



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

UNIVERSITE DE LORRAINE
2016

FACULTE DE PHARMACIE

T H E S E

**Stratégie Thérapeutique dans la
LMC : Arrêt du traitement :
Mythe ou Réalité**

Présentée et soutenue publiquement

le 28 Juin 2016,
pour obtenir

le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

par Marion BICHET
née le 23 février 1989

Membres du Jury

Président	Pr Béatrice FAIVRE	Professeur des Universités, Vice doyen de la Faculté de Pharmacie de Nancy
et Directeur :		
Juges :	Dr Agnès-Paule GUERCI	Hématologue, CHU Brabois
	Dr Anne-Sylvie HINZELIN	Pharmacien formateur et membre du bureau Conseil Central section D de l'Ordre des Pharmaciens
	Dr Julien PERRIN	Maitre de conférences Faculté de Pharmacie de Nancy et Praticien Hospitalier

UNIVERSITÉ DE LORRAINE
FACULTÉ DE PHARMACIE
Année universitaire 2015-2016

DOYEN

Francine PAULUS

Vice-Doyen

Béatrice FAIVRE

Directeur des Etudes

Virginie PICHON

Conseil de la Pédagogie

Président, Brigitte LEININGER-MULLER

Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier

Président, Béatrice DEMORE

Commission Prospective Facultaire

Président, Christophe GANTZER

Vice-Président, Jean-Louis MERLIN

Commission de la Recherche

Président, Raphaël DUVAL

Responsable de la filière Officine

Responsables de la filière Industrie

Béatrice FAIVRE

Isabelle LARTAUD,

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Responsable de la filière Hôpital

Responsable Pharma Plus ENSIC

Responsable Pharma Plus ENSAIA

Responsable de la Communication

***Responsable de la Cellule de Formation Continue
et individuelle***

***Responsable de la Commission d'agrément
des maîtres de stage***

Responsables des échanges internationaux

Responsable ERASMUS

Béatrice DEMORE

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Raphaël DUVAL

Marie-Paule SAUDER

Béatrice FAIVRE

Béatrice FAIVRE

Bertrand RIHN

Mihayl VARBANOV

DOYENS HONORAIRES

Chantal FINANCE

Claude VIGNERON

PROFESSEURS EMERITES

Jeffrey ATKINSON

Jean-Claude BLOCK

Max HENRY

Gérard SIEST

Claude VIGNERON

PROFESSEURS HONORAIRES

Roger BONALY
 Pierre DIXNEUF
 Marie-Madeleine GALTEAU
 Thérèse GIRARD
 Michel JACQUE
 Pierre LABRUDE
 Vincent LOPPINET
 Janine SCHWARTZBROD
 Louis SCHWARTZBROD

ASSISTANTS HONORAIRES

Marie-Catherine BERTHE
 Annie PAVIS

MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES

Monique ALBERT
 Mariette BEAUD
 Gérald CATAU
 Jean-Claude CHEVIN
 Jocelyne COLLOMB
 Bernard DANGIEN
 Marie-Claude FUZELLIER
 Françoise HINZELIN
 Francine KEDZIEREWICZ
 Marie-Hélène LIVERTOUX
 Bernard MIGNOT
 Jean-Louis MONAL
 Blandine MOREAU
 Dominique NOTTER
 Christine PERDICAKIS
 Marie-France POCHON
 Anne ROVEL
 Maria WELLMAN-ROUSSEAU

ENSEIGNANTS

*Section
 CNU**

Discipline d'enseignement

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

Danièle BENSOUSSAN-LEJZEROWICZ	82	<i>Thérapie cellulaire</i>
Jean-Louis MERLIN	82	<i>Biologie cellulaire</i>
Alain NICOLAS	80	<i>Chimie analytique et Bromatologie</i>
Jean-Michel SIMON	81	<i>Economie de la santé, Législation pharmaceutique</i>
Nathalie THILLY	81	<i>Santé publique et Epidémiologie</i>

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	86	<i>Pharmacologie</i>
Joël DUCOURNEAU	85	<i>Biophysique, Acoustique, Audioprothèse</i>
Raphaël DUVAL	87	<i>Microbiologie clinique</i>
Béatrice FAIVRE	87	<i>Biologie cellulaire, Hématologie</i>
Luc FERRARI	86	<i>Toxicologie</i>
Pascale FRIANT-MICHEL	85	<i>Mathématiques, Physique</i>
Christophe GANTZER	87	<i>Microbiologie</i>
Frédéric JORAND	87	<i>Eau, Santé, Environnement</i>
Isabelle LARTAUD	86	<i>Pharmacologie</i>
Dominique LAURAIN-MATTAR	86	<i>Pharmacognosie</i>
Brigitte LEININGER-MULLER	87	<i>Biochimie</i>
Pierre LEROY	85	<i>Chimie physique</i>
Philippe MAINCENT	85	<i>Pharmacie galénique</i>
Alain MARSURA	32	<i>Chimie organique</i>
Patrick MENU	86	<i>Physiologie</i>
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS	86	<i>Chimie thérapeutique</i>
Bertrand RIHN	87	<i>Biochimie, Biologie moléculaire</i>

MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

Béatrice DEMORE	81	<i>Pharmacie clinique</i>
Julien PERRIN	82	<i>Hématologie biologique</i>
Marie SOCHA	81	<i>Pharmacie clinique, thérapeutique et biotechnique</i>

MAITRES DE CONFÉRENCES

Sandrine BANAS	87	<i>Parasitologie</i>
Xavier BELLANGER	87	<i>Parasitologie, Mycologie médicale</i>
Emmanuelle BENOIT	86	<i>Communication et Santé</i>
Isabelle BERTRAND	87	<i>Microbiologie</i>
Michel BOISBRUN	86	<i>Chimie thérapeutique</i>
François BONNEAUX	86	<i>Chimie thérapeutique</i>
Ariane BOUDIER	85	<i>Chimie Physique</i>
Cédric BOURA	86	<i>Physiologie</i>
Igor CLAROT	85	<i>Chimie analytique</i>
Joël COULON	87	<i>Biochimie</i>
Sébastien DADE	85	<i>Bio-informatique</i>
Dominique DECOLIN	85	<i>Chimie analytique</i>
Roudayna DIAB	85	<i>Pharmacie galénique</i>
Natacha DREUMONT	87	<i>Biochimie générale, Biochimie clinique</i>
Florence DUMARCAY	86	<i>Chimie thérapeutique</i>
François DUPUIS	86	<i>Pharmacologie</i>
Adil FAIZ	85	<i>Biophysique, Acoustique</i>
Anthony GANDIN	87	<i>Mycologie, Botanique</i>
Caroline GAUCHER	86	<i>Chimie physique, Pharmacologie</i>
Stéphane GIBAUD	86	<i>Pharmacie clinique</i>
Thierry HUMBERT	86	<i>Chimie organique</i>
Olivier JOUBERT	86	<i>Toxicologie, Sécurité sanitaire</i>

ENSEIGNANTS (suite)

Section
CNU* Discipline d'enseignement

Alexandrine LAMBERT	85	<i>Informatique, Biostatistiques</i>
Julie LEONHARD	86/01	<i>Droit en Santé</i>
Christophe MERLIN	87	<i>Microbiologie environnementale</i>
Maxime MOURER	86	<i>Chimie organique</i>
Coumba NDIAYE	86	<i>Epidémiologie et Santé publique</i>
Francine PAULUS	85	<i>Informatique</i>
Caroline PERRIN-SARRADO	86	<i>Pharmacologie</i>
Virginie PICHON	85	<i>Biophysique</i>
Sophie PINEL	85	<i>Informatique en Santé (e-santé)</i>
Anne SAPIN-MINET	85	<i>Pharmacie galénique</i>
Marie-Paule SAUDER	87	<i>Mycologie, Botanique</i>
Guillaume SAUTREY	85	<i>Chimie analytique</i>
Rosella SPINA	86	<i>Pharmacognosie</i>

Gabriel TROCKLE	86	<i>Pharmacologie</i>
Mihayl VARBANOV	87	<i>Immuno-Virologie</i>
Marie-Noëlle VAULTIER	87	<i>Mycologie, Botanique</i>
Emilie VELOT	86	<i>Physiologie-Physiopathologie humaines</i>
Mohamed ZAIYOU	87	<i>Biochimie et Biologie moléculaire</i>
Colette ZINUTTI	85	<i>Pharmacie galénique</i>

PROFESSEUR ASSOCIE

Anne MAHEUT-BOSSER	86	<i>Sémiologie</i>
--------------------	----	-------------------

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE

Alexandre HARLE	82	<i>Biologie cellulaire oncologique</i>
-----------------	----	--

PROFESSEUR AGREGÉ

Christophe COCHAUD	11	<i>Anglais</i>
--------------------	----	----------------

**Disciplines du Conseil National des Universités :*

80 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé

81 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé

82 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

85 ; Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé

86 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé

87 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

32 : Personnel enseignant-chercheur de sciences en chimie organique, minérale, industrielle

11 : Professeur agrégé de lettres et sciences humaines en langues et littératures anglaises et anglo-saxonnes

SERMENT DES APOTHICAIRES



Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D' honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D' exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

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.



« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE
APPROBATION, NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES
DANS LES THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE
CONSIDEREES COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

Remerciements

A notre Président du jury et Directeur de Thèse,

Madame le Professeur Béatrice FAIVRE,

Professeur des Universités : Hématologie- Biologie Cellulaire, Docteur en Pharmacie et Vice-Doyen de la faculté de pharmacie de Nancy.

Vous nous avez fait le très grand honneur d'accepter la direction de notre thèse ainsi que la Présidence de notre jury. Nous vous remercions pour vos conseils avisés, votre écoute et votre disponibilité. Nous tenons également à vous remercier pour la qualité de vos enseignements lors de notre cursus, ainsi qu'à la détermination que vous avez à défendre le métier de pharmacien.

Veillez trouver ici le témoignage de notre sincère gratitude et de notre profond respect.

A nos juges,

Madame le Docteur Agnès GUERCI-BRESLER,

Docteur en médecine, Praticien hospitalier au CHU de Nancy, Service d'Hématologie.

Pour l'honneur que vous me faites de siéger parmi les membres du jury. Je vous remercie pour votre disponibilité, votre gentillesse et votre précieuse aide pour la rédaction de ce manuscrit.

Veillez trouver ici le témoignage de notre sincère gratitude et de notre profond respect.

Madame le Docteur Anne-Sylvie HINZELIN,

Docteur en pharmacie, formateur et membre du bureau du Conseil Central section D à l'Ordre des Pharmaciens.

Pour l'honneur que vous me faites de siéger parmi les membres du jury, veuillez trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

Et

Monsieur le Docteur Julien PERRIN,

Docteur en Ingénierie Cellulaire et Tissulaire, maître de conférences à la faculté de pharmacie de Nancy.

Pour l'honneur que vous me faites de siéger parmi les membres du jury, veuillez trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

A mes proches, famille et amis,

Je n'aurais que le temps de vous citer (c'était ça ou la bibliographie !), mais je tenais à vous remercier de m'avoir toujours supportée (et je sais comme cela peut être parfois difficile...), soutenue et motivée, tant pour cette thèse que pour tout le reste. MERCI !

Merci à ma famille, mes parents, mes petites sœurs et mon grand frère, mes grands-parents, mes nombreux oncles et tantes, cousins/cousines (et fausse cousine !),

Merci à mes amis de la fac, Marion, Anne-Sophie, Sarah, Justine, Lucette, Schmitt, Stein, Emilie, et tous les autres que je ne vois déjà plus beaucoup.

Merci aux Nancéens, particulièrement à Mike (pour ton support presque sans faille ☺), Marine & Aurore (mes colocs préférées), Marie, Mini, Claire, Chloé, Laureline, Mathilde, Passionné, Chapelle, Hugo, Julie, Flaurora.

Merci à la Nono Team, Audrey pour toutes tes relectures, Emeline, Jennifer, Louise (je vais avoir le temps de vous remercier longuement pendant ces prochains six mois !), mais aussi Sonia, Manue, Hélène, merci d'avoir cru en moi.

Merci aux Delpéchois, Laurine LAP, Ludmila DUD, Laure LAM, Mariela MBL, Mélissandre MET, Alicia ma jumelle DOA, Marie-Aline BMA, Patricia PAN, Mathilde MDE, pour vos encouragements tous les jeudis.

Merci à tous les autres, Marie ma couz, Aurore, Momoe, Nelson, Elise, Hanna (pour avoir ouvert mon nouveau QG), Cherley (pour ton long soutien), Hubert, Gab, Laure (qui étaient dès le début), etc...

Et enfin merci à tous ceux que j'aurais pu oublier !

Table des matières

I.	La Leucémie Myéloïde Chronique : LMC.....	21
	A. Généralités	21
	1. Epidémiologie	21
	2. Physiopathologie	23
	3. Les différentes phases.....	34
	B. Diagnostic	43
	1. Examen clinique	43
	2. Hémogramme	44
	3. Myélogramme	44
	4. Cytogénétique.....	45
	5. Analyse moléculaire	47
	C. Evaluation du pronostic	48
	1. Score sokal	49
	2. Autres scores	49
II.	Les traitements de la LMC.....	51
	A. Choix du traitement.....	51
	1. Objectif du traitement.....	51
	2. Les différents traitements possibles.....	54
	B. Inhibiteurs de Tyrosine Kinase (Imatinib, Nilotinib, Dasatinib, Bosutinib, Ponatinib).....	58
	1. Première Génération : Imatinib	58
	2. Seconde Génération : Nilotinib, Dasatinib, Bosutinib et Troisième génération : Ponatinib.....	64
	3. Autres options : Omacetaxine ou combinaison Nilo-Peginterferon.....	73
	C. Prise en charge d'un patient LMC	74
	1. Recommandations Françaises (surveillance, évaluation de la réponse au traitement, examens après traitement)	74
III.	Arrêts de traitement.....	81
	A. Contexte	81
	1. Intérêt de l'arrêt du traitement	81
	2. Rappel sur les essais cliniques.....	82

B. Arrêt de l’Imatinib	84
1. Les premiers essais d’arrêt	84
2. STIM	86
3. A STIM.....	87
4. Etude Australienne TWISTER.....	88
6. Etudes Coréennes KID	89
7. EURO-SKI (European Stop Tyrosine Kinase Inhibitor).....	90
C. Etude d’arrêt de traitement des ITKs de seconde génération.....	91
1. STOP ITK-2G	92
2. Arrêt du Dasatinib : DASFREE	93
3. Arrêt du Nilotinib : la famille ENEST.....	93
i. Etude ENESTPath – Arrêt du Nilotinib	94
ii. ENESTop.....	96
iii. ENESTFreedom	96
D. Conclusion et discussion.....	97

Abréviations

ABL = ABelson Leukemia virus
ADN = Acide DesoxyriboNucléique
ADP = Adénosine DiPhosphate
ALAT = ALanine AminoTransférases
AMM = Autorisation de Mise sur le Marché
ANSM = Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé
ARN = Acide RiboNucléique
ASAT = ASpartate AminoTransférases
ASH = American Society of Haematology
ATP = Adénosine TriPhosphate
BCR = Breakpoint Cluster Region
BID = Deux fois par jour (du latin bis in die)
CB = Crise Blastique
CPP = Comité de Protection des Personnes
ECG = Electrocardiogramme
EI = Evènement Indésirable
ELN = European Leukemia Net
EUTOS = European Treatment and Outcome Study
FISH = Fluorescence In Situ Hybridization
GEF = Facteur d'Echange du nucléotide Guanine
GIST = Tumeurs Stromales Gastro-Intestinales
GRB-2 = Growth Factor Receptor Bound 2
HLA = Antigènes des Leucocytes Humains
HTAP = Hypertension Artérielle Pulmonaire
ITK = Inhibiteur de Tyrosine Kinase
LAL = Leucémie Aigue Lymphoblastique
LMC = Leucémie Myéloïde Chronique
NFS = Numération de Formule Sanguine
NK = Natural Killers
NLS = Signaux de Localisation Nucléaire
OMS = Organisation Mondiale de la santé
PA = Phase Accélérée
PC = Phase Chronique
PCR = Polymérase Chain Reaction
PDGFR = Récepteur au facteur de croissance plaquettaire
PEG = PolyEthylène Glycol
PI3 Kinase = Phosphatidylinositol 3 Kinase
RCC = Réponse Cytogénétique complète

RCH = Réponse Hématologique Complète
RM4 ou 4.5 = Réponse Moléculaire 4 ou 4.5
RMC = Réponse Moléculaire Complète
RMM = Réponse Moléculaire Majeure
ROS = Espèces Oxygénées Radicalaires
RQ-PCR = Reverse transcription Quantitative Polymerase Chain Reaction
RT-PCR = Reverse Transcription PCR
SG = Survie Globale
SH = Src Homologie
SSP = Survie Sans Progression
TFR = Rémission Sans Traitement
TFS = Survie Sans Traitement (Treatment Free Survival)

Liste des noms complets des études clinique citées

Etude A-STIM = According to Stop Imatinib

Etude DASFREE = Dasatinib Therapy Discontinuation in Patients With Chronic Phase Chronic Myeloid Leukemia With Stable Complete Molecular Response

Etude DASISION = Dasatinib versus Imatinib study in treatment-naive CML patient

Etude ENESTcmr = Evaluating Nilotinib Efficacy and Safety in Clinical Trials– Complete Molecular Response

Etude ENESTFreedom = Nilotinib Treatment-free Remission Study in CML (Chronic Myeloid Leukemia) Patients

Etude ENESTnd = Evaluating nilotinib efficacy and safety in clinical trials – newly diagnosed patients

Etude ENESTop = A clinical research study evaluating the possibility to stop the drug nilotinib in chronic myeloid leukemia (CML) patients who have very small amount of leukemia cells remaining after nilotinib treatment

Etude ENESTPath = A Study to Assess the Effect of a Longer Duration of Consolidation Treatment With Nilotinib on TFR in CP CML

Etude EURO-SKI = European Stop Tyrosine Kinase Inhibitor

Etude IRIS = International Randomized Study of Interferon Versus STI571

Etude KID = Imatinib withdrawal syndrome and longer duration of imatinib have a close association with a lower molecular relapse after treatment discontinuation

Etude PACE = Ponatinib Ph+ ALL and CML Evaluation

Etude STIM = STop Imatinib = Discontinuation of imatinib in patients with chronic myeloid leukaemia who have maintained complete molecular remission for at least 2 years

Etude STIM2 = A Multicenter Stop Imatinib Trial For Chronic Phase Chronic Myeloid Leukemia De Novo Patients On Imatinib

Etude STOP ITK-2G = Dasatinib or Nilotinib Discontinuation in Chronic Phase (CP)-Chronic Myeloid Leukemia (CML) Patients (pts) with Durably Undetectable *BCR-ABL* Transcripts

Etude TWISTER = Safety and efficacy of imatinib cessation for CML patients with stable undetectable minimal residual disease

Table des figures

Figure 1 : Courbe de l'incidence de la LMC par âge et par sexe en 2012. L'incidence augmente régulièrement entre 30 et 75 ans et l'âge médian de survenue de la LMC est de 62 ans chez l'homme et 64 ans chez la femme.	22
Figure 2 : Schéma de l'hématopoïèse : la cellule souche hématopoïétique peu différenciée a la capacité de s'auto-renouveler ou de se différencier en cellule spécialisée, ce qui n'est plus le cas des cellules progénitrices.	24
Figure 3 : Photographie historique de Peter Nowell et David Hungerford, scientifiques ayant découvert le chromosome Philadelphie.....	25
Figure 4 : Chromosome 9 et 22 en situation normale. Le chromosome 9 porte le gène BCR et le chromosome 22 le gène ABL.....	26
Figure 5 : Chromosomes 9 et 22 en situation de LMC : translocation équilibrée des deux bras longs des chromosomes et apparition du gène BCR-ABL sur le chromosome 22 raccourci.	26
Figure 6 : Schéma du gène ABL et ses différents exons. La cassure au niveau de ce gène se fait toujours entre les exons Ia et Ib. (Schéma issu du diaporama de Nicolini FE. et Réa D. réunion AIH en 2008).....	27
Figure 7 : schéma du gène BCR et ses différents exons. La cassure peut se faire dans plusieurs régions m-BCR, M-BCR ou μ -BCR. (Schéma issu du diaporama de Nicolini FE. et Réa D. réunion AIH en 2008).....	28
Figure 8 : Fusion des gènes BCR et ABL et apparition de la protéine de fusion BCR-ABL (différentes protéines à différent poids moléculaire existent en fonction du point de cassure sur le gène BCR).....	28
Figure 9 : Schéma de la protéine ABL et de ses domaines : 3 domaines d'homologies responsable de la phosphorylation, un site de myristoylation sur la partie N-terminale, un site de liaison à l'actine pour l'action sur le cytosquelette, un site de liaison à l'ADN probablement lié à un mécanisme de réparation, et deux domaines de localisation nucléaire. (Schéma issu du diaporama de Nicolini FE. et Réa D. réunion AIH en 2008).....	29
Figure 10 : schéma de la protéine BCR et détail de ses domaines : un domaine d'homologie, un domaine de liaison à la sérine et thréonine, et deux domaines interagissant avec la protéine G (Schéma issu du diaporama de Nicolini FE. et Réa D. réunion AIH en 2008).....	30
Figure 11 : Schéma de la protéine BCR-ABL avec ses domaines issus des gènes BCR et ABL et en fonction du point de cassure (Schéma issu du diaporama de Nicolini FE. et Réa D. réunion AIH en 2008).....	31
Figure 12 : Schéma d'activation des différentes voies de signalisation impliquées par l'activation de la protéine BCR-ABL et leur impact. Les voies Ras, PI3K et STAT sont les principales impliquées dans le leucémogénèse.....	34
Figure 13 : Exemple d'hémogramme d'un patient atteint de Leucémie Myéloïde Chronique en phase Chronique, montrant une forte hyperleucocytose. [FI-LMC].....	37

Figure 14 : Myélogramme hyperplasique observé chez un patient atteint de Leucémie Myéloïde Chronique en phase chronique	38
Figure 15 : Comparaison de Biopsies Ostéo-Médullaire chez un sujet sain et chez un patient atteint de LMC en PC. On constate que la BOM du patient atteint est fortement hyperplasique, avec disparition des adipocytes.	39
Figure 16 : Blastes prédominants sur le myélogramme d'un patient LMC en phase de Crise Blastique.....	42
Figure 17 : Mécanisme de l'activité de BCR-ABL en crise blastique, menant à la stimulation, la prolifération et l'induction d'une instabilité génétique, des dommages sur l'ADN et une détérioration de la fonction réparatrice de l'ADN	43
Figure 18 : Caryotype d'un patient atteint de LMC : on identifie la translocation t(9-22), avec un chromosome 22 raccourci (chromosome Philadelphie) et un chromosome 9 allongé.....	46
Figure 19 : Méthode FISH : mise en évidence du réarrangement chromosomique BCR-ABL : deux points jaunes sont visibles sur la photo, résultat de la superposition des gène BCR et ABL sur le chromosome Philadelphie (versus les témoins rouge et vert).	47
Figure 20 : Relation approximative entre les différentes réponses, le nombre de cellules leucémiques et le taux de transcrit BCR-ABL. Une réponse moléculaire majeure (RMM) correspond par exemple à un ratio BCR-ABL/ABL égal à 0,1%. On tend vers des réponses moléculaire RM4, RM5 donc des taux de transcrit BCR-ABL/ABL les plus bas possible de l'ordre de 0,001%, voire même indétectable selon la sensibilité des machines actuelles.....	53
Figure 21 : synthèse des médians de survies avec différents traitements chez les patients atteints de LMC lors de l'ère pré-Imatinib. L'interféron montre sa supériorité par rapport aux chimiothérapies qui étaient proposées jusqu'alors. [35]	57
Figure 22 : Figure 22 : Mode d'action du Glivec : fixation à la tyrosine kinase BCR-ABL au niveau du site de liaison à l'ATP, empêchant l'activation de la protéine et la transduction du signal.	59
Figure 23 : Résultat de l'étude IRIS (comparaison Imatinib vs Interféron + cytarabine), avec la réponse complète correspondant à 0% de cellules Ph+ en métaphase et la réponse partielle correspondant à un % compris entre 1 et 35% des cellules présentant Ph+. On y remarque la supériorité nette de l'Imatinib. [65].....	60
Figure 24 : Courbe de la vitesse d'obtention de la réponse cytogénétique majeure selon l'étude IRIS : L'Imatinib permet une obtention plus rapide que l'interféron plus cytarabine.	60
Figure 25 : Chronologie des meilleures thérapies disponible pour traitement la LMC entre les années 1960 (uniquement les chimiothérapie), jusqu'aux années 2000, avec l'arrivée de l'Imatinib. On parle en taux de survie globale, plusieurs années après le diagnostic. Par exemple, 5 ans après le diagnostic, dans les années 1960 avec traitement par Busulfan, on avait un taux de survie globale de seulement 38%, alors qu'avec l'Imatinib il monte à 93%. [55]	61
Figure 26 : Etude IRIS : Estimation du pourcentage de patients avec une réduction du taux de transcrit BCR-ABL d'au moins 3 log, 2 log ou moins de 2 log après 12 mois, tout bras confondu. Une nouvelle fois l'Imatinib est nettement meilleur que l'interféron plus cytarabine (39% de patient ayant obtenus une réduction de plus de 3 log, versus 1% dans l'autre bras).	62

Figure 27 : Représentation schématique du domaine kinase d'ABL complexé à l'Imatinib, avec les différents groupes de points chauds de mutation. On y repère la boucle d'activation et la boucle catalytique. [28].....	63
Figure 28 : Taux de réponses moléculaires MR4.5 à 5 ans de suivi selon l'étude ENESTnd : 54% pour les patients traités par Nilotinib 300mg, contre seulement 52% pour les patients traités par Nilotinib 400mg, et enfin seulement 31% pour les patients traités par Imatinib. Cette étude prouve la supériorité du Nilotinib versus l'Imatinib.	66
Figure 29 : Conformation des différentes molécules Imatinib, Nilotinib et Dasatinib et leur liaison à la protéine BCR-ABL.....	67
Figure 30 : Etude STIM - Courbe des rechutes moléculaires après arrêt de l'Imatinib : majorité des rechutes dans les 6 premiers mois (58 sur 61), puis 3 rechutes tardives seulement. Au total 61% des patients ont rechutés et 39% sont resté en rémission sans traitement à 2 ans de suivi.	86
Figure 31 : Etude ENESTPath - Incidence cumulée des RM4 après traitement par Nilotinib suite à l'Imatinib : l'incidence augmente, le switch de l'Imatinib vers le Nilotinib a donc un effet positif.	95

Table des tableaux

Tableau I : Nombre de nouveaux cas de LMC par tranche d'âge et par sexe en France en 2012. Légère supériorité de l'incidence chez les hommes que chez les femmes.....	22
Tableau II : Principaux signes cliniques, peu spécifiques de la LMC en phase chronique	36
Tableau III : Détail du score de Gratwohl à calculer en cas de greffe de cellules souches.....	50
Tableau IV : Différentes cibles pharmacologiques des ITK Imatinib, Dasatinib et Nilotinib et leur spécificité pour BCR-ABL, PDGF-R, c-kit et Src	68
Tableau V : Evènements indésirables hématologiques des ITKs Imatinib, Nilotinib et Dasatinib. Ce sont des effets de classes, mais chacun a sa spécificité : le Dasatinib provoque plus de thrombopénie, tandis qu'il y a plus de Neutropénie avec l'Imatinib.	69
Tableau VI : Evènements indésirables non hématologiques des ITKs Imatinib, Nilotinib et Dasatinib avec leur spécificités surlignées de couleur (Jaune pour l'Imatinib, Vert pour le Nilotinib et Bleu pour le Dasatinib).....	70
Tableau VII : Résumé des différences Nilotinib – Dasatinib : avantages et inconvénients. Ils sont difficilement comparables, c'est pourquoi le traitement doit être adapté en fonction du patient, de ses antécédents, ses traitements concomitants, de son mode de vie, etc.....	71
Tableau VIII : ITK commercialisés : date d'AMM et posologie	73
Tableau IX : Recommandation de traitement LMC en phase chronique - ELN 2013 [74].....	76
Tableau X : Recommandation de traitement LMC en phase accélérée ou crise blastique - ELN 2013 [74]	77
Tableau XI : Objectif de traitement selon ELN 2013 : définition des réponses optimales, avertissement et échecs de traitement [74].....	79
Tableau XII : Les études d'arrêt de l'Imatinib (ITK de première génération). Les études STM et TISTER prouvent le concept que l'arrêt de traitement est possible. L'étude A-STIM permet de définir le critère perte de la RMM (Réponse moléculaire majeure) comme critère de rechute et donc de reprise du traitement. Les autres études nous aident à définir quels sont les facteurs pronostiques d'une longue durée de TFR (Rémission sans traitement)	109
Tableau XIII : Etude d'arrêt de traitement des ITK de 2ème génération (Nilotinib, Dasatinib et Bosutinib). Stop-ITK2, Dasfree et les études ENEST sur le Nilotinib nous prouvent qu'il est également possible d'arrêter le traitement, même après un switch de l'Imatinib vers le Nilotinib. Peu de patients ayant reçu des ITK2 en première ligne ont été inclus, peu de données sont disponibles.....	111

Introduction

La Leucémie Myéloïde Chronique (LMC) est un cancer du sang et plus particulièrement un syndrome myélo-prolifératif. Elle provient d'une mutation génétique sur une cellule souche multipotente, résultant entre autres en une prolifération anormale de la lignée granuleuse. Elle est très bien caractérisée depuis la découverte d'un petit chromosome anormal, le chromosome Philadelphie, issue d'une translocation entre les chromosomes 9 et 22. Le nouveau chromosome 22 est porteur d'un gène anormal appelé BCR-ABL, lui-même codant pour une protéine de fusion anormale, la protéine BCR-ABL. C'est l'expression de ce gène qui est responsable de la transformation leucémique.

La LMC est une maladie chronique qui s'installe insidieusement. Elle évolue en trois phases, la première est une phase chronique d'installation qui peut durer jusqu'à plusieurs années, puis une phase accélérée et enfin une phase avancée dite crise blastique. A l'origine il s'agit d'une maladie incurable (à part grâce à la greffe de moelle osseuse puisque les cellules souches sont directement touchées), qui, grâce aux découvertes des années 2000 peut maintenant être maintenue en phase chronique tout le long de la vie des patients. En effet, les premières thérapies étaient constituées de chimiothérapies (Busulfan, Hydroxyurée), puis d'interféron alpha, plus efficace, permettant d'augmenter la survie mais pas considérablement. L'arrivée dans l'arsenal thérapeutique au début des années 2000 des inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK) a révolutionné la prise en charge de cette maladie. L'Imatinib, ITK de première génération, puis le Dasatinib, le Nilotinib et le Bosutinib de seconde génération et maintenant le Ponatinib et les autres nouvelles molécules comme l'Omacétaxine ont continué d'augmenter la survie des patients jusqu'à rejoindre la courbe de survie globale de la population générale.

Les recommandations actuelles des experts de la LMC consistent à recevoir un inhibiteur de tyrosine kinase en traitement à vie. Cependant récemment, dans le cadre d'essais cliniques très stricts, certains patients tentent d'interrompre leur traitement. On sait qu'un certain pourcentage de patients reste en rémission sans traitement pendant plusieurs mois voire années mais d'autres rechutent, certains rapidement d'autres moins rapidement. Que se passe-t-il biologiquement ? Les patients sont-ils guéris ? Pourquoi ces rechutes ? Peut-on tenter l'arrêt de traitement pour tous les patients et cela est-il sans danger ? Ce sont toutes ces questions que les chercheurs se posent et que nous allons aborder dans ce travail. L'objectif de cette thèse est de comprendre comment nous avons réussi à passer d'une maladie incurable à un arrêt du traitement et peut être une guérison ?

I. La Leucémie Myéloïde Chronique : LMC

A. Généralités

1. Epidémiologie

La leucémie myéloïde chronique est une maladie du sang appartenant au groupe des syndromes myéloprolifératifs. Cette hémopathie maligne est caractérisée par des anomalies de cellules sanguines en termes de nombre (leucocytose, souvent accompagnée d'une thrombocytose) et de différenciation (granulocytes dans le sang). Elle est associée à une expansion clonale anormale de cellules de la lignée granuleuse, issues d'un précurseur pluripotent.

Leucémie signifie que la maladie se caractérise notamment par une augmentation pathologique importante du nombre de globules blancs et parfois la présence de cellules immatures (ie. Promyélocytes, métamyélocytes, etc) dans le sang. Dans le cas de cellule immatures dans le sang on parlera de myélémie.

Myéloïde se rapporte au précurseur myéloïde qui est touché dans la moelle osseuse, c'est-à-dire le tissu contenu dans l'os où sont produites les cellules du sang. Et le terme de chronique se rapporte à l'installation progressive et l'évolution lente dans un premier temps. [51]

La LMC représente environ 15% des leucémies chez l'adulte. [25, 54] C'est une affection rare au sens de la définition donnée par le groupe RAREcare, (<http://www.rarecare.eu>) c'est-à-dire moins de 6 nouveaux cas par an par 100 000 habitants. [29]

Ce groupe RAREcare a pour but de définir les cancers dit rares et d'en offrir la liste. Leur projet est ensuite de les étudier et de fournir des indicateurs pour chaque cancer (Incidence, survie, prévalence et mortalité), selon des registres de données à travers l'Europe. Il est en partie financé par la commission européenne. Ci-dessous, voici un état des lieux donné par le rapport sur la Leucémie Myéloïde Chronique. [61]

En 2012, l'incidence en France était de 807 nouveaux cas par an, avec une légère supériorité chez les hommes que chez les femmes (476 versus 331). Les taux d'incidence sont donc respectivement de 1,5% chez les hommes et de 1,0% chez les femmes. Concernant le taux d'incidence standardisé sur la population européenne, il est de 1,23 pour 100 000 chez l'homme et de 0,98 pour 100 000 chez la femme, soit un rapport hommes/femmes de 1,25. [82]

La LMC peut atteindre toutes les tranches d'âge, bien qu'elle soit très rare chez les enfants et que sa fréquence augmente avec l'âge.

Tableau I : Nombre de nouveaux cas de LMC par tranche d'âge et par sexe en France en 2012. Légère supériorité de l'incidence chez les hommes que chez les femmes.

Age	0-14	15-19	20-24	25-29	30-34	35-39	40-44	45-49	50-54	55-59	60-64	65-69	70-74	75-79	80-84	85-89	90-94	95-++
Incidence Homme	4	4	16	10	15	19	27	34	41	49	60	57	47	43	33	18	7	1
Incidence Femme	10	2	4	6	11	18	22	18	20	27	29	34	29	36	31	23	9	2

Par ailleurs, on remarque que l'incidence chez l'homme augmente régulièrement à partir de 30 ans et jusqu'à 75 ans puis se stabilise. Chez la femme, l'évolution est à peu près similaire même si elle n'atteint pas des niveaux identiques (tableau I et figure 1). L'âge médian de survenue de cette pathologie est de 62 ans chez l'homme et 64 ans chez la femme.

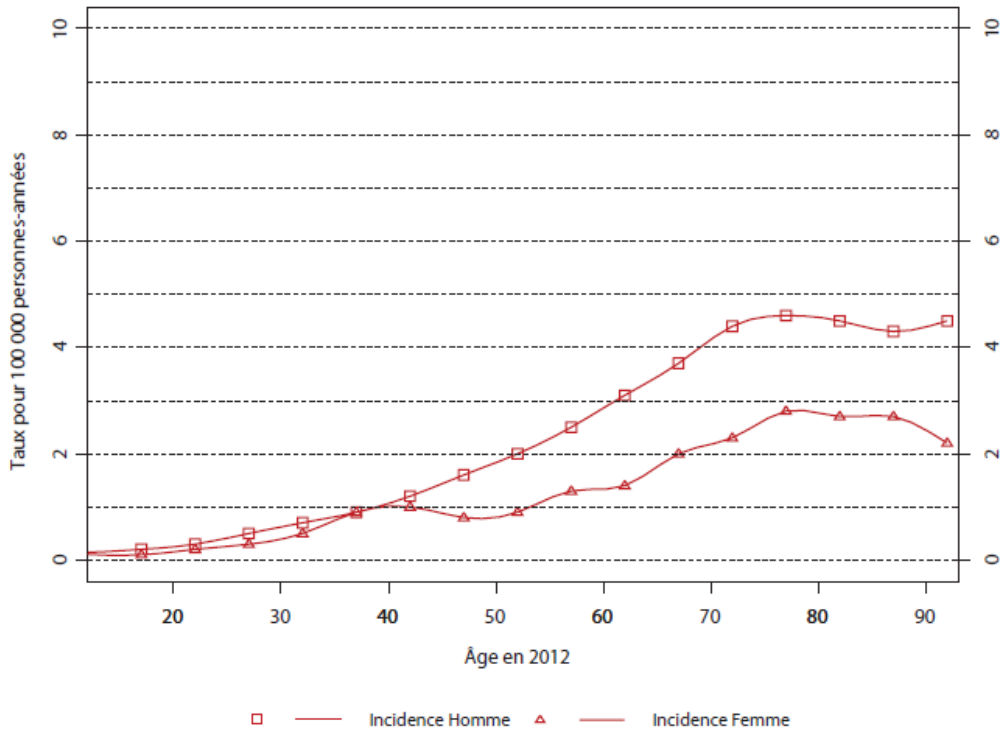


Figure 1 : Courbe de l'incidence de la LMC par âge et par sexe en 2012. L'incidence augmente régulièrement entre 30 et 75 ans et l'âge médian de survenue de la LMC est de 62 ans chez l'homme et 64 ans chez la femme.

La prévalence de la LMC est quant à elle relativement stable dans le temps. Ceci est dû à l'allongement de la médiane de survie des patients obtenu avec l'arrivée des thérapies ciblées (les ITK). [25] En effet, elle est notamment passée de 90 à 210 mois aux États-Unis, [46] et a également augmenté en France. L'âge standardisé de survie à 5 ans chez les patients de 15 à 99 ans atteints de LMC est passé de 47 ans (si diagnostiqué entre 1998 et 2000) à 69 ans (si diagnostiqué entre

2001 et 2004), or cette période correspond justement à l'apparition des inhibiteurs de tyrosine kinase. [62]

On sait que la Leucémie Myéloïde Chronique provient d'une anomalie génétique dans les cellules souches du sang, que nous détaillerons ci-après, mais la cause de l'apparition de cette anomalie reste encore à ce jour inconnue. De même, les facteurs de risque ne sont eux aussi que très peu connus. Il a toutefois été constaté une fréquence plus importante de LMC parmi les survivants des bombardements atomiques d'Hiroshima et de Nagasaki. Les radiations ionisantes ont donc été suspectées de pouvoir provoquer la maladie, mais cela n'a jamais été formellement démontré. [51] Les personnes exposées aux pesticides et aux benzènes dans le cadre de leur travail semblent également présenter un risque modérément plus important de développer une LMC. On ne constate pas de variations géographiques significatives dans le nombre de cas nouvellement diagnostiqués. [24]

2. Physiopathologie

La LMC est due à une prolifération monoclonale provenant d'une mutation sur une cellule souche hématopoïétique pluripotente, donc une cellule encore peu différenciée. [56]

Voici pour rappel un schéma de l'hématopoïèse (figure 2) :

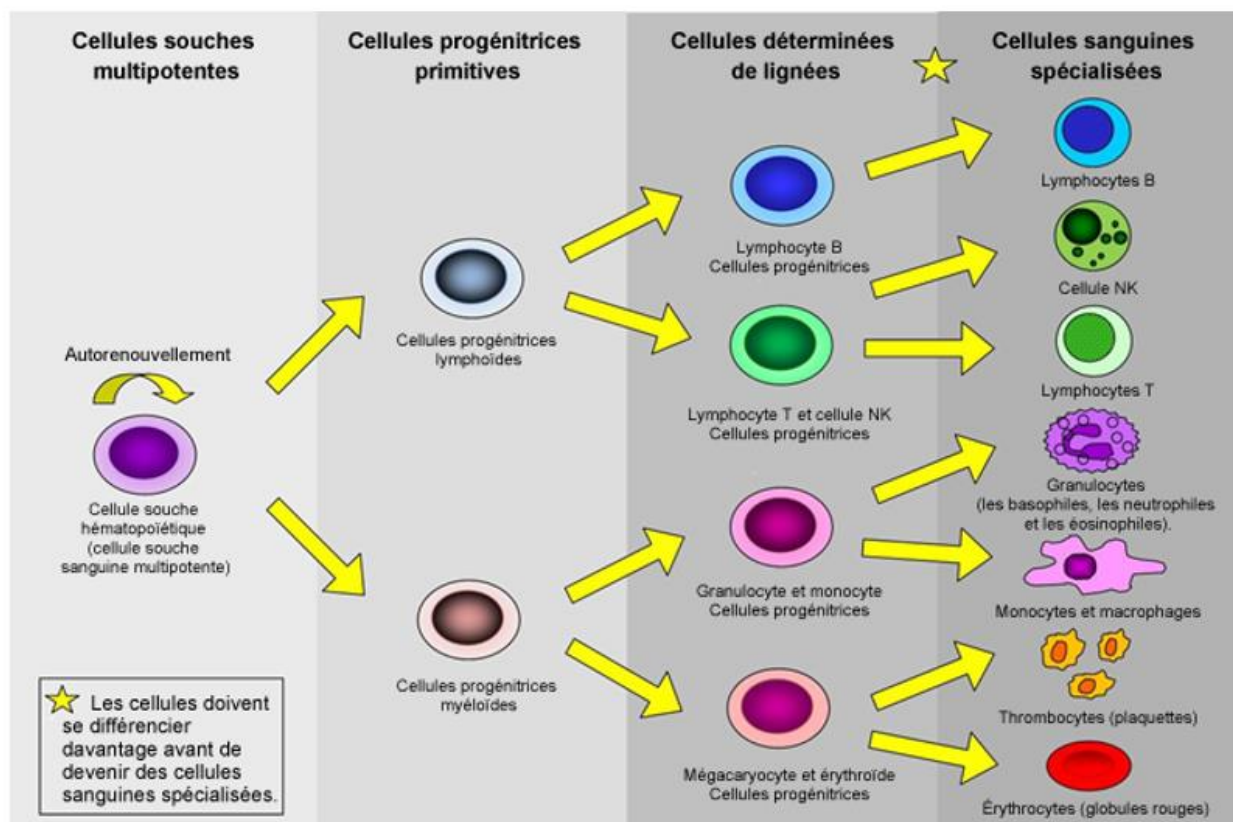


Figure 2 : Schéma de l'hématopoïèse : la cellule souche hématopoïétique peu différenciée a la capacité de s'auto-renouveler ou de se différencier en cellule spécialisée, ce qui n'est plus le cas des cellules progénitrices.

Les cellules touchées de la LMC sont les cellules souches multipotentes, qui se différencient ensuite en cellules progénitrices primitives puis en cellules déterminées dites précurseurs et enfin en cellules sanguines spécialisées. Toutes les lignées cellulaires pourront donc être touchées, avec une intensité qui varie. Par ailleurs, les cellules souches sont dotées d'une capacité d'auto-renouvellement, qui permet aux cellules souches mutées de se renouveler et de se différencier en nouvelles cellules progénitrices touchées.

Cette pathologie est un des syndromes myéloprolifératifs qui est le mieux caractérisé car il existe un marqueur spécifique de cette maladie : le chromosome Philadelphie. Il sera donc retrouvé dans toutes les cellules d'origine monocyttaire, granuleuse, érythroblastique, mégacaryocytaire mais aussi lymphocytaire (B, T, NK). Il sera par contre absent des fibroblastes et des cellules extra-hématopoïétiques. [84]

2.1 Translocation : Le chromosome Philadelphie

Le diagnostic de la LMC est généralement basé sur la détection de ce chromosome anormal présent chez plus de 95% des patients atteints de LMC appelé chromosome BCR-ABL ou

chromosome Philadelphie, et appelé ainsi d'après le nom de la ville où il a été découvert par deux scientifiques, Peter Nowell & David Hungerford en 1960 (figure 3). [64]



Figure 3 : Photographie historique de Peter Nowell et David Hungerford, scientifiques ayant découvert le chromosome Philadelphie

Ce fut les premiers à lier la présence de ce petit chromosome anormal avec la leucémie myéloïde chronique. Ce chromosome anormal est en fait un chromosome 22 raccourci, résultant d'une translocation $t(9-22) - (q34 ; q11)$, c'est-à-dire entre les bras long des deux chromosomes 9 et 22. On obtient donc également un chromosome 9 rallongé. [26]

Les causes de son apparition sont jusqu'à présent toujours inconnues. Les figures 4 et 5 ci-dessous représentent les deux chromosomes 9 et 22, respectivement dans une situation normale, et dans une situation perturbée dans le cadre d'une LMC.

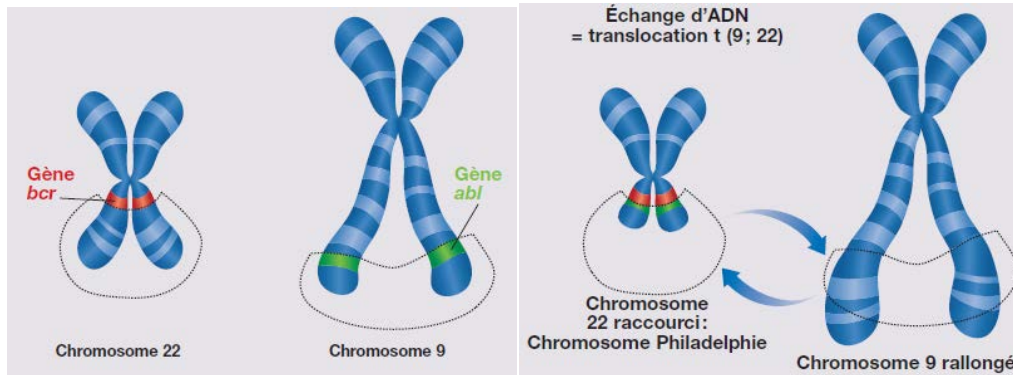


Figure 4 : Chromosome 9 et 22 en situation normale. Le chromosome 9 porte le gène BCR et le chromosome 22 le gène ABL.

Figure 5 : Chromosomes 9 et 22 en situation de LMC : translocation équilibrée des deux bras longs des chromosomes et apparition du gène BCR-ABL sur le chromosome 22 raccourci.

La cassure sur les deux chromosomes 9 et 22 ne se fait pas nécessairement toujours exactement au même endroit précis, bien qu'elle soit toujours au niveau des gènes ABL (Abelson Leukemia virus) et BCR (Breakpoint Cluster Region) respectivement portés sur les chromosomes 9 et 22. Les gènes ABL et BCR sont, comme tous gènes, formés d'exons et d'introns, et sont d'une taille définie. Dans 95% des cas, le point de cassure sur le gène ABL surviendra à 5' vers le centromère de l'exon 2 et sur le gène BCR il se situera généralement à 5' entre les exons b2 et b3. Dans ce cas, les exons 2 à 11 d'ABL (également appelés a2 à a11) seront transposés vers le gène BCR sur le chromosome 22. [6]

Dans les 5% des cas, on peut retrouver une translocation complexe ou variante, pouvant impliquer d'autres chromosomes mais aboutissant toujours au même résultat : la fusion du gène BCR présent sur le chromosome 22 avec le gène ABL du chromosome 9. Le chromosome Philadelphie ne sera donc pas toujours visible à l'examen cytogénétique. [25] La LMC pourra toutefois être détectée par la suite à l'analyse moléculaire grâce au gène de fusion BCR-ABL et à sa protéine produite.

Le chromosome anormal Philadelphie peut être retrouvé aussi bien dans les cellules myéloïdes, érythroïdes, mégacaryocytiques que dans les lignées lymphoïdes. C'est une anomalie génétique acquise par les cellules souches anormales, la LMC n'est donc pas une maladie héréditaire. L'implication de la translocation t(9;22) – (q34;q11) n'a été mise en avant que treize ans plus tard, en 1973, par Rowley. [79]

2.2 Apparition du gène de fusion

La translocation des chromosomes aboutit donc à la formation d'un petit chromosome anormal Philadelphie, portant sur son bras long un gène de fusion BCR-ABL. Ce gène BCR-ABL, est ensuite transcrit en un ARN (Acide RiboNucléique) messenger codant pour une protéine chimérique BCR-ABL, ayant des propriétés tyrosine kinase qui seront décrites au paragraphe 2.5 de ce travail. Nous avons précédemment énoncé les points de cassures des deux gènes, entre leurs introns et leurs exons, disant que c'était majoritairement toujours au même endroit. En fait c'est un peu plus compliqué que cela. Parmi les 95% des cas de LMC cités précédemment, il faut re-diviser cette population en 3 sections, selon le lieu de cassure sur le gène BCR. Le point de cassure au niveau du gène ABL est toujours situé entre Ia et Ib, tous les exons depuis a2 jusqu'à a11 sont alors transférés sur le chromosome 22 (figure 6). [20, 26, 87]

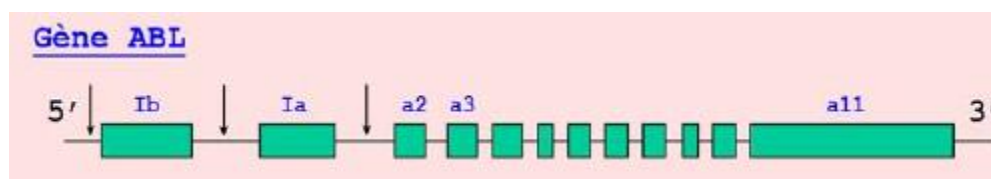


Figure 6 : Schéma du gène ABL et ses différents exons. La cassure au niveau de ce gène se fait toujours entre les exons Ia et Ib. (Schéma issu du diaporama de Nicolini FE. et Réa D. réunion AIH en 2008).

En revanche, au niveau du gène BCR, la cassure peut se faire entre les exons 12 et 16 (appelés aussi de b1 à b5) qui s'étendent sur plus de 5.8 kb (Kilo base) (Figure 7). En pratique, la cassure se fait selon trois possibilités définies ci-dessous [93] :

- **La région M-bcr (Major BCR ou Major Breakpoint Cluster Region)** : C'est celle dont nous avons parlé plus haut, c'est-à-dire la plus courante. La cassure se fait au niveau des exons 13 ou 14 (voir figure ci-dessous). Les transcrits obtenus sont b3a2 (= e14a2) dans 60% des cas, ou b2a2 (= e13a2) dans 35% des cas. Ces transcrits codent pour un ARN chimérique BCR/ABL qui lui est traduit en une protéine de fusion appelée p210^{BCR-ABL} (210 paires de bases) ayant un pouvoir oncogénique avec très forte activité tyrosine kinase. On a également mis en évidence la présence de ces deux transcrits conjointement chez 5 à 10% des patients.

- **La région m-bcr (minor BCR)** qui elle est impliquée dans 0.4 % des LMC. La cassure a lieu bien en amont, au niveau de l'exon 1. Le transcrit est donc e1a2, et produira après traduction de l'ARN la protéine p190^{BCR-ABL} (seulement 190 paires de bases). Ce transcrit est fréquemment associé à une monocytose, une absence de basophilie, et une absence de splénomégalie (par ailleurs m-bcr est retrouvé dans environ 2/3 des Leucémie Aigue Lymphoblastique (LAL) Ph+).

- La région μ -bcr (micro bcr) qui est impliquée dans moins de 0.1 % des LMC. La cassure a lieu cette fois-ci autour de l'exon 19 et le transcrit obtenu est donc e19a2. Avec ce transcrit la protéine produite est p230^{BCR-ABL} (donc 230 paires de bases) qui est associée à la LMC à polynucléaires neutrophiles, avec expansion essentiellement comme son nom l'indique de polynucléaires neutrophiles, d'une thrombocytose parfois supérieure à 1000 G/L, ainsi qu'une évolution plus indolente que la LMC classique, et une tendance moindre à transformer).

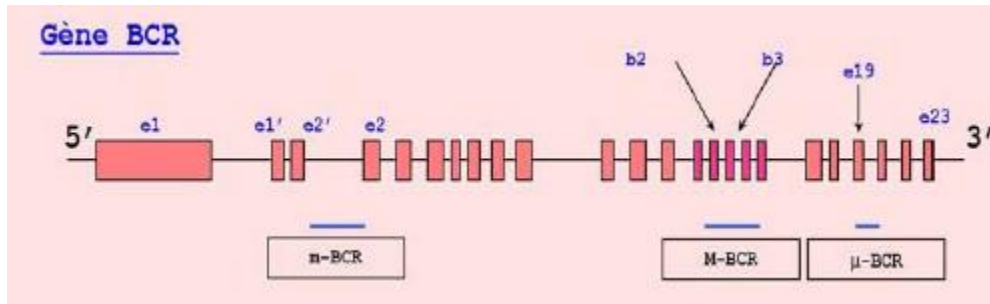


Figure 7 : schéma du gène BCR et ses différents exons. La cassure peut se faire dans plusieurs régions m-BCR, M-BCR ou μ -BCR. (Schéma issu du diaporama de Nicolini FE. et Réa D. réunion AIH en 2008).

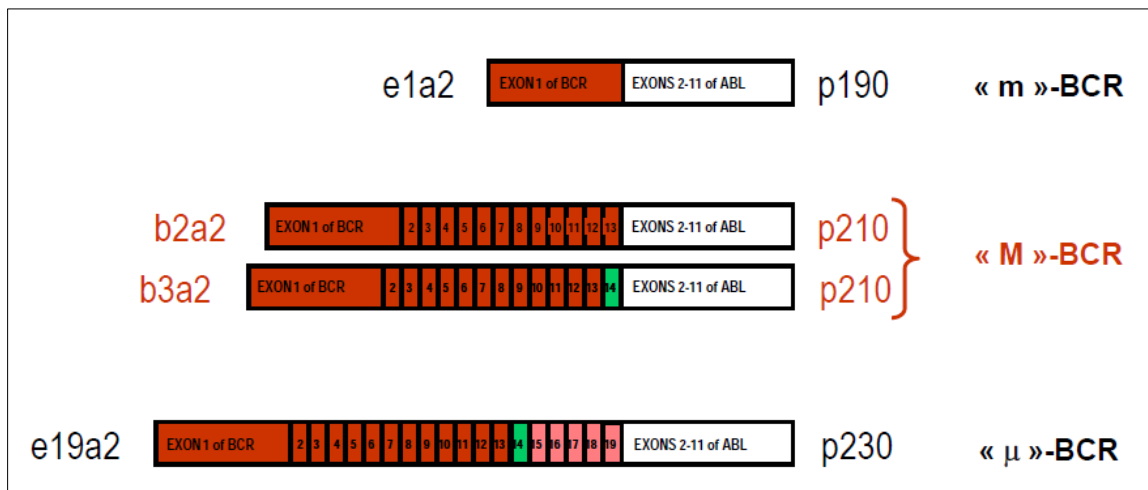


Figure 8 : Fusion des gènes BCR et ABL et apparition de la protéine de fusion BCR-ABL (différentes protéines à différent poids moléculaire existent en fonction du point de cassure sur le gène BCR)

Pour résumer, en fonction du site de cassure sur le gène BCR, la taille de la protéine de fusion qui en résulte peut varier entre 158 kb et 230 kb (figure 8). Chaque gène de fusion code pour la même portion du gène ABL mais diffère dans la longueur de la séquence du gène BCR qui reste à l'extrémité N. Presque tous les patients atteints d'une LMC (95%) expriment une protéine de 210 kb. [25, 26, 83]

2.3 Protéine ABL

La protéine ABL est une protéine de 145 kiloDalton à activité tyrosine kinase, non associée à des récepteurs, qui a un rôle important dans la transduction de signaux et la régulation de la prolifération cellulaire. [91]

Les tyrosines kinases sont des enzymes qui assurent la phosphorylation (c'est-à-dire qui ajoutent un groupement phosphate) à une tyrosine d'un substrat. Elles ont un domaine catalytique qui permet le transfert du groupement phosphate terminal de la molécule d'ATP (Adenosine TriPhosphate) vers le groupement amino-tyrosine receveur du substrat. C'est la fixation de la molécule d'ATP qui permet un changement de la conformation de la protéine kinase, qui s'ouvre pour laisser le substrat se fixer et recevoir le groupement phosphate.

Voici ci-dessous le schéma de cette protéine à plusieurs domaines, ayant chacun un rôle spécifique (figure 9) :

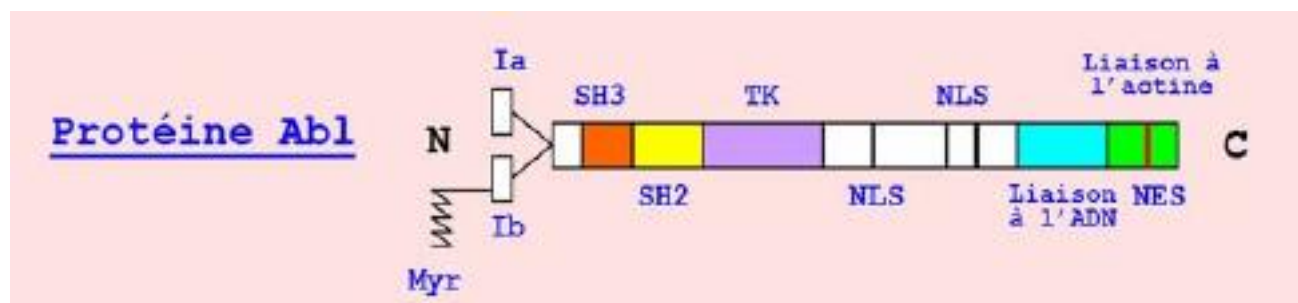


Figure 9 : Schéma de la protéine ABL et de ses domaines : 3 domaines d'homologies responsables de la phosphorylation, un site de myristoylation sur la partie N-terminale, un site de liaison à l'actine pour l'action sur le cytosquelette, un site de liaison à l'ADN probablement lié à un mécanisme de réparation, et deux domaines de localisation nucléaire. (Schéma issu du diaporama de Nicolini FE. et Réa D. réunion AIH en 2008)

Dans la partie N-terminale de la protéine, on retrouve trois domaines Src Homologie (SH), ou domaines d'homologie, responsables de la phosphorylation. Étant donné l'importance de l'activité de phosphorylation dans les cascades des voies de signalisation, ce système est extrêmement régulé. Les trois domaines catalytiques ont donc la possibilité de s'autoréguler l'un l'autre (SH3, SH2 et TK sur la figure 9). De plus, deux variétés de protéines peuvent être synthétisées en fonction du premier exon : Ia ou Ib. Si la protéine contient l'exon Ib, il y aura également un site de myristoylation qui permet à la protéine de se fixer à la membrane de la cellule. En effet, la protéine sera transformée par un groupement lipide de type acide gras saturé sur un résidu de type glycine. C'est la seule variation qu'il peut y avoir au moment de la cassure du gène, soit ce site est transféré sur le chromosome 22, soit il ne l'est pas.

La section C terminale d'ABL contient un domaine de liaison à l'ADN (probablement impliqué dans un mécanisme de réparation de l'ADN), des signaux de localisation nucléaire (NLS) et un site de liaison à l'actine, responsable du modelage du cytosquelette.

La diversité de ses domaines confère à cette protéine une particularité rare chez les protéines tyrosine-kinases : sa localisation peut varier selon l'action voulue. Elle peut en effet se retrouver aussi bien dans le cytoplasme lorsqu'elle est myristoylée et ainsi agir sur le squelette cytoplasmique mais également se retrouver à l'intérieur du noyau, lors de sa liaison aux filaments d'actine, et grâce au signal de localisation nucléaire. [50]

Dans le compartiment nucléaire, ABL joue un rôle de régulateur négatif du cycle cellulaire, en se liant à l'ADN et formant un complexe avec des protéines inhibitrices du cycle telles que pRb (protéine du rétinoblastome). Dans le cytoplasme, la protéine ABL joue un rôle important dans la croissance et la prolifération cellulaire, participant à la transduction du signal, initiée par certains récepteurs aux facteurs de croissance. [33, 54]

2.4 Protéine BCR

La protéine BCR a un poids moléculaire de 160 kilo Dalton. Comme ABL, cette protéine peut elle aussi résider dans les deux compartiments de la cellule, cytoplasmique et nucléaire (lors de la mitose, suggérant un rôle dans le cycle cellulaire). Elle est impliquée dans deux voies de signalisations majeures : la phosphorylation et la liaison à la guanine triphosphate.

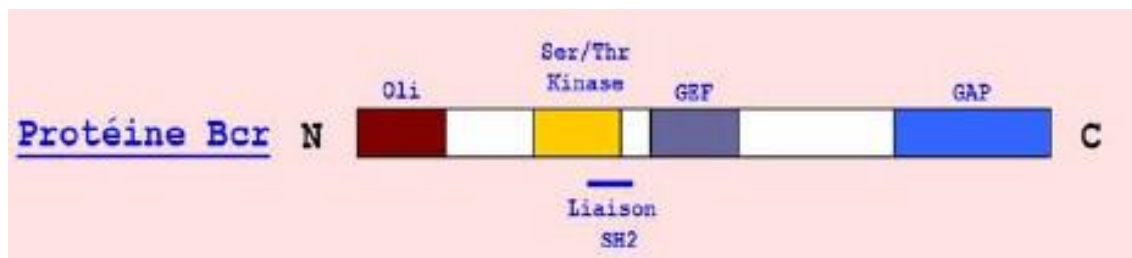


Figure 10 : schéma de la protéine BCR et détail de ses domaines : un domaine d'homologie, un domaine de liaison à la sérine et thréonine, et deux domaines interagissant avec la protéine G (Schéma issu du diaporama de Nicolini FE. et Réa D. réunion AIH en 2008)

Cette protéine a une activité kinase pour la serine et la thréonine (figure 10). Elle présente également une activité Src Homologie 2 (SH2) responsable de la phosphorylation. Enfin, elle peut aussi interagir, du fait de son homologie, avec les protéines G. Ces protéines G ont de grands rôles à plusieurs niveaux, aussi bien dans la signalisation intracellulaire, l'organisation du cytosquelette, la maturation cellulaire et le développement normal. Le processus est régulé par la protéine guanosine-triphosphatase (GTPase ou GAP : GTPase activating protein) qui désactive la protéine G et les facteurs d'échanges de nucléotide guanine entre la guanine triphosphate et la guanine diphosphate (GEF Guanine nucleotide Exchange Factor), qui active la protéine G. BCR ayant à la

fois l'activité GTPase et la fonction du facteur d'échange du nucléotide guanine, elle peut jouer sur les voies de signalisation liées à la protéine G. [50]

2.5 Production de la protéine anormale BCR-ABL

La translocation des chromosomes 9 et 22 forme donc un gène anormal, appelé gène BCR-ABL, issue de la fusion des gènes ABL et BCR. Ce nouveau gène va coder pour une nouvelle protéine anormale, appelée protéine de fusion BCR-ABL. Comme nous l'avons déjà mentionné ci-dessus, il peut y avoir différents points de cassure au niveau du gène BCR, et peut en résulter 3 protéines de taille différentes.

La protéine obtenue dans 95% des cas est p210 (correspondant aux transcrits a2b2 et a2b3). [50] Cette protéine de fusion p210 BCR-ABL hérite donc à la fois des domaines de phosphorylation de la protéine ABL, mais également des autres domaines que l'on retrouvait sur la protéine BCR. Voici un résumé des nouvelles activités de cette protéine BCR-ABL, impliquée dans une grande majorité des LMC (figure 11) :

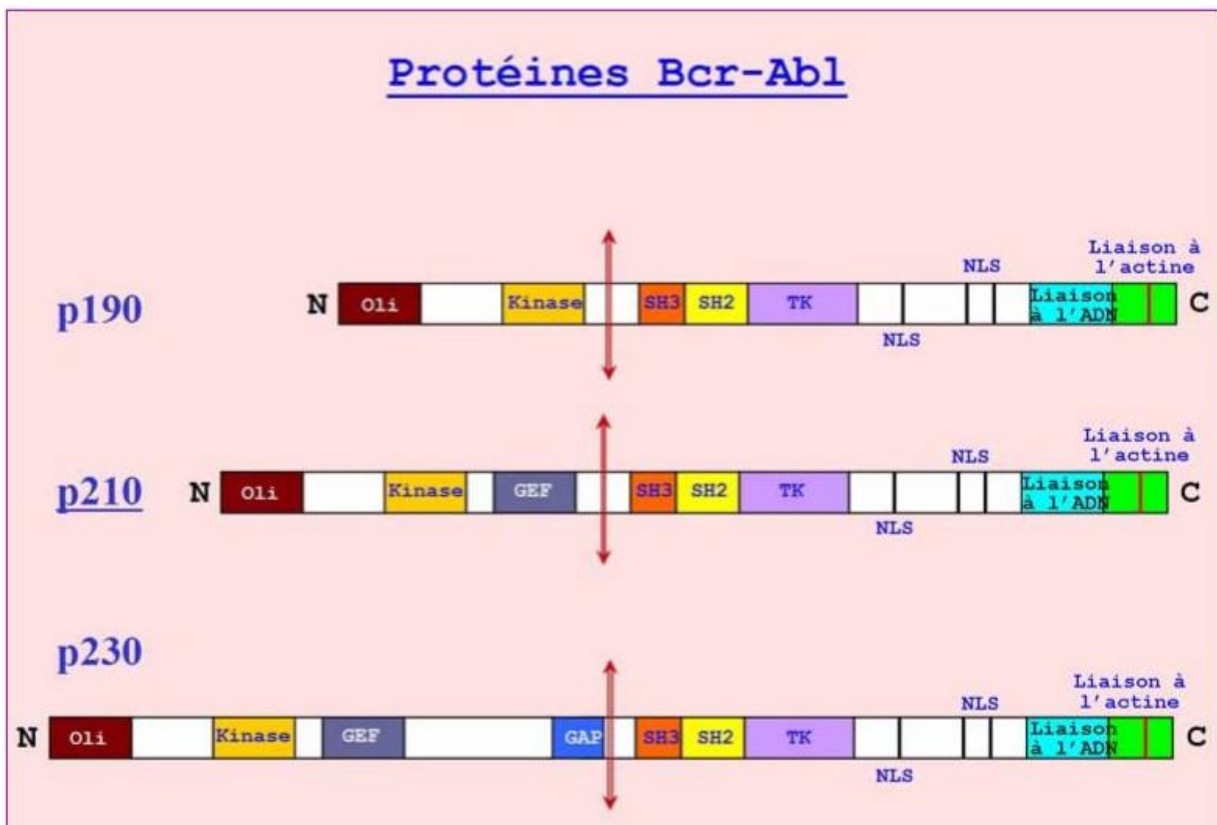


Figure 11 : Schéma de la protéine BCR-ABL avec ses domaines issus des gènes BCR et ABL et en fonction du point de cassure (Schéma issu du diaporama de Nicolini FE. et Réa D. réunion AIH en 2008)

○ **Activité tyrosine kinase**

La phosphorylation d'un nombre très important de substrats est responsable des propriétés de la cellule leucémique, ce qui la distingue d'une cellule normale. En effet, l'auto-activation et la perte de la régulation de l'activité tyrosine kinase entraînent l'activation, directe ou indirecte, et le recrutement de voies de signalisation impliquées dans les processus de prolifération, d'apoptose, de différenciation et d'adhésion cellulaire. [54] C'est donc une activité qui est, en situation normale, très régulée. Une des principales caractéristiques de la protéine BCR-ABL est la dérégulation de cette activité. Elle sera dérégulée par 3 mécanismes :

-Augmentation de son activité : La protéine est issue de la fusion des deux gènes BCR et ABL. La protéine contient donc à la fois les 3 domaines catalytiques d'ABL, mais également le domaine de phosphorylation de BCR.

-Réduction de son auto-inhibition : Ce serait le domaine SH3 qui serait responsable de l'inhibition de l'activité tyrosine kinase d'ABL en situation normale. Plusieurs études ont montré que lors de sa suppression ou de son altération, l'activité kinase d'ABL est activée et le reste. C'est donc possible que la fusion avec le gène BCR abroge l'inhibition physiologique de l'activité tyrosine kinase. [20]

-Auto-phosphorylation : L'activation constitutionnelle de son domaine tyrosine kinase provoque donc l'activation de plusieurs voies de transduction de signaux cytoplasmiques et nucléaires qui affectent la croissance et la survie des cellules hématopoïétiques. [83]

Par ailleurs, on sait que le niveau d'activité tyrosine kinase est directement lié au pouvoir de transformation de la protéine. [50] En conséquence, des études ont montré que la protéine de fusion p190 avait une activité tyrosine kinase plus importante et donc un pouvoir oncogène supérieur à la protéine de fusion p210. Les caractéristiques de la maladie seront donc différentes en fonction de la capacité de tyrosine kinase de la protéine obtenue. Les leucémies retrouvant la protéine de fusion de seulement 190 paires de bases est plus souvent associé aux phénotypes agressifs de leucémies aiguës, tandis que la protéine p210 se retrouve dans les formes plus chroniques. [83]

○ **Activation de signaux mitotiques**

La voie Ras

Les trois protéines obtenues p190, p210 et p230 sont toutes responsables de l'activation de la protéine Ras. Il s'agit d'une protéine vitale qui joue un rôle essentiel dans la voie de signalisation intracellulaire, agissant sur la prolifération cellulaire, l'apoptose, la différenciation cellulaire, la migration et l'angiogenèse. Tous ces facteurs étant connus comme caractéristiques de la cancérogénèse.

Voici le détail d'un parmi plusieurs mécanismes impliqués dans son activation : La liaison de BCR-ABL à GRB-2 (Growth factor Receptor Binding protein), une petite molécule d'adaptation, ayant une région SH2 et deux régions SH3 qui établit le lien avec les récepteurs à tyrosine kinase et la voie de ras. [67] Cette liaison se fait très spécifiquement au niveau de la

tyrosine 177 de SH2 de BCR et est indispensable à l'activation de la voie ras dans les cellules exprimant BCR-ABL. Si une protéine Facteur d'échange du nucléotide Guanine (GEF) entre en lien avec p210 lié au GRB-2, ce dernier se lie par son extrémité SH3 a un facteur d'échange de manière constitutionnelle et ce complexe GRB-2/GEF permettrait de transformer ras*GDP (inactif) en ras*GTP (actif) avec comme conséquence l'activation permanente de la voie de transduction de ras. [89] Une fois Ras activée, elle peut également activer à son tour d'autres gènes induisant un signal prolifératif par exemple via les protéines Raf, Mek ou Erf.

Les autres voies

Deux autres voies jouent aussi un rôle très important dans la prolifération cellulaire, il s'agit des voies Jak Kinase (Bcr-Abl, toujours via Grb2, peut activer les protéines STAT, qui n'auront alors pas besoin d'être précédemment activées par une phosphorylation des Jak Kinase) et PI3 kinase (activées via Grb2, activant Akt et induisant un signal prolifératif et anti-apoptotique). [18, 54, 85]

o Molécule d'adhésion

Une des caractéristiques des Leucémies Myéloïde Chroniques est la présence de cellules immatures dans le sang, libérées prématurément par la moelle osseuse à cause d'un défaut d'adhésion de ces cellules. L'adhésion est normalement médiée par différentes familles de molécules comme les intégrines. L'expression de ces intégrines n'est pas modifiée mais leur fonction et le signal qu'elles induisent sont dérégulés et cette dérégulation serait dû à la phosphorylation par Bcr-Abl de protéines comme Crkl, la paxilline ou la talline. [50, 54]

o Apoptose (mort programmée de la cellule)

L'expression du gène BCR-ABL dans une cellule empêche l'apoptose même après la disparition des facteurs de croissance. Ce mécanisme est directement lié à l'activité tyrosine kinase de la protéine et à l'activation des voies Ras ou PI3 kinase, évoquées ci-dessus. BCR-ABL bloque le relargage du cytochrome C par la mitochondrie, ce qui induit l'inactivation de la voie des caspases. [2, 20, 23, 54]

o Dégradation de protéine et instabilité génomique

La protéine BCR-ABL, comme la protéine ABL, induit la dégradation via le protéasome des protéines Abi-1 et Abi-2 qui sont inhibiteurs physiologiques de l'activité kinase d'ABL, d'où l'absence de régulation. De plus, de nombreuses études ont prouvé que les lignées BCR-ABL positives sont également résistantes à l'apoptose suite à la détérioration de l'ADN, ce qui pourrait expliquer en partie l'instabilité génétique de ces cellules. Enfin, BCR-ABL interagi aussi avec le gène xeroderma pigmentosum, et augmente ainsi la radiosensibilité et donc également le risque d'altération de l'ADN. L'instabilité génétique, probablement responsable d'anomalies cytogénétiques surajoutées et l'activation de divers gènes par coopération avec BCR-ABL,

expliquerait le passage de la maladie de la phase chronique vers les phases avancées (accélérée ou blastique). [54]

Toutes ces activités sont résumées sur la figure 12 ci-dessous :

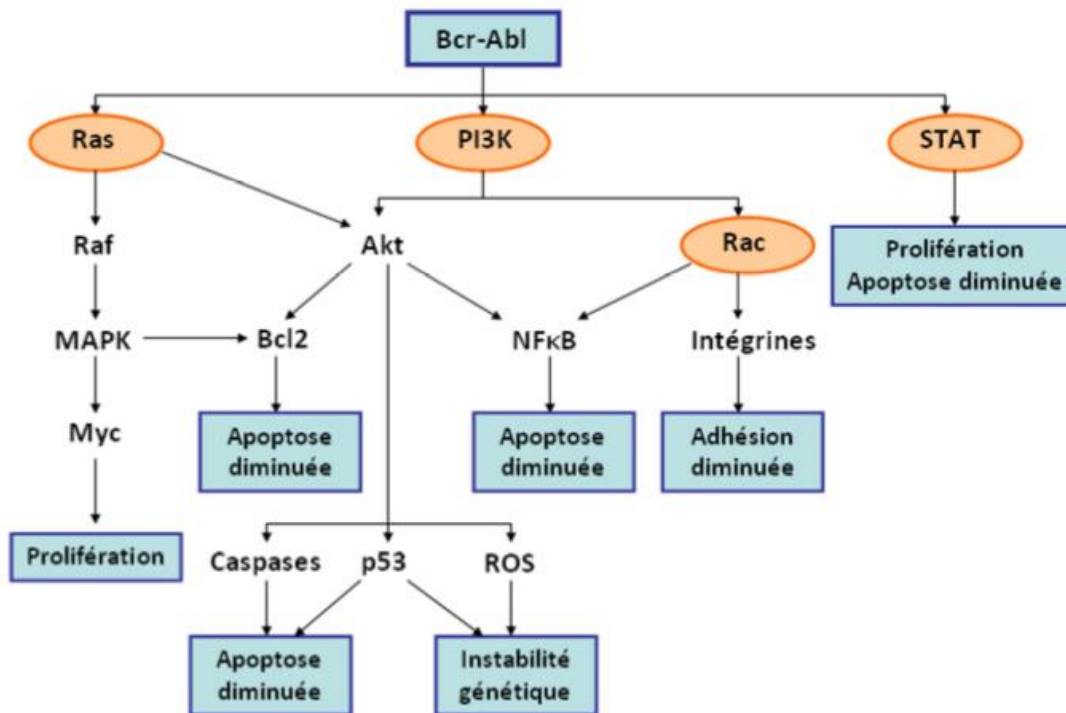


Figure 12 : Schéma d'activation des différentes voies de signalisation impliquées par l'activation de la protéine BCR-ABL et leur impact. Les voies Ras, PI3K et STAT sont les principales impliquées dans le leucémogénèse.

3. Les différentes phases

Cliniquement, la leucémie myéloïde en phase chronique ne représente pas un danger majeur pour le patient atteint. En effet, dans la plupart des cas le surnombre de globules blancs est très bien contrôlé avec des agents cyto-réducteurs comme l'Hydréa, et les neutrophiles et les plaquettes, bien qu'en nombre anormaux assurent une fonction quasi normale.

Cependant, la maladie progresse inexorablement vers les autres phases de leucémie myéloïde, à savoir la phase accélérée et la crise blastique, le plus souvent dans les 5 ans après le diagnostic. [20] La cause de l'évolution reste inconnue, mais certaines théories pencheraient vers la cause de l'instabilité de la translocation du chromosome Philadelphie qui pourrait être responsable de l'apparition de nouvelles aberrations chromosomiques ou mutations retrouvées dans les phases plus avancées de la LMC. [36]

Il existe donc trois différentes phases qui se succèdent les unes après les autres. Elles sont chacune caractérisées par des manifestations cliniques et biologiques bien définies, détaillées ci-après :

-Phase Chronique

-Phase accélérée ou d'accélération

-Crise blastique ou acutisation

a. Phase chronique (PC)

La phase chronique est la première phase de la Leucémie Myéloïde Chronique. C'est pendant cette période que la maladie s'installe insidieusement. Cette phase est celle qui dure le plus longtemps, car la maladie progresse très lentement. La plupart du temps, c'est-à-dire pour 90 à 95% des cas, c'est le stade auquel le diagnostic de LMC est posé. L'âge du diagnostic se situe aux alentours de la cinquantaine, les hommes étant atteints très légèrement plus fréquemment que les femmes. [95] Dans près de 40% des cas, la découverte de la maladie est fortuite, c'est-à-dire au cours d'un bilan de routine ou d'une analyse de sang effectuée pour une autre raison. [14] Cette phase chronique est donc la plus longue. Elle dure en moyenne de 3 à 5 ans sans traitement mais peut atteindre jusqu'à une vingtaine d'années.

1.1 Symptômes – Signes généraux

Cliniquement, lors de la phase chronique de la maladie, peu de symptômes sont remarqués, à l'exception de deux manifestations cliniques spécifiques liées à la maladie : fatigue et splénomégalie (augmentation de la taille de la rate). Les autres signes cliniques que l'on peut retrouver sont une perte de poids, des sueurs nocturnes et les symptômes liés à la splénomégalie (douleur abdominale, ballonnement, pesanteur abdominale et satiété précoce). Les signes cliniques sont résumés dans le tableau II. [14]

Tableau II : Principaux signes cliniques, peu spécifiques de la LMC en phase chronique

Symptômes	Incidence
<i>Signes généraux</i>	
Asthénie	83%
Amaigrissement	61%
Fièvre	11%
<i>Signes en rapport avec la splénomégalie</i>	
Splénomégalie	50% à 70%
Hépatomégalie	48%
Apesanteur abdominale	38%
Douleurs abdominales (ballonnement)	33%

1.2 Hémogramme ou NFS (Numération Formule Sanguine)

Les phases de la LMC sont définies notamment en termes de nombre de cellules souches dans la moelle et dans le sang. Plus on retrouve de cellules immatures dans ces tissus, et plus la maladie sera à un stade avancé. Le premier examen qui sera pratiqué est l'hémogramme, il s'agit de l'examen de référence pour évoquer le diagnostic de LMC. Voici ci-dessous (Figure 13) un exemple d'hémogramme que l'on pourrait retrouver chez un patient atteint de Leucémie Myéloïde Chronique en phase chronique :

<u>CYTOLOGIE</u>				
BREAK				
NUMERATION				
Leucocytes (+érythroblastes)	258.03	10.9/l		(N: 4.0-10.0)
	Vérifié et Téléphoné			
Erythrocytes	2.09	10.12/l		(N: 4.5-6.5)
Hémoglobine	6.6	g/dl		(N: 13.0-17.0)
	Résultat téléphoné			
Hématocrite	20.2	%		(N: 40-52)
	Vérifié			
V.G.M	96.7	10 -15 l		(N: 92-98)
T.C.M.H	31.6	10 -12 g		(N: 27-32)
C.C.M.H	32.7	g/dl		(N: 32-36)
Plaquettes	856	10.9/l		(N: 150-400)
Volume plaquettaire moyen	10.7	10 -15 l		
BREAKEND				
BREAK				
FORMULE LEUCOCYTAIRE				
Polynucléaires neutrophiles	57	%	soit	147.1 10.9/l
(N: 1.5-7.0)				
Polynucléaires éosinophiles	3	%		7.7 10.9/l
(N: 0-0.4)				
Polynucléaires basophiles	2	%		5.2 10.9/l
(N: 0-0.1)				
Lymphocytes	3	%		7.7 10.9/l
(N: 1.5-4.0)				
BREAKEND				
Erythroblastes	2	%		
Métamyélocytes neutrophiles	13	%		
Myélocytes	15	%		
Promyélocytes	1	%		
Blastes	4	%		
<u>Morphologie</u>				
Anisocytose				
Les granulocytes sont pauvres en grains				

Figure 13 : Exemple d'hémogramme d'un patient atteint de Leucémie Myéloïde Chronique en phase Chronique, montrant une forte hyperleucocytose. [FI-LMC]

En règle générale, il montre tout d'abord une **forte hyperleucocytose** avec un taux médian de globules blancs de l'ordre de 100.10^9 /litre (une valeur normale doit être entre 4.10^9 /litre et 10.10^9 /litre). Cette hyperleucocytose est notamment constituée de polynucléaires neutrophiles, mais dont le pourcentage ne sera que de l'ordre de 30 à 50%, car elle est souvent associée à une forte myélémie.

La myélémie est le passage anormal d'éléments immatures de la granulopoïèse (comme les myélocytes, les métamyélocytes, les promyélocytes et à moindre degré les myéloblastes) dans le sang. On peut aussi retrouver quelques blastes, en petit nombre (généralement 2-3%).

Un syndrome anémique léger est aussi fréquemment présent mais il peut être plus intense ou bien absent complètement selon les cas. L'anémie est normochrome, normocytaire et arégénérative. De plus, une anomalie de la forme des érythrocytes (dystrophie érythrocytaire) est possible, on pourra alors retrouver soit une anisocytose, une polychromatophilie ou encore une ponctuation basophile. Parallèlement, une **érythroblastose** peut être associée à ce tableau.

Enfin, le taux des plaquettes est souvent modestement augmenté entre 400.10^9 /litre et 700.10^9 /litre (les valeurs normales sont comprises entre 150.10^9 /litre et 400.10^9 /litre), il s'agit d'une **hyperplaquettose**. Comme le reste, peut parfois être supérieur à 1.10^{12} /litre, parfois normal, ou même exceptionnellement abaissé. [95]

Malgré ces anomalies, les plaquettes et les globules blancs conservent une fonction normale, c'est pourquoi pendant cette phase chronique, les symptômes sont encore très légers. L'hémogramme est une première direction vers la LMC mais ne suffit en aucun cas à poser le diagnostic final. Une série d'examens complémentaires est nécessaire pour le confirmer.

1.3 Myélogramme

Le myélogramme est le second examen à effectuer afin de confirmer le diagnostic probable de LMC découvert à l'hémogramme (figure 14). Il s'agit d'une ponction de moelle osseuse, réalisée au niveau du sternum, ou de l'os iliaque si le sternum est contre-indiqué, sous anesthésie locale à l'aide d'un trocart de Mallarmé. C'est un examen plus invasif, au contraire de l'hémogramme qui est une simple prise de sang qui peut donc être effectuée toutes les semaines, le myélogramme ne se fait qu'en cas de besoin, généralement pas plus d'une fois par an.

En cas de difficulté d'aspiration, on peut également être amené à faire une biopsie ostéo-médullaire au niveau de l'os du bassin (prélèvement d'une carotte osseuse) et ceci permettra également d'étudier la moelle de façon histologique. On préférera cette technique notamment dans le cadre de possible greffe de moelle.

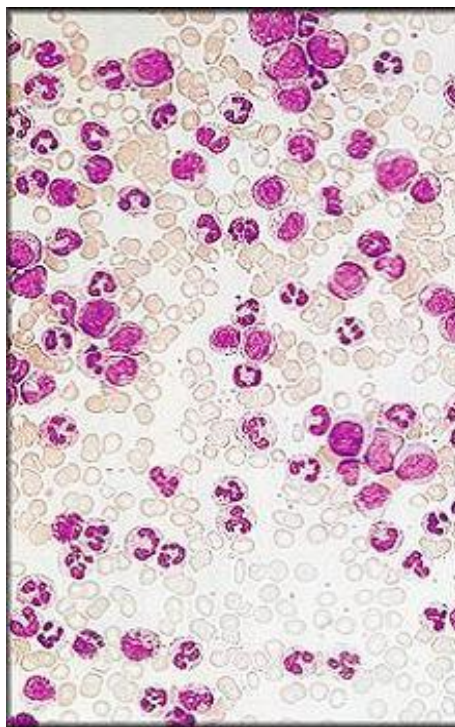
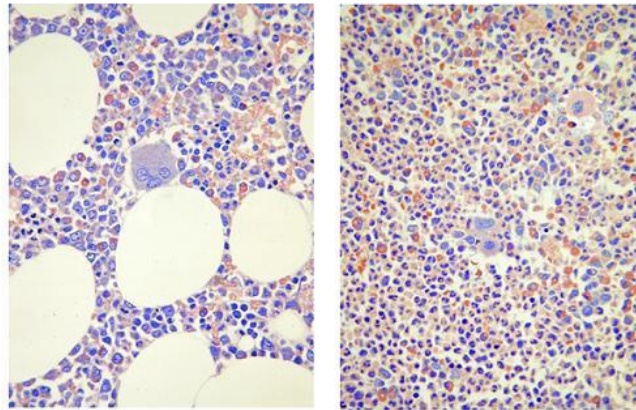


Figure 14 : Myélogramme hyperplasique observé chez un patient atteint de Leucémie Myéloïde Chronique en phase chronique

Le myélogramme met en évidence l'hyperplasie du tissu myéloïde. C'est surtout la lignée granuleuse qui est hyperplasique (jusqu'à près de 95%), mais de façon harmonieuse et sans blastose significative (inférieur à 5%). Les mégacaryocytes peuvent être hyperplasiques et une densification de la réticuline est possible mais sans ostéo-myélofibrose. Voici une image d'une moelle d'un patient atteint de LMC à côté d'une moelle normale, observé par biopsie ostéo-médullaire (figure 15) :

Moelle Normale LMC Phase Chronique



Biopsie Ostéo médullaire

Figure 15 : Comparaison de Biopsies Ostéo-Médullaire chez un sujet sain et chez un patient atteint de LMC en PC. On constate que la BOM du patient atteint est fortement hyperplasique, avec disparition des adipocytes.

On remarque alors que la moelle est en effet hyperplasique, plus dense, avec disparition des adipocytes.

1.4 Envahissement extra-médullaire

Lors de la phase chronique de la LMC, l'organe le plus touché est la rate. Du fait de la production excessive de globules blancs, on observe presque systématiquement une splénomégalie (augmentation du volume de la rate). Celle-ci peut s'accompagner d'une hépatomégalie dans certain cas. En revanche, les cellules tumorales sont encore que peu envahissantes et restent confinées principalement dans la moelle. Par la suite, les cellules leucémiques pourront se déplacer et infiltrer d'autres tissus, ce qui est le signe de transformation de la maladie. Il n'y a donc pour le moment pas d'autres envahissements extra médullaires que l'hépto-splénomégalie.

En conclusion, en complément des quelques symptômes qui peuvent être retrouvés, la phase chronique se définit par un certain pourcentage de cellules immatures dans la moelle et dans le sang. Selon la classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), la phase chronique de la LMC est définie comme ci-dessous :

- < 15% de blastes dans le sang périphérique et la moelle osseuse,
- < 30% de blastes et de promyélocytes dans le sang périphérique et dans la moelle osseuse,
- < 20% de polynucléaires basophiles dans le sang périphérique,
- $\geq 100 \times 10^9/L$ (égal à $\geq 100\ 000/mm^3$) de plaquettes,
- Et pas de signe d'invasion leucémique extra-médullaire, à l'exception d'une hépato-splénomégalie.

Sans traitement elle évolue inexorablement en 3 à 5 ans vers la seconde phase de la LMC : la phase accélérée.

b. Phase accélérée (PA) ou phase d'acutisation :

La phase accélérée est une phase de transition, où les patients montrent des signes de progression mais sans avoir encore atteint le stade de leucémie aigüe. Sans traitement, elle dure en moyenne entre 6 mois et 1 an, après quoi elle se transforme en crise blastique.

Cette phase se manifeste par l'augmentation des symptômes liés à la maladie, mais toujours pas propre à la LMC, parmi lesquels on retrouve :

- Fatigue, anémie, malaise général
- Pâleur du teint
- Essoufflement
- Perte d'appétit
- Perte de poids sans régime
- Propension aux saignements et aux contusions
- Gêne du côté gauche du ventre (splénomégalie)
- Sueurs nocturnes, fièvre non expliquée
- Inconfort important lorsqu'il fait chaud

On remarque par ailleurs l'augmentation de la leucocytose et/ou thrombocytose malgré le traitement. On peut également retrouver une anémie plus importante, et même une thrombocytopenie. Du point de vue hématologique, le pourcentage de blastes et de basophiles dans le sang périphérique et dans la moelle augmente. Le pourcentage de blastes peut atteindre jusqu'à 20%. C'est la caractéristique principale de la phase dite accélérée.

Enfin, lors de cette phase, sur le caryotype (qui est effectué au moment du diagnostic pour confirmer la présence du chromosome Philadelphie évoqué auparavant), on peut découvrir d'autres anomalies cytogénétiques naissantes. On pourra notamment retrouver des trisomies 8 ou 19, des iso-chromosomies 17q ou encore des copies du chromosome Philadelphie. C'est ce que l'on appelle l'évolution clonale. [66]

De la même façon que pour la phase chronique, l'OMS a défini des critères pour affirmer la phase accélérée de la LMC :

- $\geq 15\%$ de blastes dans le sang périphérique ou dans l'aspiration de moelle, mais $< 30\%$ de blastes au total dans les deux compartiments,
- $\geq 30\%$ de blastes et promyélocytes dans le sang périphérique ou dans la moelle,
- $\geq 20\%$ de basophiles dans le sang périphérique,
- $< 100.10^9$ /litre de plaquettes,
- Et apparition d'autres anomalies cytogénétiques.

La maladie devient souvent réfractaire aux thérapies standards mise en œuvre, et donc plus difficile à contrôler. Le traitement s'intensifie et les patients sont parfois obligés d'être hospitalisés.

c. Crise blastique (CB) ou acutisation :

Cette phase ressemble à une leucémie aigüe et conduit à la mort du sujet entre 2 et 6 mois suivant l'annonce de la crise blastique. La possibilité d'obtenir une seconde phase chronique est faible et celle-ci est de courte durée. Certains patients, environ 20%, passent directement à la phase suivante sans passer par la phase accélérée, on dit que la phase blastique est « explosive ». [25]

Selon la classification OMS, la crise blastique est définie par les critères ci-dessous :

- $\geq 20\%$ blastes dans la moelle osseuse (figure 16),
- $> 30\%$ de blastes et promyélocytes dans la moelle ou dans le sang,
- Et forme tumorale extra-médullaire possible.

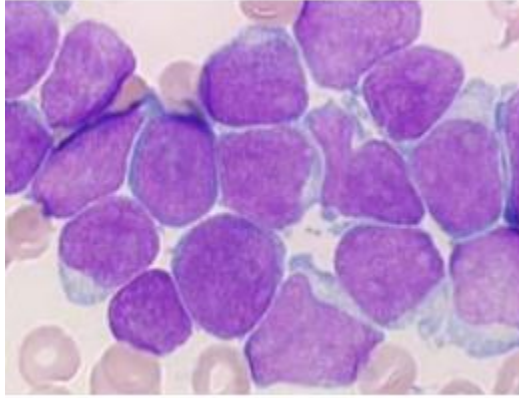


Figure 16 : Blastés prédominants sur le myélogramme d'un patient LMC en phase de Crise Blastique

Elle s'accompagne généralement d'une **majoration des signes cliniques** d'accélération (altération de l'état général, splénomégalie, anémie, thrombopénie, fibrose médullaire) et parfois d'une symptomatologie propre : fièvre, hépatomégalie, adénopathies et douleurs osseuses. Des localisations blastiques extra-médullaires peuvent également se voir, les cellules blastique forment des tumeurs, notamment dans les os ou les ganglions lymphatiques et allant voire même jusqu'à une atteinte méningée. [14] De plus, les risques d'infection et de saignement peuvent aussi être augmentés.

Les aberrations chromosomiques déjà apparues en phase chronique s'intensifient, et la variété de ces mutations est impliquée dans la progression de la maladie en crise blastique. La mutation du domaine tyrosine kinase de la protéine BCR-ABL a été retrouvée chez plus de 80% des patients. En effet, la crise blastique serait la conséquence directe d'une activité continue de BCR-ABL, probablement causée par un dommage sur l'ADN ou une détérioration de la fonction réparatrice de l'ADN due à un stress oxydatif ou des réactions avec des espèces oxygénées radicalaires (ROS) (Figure 17). [37]

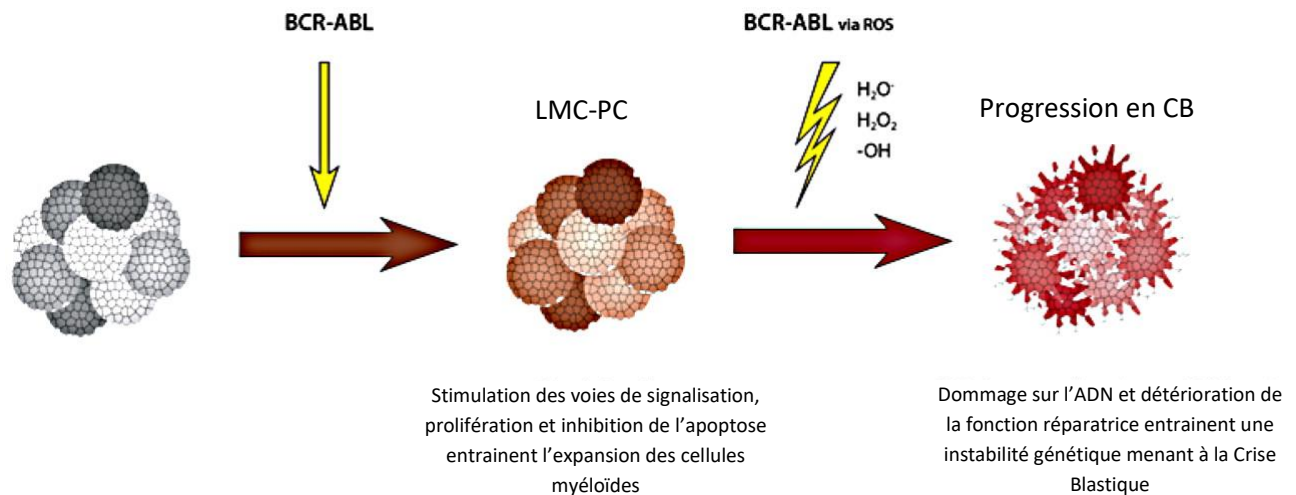


Figure 17 : Mécanisme de l'activité de BCR-ABL en crise blastique, menant à la stimulation, la prolifération et l'induction d'une instabilité génétique, des dommages sur l'ADN et une détérioration de la fonction réparatrice de l'ADN

B. Diagnostic

Le bilan diagnostic d'une Leucémie Myéloïde Chronique se fait en plusieurs étapes et à plusieurs niveaux. Il consiste premièrement à un interrogatoire du patient et à la recherche de signes cliniques. Puis en une prise de sang, avec une numération de formule sanguine (NFS), incluant un compte différentiel des globules blancs et des plaquettes. Par la suite, on évalue le pourcentage de blastes et de basophiles dans la moelle grâce à une aspiration ou une biopsie. Vient ensuite la génétique, grâce à laquelle on analyse le caryotype pour repérer le chromosome Philadelphie et valider le diagnostic de LMC. Certains patients peuvent être Ph négatif (le chromosome Philadelphie n'est pas présent), mais il existe toutefois des réarrangements du gène BCR-ABL que l'on étudiera via des analyses moléculaires comme Southern Blot ou Polymerase Chain Reaction (PCR). [25]

1. Examen clinique

Etant donné que les signes cliniques de la LMC sont assez courants et non spécifiques de la maladie, ils ne permettent pas de poser le diagnostic. Ils peuvent cependant être évocateurs et pousser le médecin à procéder aux examens spécifiques afin de poser réellement le diagnostic de LMC. Ces mêmes examens seront ensuite effectués tout au long du suivi de la maladie, pour contrôler la réponse au traitement.

Lors de l'examen clinique, le médecin procède à l'interrogatoire du patient, et il recherche les signes de splénomégalie et d'hypertrophie des ganglions lymphatiques. Dans ce cas, le médecin prescrira ensuite une prise de sang, afin de contrôler l'hémogramme.

2. Hémogramme

L'hémogramme est un examen très courant, il s'agit d'une analyse du sang avec évaluation du nombre de cellules sanguines (érythrocytes, plaquettes, globules blancs, etc.) suite à une simple prise de sang. Généralement le prélèvement se fait sur une veine au niveau du coude. Cette prise de sang peut avoir été prescrite par un médecin généraliste à la suite d'une consultation précise pour suspicion d'une maladie ou bien en routine.

Dans le cadre d'une LMC, on y retrouve une NFS perturbée, qui peut, comme déjà mentionné ci-dessus, être différente selon la phase à laquelle on découvre la maladie. Le plus souvent, le diagnostic se fait en phase chronique, très rarement en phase accélérée ou crise blastique. Pour rappel, les anomalies retrouvées à l'hémogramme sont :

- Une augmentation du nombre de globules blancs (surtout des granulocytes neutrophiles, mais également des granulocytes basophiles et éosinophiles),
- Une myélémie (présence de cellules immatures dans le sang),
- Et une augmentation du nombre de plaquettes.

Les caractéristiques de la NFS sont très évocatrices de la maladie mais ne permettent en aucun cas de poser le diagnostic définitif de la maladie.

3. Myélogramme

Le myélogramme n'est pas absolument nécessaire au diagnostic de la maladie. Il permet cependant de confirmer la phase de la maladie. Un échantillon de moelle osseuse est prélevé, étalé sur une lame (c'est ce que l'on appelle un frottis), puis il est coloré et analysé à l'aide d'un microscope. Chez un patient atteint de LMC, le myélogramme montre une moelle riche, avec un excès de globules blancs de type granuleux.

Une biopsie ostéo-médullaire peut aussi être effectuée, mais surtout dans le cadre d'une éventuelle greffe de moelle. Elle montre une hyperplasie du tissu hématopoïétique, comblant la totalité des espaces médullaires, avec disparition des cellules adipeuses. On pourra également voir l'apparition d'une fibrose, signe d'accélération de la maladie.

Par ailleurs, le prélèvement de moelle réalisé pour le myélogramme sert également à la réalisation de l'examen suivant, qui lui est indispensable à l'établissement du diagnostic final : le caryotype.

4. Cytogénétique

Le but de la cytogénétique est de rechercher le chromosome Philadelphie sur un caryotype. La présence du gène de fusion BCR-ABL est le critère fondamental dans la pose du diagnostic de LMC.

a. Caryotype : Recherche du chromosome Ph

Le caryotype reste l'examen de référence, il est obligatoire au diagnostic et au suivi des patients. Il est donc prélevé à partir de la moelle osseuse (souvent le même prélèvement que pour le myélogramme). Les cellules sont ensuite mises en culture, puis bloquées à un stade précis de la division cellulaire (la métaphase), ce qui permet de visualiser les chromosomes (figure 18). L'examen standard nécessite l'analyse d'au moins 30 cellules en division (mitose). Il affirme la présence du chromosome Philadelphie ou de ses variants (présent chez plus de 95% des patients), et permet même de mettre en évidence d'éventuelles anomalies chromosomiques additionnelles (déjà présentes au diagnostic pour 5 à 10% des cas).

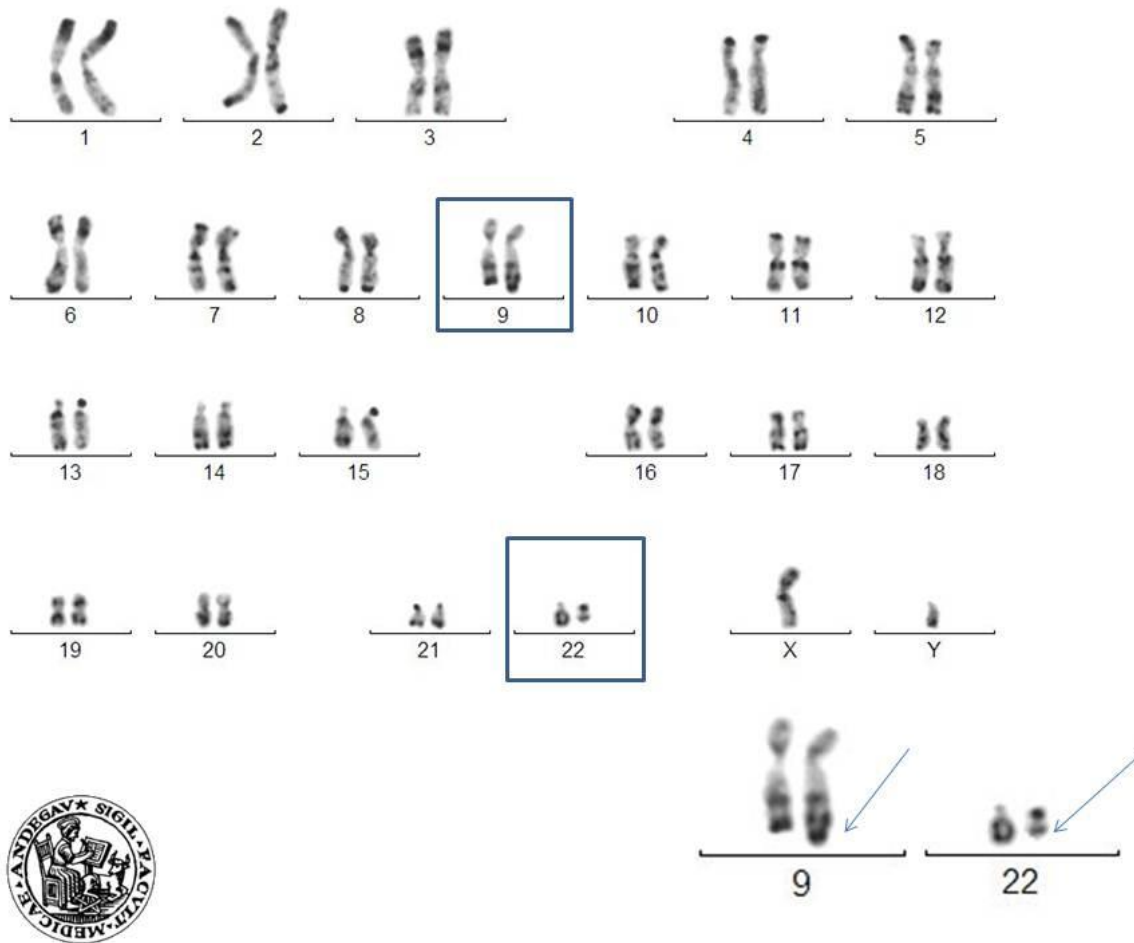


Figure 18 : Caryotype d'un patient atteint de LMC : on identifie la translocation t(9-22), avec un chromosome 22 raccourci (chromosome Philadelphie) et un chromosome 9 allongé.

Le caryotype est un examen complexe et long à réaliser, le résultat n'est obtenu qu'après 2 ou 3 semaines.

b. FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) : Recherche du gène de fusion BCR-ABL

L'hybridation In Situ n'est encore utilisée que si le chromosome Philadelphie n'a pas été retrouvé sur le caryotype. Elle peut être réalisée à partir du sang ou de la moelle osseuse. Cet examen permet de révéler le réarrangement BCR-ABL par le gène de fusion. Les cellules prélevées sont fixées sur une lame et plongées dans une solution contenant des marqueurs qui se lient

spécifiquement aux gènes BCR et ABL. Les fixations sont révélées par des marqueurs fluorescents : rouge pour la sonde ABL et vert pour la sonde BCR. La FISH permet d'analyser en moyenne 100 à 500 cellules et est plus sensible que le caryotype conventionnel. Les résultats sont obtenus en 1 à 2 jours. Dans une cellule, deux spots rouges et deux spots verts sont clairement visible. En cas de réarrangement BCR-ABL, les deux spots se superposent et donnent un signal jaune (figure 19).

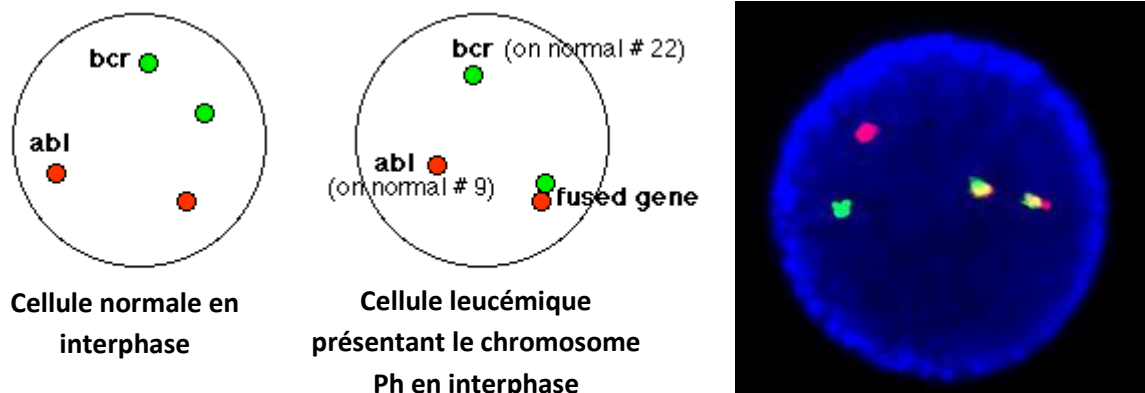


Figure 19 : Méthode FISH : mise en évidence du réarrangement chromosomique BCR-ABL : deux points jaunes sont visibles sur la photo, résultat de la superposition des gène BCR et ABL sur le chromosome Philadelphie (versus les témoins rouge et vert).

Même si ces examens sont indispensables, la présence de la translocation BCR-ABL dans les cellules souches hématopoïétiques n'est pas en soi suffisante à causer une LMC, car les transcrits de fusion BCR-ABL de type m-BCR et M-BCR peuvent être retrouvés en faible quantité dans le sang d'individus sains. [20]

5. Analyse moléculaire

L'analyse moléculaire permet de détecter les réarrangements de BCR-ABL. Elle est plus rapide et plus précise que la cytogénétique pour confirmer le diagnostic. En effet, pour environ 10% de patients atteints de LMC, l'analyse cytogénétique ne révèle pas le chromosome Ph, alors que le réarrangement sera visible à l'analyse moléculaire pour plus de la moitié d'entre eux. [25] Plusieurs analyses existent et offrent des approches différentes les unes des autres. La PCR génomique et Southern Blot permettent de déterminer les points exacts de cassure des gènes de fusion BCR et ABL. La *Reverse Transcription* PCR (RT-PCR) et le Northern Blot, elles, détectent le transcrit au niveau de l'ARN. Enfin, le Western Blot démontre la présence de la protéine p210 BCR-ABL en utilisant des anticorps monoclonaux anti BCR et ABL. [25]

La RQ-PCR (Reverse transcription Quantitative Polymerase Chain Reaction)

C'est l'analyse qui est la plus utilisée dans le cadre de la Leucémie Myéloïde Chronique car elle permet de mesurer la quantité de transcrite BCR-ABL. Elle est effectuée à partir du sang. Cette méthode consiste à amplifier et révéler spécifiquement la région de l'ADN correspondant aux gènes mutés à partir de molécules extraites des globules blancs. L'ARN messager (qui est produit à partir de l'ADN) est extrait des leucocytes et transformé en ADN complémentaire. L'ADN complémentaire est alors amplifié par PCR à l'aide de la Taq Polymérase (enzyme polymérase impliquée dans la duplication de l'ADN) et d'« amorces » qui se lient spécifiquement aux séquences des gènes BCR et ABL.

Cette analyse RQ-PCR, grâce à sa sensibilité et sa rapidité, est indispensable à plusieurs étapes de la maladie, qui seront revus ultérieurement dans la partie II de ce travail, comme :

- Avant d'instaurer un traitement
- Et pour suivre la réponse des patients au traitement.

En effet, notamment lorsque le chromosome Philadelphie n'est plus retrouvé sur le caryotype, ce test révèle s'il subsiste des traces infimes de maladies (des taux de transcrite BCR-ABL très petits), que l'on appelle la maladie résiduelle.

C. Evaluation du pronostic

Une fois le diagnostic de LMC posé, on définit un score pronostic, propre à chaque patient, qui aide le médecin à décider de la meilleure stratégie thérapeutique à adopter. Même en considérant les patients étant dans une même phase de la maladie, les caractéristiques seront très différentes. Par exemple, certains patients en phase chronique, traités par un traitement conventionnel peuvent rester en phase chronique pendant une très longue période, tandis que d'autres peuvent décéder en quelques mois. Certaines caractéristiques cliniques relatives au malade, à la maladie ou encore à la réponse au traitement ont été identifiées comme facteurs pronostiques. Ces facteurs ont été incorporés dans un système de score, qui permet de classer les patients en différentes catégories, avec des pronostics différents. [14]

Plusieurs modèles de score ont été développés pour classer les patients selon des groupes de risque à pronostic différents. Parmi tous, celui qui est le plus utilisé à l'heure actuelle est celui proposé par Sokal et al., bien que créée en 1984 alors que les thérapies existantes étaient encore le Busulfan et l'Hydroxyurée. [86]

1. Score sokal

Cette classification a été établie selon les caractéristiques cliniques et biologiques de plus de 800 patients en phase chronique.

Un calcul logarithmique complexe à partir de 4 facteurs pronostiques indépendants (l'âge, la taille de la rate, le pourcentage de blastes sanguins et le nombre de plaquettes), permet pour chaque malade, d'avoir une valeur appelée indice de Sokal. [54]

$$\text{Indice de Sokal} = \exp \{0,0116 (\text{age} - 43,4) + 0,0345 (\text{rate} - 7,51) + 0,188 [(\text{plaquettes}/700) \times 2 - 0,563] + 0,0887 (\text{blastés} - 2,1)\}$$

Cet indice permet de diviser les patients en 3 catégories, avec des taux de survie à 4 ans différents :

- Bas risque (62% de survie à 4 ans)
- Risque intermédiaire (43% de survie à 4 ans)
- Haut risque (seulement 33% de survie à 4 ans)

Ce score a été légèrement modifié par la suite pour les patients âgés de moins de 45 ans. [14] Le calcul de ce score est indispensable au diagnostic, comme reflet de la masse tumoral et du potentiel évolutif.

2. Autres scores

Le score Européen de Hasford, a été établi un peu plus tard, en 1998, suite à la démonstration que le score de Sokal n'était pas adapté aux patients traités par interféron. [34] Par conséquent, 1303 patients, tous traités par interféron, ont été étudiés, et un nouvel indice a été créé. Il est appelé indice de Hasford ou Euroscore. [54]

La formule utilisée est la suivante :

$$\text{Indice} = [(0,6666 \text{ âge}) + (0,0420 \text{ rate}) + (0,0584 \text{ blastés}) + (0,0413 \text{ éosinophiles}) + (0,2039 \text{ basophiles}) + (1,0956 \text{ plaquettes})] \times 1\ 000$$

On obtient une nouvelle fois 3 groupes distincts, bas risque, risque intermédiaire et haut risque, avec respectivement des survies à 5 ans de 76%, 55% et 25%. [14]

Enfin, il existe un autre score : **le score de Gratwohl** (tableau III). Il se calcule en cas d'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques, lorsqu'un donneur est identifié. Validé chez un grand nombre de patients, il tient compte du donneur de cellules souches, du stade évolutif de la LMC, de l'âge du patient, du sexe du donneur et du receveur et de l'intervalle entre le diagnostic et la greffe. [6] Il permet d'évaluer le risque de complications graves et de prédire le taux de mortalité lié à la greffe. Sept cotes ont été ainsi établies de 0 à 6, sachant que 0 représente le pronostic le plus favorable.

Tableau III : Détail du score de Gratwohl à calculer en cas de greffe de cellules souches

Type de greffe	0	Donneur familial HLA identique
	1	Greffe non familiale
Stade de la maladie	0	1 ^{ère} phase chronique
	1	Phase accélérée
	2	Phase blastique
Age du receveur	0	Moins de 20 ans
	1	20-40 ans
	2	Plus de 40 ans
Sexe donneur/receveur	0	Tous types de combinaison
	1	Si receveur mâle et donneur femelle
Délai Diagnostic - Greffe	0	Si moins de 12 mois
	1	12 mois et plus

Par ailleurs, plusieurs facteurs ont été associés avec un pronostic défavorable, comme l'évolution clonale, plus de 50% de blastes, un niveau élevé de plaquettes, une durée de la phase chronique courte, et le caractère extra médullaire de la maladie. Le prédicteur le plus important pour un mauvais pronostic et la réponse insatisfaisante à la première ligne de traitement. [37]

II. Les traitements de la LMC

A. Choix du traitement

Le choix des traitements à utiliser pour traiter la LMC a considérablement évolué dans le temps, et ce grâce à l'apparition de nouvelles techniques de prise en charge des patients et des découvertes thérapeutiques.

Pour rappel, en 1960, Peter Nowell et David Hungerford, ont démontrés la présence d'un petit chromosome anormal, le chromosome Philadelphie. C'est la première fois que l'on prouve qu'une altération du génome peut provoquer un cancer. C'est Janet Rowley, treize ans plus tard, en 1973, qui prouva ensuite l'implication de la translocation $t(9;22) - (q34;q11)$.

En 1983, on démontra que la translocation provoquait la fusion du gène tyrosine kinase d'ABL du chromosome 22, et en 1986, la protéine BCR-ABL fut découverte. En dehors de la greffe de moelle allogénique détaillée ci-après, la LMC a longtemps été une pathologie sans traitement curatif, la chimiothérapie, également détaillée après, n'étant qu'à visée symptomatique.

Enfin ce n'est qu'en 1990 que la protéine de fusion BCR-ABL a été caractérisée par une activité tyrosine kinase causant une prolifération des cellules hématopoïétiques et donc le début de la LMC. Cette même année 1990, le laboratoire pharmaceutique Suisse Novartis développe un inhibiteur ciblé de BCR-ABL et débute les essais cliniques.

En 2001, l'Imatinib (Glivec[®]) obtient son autorisation de mise sur le marché (AMM). C'est la première molécule ciblée contre le cancer qui obtient l'AMM, et ce avec un record de rapidité. Les inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK) de seconde génération verront le jour à partir des années 2006 (Dasatinib/Sprycel[®]) et 2007 (Nilotinib/Tasigna[®]).

De cette évolution découle l'évolution des recommandations et des traitements de référence. Cependant, pour pouvoir les comparer, il faut tout d'abord définir les critères de réponse hématologique et cytogénétique, qui seront les comparateurs. Par ailleurs, la présence d'un marqueur moléculaire (le transcrite BCR-ABL) a rendu cette évaluation plus facile. [54]

1. Objectif du traitement

Le principal objectif d'un traitement de la LMC est d'obtenir une réponse complète, c'est-à-dire une disparition complète des signes de la maladie. Pour qu'un traitement soit efficace, et plus efficace qu'un concurrent ou qu'une autre méthode, il doit entraîner successivement plusieurs étapes.

Tout d'abord, le premier stade à atteindre est la **réponse** (ou rémission) **hématologique**. Ce stade est atteint lorsque :

- Les taux de globules blancs, de globules rouges et de plaquettes dans le sang sont revenus à la normale (dans les valeurs de référence)
- La myélémie a disparue.

Pour cela, un simple hémogramme sur frottis sanguin suffit à déclarer l'obtention d'une rémission hématologique, et dans ce cas l'hémogramme sera normal. Par ailleurs lorsque cette réponse est atteinte, il n'y a plus de symptômes cliniques, et notamment la rate a retrouvé sa taille normale.

L'étape suivante vers la réponse complète est la **réponse** (ou rémission) **cytogénétique**. Pour l'atteindre, il faut que le chromosome Philadelphie ne soit plus détectable à l'analyse génétique sur les cellules en métaphase. Pour cela, un caryotype médullaire est nécessaire (au début, lorsqu'il y a myélémie, une évaluation sur les blastes circulant est possible). Plusieurs degrés de réponse sont possibles :

- Réponse minimale : entre 35 et 90% de mitoses portent le chromosome Ph+,
- Réponse partielle : entre 1% et 35% de mitoses Ph+,
- Réponse complète : 0% de mitose Ph+ c'est-à-dire aucun chromosome Philadelphie détectable.

Cette étape a été pendant longtemps l'objectif principal du traitement. Bonifaci et Al, déjà en 2001, prouvaient que l'obtention d'une RCC (Réponse cytogénétique complète) est associée à une prolongation significative de la survie. [5]

A l'heure actuelle, avec les progrès de la biologie moléculaire, la RT-PCR détaillée au paragraphe précédent, nous permet maintenant de définir des critères de **réponses moléculaires**, plus précis, plus stricts et surtout plus précoces. C'est une mesure quantitative du transcrite BCR-ABL par rapport à un gène témoin, on obtient de façon très sensible le taux de maladie résiduelle. C'est souvent ABL qui fait office de gène comparateur et la quantité de transcrite BCR-ABL est donc évaluée selon le ratio BCR-ABL/ABL. [41] Le développement d'une échelle internationale standardisée pour les résultats de RQ-PCR a permis de lier les réponses moléculaires aux taux de transcrite BCR-ABL comparés à une baseline.

Si on dit que le taux initial est 10^{12} cellules leucémiques, on définit le ratio BCR-ABL/ABL égal à 100%. La notion de réponse dite majeure (Réponse Moléculaire Majeure ou RMM) est une diminution d'au moins 3 log par rapport au taux initial (10^9), et le ratio BCR-ABL/ABL est égal à 0,1%. [58] Cette définition provient de l'étude IRIS (International Randomized Study of Interferon Versus STI571), qui sera détaillée plus loin. [42]

L'objectif d'il y a quelques années était l'obtention de la réponse moléculaire majeure (RMM) qui n'était atteinte que par une faible proportion de patients. Avec l'arrivée des nouveaux traitements, de plus en plus de patients atteignent ce niveau de réponse et peuvent même atteindre des réponses encore plus profondes. De plus, et nous en reparlerons dans la partie III, la nouvelle

évolution va vers les possibilités d'arrêt de traitement, si des réponses extrêmement profondes sont atteintes. Il était donc devenu critique d'évaluer de manière standardisée les réponses moléculaires profondes. [17] Grâce à l'échelle internationale, ces niveaux ont pu être définis, comme par exemple :

- MR4 (ou réponse moléculaire 4) indique une réduction du transcrite de 4 log, soit un ratio du transcrite BCR-ABL/ABL inférieur ou égal à 0,01%,
- MR4,5 (ou réponse moléculaire 4,5) indique une réduction du transcrite de 4,5 log, soit un ratio du transcrite inférieur ou égal à 0,0032%,
- Ou encore MR5 (réponse moléculaire 5) qui indique une réduction du transcrite de 5 log et donne un ratio BCR-ABL/ABL inférieur ou égal à 0,001%.
- Enfin, maladie résiduelle indétectable au niveau moléculaire : c'est ce que l'on cherche à atteindre, le transcrite du gène BCR-ABL n'est plus du tout détectable dans le sang ou dans la moelle osseuse.

Le schéma (figure 20) ci-dessous reprend ces différentes notions.

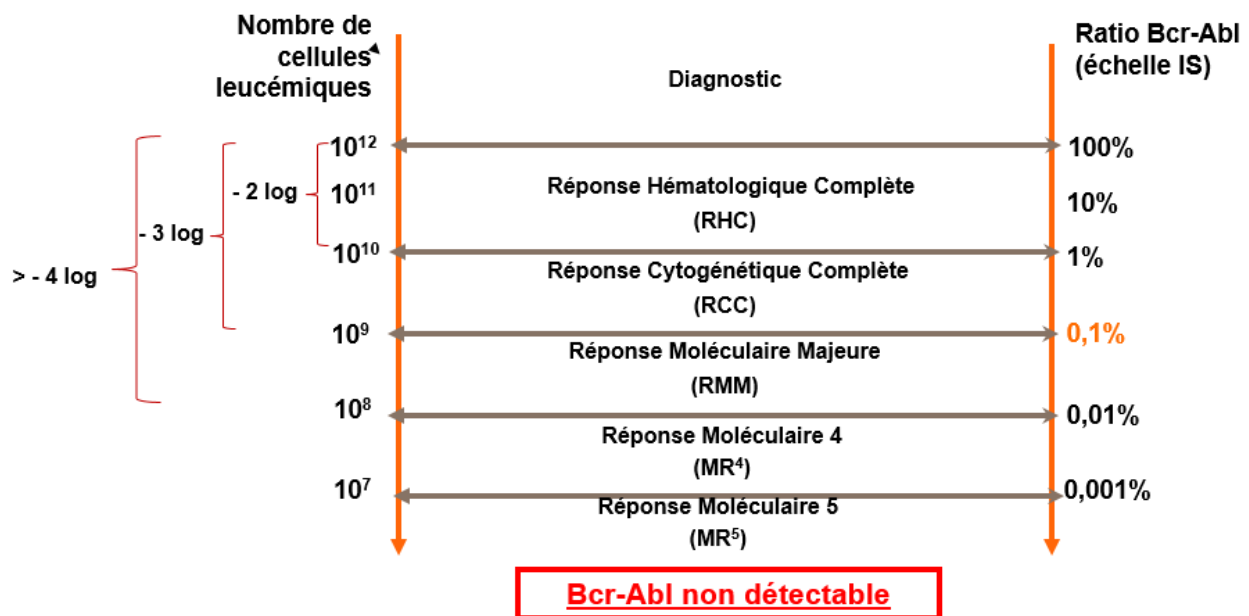


Figure 20 : Relation approximative entre les différentes réponses, le nombre de cellules leucémiques et le taux de transcrite BCR-ABL. Une réponse moléculaire majeure (RMM) correspond par exemple à un ratio BCR-ABL/ABL égal à 0,1%. On tend vers des réponses moléculaire RM4, RM5 donc des taux de transcrite BCR-ABL/ABL les plus bas possible de l'ordre de 0,001%, voire même indétectable selon la sensibilité des machines actuelles.

Cependant, l'observation d'un transcrite indétectable est nécessairement liée à la sensibilité de la méthode de PCR utilisée et au gène témoin utilisé. Une collaboration actuelle nommée European Treatment and Outcome Study (EUTOS) a pour but de faciliter la standardisation des réponses auprès de tous les laboratoires concernés et d'établir des recommandations. Ceci se fait grâce à des

laboratoires agréés dit EUTOS, au niveau national et international qui donnent des coefficients à chaque laboratoire pour coller à l'échelle internationale. [58]

2. Les différents traitements possibles

Comme expliqué ci-dessus, les traitements ont considérablement évolués selon la connaissance de la maladie et les découvertes thérapeutiques.

i. Chimiothérapies (Busulfan, Hydroxyurée)

La chimiothérapie, a été le premier traitement utilisé pour traiter cette maladie (après la splénectomie qui était pratiquée jusqu'alors). La première molécule est le Busulfan, elle a été introduite dans les années 1950 et était utilisée à la dose de 0,1mg/kg/jour. Grâce à ce traitement, entre 23 et 54% des patients pouvaient obtenir une réponse hématologique complète, mais seulement un très petit nombre de cas (environ 1%) atteignaient la réponse cytogénétique majeure. Du fait également de ces effets secondaires très importants (i.e. aplasies médullaire, fibroses pulmonaire, cas de stérilités mais aussi pigmentations cutanées et cataractes), cette molécule a été assez rapidement abandonnée au profit de l'Hydroxyurée (Hydrea®) dans les années 1970. [25, 54]

L'Hydrea® (ou Hydroxyurée) est un inhibiteur de la ribonuléotide réductase et diminue donc la synthèse de l'ADN. Elle est prescrite à la dose de 40 mg/kg/jour et permet l'obtention de réponse hématologique complète chez 39 à 53% des patients. L'efficacité n'est pas très supérieure à son prédécesseur le Busulfan, mais les effets indésirables sont beaucoup moins sévères (i.e. macrocytose, atrophie cutanée (ulcère), et sensibilisation). [54]

Aucune de ces deux molécules ne permet l'obtention de la réponse cytogénétique complète. La chimiothérapie n'est aujourd'hui plus proposée qu'en complément d'autres traitements. Elle permet de faire chuter le taux de globules blancs dans le sang très rapidement et peut donc être utilisée en thérapeutique d'urgence. Elle n'a cependant pas d'impact sur le pronostic vital du patient et ne ralentit pas la progression de la leucémie myéloïde chronique.

ii. Greffes de moelle osseuse

Le contexte :

La greffe de moelle osseuse est le second traitement apparu pour traiter la leucémie myéloïde chronique, maladie des cellules souches hématopoïétiques. Il s'agit cette fois d'un espoir de guérison et non plus juste un traitement symptomatique. C'est le seul traitement curatif existant encore à l'heure actuelle. L'inconvénient de cette thérapie est que pour pouvoir effectuer la greffe, il faut tout d'abord trouver un donneur ayant une bonne compatibilité tissulaire avec le patient recevant la greffe, et que les risques de mortalité sont assez élevés. Pour l'histoire, la toute première greffe a été effectuée en 1975 en France, et 12 patients au total ont été traités entre 1975 et 1979. En juin 2014, 3 de ces 12 patients ont été recensés vivants, plus de 35 ans après leur greffe. [31]

Les pré-requis :

Avant de procéder à une greffe, il faut donc en premier trouver un donneur compatible. La recherche dans la fratrie est normalement systématique surtout chez les sujets jeunes de moins de 50 ans. Avant l'apparition des inhibiteurs de tyrosine kinase, la greffe allogénique était proposée à tout patient atteint de LMC ayant un donneur géno-identique (soit environ 15% des patients). [6] Deux types de donneurs existent :

- Donneur apparenté (intra-familial)
- Donneur non-apparenté (hors famille, via des fichiers de donneurs volontaires européens)

Le tissu qui sera donné est principalement des cellules souches mais cela peut également provenir de cellules sanguines (de plus en plus utilisé aujourd'hui) ou encore via les cellules du sang du cordon ombilical. Malheureusement, seul 15 à 20% des patients atteints de LMC sont candidats pour des greffes de moelle, dû à l'âge et à la faible probabilité de trouver un donneur apparenté. Grâce aux registres ce pourcentage a pu être augmenté jusqu'à 30%, permettant de rapprocher des donneurs non apparentés compatibles. Les résultats des allogreffes géno-identiques réalisées en phase chronique au moment du diagnostic montre un taux de survie sans récurrence à 5 ans d'environ 50%. [54] Cependant, il faut savoir tout de même que le taux de survie suite à une greffe avec un donneur non apparenté est significativement inférieur à celle avec un donneur apparenté. [26]

Les indications de la greffe :

La greffe peut être proposée en 1ère intention chez des patients très jeunes (moins de 20 ans), ayant un donneur HLA identique (Antigène des Leucocyte Humain) dans la fratrie ou HLA compatible non apparenté (avec un score de Gratwohl de 0 ou 1). On peut aussi la proposer à des patients moins jeunes (mais de moins de 50 ans), en seconde intention en cas d'échec des traitements pharmacologiques ou d'intolérance à ces traitements, mais à condition qu'existe un

donneur HLA identique dans la fratrie ou un donneur HLA compatible non apparenté. Cette recommandation doit tout de même être reconsidérée au cas par cas, en évaluant le rapport bénéfice risque de la procédure. En effet, la transplantation a pour objectif d'éradiquer la maladie mais au prix d'une mortalité liée à la greffe dans les deux premières années de 15 à 20%. [6]

Actuellement la greffe est encore recommandée en 2^{ème} ou 3^{ème} ligne de traitement pour des patients en 1^{ère} phase chronique ou à un stade très avancé de la maladie. En conséquence, le nombre de greffe de moelle a considérablement diminué avec l'apparition des inhibiteurs de tyrosine kinase. [31]

iii. Interféron

Protéines présentes à l'état naturel dans le corps humain, les interférons jouent un rôle dans la réponse immunitaire de l'organisme. Ils agissent en se liant aux récepteurs de surface de la cellule et modifient les signaux des voies de signalisation intracellulaire. Par conséquent, ils modulent l'expression des gènes, concernant la prolifération cellulaire, l'activation des macrophages et la régulation de la traduction et transcription. Reproduit en laboratoire, l'interféron-alpha permet de contrôler la prolifération des cellules cancéreuses et permet aux taux sanguins de globules blancs, globules rouges et plaquettes de revenir à la normale. [25] Il a été introduit au début des années 1980 mais il n'a pas immédiatement fait l'unanimité. Il a fallu attendre plusieurs études randomisées et notamment celle de Talpaz et al en 1983 pour vraiment prouver son efficacité dans la LMC. [88]

La grande capacité de ce traitement est d'induire des réponses cytogénétiques, qui a été prouvé lors de nombreuses études. En moyenne entre 10 et 15% des patients traités par INF- α ont obtenus une réponse cytogénétique complète et durable, avec une survie médiane de 60 à 65 mois [54], soit un résultat bien meilleur qu'avec l'Hydroxyurée.

L'interféron est donné seul, théoriquement à la dose de 5 MU/m²/jour. En pratique, étant donné les nombreux effets indésirables retrouvés, la dose est souvent réduite et c'est la principale raison de l'arrêt du traitement. Parmi ses effets secondaires on peut trouver fréquemment un état pseudo-grippal, un syndrome dépressif avec fatigue, insomnie et perte de poids, mais il existe également des manifestations immunologiques classiques comme par exemple hémolyse, thrombopénie, collagénose, hypothyroïdie ou encore une atteinte rénale. Plus rarement, il peut y avoir des effets cardiaques, notamment des cardiomyopathies, ainsi que des troubles hépatiques ou cytolyses et même des effets neurologiques conduisant à l'arrêt du traitement. [54]

Certains laboratoires pharmaceutiques ont développé la forme retard de l'interféron en le combinant avec de polyéthylène glycol (PEG), qui permet une administration moins fréquente (seulement une fois par semaine), mais l'efficacité et les effets secondaires ne sont pas bien définis.

Par ailleurs, une étude multicentrique française [32] publiée en 1997, a montré que la survie des patients traités par interféron alpha plus cytarabine était meilleure qu'avec uniquement de l'interféron alpha. [30]

La figure 21 ci-dessous résume les traitements disponibles avant l'apparition de l'Imatinib et les médianes de survies relatives à ces traitements.

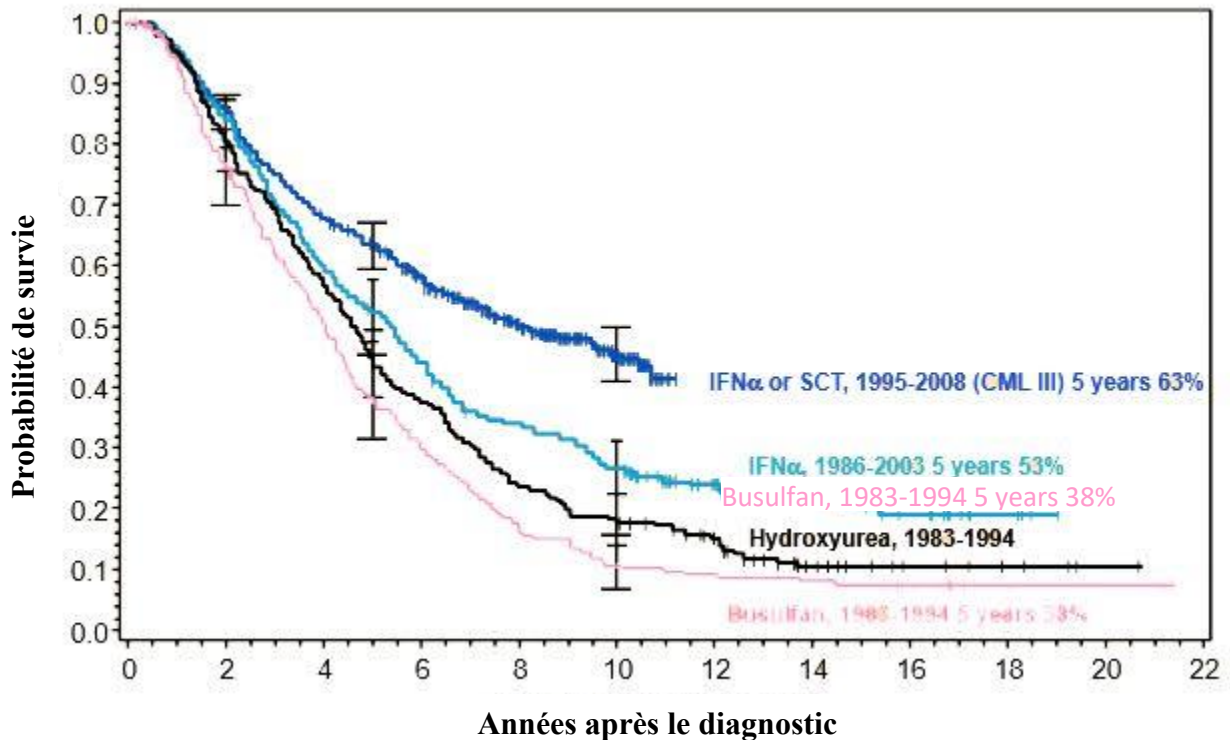


Figure 21 : synthèse des médians de survies avec différents traitements chez les patients atteints de LMC lors de l'ère pré-Imatinib. L'interféron montre sa supériorité par rapport aux chimiothérapies qui étaient proposées jusqu'alors. [35]

L'arrivée de nouveaux traitements et notamment des inhibiteurs de tyrosine kinase a modifié l'utilisation de l'interféron-alpha dans la LMC. Ce traitement n'est désormais plus utilisé que lorsqu'il n'est pas possible de recourir aux inhibiteurs de tyrosine kinase ou lorsque ceux-ci se révèlent inefficaces.

iv. Les nouvelles molécules : Inhibiteurs de multi-kinase

Les protéines tyrosine kinases sont une famille de protéine jouant un rôle très important dans le développement cancéreux. Les protéines kinases sont un des composants des signaux des voies de signalisation et jouent un rôle central dans divers processus biologiques comme la prolifération cellulaire, le métabolisme, la différenciation ou encore l'apoptose. Par conséquence,

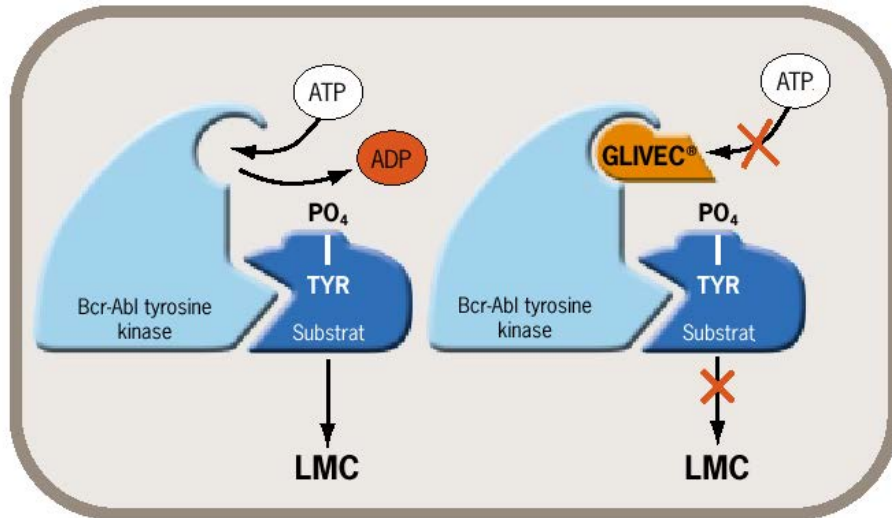
le développement de molécules pouvant bloquer ou moduler sélectivement une de ces protéines kinases et donc agir sur les voies de signalisation impliquées dans différentes maladies est une approche très prometteuse. Il existe deux types de protéines tyrosine-kinases : celles qui se fixent directement à la protéine (non associé à un récepteur) et celles qui nécessitent la fixation d'un ligand sur le récepteur (associé à un récepteur). Ce qui nous intéresse dans le cadre de la LMC sont les tyrosine-kinases non associées à un récepteur. Il en existe 9 familles, qui sont les suivantes : ABL, Src, Tec, CSK, FAK, SYK, JaK, TnK and Fes. Du fait de leur dérèglement connus dans certains types de cancers, les protéines suivantes ont été parmi les premières cibles de recherche : BCR-ABL, EGFR, HER2 et PKC (protéine kinase C). [21]

Dans le cas de la LMC, des études *in vitro* et *in vivo* ont réussi à démontrer que la seule présence de la protéine de fusion BCR-ABL, est suffisante pour provoquer la maladie et par ailleurs, des études moléculaires ont permis d'établir que la protéine kinase associée était, elle, responsable de l'activité oncogène. C'est pourquoi la recherche d'un inhibiteur pour cette tyrosine kinase en particulier s'est développé rapidement et a permis de trouver des traitements sélectifs et efficaces. [22]

B. Inhibiteurs de Tyrosine Kinase (Imatinib, Nilotinib, Dasatinib, Bosutinib, Ponatinib)

1. Première Génération : Imatinib

Le premier inhibiteur de tyrosine kinase qui a été développé et amené sur le marché est l'Imatinib ou Glivec® ou STI571 ou encore 4-[(4-méthyl-1-piperaziny)méthyl]-N-[4-méthyl-3-[[4-(3-pyridinyl)-2-pyrimidinyl]amino]phényl]benzamide méthanesulfonate ou plus rapidement Imatinib mésylate. Cette molécule a été développée par le laboratoire Suisse Novartis au tout début des années 2000. Elle a d'abord été synthétisée après qu'un composant inhibiteur de tyrosine kinase ait été identifié *in vitro* et que son activité ait été optimisée pour être spécifique aux tyrosines kinases voulues. L'Imatinib fonctionne en bloquant le site de liaison à l'ATP de l'enzyme tyrosine kinase BCR-ABL, empêchant donc la phosphorylation et donc l'activation et la transduction du signal.



Mode d'action de Glivec®

Figure 22 : Figure 22 : Mode d'action du Glivec : fixation à la tyrosine kinase BCR-ABL au niveau du site de liaison à l'ATP, empêchant l'activation de la protéine et la transduction du signal.

Il a une grande affinité pour BCR-ABL, mais également le PDGFR (Récepteur au facteur de croissance plaquettaire), et les protéines tyrosine kinases c-kit. La molécule va donc inhiber le développement et provoquer l'apoptose des cellules exprimant le gène BCR-ABL mais n'affectera pas les cellules normales. [22]

Une fois les tests pré-cliniques effectués, et les essais de phase I et II, en 2000, Novartis a lancé une grande étude internationale de phase III appelée IRIS (International Randomised Study of Interferon and STI571), afin de démontrer l'efficacité de l'Imatinib et surtout sa supériorité par rapport à l'interféron, qui était le traitement de référence à l'époque. Au cours de cette étude, 1106 patients nouvellement diagnostiqués ont été randomisés, pour recevoir :

- soit 400 mg d'Imatinib par jour (c'est la dose qui a été retenue suite aux essais de phase I et II),
- soit de l'interféron alpha (5 million d'unité par mètre carré par jour) plus chaque mois des cycles de 10 jours de cytarabine à 20mg par mètre carré par jour.

Les patients pouvaient être inclus s'ils avaient entre 18 et 70 ans, étaient porteur d'une leucémie myéloïde chronique diagnostiquée depuis moins de 6 mois et n'avaient reçu aucun traitement à l'exception d'Hydroxyurée pour la cyto-réduction.

Tous les patients ont été suivis pendant 18 mois, et l'étude s'est terminée en juillet 2002. Au total, 553 patients ont reçu de l'Imatinib et 553 ont reçu de l'interféron plus cytarabine. Plus de 75% des patients sous Imatinib ont obtenus une réponse cytogénétique complète (contre seulement 15% dans le groupe interféron) et plus de 95% étaient toujours en vie au bout des 18 mois de suivi. [13]

	Imatinib (N=553)	Interferon Alfa plus Cytarabine (N=553)
Complete hematologic	95.3 (93.2–96.9)	55.5 (51.3–59.7)†
Major cytogenetic	85.2 (81.9–88.0)	22.1 (18.7–25.8)†
Complete cytogenetic	73.8 (69.9–77.4)	8.5 (6.3–11.1)†
Partial cytogenetic	11.4 (8.9–14.3)	13.6 (10.8–16.7)

Figure 23 : Résultat de l'étude IRIS (comparaison Imatinib vs Interféron + cytarabine), avec la réponse complète correspondant à 0% de cellules Ph+ en métaphase et la réponse partielle correspondant à un % compris entre 1 et 35% des cellules présentant Ph+. On y remarque la supériorité nette de l'Imatinib. [65]

De plus, le temps pour atteindre la réponse cytogénétique majeure (soit complète soit partielle), est également significativement inférieure avec l'Imatinib. Sur la courbe ci-dessous, extraite des résultats de l'étude IRIS, on remarque qu'au bout de 12 mois de traitement, déjà 84,4% des patients sous Imatinib ont déjà atteint la réponse cytogénétique majeure contre seulement 30,3% chez les patients traités par la combinaison des deux autres thérapies. Au bout des 18 mois, on retrouve les chiffres que l'on connaît déjà : 87,1% pour le groupe Imatinib et 34,5% pour l'autre groupe.

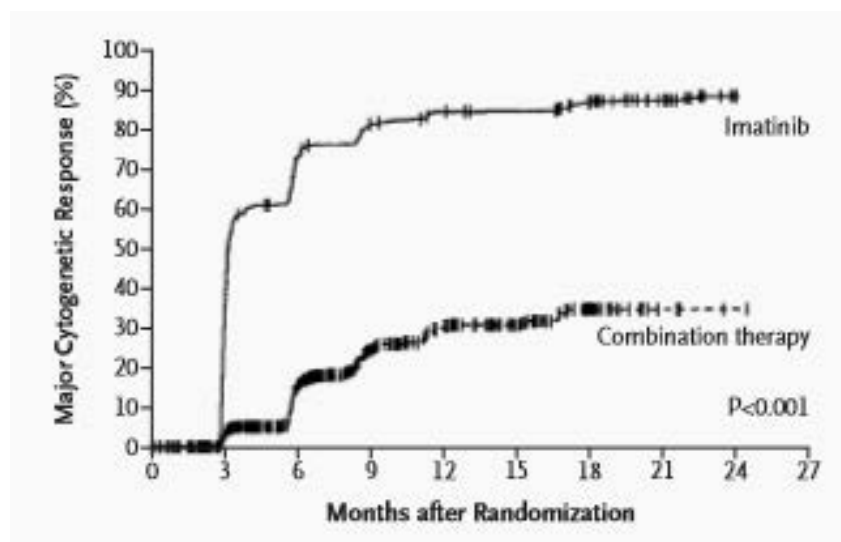


Figure 24 : Courbe de la vitesse d'obtention de la réponse cytogénétique majeure selon l'étude IRIS : L'Imatinib permet une obtention plus rapide que l'interféron plus cytarabine.

Par ailleurs, du point de vue sécurité, l'Imatinib a été mieux toléré que la combinaison des deux autres traitements. Les effets indésirables sont parfois contraignant car ils impactent la vie courante mais sont peu graves. Les plus souvent rencontrés avec l'Imatinib ont été les suivants : des œdèmes chez plus de 50% des patients (surtout des paupières et périorbitaires), des nausées ou vomissements (43,5%), des crampes musculaires (38,3%) et des rash cutanés (36,5%). Du point de vue hématologique, les effets secondaires qui ont été recensés sont l'anémie (chez 44,6% des patients), la neutropénie (60,8%) et la thrombocytopénie (56,6%). [65]

La différence est donc significative et suffit largement à prouver la supériorité de l'Imatinib comparée aux autres thérapies existantes. Le schéma ci-dessous récapitule les médianes de survie des patients en fonction de leur thérapie.

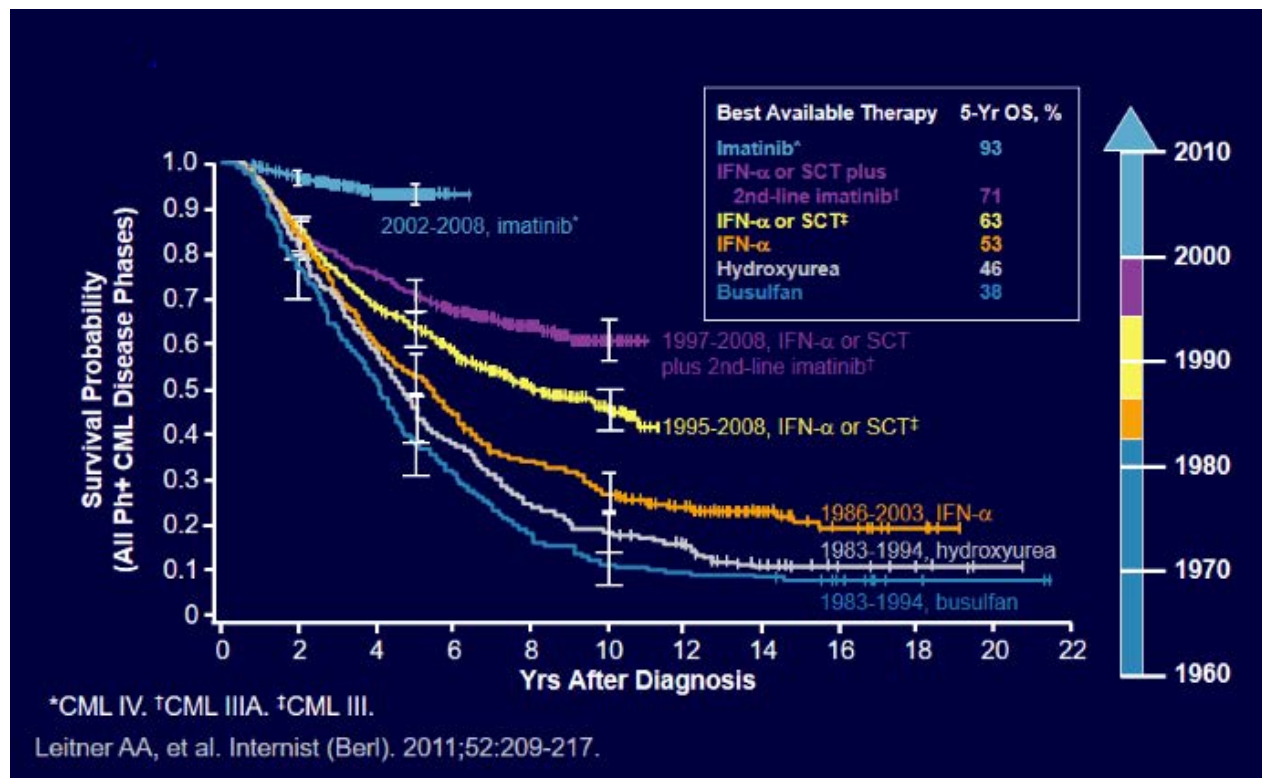


Figure 25 : Chronologie des meilleures thérapies disponibles pour le traitement de la LMC entre les années 1960 (uniquement la chimiothérapie), jusqu'aux années 2000, avec l'arrivée de l'Imatinib. On parle en taux de survie globale, plusieurs années après le diagnostic. Par exemple, 5 ans après le diagnostic, dans les années 1960 avec traitement par Busulfan, on avait un taux de survie globale de seulement 38%, alors qu'avec l'Imatinib il monte à 93%. [55]

Du fait de l'augmentation des réponses cytogénétiques complètes, la biologie moléculaire prend une place de plus en plus importante pour le suivi des patients. Les patients sont donc régulièrement suivis par PCR quantitative pour déterminer la quantité de transcrit BCR-ABL présent en temps réel (Real-time PCR). Toujours lors de l'étude de phase III IRIS, comparant l'Imatinib à l'interféron plus cytarabine, les niveaux des transcrits BCR-ABL ont été mesurés pour

les patients ayant atteint la réponse cytogénétique complète. C'est la réduction du taux de transcrit qui est mesurée et comparée entre les deux groupes à plusieurs étapes du suivi.

A l'obtention de la réponse cytogénétique complète, la médiane de la réduction du taux était de 2,5 log par rapport à la baseline pour le groupe Imatinib, contre 2,2 log pour l'autre groupe. C'est-à-dire un petit peu supérieur mais dans une proportion non significative. De plus, 32% des patients traités par de l'Imatinib avaient une réduction de plus de 3 log, alors qu'aucun des patients traités par interféron plus cytarabine n'avaient obtenu cette réduction.

Deux mois après l'obtention de la réponse cytogénétique, c'est à ce moment que la différence devient statistiquement significative : réduction de 2,9log dans le groupe Imatinib versus 2,1 dans le groupe interféron plus cytarabine. Et cet écart se creuse encore avec le temps, puisqu'au bout de 15 mois, la réduction passe à 3,7 log pour les patients sous Imatinib contre 2,5 log dans l'autre groupe. Par ailleurs, l'obtention d'une réduction de plus de 3 log a été plus rapide chez les patients sous Imatinib que les autres. Le schéma ci-dessous reprend le pourcentage de patient ayant atteint différentes réductions du transcrit BCR-ABL au cours de l'étude. [42]

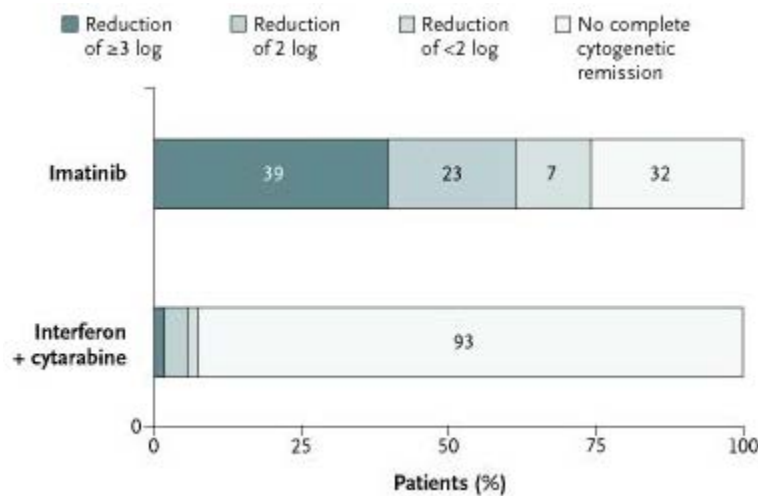


Figure 26 : Etude IRIS : Estimation du pourcentage de patients avec une réduction du taux de transcrit BCR-ABL d'au moins 3 log, 2 log ou moins de 2 log après 12 mois, tout bras confondu. Une nouvelle fois l'Imatinib est nettement meilleur que l'interféron plus cytarabine (39% de patient ayant obtenus une réduction de plus de 3 log, versus 1% dans l'autre bras).

Malgré les grands avantages de ce nouveau traitement, il s'agit d'un traitement qui doit être pris à vie, avec des effets indésirables non nuls, dont des résistances existent et dont des mutations se développent. Par exemples, il existe 4 types de mutations :

- Celles modifiant le site de liaison de l'Imatinib,
- Celles modifiant la structure de la protéine kinase (site catalytique),
- Celles qui agissent sur le phosphate de transfert de l'ATP,
- Celles qui touchent la boucle d'activation de la protéine.

En tout il existe une cinquantaine de mutations différentes empêchant la fixation de l'Imatinib. [28] Les critères de résistance à l'Imatinib sont définis comme suit :

- Absence de réponse hématologique à 3 mois,
- Absence de réponse cytogénétique majeure à 12 mois,
- Absence de réponse cytogénétique complète à 18 mois, ou
- Rechute moléculaire (augmentation du taux de transcrit BCR-ABL).

Ces données proviennent des résultats de l'étude IRIS détaillée ci-dessus et actualisés. [4, 63]

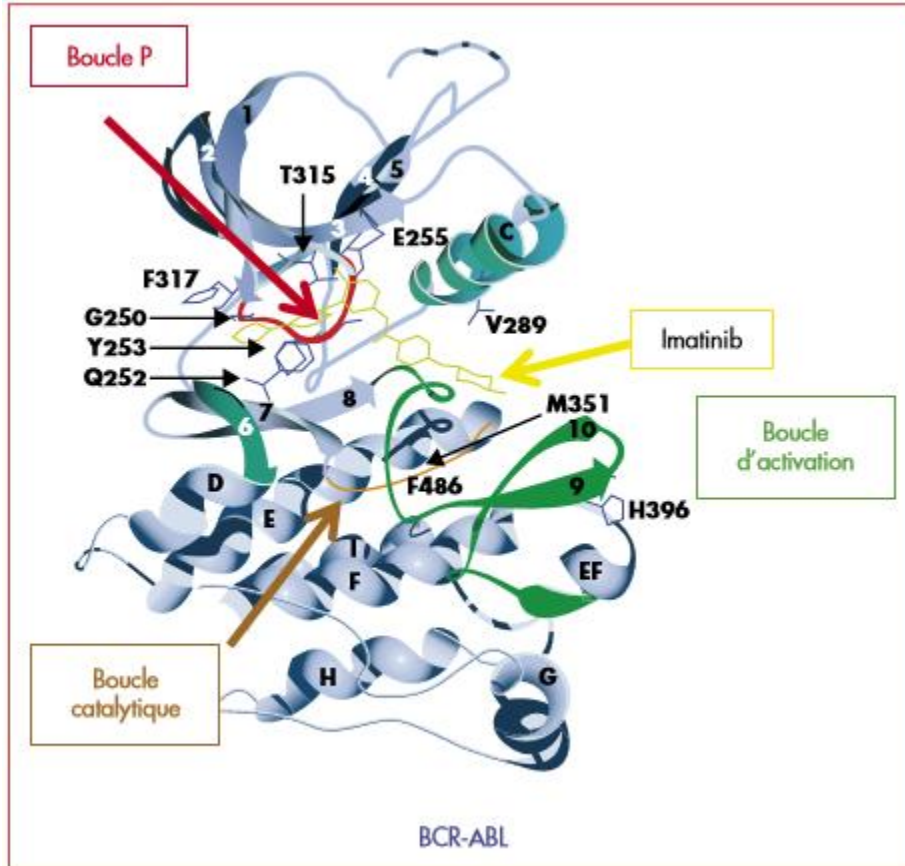


Figure 27 : Représentation schématique du domaine kinase d'ABL complexé à l'Imatinib, avec les différents groupes de points chauds de mutation. On y repère la boucle d'activation et la boucle catalytique. [28]

Les scientifiques ont donc toujours cherché à améliorer ce produit et les réponses obtenus. C'est ainsi que se sont développées les molécules de secondes générations.

2. Seconde Génération : Nilotinib, Dasatinib, Bosutinib et Troisième génération : Ponatinib

En 2006, le premier ITK de seconde génération, le Dasatinib (Sprycel®) obtient l'AMM en deuxième ligne de traitement. Il est suivi de près, en 2007, par le Nilotinib (Tasigna®), petit frère du Glivec, moins sensible aux mutations. Puis, plus récemment, en 2013, le Bosutinib (Bosulif®), a lui aussi obtenu l'AMM dans la LMC dans des cas particuliers. Les premiers essais cliniques conduits chez des patients recevant leur traitement de première intention ont suggérés que tous ces médicaments pourraient avoir un effet plus rapide et plus profond que l'Imatinib. [74]

Le Dasatinib - Sprycel®

Le Dasatinib ou Sprycel® est une molécule développée par Bristol Myers Squibb. Il s'agit d'un puissant inhibiteur de tyrosine kinase de seconde génération. C'est une petite molécule, agissant sur plusieurs tyrosines kinases et notamment sur BCR-ABL. Il a été démontré qu'elle a une activité in vitro beaucoup plus importante que l'Imatinib. Le Dasatinib, comme l'Imatinib, se lie au domaine tyrosine kinase d'ABL, mais la grande différence, venant de sa structure chimique très différente, est qu'il peut se lier à la forme active de BCR-ABL et requiert également moins de points de contact. L'affinité pour la protéine est donc d'autant plus forte. [1, 90]

Le Dasatinib a d'abord été autorisé en cas de résistance ou d'intolérance à l'Imatinib, à une dose orale unique, indépendante des repas, de 100mg. Récemment, en 2010, il a obtenu l'AMM en première ligne de traitement pour les patients nouvellement diagnostiqués en phase chronique, et toujours à la même posologie. L'étude qui a conduit à l'obtention de cette AMM est l'étude DASISION (Dasatinib versus Imatinib study in treatment-naïve CML patient). C'est une étude de phase III, internationale, multicentrique, comparant 100 mg par jour de Dasatinib à 400 mg d'Imatinib. [47] Les résultats ont été très concluants, dès 12 mois de traitement, le Dasatinib a vite montré sa supériorité pour l'obtention des réponses cytogénétiques complètes (83% vs 72%) et même des réponses moléculaires majeures (RMM) (46% versus 28%). Ce qui est important à retenir est le fait qu'aucun patient ayant obtenu la RMM n'a progressé vers une phase accélérée ou une crise blastique. Ses deux effets secondaires spécifiques, en plus des effets classiques des ITK sont l'épanchement de la plèvre (chez 10 à 20% des patients traités) et l'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) qui est très rare (moins de 1%). A trois ans de recul, les résultats sont confirmés, le Dasatinib en première ligne permet d'obtenir une réponse plus rapide et plus profonde qu'avec l'Imatinib. Par ailleurs, des réponses plus profondes à 3, 6 ou 12 mois de traitement sont associés avec un meilleur taux de survie globale et survie sans progression à 3 ans. [45]

Le Nilotinib - Tasigna®

Le Nilotinib, ou Tasigna® est une autre molécule de Novartis, dérivée directement du Glivec®. Sa structure chimique est très proche de ce dernier, mais sa structure « épouse » plus la forme de la poche de tyrosine kinase d'ABL et est donc moins sensible aux mutations. La première AMM du Nilotinib a été obtenue en 2007, pour des patients en seconde ligne de traitement, résistants ou intolérants à l'Imatinib. La dose initialement retenue était de 400 mg deux fois par jour, à 12h d'intervalle et à distance des repas. Depuis 2010, il a obtenu l'AMM pour les patients nouvellement diagnostiqués en phase chronique, à 300 mg deux fois par jour et toujours à distance des repas.

L'étude qui a prouvé la supériorité du Nilotinib par rapport à l'Imatinib est l'étude ENESTnd (Evaluating nilotinib efficacy and safety in clinical trials – newly diagnosed patients) [80], qui comparait 3 bras :

- Nilotinib 300 mg BID (deux fois par jour) ;
- Nilotinib 400 mg BID ;
- Imatinib 400 QD (une fois par jour).

Le Nilotinib a prouvé d'une part sa supériorité dans les deux bras proposés face à l'Imatinib (43-44% de RMM versus 22% au bout de 12 mois de traitement) mais également en termes de rapidité d'obtention de la réponse (30% de RM4.0 à deux ans et 50% à trois ans). [9] Le profil de sécurité s'est également révélé plus favorable au Nilotinib qu'à l'Imatinib, et notamment à la dose de 300 mg BID. C'est donc cette dose de 300 mg BID qui sera retenue pour l'AMM en première ligne. [80] Les effets secondaires directement associés au Nilotinib, en plus des effets classiques des ITK sont, une perturbation des bilans sanguins non hématologiques (glucose, bilan lipidique, lipase, bilan hépatique), des troubles cutanés (prurit, sécheresse). Par ailleurs, depuis peu de temps, il semblerait que le risque d'accident artériel soit plus important avec le Nilotinib qu'avec les autres ITK, d'où la nécessité d'évaluer les facteurs de risques cardio-vasculaires avant de commencer le traitement.

Les résultats après 5 ans de suivi dans cette étude sont toujours favorable pour le Nilotinib. Plus de la moitié des patients dans les deux bras Nilotinib (54% dans le bras 300mg et 52% dans le bras 400mg) ont obtenu une réponse moléculaire profonde 4.5, contre seulement 31% des patients dans le bras Imatinib.

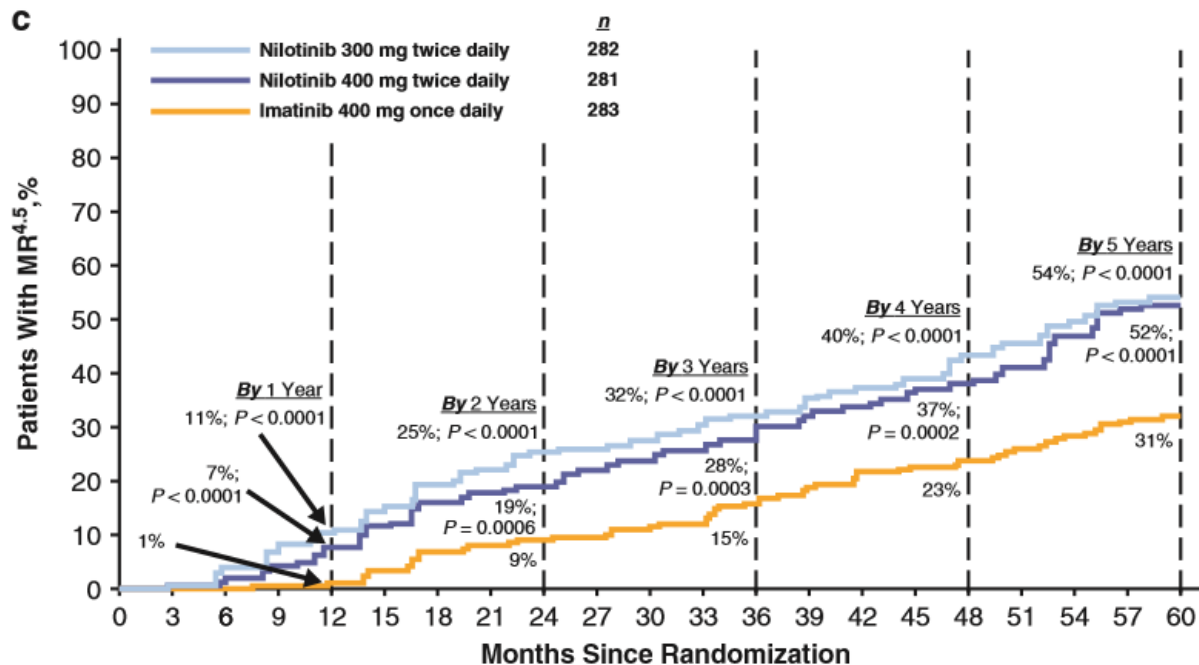


Figure 28 : Taux de réponses moléculaires MR4.5 à 5 ans de suivi selon l'étude ENESTnd : 54% pour les patients traités par Nilotinib 300mg, contre seulement 52% pour les patients traités par Nilotinib 400mg, et enfin seulement 31% pour les patients traités par Imatinib. Cette étude prouve la supériorité du Nilotinib versus l'Imatinib.

Par ailleurs, le Nilotinib apportant des réponses moléculaires plus nombreuses et plus rapide que l'Imatinib, est associé avec un risque plus faible de transformation vers une phase avancée de la maladie (phase accélérée ou crise blastique) et donc un meilleur pronostic de survie pour les patients. Enfin, plus d'évènement cardio-vasculaire, d'augmentation du cholestérol et du glucose ont été recensés, évènement secondaires typique du Nilotinib, confirmant l'important d'un monitoring régulier. [39]

Comparaison entre ces trois molécules (Imatinib, Nilotinib et Dasatinib)

Les données disponibles sont assez claires concernant la supériorité du Nilotinib et du Dasatinib face à l'Imatinib. En effet, le Dasatinib et le Nilotinib ont respectivement 325 fois et 20-30 fois plus d'affinité pour BCR-ABL que l'Imatinib. Cependant, il n'y a pas d'études avec des résultats suffisamment significatifs pour départager ces deux molécules. C'est pourquoi, les données de sécurité et de tolérance, ainsi que les caractéristiques cliniques de chaque patient, seront très importants dans le choix de la première ligne de traitement.

Afin de comparer plus efficacement ces trois molécules, voici ci-dessous des tableaux comparatifs concernant leur forme, les cibles visées, les évènements indésirables observés avec chacune des molécules. Le Bosutinib et le Ponatinib sont donné dans des situations bien particulières de mutations ou de résistances aux précédents traitements et ne seront donc pas détaillés dans cette partie.

Conformations spatiales :

Au niveau des conformations des molécules, elles sont toutes 3 différentes, ce qui explique l'affinité et les points de liaisons différents. Le Nilotinib comparé à l'Imatinib épouse mieux la poche d'ADN et est donc moins sensible aux mutations en ayant plus d'affinité et plus de points de liaison. Le Dasatinib lui, se lie à la protéine BCR-ABL lors de sa conformation active, sa forme est donc légèrement différente. Le schéma ci-dessous synthétise les conformations de ces 3 molécules et leur liaison à la protéine BCR-ABL.

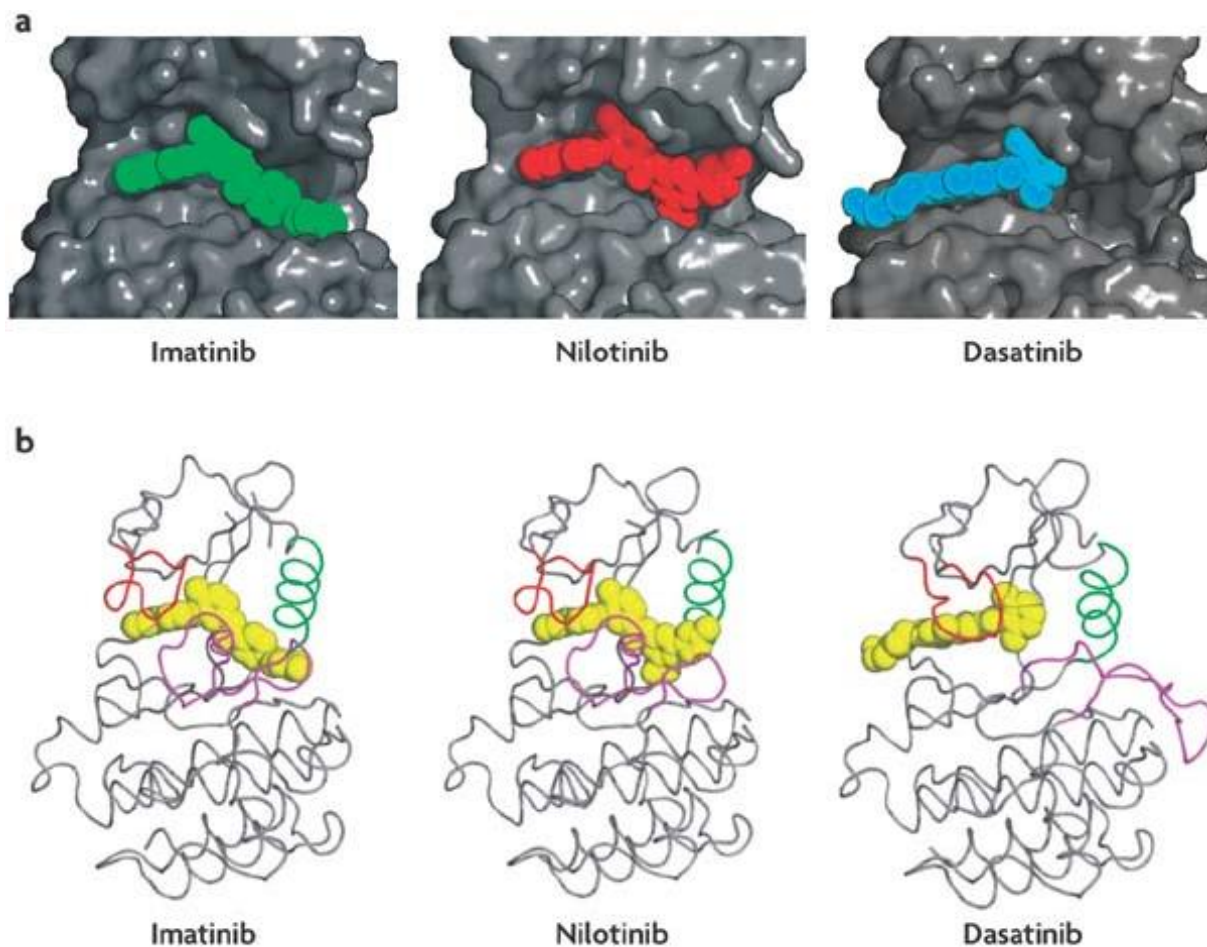


Figure 29 : Conformation des différentes molécules Imatinib, Nilotinib et Dasatinib et leur liaison à la protéine BCR-ABL

Etant donné que ces trois molécules sont toutes des inhibiteurs de tyrosine kinase, leur mode d'action est similaire. Comme déjà expliqué ci-dessus, elles viennent se placer à la place de la molécule d'ATP au niveau du domaine tyrosine kinase de la protéine BCR-ABL pour l'inhiber et

donc provoquer toute la cascade de signalisation évoquée précédemment. La différence résidera dans les autres cibles que vont viser ces inhibiteurs de tyrosine kinase et avec quelle intensité.

Cibles pharmacologiques :

La principale cible de ces trois inhibiteurs de tyrosine kinase est l'onco-protéine BCR-ABL, qui leur confèrent leur activité pharmacologique dans la LMC. Ils ne vont cependant pas avoir la même spécificité, ou affinité pour cette protéine. La spécificité d'une molécule est mesurée grâce à la concentration inhibitrice à laquelle 50% des protéines sont inhibées, appelée IC50. Plus elle est faible et plus la molécule sera spécifique de la protéine. Dans le cadre d'une pathologie comme la LMC où la protéine BCR-ABL a été identifiée comme principale responsable de la maladie, on cherche donc à l'inhiber, mais sans forcément inhiber d'autres protéines qui n'ont pas de rôle dans la maladie. Plus une molécule est spécifique, plus elle sera puissante. C'est le principe de la thérapie ciblée.

L'Imatinib et le Nilotinib étant très proche l'un de l'autre d'un point de vue moléculaire, ils auront sensiblement les mêmes cibles principales en plus de BCR-ABL, à savoir :

- Le récepteur PDGF-R (Platelet Derived Growth Factor – Receptor)
- Et le récepteur de la protéine C-Kit (impliqué par ailleurs dans la pathogénèse des tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST)).

Concernant le Dasatinib, il aura également ces deux mêmes cibles (PDGF-R et C-Kit) mais sa différence réside principalement dans le fait qu'il est un inhibiteur très puissant de la grande famille des Src Kinases (protéines cytoplasmiques à activité tyrosine kinase incluant FGR, FYN, HCK, LCK, LYN, YES). Cette dualité d'action entre BCR-ABL et les Src Kinase sera la grande caractéristique de cette molécule.

Tableau IV : Différentes cibles pharmacologiques des ITK Imatinib, Dasatinib et Nilotinib et leur spécificité pour BCR-ABL, PDGF-R, c-kit et Src

	Concentrations inhibitrices médianes IC50 (nmol/L)			
	Bcr-Abl	PDGF-R	c-kit	Src
Imatinib	192	72	99	> 1000
Dasatinib	1,8	2,9	18	0,1
Nilotinib	19	75	209	> 1000

Ce tableau IV récapitule les des cibles pharmacologiques principales visées par l'Imatinib, le Nilotinib et le Dasatinib. Ce tableau nous confirme la puissance largement supérieure du

Dasatinib par rapport à l'Imatinib et au Nilotinib sur l'inhibition de BCR-ABL (respectivement 350 et 20 fois supérieur). On remarque également que le Nilotinib est le plus sélectif des ITKs présentés ici, puisqu'il est assez sélectif de BCR-ABL, tout en n'ayant que peu d'effet sur les autres protéines. En effet, le Dasatinib est lui encore plus sélectif de BCR-ABL mais également des autres et il est notamment très sélectif des protéines Src, ayant donc une activité inhibitrice très puissante.

Effets indésirables :

Des propriétés décrites ci-dessus, découlent des effets secondaires communs à tous les ITK et d'autres spécifiques à chaque molécule. La gestion de ces événements indésirables (EI) liés aux ITK est cruciale : d'une part, la santé et la qualité de vie du patient sont en jeu, d'autre part, de cette gestion découle la compliance au traitement et son efficacité. Les toxicités à court terme sont assez bien connues, mais les données à long terme ne sont pas encore disponibles, à l'exception de l'Imatinib pour lequel il y a bientôt 20 ans de recul. [70]

Le principal effet indésirable commun à tous les ITK est la myélo-suppression, surtout en tout début de traitement, il s'agit de ce que l'on appelle un effet de classe. On observe des anémies, des neutropénies et des thrombopénies chez la plupart des patients à l'initiation du traitement. Ces cytopénies, provoquées par l'inhibition des protéines tyrosine kinase BCR-ABL, C-Kit et Src, sont généralement transitoires et s'estompent rapidement. Pour exemple, les taux cumulés de cytopénies de tous grades sous Imatinib en première ligne dans la LMC-PC, après 19 mois de suivi médian, sont de 45 % pour l'anémie, 57 % pour la thrombocytopenie et 61 % pour la neutropénie. [65] En fonction du grade de l'évènement indésirable on pourra décider d'interrompre provisoirement le traitement jusqu'à la récupération et on reprendra le traitement à la dose initiale.

Tableau V : Evènements indésirables hématologiques des ITKs Imatinib, Nilotinib et Dasatinib. Ce sont des effets de classes, mais chacun a sa spécificité : le Dasatinib provoque plus de thrombopénie, tandis qu'il y a plus de Neutropénie avec l'Imatinib.

EI Hématologiques	Imatinib	Nilotinib	Dasatinib
Anémie	+	+	+
Thrombocytopenie	+	+	++
Neutropénie	++	+	+

En plus de ces effets hématologiques, certains évènements non hématologiques sont également communs à tous les ITK. Il s'agit notamment d'asthénie chronique, diarrhée, nausées, vomissements, douleurs ostéo-articulaires et musculaires, allergie cutanée, hépato-toxicité et perturbations phosphocalciques. Ensuite, selon les affinités pour les différentes tyrosine kinases qui ont été détaillé ci-dessus, les molécules vont avoir des effets propres comme par exemple :

- Des effets immunitaires provoqués par l'inhibition des ABL, et des Src donc ceci concerne surtout le Dasatinib,
- Une rétention de liquide (œdème), provoquée par l'inhibition du PDGFR et des Src kinases, donc surtout pour l'Imatinib et le Dasatinib,
- Un taux de glucose modifié, avec inhibition de KIT et de PDGFR, diminution des taux de glucose par l'Imatinib et augmentation par le Nilotinib, intéressant pour les patients diabétiques. [40]

Concernant les effets propres de l'Imatinib, il induit des crampes musculaires fortes, un syndrome œdémateux périphérique et une photosensibilité. En règle générale ces événements indésirables liés à l'Imatinib diminuent au fil du temps en fréquence et en intensité.

Par ailleurs, le Nilotinib lui, provoque souvent des éruptions cutanées prurigineuses, et induit très souvent une hyper-bilirubinémie libre sans gravité et une hyperglycémie (qui se normalise par la suite), ainsi que des perturbations du bilan pancréatique (augmentation des aspartate aminotransférases (ASAT), des alanine aminotransférases (ALAT), lipase et amylase très fréquent chez les patients sous Nilotinib).

Enfin, le Dasatinib se distingue par la possibilité d'épanchements pleuraux (c'est la seule molécule à provoquer cela) et de dysfonction plaquettaire. [70]

Tableau VI : Evènements indésirables non hématologiques des ITKs Imatinib, Nilotinib et Dasatinib avec leur spécificités surlignées de couleur (Jaune pour l'Imatinib, Vert pour le Nilotinib et Bleu pour le Dasatinib).

EI Non Hématologique	Imatinib	Nilotinib	Dasatinib
Asthénie	+	+	+
Troubles digestifs	++	+	+
Myalgie	+++	+	+
Retention hydrique (oedemes)	+++	+	++
Lipase – Amylase	+	++	+
ASAT – ALAT – Bilirubine	+	++	+
Glycémie	-	+	=
Hypophosphatémie	++	+	+
Rash cutanée	+	++	+
Risque cardio-vasculaire	+	++	+
Epanchement pleuraux	-	-	+++

En conclusion, les deux ITK2, Dasatinib et Nilotinib ont tous les deux montrés leur supériorité vis-à-vis de l'Imatinib, mais présentent des caractéristiques différentes, qui fait qu'il faut adapter le traitement au patient, selon ses antécédents, ses traitements concomitants, son mode de vie, etc. Voici un petit résumé des avantages et inconvénient des deux molécules.

Tableau VII : Résumé des différences Nilotinib – Dasatinib : avantages et inconvénients. Ils sont difficilement comparables, c'est pourquoi le traitement doit être adapté en fonction du patient, de ses antécédents, ses traitements concomitants, de son mode de vie, etc...

Nilotinib	Dasatinib
<p><u>Avantages :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> -Forte affinité pour BCR-ABL in vitro -Inhibition d'autres kinases impliquées dans la leucomogénèse (Src Kinases) -Actif sur la forme active et inactive de BCR-ABL -Actifs sur tous les mutants sauf T315i -Voie Orale -Peu d'EI 	<p><u>Avantages :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> -Affinité importante pour BCR-ABL in vitro -Très grande spécificité pour BCR-ABL (peu d'autre inhibition) -Actifs sur tous les mutants sauf T315i -Voie Orale -Peu d'EI
<p><u>Inconvénients :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> -Activité sur d'autres kinases (Src Kinase) -Moins grande spécificité pour BCR-ABL 	<p><u>Inconvénients :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> -Actif uniquement sur la forme inactive de BCR-ABL -Très grande spécificité pour BCR-ABL

Le Bosutinib - Bosulif®

Le Bosutinib (ou bosulif®) est un 3ème inhibiteur de tyrosine kinase de seconde génération utilisé dans le traitement de la LMC. Cette molécule se fixe toujours au domaine tyrosine kinase de la protéine BCR-ABL, mais cette fois lors de sa forme intermédiaire. Il n'y a pas encore d'essais de phase III montrant la supériorité du Bosutinib sur les autres traitements déjà existant. Le Bosulif® a donc une AMM en tant que 2^{ème} ligne de traitement, dans les cas d'échecs ou de résistances au traitement par Imatinib, Nilotinib ou Dasatinib. Il est donné par voie orale, en une prise par jour de 500mg au moment des repas. [28]

Ses effets secondaires les plus courant sont des troubles digestifs (diarrhées, nausées, vomissement), une perturbation du bilan hépatique et également, comme les autres ITK, des œdèmes, des éruptions cutanées et de la fatigue. [74, 94]






Le Ponatinib - Iclusig®

En juillet 2013, le laboratoire américain ARIAD a annoncé l'obtention de l'AMM pour leur nouvelle molécule le Ponatinib (ou Iclusig®), inhibiteur de tyrosine kinase de troisième génération. Ce serait la seule molécule active sur une mutation génétique particulière et assez fréquente, appelée mutation T315I. La décision d'autorisation a été obtenue suite à un processus accéléré car il s'agit d'une molécule présentant un intérêt majeur. La décision de la commission européenne a été basée sur un essai de phase II, appelé PACE (Ponatinib Ph+ ALL and CML Evaluation) chez des patients atteints de LMC ou de LAL Ph+ qui étaient résistants ou intolérants à un traitement antérieur par un ITK ou qui présentaient une mutation T315I de la protéine BCR-ABL. Le Ponatinib est donné par voie orale, en une seule prise de 45mg par jour. [15]

Les effets secondaires qu'il provoque sont des thromboses et des occlusions artérielles et veineuses, ainsi qu'une perturbation du bilan sanguin non-hématologique, mais également une thrombocytopenie, des rash et sécheresses cutanée et des douleurs abdominales. Une étude de phase III, EPIC, testant le Ponatinib en première ligne de traitement versus Imatinib avait débutée. [57] Elle a malheureusement été stoppée en raison des effets secondaires trop dangereux (obstruction des vaisseaux sanguins) que cette molécule provoquait et qui étaient probablement associés à la dose administrée trop importante (45mg par jour). D'autres études de toxicité et d'efficacité avec des doses réduites sont actuellement en cours (des doses de 15mg par jour ont été testé versus de l'Imatinib et semblent avoir des résultats prometteurs). [96]

Ci-dessous, voici un récapitulatif des dates d'obtention de l'AMM en première ou seconde ligne pour les inhibiteurs de tyrosine kinase de première et de seconde génération. Ce tableau VIII nous indique aussi les spécificités de prise de ces 5 molécules maintenant toutes sur le marché.

Tableau VIII : ITK commercialisés : date d'AMM et posologie

		Date de l'autorisation		
		2 ^{ème}	1 ^{ère}	
Imatinib		2001	2002	1 fois/jour, avec repas
Dasatinib		2006	2010	1 fois/jour, pas d'effet des repas
Nilotinib		2007	2010	2 fois/jour, à jeun
Bosutinib		2012	/	1 fois/jour, pas d'effet des repas
Ponatinib		2012	/	1 fois/jour, pas d'effet des repas

3. Autres options : Omacetaxine ou combinaison Nilo-Peginterferon

Les ITKs sont des molécules très puissantes et très adaptées au traitement des LMC. Cependant, certains patients deviennent résistants, d'autres intolérants, et le besoin de trouver d'autres solutions se fait sentir.

L'Omacetaxine mepesuccinate ou Omacetaxine, permet donc une nouvelle approche pour le traitement de la LMC, qui, contrairement aux ITKs, ne nécessite pas de se lier à BCR-ABL et n'est donc pas sensible aux mutations de la protéine. Cette nouvelle molécule est donc efficace même chez les patients résistants aux ITK. Elle agit comme un inhibiteur de la synthèse protéique, elle réduit donc la synthèse d'onco-protéines (et donc notamment de BCR-ABL) et induit l'apoptose des cellules souches leucémiques. Des études ont déjà montré l'efficacité de ce traitement chez des patients précédemment traités par ITK. La prise du traitement est plus contraignante que les ITK puisqu'il s'agit d'une injection sous cutanée. La posologie habituelle est de 1.25 mg/m² deux fois par jour pendant 14 jours par mois en dose d'attaque jusqu'à une réponse hématologique, puis une dose d'entretien de 1,25 mg/m² pendant 7 jours tous les 28 jours. [16]

Dans une étude internationale d'évaluation de l'Omacetaxine, 81 patients ont été inclus, tous avaient reçu de l'Interféron en première ligne puis 85% avaient également reçu du Dasatinib et 59% du Nilotinib (parfois les 2). La durée médiane de traitement par Omacetaxine au moment de l'analyse est de 7,5 mois. 16 patients (20%) ont atteint la réponse cytogénétique, et 56 patients (soit

69%) ont maintenu une réponse hématologique pendant au moins 8 semaines. Les durées médianes de survie sans rechute et de survie globale sont respectivement de 9,6 mois et 34 mois. Par ailleurs, les principaux événements indésirables sont hématologiques, surtout thrombocytopénie (67%), neutropénie (47%) et anémie (37%) ainsi que quelques événements non hématologiques (diarrhée, nausée, fatigue). [11] Ce traitement est donc très prometteur, avec une réelle efficacité et des effets indésirables minimes.

Enfin, une association qui semble prometteuse est en cours d'évaluation : il s'agit d'une combinaison entre le **Nilotinib et l'Interféron** (sous sa forme peg-interféron). En effet, le Nilotinib est maintenant donné dans le but d'obtenir une réponse moléculaire profonde pour mener à un arrêt de traitement (dont nous parlerons en partie III de ce devoir), or tous les patients n'atteignent pas ce niveau de réponse. En associant ces deux molécules, le taux de réponses moléculaires MR4.5 augmentent, les effets indésirables diminuent, et le nombre de patients éligibles à l'arrêt de traitement augmente. [10]

C. Prise en charge d'un patient LMC

1. Recommandations Françaises (surveillance, évaluation de la réponse au traitement, examens après traitement)

European LeukemiaNet (ELN) est un réseau de recherche d'excellence financé par l'Union Européenne, qui a fourni des recommandations de traitement et de prise en charge des patients atteints de Leucémie Myéloïde Chronique en 2006 puis en 2009 et de nouveau en 2013. Ces recommandations émanent d'un consensus de 32 experts de la LMC, venant d'Europe, d'Amérique et d'Asie Pacifique, et sont basées sur les meilleures données scientifiques disponibles au moment de la publication. Elles sont développées dans le but d'aider les médecins à fournir à leur patients les meilleurs soins et le traitement le plus adapté à leur maladie. [74] Le choix du médicament pour le traitement de la LMC est également basé sur le profil d'effets secondaires du médicament ou s'il y a d'autres médicaments pris en parallèle et sur la présence de résistances dues à des mutations précises ou d'autres pathologies existantes. [74]

Tout d'abord, il est bon de redéfinir les différentes réponses au traitement que l'on peut observer. Trois niveaux ont été définis :

-Réponse optimale : Si la réponse obtenue est optimale c'est qu'elle est la meilleure possible, et il est probable que la survie du patient soit similaire à celle de la population globale. Dans ce cas, aucune modification du traitement n'est à prévoir.

-Réponse sous-optimale : Le traitement n'est pas aussi efficace que ce qu'il devrait, le médecin peut décider de modifier le traitement si besoin.

-Echec de réponse : Le traitement n'est pas efficace du tout et doit être changé si cela est possible.

Par ailleurs, il a été démontré par plusieurs études, que plus la réponse est profonde (réponse moléculaire complète, c'est-à-dire avec une réduction du nombre de cellules leucémiques supérieure à 4.0 log ou plus), plus le pronostic sera favorable pour le patient. Il aura donc moins de risque de progresser vers une phase accélérée ou une crise blastique, et donc sa survie globale sera augmentée. Une première étude menée sur 90 patients en réponse cytogénétique complète a montré qu'un seul patient sur 28 ayant atteint la RM4.0 a perdu sa réponse cytogénétique (passage en phase accélérée), tandis que 11 sur 48 ayant seulement la réponse moléculaire majeure (RM3.0) l'ont perdu. [68] De même pour une autre étude lancée en 2008, sur 276 patients, 100 étaient en réponse moléculaire profonde (RM4.0 ou plus), et aucun n'a progressé. [48] Enfin, encore une autre étude, de Branford cette fois, a prouvé que sur 144 patients traités par Imatinib, et ayant obtenu une réponse moléculaire majeure, seulement 1,8% des patients ont rechutés parmi ceux étant au moins en RM4.0, contre 7,9% pour ceux étant seulement en RMM. [7] Toutes ces études nous permettent donc d'affirmer que plus la réponse moléculaire obtenue est bonne (donc moins il y a de traces de maladie résiduelle dans le sang et dans la moelle), et moins les patients ont de risque de transformation de la maladie en phase accélérée et crise blastique.

De plus, toujours afin de pouvoir établir des critères de recommandation pour aider les médecins à adapter le traitement de leurs patients, une autre étude a été très importante dans le développement de la thérapeutique de la LMC. Il s'agit de l'étude ENESTemr (Evaluating Nilotinib Efficacy and Safety in Clinical Trials– Complete Molecular Response). Cette étude, lancée par Novartis, permettait aux patients traités par Imatinib de modifier leur traitement vers le Nilotinib, même s'ils n'étaient pas résistants ou intolérants. [8]

Dans cette étude étaient inclus des patients recevant de l'Imatinib depuis plus de 2 ans, ayant atteint la réponse cytogénétique complète mais avec un transcrit toujours détectable par PCR. Ces patients (207 au total), ont été randomisés selon deux bras :

- Soit ils continuaient le traitement par Imatinib à la même dose (c'est le cas de 103 patients),
- Soit ils changeaient de traitement et prenaient maintenant du Nilotinib 400 mg deux fois par jour (104 patients).

Par ailleurs, le cross over était possible, 46 patients du bras Imatinib ont demandé à être traité par le Nilotinib.

Au bout d'un an d'étude, les résultats étaient déjà significatifs, puisque 33% des patients sous Nilotinib avaient atteint la RM4.5 contre seulement 14% des patients du bras Imatinib. Cette tendance a été confirmée à 24 mois de suivi, 43% étaient en RM4.5 dans le 1^{er} bras contre seulement 21% dans le second. De plus, aucun patient n'a perdu sa réponse cytogénétique dans le bras Nilotinib, versus 3 patients dans le bras Imatinib. [43]

Finalement, au moment du diagnostic de la LMC, en fonction des symptômes et du degré d'urgence du traitement, il se peut que le patient reçoive une thérapeutique d'urgence. Parmi ces

thérapeutiques, on retrouve notamment l'Hydréa (Hydroxyurée), qui sert à la cyto-réduction (diminution de l'excès de globules blancs) et également à limiter les risques thromboemboliques. Enfin, l'allopurinol est souvent donné au diagnostic pour prévenir le syndrome de lyse tumorale.

En résumé, voici ci-dessous un tableau récapitulatif (tableau IX), issue des recommandations publiées par le réseaux ELN en 2013.

Tableau IX : Recommandation de traitement LMC en phase chronique - ELN 2013 [74]

Intention de traitement	Quels patients ?	Quel traitement ?
1 ^{ère} intention	Tous les patients	400 mg d'imatinib une fois par jour, 300 mg de nilotinib deux fois par jour ou 100 mg de dasatinib une fois par jour. La détermination du type HLA* des patients et des frères et soeurs doit être réalisée seulement en cas d'alertes (risque élevé, anomalies chromosomiques additionnelles majeures-dans les cellules possédant le chromosome Philadelphie).
2 ^{ème} intention (après l'imatinib, le nilotinib ou le dasatinib)	Patients éprouvant une toxicité ou une intolérance	<i>Chez les patients intolérants</i> : Passer à l'un des autres inhibiteurs de tyrosine kinase autorisé en 1 ^{ère} intention à une dose standard. <i>Chez les patients résistants</i> : Une dose plus élevée (400 mg d'imatinib deux fois par jour, 400 mg de nilotinib deux fois par jour, 70 mg de dasatinib deux fois par jour ou 140 mg de dasatinib une fois par jour), prenant en compte des mutations potentielles, les effets indésirables des traitements précédents et les maladies associées qui pourraient interférer. Un changement de médicament est préférable à une augmentation de la dose d'imatinib.
2 ^{ème} intention (après l'imatinib)	Patients pour lesquels le traitement a échoué	Dasatinib, nilotinib, bosutinib (500 mg une fois par jour) ou ponatinib (45 mg une fois par jour). Déterminer le typage HLA des patients et de leurs frères et soeurs.
2 ^{ème} intention (après le nilotinib)	Patients pour lesquels le traitement a échoué	Dasatinib, bosutinib ou ponatinib. Déterminer le typage HLA des patients et de leurs frères et soeurs. Envisager la greffe de cellules souches
2 ^{ème} intention (après le dasatinib)	Patients pour lesquels le traitement a échoué	Nilotinib, bosutinib ou ponatinib. Déterminer le typage HLA des patients et de leurs frères et soeurs. Envisager la greffe de cellules souches
3 ^{ème} intention (après deux inhibiteurs de tyrosine kinase)	Patients qui n'ont pas réagi et/ou sont intolérants à deux inhibiteurs de tyrosine kinase Tous les patients éligibles	Un des inhibiteurs de tyrosine kinase restants. La greffe de cellules souches, si elle est faisable, peut être recommandée.
Quelle que soit la ligne de traitement	Patients porteurs de la mutation T315I	Le ponatinib. Déterminer le typage HLA des patients et de leurs frères et soeurs. Envisager la greffe de cellules souches.

Ce tableau fournit le guide des traitements à prendre en première et seconde ligne pour un patient atteint de Leucémie Myéloïde Chronique, en phase chronique. Trois molécules ont obtenu l'AMM et peuvent donc être donnés (celle qui sera choisie est décidée en fonction notamment du profil du patient et de la tolérance du produit) :

- Dasatinib 100 mg Per Os une fois par jour, ou
- Nilotinib 300 mg Per Os deux fois par jour, ou encore
- Imatinib 400 mg Per Os une fois par jour.

Si une première molécule n'apporte pas les résultats attendus, alors on pourra en essayer une autre parmi les trois (à l'exception de l'Imatinib à la suite d'une molécule de seconde génération). On pourra également dans certains cas, tenter le Bosutinib ou le Ponatinib si les autres traitements ont échoué. Pour les patients résistants, on pourra leur donner une de ces molécules standard mais avec un dosage plus important (exemple 400 mg d'Imatinib deux fois par jour, ou 400 mg de Nilotinib deux fois par jour, ou encore 70 mg de Dasatinib deux fois par jour ou 140 mg de Dasatinib une fois par jour). On pourra également faire une recherche de mutations et de maladies concomitantes pouvant interférer.

Pour les patients diagnostiqués directement en phase accélérée ou en crise blastique, ou bien pour ceux évoluant suite à une phase chronique, un autre tableau (tableau X) donne les recommandations de traitement à suivre, toujours selon ce même réseau ELN :

Tableau X : Recommandation de traitement LMC en phase accélérée ou crise blastique - ELN 2013 [74]

Phase accélérée et phase blastique	Quels patients ?	Quel traitement ?
Phase accélérée et phase blastique récemment diagnostiquées	Patients qui n'ont jamais utilisé un inhibiteur du gène BCR-ABL	<ul style="list-style-type: none"> • 400 mg d'imatinib deux fois par jour, 70 mg de dasatinib deux fois par jour ou 140 mg de dasatinib une fois par jour. • La greffe de cellules souches pour tous les patients en phase blastique et pour les patients en phase accélérée chez ceux n'ayant pas obtenue une réponse optimale. • Une chimiothérapie peut être nécessaire avant une greffe de cellules souches
Phase accélérée et phase blastique résultant d'une évolution de la phase chronique	Patients qui ont utilisé un inhibiteur du gène BCR-ABL auparavant et dont la maladie a évolué	<ul style="list-style-type: none"> • Un des inhibiteurs de tyrosine kinase non utilisé avant l'évolution de la maladie (ponatinib en cas de mutation T315I), simultanément avec ou sans chimiothérapie, suivi d'une greffe de cellules souches chez tous les patients éligibles • En cas de phase blastique incontrôlée et résistante, une greffe allogénique de cellules souches n'est pas recommandée. Pour ces patients, une chimiothérapie et/ou des soins palliatifs seraient plus adaptés.

Dans ce cas, ce sont les mêmes traitements, Dasatinib ou Imatinib mais dans des posologies plus importantes, correspondant aux posologies des patients résistants. Si besoin, les autres traitements suivant pourront également être donnés :

- Nilotinib 400 mg deux fois par jour, ou
- Bosutinib 500 mg une fois par jour, ou encore
- Ponatinib 45 mg PO une fois par jour (si aucun autre ITK n'est envisageable)

Il existe malheureusement un grand risque de rechute chez les patients en phase accélérée. Dans le cas, la greffe de moelle sera envisagée.

Les recommandations de l'ELN permettent également de préciser les critères de réponse optimale, sous optimal et d'échec (tableau XI) :

Tableau XI : Objectif de traitement selon ELN 2013 : définition des réponses optimales, avertissement et échecs de traitement [74]

Moment	Réaction optimale	Avertissements	Echec
Au début du traitement (= juste avant de commencer le traitement de deuxième intention)	(Ne s'applique pas à cette étape)	Absence de réponse hématologique complète ou perte de cette réponse, ou absence de réponse cytogénétique complète sous traitement par inhibiteurs de tyrosine kinase de 1 ^{ère} intention, ou risque élevé selon le score au Sokal/EUTOS/Hasford	(Ne s'applique pas à cette étape)
A 3 mois	L'analyse en PCR met en évidence un taux de gène BCR-ABL \leq 10 %, et/ou présence de \leq 65 % de cellules comportant le chromosome Philadelphie en analyse cytogénétique	L'analyse en PCR met en évidence un taux de gène BCR-ABL $>$ 10 %, et/ou présence de 66 à 95% de cellules comportant le chromosome Philadelphie en analyse cytogénétique	Absence de réponse hématologique complète, ou présence de $>$ 95% de cellules comportant le chromosome Philadelphie en analyse cytogénétique, ou bien il existe de nouvelles mutations
A 6 mois	L'analyse en PCR met en évidence un taux de gène BCR-ABL \leq 10 %, et/ou présence de \leq 35% de cellules comportant le chromosome Philadelphie en analyse cytogénétique	Présence de 36 à 65% de cellules comportant le chromosome Philadelphie en analyse cytogénétique	L'analyse en PCR met en évidence un taux de gène BCR-ABL $>$ 10 %, et/ou l'analyse cytogénétique a mis en évidence une quantité de cellules possédant le chromosome Philadelphie $>$ 65 %, et/ou il existe de nouvelles mutations
A 12 mois	L'analyse en PCR met en évidence un taux de gène BCR-ABL $<$ 1 %, et/ou absence de cellules comportant le chromosome Philadelphie en analyse cytogénétique	L'analyse en PCR met en évidence un taux de gène BCR-ABL entre 1 et 10 % et/ou présence de 1 à 35% de cellules comportant le chromosome Philadelphie en analyse cytogénétique	L'analyse en PCR met en évidence un taux de gène BCR-ABL $>$ 10 %, et/ou présence de $>$ 35% de cellules comportant le chromosome Philadelphie en analyse cytogénétique, et/ou il existe de nouvelles mutations
Par la suite et à tout moment au cours du traitement	L'analyse PCR met en évidence un taux de gène BCR-ABL \leq 0,1 %	Apparition d'anomalies chromosomiques additionnelles majeures dans les cellules dépourvues de chromosome Philadelphie (par ex. anomalies du chromosome 7, sans modifications dans les chromosomes 9 et 22), ou bien l'analyse PCR a mis en évidence un taux de gène BCR-ABL $>$ 0,1 %	<ul style="list-style-type: none"> • Perte de la réponse hématologique complète • Perte de la réponse cytogénétique complète/partielle • Nouvelles mutations • Perte de la RMM' • Modifications faisant apparaître un chromosome principal supplémentaire dans les cellules possédant le chromosome Philadelphie

Les objectifs de traitement, pour que l'on considère le traitement efficace, se mesure donc avec la rapidité d'obtention de ces critères. Par exemple, avec un traitement réellement optimal, il

faut qu'après seulement 3 mois de traitement, le patient soit déjà en rémission hématologique, qu'il soit en réponse cytogénétique partielle (moins de 65% de cellule présentant le chromosome Philadelphie) et concernant la réponse moléculaire, le pourcentage du transcrite BCR-ABL doit être inférieur à 10%. Si les résultats ne sont pas ceux-ci, la réponse au traitement ne sera pas considérée comme optimale mais sous optimale voire en échec de réponse.

Ensuite, après 6 mois de traitement, on réapplique les mêmes critères, mais avec un degré différent. C'est à dire qu'il faut bien sûr que le patient soit toujours en réponse hématologie complète, mais cette fois, la réponse cytogénétique doit être plus profonde (inférieur à 35% de chromosome phi dans les cellules souches) et la réponse moléculaire doit toujours être inférieure à 10%.

A 12 mois, les attentes sont encore plus élevées, cette fois le patient doit être en réponse hématologique et cytogénétique complète (plus du tout de chromosome Philadelphie dans la moelle), et le transcrite BCR-ABL doit être passé sous la barre des 1%.

Après plus d'un an de traitement, une réponse vraiment optimale serait l'obtention rapide de la réponse moléculaire majeure au minimum, c'est à dire avoir un taux de transcrite BCR-ABL en dessous de 0,1%.

Il est donc ensuite nécessaire de surveiller ces paramètres très régulièrement, afin de s'assurer qu'il n'y a pas de risque de rechute, de résistance au traitement, etc...

Enfin, concernant le suivi, les experts du réseau ELN recommandent aux patients, en cas de réponse optimale, de continuer le traitement indéfiniment jusqu'à la fin de leur vie à la dose standard. Il n'y a aucune recommandation pour un arrêt de traitement qu'il soit provisoire ou à long terme.

Par rapport au reste du monde, la France est très en avance sur les traitements de la LMC, notamment grâce à ce panel d'expert, très impliqué. En effet, de très nombreuses études cliniques se mettent en place chaque année dans les hôpitaux et les experts se réunissent ensuite pour fournir des recommandations que tous les médecins utilisent. Le matériel est également très puissant, car les seuils de sensibilité des PCR sont les plus bas du monde.

Enfin, de nombreuses associations se sont créées, c'est le cas de Fi-LMC, groupe scientifique national de médecins hospitaliers spécialisés dans la prise en charge des maladies du sang et surspécialisés dans la prise en charge de la LMC. [105] Il a été fondé en janvier 2000 et son président est le Professeur François Xavier Mahon, hématologue au CHU de Bordeaux. Des patients ont également créés des associations pour partager leur vie, atteints de la LMC. La plus importante est LMC France dont le site internet est www.lmc-france.fr.

C'est dans ce contexte que sont nées les études cliniques d'arrêt de traitement, d'abord testées avec de l'Imatinib, puis maintenant avec le Nilotinib et le Dasatinib. L'arrêt du traitement peut être envisagé chez certains patients, par l'intermédiaire d'études cliniques bien contrôlées et suivies.

III. Arrêts de traitement

A. Contexte

La LMC est une maladie considérée comme incurable il n'y a pas encore si longtemps. Avec les avancées techniques et scientifiques, la survie globale des patients a pu atteindre le niveau de la population saine, mais le traitement est un traitement assez lourd car il doit se prendre quotidiennement jusqu'à la fin de ses jours.

Récemment, grâce aux professionnels experts de la LMC cités ci-dessus (groupe ELN, Fi-LMC, etc...), des études cliniques dites « d'arrêt de traitement » ont vu le jour. Environ 40% des patients qui tentent l'arrêt de traitement (sous un grand nombre de conditions), gardent leur réponse moléculaire et ne rechutent pas, c'est ce que l'on appelle la « rémission sans traitement ». Avec seulement 5 ans de recul il est trop tôt pour parler de guérison, mais des essais prometteurs sont actuellement en cours.

1. Intérêt de l'arrêt du traitement

Avec un traitement à vie, la LMC est une maladie bien contrôlée, qui ne met plus la vie des patients en danger. Cependant, de nombreux facteurs poussent les scientifiques vers les études d'arrêt de traitement. En effet, prendre un traitement à vie est assez contraignant pour le patient.

- Le premier point important est **l'observance**. L'observance regroupe plusieurs critères, que les patients doivent respecter :
 - Respect de la dose et des horaires de prise du traitement (notamment par rapport aux repas).
 - Eviter certains aliments et médicaments pouvant interférer avec le traitement (ceci concerne donc également l'auto-médication).
 - Eviter de partir en vacances sans son ordonnance.
 - Respecter le calendrier des analyses biologiques et donc respecter les dates de rendez-vous de consultation avec son médecin.

Le plus important et celui qui nous intéresse est le respect de la prise du traitement à la dose prescrite et à des horaires réguliers. Dans ce domaine plusieurs études ont montré que la bonne observance avait un effet très important sur la réponse au traitement.

Dans une étude menée en 2008-2009 par Ibrahim et al, on a reporté que 26% des patients avaient une observance à l'Imatinib de moins de 90% et pour environ 14% des patients elle était même en dessous des 80% ! Ils ont démontré que la probabilité de perdre sa réponse

cytogénétique au bout de deux ans était bien plus importante pour les 23 patients dont l'observance était de moins de 85% que pour ceux qui avaient une bonne adhérence au traitement (26,8% versus seulement 1,5%). [44]

- Le second facteur qui pousse les patients à l'arrêt de traitement est bien sûr les effets indésirables. Selon les molécules ils peuvent être plus ou moins importants, graves et fréquents, mais ils sont dans tous les cas gênants pour le patient et peuvent être handicapants à long terme. Les événements indésirables par molécules sont détaillés dans la partie II de ce travail. Les plus courants restent les œdèmes, qui surviennent chez environ 56% des patients traités par inhibiteur de tyrosine kinase. [81] L'arrêt du traitement a donc un intérêt très important dans ce domaine.
- Le coût des thérapies vient ensuite en troisième facteur essentiel pour continuer les recherches sur les arrêts de traitement. En moyenne, le traitement d'un patient par Imatinib pendant une année coûte près de 56 millions d'euros, tandis que le traitement par un ITK 2 serait de 75 à 90 millions d'euros. L'impact sur l'économie de la santé serait très fondamental, et l'économie réalisée très conséquente.
- Enfin, d'autres problèmes entrent en compte, comme par exemple la possibilité de grossesse lorsque le traitement est arrêté. Pour rappel, la procréation est interdite sous traitement par ITK du fait du pouvoir repro-toxique de ces molécules. De même, pour les maladies intercurrentes et les traitements concomitants interdits.

Depuis plusieurs années, de très nombreux essais cliniques ont été mis en place. Que ce soit des études académiques ou industrielles, le but est toujours d'atteindre une réponse moléculaire la plus profonde possible, avec un enchaînement de thérapies particulières et des durées de traitement précises.

Avec la quantification de la réponse moléculaire profonde (au moins RM4 ou 4.5), on pourra donc envisager un arrêt de traitement, mais pas pour tous les patients. Le but est aussi d'identifier les causes de « rechute » (qui seront déterminées différemment en fonction des études mais globalement par la perte de réponse) afin de les anticiper et de les éviter.

2. Rappel sur les essais cliniques

Un essai clinique est une recherche organisée sur l'homme, en vue du développement des connaissances biologiques et médicales. Les essais portant sur des médicaments ont pour but d'analyser les propriétés pharmacologiques, l'efficacité et également d'étudier les effets

secondaires de la molécule. Tous les médicaments disposant d'une autorisation de mise sur le marché (AMM), ont fait l'objet d'essais cliniques.

Tout d'abord, la première étape pour mettre en place une étude clinique est de rédiger les documents de l'étude, notamment le protocole clinique, le design de l'étude, le consentement éclairé, etc... Tous ces documents doivent être validés par les autorités compétentes (en France c'est l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM)) et également par un comité d'éthique, composé d'un panel d'experts varié, appelé le Comité de Protection des Personnes (CPP). Une fois les autorisations requises obtenues, l'étude peut être mise en place dans les centres. Puis les centres peuvent inclure des patients et les suivre selon le protocole de l'étude. Des moniteurs sont chargés de la vérification des données tout au long de l'étude. A la fin de l'étude, les données sont collectées et analysées, puis un rapport d'étude est rendu aux autorités compétentes. Le rapport d'étude peut faire partie d'un dossier de demande d'AMM qui sera évalué par l'ANSM.

Plusieurs textes de loi régissent les essais thérapeutiques, afin de protéger les participants au maximum. On trouve donc à l'échelle internationale la déclaration d'Helsinki pour la protection des personnes, des directives européennes, et des textes de droit Français comme le code de la santé publique, des lois ou des décrets.

Il existe des essais cliniques de différentes phases, selon le nombre et l'identité des participants à la recherche. Tout d'abord, ont lieu des expérimentations précliniques, in-vitro et in-vivo (chez l'animal), qui permettent d'identifier la molécule et de la tester avant le passage à l'homme. Grâce aux textes de loi qui s'appliquent à la recherche biomédicale, les participants sont bien protégés, et doivent notamment signer un formulaire de consentement éclairé, avant toute procédure liée à une étude. Dans ce formulaire, expliqué par le médecin, on trouve toutes les informations relatives à la recherche : l'objectif, le rationnel, le design, les bénéfices attendus, les alternatives, les examens qu'il faudra effectuer, le rythme des visites, les événements indésirables qui pourraient survenir, le droit de refus et de retrait de consentement, l'avis des autorités compétentes, l'assurance, etc...

C'est dans ce contexte que la molécule découverte est testée pour la première fois chez l'homme lors de ce que l'on appelle une phase I. Il s'agit de petites études, sur un nombre très réduit de participants mais qui seront très étroitement surveillés. Le but de cette phase est de déterminer la tolérance du médicament chez l'homme selon la dose et de découvrir ses effets indésirables. C'est la seule phase où les participants peuvent être des volontaires sains et être rémunérés, bien que cela ne soit pas le cas pour les études en cancérologie (dans ce domaine, dès les études de phase I, les participants sont des patients atteints du cancer étudié et sans alternative thérapeutique).

Une fois ces informations recueillies, si la tolérance est bonne, le médicament passera en phase II, cette fois-ci sur des malades, et à plus grande échelle. Cette phase sert à déterminer la dose optimale pour une efficacité optimale.

Ensuite, les essais de phase III sont généralement des essais comparatifs avec les molécules de référence déjà existantes sur le marché. Ce sont des études à très grande échelle, permettant de confirmer les effets thérapeutiques, de les comparer aux autres molécules et de préciser les événements indésirables. Le dossier d'AMM peut être soumis à ce moment-là. L'ANSM fera l'évaluation du bénéfice par rapport au risque du produit, et lui donnera une note d'amélioration par rapport aux autres molécules déjà présentes sur le marché. Cela permettra également de fixer le prix auquel la firme pharmaceutique pourra vendre son médicament.

B. Arrêt de l'Imatinib

1. Les premiers essais d'arrêt

C'est en 2004, alors que l'Imatinib est actuellement le traitement de référence, que les 3 premiers patients atteints de LMC ont décidé de tenter d'arrêter leur traitement. Par ailleurs, il avait déjà été démontré auparavant, qu'arrêter le traitement chez des patients ayant une maladie résiduelle détectable (un transcrite BCR-ABL détectable en RQ-PCR), menait inévitablement vers une rechute. C'est pourquoi ces patients se sont assurés d'avoir un transcrite indétectable depuis plusieurs mois lors de l'arrêt. [49] Le résultat n'a tout de même pas été très concluant.

La première patiente était une femme de 34 ans, qui avait d'abord été traitée par interféron puis par Imatinib. Au bout de 9 mois d'Imatinib elle avait obtenu la réponse moléculaire complète avec un transcrite indétectable, et elle décida d'arrêter le traitement pour une grossesse, après 12 mois de maintien du transcrite indétectable. Elle rechuta au bout de 3 mois, avec 5% de cellules porteuses du chromosome Ph. Le traitement par Imatinib a été immédiatement repris, et 3 mois plus tard, plus aucune cellule de la moelle ne présentait de chromosome Ph et le transcrite BCR-ABL était redevenu indétectable.

Le second patient est un homme de 70 ans, toujours traité par Imatinib. Il avait atteint la réponse cytogénétique complète en 3 mois et un transcrite indétectable au bout de 6 mois. Il décida d'arrêter le traitement à cause d'un effet indésirable trop gênant. Il rechuta au bout de 6 mois, avec 100% de cellules hématopoïétiques présentant le chromosome Ph. Lui aussi repris immédiatement le traitement et retrouva sa réponse cytogénétique complète au bout de 6 mois, mais pas son transcrite indétectable.

Enfin, la troisième patiente est une femme de 40 ans, dont le traitement par interféron n'a pas fonctionné, ce qui a mené à la progression de la maladie en phase accélérée. Elle débuta le traitement par Imatinib, mis 24 mois à obtenir un transcrite indétectable, et le conserva pendant près de 18 mois. Elle décida d'arrêter le traitement pour le même désir de grossesse que la première

patiente. La réapparition de cellule de moelle positive au chromosome Ph (6%) arriva au bout de 7 mois sans traitement. La patiente n'a pas souhaité reprendre le traitement.

L'arrêt de traitement chez ces trois premiers patients a donc permis de confirmer les recommandations de l'époque, c'est à dire de continuer le traitement à vie, car ils ont prouvé que la maladie reprenait le dessus très rapidement, même après des mois de transcrit non détectable. De plus, la reprise du traitement chez les deux premiers patients, nous montre qu'il n'y a pas de résistance à l'Imatinib mais que le traitement au long court est nécessaire. [12]

Peu après, en 2007, une étude pivot, institutionnelle, a été mise en place en France, par le groupe Fi-LMC. Dans cette étude, le critère d'inclusion était donc d'avoir un transcrit indétectable en RQ-PCR depuis au moins deux ans, sous traitement par Imatinib. Ils pouvaient également avoir reçu ou non de l'interféron. Le monitoring était très strict afin d'observer au plus vite la réapparition du transcrit en cas de rechute. Seulement 12 patients ont été inclus, 6 ont rechutés dans les 6 premiers mois, mais les 6 autres étaient toujours en rémission sans rechute au bout de 18 mois de suivi. Par ailleurs, on note que parmi ces 6 patients n'ayant pas rechutés, tous avaient reçu de l'interféron avant l'Imatinib. [78] Les scientifiques ont cherché les facteurs associés avec la persistance de la rémission sans traitement face aux rechutes. Aucun facteur n'est sorti du lot, à l'exception d'une tendance : les patients ayant rechutés avaient une durée moyenne d'obtention de la réponse moléculaire complète plus longue (11 mois versus 8,5 mois), que les patients n'ayant pas rechuté. Attention tout de même à prendre en compte le faible nombre de patient inclus dans cette étude, ce n'est donc qu'une tendance et pas une hypothèse vérifiée statistiquement. Mais cela va donc dans le sens que plus un patient est répondeur et plus son transcrit baisse rapidement, meilleure sera sa réponse. C'est également en corrélation avec les critères de l'ELN, si les objectifs ne sont pas atteints en une certaine période de temps, la réponse n'est pas considérée comme optimale. [3]

En dehors de cette étude, 9 autres patients ont pu arrêter le traitement, et 6 ont rechuté, soit un taux de rechute de 66%. Dans l'étude ci-dessus, seulement 6 patients sur 12 ont rechuté, soit un taux de rechute de 50%. La différence que l'on constate concerne la durée de rémission complète (transcrit indétectable) avant arrêt du traitement. En effet, elle était légèrement supérieure (32 mois en moyenne) dans cette étude que la moyenne pour les autres patients (seulement 14 mois). Il est donc évident que la réponse moléculaire continue de diminuer mais on ne peut pas le quantifier, du fait de la sensibilité des machines de RQ-PCR. C'est ce que l'on appelle la maladie résiduelle. D'un point de vue scientifique, si on considère que le temps nécessaire aux cellules leucémiques pour se multiplier par 2 est de 8 jours, en 6 mois seulement, une seule cellule qui prolifère peut atteindre 10^7 cellules ! C'est ce qui explique les rechutes assez rapides que l'on a observé.

Cependant, il reste à déterminer si, chez les patients qui ne rechute pas, est-ce qu'il n'y a plus du tout de maladie résiduelle ? Ou bien les cellules restantes ne sont plus en état de prolifération ? Cette question n'est encore pas résolue à l'heure actuelle. [78]

2. STIM

C'est donc dans ce contexte que l'étude STIM, ou STop IMatinib a été mise en place par le groupe Fi-LMC. L'Imatinib était toujours le traitement de référence à l'époque, il induisait des réponses stables et prolongeait les survies globales sans événement et sans progression. [22, 65] Il s'agit d'une étude multicentrique, prospective, ayant inclus 100 patients entre juillet 2007 et décembre 2009. Les patients ont été suivis par RQ-PCR quantitative, ce qui permet de suivre l'évolution du transcrit des cellules leucémiques BCR-ABL, jusqu'à arriver au transcrit indétectable ou réponse moléculaire complète (RMC). Les patients devaient avoir été traités par Glivec (Imatinib) depuis minimum 3 ans et être en réponse moléculaire complète (transcrit indétectable) depuis au moins 2 ans. Lors de la phase d'arrêt, le traitement était réintroduit lorsque le transcrit était redevenu détectable sur deux prélèvements consécutifs. Les prélèvements étaient effectués tous les mois pendant la première année d'arrêt puis tous les deux mois. [42]

Voici les résultats de cette étude [60] :

-On a assisté à une rechute moléculaire chez 61% des patients, dont 95% dans les 6 premiers mois, et seulement 3 rechutes tardives (au 19^{ème}, 20^{ème} et 22^{ème} mois d'arrêt). Donc 40% des patients sont restés en rémission sans traitement après 2 ans de suivi.

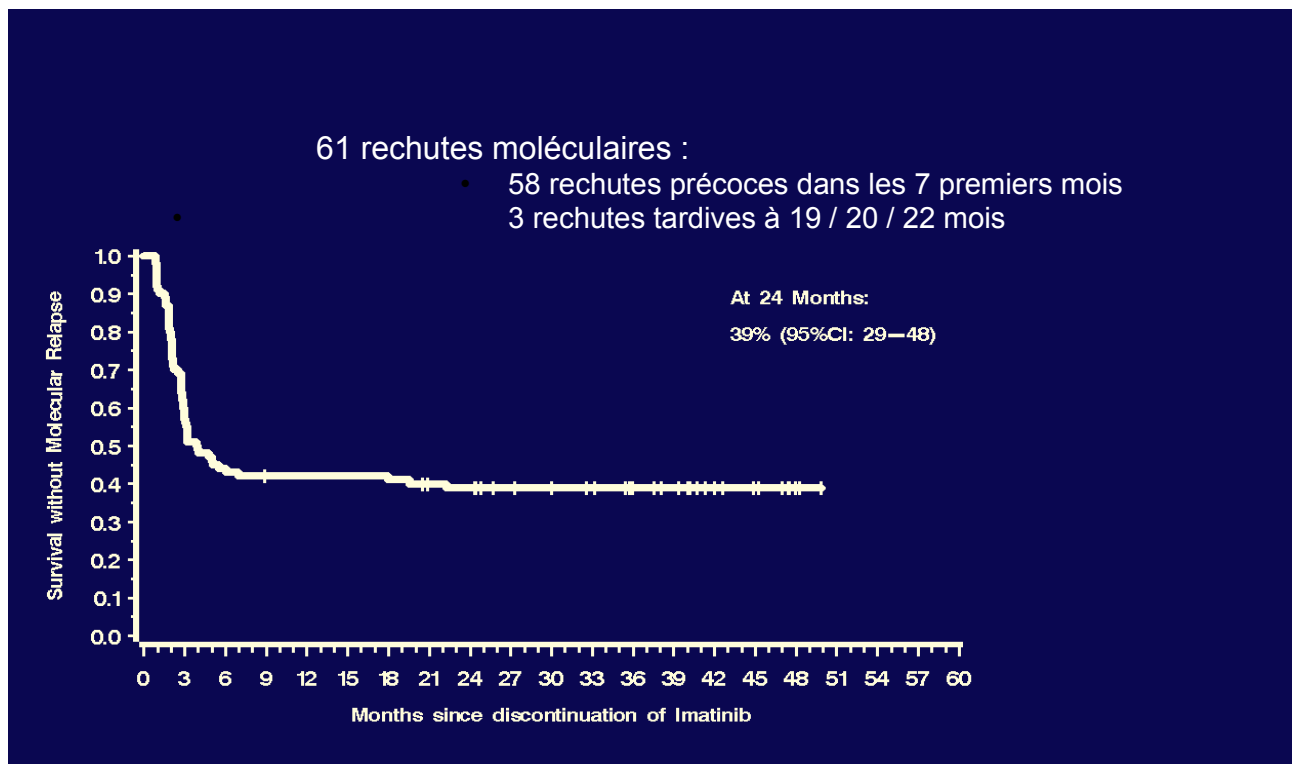


Figure 30 : Etude STIM - Courbe des rechutes moléculaires après arrêt de l'Imatinib : majorité des rechutes dans les 6 premiers mois (58 sur 61), puis 3 rechutes tardives seulement. Au total 61% des patients ont rechutés et 39% sont resté en rémission sans traitement à 2 ans de suivi.

- Tous les patients ayant rechutés ont repris l'Imatinib et y ont été sensible de nouveau.
- L'économie réalisée grâce à ces arrêts de traitement a été de plus de 4 milliards d'euros.
- Les facteurs prédictifs de rechute identifiés sont le **score de Sokal** (54% sans rechute à 18 mois lorsque le score Sokal est faible, comparé à 13% si le score est élevé), et la **durée de traitement par Imatinib** avant l'arrêt du traitement (plus elle est longue et plus le pronostic associé est bon).

En conclusion, cette étude démontre que si un patient a une réponse moléculaire profonde et stable, il est possible d'arrêter le traitement sous certaines conditions.

3. A STIM

A STIM (ou According to Stop IMatinib) est une étude observationnelle dont la cohorte évaluée était très similaire à l'étude précédente STIM 1 mais avec des critères un peu moins stricts. En effet, lors du suivi moléculaire des patients inclus dans l'étude STIM, il a été remarqué que certains patients n'avaient pas une réponse moléculaire très stable dans le temps : le transcrit était détectable à certain point puis redevenait indétectable ensuite. Les chercheurs se sont donc posés la question de savoir si la définition de rechute telle qu'elle était définie jusqu'à présent (à savoir réapparition du transcrit), n'était pas à revoir. Les critères d'inclusion dans cette étude étaient donc les mêmes que pour l'étude STIM, à l'exception que les patients pouvaient avoir eu quelques prélèvements montrant un transcrit détectable avant l'entrée dans l'étude et le critère de reprise du traitement était la perte de la RMM (RM3) et non plus juste la réapparition du transcrit.

Au total 80 patients ont été inclus dans cette étude. La durée médiane de traitement par Imatinib avant arrêt est de 79 mois (30-145), et la durée de réponse moléculaire complète (transcrit indétectable) était de 41 mois (24-96). Parmi ces 80 patients, 42 patients (52%) étaient classés à l'inclusion comme ayant une RMC instable (au moins un prélèvement où le transcrit était détectable). 29 patients, soit 36% des patients ont perdus leur RMM et ont donc repris le traitement. La durée médiane sans traitement pour ces patients est de 4 mois, parmi lesquels 4 l'ont perdu après 6 mois sans traitement. Par correspondance avec les critères de l'étude STIM, les résultats de cette étude auraient été différents : le taux de rechute se serait élevé à 56% (45 patients) après 4 mois sans traitement. La proportion de patient en rémission sans traitement a donc été calculée à 64% à 12 et 24 mois de suivi et à 61% à 36 mois de suivi. C'est un résultat très favorable.

Par ailleurs, dans cette étude, on observe une petite différence significative entre les patients ayant reçu de l'interféron avant l'Imatinib, versus les patients recevant de l'Imatinib en première ligne : les patients ayant reçu de l'interféron avaient un plus faible taux de rechute à 24 mois (28,8% vs 44,7%). Enfin, encore une fois, tous les patients ayant repris le traitement ont retrouvé leur réponse moléculaire profonde.

La conclusion de cette étude est donc la validation de la perte de la RMM comme critère de réintroduction du traitement. Ce choix est basé sur deux observations, la première étant que certains patients ont eu un taux de transcrit fluctuant lors de leur arrêt de traitement mais n'ont tous de même pas rechuté selon les critères de STIM. Et la seconde est qu'il est plus facile d'utiliser un critère comme la perte de la RMM qui est standardisé. [77]

4. Etude Australienne TWISTER

Cette autre étude est similaire à l'étude STIM, et a confirmé ses résultats. Les patients incluables étaient des adultes, précédemment traités par Imatinib au minimum 36 mois et ayant un transcrit indétectable depuis au moins 24 mois. Dans cette étude, la reprise du traitement était définie par un seul prélèvement montrant la perte de la RMM ou la réapparition du transcrit sur deux prélèvements consécutifs. Le rythme des prélèvements était mensuel pendant la première année d'arrêt, puis tous les deux mois et enfin trimestriel ensuite. L'objectif principal était la proportion de patient ne présentant pas de rechute sans traitement pendant 2 ans.

Au total, 40 patients ont été inclus entre août 2006 et août 2011. Dix-neuf patients avaient été traités par Imatinib en première intention et 21 avaient reçus un autre traitement, y compris de l'interféron. Au moment de l'analyse (1^{er} décembre 2012), les patients avaient au minimum 15 mois de suivi (médiane 42 mois), et 18 patients (45%) étaient toujours en rémission sans traitement. Les patients avaient reçu une médiane de 70 mois d'Imatinib, ont mis 32 mois médians (de 3 à 73 mois) à atteindre la réponse moléculaire complète et sont restés entre 24 et 82 mois en RMC avant arrêt du traitement. Sur les 22 rechutes moléculaires observées, 15 (68%), ont eu lieu dans les 6 premiers mois après l'arrêt de l'Imatinib et les autres entre le 6^{ème} et le 27^{ème} mois. L'analyse statistique décrit un taux de rémission sans traitement à 2 ans égal à 47,1%. Il est important de préciser une nouvelle fois que tous les patients ayant rechutés ont tous été re-sensible à l'Imatinib un fois réintroduit. Tenter l'arrêt du traitement ne présente pas un grand danger pour les patients. Par ailleurs, chez 5 des 18 patients n'ayant pas rechutés, quatre ont montré un prélèvement avec un transcrit BCR-ABL détectable et un patient a même eu deux fois un transcrit détectable. [76]

5. STIM 2

Les études STIM et TWISTER ont démontrées qu'il était possible d'arrêter l'Imatinib chez les patients ayant atteints une réponse moléculaire profonde et durable. Dans ces deux études, les patients pouvaient avoir reçu de l'interféron en première ligne de traitement avant l'Imatinib, c'est le cas de près de 50% des patients inclus, ce qui résultait en une cohorte pas très homogène pour l'évaluation. C'est pourquoi une nouvelle étude, STIM2, a été mise en place par le groupe FiLMC, dans laquelle les patients devaient avoir reçu uniquement de l'Imatinib.

Au total 124 patients français ont été inclus en avril 2011 et juin 2013. A 12 mois de suivi, 48 patients ont rechuté (45 dans les 6 premiers mois et 3 entre le sixième et le douzième mois). Par ailleurs, 41 patients montraient des signes de fluctuation du transcrit, confirmant que sa réapparition ne signifiait pas obligatoirement une rechute. Enfin, tous les patients ont été sensible de nouveau à un inhibiteur de tyrosine kinase après leur rechute, comme dans toutes les autres études pour le moment. [59]

6. Etudes Coréennes KID

Enfin, l'étude KID (Korean Imatinib Discontinuation Study), a pour but d'identifier les facteurs prédictifs pour un arrêt de traitement plus sûr, avec moins de risque de rechute à long terme. Au total, 90 patients en phase chronique, ayant reçu de l'Imatinib en première ligne depuis plus de 3 ans et ayant un transcrit BCR-ABL indétectable depuis au moins 2 ans ont été inclus jusqu'en juillet 2014. Les patients suivis au minimum 12 mois ont été analysés. La reprise du traitement après l'arrêt est définie par la perte de la RMM sur 2 prélèvements consécutifs à 4 semaines d'intervalle lors des 6 premiers mois d'arrêt, puis toutes les 8 semaines jusqu'à un an et enfin toutes les 12 semaines.

Pour les 90 patients inclus (38 hommes et 52 femmes), la durée médiane de traitement par Imatinib avant l'arrêt est de 80,9 mois et la durée médiane d'observation du transcrit indétectable est de 39,9 mois. Les pourcentages de patient avec un score Sokal bas, intermédiaire ou élevé sont respectivement de 32%, 26% et 17% (pour les autres le score sokal n'était pas connu). Suite à l'arrêt de l'Imatinib, 45 patients ont perdu leur transcrit indétectable sur au moins un prélèvement. Huit l'ont retrouvé dès le prélèvement suivant et n'ont donc pas repris le traitement, mais 37 ont dû reprendre le traitement (avec une durée médiane d'arrêt de 3,3 mois). Les pourcentages de Rémission Sans Traitement (TFR ou Treatment Free Remission) (sans perte de la RMM) à 12 et 24 mois sont respectivement de 62,2% et 58,5%. Tous les 37 patients ayant perdus leur RMM ont été retraités et tous ont fini par retrouver leur RMM en quelques mois.

La particularité de cette étude est l'évaluation de l'aggravation ou même de l'apparition de douleur musculo-squelettique et de prurit suite à l'arrêt de l'Imatinib. Ce sont deux effets indésirables connus de l'Imatinib, et étonnamment on les retrouve chez 30% des patients (ici 27 patients) après l'arrêt de l'Imatinib. Il a été prouvé statistiquement ($P=0,003$) par cette étude, que les patients présentant ce syndrome de sevrage post-ITK, avaient une plus grande probabilité de garder leur rémission sans traitement plus longtemps que les autres (79,5% versus 49,2%).

Par ailleurs, une nouvelle fois la durée de traitement par Imatinib avant arrêt du traitement semble avoir une importance sur le taux de rechute. C'est le facteur prédictif le plus étudié et celui qui semble avoir le plus d'impact. Enfin, le taux de transcrit résiduel à l'entrée dans l'étude avait

été évalué. Il semblerait que plus la réponse est profonde, et plus la proportion de patients ne rechutant pas est élevée (63,8% des patients sans maladie résiduelle à la baseline ont gardé leur RMM contre seulement 37,5% des patients montrant une maladie résiduelle (réponse moins profonde)). [52, 100]

7. EURO-SKI (European Stop Tyrosine Kinase Inhibitor)

L'étude EURO-SKI (European Stop Tyrosine Kinase Inhibitor), est une étude européenne d'arrêt de traitement. A la fin des inclusions en 2014, environ 700 patients avaient été recrutés, c'est une des plus grosses études jamais réalisée sur ce sujet. Une analyse intermédiaire des 200 premiers patients issus de 8 pays d'Europe, qui ont été suivis pendant au moins 12 mois, a été présentée au congrès ASH 2014. Cette étude présente des critères d'éligibilité plutôt souples contrairement à l'étude STIM qui exigeait un transcrit indétectable (MR4,5) pendant au moins deux ans pour l'arrêt et une reprise du traitement lors de la réapparition du transcrit. Celle-ci exige seulement une MR4 (BCR-ABL < 0,01 %) pendant plus de 1 an, un traitement par TKI de 3 ans minimum, et une réinstauration du traitement lors de la perte de la réponse moléculaire majeure (RMM, BCR-ABL > 0,1 %).

Les patients pouvaient avoir été traités par ITK en première ligne, parmi eux 97% étaient traités par Imatinib, et seulement 1,5% par Dasatinib ou Nilotinib. Par ailleurs, 24 patients étaient traités en seconde ligne par un ITK (16 par Dasatinib, 6 par Nilotinib et 2 par Imatinib). Lors de cette analyse intermédiaire, on a établi que la durée médiane de traitement avant l'arrêt était de 8 ans (de 3 à 13 ans) et la durée de réponse MR4 avant arrêt était de 5,4 ans (de 1 à 12 ans). Au total, 111 des 200 patients (56 %) sont restés sans traitement pendant 12 mois après l'arrêt de l'ITK et 89 ont rechuté. Comme dans l'étude STIM, la plupart des récurrences sont intervenues très rapidement, au cours des 6 premiers mois (77 sur 89). Parmi les 89 patients qui ont présenté une récurrence, au moment de l'analyse intermédiaire, 76 sur 89 avaient retrouvés au moins une RMM. Aucun patient n'a progressé vers une phase avancée de la maladie.

En termes de facteurs pronostiques de récurrence, la durée du traitement antérieur par TKI (47% de rechute pour les patients ayant reçu moins de 8 ans d'ITK, versus 26% si la durée est supérieure à 8ans) et le fait d'avoir obtenu une réponse MR4 durant plus de 5 ans avant l'arrêt du traitement (32% de rechutes contre 46%) semblent avoir un impact bénéfique, tandis que la profondeur de la réponse moléculaire (MR4 vs MR4.5 vs MR5) avant l'arrêt du traitement n'a pas eu d'influence sur le risque de récurrence. Par ailleurs, 31 des 200 patients ont été victimes du syndrome de sevrage post ITK, déjà apparu lors de l'étude Coréenne KID. Les effets répertoriés ont été principalement des douleurs musculo-squelettiques, des sueurs, une fatigue, une perte de poids, des éruptions cutanées et des épisodes dépressifs. Aucun de ces événements n'ont été très sévère, mais le débat est en cours pour savoir comment les contrôler et les prévenir. Enfin, les économies estimées pour les

systèmes de santé, dans les 8 pays de l'étude EURO-SKI, sont estimés à plus de 7 millions d'euros. [98]

Un tableau récapitulatif de ces études d'arrêt de l'Imatinib est disponible en annexe 1 (tableau XII).

Par conséquent, l'arrêt de l'Imatinib chez les patients en réponse moléculaire profonde, traités par Imatinib depuis longtemps est donc une réelle possibilité. Ces études ont également prouvé qu'il est sans danger de tenter l'interruption du traitement car tous les patients ayant rechuté ont tous retrouvé leur RMM en quelques mois et aucun patient n'a progressé vers une phase plus avancée de la maladie. L'enjeu actuel est maintenant de déterminer les facteurs prédictifs au maintien de la TFR, afin de cibler les patients éligibles et de leur proposer plus systématiquement. Pour le moment, le seul facteur que l'on retrouve dans toutes les études et pour lequel les scientifiques sont tous d'accord est la durée de traitement par Imatinib avant l'arrêt, c'est ce que l'on va appeler l'imprégnation thérapeutique. En revanche, le score Sokal, le sexe, le traitement antérieur par interféron, la durée de la réponse profonde avant arrêt, la cinétique d'obtention de la réponse profonde, l'âge et même la profondeur de la réponse moléculaire lors de l'arrêt sont tous des facteurs potentiels mais dont les résultats sont conflictuels. Par exemple, les études A-STIM et EURO-SKI, démontrent que la profondeur de réponse avant l'arrêt (RM4, RM4.5, transcrit indétectable, etc...) ne joue pas comme facteur pronostique alors que l'étude Coréenne KID démontrerait que si. Il n'y a donc pas encore de terrain d'entente entre tous les experts sur les facteurs pronostiques à une bonne TFR.

C. Etude d'arrêt de traitement des ITKs de seconde génération

Suite aux études d'arrêt de l'Imatinib, les scientifiques se sont posés la question de savoir ce qu'il en était de l'arrêt des ITK de seconde génération : le Dasatinib et le Nilotinib. Ces molécules ont prouvé leur efficacité et sont maintenant largement utilisées en première ou seconde ligne de traitement. Elles permettent notamment à plus de patients d'atteindre la réponse moléculaire complète, et donc potentiellement augmentent le nombre de patients éligibles à l'arrêt du traitement.

C'est en 2011 que les trois premiers patients sous Dasatinib tentent d'arrêter leur traitement. Ces patients sont traités par le Dasatinib suite à un échec de traitement par l'Imatinib. Deux patients sur les 3 sont restés en rémission sans traitement pendant plusieurs mois (respectivement 27 et 18 mois, mais le dernier a rechuté directement, après à peine 4 mois d'arrêt). [75]

1. STOP ITK-2G

La même année, l'équipe institutionnelle ayant déjà menée les premières études d'arrêt des ITK, Fi-LMC, décide de lancer une nouvelle étude, cette fois d'arrêt des ITKs de seconde génération (Stop-ITK2). Les patients pouvant être inclus recevaient un traitement par ITK2 soit en première intention (mais très peu de patient), soit après une première ligne par un ITK de première génération. Dans ce cas, ils pouvaient l'avoir arrêté soit pour intolérance (la majorité des cas), soit pour résistance. Pour tenter l'arrêt du traitement, les patients devaient bien sûr être en réponse moléculaire complète avec un taux de transcrit inférieur ou égal à 4,5log depuis au moins 2 ans. C'est la grande différence avec les études précédentes, qui demandaient uniquement un transcrit indétectable. Maintenant on quantifie la réponse moléculaire profonde. On va également à partir de maintenant, utiliser les laboratoires standardisés (dit EUTOS) déjà abordés dans la partie II de ce travail, qui ont une sensibilité plus importante et permettent justement de quantifier les réponses profondes. Une fois le traitement arrêté, le taux de transcrit a été évalué tous les deux à trois mois, afin de détecter au plus vite une éventuelle rechute (définie ici par la perte de la RMM, puisque l'étude A-STIM a permis de prouver que c'était le critère le plus approprié), et en cas de rechute, le Dasatinib ou le Nilotinib étaient repris. [71]

Au total, 52 patients ont été inclus. Ils ont été traités par un ITK pendant une durée médiane de 6,5 ans et étaient en RMC sur une durée médiane de 2,3 ans selon un rapport de l'ASH et ont été suivi entre 12 et 60 mois. Lors de cette étude, 24 des 52 patients (soit 46%) ont perdu leur RMM et ont dû reprendre leur traitement par ITK2 après une médiane de 3,7 mois sans traitement. Les pourcentages estimés de TFR à 12 et 24 mois sont respectivement de 61.4% et 57%. Les rechutes ont presque toutes eu lieu lors des premiers mois de l'arrêt de traitement (on sait maintenant que c'est toujours le cas, les premiers mois sont les plus critiques), mais on a également observé dans cette étude deux rechutes tardives, à 24 et à 37 mois.

En conclusion, il est également possible d'arrêter le traitement par ITK de seconde génération dans ce type de population mais les investigateurs doivent rester très vigilants même plusieurs années après l'arrêt du traitement. Par ailleurs, après réintroduction du traitement, ce patient (ayant rechuté à 37 mois) a pu retrouver sa réponse moléculaire profonde rapidement. [99] De plus, lors de l'évaluation régulière des taux de transcrits, certains de ces patients ont montrés une ou plusieurs fois, des transcrits faiblement détectables au cours de l'étude. Cette information est importante pour démontrer qu'à priori un très faible taux de maladie résiduelle est toujours présent, n'empêchant tout de même pas la rémission sans traitement mais nous nous permettant pas d'affirmer que la maladie ne reviendra avec le temps (exemple le patient ayant rechuté après 37 mois sans traitement). Un suivi plus long est donc évidemment nécessaire pour confirmer ou démentir cette hypothèse. [72]

Enfin, cette étude a permis de révéler une autre information importante qui est le fait qu'il est important de noter pourquoi l'Imatinib avait été stoppé : est-ce pour intolérance ou pour résistance ?

En effet, il a été démontré qu'un switch de l'Imatinib vers un ITK 2 en cas de réponse sous-optimal au traitement ou en cas de résistance est associé avec un moins bon pronostic. L'arrêt du traitement a en effet moins de chance de réussir (41,7% en TFR à 12 mois versus 67,3% pour les patients intolérants à l'Imatinib). Il est important de préciser qu'un nombre très restreint de patient ayant reçu un ITK2 en première ligne ont été inclus, peu de données sont déjà disponible pour cette population. En revanche, les caractéristiques de l'âge, du sexe, de la prise antérieure ou non d'interféron, de la nature de l'ITK2, des durées de traitement et de réponse profonde avant arrêt, ne semble pas avoir d'impact sur la durée de TFR. [73]

2. Arrêt du Dasatinib : DASFREE

Dasfree (Etude d'arrêt du Dasatinib chez des patients LMC-PC en réponse moléculaire profonde (MR4.5) stable) est une étude lancée par Bristol Myers Squibb actuellement en cours de recrutement depuis septembre 2

014. Son objectif est d'évaluer la proportion de patient qui seront en TFR 12 mois après l'arrêt du traitement. [106] Aucun résultat n'est disponible pour le moment.

3. Arrêt du Nilotinib : la famille ENEST

Le laboratoire Suisse Novartis, ayant développé l'Imatinib puis le Nilotinib, a lancé des études d'arrêt du Nilotinib, chez plusieurs catégories de patients, et répondant à des critères différents. Il existe donc toute une famille d'études, entrant dans une stratégie d'évaluation, permettant d'évaluer les conditions optimales d'arrêt du Nilotinib chez les patients atteints de LMC.

La famille ENEST a commencé avec l'étude **ENEST1st**, permettant au Nilotinib d'obtenir l'AMM en traitement de première ligne pour les patients atteints de Leucémie Myéloïde Chronique en Phase Chronique.

Puis c'est l'étude **ENESTnd** qui a été lancée, nous en avons déjà parlé, qui a démontré que le Nilotinib permet l'obtention d'un taux plus important de réponses moléculaires profondes chez les patients nouvellement diagnostiqués, comparé à l'Imatinib.

Il y a ensuite eu l'étude **ENESTCmr**, (possibilité pour les patients sous Imatinib de soit continuer l'Imatinib, soit changer de traitement pour le Nilotinib). Cette étude a démontré que les patients randomisés dans le bras Nilotinib étaient deux fois plus nombreux que ceux du bras ayant continué l'Imatinib à obtenir une réponse RM4.5 en 12 mois, prouvant l'intérêt du switch d'un ITK de première génération vers un ITK de seconde génération.

Enfin, sont arrivés les études d'arrêts de traitement : **ENESTPath** (pour les patients sous Imatinib, modification du traitement vers Nilotinib puis arrêt du Nilotinib si la réponse moléculaire complète est atteinte), **ENESTFreedom** (pour les patients sous Nilotinib en première ligne, ayant une réponse moléculaire profonde) et **ENESTop** (pour les patients sous Nilotinib en seconde ligne après un traitement par Imatinib, ayant également atteint la rémission moléculaire profonde).

i. Etude ENESTPath – Arrêt du Nilotinib

Il s'agit d'une étude interventionnelle et internationale, menée par le laboratoire Novartis, mise en place à partir d'avril 2013. Le nom officiel complet de l'étude est : Étude prospective de phase III, randomisée, en ouvert, comparant deux durées différentes de traitement de consolidation par Nilotinib 300 mg x 2 /j et destinée à évaluer le taux de rémission sans traitement chez les patients atteints de leucémie myéloïde chronique à chromosome Philadelphie positif (LMC-Ph+) : ENESTPath. Le but est donc de définir la durée de traitement de consolidation optimale par Nilotinib 300mg deux fois par jour, pour que les patients restent en rémission sans traitement, au moins 12 mois après arrêt du traitement. [103]

Pour rappel, il a été démontré auparavant grâce à l'étude ENESTcmr, que les patients ayant reçu de l'Imatinib en première intention pendant au moins deux ans, sans obtenir la réponse moléculaire majeure (RM4.0), ont 50% de chance de l'obtenir en changeant de traitement pour le Nilotinib. On considère également que la réponse moléculaire majeure (RM4.0) est un pré-requis pour tenter l'arrêt du traitement. Selon ces études, grâce au changement de traitement vers le Nilotinib, 50% des patients vont donc obtenir le seuil de réponse leur permettant d'arrêter le traitement. Cependant, la durée de traitement par Nilotinib avant l'arrêt du traitement qui permettrait au maximum de patient de rester en rémission sans traitement le plus longtemps possible n'est pas encore défini. Ce protocole d'essai clinique a donc pour but d'évaluer l'impact d'une durée plus ou moins longue (12 mois versus 24 mois) de consolidation par Nilotinib, sur le taux de rechute moléculaire après 12 mois d'arrêts de traitement (phase de TFR (Treatment Free Remission)). Le critère d'évaluation est donc le nombre de patient qui seront toujours en TFR, sans rechute moléculaire (au moins en RM4.0), au bout des 12 premiers mois d'arrêt de traitement, donc soit après 12 mois de traitement de consolidation, soit après 24 mois.

Les patients devaient donc est en phase chronique, avoir reçu au moins 2 ans d'Imatinib et ne pas encore avoir atteint la RM4. Au total, 619 patients ont été inclus dans cette étude, entre avril 2013 et avril 2015. [103]

Une analyse intermédiaire pour les 300 premiers patients inclus a été effectuée, et révèle les premiers résultats de cette étude. « Concernant les caractéristiques des patients, on retiendra que la proportion de score de Sokal élevé est celle attendue (20%) et que la moitié des patients environ

avaient été exposés à un traitement par Imatinib pendant une durée de plus de 5 ans. La médiane de temps d'exposition au Nilotinib est très courte (15 mois), trop courte pour évaluer l'objectif principal de Rémission sans traitement. Cette analyse permet cependant d'évaluer la réponse moléculaire induite par le Nilotinib chez des patients exposés pendant au minimum 2 ans à l'Imatinib. A 12 mois, les taux de RM4 et RM4,5 sont respectivement de 57,4 et 30,5%. Il existe une différence significative de réponse entre les patients en RMM à l'inclusion versus ceux qui ne l'étaient pas : 64,8% de RM4 à 12 mois versus 30,8%. Ce résultat est exposé ci-dessous (figure 31)». [92]

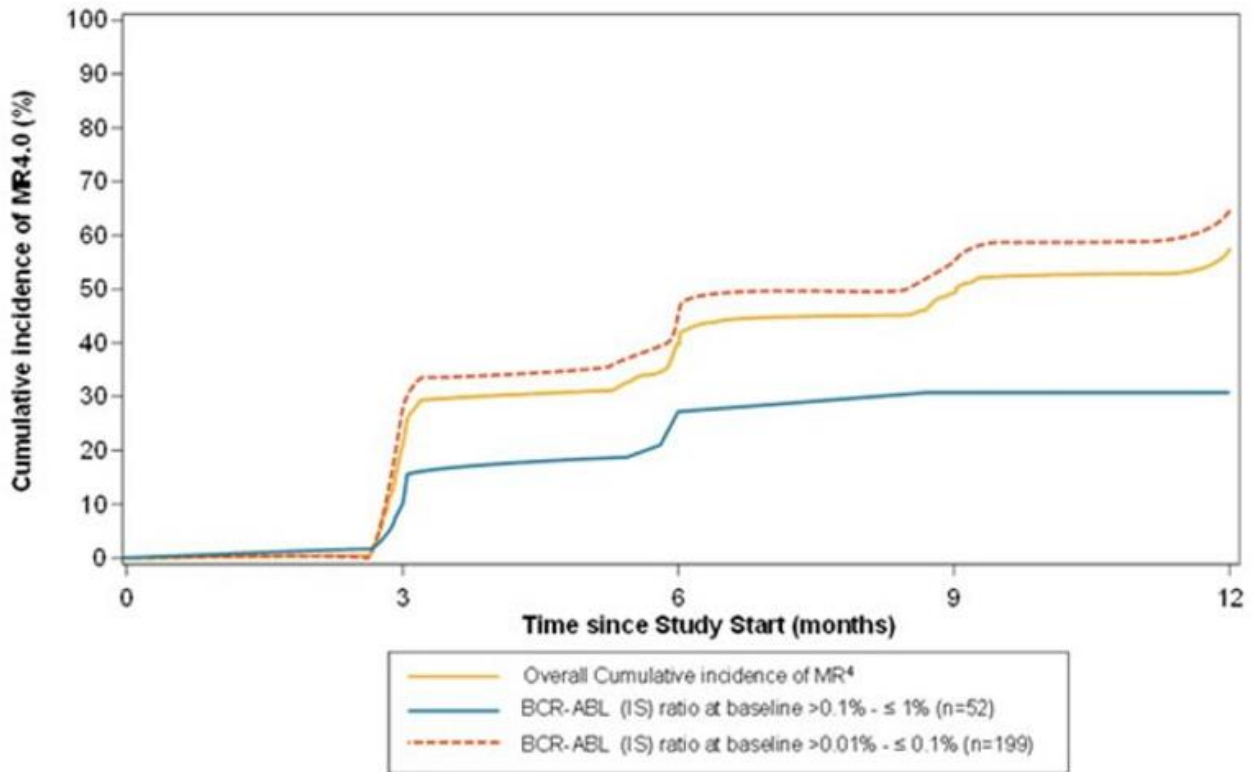


Figure 31 : Etude ENESTPath - Incidence cumulée des RM4 après traitement par Nilotinib suite à l'Imatinib : l'incidence augmente, le switch de l'Imatinib vers le Nilotinib a donc un effet positif.

Concernant les effets secondaires, ils correspondent aux EI connus sous Nilotinib. La plupart étant de grade 1 ou 2, résolus grâce à des traitements concomitants ou des interruptions ou réductions du Nilotinib. Ces effets sont : prurit (19%), migraine (9%), rash cutané (9%), douleur abdominale (8%) et constipation (7%). Vingt-trois patients (7,6%) ont présenté des effets secondaires cardio-vasculaires et leur incidence était de 5% pour les grades 3 et 4 (1,7% d'artériopathie oblitérante, 3,7% de coronaropathie). Par ailleurs, aucun patient n'a quitté l'étude pour une progression vers une phase accélérée ou blastique. [102]

Au total cette analyse montre qu'un passage au Nilotinib à des doses plus faibles que lors des précédentes études (ici 300 mg BID contre ENESTcmr à 400 mg BID), induit des réponses

moléculaires RM4 et RM4,5 plus nombreuses, et sans que ces réponses aient été atteintes sous Imatinib. Donc le passage au Nilotinib pour les patients n'atteignant pas une réponse moléculaire profonde sous Imatinib, leur permettrait d'augmenter leur chance d'atteindre cette réponse et par conséquent d'être éligible à l'arrêt du traitement.

Cependant, un recul plus important est nécessaire pour évaluer la rémission sans traitement puisqu'aucun patient n'avait encore interrompu son traitement au moment de l'analyse. [102]

ii. ENESTop

Il s'agit d'une autre étude Novartis d'étude d'arrêt du Nilotinib. Cette fois les patients doivent avoir reçu de l'Imatinib en 1^{ère} ligne puis switcher vers le Nilotinib. Ils doivent avoir reçu au minimum 3 ans d'ITK et 2 ans de Nilotinib, et avoir atteint la réponse moléculaire profonde MR4.5 à l'entrée dans l'étude.

Lors de l'étude ils vont continuer à recevoir du Nilotinib pendant 1 an, et devront maintenir leur MR4.5 pour tenter l'arrêt du traitement. Le critère de reprise du traitement est soit la perte de la RMM sur un seul point, soit la perte confirmée de la RM4 sur deux points consécutifs.

Le recrutement vient de se terminer en janvier 2015, 163 patients ont été inclus mais aucun résultat n'est disponible pour le moment. [105]

iii. ENESTFreedom

Enfin, cette dernière étude de Novartis d'arrêt de traitement du Nilotinib porte cette fois sur des patients ayant reçu du Nilotinib en première ligne de traitement depuis au moins 2 ans. Ils doivent également avoir atteint la réponse moléculaire profonde MR4.5 à l'entrée dans l'étude et la maintenir pendant l'année de consolidation prévu dans le cadre du protocole. La reprise du traitement s'effectue lors de la perte de la RMM. A ce jour le recrutement est terminé (216 patients inclus), mais aucun résultat n'est encore disponible. [104]

Un tableau récapitulatif des études d'arrêt de traitement des ITK de deuxième génération est disponible en annexe 2 (Tableau XIII).

D. Conclusion et discussion

Notre revue de toutes ces études d'arrêt des ITK pour les LMC en phase chronique ayant une réponse moléculaire profonde suggère qu'il est donc possible d'arrêter le traitement de manière relativement sûre. [77]

D'après le Docteur Michael Mauroo, spécialiste de la LMC, lors d'un congrès de l'American Society of Haematology (ASH), « une surveillance étroite dans le cadre d'une étude clinique, un diagnostic par PCR très sensible mené dans les meilleurs laboratoires et doté d'une sensibilité suffisamment fiable pour la mesure de la MR4.5 et enfin une ré-installation immédiate du traitement lorsque la PCR dépasse la réponse moléculaire majeure (MMR) semblent fournir un cadre extrêmement sûr pour l'arrêt du traitement. [99] Jusqu'à présent les taux de rechutes observées vont de 76% (au Japon où le traitement est repris après 1 seul résultat de PCR positive), à 39% (STIM2 où le traitement est repris lorsque la RMM est dépassée). Par ailleurs, selon l'étude et les critères de ré-installation du traitement, la proportion de patients restant en rémission moléculaire profonde va de 40 à 60 %. C'est l'exemple de l'étude STIM, on dit que 60% des patients sont encore en arrêt si on considère la rechute est la perte de RMM contre seulement 40% si on prend d'autres critères de rechute (réapparition du transcrite). De tous les patients de ces études ayant rechutés, aucun n'a progressé vers une phase accélérée de la maladie, et tous ont été de nouveau sensible à leur traitement et ont retrouvé une RMM.

De plus, lors du congrès ASH en 2011, le Docteur Junia V. Melo, autre spécialiste de la LMC, mettait déjà en évidence les résultats de l'étude française STIM au cours de laquelle 59% des patients sous Imatinib avaient perdu une réponse moléculaire complète au bout de 18 mois et ceux d'une autre étude d'arrêt des ITK de 2ème génération, au cours de laquelle seulement 36% avaient perdu une réponse moléculaire majeure. [101] Elle ajoutait cependant que la récurrence tardive observée au 37ème mois dans l'étude STOP-2G-TKI semblait indiquer que, même après plusieurs années de rémission sans traitement, une surveillance moléculaire régulière et une ré-installation rapide du traitement en cas de perte de la MMR est indispensable. Aucun des patients ayant récidivé dans ces quatre études n'a connu une progression de la LMC, mais cela n'a clairement été possible que dans le cadre d'études cliniques étroitement contrôlées, avec une surveillance par PCR très fréquente et sensible et avec une ré-installation immédiate du traitement par TKI en cas de perte de la MMR. En effet, aujourd'hui, rien ne permet de prédire quel patient pourra arrêter le traitement sans récidiver.

Afin d'expliquer les mécanismes de rechute, il convient de rappeler la dynamique de réponse aux ITKs. En règle générale, celle-ci évolue en trois phases, avec un très fort déclin initial des cellules différenciées de la LMC, puis une éradication des cellules d'origine de la LMC, et enfin une lente diminution des cellules souches résiduelles de la LMC, menant potentiellement à la destruction de toutes les cellules souches de la LMC par un traitement ITK à long terme.

Malheureusement, chaque patient réagit de façon différente et les raisons de cette variabilité restent inconnues. Elle peut résulter d'une mauvaise compliance, d'une faible résistance ou d'une hétérogénéité des caractéristiques de la maladie et du patient. Ce sont donc les cellules souches qui doivent être ciblées, et pour cela quatre stratégies sont actuellement examinées par les chercheurs avec de nouveaux médicaments [101] :

- Inhiber le renouvellement autonome des cellules souches
- Inverser l'inactivité, pour les rendre susceptibles de subir un traitement par ITK,
- Induire la différenciation des cellules souches qui deviennent fonctionnelles
- Induire la mort cellulaire des cellules souches

Toutefois, grâce aux résultats des études déjà disponibles, certains facteurs sont mis en cause, notamment la durée du traitement avant son interruption ainsi que le score de Sokal. En outre, des études comme l'étude Australienne Twister ou l'étude Coréenne KID ont révélé que pratiquement tous les "patients non détectés par PCR" (donc avec un transcrit indétectable) restaient positifs à l'aide de la PCR sur ADN, plus sensible, soulevant le problème que "la réponse moléculaire complète" pourrait bien être une promesse trompeuse. On parle donc de cellules souches quiescentes, dont leur réactivation peut être à l'origine des rechutes tardives. [72, 101]

Dans ces derniers cas, la remontée/redescente du pourcentage de transcrits est interprétée comme un contrôle de la maladie par le système immunitaire et c'est dans ce cadre que Delphine Réa, experte en LMC, a étudié le rôle des cellules NK (Natural Killers) après l'arrêt de l'Imatinib. De façon simple, la cellule NK est capable de reconnaître une autre cellule et si cette cellule est jugée anormale, la cellule NK est capable de la tuer. Dans cette étude le nombre et la fonction « tueuse » de sous-populations de cellules NK ont été analysés. Les résultats indiquent que le nombre de cellules NK est diminué chez les patients en rechute et que la fonction « tueuse » des NK est altérée. Ces résultats, qui vont être complétés par l'étude d'autres compartiments lymphocytaires (NKT, T), ouvrent la porte à de nouvelles voies de recherches basées sur l'immunothérapie, c'est à dire comment stimuler le système immunitaire des patients après l'arrêt des traitements. [107]

Enfin, des secondes tentatives d'arrêts de traitement pour les patients ayant déjà rechuté une première fois ont été testées. Dans cette étude française menée par le groupe Filmc, 16 patients ont été recrutés sur toute la France, ils ont tous reçu de l'Imatinib pendant une durée médiane de 54 mois, avaient tous retrouvé la réponse moléculaire complète, puis ont retenté l'arrêt du traitement. Les patients ont réagi selon deux modèles :

-Dans le premier groupe (12 sur 16), les patients ont rechuté très rapidement (médiane 2,1 mois sans traitement). Les cinétiques de réapparition du transcrit ont été évaluées, parmi eux 5 patients ont rechuté plus rapidement et 5 autres plus lentement., il n'y aurait donc pas de règle à en tirer.

-Les 4 autres patients de l'étude sont restés en rémission sans traitement pendant une durée médiane de 32 mois.

Il serait donc possible d'arrêter le traitement une seconde fois, et d'après les critères de l'étude STIM, le taux de rémission sans traitement à 24 mois est de 12,5%. [53]

En conclusion, la connaissance des mécanismes qui font que certains patients récidivent alors qu'ils présentent une maladie minimale résiduelle tandis que d'autres ne récidivent pas n'en est qu'à ses premiers balbutiements. La perspective de gestion des LMC telle qu'on l'imagine dans quelque temps serait :

- thérapie d'induction par ITK le plus actif ou combinaison d'ITK jusqu'à réponse profonde et rapide

- consolidation de la réponse pendant plus de 2 ans, en ciblant la maladie résiduelle

- interruption des ITK soit sans traitement soit avec interféron

Pour l'instant, dans l'attente de résultats précis d'études cliniques et de modes de diagnostic standardisés permettant une détection fiable de la MR4.5 et de la récurrence moléculaire précoce, les experts s'en tiennent à leur recommandation de ne pas arrêter le traitement en dehors des essais cliniques, une recommandation qu'ils ont réaffirmé lors du congrès de l'ASH en 2014. [100]

Conclusion

La Leucémie Myéloïde Chronique (LMC) est un cancer du sang appartenant à la catégorie des syndromes myéloprolifératifs. La LMC représente environ 15% des leucémies chez l'adulte et c'est le syndrome myéloprolifératif le mieux caractérisé car il est associé à la présence d'un petit chromosome anormal appelé chromosome Philadelphie issue d'une translocation t(9-22), retrouvée sur le caryotype de tous les patients atteints. La maladie évolue 3 phases : une phase chronique (insidieuse et dénuée de symptômes caractéristiques) puis une phase accélérée et enfin une crise blastique.

Cette maladie a tout d'abord été traitée vers les années 1970 par des chimiothérapies tel que le Busulfan ou l'Hydroxyurée mais qui ont vite montré leurs limites, et ont été rapidement remplacées par l'Interféron. L'interféron est resté pendant longtemps le traitement de référence, car il apportait un réel avantage vis-à-vis des chimiothérapies au niveau des réponses hématologiques et cytogénétiques et a permis d'allonger la durée de survie de près de 5 ans. Le seul traitement curatif existant pour cette pathologie est la greffe de moelle osseuse car elle permet d'éliminer les cellules souches atteintes, mais du fait de son taux de mortalité élevé (20%), elle n'est plus proposée si un autre traitement est disponible.

Puis, grâce aux découvertes des années 2000, les inhibiteurs de tyrosine kinase, cette maladie peut être bien contrôlée, et la médiane de survie des patients a rattrapé celle de la population générale non atteinte. Il s'agit de thérapies ciblées, très adaptées en fonction du patient et de sa réponse au traitement. La première molécule ayant obtenu l'AMM est l'Imatinib, elle a révolutionné le traitement de cette pathologie en permettant aux patients non seulement des réponses hématologiques et cytogénétiques mais également moléculaires. Les molécules de seconde génération apparues ensuite, le Nilotinib, le Dasatinib et le Bosutinib, ont apporté des réponses encore plus profondes. Actuellement, d'autres molécules (comme le Ponatinib ou l'Omacétaxine) ou associations de molécules (Nilotinib + Peginterferon) se développent encore pour faire face aux patients non répondeurs et aux mutations qui surviennent.

Ce traitement ambulatoire est généralement bien toléré, on note essentiellement des œdèmes, des crampes musculaires, des rash cutanées, des diarrhées et des nausées. Cependant, les ITK doivent être maintenus indéfiniment pour traiter la LMC et un traitement au long cours pose différents problèmes. Il y a tout d'abord le coût engendré par la thérapie pour le malade et pour la sécurité sociale, mais aussi la toxicité chronique qui se développe, l'impossibilité de grossesse, et enfin le fait que la maladie résiduelle (a priori contenue dans les cellules souches) peut resurgir à tout moment en cas d'apparition de résistance au traitement. C'est pourquoi les chercheurs ont décidé d'aller encore plus loin et de chercher à interrompre le traitement chez les patients très répondeurs (ce que l'on appelle en réponse moléculaire complète), et dont les traces de maladies résiduelles sont infimes.

Plusieurs études ont été menées sur l'Imatinib puis sur les ITK de seconde génération. Au total, environ 40% des patients restent en rémission sans traitement pendant plusieurs mois voire années. Cette proportion, déjà très importante mais pas entière, pourrait s'expliquer par l'apparition de mutations ou par la réactivation de la cellule souche pluripotente qui était bloquée par l'ITK mais qui n'avait pas disparue (une rechute après 37 mois d'arrêt a été observée). Il faudra plus de temps et d'études cliniques pour répondre à cette question. Aujourd'hui, les experts cherchent à identifier d'une part les pré-requis nécessaires à un arrêt de traitement et d'autres part les marqueurs prédictifs des rechutes. Cela permettra d'augmenter le nombre de patients éligibles et de mieux les cibler mais également de prévenir les rechutes le plus rapidement possible. Les premiers facteurs qui ont prouvé leur importance dans ces études d'arrêts de traitement sont la durée de traitement par ITK avant l'arrêt (c'est ce que l'on appellera l'imprégnation thérapeutique) et le score Sokal du patient. D'autres facteurs sont cités dans certaines études mais les résultats ne vont pas tous dans le même sens, il faudrait donc plus de recul et plus d'études pour les confirmer ou les infirmer. Il s'agit notamment de la profondeur de la réponse avant l'arrêt, de la durée nécessaire à l'obtention de la RMC, du sexe du patient, de la prise d'interféron ou non avant l'ITK, etc... De même, l'intérêt de l'ITK de seconde génération par rapport à l'Imatinib a été prouvé et même à long terme [39] mais l'influence d'un ITK2 sur la proportion de patient restant en rémission sans traitement pendant 2 ans n'a pas encore été vérifié. Enfin, il a été démontré qu'arrêter le traitement n'était pas dangereux pour le patient, car le traitement est réinstauré dès l'observation de la rechute et tous les patients ayant rechuté et repris le traitement ont tous retrouvé leur réponse moléculaire majeure. Aucun patient n'a progressé vers une phase avancée de la maladie suite à un arrêt de traitement.

Les arrêts de traitement dans la leucémie myéloïde chronique sont donc une réelle possibilité, mais seulement pour une population spécifique de patient et selon des critères particuliers. Plus d'études cliniques et un recul plus important seront donc nécessaires pour déterminer les enjeux des arrêts de traitement.

Bibliographie

1. Aguilera D. and Tsimberidou A. Dasatinib in chronic myeloid leukemia: a review. *Ther Clin Risk Manag.* 2009; 5: 281–289.
2. Amarante-Mendes GP, Naekyung Kim C, Liu L, et al. Bcr-Abl exerts its antiapoptotic effect against diverse apoptotic stimuli through blockage of mitochondrial release of cytochrome C and activation of caspase-3. *Blood* 1998;91:1700–5.
3. Baccarani M, Deininger MW, Rosti G, et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia. *Blood.* 2013 Aug 8;122(6):872-84.
4. Baccarani M, Saglio G, Goldman J, et al. Evolving concepts in the management of chronic myeloid leukemia. Recommendations from an expert panel on behalf of the European Leukemianet. *Blood* 2006 ; 108 : 1809-20.
5. Bonifaci F, De Vivo A, Rosti G, et al. Chronic myeloid leukemia and INF alpha : a study of complete cytogenetic responders, *Blood.* 2001 Nov 15;98(10):3074-81.
6. Bories D, Devergie A, Grandembas-Pain M. Stratégies thérapeutiques et recommandations pour la prise en charge des patients atteints de leucémie myéloïde chronique. *Hématologie* 2003 ; 9 : 497-512.
7. Branford S, Lawrence R, Grigg A, et al. Long term follow up of patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase treated with imatinib suggests that earlier achievement of major molecular response leads to greater stability of response. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2008 ;112 ; Abstract 2113.
8. Cervantes F, Hughes TP, Etienne G, et al. Nilotinib induces deeper molecular responses vs continued imatinib in patients with PH+ chronic myeloid leukemia (CML) with detectable disease after ≥ 2 years on imatinib: ENESTcmr 12-month results. EHA 2012 oral presentation.
9. Clark RE, Reiffers J, Dong-Wook K, et al. Nilotinib vs Imatinib in patients with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP): ENESTnd 3-Year Follow-Up. EHA 2012 Annual Meeting Oral Presentation.
10. Cony-Makhoul P, Rea D, Gardembas M, et al. Nilotinib and peginterferon alfa-2a for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukaemia (Nilopeg): A multicentre, non-randomised, open-label phase 2 study. *The Lancet Haematology*, 2015. 2 (1) , pp. e37-e46.
11. Cortes J, Lipton JH, Rea D, et al. Phase 2 study of subcutaneous omacetaxine mepesuccinate after TKI failure in patients with chronic-phase CML with T315I mutation. *Blood.* 2012 Sep 27;120(13):2573-80.
12. Cortes J, O'Brien S, Kantarjian H. Discontinuation of imatinib therapy after achieving a molecular response. *Blood* 2004; 104:2204–2205.
13. Cortes J, Talpaz M, O'Brien S, et al. Molecular responses in patients with CML treated with imatinib mesylate. *Clin Cancer Res.* 2005 May 1;11(9):3425-32.
14. Cortes J. Natural history and staging of chronic myelogenous leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2004;18(3):569–84.
15. Cortes J.E, Kim, D.W, Pinilla-Ibarz J, et al. Phase 2 Trial of Ponatinib in Philadelphia Chromosome–Positive Leukemias. *N Engl J Med* 2013; 369:1783-1796.

16. Cortes JE, Nicolini FE, Wetzler M, et al. Subcutaneous omacetaxine mepesuccinate in patients with chronic-phase chronic myeloid leukemia previously treated with 2 or more tyrosine kinase inhibitors including imatinib. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2013 Oct;13(5):584-91.
17. Cross NC, White HE, Müller MC, et al. Standardized definitions of molecular response in chronic myeloid leukemia. *Leukemia* 2012 Oct;26(10):2172-5.
18. De Groot RP, Raaijmakers JA, Lammers JW, et al. STAT5 activation by BCR-Abl contributes to transformation of K562 leukemia cells. *Blood* 1999;94: 1108–12.
19. Deininger M, Buchdunger E, Druker BJ. The development of imatinib as a therapeutic agent for chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2005;105(7):2640-2653.
20. Deininger MW, Goldman JM and Melo JV. The molecular biology of chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2000 Nov 15;96(10):3343-56.
21. Druker B and Lydon N. Lessons learned from the development of an Abl tyrosine kinase inhibitor for chronic myelogenous leukemia. *J Clin Invest*. 2000 Jan 1; 105(1): 3–7.
22. Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, et al. Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2001 Apr 5;344(14):1031-7.
23. Dubrez L, Eymin B, Sordet O, Droin N, Turhan AG, Solary E. BCR-ABL delays apoptosis upstream of procaspase-3 activation. *Blood* 1998;91:2415–22.
24. ESMO (European Society for Medical Oncology). *Leucémie Myéloïde Chronique : un guide pour les patients – Basé sur les recommandations de l'ESMO*. V.2013.1. 27 pages.
25. Faderl S, Talpaz M, Estrov Z, et al. Chronic myelogenous leukemia: biology and therapy. *Ann Intern Med*. 1999;131(3):207-219.
26. Faderl S, Talpaz M, Estrov Z, et al. The Biology of Chronic Myeloid Leukemia. *N Engl J Med* 1999; 341:164-172.
27. Gambacorti-Passerini C, Kantarjian HM, Kim DW, et al. Long-term efficacy and safety of bosutinib in patients with advanced leukemia following resistance/intolerance to imatinib and other tyrosine kinase inhibitors. [Am J Hematol](#) 2015 Sep;90(9):755-68.
28. Gambacorti-Passerini CB, Gunby RH, Piazza R, et al. Molecular mechanisms of resistance to imatinib in Philadelphia-chromosome-positive leukaemias. *Lancet Oncol* 2003 ; 4 : 75-85.
29. Gatta G, Van der Zwan JM, Casali PG, et al. Rare cancers are not so rare : the rare cancer burden in Europe. *Eur J Cancer* 2011;47(17):2493-511.
30. Goldman JM, Melo JV. Chronic myeloid leukemia--advances in biology and new approaches to treatment. *N Engl J Med*. 2003 Oct 9;349(15):1451-64.
31. Gratwohl A, Baldomero H, Passweg J. The role of hematopoietic stem cell transplantation in chronic myeloid leukemia. *Ann Hematol*. 2015 Apr ;94 Suppl 2:S177-86.
32. Guilhot F, Chastang C, Michallet M, et al. Interferon α -2b combined with cytarabine versus interferon alone in chronic myelogenous leukemia. French Chronic Myeloid Leukemia Study Group. *N Engl J Med*. 1997;337:223–9.
33. Hantschel O and Superti-Furga G. Regulation of the c-Abl and Bcr–Abl tyrosine kinases. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2004 : 5, 33-44.
34. Hasford J, Pffirmann M, Hehlmann R, et al. A New Prognostic Score for Survival of Patients With Chronic Myeloid Leukemia Treated With Interferon Alfa. *JNCI J Natl Cancer Inst* (1998) 90 (11): 850-859.

35. Hehlmann R, Heimpel H, Kolb HJ, et al. The German CML Study, Comparison of Busulfan vs. Hydroxyurea vs. Interferon alpha and Establishment of Prognostic Score 1. *Leuk Lymphoma*. 1993;11 Suppl 1:159-68.
36. Hehlmann R, Hochhaus A, Baccarani M. Chronic myeloid leukaemia. *Lancet*. 2007;370:342–50.
37. Hehlmann R. How I treat CML blast crisis. *Blood*. 2012 Jul 26;120(4):737-47.
38. Herlet S. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Les inhibiteurs de tyrosine kinase dans le traitement de la leucémie myéloïde chronique chez l'adulte : du glivec® aux traitements de deuxième génération conséquence de la sortie de la réserve hospitalière pour le pharmacien d'officine, Nancy, 2010.
39. Hochhaus A, Saglio G, Hughes TP, et al. Long-term benefits and risks of frontline nilotinib vs imatinib for chronic myeloid leukemia in chronic phase : 5-year update of the randomized ENESTnd trial. *Leukemia* 2016 : 30, 1044–1054.
40. Hochhaus A. Gérer la LMC comme une maladie chronique. ASH 2011. Présentation orale.
41. Hughes T, Deininger M, Hochhaus A, et al. Monitoring CML patients responding to treatment with tyrosine kinase inhibitors: review and recommendations for harmonizing current methodology for detecting BCR-ABL transcripts and kinase domain mutations and for expressing results. *Blood*. 2006;108(1):28–37.
42. Hughes TP, Kaeda J, Branford S, et al. Frequency of major molecular responses to imatinib or interferon alfa plus cytarabine in newly diagnosed chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2003;349:1423–32.
43. Hughes TP, Lipton JH, Spector N, et al. Deep molecular responses achieved in patients with CML-CP who are switched to nilotinib after long-term Imatinib. *Blood* 2014 Jul 31;124(5):729-36.
44. Ibrahim AR, Eliasson L, Apperley JF, et al. Poor adherence is the main reason for loss of CCyR and imatinib failure for chronic myeloid leukemia patients on long-term therapy. *Blood*. 2011 Apr 7;117(14):3733-6.
45. Jabbour E, Kantarjian H, Saglio G, et al. Early response with dasatinib or imatinib in chronic myeloid leukemia: 3-year follow-up from a randomized phase 3 trial (DASISION). *Blood* Jan 2014, 123 (4) 494-500.
46. Kantarjian H, O'Brien S, Jabbour E, et al. Improved survival in chronic myeloid leukemia since the introduction of imatinib therapy: a single-institution historical experience. *Blood* 2012;119(9):1981-7.
47. Kantarjian H, Shah NP, Hochhaus A, et al. Dasatinib versus imatinib in newly diagnosed chronic phase chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2010;362(24):2260–2270.
48. Kantarjian, H., O'Brien, S., Shan, J, et al. Cytogenetic and molecular responses and outcome in chronic myelogenous leukemia. *Cancer*, 2008 : 112: 837–845.
49. Kim Y-J, Kim D-W, Lee S, et al. Monitoring of BCR-ABL transcript levels after discontinuation of imatinib therapy in chronic myelogenous leukemia patients achieving complete cytogenetic response. *Blood* 2004; 104:255b Abstract 4684.
50. Kurzrock R(1), Kantarjian HM, Druker BJ, et al. Philadelphia chromosome-positive leukemias: from basic mechanisms to molecular therapeutics. *Ann Intern Med* 2003 May 20;138(10):819-30.
51. La Leucémie Myéloïde Chronique : Information patient. Fiche d'information rédigée par les médecins de la Société Française d'Hématologie (mars 2009). <http://sfh.hematologie.net>

52. Lee SE, Choi SY, Song HY, et al. Imatinib withdrawal syndrome and longer duration of imatinib have a close association with a lower molecular relapse after treatment discontinuation: the KID study. *Haematologica*. 2016 Feb 17.
53. Legros L, Rousset P, Giraudier S, et al. Second attempt to discontinue imatinib in CP-CML patients with a second sustained complete molecular response. *Blood*. 2012 Aug 30; 120(9): 1959–1960.
54. Leguay T, Mahon FX. Leucémie myéloïde chronique. *Hématologie* 2005 ; 13 : 187-205.
55. Leitner AA et al. *Internist (Berl)*, 2011 ; 52 :209-217.
56. Leporrier M. *Hématologie*. Dion initiatives santé, Vélizy-Villacoublay 1999 ; 414 pages.
57. Lipton JH, Chuah C, Guerci-Bresler A, et al. Ponatinib versus imatinib for newly diagnosed chronic myeloid leukaemia: an international, randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2016 Apr 12. pii: S1470-2045(16)00080-2.
58. Mahon FX and Etienne G. Deep molecular response in chronic myeloid leukemia : The new goal of therapy ? *Clin Cancer Res*. 2014 Jan 15;20(2):310-22.
59. Mahon FX, Nicolini FE, Noël MP, et al. Preliminary Report Of The STIM2 Study: A Multicenter Stop Imatinib Trial For Chronic Phase Chronic Myeloid Leukemia De Novo Patients On Imatinib. *Blood*. 2013 ASH Annual Meeting, Abstract 654.
60. Mahon FX, Rea D, Guilhot J, et al. Discontinuation of imatinib in patients with chronic myeloid leukaemia who have maintained complete molecular remission for at least 2 years: the prospective, multicentre, Stop IMatinib (STIM) trial. *Lancet Oncol*. 2010;11:1029–1035.
61. Monnereau A, Remontet L, Maynadié M, et al. Estimation nationale de l'incidence des cancers en France entre 1980 et 2012. Partie 2 – Hémopathies malignes. Saint-Maurice (Fra) : Institut de veille sanitaire ; 2013. 88 p.
62. Monnereau A, Troussard X, Belot A, et al. Unbiased estimates of long-term net survival of hematological malignancy patients detailed by major subtypes in France. *Int J Cancer* 2013;132(10):2378-87.
63. Nicolini FE, Ducastelle S and Corm S. Résistances à l'imatinib mésylate par mutation BCR-ABL au cours de la leucémie myéloïde chronique. Quelle stratégie adopter ? *Hématologie*. 2007;13(6):457-464.
64. Nowell P and Hungerford D. A minute chromosome in human granulocytic leukemia. *Science* 1960. 132 : 1497.
65. O'Brien SG, Guilhot F, Larson RA, et al. Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2003;348(11):994–1004.
66. O'Dwyer ME, Mauro MJ, Kurilik G, et al. The impact of clonal evolution on response to imatinib mesylate (STI571) in accelerated phase CML. *Blood*. 2002 Sep 1;100(5):1628-33.
67. Pendergast AM, Quilliam LA, Cripe LD, et al. BCR-ABL-induced oncogenesis is mediated by direct interaction with the SH2 domain of the GRB-2 adaptor protein. *Cell*. 1993 Oct 8;75(1):175-85.
68. Press RD, Galderisi C, Yang R, et al. A half-log increase in BCR-ABL RNA predicts a higher risk of relapse in patients with chronic myeloid leukemia with an imatinib-induced complete cytogenetic response. *Clin Cancer Res*. 2007 Oct 15;13(20):6136-43.

69. Réa D, Enestpath: A Phase III Study to Assess the Effect of Nilotinib Treatment Duration on Treatment-Free Remission (TFR) in Chronic Phase-Chronic Myeloid Leukemia (CP-CML) Patients (pts) Previously Treated with Imatinib: Interim Analysis from the First Year of Induction Phase. ASH Déc 2015. Oral présentation
70. Réa D. Aspects pratiques des traitements par inhibiteurs de tyrosine kinase dans la leucémie myéloïde chronique. *Hématologie*. 2009 ;15(3):197-202.
71. Réa D. Cessation of Dasatinib ou nilotinib therapy in CML CP patient with sustained complete molecular response. EHA 2011 Oral presentation
72. Réa D. Discontinuation of Dasatinib or Nilotinib in CML patient with stable undetectable BCR-ABL transcripts : results from the French CML Group FILMC, ASH 2011. Oral présentation.
73. Réa D., Nicolini F., Tulliez M., et al. Dasatinib or Nilotinib Discontinuation in Chronic Phase (CP)-Chronic Myeloid Leukemia (CML) Patients (pts) with Durably Undetectable BCR-ABL Transcripts: Interim Analysis of the STOP 2G-TKI Study with a Minimum Follow-up of 12 Months – on Behalf of the French CML Group Filmc. 2014. *Blood* : 124 (21) - 811.
74. Réseau des défenseurs des patients atteints de LMC (<http://www.cmladvocates.net>). Recommandations thérapeutiques pour les personnes vivant avec la LMC : Un résumé des recommandations du réseau European LeukemiaNet (2013), adapté au patient, pour la gestion de la Leucémie Myéloïde Chronique. Version 19 sept 2014 (v3.3.1/2014)
75. Ross DM, Bartley PA, Goyne J, et al. Durable complete molecular remission of chronic myeloid leukemia following dasatinib cessation, despite adverse disease features. *Haematologica*. 2011 November; 96(11): 1720–1722.
76. Ross DM, Branford S, Seymour JF, et al. Safety and efficacy of imatinib cessation for CML patients with stable undetectable minimal residual disease: results from the TWISTER study. *Blood*. 2013 Jul 25;122(4):515–22.
77. Rousselot P, Charbonnier A, Cony-Makhoul P, et al. Loss of major molecular response as a trigger for restarting tyrosine kinase inhibitor therapy in patients with chronic-phase chronic myelogenous leukemia who have stopped imatinib after durable undetectable disease. *J Clin Oncol*. 2014 Feb 10;32(5):424-30.
78. Rousselot, P, Huguët, F, Rea, D et al. Imatinib mesylate discontinuation in patients with chronic myelogenous leukemia in complete molecular remission for more than two years. *Blood*. 2007; 109: 58–60.
79. Rowley J. A New Consistent Chromosomal Abnormality in Chronic Myelogenous Leukaemia identified by Quinacrine Fluorescence and Giemsa Staining. *Nature* 1973. 243, 290 – 293.
80. Saglio G, Kim DW, Issaragrisil S, et al. Nilotinib versus imatinib for newly diagnosed chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2010;362(24):2251–9.
81. Sanford D, Kyle R, Lazo-Langner A, et al. Patient preferences for stopping tyrosine kinase inhibitors in chronic myeloid leukemia. *Curr Oncol*. 2014 Apr;21(2):e241-9.
82. Sant M, Allemani C, Tereanu C, et al. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project. *Blood* 2010;116(19):3724-34.
83. Sawyers C. Chronic Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 1999 Apr 29;340(17):1330-40.
84. Sebahoun G. *Hématologie clinique et biologique*. Arnette groupe liaisons SA, Rueil-Malmaison 2005 ; 578 pages.

85. Skorski T, Bellacosa A, Nieborowska-Skorska M, et al. Transformation of hematopoietic cells by BCR/ABL requires activation of a PI-3k/Akt-dependent pathway. EMBO Journal 1997. 16: 6151-6161.
86. Sokal JE, Cox EB, Baccarani M, et al. Prognostic discrimination in "good-risk" chronic granulocytic leukemia. Blood. 1984 Apr;63(4):789-99.
87. Talpaz M, Kurzrock R, Kantarjian HM and Gutterman JU. Recent advances in the therapy of chronic myelogenous leukemia. Important advances in oncology. 1988;297-321.
88. Talpaz, M, McCredie, KB, Mavligit, GM, and Gutterman, JU. Leukocyte interferon-induced myeloid cyto-reduction in chronic myelogenous leukemia. Blood. 1983; 62: 689-692.
89. Turhan A. Translocation bcr-abl : données biologiques. Hématologie. 1995;1(2):123-31.
90. Wei G, Rafiyath S, and Liu D. First-line treatment for chronic myeloid leukemia: dasatinib, nilotinib, or imatinib. Journal of Hematology & Oncology 2010 : 3:47.
91. Welch PJ. and Wang J. A C-terminal protein-binding domain in the retinoblastoma protein regulates nuclear c-Abl tyrosine kinase in the cell cycle. Cell. 1993 Nov 19;75(4):779-90.

Sites internet consultés :

92. <http://direct.ash2015.hemato.net/?pageID=f2dd6a23d0660226fb6e6724946d0a53&from=accueil>. Consulté le 17/03/16
93. <http://hematocell.univ-angers.fr/index.php/enseignement-de-lhematologie-cellulaire/60-enseignement-de-lhematologie-cellulaire-les-principales-maladies-hematologiques/pathologie-granulocytaire-syndromes-myeloproliferatifs/105-leucemie-myeloide-chronique>. Consulté le 19/11/2015
94. http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2014-09/bosulif_sapub_ct12919.pdf. Consulté le 19/11/2015
95. <http://www.lmc-cml.org/fr/>. Consulté le 02/09/2015
96. <http://www.lmc-france.fr/la-recherche/colloques-et-congr%C3%A9s/congr%C3%A8s-ash-2014/>. Consulté le 21/04/2016
97. <http://www.lmc-france.fr/la-recherche/colloques-et-congr%C3%A9s/congr%C3%A8s-ash-2011-la-lmc-du-point-de-vue-des-patients/>. Consulté le 31/03/2016
98. <http://www.lmc-france.fr/la-recherche/colloques-et-congr%C3%A9s/congr%C3%A8s-ash-2014/> : Interim Analysis of a Pan European Stop Tyrosine Kinase Inhibitor Trial in Chronic Myeloid Leukemia : The EURO-SKI Consulté le 24/03/2016
99. <http://www.lmc-france.fr/la-recherche/colloques-et-congr%C3%A9s/congr%C3%A8s-ash-2014/>. Consulté le 31/03/2016
100. <http://www.lmc-france.fr/la-recherche/colloques-et-congr%C3%A9s/congr%C3%A8s-ash-2014/>. Consulté le 07/04/2016
101. <http://www.lmc-france.fr/la-recherche/colloques-et-congr%C3%A9s/congr%C3%A8s-ash-2011-formation-sur-la-lmc/>. Consulté le 07/04/2016
102. <https://ash.confex.com/ash/2015/webprogram/Paper82326.html>. Consulté le 21/04/2016
103. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01743989?term=enestpath&rank=1>. Consulté le 17/03/2016

104. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01850004?term=dasfree&rank=1>. Consulté le 07/04/16
105. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01784068?term=cml+nilotinib&rank=37>. Consulté le 09/06/16
106. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/record/NCT01698905?term=cml+nilotinib&rank=40>. Consulté le 09/06/16
107. <http://www.lmc-cml.org/fr/>. Consulté le 02/09/2015
108. <http://www.lmc-france.fr/evénements/journée-mondiale-lmc-2015/lmc-france-compte-rendu/>. Consulté le 09/06/16

Annexe 1

Tableau XII : Les études d'arrêt de l'Imatinib (ITK de première génération). Les études STM et TISTER prouvent le concept que l'arrêt de traitement est possible. L'étude A-STIM permet de définir le critère perte de la RMM (Réponse moléculaire majeure) comme critère de rechute et donc de reprise du traitement. Les autres études nous aident à définir quels sont les facteurs pronostiques d'une longue durée de TFR (Rémission sans traitement)

Etudes d'arrêt de l'Imatinib (ITK de première génération) 1/2			
Nom de l'étude	STIM	A-STIM	TWISTER
Pays	France (Fi-LMC)	France (Fi-LMC)	Australie
Inclusion	100 patients entre juillet 2007 et Décembre 2009	80 patients entre Juin 2006 et Juin 2012	40 patients entre août 2006 et août 2011
Critères d'inclusion principaux	<ul style="list-style-type: none"> • Traitement antérieur autorisé (sauf transplantation) • Puis Imatinib > 3 ans • Transcrit indétectable (MR4.5) > 2 ans sans fluctuations 	<ul style="list-style-type: none"> • Traitement antérieur autorisé (sauf transplantation) • Puis Imatinib > 3 ans • Transcrit indétectable (MR4.5) > 2 ans mais peut être fluctuant 	<ul style="list-style-type: none"> • Traitement antérieur autorisé (sauf transplantation) • Puis Imatinib > 3 ans • Transcrit indétectable (MR4.5) > 2 ans sans fluctuations
Critère de reprise	Transcrit détectable sur 2 prélèvements consécutifs à 1 mois d'écart la 1 ^{ère} année ou 2 mois la seconde année	Perte de la RMM (>MR3) sur 1 prélèvement	Perte de la RMM (>MR3) sur 1 prélèvement ou transcrit détectable sur 2 prélèvements consécutifs
Résultats	<ul style="list-style-type: none"> • Maintien de la RMC à 24 et 36 mois de 39% • Score Sokal et durée de l'Imatinib avant arrêt du traitement = facteurs pronostiques 	<ul style="list-style-type: none"> • Réponse moléculaire complète peut être fluctuante • Validation perte de RMM comme critère de reprise du traitement et non plus seulement transcrit détectable • 64% TFR à 2 ans • Si interféron avant Imatinib : léger meilleur pronostique 	<ul style="list-style-type: none"> • TFR à 2 ans : 47,1% • 5 des 18 patients en rémission sans traitement ont montré des transcrits fluctuants 1 voire 2 fois.

Etudes d'arrêt de l'Imatinib (ITK de première génération) 2/2			
Nom de l'étude	STIM 2	KID	EURO-SKI
Pays	France (Fi-LMC)	Japon	Europe
Inclusion	124 patients entre avril 2011 et juin 2013	90 patients jusqu'en juillet 2014	700 patients entre mai 2012 et fin 2014
Critères d'inclusion principaux	<ul style="list-style-type: none"> • Uniquement Imatinib • Imatinib > 3 ans • Transcrit indétectable (MR4.5) > 2 ans sans fluctuations 	<ul style="list-style-type: none"> • Imatinib > 3 ans • Transcrit indétectable (MR4.5) > 2 ans 	<ul style="list-style-type: none"> • Tout ITK confondu > 3 ans (mais seulement 3% d'ITK2 en première ligne) • MR4 > 1 ans
Critère de reprise	Perte de la RMM (>MR3) sur 1 prélèvement ou transcrit détectable sur 2 prélèvements consécutifs	Perte de la RMM (>MR3) sur 2 prélèvements espacés de 4 semaines dans les 6 premiers mois, puis de 8 semaines jusqu'à un an d'arrêt et enfin 12 semaines	Perte de la RMM (>MR3) sur 1 prélèvement
Résultats	<ul style="list-style-type: none"> • 48 rechutes (45 avant 6 mois), résultats similaires que les autres études (61,3% de TFR à 12 mois) • Sur les 76 patients qui n'ont pas rechuté, 41 ont montré des signes de positivité du transcrit à plusieurs reprises 	<ul style="list-style-type: none"> • TFR à 12 mois 62,2% et à 24 mois 58,5% • Facteur pronostique au maintien de la TFR : Profondeur de la réponse et durée de l'Imatinib avant arrêt • Apparition d'un syndrome de sevrage post ITK (pronostic favorable pour l'arrêt du traitement) 	<ul style="list-style-type: none"> • Etude intermédiaire à 12 mois : 56% des patients en TFR • Confirmation de l'importance de la durée de traitement • Pas d'importance de la profondeur de la réponse avant arrêt • De nouveau apparition du syndrome de sevrage post ITK

Annexe 2


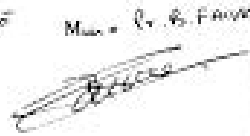


Tableau XIII : Etude d'arrêt de traitement des ITK de 2ème génération (Nilotinib, Dasatinib et Bosutinib). Stop-ITK2, Dasfree et les études ENEST sur le Nilotinib nous prouvent qu'il est également possible d'arrêter le traitement, même après un switch de l'Imatinib vers le Nilotinib. Peu de patients ayant reçu des ITK2 en première ligne ont été inclus, peu de données sont disponibles.

Etudes d'arrêt des ITKs de seconde génération (Nilotinib, Dasatinib, Bosutinib) 1/2		
Nom de l'étude	STOP ITK-2G	DASFREE
Pays	France	Internationale
Inclusion	52 patients jusqu'en août 2014	En cours depuis septembre 2014 : objectif 79 patients
Critères d'inclusion principaux	<ul style="list-style-type: none"> • ITK2 première ou seconde ligne > 3 ans • Transcrit indétectable (MR4.5) > 2 ans 	<ul style="list-style-type: none"> • Dasatinib 1^{ère} ligne ou 2^{de} ligne (si intolérance ou manque d'efficacité) > 2 ans • Transcrit indétectable (MR4.5) > 1 an
Critère de reprise	Perte de la RMM (>MR3) sur 1 prélèvement	Perte de la RMM (>MR3) sur 1 prélèvement
Résultats	<ul style="list-style-type: none"> • TFR à 12 et 24 mois sont respectivement de 61.4% et 57% • Rechutes également précoces (6 premiers mois) • Surveillance moléculaire régulière importante car rechute à 37 mois • Importance de la raison du switch Imatinib vers ITK2 : si résistance ou réponse sub-optimal : moins bon pronostique 	Pas encore de résultat

Etudes d'arrêt des ITKs de seconde génération (Nilotinib, Dasatinib, Bosutinib) 2/2			
Nom de l'étude	ENESTPath	ENESTop	ENESTFreedom
Pays	Internationale	Internationale	Internationale
Inclusion	619 patients entre avril 2013 et avril 2015	163 patients entre décembre 2012 et janvier 2015	216 patients entre mars 2013 et janvier 2015
Critères d'inclusion principaux	<ul style="list-style-type: none"> • Imatinib > 2ans • Pas de réponse moléculaire profonde (RM4) • Entrée dans l'étude : Switch vers Nilotinib et doivent atteindre une RM4 stable pour arrêter 	<ul style="list-style-type: none"> • Imatinib puis switch vers Nilotinib > 3 ans ITK • Nilotinib > 2 ans • MR4.5 à l'entrée dans l'étude et maintien MR4.5 > 1 an dans l'étude 	<ul style="list-style-type: none"> • Nilotinib 1^{ère} ligne > 2 an • MR4.5 à l'entrée dans l'étude et maintien pendant l'année de consolidation du Nilotinib dans l'étude
Critère de reprise	Perte de la RMM (>MR3) sur 1 prélèvement	Perte de la RMM sur un prélèvement ou Perte confirmée de la RM4 sur 2 prélèvements consécutifs	Perte de la RMM
Résultats	<ul style="list-style-type: none"> • A 12 mois, les taux de RM4 et RM4,5 sont respectivement de 57,4 et 30,5% • Différence significative de RM4 à 12 mois entre les patients en RMM à l'inclusion versus ceux qui ne l'étaient pas : 64,8% versus 30,8% • Pas encore de résultat sur l'arrêt de traitement 	Pas encore de résultats disponible	Pas encore de résultats disponible

DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : 28 Juin 2016

<p align="center">DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE</p> <p>présenté par : Marion BICHET</p> <p>Sujet : Stratégie Thérapeutique dans la LMC : Arrêt du traitement : Mythe ou Réalité</p> <p>Jury :</p> <p>Président : Mme Béatrice FAIVRE, Professeur Directeur : Mme Béatrice FAIVRE, Professeur Juges : Mme Agnès-Paule GUERCI-BRESLER, Docteur Mme Anne-Sylvie HENZELIN, Pharmacien M. Julien PERRIN, Maître de conférences</p>	<p align="right">Vu, 27 Juin / 2016.</p> <p align="center">Nancy, le</p> <p align="center">Le Président du Jury Directeur de Thèse</p> <p align="center">   </p>
<p align="center">Vu et approuvé, Nancy, le 30.05.2016</p> <p align="center">Doyen de la Faculté de Pharmacie de l'Université de Lorraine,</p> <p align="center">  </p>	<p align="center">Vu, Nancy, le</p> <p align="center">Le Président de l'Université de Lorraine,</p> <p align="center">  Pierre MITZENHARDT </p> <p align="center">N° d'enregistrement : 9133</p>

Résumé

La Leucémie Myéloïde Chronique (LMC) est un cancer du sang, plus particulièrement un syndrome myélo-prolifératif, qui représente environ 15% des LMC. C'est une maladie qui apparaît suite à une mutation génétique, résultant en une protéine tyrosine kinase ayant une activité anormale. Elle est chronique, s'installe insidieusement et évolue en 3 phases. Sans traitement, elle évolue inévitablement vers le décès du patient dans les 4 à 6 ans. A l'origine seule la greffe de moelle était proposée comme traitement, et elle reste d'ailleurs encore aujourd'hui la seule option réellement curative. Des chimiothérapies ont ensuite fait leur entrée dans l'arsenal thérapeutique, et enfin, la découverte dans les années 2000 d'un inhibiteur de tyrosine kinase, l'Imatinib, a révolutionné la prise en charge de cette pathologie. Actuellement, grâce aux ITK de seconde génération (Nilotinib, Dasatinib) et aux nouvelles molécules en développement (Omacétaxine), la maladie peut être contrôlée et stabilisée en phase chronique tout au long de la vie du patient par prise journalière d'une de ces molécules. Depuis quelques années, les experts de la LMC ont permis à certains patients très répondeurs et n'ayant plus de trace de maladie résiduelle de tenter d'interrompre leur traitement. De nombreux avantages ont été mis en avant, comme notamment la toxicité chronique d'un traitement à vie, mais également la possibilité de grossesse pour les femmes en âge de procréer et enfin des économies importantes sont engendrées. L'objectif de cette thèse est de faire un état des lieux des toutes les études académiques et industrielles qui ont été mises en place pour caractériser au mieux les patients susceptibles de pouvoir arrêter et surtout d'en évaluer la sécurité. Il semblerait selon les premières études, qu'environ 40% des patients restent en rémission sans traitement pendant plusieurs mois voire années s'ils ont été traités par Imatinib et avaient une réponse moléculaire profonde depuis au moins 2 ans. Concernant les ITK de seconde génération, on sait qu'ils permettent au patient d'obtenir une réponse moléculaire plus rapide et plus profonde que l'Imatinib, mais les effets sur l'arrêt de traitement ne sont pas encore clairement caractérisés. Par ailleurs, ces études confirment que la sécurité des patients est garantie puisqu'en reprenant un ITK, ils retrouvent la réponse qu'ils avaient obtenue avant la rechute. Enfin, plusieurs critères ont été identifiés comme bons pronostics pour l'arrêt de traitement comme par exemple la profondeur de la réponse avant l'arrêt, la durée nécessaire à son obtention, le sexe du patient, la prise d'interféron ou non avant l'ITK, etc... En conclusion, l'arrêt de traitement est possible pour une certaine population de patients respectant des critères bien précis mais il faudra encore de nombreuses études cliniques et un recul plus important pour déterminer les enjeux complets des arrêts de traitement.

Titre : Stratégie thérapeutique dans la LMC : Arrêt du traitement : Mythe ou réalité.

Auteur : Marion BICHET, 12 avenue Boffrand, 54000 Nancy

Président et Directeur : Pr Béatrice FAIVRE, Professeur des Universités, Vice doyen de la Faculté de Pharmacie de Nancy

Juges : Dr Agnès-Paule GUERCI, Hématologue, CHU Brabois

Dr Anne-Sylvie HINZELIN, Pharmacien formateur et membre du bureau Conseil Central section D de l'Ordre des Pharmaciens

Dr Julien PERRIN, Maître de conférences Faculté de Pharmacie de Nancy et Praticien Hospitalier