préventif de la neuropathie induite par l'oxaliplatine [74].

Tableau 3 : Traitements préventifs de la NIO

| Interventions ou molécules | Etudes | Type d'étude | Principes | Conclusion |
|--|---|---|--|---|
| Stop and go | Maindrault-goebel <i>et al.</i> 2001 et 2004 Tournigand <i>et al.</i> 2006 | Prospective Prospective | Perfusion d'oxaliplatine pendant des durées inférieures ou égale à 3 mois pour permettre une réintroduction par la suite | Diminution de l'incidence des NIO de grade 2 ou plus. Nécessité de ne pas interrompre le LV5FU2 lors de l'arrêt de l'oxaliplatine sous peine d'une diminution de la survie sans récurrence. |
| Perfusion chronomodulée | Levi <i>et al.</i> 1997 Liao C 2010 | Prospective Méta-analyse | Augmentation du temps de perfusion pour diminuer la Concentration maximale sanguine d'oxaliplatine. | Pas de diminution de la NIO de grade 3 ou 4 dans la méta-analyse. |
| Perfusion de Calcium et magnésium | Jordan <i>et al.</i> 2016 Gamelin <i>et al.</i> 2004 Grothey <i>et al.</i> 2011 Knijn <i>et al.</i> 2011 Ishibashi <i>et al.</i> 2010 Chay <i>et al.</i> 2010 Han <i>et al.</i> 2013 Loprinzi <i>et al.</i> 2014 | Méta-analyse Rétrospective Prospective Rétrospective Prospective Prospective Prospective Prospective | L'oxalate chélate le calcium perturbant le fonctionnement des canaux ioniques | Multiplés études aux résultats contradictoires. Meta analyse récente ne mettant pas en évidence d'effet des perfusions de Ca ²⁺ et Mg ²⁺ |
| Acide alpha-lipoïc | Guo <i>et al.</i> 2014 | Prospective | Anti-oxydant mitochondrial : augmente la concentration intra-cellulaire du glutathion | Pas de diminution de l'incidence de la neurotoxicité |
| Amifostine | Lu <i>et al.</i> 2008 Penz <i>et al.</i> 2001 | Prospective Prospective | Chélateur de radicaux libres | Effet supérieur à celui de la glutamine pour la diminution de l'incidence de la NIO de grade 1 à 4. |
| Amitriptyline | Kautio <i>et al.</i> 2008 | Prospective | Antidépresseur utilisé dans le traitement des neuropathies | Pas d'effet sur la NIO |
| Carbamazépine | Eckel <i>et al.</i> 2002 Von Delius <i>et al.</i> 2007 | Prospective Prospective | Augmente l'inactivation des canaux sodiques voltage dépendants | Pas d'effet sur la NIO mais présence d'effets secondaires de la molécule. Faibles effectifs. |
| Gabapentine | Mitchell <i>et al.</i> 2006 | Prospective | Bloque certains canaux sodiques mais pas ceux connus pour être impliqués dans la NIO | Pas d'effet mis en évidence |
| Glutamine | Wang <i>et al.</i> 2007 | Prospective | Acide aminé par voie orale | Plus faible incidence des NIO de grade 1 et 2. Demande des preuves supplémentaires |
| Glutathion | Cascinu S <i>et al.</i> 2002 Milla P <i>et al.</i> 2009 | Prospective Prospective | Substance détoxifiant les métaux lourds | Diminution de l'incidence de la NIO Mais faibles effectifs et populations très hétérogènes. |
| Mangafodipir | Coriat <i>et al.</i> 2014 | Prospective | Dérivé de la vitamine B6, neuroprotecteur | Effet prometteur mais faibles effectifs |
| N-acetyl-cystéine | Lin <i>et al.</i> 2006 | Prospective | Augmente la concentration sanguine de glutathion | Diminution de l'incidence des NIO de grade 2 à 4 mais très faible effectif |
| Oxcarbazépine | Agryiou <i>et al.</i> 2006 | Prospective | Augmente l'inactivation des canaux sodiques voltage dépendants | Diminution de l'incidence et de la sévérité de la NIO mais essai de faible effectif |
| Venlafaxine | Durand JP <i>et al.</i> 2003 et 2012 Kus <i>et al.</i> 2016 Zimmerman <i>et al.</i> 2016 | Prospective Rétrospective Rétrospective | Inhibition de la recapture de la sérotonine | Résultats contradictoires Effets secondaires fréquents de la venlafaxine |
| Vitamine E | Salehi <i>et al.</i> 2016 | Prospective | Vitamine antioxydante liposoluble. Protège les membranes en inhibant la peroxydation des lipides. | Pas d'effet sur la NIO |
| Xaliproden | Cassidy <i>et al.</i> 2006 (abstract) | Prospective | Agit sur le récepteur 5 HT1 de la sérotonine et a des effets neurotrophiques | Pas d'effet sur l'incidence globale de la NIO |

Pharmacogénétique de la neurotoxicité induite par l'oxaliplatine

La pharmacogénétique est l'étude du génotype sur la variabilité de la réponse à un traitement médicamenteux. Elle a pour but de trouver un gène de susceptibilité associé à un risque individuel précoce de neurotoxicité. Cette approche permettrait éventuellement de réaliser un dépistage avant traitement chez tous les malades et d'anticiper la survenue de cette toxicité.

Les études de pharmacogénétique réalisées dans le cadre de la neurotoxicité induite par l'oxaliplatine étudient principalement les polymorphismes de gènes codant pour des protéines de réparation de l'ADN et de détoxification intracellulaire de l'oxaliplatine.

Plusieurs polymorphismes génétiques portant sur un nucléotide (SNPs pour « *single nucleotid polymorphism* ») ont été associés à un risque accru de développer une neurotoxicité ou à sa sévérité. Les plus étudiés sont ceux des gènes *GSTP1* (glutathione-S-tranferase), *ERCCI* (excision repair cross-complementing group 1), *AGXT* (alanine-glycoxylate aminotransferase) et *ITGB3* (intégrin beta 3).

La glutathione-S-tranferase est une enzyme de détoxification jouant un rôle dans le métabolisme des sels de platine. Le polymorphisme, Ile105Val (substitution d'une isoleucine en valine), a été associé à la neurotoxicité induite par l'oxaliplatine. Plus d'une vingtaine d'études ont étudié ce polymorphisme avec des résultats contradictoires [75, 76]. L'intégrine Beta 3 est une protéine membranaire qui est impliquée dans l'adhésion cellulaire et qui participe également à différentes signalisations cellulaires. Une étude a montré qu'un polymorphisme du gène codant cette protéine prédisait non pas la survenue d'une neurotoxicité mais d'une plus grande sévérité [77]. L'alanine-glycoxylate aminotransferase (*AGXT*) est une enzyme jouant également un rôle dans le métabolisme de l'oxaliplatine. Un des polymorphismes de ce gène a également été associé à la sévérité de la neurotoxicité mais cela n'a pu être confirmé par la suite [78]. Le gène *ERCCI* code pour une protéine intervenant dans les systèmes de réparation de

l'ADN. Une seule étude sur une population asiatique a mis en évidence une association entre un polymorphisme du gène *ERCC1* et la survenue précoce d'une neurotoxicité [79].

Par contre, dans une étude prospective portant sur 200 patients, des polymorphismes des gènes *SCN4A* et *SCN10A* codant pour des canaux sodiques dépendants du voltage étaient associés à la neurotoxicité aiguë [80]. D'autres travaux avec des groupes indépendants sont nécessaires pour confirmer ces premières données. Par ailleurs, une étude prospective récente, japonaise, comprenant plus de 800 patients n'a pas mis en évidence d'association entre 12 polymorphismes et la neurotoxicité induite par l'oxaliplatine [81].

Dans les études concernant la neurotoxicité induite par l'oxaliplatine les critères de jugement principaux, bien que reproductibles, sont subjectifs ce qui peut également expliquer ces résultats contradictoires. Des études prospectives de plus grande envergure et utilisant des critères de jugement objectifs, tels des paramètres de l'électromyographie, sont nécessaires.

Prise en charge de la neurotoxicité induite par l'oxaliplatine

Avant de débiter un traitement à base d'oxaliplatine, le patient doit être informé par son praticien, mais également par l'infirmière d'annonce, des effets secondaires possibles.

Des mesures simples et empiriques sont préconisées telles qu'éviter les boissons froides ou encore prévenir le contact des extrémités avec le froid par le port de gant en extérieur, même si l'efficacité de ces mesures n'est pas démontrée. Durant toute la durée de la chimiothérapie la neurotoxicité induite par l'oxaliplatine doit être évaluée rigoureusement par l'interrogatoire du patient et un examen neurologique minutieux. En cas d'apparition d'une neurotoxicité de grade ≥ 2 , des adaptations de doses doivent être envisagées. Si les troubles neurologiques perdurent ou progressent, l'arrêt de l'oxaliplatine est nécessaire.

Une fois la neurotoxicité installée, la gabapentine, la prégabaline [82] et la duloxétine [83, 84] semblent pouvoir améliorer les symptômes présentés par les patients mais ces données

proviennent essentiellement de cas rapportés et des études supplémentaires sont nécessaires afin de valider leur efficacité dans cette indication.

Conclusion

La neurotoxicité induite par l'oxaliplatine est limitante et impacte la qualité de vie des patients traités. A ce jour, aucun traitement préventif n'est recommandé. Malgré un nombre important d'études à ce sujet, les mécanismes physiopathologiques ne sont pas encore complètement élucidés. Pour améliorer la prise en charge des patients, il sera probablement important de déterminer l'existence d'un gène prédominant de susceptibilité de la neurotoxicité afin de mieux anticiper l'apparition d'une atteinte chronique et invalidante et d'administrer une chimiothérapie individualisée.

Points clés

- Deux types de neurotoxicité distincts : aigue et chronique
- 80% des patients présentent une neurotoxicité aigue, 25% une neurotoxicité chronique
- 90% de probabilité de récupération 2 ans après l'arrêt du traitement
- Pas de traitement préventif actuellement recommandé
- Intérêt des biomarqueurs, notamment de marqueurs génétiques afin de mieux déterminer le risque individuel de neurotoxicité induite par l'oxaliplatine.

Références

1. Graham J, Mushin M, Kirkpatrick P. Oxaliplatin. *Nature Reviews Drug Discovery* 2004; 3 : 11-2.
2. Mathe G, Kidani Y, Triana K, *et al.* A phase I trial of trans-1-diaminocyclohexane oxalato-platinum (I-OHP). *Biomed Pharmacother* 1986; 40 : 372-6.
3. de Gramont A, Figuer A, Seymour M, *et al.* Leucovorin and fluorouracil with or without oxaliplatin as first-line treatment in advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2000; 18 : 2938-47.
4. Andre T, Boni C, Mounedji-Boudiaf L, *et al.* Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment for colon cancer. *N Engl J Med* 2004; 350 : 2343-51.
5. Graham MA, Lockwood GF, Greenslade D, *et al.* Clinical pharmacokinetics of oxaliplatin: a critical review. *Clin Cancer Res* 2000; 6 : 1205-18.
6. Gamelin L, Boisdron-Celle M, Morel A, Gamelin E. [Oxaliplatin neurotoxicity]. *Bulletin Du Cancer* 2006; 93 Suppl 1 : S17-22.
7. Argyriou AA, Cavaletti G, Briani C, *et al.* Clinical pattern and associations of oxaliplatin acute neurotoxicity: a prospective study in 170 patients with colorectal cancer. *Cancer* 2013; 119 : 438-44.
8. Sereno M, Gutiérrez-Gutiérrez G, Gómez-Raposo C, *et al.* Oxaliplatin induced-neuropathy in digestive tumors. *Crit Rev Oncol Hematol* 2014; 89 : 166-78.
9. Balayssac D, Ferrier J, Descoeur J, *et al.* Chemotherapy-induced peripheral neuropathies: from clinical relevance to preclinical evidence. *Expert Opin Drug Saf* 2011; 10 : 407-17.
10. Argyriou AA, Kyritsis AP, Makatsoris T, Kalofonos HP. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy in adults: a comprehensive update of the literature. *Cancer Manag Res* 2014; 6 : 135-47.
11. Park SB, Koltzenburg M, Lin CS, Kiernan MC. Longitudinal assessment of oxaliplatin-induced neuropathy. *Neurology* 2012; 78 : 152.
12. Land SR, Kopec JA, Cecchini RS, *et al.* Neurotoxicity from oxaliplatin combined with weekly bolus fluorouracil and leucovorin as surgical adjuvant chemotherapy for stage II and III colon cancer: NSABP C-07. *J Clin Oncol* 2007; 25 : 2205-11.
13. Ducreux M, Ychou M, Laplanche A, *et al.* Hepatic arterial oxaliplatin infusion plus intravenous chemotherapy in colorectal cancer with inoperable hepatic metastases: a trial of the gastrointestinal group of the Federation Nationale des Centres de Lutte Contre le Cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23 : 4881-7.
14. Boige V, Malka D, Elias D, *et al.* Hepatic arterial infusion of oxaliplatin and intravenous LV5FU2 in unresectable liver metastases from colorectal cancer after systemic chemotherapy failure. *Ann Surg Oncol* 2008; 15 : 219-26.
15. Volovat SR, Volovat C, Negru SM, *et al.* The efficacy and safety of hepatic arterial infusion of oxaliplatin plus intravenous irinotecan, leucovorin and fluorouracil in colorectal cancer with inoperable hepatic metastasis. *J Chemother* 2016; 28 : 235-41.
16. Lim A, Le Sourd S, Senellart H, *et al.* Hepatic Arterial Infusion Chemotherapy for Unresectable Liver Metastases of Colorectal Cancer: A Multicenter Retrospective Study. *Clin Colorectal Cancer* 2017.
17. Chen Y, Wang X, Yan Z, *et al.* Hepatic arterial infusion with irinotecan, oxaliplatin, and floxuridine plus systemic chemotherapy as first-line treatment of unresectable liver metastases from colorectal cancer. *Onkologie* 2012; 35 : 480-4.
18. Li C, Gu Y, Zhao M, *et al.* Phase I trial of hepatic arterial infusion (HAI) of floxuridine with modified oxaliplatin, 5-fluorouracil and leucovorin (m-FOLFOX6) in Chinese patients with unresectable liver metastases from colorectal cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2014; 74 : 1079-87.

19. Levi F, Perpoint B, Garufi C, *et al.* Oxaliplatin activity against metastatic colorectal cancer. A phase II study of 5-day continuous venous infusion at circadian rhythm modulated rate. *Eur J Cancer* 1993; 29A : 1280-4.
20. Argyriou AA, Polychronopoulos P, Iconomou G, *et al.* A review on oxaliplatin-induced peripheral nerve damage. *Cancer Treat Rev* 2008; 34 : 368-77.
21. Krishnan AV, Goldstein D, Friedlander M, Kiernan MC. Oxaliplatin-induced neurotoxicity and the development of neuropathy. *Muscle Nerve* 2005; 32 : 51-60.
22. Park SB, Lin CS-Y, Krishnan AV, *et al.* Oxaliplatin-induced neurotoxicity: changes in axonal excitability precede development of neuropathy. *Brain* 2009; 132 : 2712-23.
23. McWhinney SR, Goldberg RM, McLeod HL. Platinum Neurotoxicity Pharmacogenetics. *Mol Cancer Ther* 2009; 8 : 10-6.
24. Ta LE, Espeset L, Podratz J, Windebank AJ. Neurotoxicity of oxaliplatin and cisplatin for dorsal root ganglion neurons correlates with platinum-DNA binding. *Neurotoxicology* 2006; 27 : 992-1002.
25. Jamieson SM, Liu J, Connor B, McKeage MJ. Oxaliplatin causes selective atrophy of a subpopulation of dorsal root ganglion neurons without inducing cell loss. *Cancer Chemother Pharmacol* 2005; 56 : 391-9.
26. Jamieson SM, Subramaniam J, Liu JJ, *et al.* Oxaliplatin-induced loss of phosphorylated heavy neurofilament subunit neuronal immunoreactivity in rat DRG tissue. *Mol Pain* 2009; 5 : 66.
27. Liu JJ, Jamieson SM, Subramaniam J, *et al.* Neuronal expression of copper transporter 1 in rat dorsal root ganglia: association with platinum neurotoxicity. *Cancer Chemother Pharmacol* 2009; 64 : 847-56.
28. Scuteri A, Galimberti A, Maggioni D, *et al.* Role of MAPKs in platinum-induced neuronal apoptosis. *Neurotoxicology* 2009; 30 : 312-9.
29. Boyette-Davis J, Dougherty PM. Protection against oxaliplatin-induced mechanical hyperalgesia and intraepidermal nerve fiber loss by minocycline. *Exp Neurol* 2011; 229 : 353-7.
30. Wilson RH, Lehky T, Thomas RR, *et al.* Acute oxaliplatin-induced peripheral nerve hyperexcitability. *J Clin Oncol* 2002; 20 : 1767-74.
31. Park SB, Lin CS-Y, Kiernan MC. Nerve Excitability Assessment in Chemotherapy-induced Neurotoxicity. *J Vis Exp* 2012.
32. Adelsberger H, Quasthoff S, Grosskreutz J, *et al.* The chemotherapeutic oxaliplatin alters voltage-gated Na(+) channel kinetics on rat sensory neurons. *European Journal of Pharmacology* 2000; 406 : 25-32.
33. Park SB, Lin CS-Y, Krishnan AV, *et al.* Dose Effects of Oxaliplatin on Persistent and Transient Na⁺ Conductances and the Development of Neurotoxicity. *PLoS ONE* 2011; 6.
34. Dimitrov AG, Dimitrova NA. A possible link of oxaliplatin-induced neuropathy with potassium channel deficit. *Muscle Nerve* 2012; 45 : 403-11.
35. Grolleau F, Gamelin L, Boisdron-Celle M, *et al.* A possible explanation for a neurotoxic effect of the anticancer agent oxaliplatin on neuronal voltage-gated sodium channels. *Journal of Neurophysiology* 2001; 85 : 2293-7.
36. Carozzi VA, Canta A, Chiorazzi A. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: What do we know about mechanisms? *Neuroscience Letters* 2015; 596 : 90-107.
37. Basso M, Modoni A, Spada D, *et al.* Polymorphism of CAG motif of SK3 gene is associated with acute oxaliplatin neurotoxicity. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 2011; 67 : 1179-87.
38. Zhao M, Isami K, Nakamura S, *et al.* Acute cold hypersensitivity characteristically induced by oxaliplatin is caused by the enhanced responsiveness of TRPA1 in mice. *Mol Pain* 2012; 8 : 55.

39. Xiao WH, Bennett GJ. Effects of mitochondrial poisons on the neuropathic pain produced by the chemotherapeutic agents, paclitaxel and oxaliplatin. *Pain* 2012; 153 : 704-9.
40. Schellingerhout D, LeRoux LG, Hobbs BP, Bredow S. Impairment of retrograde neuronal transport in oxaliplatin-induced neuropathy demonstrated by molecular imaging. *PLoS One* 2012; 7 : e45776.
41. Maindrault-Goebel F, de Gramont A, Louvet C, *et al.* High-dose intensity oxaliplatin added to the simplified bimonthly leucovorin and 5-fluorouracil regimen as second-line therapy for metastatic colorectal cancer (FOLFOX 7). *Eur J Cancer* 2001; 37 : 1000-5.
42. Maindrault-Goebel F, Tournigand C, Andre T, *et al.* Oxaliplatin reintroduction in patients previously treated with leucovorin, fluorouracil and oxaliplatin for metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol* 2004; 15 : 1210-4.
43. Tournigand C, Cervantes A, Figer A, *et al.* OPTIMOX1: a randomized study of FOLFOX4 or FOLFOX7 with oxaliplatin in a stop-and-Go fashion in advanced colorectal cancer--a GERCOR study. *J Clin Oncol* 2006; 24 : 394-400.
44. Levi F, Zidani R, Misset JL. Randomised multicentre trial of chronotherapy with oxaliplatin, fluorouracil, and folinic acid in metastatic colorectal cancer. International Organization for Cancer Chronotherapy. *Lancet* 1997; 350 : 681-6.
45. Liao C, Li J, Bin Q, *et al.* Chronomodulated chemotherapy versus conventional chemotherapy for advanced colorectal cancer: a meta-analysis of five randomized controlled trials. *Int J Colorectal Dis* 2010; 25 : 343-50.
46. Jordan B, Jahn F, Beckmann J, *et al.* Calcium and Magnesium Infusions for the Prevention of Oxaliplatin-Induced Peripheral Neurotoxicity: A Systematic Review. *Oncology* 2016; 90 : 299-306.
47. Gamelin L, Boisdron-Celle M, Delva R, *et al.* Prevention of oxaliplatin-related neurotoxicity by calcium and magnesium infusions: a retrospective study of 161 patients receiving oxaliplatin combined with 5-Fluorouracil and leucovorin for advanced colorectal cancer. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 2004; 10 : 4055-61.
48. Grothey A, Nikcevich DA, Sloan JA, *et al.* Intravenous calcium and magnesium for oxaliplatin-induced sensory neurotoxicity in adjuvant colon cancer: NCCTG N04C7. *J Clin Oncol* 2011; 29 : 421-7.
49. Knijn N, Tol J, Koopman M, *et al.* The effect of prophylactic calcium and magnesium infusions on the incidence of neurotoxicity and clinical outcome of oxaliplatin-based systemic treatment in advanced colorectal cancer patients. *Eur J Cancer* 2011; 47 : 369-74.
50. Ishibashi K, Okada N, Miyazaki T, *et al.* Effect of calcium and magnesium on neurotoxicity and blood platinum concentrations in patients receiving mFOLFOX6 therapy: a prospective randomized study. *Int J Clin Oncol* 2010; 15 : 82-7.
51. Chay WY, Tan SH, Lo YL, *et al.* Use of calcium and magnesium infusions in prevention of oxaliplatin induced sensory neuropathy. *Asia Pac J Clin Oncol* 2010; 6 : 270-7.
52. Han CH, Khwaounjoo P, Kilfoyle DH, *et al.* Phase I drug-interaction study of effects of calcium and magnesium infusions on oxaliplatin pharmacokinetics and acute neurotoxicity in colorectal cancer patients. *BMC Cancer* 2013; 13 : 495.
53. Loprinzi CL, Qin R, Dakhil SR, *et al.* Phase III randomized, placebo-controlled, double-blind study of intravenous calcium and magnesium to prevent oxaliplatin-induced sensory neurotoxicity (N08CB/Alliance). *J Clin Oncol* 2014; 32 : 997-1005.
54. Guo Y, Jones D, Palmer JL, *et al.* Oral alpha-lipoic acid to prevent chemotherapy-induced peripheral neuropathy: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Support Care Cancer* 2014; 22 : 1223-31.
55. Lu P, Fan QX, Wang LX, *et al.* [Prophylactic effect of amifostine on oxaliplatin-related neurotoxicity in patients with digestive tract tumors]. *Ai Zheng* 2008; 27 : 1117-20.

56. Penz M, Kornek GV, Raderer M, *et al.* Subcutaneous administration of amifostine: a promising therapeutic option in patients with oxaliplatin-related peripheral sensitive neuropathy. *Ann Oncol* 2001; 12 : 421-2.
57. Kautio AL, Haanpaa M, Saarto T, Kalso E. Amitriptyline in the treatment of chemotherapy-induced neuropathic symptoms. *J Pain Symptom Manage* 2008; 35 : 31-9.
58. Eckel F, Schmelz R, Adelsberger H, *et al.* [Prevention of oxaliplatin-induced neuropathy by carbamazepine. A pilot study]. *Dtsch Med Wochenschr* 2002; 127 : 78-82.
59. von Delius S, Eckel F, Wagenpfeil S, *et al.* Carbamazepine for prevention of oxaliplatin-related neurotoxicity in patients with advanced colorectal cancer: final results of a randomised, controlled, multicenter phase II study. *Invest New Drugs* 2007; 25 : 173-80.
60. Mitchell PL, Goldstein D, Michael M, *et al.* Addition of gabapentin to a modified FOLFOX regimen does not reduce oxaliplatin-induced neurotoxicity. *Clin Colorectal Cancer* 2006; 6 : 146-51.
61. Wang WS, Lin JK, Lin TC, *et al.* Oral glutamine is effective for preventing oxaliplatin-induced neuropathy in colorectal cancer patients. *Oncologist* 2007; 12 : 312-9.
62. Cascinu S, Catalano V, Cordella L, *et al.* Neuroprotective effect of reduced glutathione on oxaliplatin-based chemotherapy in advanced colorectal cancer: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 2002; 20 : 3478-83.
63. Milla P, Airoidi M, Weber G, *et al.* Administration of reduced glutathione in FOLFOX4 adjuvant treatment for colorectal cancer: effect on oxaliplatin pharmacokinetics, Pt-DNA adduct formation, and neurotoxicity. *Anticancer Drugs* 2009; 20 : 396-402.
64. Lin PC, Lee MY, Wang WS, *et al.* N-acetylcysteine has neuroprotective effects against oxaliplatin-based adjuvant chemotherapy in colon cancer patients: preliminary data. *Support Care Cancer* 2006; 14 : 484-7.
65. Argyriou AA, Chroni E, Polychronopoulos P, *et al.* Efficacy of oxcarbazepine for prophylaxis against cumulative oxaliplatin-induced neuropathy. *Neurology* 2006; 67 : 2253-5.
66. Durand JP, Brezault C, Goldwasser F. Protection against oxaliplatin acute neurosensory toxicity by venlafaxine. *Anticancer Drugs* 2003; 14 : 423-5.
67. Durand JP, Deplanque G, Montheil V, *et al.* Efficacy of venlafaxine for the prevention and relief of oxaliplatin-induced acute neurotoxicity: results of EFOOX, a randomized, double-blind, placebo-controlled phase III trial. *Ann Oncol* 2012; 23 : 200-5.
68. Kus T, Aktas G, Alpak G, *et al.* Efficacy of venlafaxine for the relief of taxane and oxaliplatin-induced acute neurotoxicity: a single-center retrospective case-control study. *Support Care Cancer* 2016; 24 : 2085-91.
69. Zimmerman C, Atherton PJ, Pachman D, *et al.* MC11C4: a pilot randomized, placebo-controlled, double-blind study of venlafaxine to prevent oxaliplatin-induced neuropathy. *Support Care Cancer* 2016; 24 : 1071-8.
70. Salehi Z, Roayaei M. Effect of Vitamin E on Oxaliplatin-induced Peripheral Neuropathy Prevention: A Randomized Controlled Trial. *Int J Prev Med* 2015; 6 : 104.
71. Coriat R, Alexandre J, Nicco C, *et al.* Treatment of oxaliplatin-induced peripheral neuropathy by intravenous mangafodipir. *J Clin Invest* 2014; 124 : 262-72.
72. Park SB, Goldstein D, Lin CS-Y, *et al.* Acute abnormalities of sensory nerve function associated with oxaliplatin-induced neurotoxicity. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 2009; 27 : 1243-9.
73. Tanishima H, Tominaga T, Kimura M, *et al.* Hyperacute peripheral neuropathy is a predictor of oxaliplatin-induced persistent peripheral neuropathy. *Support Care Cancer* 2016.
74. Albers JW, Chaudhry V, Cavaletti G, Donehower RC. Interventions for preventing neuropathy caused by cisplatin and related compounds. *Cochrane Database Syst Rev* 2011 : CD005228.

75. Lecomte T, Landi B, Beaune P, *et al.* Glutathione S-transferase P1 polymorphism (Ile105Val) predicts cumulative neuropathy in patients receiving oxaliplatin-based chemotherapy. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 2006; 12 : 3050-6.
76. Kanai M, Yoshioka A, Tanaka S, *et al.* Associations between glutathione S-transferase pi Ile105Val and glyoxylate aminotransferase Pro11Leu and Ile340Met polymorphisms and early-onset oxaliplatin-induced neuropathy. *Cancer Epidemiol* 2010; 34 : 189-93.
77. Antonacopoulou AGA, A. A.Scopa, C. D.Kottorou, A.Kominea, A.Peroukides, S.Kalofonos, H. P. Integrin beta-3 L33P: a new insight into the pathogenesis of chronic oxaliplatin-induced peripheral neuropathy? *European Journal of Neurology* 2010; 17 : 963-8.
78. Gamelin L, Capitain O, Morel A, *et al.* Predictive factors of oxaliplatin neurotoxicity: the involvement of the oxalate outcome pathway. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 2007; 13 : 6359-68.
79. Inada M, Sato M, Morita S, *et al.* Associations between oxaliplatin-induced peripheral neuropathy and polymorphisms of the ERCC1 and GSTP1 genes. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics* 2010; 48 : 729-34.
80. Argyriou AA, Cavaletti G, Antonacopoulou A, *et al.* Voltage-gated sodium channel polymorphisms play a pivotal role in the development of oxaliplatin-induced peripheral neurotoxicity: results from a prospective multicenter study. *Cancer* 2013; 119 : 3570-7.
81. Kanai M, Kawaguchi T, Kotaka M, *et al.* Large-scale prospective pharmacogenomics study of oxaliplatin-induced neuropathy in colon cancer patients enrolled in the JFMC41-1001-C2 (JOIN Trial). *Ann Oncol* 2016; 27 : 1143-8.
82. Saif MW, Hashmi S. Successful amelioration of oxaliplatin-induced hyperexcitability syndrome with the antiepileptic pregabalin in a patient with pancreatic cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2008; 61 : 349-54.
83. Yang YH, Lin JK, Chen WS, *et al.* Duloxetine improves oxaliplatin-induced neuropathy in patients with colorectal cancer: an open-label pilot study. *Support Care Cancer* 2012; 20 : 1491-7.
84. Smith EM, Pang H, Cirrincione C, *et al.* Effect of duloxetine on pain, function, and quality of life among patients with chemotherapy-induced painful peripheral neuropathy: a randomized clinical trial. *JAMA* 2013; 309 : 1359-67.

Partie 2 : Article original

Is polymorphism CAG of potassium channel SK3 gene/KCNN3 associated with oxaliplatin-induced neurotoxicity?

Benjamin ANON¹, Bérenger LARGEAU², Alban GIRAULT³, Morgane CAULET¹, Clémence PERRAY¹, Driffa MOUSSATA¹, Christophe VANDIER⁴, Chantal BARIN^{2,5}, Thierry LECOMTE^{1,3}.

1: Department of gastroenterology and digestive oncology, hôpital Trousseau, CHRU de Tours, 37044 Tours, France

2: Department of molecular biology, hôpital Bretonneau, CHRU de Tours, 37044 Tours, France

3: UMR CNRS 7292 (GICC), Université François Rabelais, Tours, 37032, France

4: INSERM, UMR 1069, Université François Rabelais, Tours, 37032, France

5: INSERM, UMR 850, Université de Limoges, Limoges, 87000, France

Corresponding author at: ANON Benjamin, Service d'Hépatogastro-entérologie, Hôpital Trousseau, CHRU de Tours, 37044 Tours, France. Fax: +33247478428.
Anon.Benjamin@gmail.com

Key words: neuropathy / platinum / KCNN3 / SK3 channel / oxaliplatin

Conflicts of interest:

Funding support: A. Girault held a fellowship from "Fondation de France".

Acknowledgment:

Network "Ion channels and cancer – Canceropôle Grand Ouest", (IC-CGO) France (<http://www.ic-cgo.fr/>)

Introduction

Oxaliplatin or 1,2-diaminocyclohexane trans-1-oxaliplatinum is a third-generation derivative of platinum compounds. It has been synthesized in an attempt to overcome development of resistance from previous generations of platinum derivatives (cisplatin and carboplatin). Currently, oxaliplatin is one of the most frequently used chemotherapy agent in colorectal cancer. Its benefit both in the adjuvant setting and advanced forms has previously been established [1, 2]. The predominant oxaliplatin dose-limiting side effect is neurotoxicity. This neurotoxicity presents two components: an acute and a chronic form [3]. Acute neurotoxicity is specific to oxaliplatin. Acute oxaliplatin-induced neurotoxicity (OIN) is characterized by a transient cold-induced distal dysesthesia, paraesthesia, muscular contractions and numbness. Chronic OIN is a cumulative sensory peripheral neuropathy with distal paraesthesia that develops gradually. OIN causes significant discomfort, alters patient quality of life, and may be accompanied by significant disability. OIN is often a cause for dose reduction or treatment discontinuation even though treatment proves effective. Physiopathology of OIN remains unclear. The most accepted mechanism of the chronic OIN is decreased cellular metabolism resulting from the accumulation of oxaliplatin in the dorsal root ganglia cells [4]. It has also been shown a neuronal hyper excitability in acute OIN [5, 6]. Oxaliplatin was found to reduce voltage-gated sodium channels through a pathway involving intracellular Ca^{2+} probably immobilized by its metabolite oxalate [7]. So far, there has been lower agreement on about the role of potassium channel involvement in OIN but the activity and the expression of various subtype of potassium channels have been shown to be affected by oxaliplatin. At the best of our knowledge, effect on small conductance calcium-activated potassium channels have not been tested [8-10]. These channels are crucial contributors in the control of neuronal excitability and thus may play a role in OIN physiopathogenesis. These channels are voltage-insensitive and are activated by the increase of intracellular Ca^{2+} concentrations. They are activated after

sensory stimulation and act to control sensory input into the spinal cord. These channels are highly represented in the peripheral nervous system and dorsal root ganglion neurons [11]. In excitable cells such as neurons, the activation of SK3 channels by low intracellular concentrations of Ca^{2+} , results in hyperpolarization of the plasma membrane and changes in cellular excitability [12]. The *KCNN3* gene encoding the SK3 channel, contains a polymorphic number of CAG repeats in the N-terminal coding region [13]. This polymorphism codes for the second N-terminal polyglutamine array in the SK3-protein subunit. Previous research has established that this length polymorphism CAG is functional in mice. Thus, Grube *et al.* have worked in HEK293 cells, expressing short (11 CAG repetitions = HEK293-SK3(CAG)₁₁) or long (24 CAG repetitions = HEK293-SK3(CAG)₂₄) SK3 channel isoforms. They have shown that HEK293-SK3(CAG)₁₁ cells present higher current density compared to HEK293-SK3(CAG)₂₄ cells [14]. In humans, several studies have found an association between this polymorphic CAG repeat and schizophrenia [15], ataxia [16] or migraine [17]. Moreover, Basso *et al.* in 2011 [18] have shown an association between the length polymorphism of *KCNN3* and acute oxaliplatin neurotoxicity in a series of 40 patients. In this work, 13–14 CAG repeats alleles could make patients susceptible to acute OIN. Nevertheless, these results remains controversial and complementary data were needed [19].

The present study was aimed at determining the link between genetic polymorphism of *KCNN3* and oxaliplatin neurotoxicity through an electrophysiological pre-clinical experimental work on a cellular model completed by a clinical study in a series of patients treated with oxaliplatin.

Materials and methods

Preclinical study

Cell Culture

HEK293 cells, expressing short (11 CAG repetitions) or long (24 CAG repetitions) SK3 channel isoforms, were kindly provided by L. Pardo (Max Planck Institute of Experimental Medicine, Göttingen, Germany). These cells were maintained in Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) supplemented with 10% foetal bovine serum (FBS). Cells were grown in a humidified atmosphere at 37°C (95% air, 5% CO₂). Cell cultures were controlled using the Mycoalert® Mycoplasma Detection Kit (Lonza).

Electrophysiology

Experiments were performed with cells seeded into 35-mm Petri dishes at 3000 to 6000 cells per cm². All experiments were performed using the conventional whole cell recording configuration of the patch-clamp technique as previously described [20]. Before electrophysiological recording experiments, the growth medium was discarded and replaced by a physiological solution (in mmol/L: NaCl 140, MgCl₂ 1, KCl 4, CaCl₂ 2, D-glucose 11.1, and HEPES 10, adjusted to pH 7.4 with NaOH). The pipette solution for the whole-cell recording contained (in mmol/L): K-glutamate 125, KCl 20, CaCl₂ 8.7, MgCl₂ 1, Mg-ATP 1, EGTA 10, HEPES 10, adjusted to pH 7.2 with KOH (pCa = 6 corresponding to 1 μM of free Ca²⁺).

Briefly, patch-clamp experiments were conducted using an Axopatch 200B patch-clamp amplifier (Axon Instrument) and data, digitized with 1322-A Digidata converter (Axon Instrument), were stored on a computer using the software Clampex of pClamp 10 (Axon Instrument). The patch clamp data were analysed using Clampfit 10. The acute effects of oxaliplatin on HEK293 cells were observed using a ramp protocol from +100 mV to -100 mV with a holding potential of 0 mV (500 ms duration; 4 sec intervals, **Figure 1A, left panel**) to

inactivate endogenous potassium currents. Before and after oxaliplatin application (steady state), whole cell macroscopic currents were generated by stepwise 20 mV depolarizing pulses (500 ms duration; 4 sec intervals, **Figure 1A, right panel**) from -100 mV to +100 mV from a constant holding potential of 0 mV. Signals were filtered at 1 kHz and were digitized at 5 kHz.

Clinical study

This study was conducted in a tertiary care center. Adult patients with histologically proven diagnosis of stage II, III or IVa colorectal cancer who received an oxaliplatin-based chemotherapy for 6 months from September 2008 to August 2015 were included in this retrospective analysis. The patients with pre-existing neuropathy or who received taxanes, vinca-alkaloids or platinum-based chemotherapy before oxaliplatin-based chemotherapy were excluded. To reduce putative confounding parameter about neurotoxicity, patients treated with anti-epileptic drugs, amifostine, glutathione, glutamine, calcium and magnesium solutions or other neuromodulatory agents were excluded. Neurological examinations were performed at baseline and before each cycle. OIN was scored according to the oxaliplatin-specific scale reported by Lecomte and Caussanel [21, 22]. On this oxaliplatin-specific scale, the grade of neuropathy depends on the duration and intensity of symptoms (grade 0: no symptoms; grade 1: paraesthesia, dysesthesia of short duration; grade 2: paraesthesia, dysesthesia persisting between cycles; grade 3: paraesthesia, dysesthesia causing functional impairment). Data were retrospectively collected from electronic medical records.

Statistical analysis

The primary end point was the development of a grade 2 or 3 neuropathy to oxaliplatin. Patients were categorized into two groups as defined by an OIN grade 0 or 1 versus grade 2 or 3. We have defined a short allele as an allele with CAG repeats <19 and long allele as an allele with

CAG repeats ≥ 19 . The patients were divided into 3 groups based on allele length: patients with 2 short alleles, 1 short and 1 long allele, and 2 long alleles. Secondary endpoints were overall survival and disease-free survival. Means with standard deviation or percentage were used for descriptive data. Chi² test was used to assess the association between OIN and *KCNN3* polymorphisms. The comparison of survival and disease-free survival for the 3 groups was done using Kaplan-Meier survival curves and were tested by log-rank test. $P < 0.05$ was used for statistical significance. Statistical analysis was performed using Graphpad prism 6 software. All patients entered in this study signed an informed consent form for blood sample collection to establish the clinical significance of genetic polymorphisms in gastrointestinal cancer.

***KCNN3* genotyping assay**

Genomic DNA was extracted from peripheral blood leukocytes according to the kit manufacturer's protocol (FlexiGene DNA kit, QIAGEN, Hilden, Germany). The DNA region containing the repeated trinucleotide sequence was amplified by the fluorescent polymerase chain reaction (PCR) method with a DNA thermal cycler, using the sense primer 5'-CAGCAGCCCCTGGGACCCTCGC and the antisense 5' 6-FAM GGAGTTGGGCGAGCTGAGACAG. The PCR reaction was carried out in a total volume of 50 μ L containing 100 ng of total DNA, 1 μ L of each primer (10 μ M), 5 μ L Accuprime® PCR buffer II (10X) and 1 μ L of Taq polymerase (Invitrogen, Carlsbad, Calif, USA). The amplification protocol consisted in an initial denaturation at 95°C for 4 minutes, 22 thermocycling cycles (annealing at 55°C for 60 s and primer extension at 72°C for 30 s), and a final extension at 72°C for 10 minutes. The length of the PCR product generated depended on the number of CAG repeats. PCR products were separated by size using capillary electrophoresis on an Applied 3130XL automated DNA capillary sequencer (Applied Biosystems, Carlsbad, Calif, USA). GeneScan™ 500 ROX™ Size Standard was used as

standard to extrapolate the size of the sample product peaks. The method has been previously validated in our laboratory against Sanger sequencing.

Results

Electrophysiological experiments

Consistently with already published data from Grube *et al.*, HEK293-SK3(CAG)₁₁ cells presented higher current density as compared to HEK293-SK3(CAG)₂₄ cells [14]. This confirmed that the length of CAG repeats indeed affected the activity of SK3 channel in this cellular model. These data support the hypothesis that the length of the CAG repeat sequence could affect the control of the neural excitability by SK3 channel and could be a putative target to the OIN. We thus evaluated the effect of 100 μ M oxaliplatin on the two cell lines expressing short and long SK3 isoforms. As shown in **figure 1B**, oxaliplatin reduces the current density amplitude about 15% in HEK293-SK3(CAG)₁₁ cells at + 60 mV. Similar results were obtained in the cells expressing the long SK3 isoform (**Figure 1B**). We then analyzed the effect of oxaliplatin on the inward rectification of SK3 current. Normalized apamin-sensitive current density curves of cell expressing the long CAG polymorphism demonstrate very well superposition between oxaliplatin and control conditions (**Figure 1C, right panel**). At the opposite we observed that oxaliplatin induce a slight left shift of the normalized current density curve of the HEK293-SK3 (CAG)₁₁ cells (**Figure 1C, left panel**).

In addition, oxaliplatin has no effect on calcium entry measured in cells expressing long and short length of SK3 CAG repeats (Fura-2 experiments, data not shown).

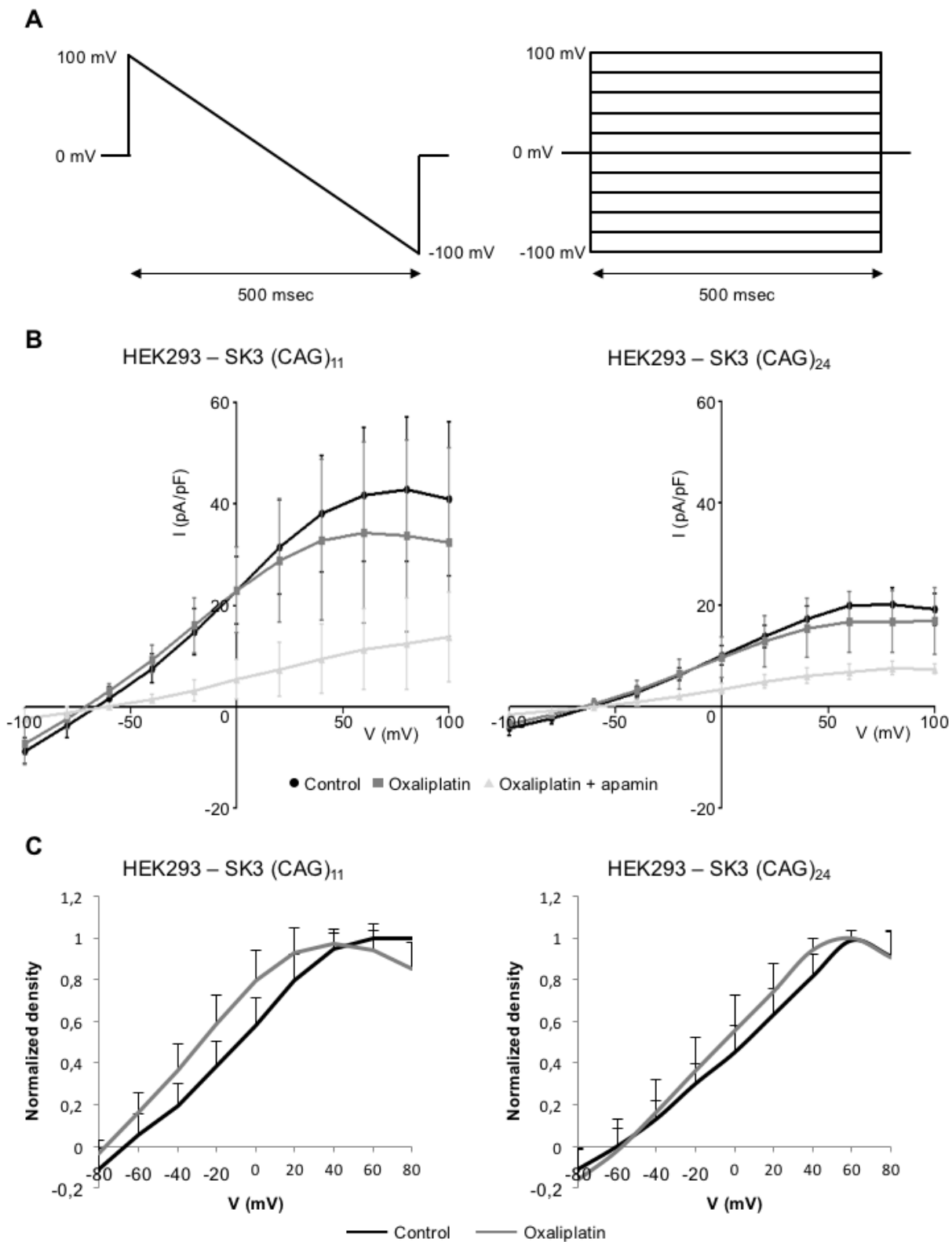


Figure 1. Effect of oxaliplatin on SK3 current amplitude.

A. Patch clamp protocols used in the study. Ramp protocol used to follow the evolution of the current amplitude after oxaliplatin application (Left panel) and current-voltage protocol (increment 20 mV, 500 msec, 4 sec intervals) used to record macroscopic current at the stable state before and after application of drug (Right panel). **B.** Effect of 100 μ M oxaliplatin or 100 μ M oxaliplatin + 100 nM apamin on HEK293 – SK3(CAG)₁₁ (Left panel) and HEK293 – SK3(CAG)₂₄ (Right panel). Results are expressed as mean \pm S.E.M. (N=3 for each cell line). **C.** Normalized apamin-sensitive current density (versus the corresponding individual current density maximum) before and after oxaliplatin application for the HEK293-SK3 (CAG)₁₁ cells (left panel) and the HEK293-SK3 (CAG)₂₄ cells (right panel). Inward rectification starting of the short polymorphism expressing cells is slightly left shifted. At the opposite, the cells with 24 repetitions presented no modification between control and treated conditions.

Clinical study

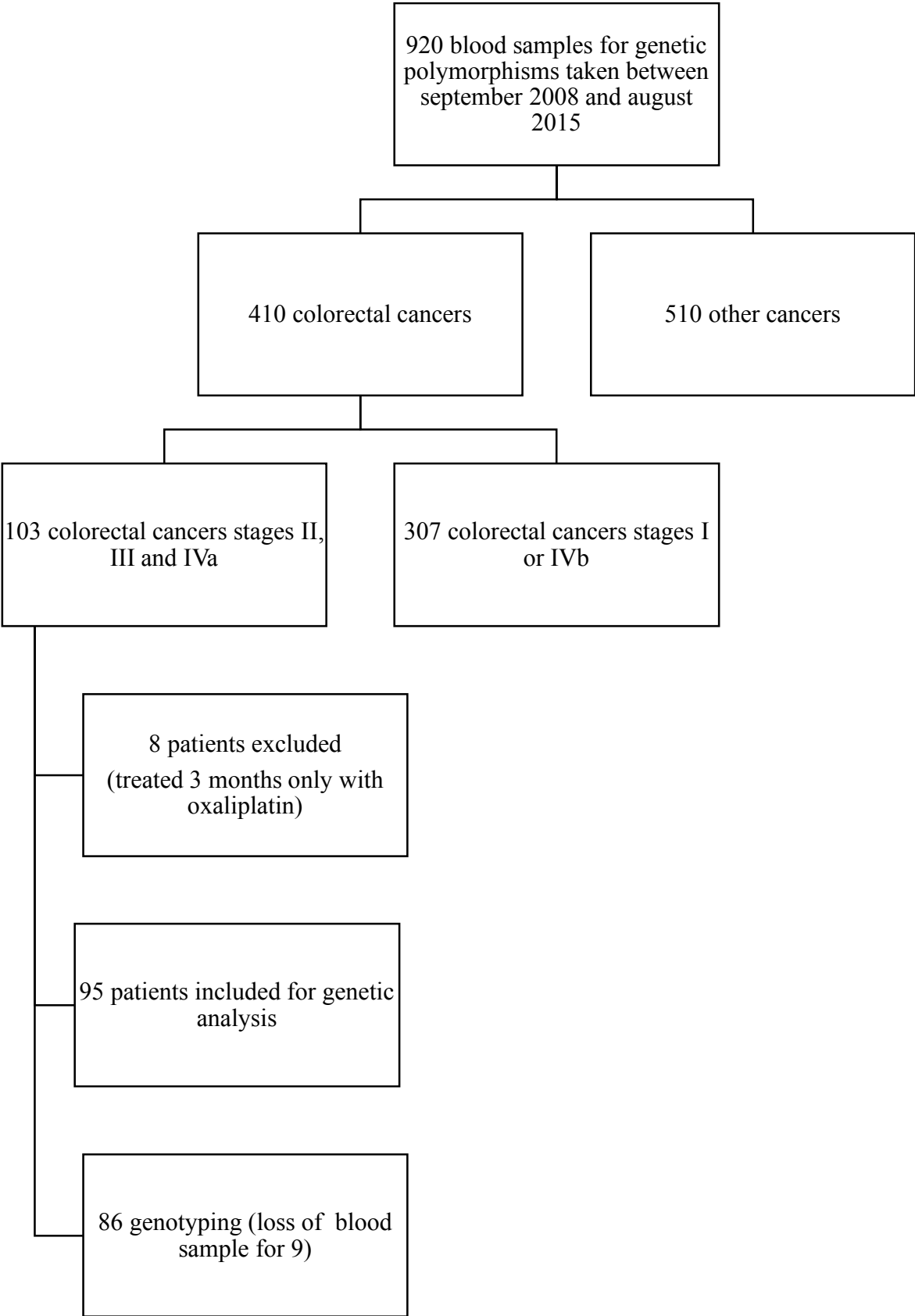


Figure 2: Flow chart. Process used in the study to select the patients analysed.

920 blood samples for genetic polymorphisms were taken between September 2008 and August 2015. 410 colorectal cancers were diagnosed. Among these 410 colorectal cancers, 103 were stage II, III or IVa. Eight patients were excluded because they have been treated by FOLFOX and FOLFIRINOX for only 3 months. At last 95 patients were eligible for polymorphism analysis but only 86 were analysed due to the loss of blood sample for 9 of them (**fig 2**). Clinical and pathologic characteristics of patients are summarized in **Table 1**.

Table 2 : Patient's characteristics (n=86)

| | |
|--|----------|
| Age | |
| - Mean | 64,3 |
| - ≤70 | 30 (35%) |
| - > 70 | 56 (65%) |
| Gender | |
| - Male | 57 (66%) |
| - Female | 29 (34%) |
| Body mass index | |
| - ≥ 25 | 41 (48%) |
| - < 25 | 45 (52%) |
| KCNN3 | |
| - Homozygous | 14 (16%) |
| - Heterozygous | 72 (84%) |
| Groups according to alleles length | |
| - Short-short | 24 (28%) |
| - Short-long | 44 (51%) |
| - long-long | 18 (21%) |
| Anatomic locations of primary tumour * | |
| - Rectum | 14 (16%) |
| - Sigmoid | 37 (41%) |
| - Left colon | 8 (9%) |
| - Transverse colon | 7 (8%) |
| - Right colon | 23 (26%) |
| Stage | |
| - II | 16 (19%) |
| - III | 51 (59%) |
| - IV | 19 (22%) |
| Maximal neurotoxicity | |
| - Grade 1 | 33 (38%) |
| - Grade ≥ 2 | 53 (62%) |

* Three patients had two synchronous locations.

The median age at diagnosis was 64.7 years. The population analysed presented more men (n=57) than women (n=29). All tumours were classified as adenocarcinoma and the major part were localised in rectum and sigmoid colon. There was a majority of stage III (59%).

All patients except one were treated by FOLFOX 4 simplified regimen (oxaliplatin 85 mg/m² every 14 days). The remaining patient was treated by XELOX (oxaliplatin 130 mg/m² every 21 days). The mean cumulative-dose of oxaliplatin was 823 mg/m² ± 194. All patients included experienced OIN: thirty-three (38%) patients presented grade 1 neuropathy and fifty-three (62%) grade 2 or 3. Regarding genetics, the number of CAG repeats ranged between 13 and 21, with 19 repeats being the most frequent. Fourteen patients (16%) were homozygous, i.e. carried 2 alleles of the same length and seventy-two (84%) were heterozygous. The patients were classified in 3 groups as follow: twenty-four (28%) patients with 2 short alleles, forty-four (51%) patients with 1 short and 1 long allele, eighteen (21%) with 2 long alleles. **Figure 3** shows the allele frequency distribution.

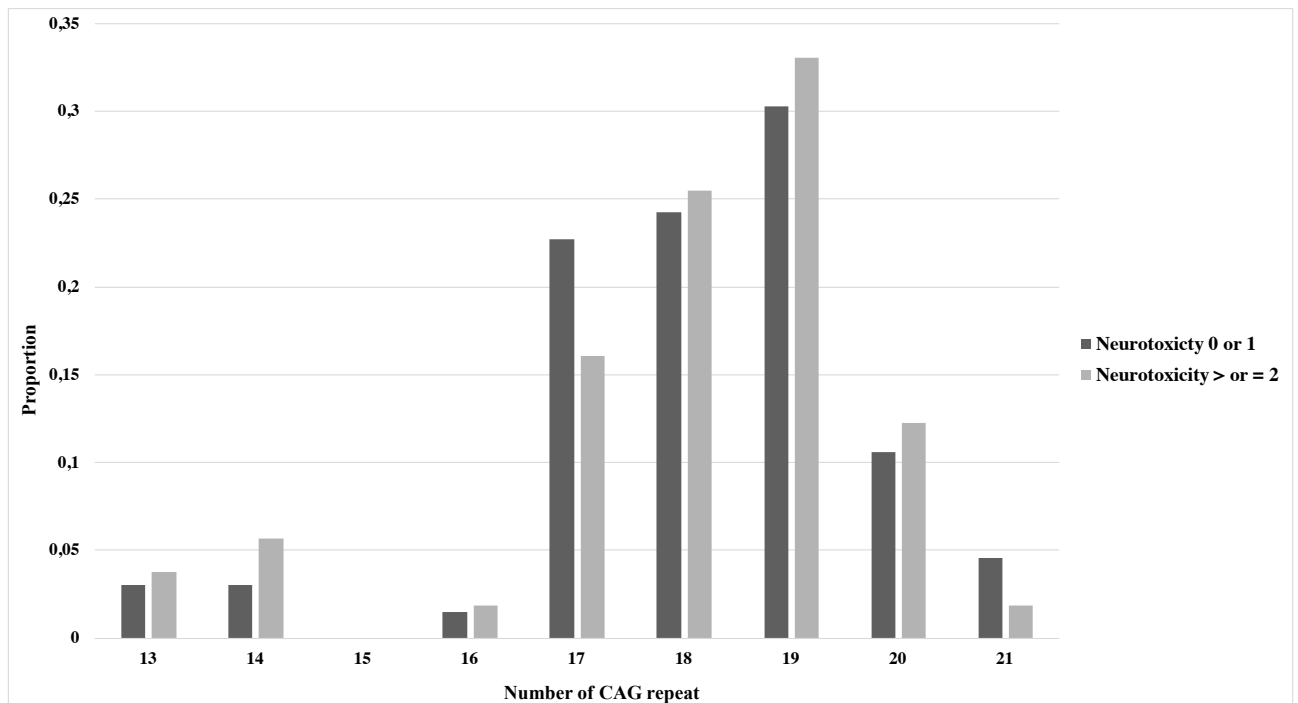


Figure 3: *KCNN3* allele frequency distribution. *KCNN3* allele frequency distribution as a function of neurotoxicity (grade 0 or 1 versus grade 2 or 3)

The Chi-square did not allow us to highlight a possible relationship between OIN and *KCNN3* polymorphism ($p=0.85$) (**Fig 4**). Regarding secondary endpoints, performed analysis did not show significant difference between the 3 groups for disease-free survival ($p=0.80$) (**Fig 5**) and overall survival ($p=0.86$) (**Fig 6**).

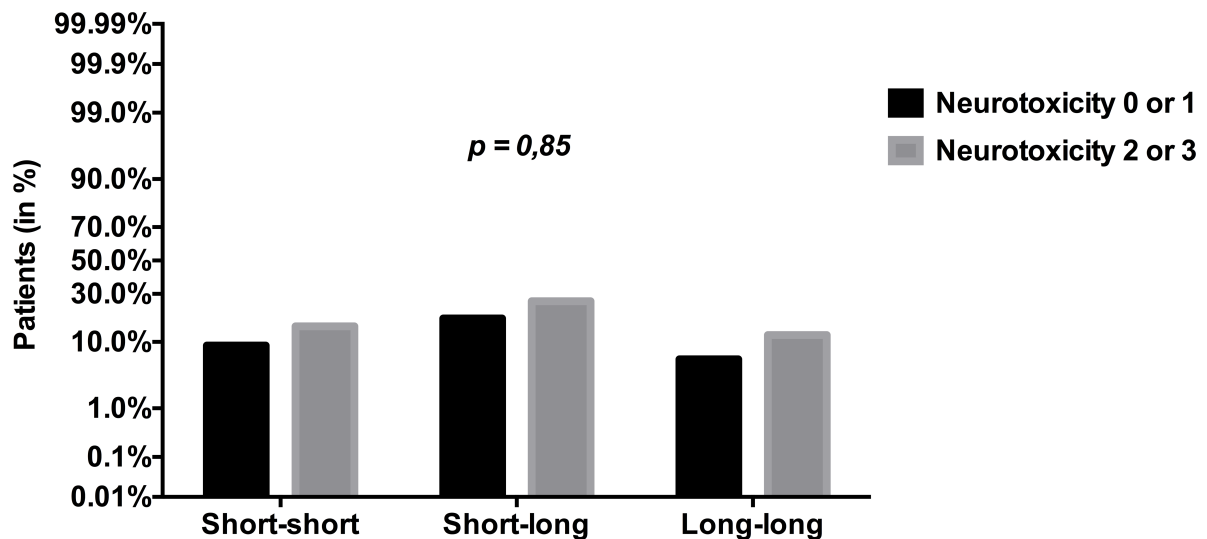


Figure 4: Genotypes frequency distribution as a function of neurotoxicity. Genotypes frequency distribution as a function of neurotoxicity (grade 0 or 1 versus grade 2 or 3). The Chi-square did not show significant association between OIN and *KCNN3* polymorphism for the 3 groups.

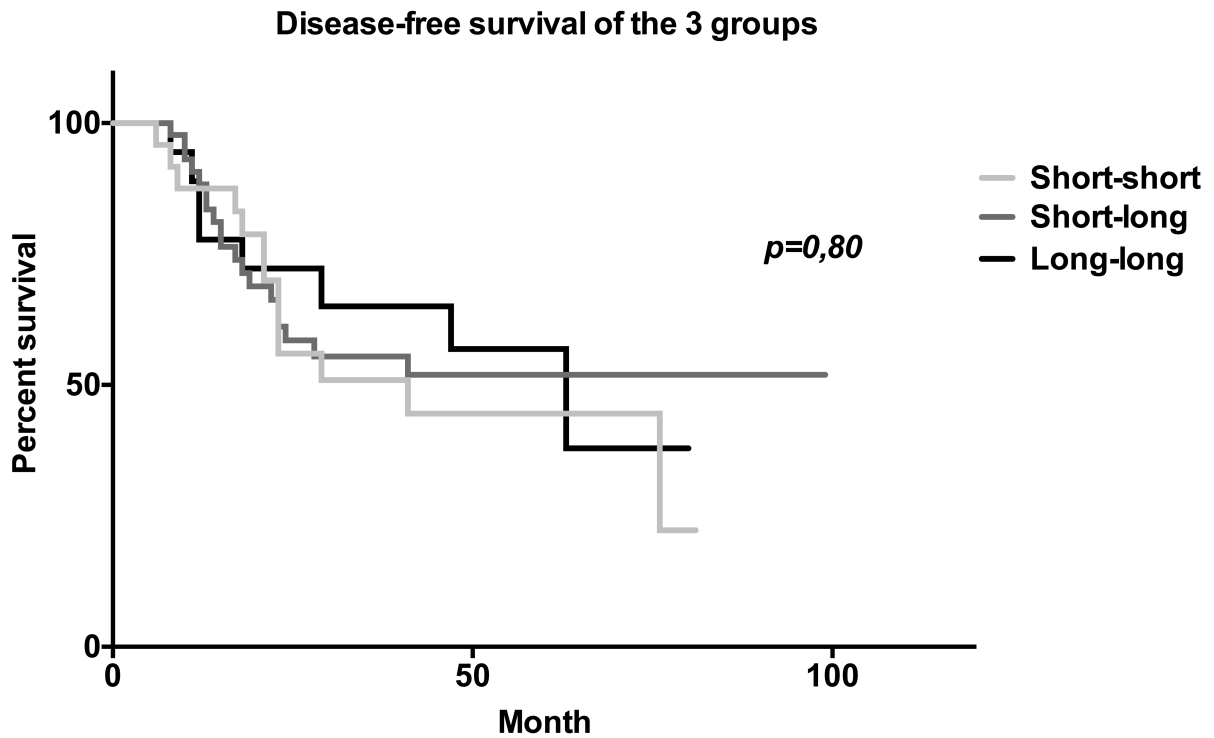


Figure 5: Disease-free survival. Disease-free survival is shown for patients with the 3 different genotypes of *KCNN3*. The log rank test did not show any significant difference between the 3 groups.

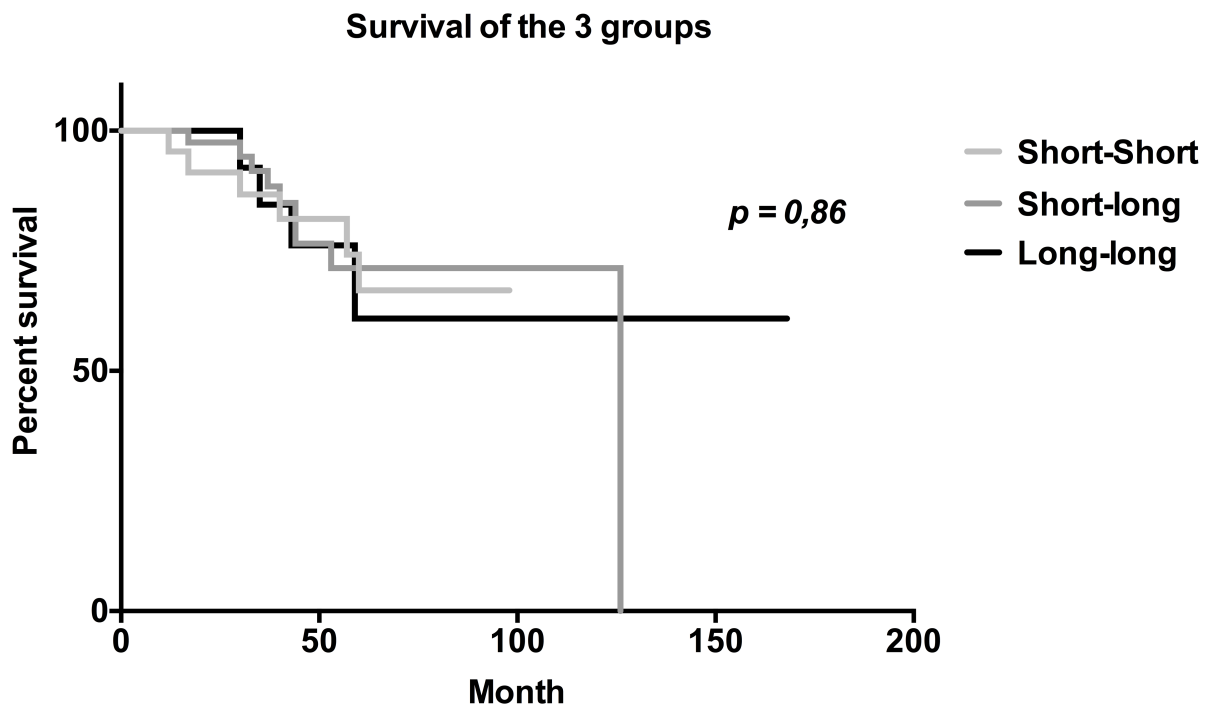


Figure 6: Overall survival. Overall survival is shown for patients with the 3 different genotypes of *KCNN3*. The log rank test did not show any significant difference between the 3 groups.

Discussion

Neurotoxicity is one of the most limiting side-effect of oxaliplatin. It alters patient's quality of life and may result in significant disability. In addition, this situation may lead to dose reduction or cessation of treatment even though chemotherapy is effective. The present study was designed to evaluate the possible relationship between the length of CAG polymorphism of the *KCNN3* gene encoding potassium channel SK3 gene and OIN. To date, our study is the first one interesting oxaliplatin-induced neurotoxicity to combine genetic and *in vitro* data. The combination of experimental and clinical data provides superior scientific evidence to the previous studies. Another advantage of our study is to have a very homogenous population.

The analysis of oxaliplatin effect on SK3 current rectification suggested a differential effect of oxaliplatin depending of the length of the polymorphism. We observed that oxaliplatin induce a slight left shift of the normalized current density curve of the HEK293-SK3 (CAG)₁₁ cells that could lead to hyperexcitability in neuronal cells expressing this form. These results agree with the finding of Basso *et al.* in which short length (13–14 CAG repeat) allele could mark patients susceptible to acute OIN [18]. Contrary to preclinical investigations, the results obtained in our clinical study did not show any association between OIN and CAG polymorphism of *KCNN3* gene. A possible explanation for this might be the limitations of our clinical study: the retrospective and monocentric nature and a small number of patients. Our primary endpoint was the evaluation of neurotoxicity by clinicians at each chemotherapy course. After a neurological examination, the neurotoxicity was classified on an oxaliplatin-specific scale. This primary endpoint was subject to inter-observer variability and it was not validated by an electromyogram. Moreover, the oxaliplatin specific scale is very practical to a daily use but it is a scale about chronic neurotoxicity. As noted above, physiopathology of acute and chronic neurotoxicity is different. So, the role of SK3 channel in chronic neurotoxicity is probably

different too. Our experimental results relate to acute neurotoxicity. However, these results should be taken with caution. Indeed, the effect of oxaliplatin on normalized current density is small. Furthermore, these results are contradictory with those of Grube *et al.* which found that oxaliplatin induce an increase of the normalized current density curve of the HEK293-SK3 (CAG)₂₄ cells [14].

Based on the literature, the role of potassium channels in OIN remains unclear. In accordance with Park *et al* [19] it is difficult to know if there is a direct or indirect mechanism via potassium channel expression and activity, calcium metabolism regulating potassium channels or Na⁺ channels. Interestingly, a potassium channel activator, flupirtine, decreased hyper excitability in OIN in an *in vitro* model [9]. Further research is thus required to better understand the role that play potassium channel in OIN.

In our preclinical study, SK3 channel activity is slightly decrease after addition of oxaliplatin. Additional mechanical study should be necessary to precise the action mode of this platinum derived compound on SK3 channel. Indeed, it could induce potassium channel blocking, via one of its intracellular derivatives or by chelating calcium, leading to a decrease in the duration of the post-hyperpolarization.

Regarding to the polymorphism of *KCNN3*, the repartition of CAG repeat observed in the population studied is similar to the other studies among Caucasian [13, 14, 23].

Several investigations have already studied CAG polymorphism of SK3 gene in different diseases. Among these studies, the classification of patients based on the genotype characteristics used is different. In some of these investigations, alleles were separated into two groups according to their length (short and long) [17, 18, 24-26]. However, these studies did not integrate that about 70% of patients are heterozygous. In other studies, primary endpoints were : i) the sum of alleles [14, 27], ii) 3 groups (2 short alleles, one short allele and one long

allele and 2 long alleles) [28], the length difference between the alleles [29] or the combination of several of these endpoints [15, 16, 23, 28, 29].

In the present work, we decided to split the patients in three groups according to the size of their two alleles because this allowed to consider that the majority of patients were heterozygous. Nevertheless, to date, there is no biochemical or genetic rationale to justify this primary endpoint. We have chosen the threshold of 19 CAG repeats to differentiate short and long alleles because it is the most common allele found in the literature and in our study. In addition, it is known that both alleles are expressed since it is possible to have SK3 heterotetramers associating short and long forms [30]. All combinations would then be possible, but this has not been demonstrated yet.

We also did not observe association between disease-free survival, overall survival and the CAG polymorphism of *KCNN3* gene despite the known role of the SK3 channel in cell migration [20].

Conclusion

Our electrophysiological study suggests a differential effect of oxaliplatin depending of the length of the polymorphism of *KCNN3* gene. However, we did not show these results in our clinical study. Further prospective studies with a greater number of patients are needed to better understand the possible link between polymorphism of *KCNN3* gene and OIN. Further experimental work needs to be done to establish how oxaliplatin act on SK3 channel. The early identification of patients at risk of OIN will stay a priority aim to improve the management of the patients and will need further studies to increase our knowledge about this important side-effect.

References

- [1] A. de Gramont, A. Figuer, M. Seymour, M. Homerin, A. Hmissi, J. Cassidy, C. Boni, H. Cortes-Funes, A. Cervantes, G. Freyer, D. Papamichael, N. Le Bail, C. Louvet, D. Hendler, F. de Braud, C. Wilson, F. Morvan, A. Bonetti, Leucovorin and fluorouracil with or without oxaliplatin as first-line treatment in advanced colorectal cancer, *J Clin Oncol*, 18 (2000) 2938-2947.
- [2] T. Andre, C. Boni, L. Mounedji-Boudiaf, M. Navarro, J. Tabernero, T. Hickish, C. Topham, M. Zaninelli, P. Clingan, J. Bridgewater, I. Tabah-Fisch, A. de Gramont, I. Multicenter International Study of Oxaliplatin/5-Fluorouracil/Leucovorin in the Adjuvant Treatment of Colon Cancer, Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment for colon cancer, *N Engl J Med*, 350 (2004) 2343-2351.
- [3] L. Gamelin, M. Boisdron-Celle, A. Morel, E. Gamelin, [Oxaliplatin neurotoxicity], *Bull Cancer*, 93 Suppl 1 (2006) S17-22.
- [4] L.E. Ta, L. Espeset, J. Podratz, A.J. Windebank, Neurotoxicity of oxaliplatin and cisplatin for dorsal root ganglion neurons correlates with platinum-DNA binding, *Neurotoxicology*, 27 (2006) 992-1002.
- [5] S.B. Park, C.S.-Y. Lin, M.C. Kiernan, Nerve Excitability Assessment in Chemotherapy-induced Neurotoxicity, *J Vis Exp*, (2012).
- [6] S.B. Park, C.S.-Y. Lin, A.V. Krishnan, D. Goldstein, M.L. Friedlander, M.C. Kiernan, Oxaliplatin-induced neurotoxicity: changes in axonal excitability precede development of neuropathy, *Brain*, 132 (2009) 2712-2723.
- [7] F. Grolleau, L. Gamelin, M. Boisdron-Celle, B. Lapied, M. Pelhate, E. Gamelin, A possible explanation for a neurotoxic effect of the anticancer agent oxaliplatin on neuronal voltage-gated sodium channels, *Journal of Neurophysiology*, 85 (2001) 2293-2297.
- [8] A. Kagiava, A. Tsingotjidou, C. Emmanouilides, G. Theophilidis, The effects of oxaliplatin, an anticancer drug, on potassium channels of the peripheral myelinated nerve fibres of the adult rat, *Neurotoxicology*, 29 (2008) 1100-1106.
- [9] R. Sittl, R.W. Carr, J. Fleckenstein, P. Grafe, Enhancement of axonal potassium conductance reduces nerve hyperexcitability in an in vitro model of oxaliplatin-induced acute neuropathy, *Neurotoxicology*, 31 (2010) 694-700.
- [10] J. Descoeur, V. Pereira, A. Pizzoccaro, A. Francois, B. Ling, V. Maffre, B. Couette, J. Busserolles, C. Courteix, J. Noel, M. Lazdunski, A. Eschalier, N. Authier, E. Bourinet, Oxaliplatin-induced cold hypersensitivity is due to remodelling of ion channel expression in nociceptors, *EMBO Mol Med*, 3 (2011) 266-278.
- [11] M. Stocker, P. Pedarzani, Differential distribution of three Ca(2+)-activated K(+) channel subunits, SK1, SK2, and SK3, in the adult rat central nervous system, *Mol Cell Neurosci*, 15 (2000) 476-493.
- [12] S. Dilly, S. Poncin, C. Lamy, J.F. Liegeois, V. Seutin, [Physiology, pharmacology and modelling of potassium channels: focus on SK channels], *Med Sci (Paris)*, 28 (2012) 395-402.
- [13] K.G. Chandy, E. Fantino, O. Wittekindt, K. Kalman, L.L. Tong, T.H. Ho, G.A. Gutman, M.A. Crocq, R. Ganguli, V. Nimgaonkar, D.J. Morris-Rosendahl, J.J. Gargus, Isolation of a novel potassium channel gene hSKCa3 containing a polymorphic CAG repeat: a candidate for schizophrenia and bipolar disorder?, *Molecular Psychiatry*, 3 (1998) 32-37.
- [14] S. Grube, M.F. Gerchen, B. Adamcio, L.A. Pardo, S. Martin, D. Malzahn, S. Papiol, M. Begemann, K. Ribbe, H. Friedrichs, K.A. Radyushkin, M. Müller, F. Benseler, J. Riggert, P. Falkai, H. Bickeböller, K.-A. Nave, N. Brose, W. Stühmer, H. Ehrenreich, A CAG repeat polymorphism of KCNN3 predicts SK3 channel function and cognitive performance in schizophrenia, *EMBO molecular medicine*, 3 (2011) 309-319.

- [15] M. Ritsner, I. Modai, H. Ziv, S. Amir, T. Halperin, A. Weizman, R. Navon, An association of CAG repeats at the KCNN3 locus with symptom dimensions of schizophrenia, *Biological Psychiatry*, 51 (2002) 788-794.
- [16] K.P. Figueroa, P. Chan, L. Schöls, C. Tanner, O. Riess, S.L. Perlman, D.H. Geschwind, S.M. Pulst, Association of moderate polyglutamine tract expansions in the slow calcium-activated potassium channel type 3 with ataxia, *Archives of Neurology*, 58 (2001) 1649-1653.
- [17] R. Mössner, A. Weichselbaum, M. Marziniak, C.M. Freitag, K.-P. Lesch, C. Sommer, J. Meyer, A highly polymorphic poly-glutamine stretch in the potassium channel KCNN3 in migraine, *Headache*, 45 (2005) 132-136.
- [18] M. Basso, A. Modoni, D. Spada, A. Cassano, G. Schinzari, M. Lo Monaco, D. Quaranta, P.A. Tonali, C. Barone, Polymorphism of CAG motif of SK3 gene is associated with acute oxaliplatin neurotoxicity, *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 67 (2011) 1179-1187.
- [19] S.B. Park, C.S.-Y. Lin, A.V. Krishnan, M.C. Kiernan, The contribution of SK3 polymorphisms to acute oxaliplatin-induced neurotoxicity: direct or indirect effects?, *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 67 (2011) 1189-1190; author reply 1191-1192.
- [20] M. Potier, V. Joulin, S. Roger, P. Besson, M.L. Jourdan, J.Y. Leguennec, P. Bougnoux, C. Vandier, Identification of SK3 channel as a new mediator of breast cancer cell migration, *Mol Cancer Ther*, 5 (2006) 2946-2953.
- [21] J.P. Caussanel, F. Levi, S. Brienza, J.L. Misset, M. Itzhaki, R. Adam, G. Milano, B. Hecquet, G. Mathe, Phase I trial of 5-day continuous venous infusion of oxaliplatin at circadian rhythm-modulated rate compared with constant rate, *J Natl Cancer Inst*, 82 (1990) 1046-1050.
- [22] T. Lecomte, B. Landi, P. Beaune, P. Laurent-Puig, M.-A. Lorient, Glutathione S-transferase P1 polymorphism (Ile105Val) predicts cumulative neuropathy in patients receiving oxaliplatin-based chemotherapy, *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 12 (2006) 3050-3056.
- [23] C.P.H. Austin, D.J. Ma, L. Mixson, L.A. Caskey, C.T., Mapping of hKCa3 to chromosome 1q21 and investigation of linkage of CAG repeat polymorphism to schizophrenia, *Molecular Psychiatry*, 4 (1999) 261.
- [24] R. Curtain, J. Sundholm, R. Lea, M. Ovcarić, J. MacMillan, L. Griffiths, Association analysis of a highly polymorphic CAG Repeat in the human potassium channel gene KCNN3 and migraine susceptibility, *BMC Medical Genetics*, 6 (2005) 32.
- [25] M.R. Ivković, V. Tarasjev, A. Orolicki, S. Damjanović, A. Paunović, V. R., Schizophrenia and Polymorphic Cag Repeats Array of Calcium-Activated Potassium Channel (Kcnn3) Gene in Serbian Population, *International Journal of Neuroscience*, 116 (2006) 157-164.
- [26] H. Ujike, A. Yamamoto, Y. Tanaka, Y. Takehisa, M. Takaki, T. Takeda, M. Kodama, S. Kuroda, Association study of CAG repeats in the KCNN3 gene in Japanese patients with schizophrenia, schizoaffective disorder and bipolar disorder, *Psychiatry Research*, 101 (2001) 203-207.
- [27] T. Sander, L. Scholz, D. Janz, J.T. Epplen, O. Riess, Length variation of a polyglutamine array in the gene encoding a small-conductance, calcium-activated potassium channel (hKCa3) and susceptibility to idiopathic generalized epilepsy, *Epilepsy Res*, 33 (1999) 227-233.
- [28] M. Koronyo-Hamaoui, E. Gak, D. Stein, A. Frisch, Y. Danziger, S. Leor, E. Michaelovsky, N. Laufer, C. Carel, S. Fennig, M. Mimouni, A. Apter, B. Goldman, G. Barkai, A. Weizman, CAG repeat polymorphism within the KCNN3 gene is a significant contributor to susceptibility to anorexia nervosa: a case-control study of female patients and several ethnic groups in the Israeli Jewish population, *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics: The Official Publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, 131B (2004) 76-80.
- [29] Q. Saleem, V.S. Sreevidya, J. Sudhir, J.V. Savithri, Y. Gowda, C. B-Rao, V. Benegal, P.P. Majumder, A. Anand, S.K. Brahmachari, S. Jain, Association analysis of CAG repeats at the

KCNN3 locus in Indian patients with bipolar disorder and schizophrenia, *American Journal of Medical Genetics*, 96 (2000) 744-748.

[30] D. Tuteja, S. Rafizadeh, V. Timofeyev, S. Wang, Z. Zhang, N. Li, R.K. Mateo, A. Singapuri, J.N. Young, A.A. Knowlton, N. Chiamvimonvat, Cardiac small conductance Ca²⁺-activated K⁺ channel subunits form heteromultimers via the coiled-coil domains in the C termini of the channels, *Circ Res*, 107 (2010) 851-859.

Vu, le Directeur de Thèse

**Vu, le Doyen
De la Faculté de Médecine de Tours
Tours, le**

RESUME

Introduction : La neurotoxicité induite par l'oxaliplatine (NIO) est limitante et impacte la qualité de vie des patients. Des données récentes suggèrent un rôle du canal potassique SK3 dans sa physiopathologie. Le polymorphisme fonctionnel de répétitions CAG du gène *KCNN3* qui code le canal SK3 est un facteur susceptible d'être associé au risque de survenue d'une NIO.

Matériels et méthodes : Une étude préclinique a été réalisée sur des cellules HEK293 exprimant le canal SK3 de génotype variable pour le polymorphisme CAG du gène *KCNN3* (11 ou 24 répétitions CAG). Les amplitudes des courants SK3 associés à l'activité du canal SK3 de cellules HEK ont été analysées en absence ou en présence de 100 μ M d'oxaliplatine par la technique de *patch clamp*. Une étude clinique monocentrique rétrospective a été réalisée sur une série de patients porteurs d'un cancer colorectal et traités par une chimiothérapie à base d'oxaliplatine pour une période de 6 mois. Le génotypage de *KCNN3* pour le polymorphisme CAG a été réalisé sur les échantillons d'ADN génomique extraits à partir des leucocytes circulants des patients. La région d'intérêt a été ciblée puis amplifiée par PCR, puis une analyse de taille de fragment a été effectuée afin de déterminer le nombre de répétition CAG de chaque allèle. Les génotypes étaient classés en 3 classes : 2 allèles courts, 1 allèle court et un long, 2 allèles longs. Le critère de jugement principal était la NIO évaluée par une échelle spécifique pour l'oxaliplatine et classée en 2 catégories (grade 0-1 ou 2-3). Un test du Chi² a été utilisé pour évaluer l'association entre la NIO et le polymorphisme de *KCNN3*.

Résultats : Sur le modèle préclinique cellulaire, Il n'y avait pas de différence en terme de densité de courant mais l'oxaliplatine entraînait un effet différentiel sur la densité de courant normalisée entre les deux isoformes exprimées par les cellules HEK. Dans l'étude pharmacogénétique, 86 patients traités entre septembre 2008 et août 2015 par une chimiothérapie péri-opératoire à base d'oxaliplatine ont été inclus. La dose cumulée moyenne d'oxaliplatine administrée par patient était de 823 +/- 194 mg/m². 33 patients ont présenté une NCP maximale de grade 0 ou 1 et 53 patients une NCP de grade 2 ou 3. Quatorze patients étaient homozygotes pour le nombre de répétitions CAG du gène *KCNN3* et 72 étaient hétérozygotes. Vingt-quatre patients étaient porteurs de 2 allèles courts, 44 porteurs d'un allèle court et d'un allèle long, et 18 porteurs de 2 allèles longs. Nous n'avons pas observé d'association significative entre les génotypes du polymorphisme CAG du gène *KCNN3* et la survenue d'une NIO.

Conclusion : Nous avons observé une faible association entre la NIO et le polymorphisme de *KCNN3* mais uniquement sur le modèle cellulaire. Ces données ne suggèrent pas un rôle majeur de ce polymorphisme dans la genèse de la NIO.