



**HAL**  
open science

# Déficit en facteur v induit par la 6-mercaptopurine au cours du traitement d'entretien des leucémies aigües lymphoblastiques de l'enfant

Bruno Filhon

► **To cite this version:**

Bruno Filhon. Déficit en facteur v induit par la 6-mercaptopurine au cours du traitement d'entretien des leucémies aigües lymphoblastiques de l'enfant. Médecine humaine et pathologie. 2012. dumas-00745797

**HAL Id: dumas-00745797**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-00745797>**

Submitted on 26 Oct 2012

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE ROUEN**

**ANNEE 2012**

**N°**

**THESE POUR LE DOCTORAT EN MEDECINE**

**(Diplôme d'état)**

**Par**

**Bruno FILHON**

**Né le 23 juin 1982 à Annecy**

**PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT**

**LE 1<sup>er</sup> OCTOBRE 2012**

**DEFICIT EN FACTEUR V INDUIT PAR LA 6-MERCAPTOPYRIMIDINE AU COURS DU TRAITEMENT D'ENTRETIEN DES LEUCEMIES AIGUES LYMPHOBLASTIQUES DE L'ENFANT**

Directeur de thèse et président de jury :      Professeur Jean-Pierre Vannier

Membre du jury :                                      Professeur Christophe Marguet

Professeur Marc Vasse

Professeur Fabrice Jardin

Docteur Cécile Dumesnil

ANNEE UNIVERSITAIRE 2011-2012  
**U.F.R. DE MEDECINE-PHARMACIE DE ROUEN**  
-----

DOYEN : Professeur Pierre FREGER

ASSESEURS : Professeur Michel GUERBET  
Professeur Benoit VEBER  
Professeur Pascal JOLY  
Professeur Bernard PROUST

DOYENS HONORAIRES : **Professeurs J. BORDE - Ph. LAURET - H. PIGUET - C.THUILLEZ**

PROFESSEURS HONORAIRES : **MM. M-P. AUGUSTIN - J. ANDRIEU-GUITTRANCOURT - M. BENOZIO - J. BORDE - Ph. BRASSEUR - R. COLIN - E. COMOY - J. DALION - P. DESHAYES - C. FESSARD - J-P. FILLASTRE - P. FRIGOT - J. GARNIER - J. HEMET - B. HILLEMAND - G. HUMBERT - J-M. JOUANY - R. LAUMONIER - Ph. LAURET - M. LE FUR - J-P. LEMERCIER - J-P. LEMOINE - Mle MAGARD - MM. B. MAITROT - M. MAISONNET - F. MATRAY - P. MITROFANOFF - Mme A-M. ORECCHIONI - P. PASQUIS - H. PIGUET - M. SAMSON - Mme SAMSON-DOLLFUS - J-C. SCHRUB - R. SOYER - B. TARDIF - J. TESTART - J-M. THOMINE - C. THUILLEZ - P. TRON - C. WINCKLER - L-M. WOLF**

I-MEDECINE

**PROFESSEURS :**

M. Frédéric ANSELME	HCN	Cardiologie
M. Bruno BACHY	HCN	Chirurgie pédiatrique
M. Fabrice BAUER	HCN	Cardiologie
Mme Soumeya BEKRI	HCN	Biochimie et Biologie Moléculaire
M. Jacques BENICHOU	HCN	Biostatistiques et informatique médicale
M. Eric BERCOFF	HB	Médecine interne (gériatrie)
M. Jean-Paul BESSOU	HCN	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
Mme Françoise BEURET-BLANQUART	CRMPR	Médecine physique et de réadaptation
M. Guy BONMARCHAND	HCN	Réanimation médicale
M. Olivier BOYER	UFR	Immunologie
M. Jean-François CAILLARD	HCN	Médecine et santé du Travail

M. François <b>CARON</b>	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
M. Philippe <b>CHASSAGNE</b>	HB	Médecine interne (gériatrie)
M. Alain <b>CRIBIER</b> (Surnombre)	HCN	Cardiologie
M. Antoine <b>CUVELIER</b>	HB	Pneumologie
M. Pierre <b>CZERNICHOW</b>	HCN	Epidémiologie, économie de la santé
M. Jean-Nicolas <b>DACHER</b>	HCN	Radiologie et Imagerie Médicale
M. Stéfan <b>DARMONI</b>	HCN	Informatique Médicale/Techniques de communication
M. Pierre <b>DECHELOTTE</b>	HCN	Nutrition
Mme Danièle <b>DEHESDIN</b>	HCN	Oto-Rhino-Laryngologie
M. Philippe <b>DENIS</b> (Surnombre)	HCN	Physiologie
M. Jean <b>DOUCET</b>	HB	Thérapeutique/Médecine Interne-Gériatrie
M. Bernard <b>DUBRAY</b>	CB	Radiothérapie
M. Philippe <b>DUCROTTE</b>	HCN	Hépatogastro-entérologie
M. Franck <b>DUJARDIN</b>	HCN	Chirurgie Orthopédique et Traumatologique
M. Fabrice <b>DUPARC</b>	HCN	Anatomie/Chirurgie Orthopédique et Traumatologique
M. Bertrand <b>DUREUIL</b>	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mlle Hélène <b>ELTCHANINOFF</b>	HCN	Cardiologie
M. Thierry <b>FREBOURG</b>	UFR	Génétique
M. Pierre <b>FREGER</b>	HCN	Anatomie/Neurochirurgie
M. Jean-François <b>GEHANNO</b>	HCN	Médecine et Santé du Travail
M. Emmanuel <b>GERARDIN</b>	HCN	Imagerie Médicale
Mme Priscille <b>GERARDIN</b>	HCN	Pédopsychiatrie
M. Michel <b>GODIN</b>	HB	Néphrologie
M. Philippe <b>GRISE</b>	HCN	Urologie
M. Didier <b>HANNEQUIN</b>	HCN	Neurologie
M. Fabrice <b>JARDIN</b>	CB	Hématologie
M. Luc-Marie <b>JOLY</b>	HCN	Médecine d'urgence
M. Pascal <b>JOLY</b>	HCN	Dermatologie-Vénérologie
M. Jean-Marc <b>KUHN</b>	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
Mme Annie <b>LAQUERRIERE</b>	HCN	Anatomie cytologie pathologiques
M. Vincent <b>LANDENBACH</b>	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
M. Alain <b>LAVOINNE</b>	UFR	Biochimie et biologie moléculaire
M. Joël <b>LECHEVALLIER</b>	HCN	Chirurgie infantile
M. Hervé <b>LEFEBVRE</b>	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
M. Xavier <b>LE LOËT</b>	HB	Rhumatologie
M. Eric <b>LEREBOURS</b>	HCN	Nutrition
Mlle Anne-Marie <b>LEROI</b>	HCN	Physiologie

M. Hervé <b>LEVESQUE</b>	HB	Médecine interne
Mme Agnès <b>LIARD-ZMUDA</b>	HCN	Chirurgie infantile
M. Bertrand <b>MACE</b>	HCN	Histologie/Embryologie/Cytogénétique
M. Eric <b>MALLET</b> (Surnombre)	HCN	Pédiatrie
M. Christophe <b>MARGUET</b>	HCN	Pédiatrie
Mlle Isabelle <b>MARIE</b>	HB	Médecine interne
M. Jean-Paul <b>MARIE</b>	HCN	Oto-Rhino-Laryngologie
M. Loïc <b>MARPEAU</b>	HCN	Gynécologie-obstétrique
M. Stéphane <b>MARRET</b>	HCN	Pédiatrie
M. Pierre <b>MICHEL</b>	HCN	Hépatogastro-entérologie
M. Francis <b>MICHOT</b>	HCN	Chirurgie digestive
M. Bruno <b>MIHOUT</b>	HCN	Neurologie
M. Pierre-Yves <b>MILLIEZ</b>	HCN	Chirurgie plastique, reconstructive et esthétique
M. Jean-François <b>MUIR</b>	HB	Pneumologie
M. Marc <b>MURAINÉ</b>	HCN	Ophtalmologie
M. Philippe <b>MUSETTE</b>	HCN	Dermatologie-Vénérologie
M. Christophe <b>PEILLON</b>	HCN	Chirurgie générale
M. Jean-Marc <b>PERON</b>	HCN	Stomatologie et chirurgie maxillo-faciale
M. Christian <b>PFISTER</b>	HCN	Urologie
M. Jean-Christophe <b>PLANTIER</b>	HCN	Bactériologie-Virologie
M. Didier <b>PLISSONNIER</b>	HCN	Chirurgie vasculaire
M. Bernard <b>PROUST</b>	HCN	Médecine légale
M. François <b>PROUST</b>	HCN	Neurochirurgie
Mme Nathalie <b>RIVES</b>	HCN	Biologie, médecine du développement et de la reproduction
M. Jean-Christophe <b>RICHARD</b> (mis en dispo)	HCN	Réanimation Médicale/Médecine d'urgence
M. Jean-Christophe <b>SABOURIN</b>	HCN	Anatomie-Pathologie
M. Guillaume <b>SAVOYE</b>	HCN	Hépatogastro
M. Michel <b>SCOTTE</b>	HCN	Chirurgie digestive
Mme Fabienne <b>TAMION</b>	HCN	Thérapeutique
Mlle Florence <b>THIBAUT</b>	HCN	Psychiatrie d'adultes
M. Luc <b>THIBERVILLE</b>	HCN	Pneumologie
M. Christian <b>THUILLEZ</b>	HCN	Pharmacologie
M. Hervé <b>TILLY</b>	CB	Hématologie et transfusion
M. François <b>TRON</b> (surnombre)	HCN	Immunologie
M. Jean-Jacques <b>TUECH</b>	HCN	Chirurgie digestive
M. Jean-Pierre <b>VANNIER</b>	HCN	Pédiatrie génétique
M. Benoît <b>VEBER</b>	HCN	Anesthésiologie Réanimation chirurgicale

M. Pierre <b>VERA</b>	CB	Biophysique et traitement de l'image
M. Eric <b>VERSPYCK</b>	HCN	Gynécologie-obstétrique
M. Olivier <b>VITTECOQ</b>	HB	Rhumatologie
M. Jacques <b>WEBER</b>	HCN	Physiologie

#### MAITRES DE CONFERENCES :

Mme Noëlle <b>BARBIER-FREBOURG</b>	HCN	Bactériologie-Virologie
M. Jeremy <b>BELLIEN</b>	HCN	Pharmacologie
Mme Carole <b>BRASSE LAGNEL</b>	HCN	Biochimie
Mme Mireille <b>CASTANET</b>	HCN	Pédiatrie
M. Gérard <b>BUCHONNET</b>	HCN	Hématologie
Mme Nathalie <b>CHASTAN</b>	HCN	Physiologie
Mme Sophie <b>CLAEYSSSENS</b>	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
M. Moïse <b>COEFFIER</b>	HCN	Nutrition
M. Vincent <b>COMPERE</b>	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
M. Manuel <b>ETIENNE</b>	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
M. Guillaume <b>GOURCEROL</b>	HCN	Physiologie
Mme Catherine <b>HAAS-HUBSCHER</b>	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
M. Serge <b>JACQUOT</b>	UFR	Immunologie
M. Joël <b>LADNER</b>	HCN	Epidémiologie, économie de la santé
M. Jean-Baptiste <b>LATOUCHE</b>	UFR	Biologie Cellulaire
Mme Lucie <b>MARECHAL-GUYANT</b>	HCN	Neurologie
M. Jean-François <b>MENARD</b>	HCN	Biophysique
Mme Muriel <b>QUILLARD</b>	HCN	Biochimie et Biologie moléculaire
M. Vincent <b>RICHARD</b>	UFR	Pharmacologie
M. Francis <b>ROUSSEL</b>	HCN	Histologie, embryologie, cytogénétique
Mme Pascale <b>SAUGIER-VEBER</b>	HCN	Génétique
Mme Anne-Claire <b>TOBENAS-DUJARDIN</b>	HCN	Anatomie
M. Eric <b>VERIN</b>	HCN	Physiologie

#### MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A MI-TEMPS :

M. Thierry <b>LEQUERRE</b>	UFR	Rhumatologie
M. Fabien <b>DOGUET</b>	UFR	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire

#### PROFESSEUR AGREGE OU CERTIFIE :

Mme Dominique <b>LANIEZ</b>	UFR	Anglais
Mme Michèle <b>GUIGOT</b>	UFR	Sciences humaines/Techniques d'expression

## II-PHARMACIE

### PROFESSEURS :

M. Thierry <b>BESSON</b>	Chimie technique
M. Jean-Jacques <b>BONNET</b>	Pharmacologie
M. Roland <b>CAPRON</b> (PU-PH)	Biophysique
M. Jean <b>COSTENTIN</b> (PU-PH)	Pharmacologie
Mme Isabelle <b>DUBUS</b>	Biochimie
M. Loïc <b>FAVENNEC</b> (PU-PH)	Parasitologie
M. Michel <b>GUERBET</b>	Toxicologie
M. Olivier <b>LAFONT</b>	Chimie organique
Mme Isabelle <b>LEROUX</b>	Physiologie
Mme Elisabeth <b>SEGUIN</b>	Pharmacognosie
M. Marc <b>VASSE</b> (PU-PH)	Hématologie
M. Jean-Marie <b>VAUGEOIS</b> (Délégation CNRS)	Pharmacologie
M. Philippe <b>VERITE</b>	Chimie analytique

### MAITRES DE CONFERENCES :

Mle Cécile <b>BARBOT</b>	Chimie Générale et Minérale
Mme Dominique <b>BOUCHER</b>	Pharmacologie
M. Frédéric <b>BOUNOURE</b>	Pharmacie Galénique
Mme Martine <b>PESTEL-CARON</b>	Microbiologie
M. Abdeslam <b>CHAGRAOUI</b>	Physiologie
M. Jean <b>CHASTANG</b>	Biomathématiques
Mme Marie-Catherine <b>CONCE-CHEMTOB</b>	Législation pharmaceutique et économie de la santé
Mme Elisabeth <b>CHOSSON</b> (Délégation)	Botanique
Mle Cécile <b>CORBIERE</b>	Biochimie
M. Eric <b>DITTMAR</b>	Biophysique
Mme Nathalie <b>DOURMAP</b>	Pharmacologie
Mle Isabelle <b>DUBUC</b>	Pharmacologie
Mme Roselyne <b>DUCLOS</b>	Pharmacie Galénique
M. Abdelhakim <b>ELOMRI</b>	Pharmacognosie
M. François <b>ESTOUR</b>	Chimie Organique
M. Gilles <b>GARGALA</b> (MCU-PH)	Parasitologie
Mme Najla <b>GHARBI</b>	Chimie analytique

Mle Marie-Laure <b>GROULT</b>	Botanique
M. Hervé <b>HUE</b>	Biophysique et Mathématiques
Mme Hong <b>LU</b>	Biologie
Mme Sabine <b>MENAGER</b>	Chimie Organique
Mme Christelle <b>MONTEIL</b>	Toxicologie
M. Paul <b>MULDER</b>	Sciences du médicament
M. Mohamed <b>SKIBA</b>	Pharmacie Galénique
Mme Malika <b>SKIBA</b>	Pharmacie Galénique
Mme Christine <b>THARASSE</b>	Chimie Thérapeutique
M. Rémi <b>VARIN</b> (MCU-PH)	Pharmacie Hospitalière
M. Frédéric <b>ZIEGLER</b>	Biochimie

**PROFESSEUR ASSOCIE :**

M. Jean-Paul <b>GOULLE</b>	Toxicologie
----------------------------	-------------

**MAITRE DE CONFERENCE ASSOCIE :**

Mme Sandrine <b>PANCHOU</b>	Pharmacie Officinale
-----------------------------	----------------------

**PROFESSEUR AGREGE OU CERTIFIE :**

Mme Anne-Marie <b>ANZELLOTTI</b>	Anglais
----------------------------------	---------

**ATTACHE TEMPORAIRE D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE :**

<b>M. Bérénice COQUEREL</b>	Chimie Analytique
<b>M. Johann PELTIER</b>	Microbiologie



### III-MEDECINE GENERALE

#### PROFESSEURS

M. Jean-Loup **HERMIL** UFR Médecine générale

#### PROFESSEURS ASSOCIES A MI-TEMPS :

M. Pierre **FAINSILBER** UFR Médecine générale

M. Alain **MERCIER** UFR Médecine générale

M. Philippe **NGUYEN THANH** UFR Médecine générale

#### MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS :

M. Emmanuel **LEFEBVRE** UFR Médecine générale

Mme Elisabeth **MAUVIARD** UFR Médecine générale

Mme Marie Thérèse **THUEUX** UFR Médecine générale

CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS : Mme Véronique **DELAFONTAINE**

**HCN –Hôpital Charles Nicolle**

**CB – Centre Henri Becquerel**

**CRMPR – Centre Régional de Médecin Physique et de Réadaptation**

**HB – Hôpital Bois Guillaume**

**CHSR – Centre Hospitalier Spécialisé de Rouvray**

LISTE DES RESPONSABLES DE DISCIPLINE
--------------------------------------

Mlle Cécile <b>BARBOT</b>	Chimie Générale et Minérale
M. Thierry <b>BESSON</b>	Chimie thérapeutique
M. Roland <b>CAPRON</b>	Biophysique
M. Jean <b>CHASTANG</b>	Mathématiques
Mme Marie-Catherine <b>CONCE-CHEMTOB</b>	Législation, Economie de la santé
Mlle Elisabeth <b>CHOSSON</b>	Botanique
M. Jean <b>COSTENTIN</b>	Pharmacodynamie
Mme Isabelle <b>DUBUS</b>	Biochimie
M. Loïc <b>FAVENNEC</b>	Parasitologie
M. Michel <b>GUERBET</b>	Toxicologie
M. Olivier <b>LAFONT</b>	Chimie organique
M. Jean-Louis <b>PONS</b>	Microbiologie
Mme Elisabeth <b>SEGUIN</b>	Pharmacognosie
M. Mohamed <b>SKIBA</b>	Pharmacie Galénique
M. Marc <b>VASSE</b>	Hématologie
M. Philippe <b>VERITE</b>	Chimie analytique

## **ENSEIGNANTS MONO-APPARTENANTS**

### **MAITRES DE CONFERENCES :**

M. Sahil <b>ADRIOUCH</b>	Biochimie et biologie moléculaire (Unité Inserm 905)
Mme Gaëlle <b>BOUGEARD-DENOYELLE</b>	Biochimie et biologie moléculaire (Unité Inserm 614)
M. Antoine <b>OUVRARD-PASCAUD</b>	Physiologie (Unité Inserm 644)

### **PROFESSEURS DES UNIVERSITES :**

M. Mario <b>TOSI</b>	Biochimie et biologie moléculaire (Unité Inserm 614)
M. Serguei <b>FETISSOV</b>	Physiologie (Groupe ADEN)
Mme Su <b>RUAN</b>	

Par délibération en date du 3 mars 1967, la faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

**Au directeur de thèse et président de jury,**

**Monsieur le Professeur Jean-Pierre VANNIER,**

Professeur de pédiatrie, chef de service d'immuno-hématologie et oncologie pédiatrique, CHU Charles Nicolle, Rouen.

Pour m'avoir accueilli dans votre service avant mon internat,

Pour m'avoir poussé à aller plus loin,

Pour avoir écouté et soutenu mes choix,

Que vous trouviez ici, l'expression de ma profonde reconnaissance.

**Aux membres du jury,**

**Monsieur le Professeur MARGUET,**

Professeur de pédiatrie, chef de service de pédiatrie, CHU Charles Nicolle, Rouen.

Avec gentillesse, vous avez accepté de juger ma thèse.

Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon profond respect.

**Monsieur le Professeur Marc VASSE,**

Professeur de pharmacie, Professeur d'hématologie, chef de service de biologie clinique, hôpital Foch.

Pour l'intérêt que vous avez porté à ce travail,

Pour avoir accepté de venir juger ce travail,

Veillez trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

**Aux membres du jury,**

**Monsieur le Professeur Fabrice JARDIN,**

Professeur d'hématologie, hématologue au centre Henri Becquerel, Rouen.

Pour l'enseignement que vous dispensez au quotidien dans le service,

Vous me faites l'honneur de juger ce travail,

Veillez trouver ici l'expression de ma profonde admiration.

**Madame le Docteur Cécile DUMESNIL,**

Pédiatre en immuno-hématologie et oncologie pédiatrique, CHU Charles Nicolle,  
Rouen.

Pour ta gentillesse, ton sens de la critique,

Pour la valeur ajoutée que tu as donnée à mon internat,

Pour avoir répondu présente pour juger mon travail,

Trouve ici l'expression de mon amitié.

**Aux praticiens hospitaliers et médecins de centre**

des différents services où j'ai été interne, néonatalogie et réanimation pédiatrique, hématologie, oncologie et hématologie pédiatrique, pédiatrie générale, laboratoire d'hématologie, et radiothérapie,

Vous représentez pour moi le savoir, l'expérience et l'engagement.

**Aux chefs : Nimrod, Philippe, Vincent, Gaëlle, Sébastien, Sandrine, et les autres**

Vous avez su être proches de vos internes,

Vous avez su leur transmettre votre savoir,

Que le temps passé à vos côtés me serve à ressembler un peu à chacun de vous.

**A mes co-internes : Mélanie, Shofi, Hélène, Hélène, Sophie, Florie, Noémie, Youssef, Lamyaa, Tiphaine, et les autres**

Pour le travail d'équipe et ce que nous en avons fait : entre-aide, fou-rires, complémentarité, insomnies, courses de pose de nouille, cafés...

**Au personnel soignant,**

Aux infirmiers(ères) et puéricultrices, aux aides-soignantes et auxiliaires de puériculture, aux technicien(ne)s de laboratoire, aux manipulateurs(trices) de radiothérapie, et aux secrétaires.



**A ma Famille,**

**A mes parents,**

Qui m'ont soutenu dans mes études,  
Sans qui rien ne serait arrivé,  
Merci pour votre confiance.

**A mes frères et sœur,**

Votre présence suffit à donner vie au mot *Famille*.  
A Eric pour sa relecture attentive.

**A mon grand-père,**

Qui a suivi avec intérêt toutes mes années d'étude.  
Que tu puisses être fier de ton petit-fils en ce jour.

**A Gérard,**

Mon beau-père et beaucoup plus.

**A mes amis : Bobo et Flo, Julien et Perrine, Baptiste et Diane**

A tout ce que vous représentez pour moi.

**A Florine,**

Un grand merci pour tout ce que tu m'apportes.

Avec tout mon amour.

**A Robin et Diane,**

Pour tous ces petits moments de joie qui me transportent loin, très loin du travail,

Pour mes absences que vous me faites payer, mais que vous comprenez,

Pour la fierté que je lis dans vos yeux.

**DEFICIT EN FACTEUR V INDUIT  
PAR LA 6-MERCAPTOPURINE AU  
COURS DU TRAITEMENT  
D'ENTRETIEN DES LEUCEMIES  
AIGUES LYMPHOBLASTIQUES DE  
L'ENFANT**

## Résumé

Le traitement d'entretien des leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) a pour but d'éradiquer les cellules leucémiques persistantes, après la rémission et les 6 mois de chimiothérapie intensive. Il est basé sur la 6-mercaptopurine (6-MP) quotidienne et le méthotrexate hebdomadaire. Les effets secondaires de la 6-MP (hépatotoxicité, myélotoxicité) sont corrélés aux concentrations de ses différents métabolites, et dépendent de polymorphismes génétiques des enzymes impliquées dans son métabolisme.

Trois patients traités pour une LAL dans le service d'immuno-hématologie et oncologie pédiatrique du CHU de Rouen, ont développé un déficit en facteur V (FV) au cours du traitement d'entretien. Ce déficit était réversible à l'arrêt ou à la diminution de posologie de la 6-MP. Il s'y associait inconstamment une baisse du facteur VII, ou des facteurs II, VII et X. Ces troubles de l'hémostase étaient asymptomatiques. Des concentrations élevées en dérivés méthylés de la 6-MP ont été mises en évidence de façon concomitante à la baisse du FV. L'algorithme d'imputabilité de Naranjo indique une association certaine dans 2 cas et probable dans un cas entre la 6-MP et la baisse du FV.

Très peu de patients ayant présenté une toxicité similaire sont décrits dans la littérature.

Le mécanisme d'action n'est pas connu. Il pourrait s'agir d'un défaut de modifications post-traductionnelles du FV induit par un métabolite de la 6-MP.

## Liste des abréviations

**ALAT** : alanine aminotransférase

**AZA** : azathioprine

**CALLA** : Common acute lymphoblastic leukemia antigen (antigène commun des LAL)

**CD** : cluster of differentiation

**CIVD** : coagulation intravasculaire disséminée

**CMV** : cytomégalovirus

**CPA** : culot plaquettaire d'aphérèse

**EGIL** : European Group for the Immunological characterization of Leukemias

**EBV** : Epstein-Bar virus

**FAB** : (classification) franco-américano-britannique

**FDA** : Food and Drug Administration

**Fg** : fibrinogène

**Hb** : hémoglobine

**ITPA** : inosine triphosphate phosphatase

**L-aspa** : L-asparaginase

**LA** : leucémie aiguë

**LAL** : leucémie aiguë lymphoblastique

**LCR** : liquide céphalo-rachidien

**LDH** : lactate déshydrogénase

**6-MP** : 6-mercaptopurine

**MICI** : maladie inflammatoire chronique de l'intestin

**MTT** : 1-méthyltétrazole-5-thiol

**MTX** : méthotrexate

**NFS** : numération formule sanguine

**NGF** : nerve growth factor ou facteur de croissance neurale

**NOR** : nerve growth factor

**OCD** : ornithine décarboxylase

**PDF** : produits de dégradation de la fibrine

**PFC** : plasma frais congelé

**PNN** : polynucléaires neutrophiles

**TCA** : temps de céphaline avec activateur

**TP** : taux de prothrombine

**TQ** : temps de Quick

**TPMT** : thiopurine S-méthyl transférase

## Table des matières

Résumé .....	1
Liste des abréviations .....	2
Table des matières .....	4
1. Introduction .....	7
1.1. Les leucémies aiguës lymphoblastiques.....	7
1.1.1. Epidémiologie .....	7
1.1.2. Diagnostic.....	8
a/ La présentation clinique .....	8
b/ Les examens complémentaires.....	8
1.1.3. Classification.....	9
a/ Etude cytologique.....	9
b/ Etude immunologique .....	10
1.1.4. Etude cytogénétique et biologie moléculaire .....	11
1.1.5. Les facteurs pronostiques .....	12
1.1.6. Principe du traitement de la LAL de l'enfant.....	13
1.1.7. Description générale du protocole FRALLE 2000 .....	14
1.1.8. Le traitement d'entretien .....	15
1.2. Thiopurines.....	16
1.2.1. Présentation .....	16
1.2.2. Métabolisme et mécanisme d'action des thiopurines.....	16
1.2.3. Variabilité interindividuelle des effets .....	18
a/ Efficacité .....	18
b/ Myélotoxicité .....	19
c/ Immunodépression .....	19
d/ Toxicité hépatique .....	20
1.3. Hémostase .....	21
1.3.1. Physiologie, rappels succincts.....	21

a/	L'hémostase primaire .....	21
b/	La coagulation plasmatique.....	21
c/	La fibrinolyse .....	22
1.3.2.	Exploration de la coagulation plasmatique .....	22
a/	Le temps de Quick (TQ).....	22
b/	Le temps de céphaline avec activateur (TCA) .....	22
c/	La mesure du taux de fibrinogène fonctionnel.....	23
d/	La mesure spécifique d'un facteur de la coagulation.....	23
e/	La recherche d'un anticorps spécifique.....	23
1.3.3.	Troubles de l'hémostase et leucémie aiguë.....	23
a/	Les anomalies de l'hémostase induites par la maladie elle-même.....	24
b/	Effet de la L-asparaginase sur l'hémostase .....	24
c/	Impact de la corticothérapie sur l'hémostase .....	25
d/	Effets des autres thérapeutiques .....	25
1.3.4.	Baisse du facteur V .....	25
2.	Patients et méthodes .....	27
2.1.	Patients .....	27
2.2.	Analyse statistique.....	27
3.	Résultats .....	29
3.1.	Patient n°1 .....	29
3.1.1.	Diagnostic.....	29
3.1.2.	Traitement reçu .....	30
a/	Phases initiales intensives .....	30
b/	Traitement d'entretien .....	30
c/	Traitements de soutien .....	31
3.1.3.	Trouble de l'hémostase .....	32
3.1.4.	Imputabilité médicamenteuse.....	33
3.2.	Patient n°2 .....	33



3.2.1.	Diagnostic.....	33
3.2.2.	Traitement reçu .....	33
a/	Phases initiales intensives .....	34
b/	Traitement d'entretien .....	34
c/	Traitements de soutien .....	35
3.2.3.	Trouble de l'hémostase .....	35
3.2.4.	Imputabilité médicamenteuse.....	36
3.3.	Patient n°3 .....	36
3.3.1.	Diagnostic.....	36
3.3.2.	Traitement reçu .....	36
a/	Phases initiales intensives .....	36
b/	Traitement d'entretien .....	37
c/	Traitements de soutien .....	37
3.3.3.	Trouble de l'hémostase .....	37
3.3.4.	Imputabilité médicamenteuse.....	38
4.	Discussion .....	39
4.1.	Rappel et critique des résultats.....	39
4.2.	Comparaison avec les données de la littérature .....	40
4.3.	Recherche d'un mécanisme d'action.....	41
4.4.	Projet de recherche .....	46
5.	Conclusion.....	48
6.	Bibliographie.....	49
	Annexe 1 : Schéma général du traitement FRALLE 2000-A .....	56
	Annexe 2 : Schéma général du traitement FRALLE 2000-BT, groupes B.....	57
	Annexe 3 : Schéma général du traitement FRALLE 2000-BT, groupes T .....	58
	Annexe 4 : L'algorithme de Naranjo.....	59
	Annexe 5 : La méthode française d'imputabilité .....	60

# **1. Introduction**

## **1.1. Les leucémies aiguës lymphoblastiques**

Les leucémies aiguës (LA) constituent une variété d'hémopathies malignes caractérisée par la prolifération de cellules jeunes, au niveau de la moelle osseuse, ne se différenciant pas en cellules plus matures.

Les leucémies sont la forme de cancer la plus fréquente chez l'enfant, représentant 30 à 35% des cas de pathologie maligne. Elles se répartissent en LA (95 à 97%) et leucémies chroniques (3 à 5%). Les LA se différencient des leucémies chroniques par une proportion plus importante de cellules jeunes, appelées cellules blastiques, bloquées dans leur différenciation, et un caractère évolutif beaucoup plus rapide.

Les LA lymphoblastiques (LAL) sont des proliférations clonales développées à partir d'une cellule lymphoïde bloquée à un stade précoce de sa différenciation. Les LAL sont, chez l'enfant, beaucoup plus fréquentes que les LA myéloblastiques, et représentent 80 à 85% des LA.

### **1.1.1. Epidémiologie**

L'incidence globale des LAL chez l'enfant peut varier d'un facteur 5 selon les pays. En France, leur nombre a été de 3,4 cas par an pour 100 000 enfants de moins de 15 ans entre 1990 et 1999 [1]. Le risque est plus bas dans les populations noires (OR : 0,58) et plus élevé dans les populations hispaniques (OR : 1,06) et natives d'Amérique (OR : 1,63) [2].

Il existe un pic de fréquence entre 2 et 5 ans, surtout marqué dans les pays occidentaux. Le *sex-ratio* est de 1,2 à 1,4.

L'étiologie des LA reste inconnue, des facteurs génétiques et environnementaux associés à un risque accru de développer une leucémie étant incriminés.

### 1.1.2. Diagnostic

#### a/ La présentation clinique

Les circonstances diagnostiques sont variées et peuvent être en rapport avec :

- une altération de l'état général, l'anorexie étant fréquente, mais pas l'amaigrissement,
- une insuffisance médullaire : syndrome anémique (pâleur, asthénie, dyspnée), infection, syndrome hémorragique (purpura pétéchial, ecchymoses, épistaxis, gingivorragies...),
- l'infiltration des cellules blastiques (douleurs osseuses, adénopathies, hépatosplénomégalie...). Un syndrome de leucostase peut s'observer dans les formes très hyperleucocytaires (leucostase pulmonaire, cérébrale...).

#### b/ Les examens complémentaires

Le diagnostic est suspecté sur les données de l'**hémogramme**. Il existe typiquement une atteinte des trois lignées (une anémie normochrome normocytaire arégénérative, une neutropénie et une thrombopénie) avec la présence le plus souvent de cellules blastiques circulantes. La numération formule sanguine (NFS) est rarement normale. Parfois, une seule lignée est atteinte.

Le **myélogramme** est indispensable au diagnostic même en cas de présence de cellules blastiques circulantes. Il permet d'affirmer la LA par la présence de plus de 20 ou 25% de cellules blastiques sur le frottis. Le prélèvement permet une analyse morphologique effectuée après coloration de May-Grünwald-Giemsa complétée par une étude cytochimique (myéloperoxydase). Des analyses immunophénotypiques et cytogénétiques des cellules blastiques sont systématiquement réalisées. La nature lymphoblastique de la LAL est en règle facilement établie par l'étude cytologique et enzymatique.

La ponction lombaire permet la recherche de cellules blastiques dans le liquide céphalo-rachidien (LCR). L'atteinte méningée est définie par l'existence de plus de 5 éléments/mm<sup>3</sup> avec présence de blastes, quel que soit le taux de ceux-ci. L'étude du LCR est

indispensable mais sera différée dans les situations où elle est dangereuse (formes hyperleucocytaires, formes avec gros médiastin, thrombopénie majeure ou coagulation intravasculaire disséminée ou CIVD importante...).

Les autres examens nécessaires sont :

- une radiographie de thorax (recherche d'un gros médiastin, d'une pneumopathie, d'une leucostase pulmonaire),
- une étude de l'hémostase,
- un ionogramme sanguin, un bilan phosphocalcique, une uricémie et un taux de LDH (recherche d'un syndrome de lyse tumoral, estimation de la masse tumorale),
- un phénotype érythrocytaire complet,
- un bilan infectieux bactériologique et viral (hépatites B et C, CMV, EBV...).

D'autres examens peuvent être utiles : échographie cardiaque (avant l'utilisation d'anthracycline), échographie abdominale, groupage HLA...

### **1.1.3. Classification**

L'analyse cytologique et immunologique apporte des éléments de classification de la LA.

#### **a/ Etude cytologique**

L'analyse du type cytologique des cellules blastiques permet de distinguer les deux grandes variétés de LA que sont les LA myéloblastiques et les LAL.

Le caractère lymphoïde de la leucémie est affirmé par l'absence de granulations cytoplasmiques et par l'analyse cytochimique retrouvant une négativité de la réaction des peroxydases dans le cytoplasme (caractérisant la lignée myéloïde).

La classification internationale FAB (franco-américano-britannique) distingue 3 variétés cytologiques de LAL en fonction de la taille des blastes et des caractéristiques du noyau et du cytoplasme [3].

### Tableau I : Classification internationale F.A.B.

Distinction des 3 types cytologiques de LAL en fonction de caractéristiques morphologiques.

	LAL 1	LAL 2	LAL 3
<b>Taille cellulaire</b>	Petite	Grande, hétérogène	Grande, homogène
<b>Rapport nucléo-cytoplasmique</b>	Très élevé, >80%	<80%	moyen
<b>Nucléole</b>	Absent ou 1 petit	1 ou plusieurs gros	1 ou plusieurs gros
<b>Membrane nucléaire</b>	Régulière, ronde	Irrégulière, encochée	Régulière, ronde ou ovale
<b>Basophilie</b>	Discrète, rarement intense	Variable, parfois intense	Très intense
<b>Vacuoles</b>	Variable	Variable	Présentes et volumineuse

Le type L3 correspond à la leucémie de Burkitt qui a un immunophénotype bien caractéristique. Depuis, la classification a évolué, la distinction L1-L2 est abandonnée, au profit de l'immunophénotypage et de la cytogénétique.

#### b/ Etude immunologique

L'expression variable, par les cellules leucémiques, d'antigènes membranaires ou intracytoplasmiques regroupés en « CD » (cluster of differentiation) permet de déterminer si les lymphoblastes appartiennent à la lignée B ou à la lignée T et de préciser leur stade de différenciation. Cette caractérisation se fait en cytométrie de flux à l'aide d'anticorps monoclonaux, chaque anticorps utilisé étant spécifique d'un antigène donné. L'immunophénotype est défini par l'ensemble des CD exprimés par les cellules leucémiques (tableau II et III [4]).

Les LAL de la lignée B représentent 80 à 85% des cas chez l'enfant. Elles sont caractérisées par la présence du CD19 qui est spécifique de la lignée B. Les formes les plus fréquentes sont le stade II de maturation, dites pré-pré-B ou B communes (55 à 60%) ; les cellules blastiques expriment le CD10 (antigène commun des LAL ou CALLA). Les formes dites pré-B représentent 15 à 20% des cas et sont caractérisées par la présence d'une chaîne lourde d'immunoglobuline intracytoplasmique (c- $\mu$ ). Les LAL B matures, ou leucémies de Burkitt, sont rares (1 à 2%) ; les cellules blastiques expriment des immunoglobulines de surface (sIg). Les formes les plus immatures (CALLA négatif) sont également rares.

### Tableau II : Classification immunologique des LAL B.

Distinction des 4 stades de maturation des LAL B en fonctions de marqueurs antigéniques.

	cCD79/CD19/ c ou sCD22	CD10 ou CALLA	c- $\mu$	sIg
B-I (pro-B)	+	-	-	-
B-II (pré-pré-B)	+	+	-	-
B-III (pré-B)	+	+/-	+	-
B-IV (B mature)	+	+/-	+/-	+

Les LAL de la lignée T représentent 15 à 20% des LAL de l'enfant. L'appartenance à la lignée T est établie par la positivité d'au moins 2 marqueurs parmi CD2, CD5 et CD7.

### Tableau III : Classification immunologique des LAL T.

Distinction des 4 stades de maturation des LAL T en fonctions de marqueurs antigéniques.

	cCD3	CD7	CD2/CD5 /CD8	CD1a+	sCD3+/ CD1a-
T-I (pro-T)	+	+	-	-	-
T-II (pré-T)	+	+	+	-	-
T-III (T cortical)	+	+	+	+	-
T-IV (T mature)	+	+	+	-	+

#### 1.1.4. Etude cytogénétique et biologie moléculaire

L'examen cytogénétique est devenu un élément fondamental de la prise en charge des LAL, contribuant à en démontrer l'hétérogénéité. Un caryotype est réalisé sur les cellules blastiques médullaires ou sanguines, permettant de rechercher des anomalies numériques (hyperdyploïdie...) et qualitatives (translocations...) des chromosomes. La valeur pronostique de certaines anomalies caryotypiques est reconnue et prise en compte dans les indications thérapeutiques.

Les techniques de biologie moléculaire, de plus en plus modernes, permettent :

- de confirmer la clonalité des cellules leucémiques en retrouvant un réarrangement soit des gènes codant pour le récepteur de l'antigène (lignée T), soit de ceux codants pour la synthèse des immunoglobulines (lignées B, à partir du stade II de maturation),
- de mettre en évidence des translocations chromosomiques non trouvées au caryotype,
- de rechercher des amplifications ou des délétions de régions codantes,
- d'évaluer quantitativement, après la mise en route du traitement, la maladie résiduelle (ensemble des cellules malignes persistant dans l'organisme et non détectables par les techniques morphologiques classiques).

#### **1.1.5. Les facteurs pronostiques**

En 1993, le « Cancer Therapy Evaluation Program » du National Cancer Institute (NCI) a organisé un "workshop" réunissant les 4 groupes américains de traitement des LAL de l'enfant, afin de définir des facteurs pronostiques uniformes pouvant être utilisés dans des études futures [ 5 ]. L'analyse rétrospective des données cliniques, cytologiques, immunologiques et cytogénétiques a permis de compléter ces facteurs pronostiques, permettant d'adapter l'intensité des traitements sur des bases rationnelles. Ces nombreux facteurs pronostiques sont souvent associés entre eux. L'intensité du traitement efface cependant certains facteurs pronostiques.

**Tableau IV : Principaux facteurs de mauvais pronostic des LAL de l'enfant.**

---

• <b>Cliniques :</b>	- âge : si <12 mois ou >10 ans - sexe masculin - syndrome tumoral important - élargissement médiastinal
• <b>Biologiques :</b>	- leucocytes sanguins >50 000/mm <sup>3</sup> - taux d'hémoglobine >10g/dl
• <b>Immunologiques :</b>	- CALLA négatif - immunophénotype T
• <b>Cytogénétiques :</b>	- hypodiploïdie - translocations défavorables : t(9;22), translocation impliquant le gène MLL
• <b>Thérapeutiques :</b>	- corticorésistance - chimiorésistance

---

### **1.1.6. Principe du traitement de la LAL de l'enfant**

La LAL de l'enfant est devenue une maladie curable dans plus de 3 cas sur 4, grâce à plusieurs avancées :

- l'utilisation de polychimiothérapie,
- la prophylaxie des rechutes méningées [6],
- la découverte de la doxorubicine, de la L-asparaginase (L-aspa),
- la stratification du risque de rechute, et donc des traitements,
- les intensifications secondaires [7],
- l'amélioration des soins de soutien,
- la prise en compte de la réponse précoce [8] et de la maladie résiduelle [9].

Ces approches thérapeutiques ont ainsi permis depuis 1965 de réaliser des progrès et d'améliorer la survie. Avant 1960, la survie à 10 ans d'un enfant atteint de LAL était de 1%. Progressivement le pourcentage d'enfants guéris s'est accru, passant de 30% dans les années 1965 à 1970, à 50% dans les années 1980 puis 60 à 65% dans les années 1990 pour atteindre actuellement 75 à 80%. L'amélioration de la survie des patients pose maintenant le problème des effets secondaires et des séquelles des traitements lourds administrés.



Dans l'avenir, la connaissance des mécanismes de résistance et du profil d'expression génique des cellules leucémiques devrait permettre un meilleur choix des traitements en fonction du type et du stade évolutif de la maladie.

Le traitement actuel des LAL de l'enfant comprend quatre phases majeures :

- une phase d'induction première, visant à obtenir une rémission complète initiale. Cette phase dure 4 à 8 semaines, et débute par 7 jours de prednisone.
- une phase de consolidation de 2 à 3 mois, où sont introduits d'autres agents de chimiothérapie, afin d'éviter la sélection d'un clone résistant (modèle de Norton et Simon [10]),
- une ou deux phases d'intensification, qui correspond à une 2<sup>e</sup> induction, 21 à 18 semaines après la rémission complète,
- un traitement d'entretien, détaillé ci-dessous.

Parallèlement, un traitement prophylactique des atteintes méningées est entrepris du fait de l'existence d'une barrière hématoencéphalique s'opposant à la pénétration des chimiothérapies. Cette prophylaxie se fait par injections intrathécales de chimiothérapie, par administration intraveineuse de méthotrexate (MTX) à haute dose, et par une irradiation encéphalique dans les cas d'atteinte méningée initiale, ou de haut risque de rechute méningée.

En France, 2 structures de concertation pour le traitement des leucémies se sont mis en place : le groupe FRALLE formé en 1982 autour de Gérard Schaison et le Children Leukemia Cooperative Group qui regroupe depuis 1983, 25 centres français, belges et portugais.

### **1.1.7. Description générale du protocole FRALLE 2000**

Le **protocole FRALLE 2000-A** est un protocole de traitement des LAL de la lignée B de risque standard de l'enfant âgé de plus de 1 an et de moins de 10 ans. Sont incluables toutes les LAL de l'enfant *de novo*, de la lignée B, et n'ayant pas de critère de gravité.

Le protocole thérapeutique comprend successivement une induction séquentielle, une consolidation, deux intensifications et un traitement d'entretien (cf. Annexe 1). La durée du traitement est d'un peu moins de 3 ans. La prophylaxie méningée repose exclusivement sur des injections intrathécales. L'intensité du traitement prend en compte la sensibilité initiale au traitement. Il n'y a pas d'indication de greffe dans ce protocole sauf en cas de chimiorésistance avérée.

Le **protocole FRALLE 2000-BT** est un ensemble de recommandations thérapeutiques concernant le traitement des LAL de risque élevé.

Sont incluables les LAL de la lignée B ou de la lignée T survenant *de novo* chez l'enfant âgé de plus de 1 an, et chez l'adolescent ou jeune adulte (jusqu'à 20 ans).

Sont distingués le traitement des LAL de la lignée B (Groupe B) et celui des LAL de la lignée T (groupe T). Au sein de chacun de ces 2 groupes, une sous-stratification distingue les patients dits de bon risque ou de risque élevé. Quatre groupes sont ainsi définis : B1, B2, T1, T2 (cf. Annexe 2).

### **1.1.8. Le traitement d'entretien**

Des cellules leucémiques peuvent rester détectables jusqu'à au moins 18 mois après l'obtention de la rémission complète [11]. Le traitement d'entretien a pour but de limiter la reprise évolutive et de détruire les clones leucémiques persistants. Il doit être continu et repose sur l'association orale de 6-mercaptopurine (6-MP) quotidienne, sans arrêt lors des réinductions, à la dose de 75 mg/m<sup>2</sup>/j, et de MTX hebdomadaire, à 25 mg/m<sup>2</sup>/semaine (avec arrêt la semaine de réinduction).

Cette phase de traitement débute à J40 (FRALLE 2000-A) ou J57 (FRALLE 2000-BT) de la phase d'intensification n°2 si les polynucléaires neutrophiles (PNN) sont supérieurs à 1000/mm<sup>3</sup> et si les plaquettes sont supérieures à 100 000/mm<sup>3</sup>. La durée du traitement d'entretien est de 24 mois. On associe, ou non selon les protocoles, à cette chimiothérapie continue, des réinductions mensuelles de vincristine et de dexaméthasone la première année.

Les doses de 6-MP et de MTX sont à adapter afin de maintenir des PNN compris entre 800 et 1200/mm<sup>3</sup>, sans lymphopénie inférieure à 500/mm<sup>3</sup> ni cytolysse hépatique majeure (alanine aminotransférase supérieure à 10 fois la limite supérieure de la normale : ALAT>10N). Ainsi le traitement d'entretien est à arrêter pendant une semaine si PNN<500/mm<sup>3</sup>, ou lymphocytes<500/mm<sup>3</sup> ou ALAT>10N, et repris à une posologie réduite d'un tiers. En cas de cytolysse hépatique plus modérée (ALAT entre 5 et 10N) ou de neutropénie plus modérée (PNN entre 500 et 800/mm<sup>3</sup>), seul le MTX dans le premier cas, ou la 6-MP dans le second cas, sera diminué d'un tiers de la posologie. En cas de bonne tolérance médullaire et hépatique du traitement pendant 2 mois, la posologie du MTX et de la 6-MP peut être augmentée d'un quart. La posologie maximale du MTX est néanmoins fixée à 40 mg/m<sup>2</sup>/semaine.

## 1.2. Thiopurines

### 1.2.1. Présentation

Les thiopurines sont des analogues des bases puriques, largement utilisées en thérapeutique médicale. Il existe 3 molécules principales : la 6-mercaptopurine (6-MP, Purinéthol<sup>®</sup>), l'azathioprine (AZA, Imurel<sup>®</sup>) et la thioguanine (Lanvis<sup>®</sup>).

La 6-MP a été synthétisée en 1951. Moins de 2 ans plus tard, cette molécule était reconnue par la FDA (Food and Drug Administration) comme un agent conduisant à la rémission des LAL [12]. Elle est depuis utilisée pour ses propriétés cytostatiques dans le traitement des LAL de l'enfant au cours des phases de consolidation et d'entretien, et dans le traitement de certaines leucémies chroniques.

L'AZA est une prodrogue rapidement hydrolysée dans le foie en 6-MP. Elle est utilisée comme agent immunosuppresseur en prévention du rejet dans les greffes d'organes depuis plus de 40 ans, puis plus récemment au cours de nombreuses pathologies auto-immunes : maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI : maladie de Crohn et recto-colite hémorragique), lupus érythémateux disséminé, polyarthrite rhumatoïde.

La thioguanine est un analogue soufré de la guanine, utilisée initialement dans le traitement d'entretien des LA myéloblastiques, puis actuellement dans les phases d'intensification des protocoles de traitement des LAL de l'enfant.

Il existe d'autres antimétabolites analogues des purines développés depuis une dizaine d'années, dont le mécanisme d'action peut être similaire (incorporation à l'ADN) ou différent (inhibition enzymatique) :

- la clofarabine, utilisée dans les LAL réfractaires,
- la cladribine et la pentostatine, utilisées dans les leucémies à tricholeucocytes,
- la fludarabine, utilisée dans les leucémies lymphoïdes chroniques,
- la nélarabine, utilisée dans les LAL T réfractaires,
- l'aciclovir et le carbovir, utilisé comme traitement anti-viral.

### 1.2.2. Métabolisme et mécanisme d'action des thiopurines

La 6-MP est métabolisée par trois voies enzymatiques (figure 1) [13] :

- La voie de phosphorylation qui conduit à la synthèse des nucléotides de la thioguanine (6-TGN), sur lesquels repose principalement l'effet thérapeutique de la 6-MP. La première étape enzymatique est sous la dépendance de l'hypoxanthine-guanine-phosphorybosyltransférase (HGPRT) conduisant au thio-inosine monophosphate, secondairement activé en 6-TGN, ou métabolisé en 6-thio-inosine triphosphate, par l'inosine triphosphate phosphatase (ITPA). Les 6-TGN sont des analogues soufrés des mono-, di- et tri-phosphate-guanosines (GMP, GDP et GTP) endogènes intervenant dans la synthèse des acides nucléiques [ARN (acide ribonucléique) et ADN (acide désoxyribonucléique)]. Ces analogues perturbent l'incorporation de ces nucléotides endogènes en s'y substituant et interfèrent ainsi avec la multiplication des cellules ayant un cycle de renouvellement rapide [14]. Les 6-TGN sont aussi susceptibles d'interférer avec les autres fonctions cellulaires des GTP, GDP et GMP (production d'énergie, signalisation).

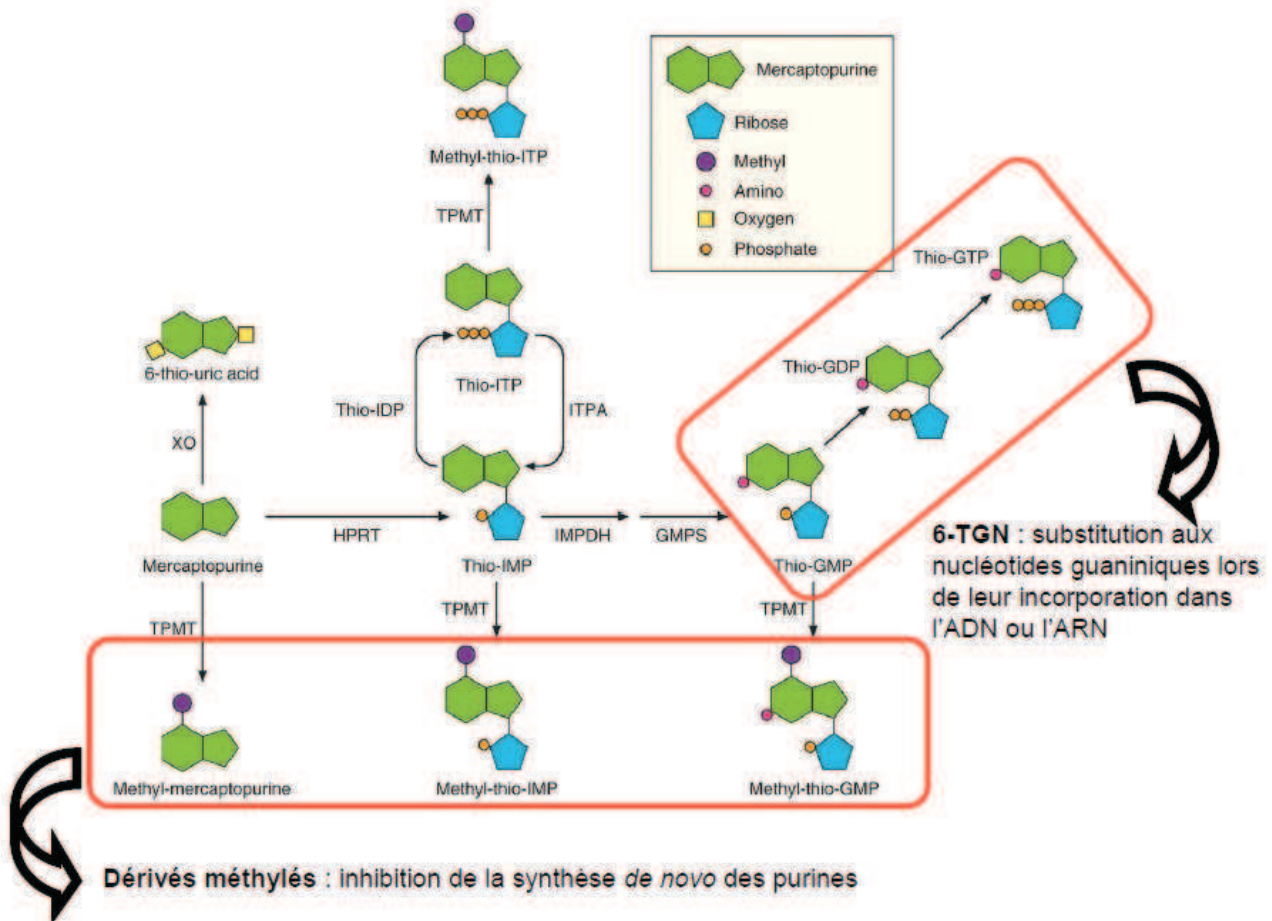
Cette voie de métabolisme est en équilibre avec deux autres voies :

- La voie de méthylation de la 6-MP, par l'intermédiaire de la thiopurine S-méthyl transférase (TPMT), formant la 6-méthylmercaptopurine. La TPMT agit aussi sur certains métabolites de l'HGPRT : le 6-thio-inosine monophosphate et les 6-TGN, entraînant la formation de leurs dérivés méthylés (les 6-MMPN). Ces méthylnucléotides inhibent la synthèse *de novo* des purines en inhibant la phosphoribosylaminotransférase (première étape de la purinosynthèse) [15].
- La voie d'oxydation, sous la dépendance de la xanthine-oxydase, voie de catabolisme de la 6-MP, aboutissant à l'acide thio-urique, éliminé dans les urines.

Les concentrations intra-érythrocytaires des 6-TGN et des 6-MMPN présentent une grande variabilité interindividuelle. Dans une étude portant sur 30 patients traités par 6-MP à la dose de 50 mg/j pendant 8 semaines, les valeurs de concentrations des 6-TGN variaient dans un rapport de 1 à 7 et dans un rapport de 1 à 16 pour les 6-MMPN [16].

**Figure 1 : Métabolisme de la 6-MP d'après Stocco *et al* [21].**

Trois voies de métabolisme à partir de la 6-MP : la voie de phosphorylation, aboutissant aux 6-TGN, inhibant la réplication de l'ADN ; La voie de méthylation, aboutissant aux 6-MMPN, inhibant la synthèse de novo des purines ; la voie d'oxydation, aboutissant à un métabolite éliminé dans les urines.



### 1.2.3. Variabilité interindividuelle des effets

De nombreuses mutations des gènes des enzymes impliquées dans le métabolisme de la 6-MP ont été décrites, modifiant ainsi les effets du traitement.

#### a/ Efficacité

Lennard *et al.* [17] ont montré dans une étude portant sur 40 enfants traités par 6-MP pour une LAL, une corrélation inverse entre le taux intra-érythrocytaire des 6-TGN et l'activité TMTP. Ils ont également montré au cours d'une étude menée chez 95 enfants traités

par 6-MP pour une LAL, que le taux des 6-MP était corrélé au risque de rechute [18]. Schmiegelow *et al.* [19] ont montré dans une étude portant sur 601 enfants traités par 6-MP en traitement d'entretien d'une LAL, que le risque de rechute était plus important chez les patients ayant un statut non muté de la TPMT (18 vs 7%). Une étude de Relling *et al.* [20] portant sur le pronostic à long terme de 182 enfants suivis pour LAL, retrouve comme facteur prédictif la dose de 6-MP reçue. Les autres variables étudiées (activité TPMT, concentration intra-érythrocytaire des 6-TGN et des métabolites du MTX ne ressortaient pas comme facteurs statistiquement prédictifs. D'autres études n'ont pas retrouvé de corrélation entre le risque de rechute et le statut muté de la TPMT ou de l'ITPA [21].

### **b/ Myélotoxicité**

La toxicité médullaire de la 6-MP est également dépendante de ces voies enzymatiques. L'administration de 6-MP à dose standard chez les patients homozygotes mutés pour la TPMT, entraîne une myélotoxicité d'apparition rapide nécessitant l'arrêt du traitement. En effet, l'abaissement du taux de TPMT conduirait à une moindre dégradation de la 6-MP et à une déviation du métabolisme vers la formation des 6-TGN, dérivés actifs, comme en témoignent les taux élevés des 6-TGN retrouvés chez ces sujets [22]. Les sujets hétérozygotes pour la TPMT présentent également une myélotoxicité aux thiopurines : dans une étude chez 67 patients traités par AZA pour une maladie rhumatoïde, 6 patients sont hétérozygotes pour le gène de la TPMT, et 5 d'entre eux ont dû interrompre le traitement du fait d'une leucopénie. Le 6<sup>e</sup> patient n'avait pas présenté de myélotoxicité, mais il existait des problèmes de compliance au traitement [23]. Relling *et al.* [24] ont évalué dans une étude le pourcentage de temps où le traitement d'entretien pour une LAL chez 180 enfants pouvait être administré à dose pleine, en fonction du statut génétique de la TPMT. Ce pourcentage était de 7% pour les homozygotes mutés, 65% pour les hétérozygotes et 85% chez les homozygotes sauvages. Enfin, le protocole thérapeutique Total 13B du St-Jude Hospital des LAL de l'enfant prévoit une adaptation de dose de la 6-MP, *a priori*, en fonction du statut TPMT [21].

### **c/ Immunodépression**

Il est possible que le traitement par thiopurines augmente le risque d'infection, même en l'absence de neutropénie, mais les preuves sont limitées. Une lymphopénie modérée est fréquemment observée chez les patients recevant des thiopurines, ce qui est un facteur notable d'infection virale. Le risque d'infections à virus varicelle-zona (VZV) chez les patients

porteurs de MICI est plus important s'ils reçoivent des thiopurines [25]. On ne retrouve pas d'étude portant sur le degré de lymphopénie et le risque d'infections virales en fonction du polymorphisme génétique des enzymes impliquées dans le métabolisme des thiopurines. Stocco *et al.* [21] ont montré dans une étude, que sur 101 enfants en traitement d'entretien d'une LAL avec des doses standards de 6-MP, le risque d'infection grave augmentait en cas de mutation hétérozygote de la TPMT, et que sur 246 enfants dont les doses de 6-MP étaient ajustés en fonction de leur génotype TPMT, le risque de neutropénie fébrile était plus important chez les patients porteurs de mutation hétérozygote du gène de l'ITPA.

#### **d/ Toxicité hépatique**

La 6-MP a une toxicité hépatique, se révélant par une cytolyse hépatique. Nygaard *et al.* [26] ont montré dans une étude portant sur 49 patients en traitement d'entretien d'une LAL, que le taux de transaminases était corrélé positivement à la posologie de 6-MP, au taux intra-érythrocytaire des 6-MMPN, et à l'activité de la TMTP, et était corrélé négativement au taux intra-érythrocytaire des 6-TGN. Des taux seuils de 6-MMPN ont été retrouvés au-delà desquels le risque d'hépatotoxicité augmentait fortement : Dubinsky *et al.* [27] ont montré que le risque d'hépatotoxicité était multiplié par 3 chez les patients traités par 6-MP ou AZA pour MICI, présentant un taux de 6-MMPN supérieur à 5700 pmol/8.10<sup>8</sup> érythrocytes. Dans une étude portant sur 66 patients en traitement d'entretien pour une LAL, Adam de Beaumais *et al.* [28] ont déterminé par courbe ROC, un taux seuil de 6-MMPN à 4884 pmol/8.10<sup>8</sup> érythrocytes, prédictif du risque d'hépatotoxicité, avec une sensibilité à 80% et une spécificité à 80%. Schmiegelow *et al.* [29] ont montré dans une étude rétrospective incluant 115 enfants traités pour une LAL T, que la présence d'une cytolyse hépatique (transaminases supérieures à 40 UI/l) en cours de traitement d'entretien, était corrélée à un risque de rechute moins important (0,5 vs 0,7 à 4,5 ans de la rémission complète). Nygaard *et al.* [26] proposent l'utilisation des transaminases (notamment l'ALAT) comme marqueurs de compliance au traitement d'entretien.

## **1.3. Hémostase**

### **1.3.1. Physiologie, rappels succincts**

L'hémostase est le processus physiologique regroupant les différents mécanismes qui assurent la prévention des saignements spontanés et l'arrêt des hémorragies en cas de rupture de la continuité de la paroi vasculaire par la formation d'un thrombus. Elle comprend 3 phases :

#### **a/ L'hémostase primaire**

Une lésion de l'endothélium induit une vasoconstriction locale qui favorise une interaction plaquettes-sous-endothélium. L'adhésion plaquettaire au sous-endothélium est rendue possible par le facteur Willebrand (VWF) qui interagit avec une glycoprotéine membranaire de la plaquette (GPIb) d'une part, et avec le collagène sous-endothélial d'autre part (collagène de type I majoritairement). L'adhésion des plaquettes au sous endothélium entraîne leur activation. Elles changent de morphologie et émettent des pseudopodes d'une part, et sécrètent des agents constricteurs (sérotonine), et des agents proagrégants (thromboxane A<sub>2</sub>, adénosine di-phosphate). La sécrétion d'agents proagrégants permet l'agrégation plaquettaire, par l'interaction du fibrinogène (Fg) avec une glycoprotéine membranaire de la plaquette (GPIIb/IIIa). L'activation plaquettaire permet également la génération de petites quantités de thrombine, qui transforment le Fg en fibrine, ce qui permet de stabiliser le clou plaquettaire.

#### **b/ La coagulation plasmatique**

Elle est initiée par la liaison entre le facteur tissulaire (TF), libéré par le sous-endothélium, et le facteur VII (FVII), présent naturellement dans le plasma. Ce complexe TF-FVII active le facteur X (FX) en facteur Xa (FXa), et dans une moindre mesure le facteur IX (FIX) en facteur IXa (FIXa). Le FXa permet la génération des premières traces de thrombine par activation de la prothrombine (facteur II : FII). Ces traces de thrombine activent le facteur V (FV) en facteur Va (FVa), le facteur VIII (FVIII) en facteur VIIIa (FVIIIa). Puis un complexe formé avec les FVIIIa et FIXa amplifie l'activation du FX en FXa, c'est la voie



intrinsèque. Puis un complexe FXa-FVa appelé prothrombinase permet la persistance et la propagation de la génération de thrombine.

### **c/ La fibrinolyse**

La fibrinolyse intervient de façon physiologique pour éviter le dépôt excessif de fibrine et pour tenter de reperméabiliser un vaisseau après formation d'un thrombus. Le plasminogène plasmatique est activé en plasmine, essentiellement par l'activateur tissulaire du plasminogène (t-PA), lui-même libéré par l'endothélium lésé. La plasmine est une enzyme protéolytique qui va agir sur la fibrine, ce qui va ainsi générer des produits de dégradation de la fibrine et du Fg (PDF), dont les D-dimères.

### **1.3.2. Exploration de la coagulation plasmatique**

Des explorations de l'hémostase sont nécessaires devant une symptomatologie hémorragique évocatrice, ou devant une situation à risque de troubles de l'hémostase. Les troubles de la coagulation sont responsables le plus souvent d'hémorragies provoquées, profondes, à type d'hématomes, d'hémarthroses, d'hématuries, d'hémorragies digestives ou cérébrales.

#### **a/ Le temps de Quick (TQ)**

C'est le temps de coagulation d'un plasma citraté pauvre en plaquettes recalcifié en présence de thromboplastine. Les résultats sont exprimés en secondes, ou en pourcentage de l'activité d'un pool de plasmas normaux (taux de prothrombine : TP). Ce test explore la voie « extrinsèque » de la coagulation, c'est-à-dire les facteurs II, V, VII, X et le Fg. Un déficit quantitatif ou qualitatif en l'un ou plusieurs de ces facteurs entraîne un allongement du TQ proportionnel au déficit.

#### **b/ Le temps de céphaline avec activateur (TCA)**

C'est le temps de coagulation d'un plasma citraté pauvre en plaquettes et recalcifié en présence de céphaline jouant le rôle de substitut plaquettaire, et d'un activateur de la phase contact de la coagulation. Les résultats sont exprimés en secondes par rapport à celui d'un pool de plasmas normaux appelé témoin. Ce test explore la voie « intrinsèque » de la

coagulation : il permet d'identifier un déficit quantitatif ou qualitatif en facteur VIII, IX, et en facteurs de la phase contact (XI, XII, kalicréine et kininogène de haut poids moléculaires).

#### **c/ La mesure du taux de fibrinogène fonctionnel**

C'est un test chromométrique dont le principe repose sur la mesure du temps de fibrinoformation d'un plasma dilué avec adjonction d'un excès de thrombine. Il existe une relation linéaire entre le temps de fibrinoformation et le taux de Fg.

#### **d/ La mesure spécifique d'un facteur de la coagulation**

Elle est réalisée par un test reposant sur le principe soit du TQ pour les facteurs II, V, VII et X, soit du TCA pour les facteurs VIII, IX, XI, et XII. Le plasma testé est dilué et additionné d'un plasma-réactif, sélectivement et complètement dépourvu du facteur à mesurer.

#### **e/ La recherche d'un anticorps spécifique**

Elle est pratiquée lorsqu'il existe un déficit isolé en un facteur de la coagulation. L'anticorps est mis en évidence par la non-correction du test de coagulation pratiqué (selon le facteur déficitaire) lors du mélange du plasma à tester avec un plasma témoin. Les tests peuvent être sensibilisés par incubation prolongée des plasmas à 37°C.

### **1.3.3. Troubles de l'hémostase et leucémie aiguë**

Les processus à l'origine des anomalies de l'hémostase existant chez les enfants présentant une LAL sont multiples. Ils incluent la maladie elle-même et les différents traitements utilisés, notamment la corticothérapie et la L-aspa. La combinaison de ses différents facteurs aboutit à un état d'hypercoagulabilité à l'origine d'événements thromboemboliques. Ces complications sont fréquentes, de l'ordre de 5%, et surviennent majoritairement lors de la phase d'induction du traitement [30].

### **a/ Les anomalies de l'hémostase induites par la maladie elle-même**

Les études sur les troubles de l'hémostase au diagnostic d'une LAL rapportent que les taux de la plupart des facteurs de la coagulation et des inhibiteurs sont normaux, sauf ceux du FVIII, du VWF et du Fg, qui sont augmentés [31,32]. Leur augmentation peut être expliquée par la réponse inflammatoire à la LAL. Il existe également une augmentation des paramètres témoignant de la génération de thrombine (fragment 1 et 2 de la thrombine, fibrinopeptide A, complexes thrombine-antithrombine III, D-dimères) [ 33 , 34 ]. Enfin, le VWF, la thrombomoduline et l'inhibiteur de la voie du TF sont augmentés, suggérant une activation de l'endothélium [35].

### **b/ Effet de la L-asparaginase sur l'hémostase**

La L-aspa est une enzyme d'origine bactérienne qui clive un acide aminé, la L-asparagine, en acide L-aspartique et ammoniac. Elle entraîne une déplétion rapide en asparagine circulante dans l'organisme. A l'inverse des cellules normales, les lymphoblastes malins ne possèdent pas d'asparagine synthétase, et sont dépendants d'apport exogène pour leur croissance [36].

La L-aspa interfère avec la synthèse de certaines protéines, induisant un déficit en différents facteurs procoagulants, en protéines inhibitrices de la coagulation et protéines de la fibrinolyse. L'antithrombine III (AT III) est la protéine dont le taux est le plus significativement diminué au cours du traitement par L-aspa [37], mais aucune cause n'a été trouvée pour expliquer cet effet plus marqué sur les concentrations en AT III par rapport aux autres protéines de la coagulation.

Au cours, du traitement par L-aspa, il existe également une augmentation des phospholipides procoagulants (PPL) circulants, dont la présence est indispensable à la formation des complexes macromoléculaires impliqués dans la cascade de la coagulation [35]. Des lésions endothéliales sont probablement à l'origine de ces PPL.

### **c/ Impact de la corticothérapie sur l'hémostase**

Les études visant à évaluer l'effet de la corticothérapie sur l'hémostase au cours du traitement des LAL retrouvent les mêmes résultats que celles réalisées sur des sujets sains ou traités pour d'autres pathologies [38].

La corticothérapie augmente les concentrations plasmatiques de certaines protéines de la coagulation (FVIII, FII et TF) et déprime la synthèse de Fg, de VWF et de plasminogène, entraînant par là un état prothrombotique [39]. Son association à la L-aspa au cours du traitement des LAL est associée à une élévation du risque thrombotique [40].

### **d/ Effets des autres thérapeutiques**

L'impact des autres types de chimiothérapies sur l'hémostase a été moins étudié que celui de la L-aspa et la corticothérapie.

La vincristine et la daunorubicine ne semblent pas entraîner de troubles de la coagulation majeurs au cours du traitement de la LAL [41]. Cependant, la vincristine induit *in vitro* une expression forte du TF par des cellules endothéliales [35]. Au cours de l'induction, il existe une augmentation à plus de 5 fois des valeurs normales du TF, qui peut être considéré comme le déclencheur de la cascade de la coagulation [35].

Une étude a évalué les effets du MTX à haute dose ( $3\text{g/m}^2$ ) sur les paramètres de l'hémostase chez des enfants traités pour LAL [42]. Les anomalies mise en évidence (diminution significative des taux de prothrombine, Fg, protéine C et S, AT III et des PDF) peuvent être soit directement liées au traitement par MTX, soit être un effet des chimiothérapies utilisées au cours des phases précédentes.

#### **1.3.4. Baisse du facteur V**

Le facteur V (proaccéléline) est le cofacteur plasmatique du complexe prothrombinase, qui active la prothrombine en thrombine. Il est synthétisé par le foie. Il circule sous forme inactive dans le plasma ; environ 20% des stocks de FV se trouvent dans les granules  $\alpha$  des plaquettes. L'origine du FV intraplaquettaire est double : à la fois endocytose par les plaquettes et synthèse par les mégacaryocytes.

Le déficit acquis en FV est en général dû à la production d'inhibiteurs du FV, associée dans 44% de ces cas à l'exposition à la thrombine bovine contenue dans des colles

biologiques (retirées du marché en France), ou suite à un geste chirurgical dans 23% des cas, ou idiopathique pour 19% des cas. Les autres étiologies d'anticorps anti-FV sont les pathologies malignes (majoritairement des hémopathies), les maladies auto-immunes, les transfusions, le post-partum et l'utilisation de certains antibiotiques (aminosides) [43,44].

Il existe un déficit en FV dans les pathologies affectant les fonctions de synthèse du foie : hépatite aigüe, hépatite chronique, cirrhose hépatique. Il existe également une baisse parallèle, à un degré similaire, des autres facteurs du complexe prothrombinique (facteur II, VII et X) et du FIX, ainsi que des inhibiteurs de la coagulation (ATIII, protéine C, protéine S) [45]. L'existence d'une splénomégalie associée peut entraîner une baisse préférentielle du FV par coagulopathie de consommation [46].

## **2. Patients et méthodes**

### **2.1. Patients**

Soixante-deux nouveaux patients ont été pris en charge pour une LAL, dans le service d'immuno-hématologie et oncologie pédiatrique de Rouen, entre le 1<sup>er</sup> janvier 2007 et le 31 décembre 2011. Trente patients ont été traités dans le protocole FRALLE 2000-BT, 11 patients pour une LAL de la lignée T, et 19 pour une LAL de la lignée B. Vingt-neuf patients ont été traités dans le protocole FRALLE 2000-A. Deux patients ont été traités selon le protocole EsPHALL pour une LAL de la lignée B avec translocation 9-21, et un patient de moins de 1 an a été traité selon le protocole INTERFANT 06.

Nous rapportons l'observation de 3 patients chez qui un déficit en FV de la coagulation en cours de traitement d'entretien a été mis en évidence. Nous présenterons d'abord l'anamnèse et le diagnostic pour chaque patient, puis le traitement par chimiothérapie reçu. Nous décrirons ensuite les traitements de soutien apportés lors de la chimiothérapie, notamment les produits dérivés du sang et les produits sanguins labiles, qui peuvent influencer les bilans d'hémostase. Le traitement d'entretien sera détaillé, notamment les posologies du traitement, ainsi que les raisons des variations de posologie. Enfin nous décrirons les troubles de l'hémostase retrouvés chez les patients, ainsi que les autres troubles biologiques associés.

### **2.2. Analyse statistique**

Nous étudierons pour chacun des 3 patients l'imputabilité, du 6-MP et du MTX, sur le déficit en FV.

L'imputabilité est l'évaluation clinique systématisée du lien causal susceptible d'exister entre un événement indésirable et l'administration d'un médicament. Elle est évaluable par 3 approches : le jugement d'expert, les algorithmes et la méthode probabiliste (théorème de Bayes). Le jugement d'expert et la méthode probabiliste ne sont pas applicables à ce travail. Nous utiliserons 2 algorithmes.

L'algorithme de Naranjo [47] est composé d'une série de 10 questions, dont les réponses sont pondérées et s'additionnent pour obtenir un score d'imputabilité à 4 degrés : certain, probable, possible, improbable (cf. Annexe 3).

La méthode française d'imputabilité a été publiée en 1978 et réactualisée en 1985 [48]. Elle est actuellement utilisée en France par les centres régionaux de pharmacovigilance, comme méthode de référence [49].

Cette méthode distingue l'imputabilité intrinsèque, qui ne concerne que le cas clinique, de l'imputabilité extrinsèque, qui est fondée sur les données bibliographiques. L'imputabilité intrinsèque est basée sur l'évaluation de sept critères combinés dans deux tables de décision (critères chronologiques et sémiologiques). On obtient un score d'imputabilité à 5 degrés : très vraisemblable, vraisemblable, plausible, douteux, paraissant exclu (cf. Annexe 4).

### **3. Résultats**

#### **3.1. Patient n°1**

##### **3.1.1. Diagnostic**

Il s'agit d'une fille âgée de 14 ans et 10 mois au diagnostic. Elle n'avait pas d'antécédents médicaux particuliers. Elle a présenté une asthénie et une anorexie associée à de la fièvre et une pâleur, qui l'ont conduite à consulter aux urgences pédiatriques en mai 2010. L'examen clinique retrouvait une pâleur, pas de point d'appel infectieux, pas de syndrome hémorragique, un syndrome tumoral restreint à une polyadénopathie cervicale. Le reste de l'examen clinique était sans particularité.

Il existait à l'hémogramme une bicytopenie avec une anémie (taux d'hémoglobine : Hb 6,1 g/dl) arégénérative (réticulocytes 35 G/l), et une leuco-neutropénie à 1,4 G/l (PNN 0,32 G/l), associée à une infiltration blastique sanguine (0,42 G/l). Un envahissement médullaire par des blastes (90%) était retrouvé au myélogramme. Leur étude immunophénotypique permettait de conclure à une LAL commune B, correspondant au stade II de maturation. Le caryotype sur moelle était normal, et la recherche en biologie moléculaire des transcrits de fusion les plus fréquents était négative. Le bilan d'extension était négatif : il n'y avait pas d'atteinte méningée à la ponction lombaire et la radiographie thoracique était normale.

Les sérologies des hépatites virales étaient négatives. Les sérologies, de même que la charge virale EBV, étaient positives.



### 3.1.2. Traitement reçu

La patiente a été traitée selon le protocole FRALLE 2000 BT (cf. Annexe 2).

#### a/ Phases initiales intensives

La préphase a été débutée le 02/06/2010, la patiente était corticosensible, puis chimiosensible. L'induction a été poursuivie dans le groupe B1. Le calendrier de traitement est résumé dans le tableau V.

**Tableau V : Calendrier de chimiothérapie du patient n°1.**

<b>Induction</b>	J1 : 02/06/2010 J35 : 06/07/2010
<b>Consolidation</b>	J1 : 08/07/2010 J49 : 29/08/2010
<b>Intensification n°1</b>	J1 : 06/09/2010 J49 : 24/10/2010
<b>Interphase</b>	J1 : 05/11/2010 J49 : 23/12/2010
<b>Intensification n°2</b>	J1 : 30/12/2010 J49 : 16/02/2011

#### b/ Traitement d'entretien

Il a été débuté le 10/03/2011, à dose standard, c'est-à-dire 6-MP à 75 mg/m<sup>2</sup>/j en une prise quotidienne et MTX à 25 mg/m<sup>2</sup>/semaine en une prise hebdomadaire, associée aux réinductions mensuelles.

Le traitement a été arrêté le 14/04/2011 devant un tableau clinique associant asthénie, nausées et douleurs abdominales, ainsi qu'une cytolyse hépatique (ALAT entre 5 et 10 fois la normale supérieure), un ictère (bilirubine totale à 61 µmol/l) et une baisse du TP (60%) et des facteurs V (33%) et VII (52%). Une échographie abdominale n'a pas retrouvé d'anomalie hépatique, la recherche d'infection virale était négative (HBV, HCV, EBV, CMV), la paracétamolémie était négative. La 6-MP et le MTX ont été repris après 3 semaines d'arrêt (3<sup>e</sup> réinduction), respectivement à 65 mg/m<sup>2</sup>/j et 13 mg/m<sup>2</sup>/semaine, devant une normalisation du TP et du taux de transaminases, sans que la cause des anomalies soit clairement identifiée. Le MTX a été repris à demi-dose devant l'hypothèse de sa responsabilité.

Au 4<sup>e</sup> mois de traitement (03/06/2011), soit un mois après sa reprise, les doses de 6-MP et de MTX ont été diminuées à nouveau de moitié, respectivement à 35 mg/m<sup>2</sup>/j et 8 mg/m<sup>2</sup>/semaine, devant une baisse du TP (59%) et du FV (24%), sans atteinte des autres facteurs du complexe prothrombinique, sans cytolyse ni cholestase hépatique. Une neutropénie à 0,9 G/l était associée.

Après cette nouvelle diminution du traitement, on a observé une normalisation du TP (81%) et du FV (76%) au bout de 15 jours. Des soins dentaires avec avulsion ont été pratiqués lors de cette période, sans complication hémorragique. La neutropénie persistait néanmoins.

Les doses de 6-MP et de MTX ont été augmentées à la 2<sup>e</sup> semaine du 5<sup>e</sup> mois, respectivement à 70 mg/m<sup>2</sup>/j et 13 mg/m<sup>2</sup>/semaine, devant la stabilité du bilan hépatique et du TP, et la correction de la neutropénie.

Trois semaines après cette augmentation de posologie, le traitement a été arrêté devant une baisse du TP (52%) et du FV (28%), associée à une neutropénie à 0,75 G/l. Un dosage des métabolites de la 6-MP a été réalisé simultanément. Il a été retrouvé un taux de 6-MMPN à 14935 pmol/8.10<sup>8</sup> érythrocytes, et un taux de 6-TGN à 368 pmol/8.10<sup>8</sup> érythrocytes. Après une semaine d'arrêt, le traitement a été repris à 33 mg/m<sup>2</sup>/j pour la 6-MP et 11 mg/m<sup>2</sup>/semaine pour le MTX.

Au 7<sup>e</sup> mois de traitement d'entretien, les posologies de 6-MP et MTX ont été augmentées respectivement à 40 mg/m<sup>2</sup>/j et 15 mg/m<sup>2</sup>/semaine, puis maintenues, sans anomalies de l'hémostase. La surveillance hebdomadaire comprenait NFS, ALAT et TP.

Au début du 9<sup>e</sup> mois, la 6-MP a été interrompue une semaine, sans arrêter le MTX, devant une baisse modérée du TP à 60% sans autre anomalie. Le TP était normalisé une semaine après et la 6-MP a été reprise à 40mg/m<sup>2</sup>/j.

Par la suite, le traitement a été maintenu à 40 mg/m<sup>2</sup>/j de 6-MP et 15mg/m<sup>2</sup>/semaine de MTX sans baisse du TP. La 6-MP a cependant été interrompue à 2 reprises pendant de courtes périodes d'une semaine, en raison d'épisodes de neutropénie.

### **c/ Traitements de soutien**

Au cours du traitement par chimiothérapie, la patiente n°1 a également reçu des médicaments dérivés du sang comme la rasburicase (Fasturtec<sup>®</sup>) lors de la préphase, de

l'amphotéricine B (Ambisome<sup>®</sup>) lors de la consolidation. Elle a reçu une antibiothérapie par ceftazidime lors de la consolidation. Enfin, elle a reçu des produits sanguins labiles, à savoir :

- 4 poches de plasma frais congelé (PFC), dont le dernier le 09/09/2010, lors du traitement par L-aspa de l'intensification n°1,
- 2 CPA, dont le dernier le 10/02/2011, lors de l'intensification n°2,
- plusieurs culots érythrocytaires, dont le dernier le 15/02/2011, également lors de l'intensification n°2.

### **3.1.3. Trouble de l'hémostase**

Le bilan d'hémostase au diagnostic de la LAL comportait un TP à 72%, sans exploration des facteurs du complexe prothrombinique. Le premier dosage des facteurs II, V, VII et X a été réalisé en cours d'induction, après administration au patient de PFC ; les facteurs étaient alors normaux, mais non interprétables.

Lors de la phase de consolidation, un dosage du TP avait été réalisé après 2 semaines de 6-MP à 50 mg/m<sup>2</sup>/j, il était normal.

A la 7<sup>e</sup> semaine du début du traitement d'entretien, il est apparu une baisse du TP (60%) résultant d'une baisse des facteurs V (33%) et VII (52%). Le TP s'était normalisé au bout de 6 jours, en commençant par la normalisation du FVII. Lors des autres épisodes ultérieurs de baisse du TP, le FV était systématiquement bas, alors que le FVII était inconstamment abaissé, et jamais au dessous de 50%.

Le bilan d'exploration a comporté une recherche d'inhibiteur, sur TCA sensibilisé et sur temps de thromboplastine diluée, une recherche d'inhibiteur spécifique anti-FV, un dosage des facteurs VIII, IX, XI et XII par méthode chromométrique, la recherche d'une CIVD. Ces bilans étaient réalisés de façon contemporaine à la baisse du FV. Ces explorations sont revenues négatives, en dehors des PDF plasmatiques faiblement positifs (5 µg/ml) lors d'un épisode, mais avec des complexes solubles négatifs, et du dosage du facteur XII bas à 2 reprises : 40 et 55% (normale supérieure à 70%). Il n'y a jamais eu de signes hémorragiques cliniques.

Le TP et le FV ont été dosés chez les 2 patients du patient n°1, et étaient normaux, ce qui rend peu probable une atteinte constitutionnelle.

#### **3.1.4. Imputabilité médicamenteuse**

L'imputabilité de la 6-MP dans la baisse du FV est selon l'algorithme de Naranjo : certaine, et selon la méthode française : très vraisemblable.

L'imputabilité du MTX dans la baisse du FV est selon l'algorithme de Naranjo : probable, et selon la méthode française : vraisemblable.

### **3.2. Patient n°2**

#### **3.2.1. Diagnostic**

Il s'agit d'un garçon de 11 ans ayant pour antécédent une maladie de Lyme en phase primaire traitée en 2010. Il présentait une obésité (indice de masse corporelle 26,5 kg/m<sup>2</sup>). Il a présenté une asthénie, une pâleur, un essoufflement puis une fièvre, évoluant depuis 3 semaines, ayant conduit à la réalisation d'un hémogramme. L'examen clinique retrouvait un syndrome anémique (pâleur cutanéomuqueuse, asthénie), un syndrome hémorragique (pétéchies cutanées), un syndrome tumoral (adénopathies inguinales droites et cervicales droites, splénomégalie modérée). Il n'y avait pas cliniquement d'atteinte testiculaire ni neurologique.

Il existait une bicytopénie (anémie avec Hb à 8,3 g/dl, thrombopénie à 46 G/l) associée à une hyperleucocytose à 229 G/l composée majoritairement par des blastes (209 G/l). Une infiltration blastique médullaire était retrouvée au myélogramme (90%). Ces blastes avaient un immunophénotypage lymphoïde commun B (stade II de maturation). Le caryotype était masculin comportant un clone pathologique et caractérisé par une délétion 9p et acquisition secondaire d'une translocation 1-20 ; la recherche en biologie moléculaire des transcrits de fusion les plus fréquents était négative. Le bilan d'extension était négatif : il n'y avait pas d'atteinte méningée et la radiographie thoracique était normale.

#### **3.2.2. Traitement reçu**

Le patient a été traité selon le protocole FRALLE 2000 BT (cf. Annexe 2).

### a/ Phases initiales intensives

La préphase a été débutée le 28/01/2011, le patient était corticosensible, puis chimiosensible. L'induction a été poursuivie dans le groupe B1. Le calendrier de traitement est résumé dans le tableau VI.

**Tableau VI : Calendrier de chimiothérapie du patient n°2.**

<b>Induction</b>	J1 : 28/01/2011 J35 : 03/03/2011
<b>Consolidation</b>	J1 : 10/03/2011 J49 : 27/04/2011
<b>Intensification n°1</b>	J1 : 05/05/2011 J49 : 23/06/2011
<b>Interphase</b>	J1 : 06/07/2011 J49 : 23/08/2011
<b>Intensification n°2</b>	J1 : 01/09/2011 J49 : 19/10/2011

### b/ Traitement d'entretien

Il a été débuté le 03/11/2011 à dose standard, c'est-à-dire 6-MP à 75 mg/m<sup>2</sup>/j en une prise quotidienne et MTX à 25 mg/m<sup>2</sup>/semaine en une prise hebdomadaire, associée au réinduction mensuelle.

Le patient n°2 a reçu une demie dose de 6-MP et de MTX pendant la dernière semaine du 3<sup>e</sup> mois lunaire de traitement devant une neutropénie, puis repris à pleine dose, après correction de la neutropénie.

Au début du 6<sup>e</sup> mois de traitement d'entretien, la 6-MP a été arrêtée seule devant une baisse du TP (59%) et des facteurs du complexe prothrombinique (FII : 75% ; FV : 47% ; FVII : 61% ; FX : 56%), avec une cytolysse hépatique modérée (ALAT à 157 UI/l). Un dosage des métabolites de la 6-MP a été réalisé simultanément. Il a été retrouvé un taux de 6-MMPN à 27184 pmol/8.10<sup>8</sup> érythrocytes, et un taux de 6-TGN à 624 pmol/8.10<sup>8</sup> érythrocytes. Après une semaine d'arrêt, la 6-MP a été reprise à demi-dose, c'est-à-dire 36 mg/m<sup>2</sup>/j, sans récurrence d'anomalie d'hémostase par la suite.

### **c/ Traitements de soutien**

Le patient n°2 a reçu de la rasburicase lors de la préphase.

Il a également reçu des produits sanguins labiles :

- plusieurs PFC, dont le dernier lors de l'intensification n°2 pour les injections de L-aspa,
- plusieurs CGR, dont le dernier à 3 semaines du début du traitement d'entretien,
- plusieurs CPA, dont le dernier lors de l'induction.

#### **3.2.3. Trouble de l'hémostase**

Au diagnostic du patient n°2, il existait des perturbations du bilan d'hémostase avec une baisse du TP (53%) et des facteurs du complexe prothrombinique (FII : 56% ; FV : 39% ; FVII : 64% ; FX : 65%), sans baisse du Fg (à 3,48 g/l), sans stigmates de CIVD. Pendant l'induction, il existait fréquemment un TP bas sous L-aspa, pour lequel le patient n°2 a reçu des PFC. En début de consolidation, le TP était normal, mais il était abaissé (65%) à J1 de l'intensification n°1 (le 05/05/2011), alors que la consolidation ne comportait pas de L-aspa, mais de la 6-MP à 50 mg/m<sup>2</sup>/j de J29 à J49 (du 07 au 27/04/2011). La phase d'intensification n°1 a comporté des baisses du TP, imputée aux injections de L-aspa. En début d'interphase, le TP était normal, mais il était abaissé (66%) à J1 de l'intensification n°2, alors que l'interphase précédente ne comportait pas de L-aspa, mais de la 6-MP à 50 mg/m<sup>2</sup>/j de J1 à J49.

Il existait après un mois du début du traitement d'entretien une baisse du TP à 50%, associée à une cytolyse hépatique (ASAT à 248 UI/l). Le TP et la cytolyse hépatique s'étaient corrigés une semaine après la baisse du traitement (6-MP et MTX) à demi-dose pour une neutropénie. Au 6<sup>e</sup> mois du traitement d'entretien, on retrouvait une baisse du TP à 59% et des facteurs du complexe prothrombinique (FII : 75% ; FV : 47% ; FVII : 61% ; FX : 56%), avec une cytolyse hépatique modérée (ALAT à 157 UI/l). Il n'y avait pas de signes hémorragiques cliniques. La correction a été totale après une semaine d'arrêt de la 6-MP. La reprise de la 6-MP à 36 mg/m<sup>2</sup>/j n'a pas entraîné de nouvelles baisses du TP, alors qu'il a été observé des épisodes de cytolyse hépatique parfois importante (ALAT à 393 UI/l).

### **3.2.4. Imputabilité médicamenteuse**

L'imputabilité de la 6-MP dans la baisse du FV est selon l'algorithme de Naranjo : certaine, et selon la méthode française : très vraisemblable.

L'imputabilité du MTX dans la baisse du FV est selon l'algorithme de Naranjo : possible, et selon la méthode française : douteuse.

## **3.3. Patient n°3**

### **3.3.1. Diagnostic**

Il s'agit d'un garçon de 7 ans sans antécédent, qui a présenté une primo-infection EBV symptomatique à type de fièvre et polyadénopathie cervicale. Il existait une neutropénie lors de l'épisode, persistant à 3 semaines d'évolution, pour laquelle il a été adressé en consultation d'hématologie pédiatrique. L'examen clinique ne retrouvait pas de signe fonctionnel, il y avait un syndrome tumoral avec adénopathies cervicales bilatérales, hépato- et splénomégalie. L'examen neurologique et testiculaire était normal. Il existait une infiltration blastique sanguine (1,58 G/l) sans cytopénie. Le myélogramme retrouve une infiltration blastique à 82%, d'immunophénotype lymphoïde commun B (stade II de maturation). Le caryotype est masculin comportant un clone pathologique hyperdiploïde avec 56 chromosomes. L'étude en biologie moléculaire ne retrouve pas de transcrits de fusion des LAL. Il n'existait pas d'atteinte méningée à l'analyse du LCR, et pas d'élargissement du médiastin à la radiographie du thorax.

### **3.3.2. Traitement reçu**

Le patient est traité selon le protocole FRALLE 2000 A (cf. Annexe 1).

#### **a/ Phases initiales intensives**

La préphase est débutée le 01/10/2010, le patient est corticosensible, puis chimiosensible. L'induction a été poursuivie dans le groupe A1/A2. Le calendrier de traitement est résumé dans le tableau VII.

**Tableau VII : Calendrier de chimiothérapie du patient n°3.**

<b>Induction</b>	J1 : 01/10/2010 J35 : 04/11/2010
<b>Consolidation</b>	J1 : 08/11/2010 J84 : 30/01/2011
<b>Intensification n°1</b>	J1 : 31/01/2011 J49 : 20/03/2011
<b>Interphase</b>	J1 : 28/03/2011 J56 : 22/05/2011
<b>Intensification n°2</b>	J1 : 06/06/2011 J35 : 10/07/2011

### **b/ Traitement d'entretien**

Il a débuté le 27/07/2011. La posologie de 6-MP a été diminuée à 46 mg/m<sup>2</sup>/j au début du 7<sup>e</sup> mois de traitement devant une baisse du TP à 63% et du FV à 54%, associée à une cytolysse hépatique (ALAT à 188 UI/l).

Au 8<sup>e</sup> mois de traitement d'entretien, la posologie de la 6-MP a été diminuée à 26 mg/m<sup>2</sup>/j devant une neutropénie à 1,1 G/l. par la suite, la posologie de la 6-MP a été augmentée à 46 puis 55 mg/m<sup>2</sup>/j devant l'absence de toxicité biologique.

### **c/ Traitements de soutien**

Le patient n°3 a reçu de la rasburicase lors de la préphase.

Il a également reçu des produits sanguins labiles :

- 6 PFC, dont le dernier lors de l'induction,
- plusieurs CGR, dont le dernier lors de l'intensification n°1 (14/03/2011),
- plusieurs CPA, dont le dernier lors de l'induction (14/10/2010).

### **3.3.3. Trouble de l'hémostase**

Lors des phases de chimiothérapie intensive, il n'a pas été retrouvé de TP abaissé, il n'y avait pas eu de dosage des facteurs du complexe prothrombinique. Après 5 mois de traitement d'entretien, il existait une cytolysse hépatique avec les ALAT augmentées au maximum à 325 UI/l, pour lequel un dosage des métabolites de la 6-MP a été réalisé : il était retrouvé un taux de 6-MMPN à 17914 pmol/8.10<sup>8</sup> érythrocytes, et un taux de 6-TGN à 418



pmol/8.10<sup>8</sup> érythrocytes. Il n'y avait pas eu de bilan d'hémostase à ce moment-là. Au 8<sup>e</sup> mois du traitement d'entretien, il existait une baisse du TP à 63% et du FV à 54%, les facteurs II, VII et X n'avaient pas été dosés. Il s'y associait une cytolysse hépatique (ALAT à 188 UI/l). Il n'y avait pas de signes cliniques hémorragiques. La posologie de la 6-MP avait alors été diminuée à 46 mg/m<sup>2</sup>/j, et après une semaine, le FV était remonté à 90%, mais le TP restait toujours bas à 68%, et les métabolites de la 6-MP toujours augmentés (6-MMPN à 22852 pmol/8.10<sup>8</sup> érythrocytes, 6-TGN à 737 pmol/8.10<sup>8</sup> érythrocytes). Un mois après, le TP s'était normalisé (90%), il n'existait plus de cytolysse hépatique (ALAT à 43 UI/l) et les métabolites de la 6-MP avaient diminués (6-MMPN à 378 pmol/8.10<sup>8</sup> érythrocytes, 6-TGN inférieur à 133 pmol/8.10<sup>8</sup> érythrocytes).

#### **3.3.4. Imputabilité médicamenteuse**

L'imputabilité de la 6-MP dans la baisse du FV est selon l'algorithme de Naranjo : probable, et selon la méthode française : plausible.

L'imputabilité du MTX dans la baisse du FV est selon l'algorithme de Naranjo : possible, et selon la méthode française : douteuse.

## **4. Discussion**

### **4.1. Rappel et critique des résultats**

Parmi les 62 patients traités sur une période de 5 ans pour LAL dans le service, un petit nombre d'entre eux ont eu un bilan d'hémostase en cours de traitement d'entretien. On peut donc supposer que les 3 cas cliniques présentés dans ce travail ne sont pas représentatifs de la fréquence de déficit en FV en cours de traitement d'entretien. De plus, le TP est approximativement la moyenne des activités des facteurs du complexe prothrombinique. Cela signifie qu'un TP peut être normal, c'est-à-dire supérieur à 80%, alors que le FV est abaissé, si les autres facteurs (II, VII et X) sont normaux. Cette donnée montre que des patients ont pu ne pas être dépistés uniquement par un TP.

Au travers de ces 3 cas cliniques de LAL de l'enfant traités dans le protocole FRALLE 2000, on observe l'apparition de trouble de l'hémostase lors du traitement d'entretien. Selon les observations, ces troubles se sont manifestés par une baisse du TP et systématiquement du FV. Il pouvait s'y associer une baisse du FVII, ou des facteurs II, VII et X. Néanmoins chez un patient, lors de certains épisodes de baisse du TP, le FV était seul abaissé.

On a observé moins d'épisodes de trouble de l'hémostase lors du traitement d'entretien chez les patients n°2 et 3, car les patients sont présentés ici dans l'ordre chronologique de prise en charge dans le service, et l'expérience des médecins du service au travers du patient n°1 a permis rapidement la réduction de posologie de la 6-MP lors de l'apparition de ces troubles chez les patients n°2 et 3.

L'imputabilité médicamenteuse dans la baisse du FV nous montre une réaction à la 6-MP certaine (méthode de Naranjo) ou très vraisemblable (méthode française) dans 2 cas

(patients n°1 et 2) et probable (méthode de Naranjo) ou plausible (méthode française) dans le dernier cas (patient n°3). Le degré d'imputabilité pour la 6-MP est plus fort que pour le MTX puisque pour ce dernier, la réaction est probable (méthode de Naranjo) ou vraisemblable (méthode française) dans un cas (patient n°1) et possible (méthode de Naranjo) ou douteuse (méthode française) pour des 2 autres cas (patients n°2 et 3).

Le patient n°2 a également présenté des TP abaissés à 65% au premier jour de chacune des 2 intensifications, alors qu'il avait reçu 3 semaines (en phase de consolidation) et 7 semaines (en interphase) de 6-MP à la dose de 50 mg/m<sup>2</sup>/j. Ces anomalies n'avaient pas été explorées ; on peut cependant suspecter un déficit en FV induit par la 6-MP.

Les épisodes de déficit en FV sont survenus, pour certains, en présence d'une cytolyse hépatique, mais d'autres épisodes de déficit en FV sont survenus sans aucune cytolyse hépatique. Inversement, des épisodes de cytolysse hépatique sont survenus en l'absence de déficit en FV.

#### **4.2. Comparaison avec les données de la littérature**

Vignand *et al.* [50] ont rapporté le cas d'un enfant traité pour LAL, qui a présenté plusieurs épisodes de baisse du TP et du FV en cours de traitement de consolidation, comportant vincristine, dexaméthasone, MTX *per os* à 25 mg/m<sup>2</sup>/semaine et 6-MP à 75 mg/m<sup>2</sup>/j. La diminution des doses de 6-MP à 50 mg/m<sup>2</sup>/j permettait la correction de ces troubles. Il s'y associait un taux subnormal de FVII, et une augmentation modérée des ALAT. Les taux de FII et de Fg étaient normaux, de même que l'albuminémie et la  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase. Les recherches de déficit congénital en FV, d'anticorps anti-FV, de CIVD étaient négatives. L'activité de la TPMT était normale.

Poupeney *et al.* [51] ont décrit 5 patientes traitées par 6-MP ou AZA pour une maladie de Crohn ou une rectocolite hémorragique. Ces patientes ont développé 3 à 15 mois après le début du traitement une baisse du TP et du FV. Ces troubles étaient isolés, sans baisse des autres facteurs du complexe prothrombinique, sans cytolysse ni cholestase hépatique, sans ictère. Les 6-TGN ont été dosés pour 2 patientes et les 6-MMPN pour 1 patiente, ils étaient normaux. Il n'a pas été retrouvé d'anticorps anti-FV.

Aricò *et al.* [52] ont pratiqué des TQ chez 45 enfants en cours de traitement d'entretien de LAL. Parmi eux, 17 enfants avaient épisodiquement un TQ allongé, et ont été explorés par les tests de laboratoire suivant : TP, TCA, temps de venin de vipère Russel (TVVR : dépistant

la présence d'anticorps anti-phospholipides, et explorant l'activation du FX), recherche d'inhibiteur par TCA et TVVR sur mélange des plasmas témoin et malade, dosages de l'activité des facteurs II, V, VII, X, Fg et AT III. Ils mettaient en évidence une baisse significative de l'activité du FVII, et un allongement significatif du TVVR. Il n'y avait pas de différence entre les patients et les contrôles pour le FV, mais l'activité moyenne du FV chez les contrôles était de 55%. Ces valeurs de FV chez les contrôles témoignent d'une mauvaise conservation des plasmas, et la différence entre patients et contrôles pour le FV peut ainsi ne pas être mise en évidence. Les auteurs expliquaient la baisse du FVII et l'allongement du TVVR chez les patients par un défaut d'absorption ou d'utilisation de la vitamine K.

Pereira *et al.* [53] rapportent le cas d'une patiente qui a présenté un déficit en FV au cours d'un traitement par 6-MP pour une LAL ; le traitement avait été poursuivi malgré cette anomalie du bilan de coagulation, sans anomalie du bilan hépatique.

### **4.3. Recherche d'un mécanisme d'action**

Pour ces 3 observations, la baisse du TP et du FV semble être liée à la 6-MP. Ces troubles de la coagulation se corrigeaient par diminution de la posologie de la 6-MP. Chez ces 3 patients, un taux réputé hépatotoxique de 6-MMPN a été retrouvé concomitant aux troubles de l'hémostase. On peut supposer que cette toxicité est liée aux 6-MMPN, et que les 3 patients ont une activité TPMT élevée. Néanmoins, chez le patient n°3, le FV s'était corrigé alors que le taux de 6-MMPN était encore élevé. De même, un taux élevé de 6-MMPN serait corrélé à la fois à une cytolyse hépatique et une baisse du FV, alors que ces 2 types de toxicité n'étaient forcément associés, notamment chez le patient n°1.

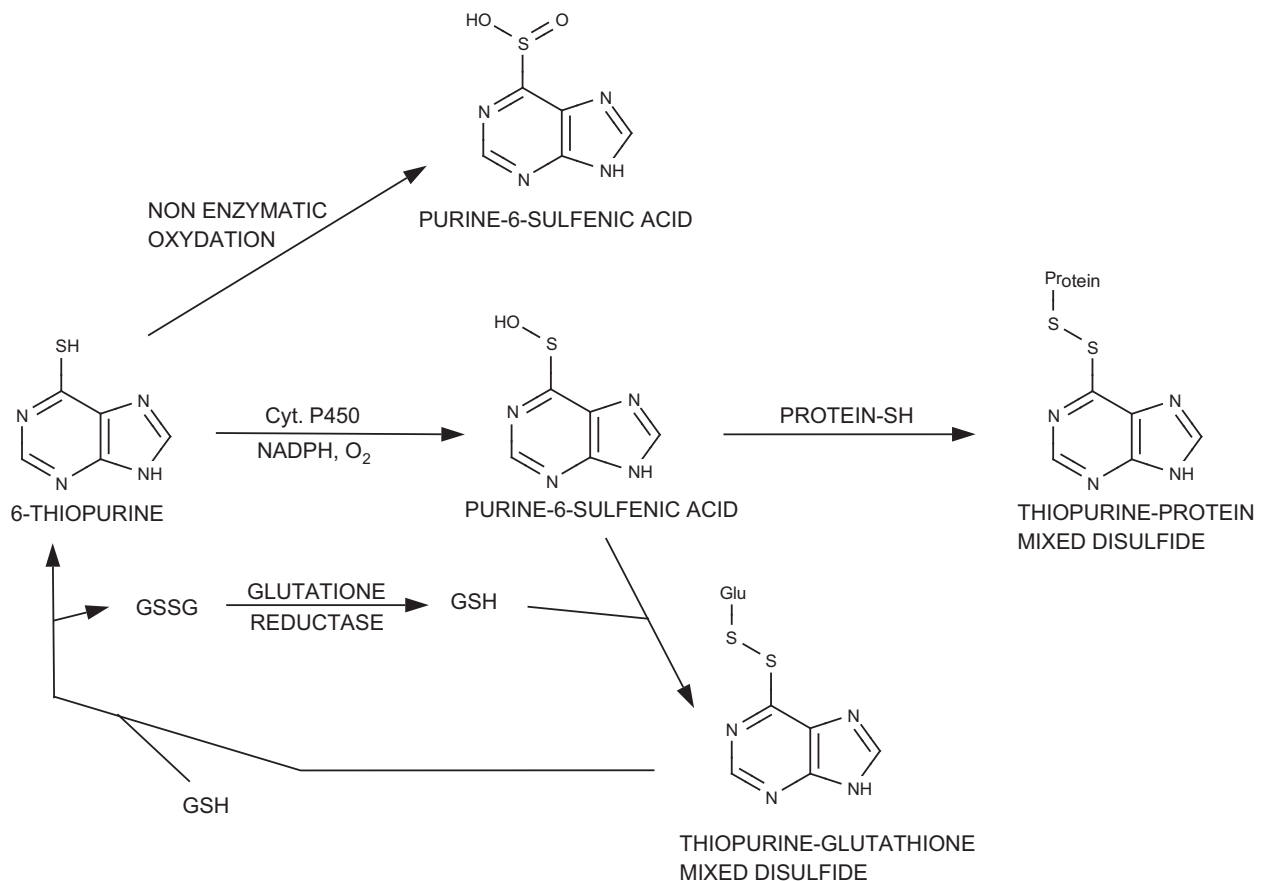
La dissociation des épisodes de déficit en FV et des épisodes de cytolyse hépatique, ainsi que le déficit préférentiel en FV et l'atteinte inconstante des aux facteurs du complexe prothrombinique, portent à penser que le déficit en FV ne relève pas d'un syndrome classique d'atteinte hépatique (cytolyse hépatique, cholestase, insuffisance hépatocellulaire).

Les traitements de soutien de chacun des 3 patients ont été relevés, car il est décrit des anticorps neutralisant anti-FV, associés à des hémopathies malignes, à des transfusions et à des produits dérivés du sang [43,44]. L'existence d'un tel anticorps est peut probable, car la chronologie entre l'exposition aux produits dérivés du sang (rasburicase, amphotéricine B), ou aux produits sanguins labiles (CPA, PFC et culots érythrocytaires), et l'apparition du déficit en FV est peu évocatrice. De plus, l'effet d'un tel anticorps serait soit permanent, soit présent lors de l'administration de la 6-MP, quelque-soit la posologie.

La recherche d'une coagulopathie de consommation a été recherchée chez le patient n°1 : seuls les PDF étaient légèrement positifs, le reste du bilan n'orientait pas vers cette étiologie : taux de Fg et de FVIII normaux, complexes solubles négatifs, taux de plaquettes normal. Cette étiologie semble donc peu probable.

Vignand *et al.*[50], d'une part, et Poupney *et al.*[51], d'autre part, s'appuient sur le travail de Hyslop et Jardine pour expliquer cette toxicité des thiopurines : ces derniers ont montré *in vivo* chez le rat et le lapin que les 6-thiopurines étaient liées à des protéines majoritairement au niveau du foie, de la rate et de l'intestin. La fraction cellulaire contenant le plus de protéines liées aux 6-thiopurines était celle microsomale. La liaison aux protéines microsomales hépatiques était augmentée chez les rats nourris avec un régime sans protéines, dans le but de diminuer la concentration de glutathion hépatocellulaire. Hyslop et Jardine ont étendu leurs recherches *in vitro*, en montrant qu'il existait une liaison irréversible d'un métabolite de la 6-thiopurine avec des protéines hépatiques. La liaison protéique survenait dans les microsomes hépatiques du rat, du hamster, du lapin, du porc et de l'homme, en présence de NADPH et d'oxygène. Le cytochrome P-450 interviendrait dans l'activation du 6-thiopurine en un métabolite réactif chimiquement (figure 2). Ceci a été démontré par l'utilisation de divers inhibiteurs du cytochrome P-450, qui diminuaient la concentration de protéines liées aux 6-thiopurines, et par l'utilisation d'un inducteur, le phénobarbital, qui augmentait cette concentration. La liaison du métabolite semble être un pont disulfure entre l'acide 6-sulfénique purine et des thiols protéiques. En présence de thiols comme le glutathion, la liaison irréversible entre les protéines et les 6-thiopurines a été inhibée chez le rat et le lapin [54,55].

**Figure 2 : Mécanisme d'activation de la 6-thiopurine, de la liaison aux protéines, et de la protection par le glutathion**, proposé par Hyslop et Jardine [54]. GSSG : glutathion oxydé. GSH : glutathion réduit.



Des études ont trouvé que la 6-MP intervenait dans des voies de signalisation intracellulaire :

L'ornithine décarboxylase (ODC) est une enzyme nécessaire à la synthèse des polyamines. Cette voie est importante dans les phénomènes de croissance et de différenciation cellulaires, par régulation de la transcription et de la réplication de l'ADN, et de la traduction de l'ARN. Le facteur de croissance neural (NGF) joue un rôle majeur dans la croissance et la différenciation des neurones, en induisant l'expression de l'ODC. La 6-MP, ainsi que d'autres analogues des purines, inhibent l'expression de l'ODC par inhibition de protéines kinases associées aux récepteurs du NGF [56,57].

Le récepteur nucléaire orphelin NOR-1 appartient à la famille des récepteurs hormonaux nucléaires. Ces derniers sont impliqués dans la prolifération, la différenciation, l'apoptose cellulaires, en activant l'expression de certains gènes. Ils sont composés d'un

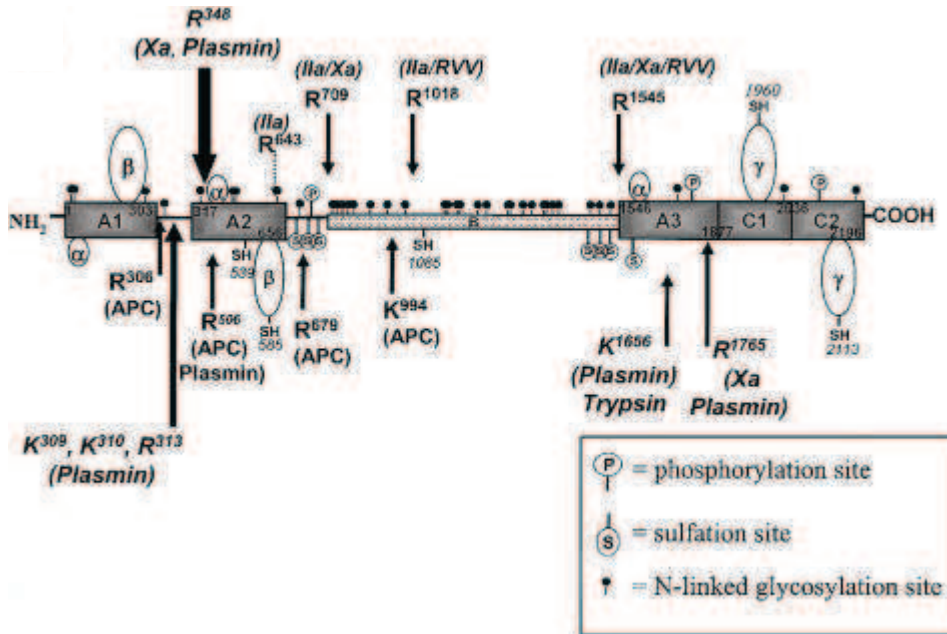
domaine d'activation, d'un domaine de liaison à l'ADN, et d'un domaine de liaison à un ligand. Le domaine d'activation de certains récepteurs nucléaires proches de NOR-1, peut être régulé par une protéine kinase A dépendante de l'adénosine monophosphate (AMP) cyclique. La 6-MP régule d'activité de NOR-1, par un mécanisme faisant intervenir le domaine d'activation de NOR-1. Il semble très probable que les 6-MMPN, par leur inhibition de la synthèse *de novo* des purines, réduisent le pool cellulaire en AMP notamment, et inhibe ainsi la protéine kinase A AMP cyclique-dépendante [58].

Le FV est sécrété après modification d'un pré-propeptide en une protéine de 2196 acides aminés. La molécule est composée de domaines A tripliqués, un domaine B, et de domaines C dupliqués. Les domaines A sont homologues à ceux du facteur VIII. Le domaine B est peu conservé entre les facteurs V des différentes espèces. Il est libéré sous forme de 2 fragments lors de l'activation du FV en FVa, par la thrombine et le FXa, qui ont une activité protéase [59].

La molécule du facteur V subit plusieurs modifications post-traductionnelles, dont la sulfatation, la phosphorylation, la glycosylation, et la création de ponts disulfures. Plusieurs agents exogènes peuvent conduire à l'inhibition de la sécrétion du FV, ou à une diminution de son activité. L'inhibition de la sulfatation de résidus tyrosines par de chlorate de sodium induit la sécrétion du FV dont l'activité est réduite à 1/5 de celle du FV normal, par diminution de son activation par la thrombine, et par diminution de son activité intrinsèque [60]. De même, la glycosylation de résidus asparagines semble importante, puisque la tunicamycine, un inhibiteur de la N-glycosylation, inhibe la sécrétion du FV [61]. La phosphorylation de résidus sérines, induite par 2 types de protéines kinases, intervient dans l'activation du FV en FVa, et dans l'inactivation du FVa par la protéine C activée [62]. La molécule de FV présente également 7 ponts disulfures entre des résidus cystéines, formant 3 types de boucles (3 boucles alpha, 2 boucles bêta, 2 boucles gamma). Cinq résidus cystéines sont libres, dont l'un en position 539 semble très réactif [59].

**Figure 3 : Schéma de l'organisation de la molécule de facteur V humain.**

Les flèches du haut représentent les sites d'activation par clivages par la thrombine et le facteur Xa. Les flèches du bas indiquent les sites d'inactivation par clivage par la protéine C activée et la plasmine. Les positions de modifications post-traductionnelles sont également indiquées. D'après Mann *et al.* [59].



Aux vues des éléments apportés par Hyslop et Jardine à propos de l'existence d'une liaison irréversible d'un métabolite de la thiopurine à des protéines microsomiales, de la complexité des modifications post-traductionnelles du FV, et l'action de la 6-MP dans les voies de signalisation par inhibition de protéines kinases, on peut établir des hypothèses sur le mécanisme du déficit en FV :

- Les 6-MMPN pourraient inhiber une enzyme impliquée dans une étape des modifications post-traductionnelles du FV, lorsqu'ils sont à des concentrations élevées, comme chez les 3 patients de notre travail. On sait que les 6-MMPN inhibent la phosphoribosylaminotransférase, première enzyme impliquée dans la purinosynthèse ; ces métabolites pourraient également inhiber une autre enzyme, impliquée dans les modifications post-traductionnelles du FV, notamment une enzyme à activité protéine kinase.
- L'acide 6-sulfénique-purine pourrait se lier à une enzyme impliquée dans une étape des modifications post-traductionnelles du FV, et l'inhiber.
- L'acide 6-sulfénique-purine pourrait se lier de façon irréversible aux résidus cystéines du FV, soit à ceux impliqués dans des ponts disulfures et ainsi altérer la



structure tertiaire de la molécule de FV, soit aux résidus libres et inhiber l'activation ou l'activité du FV.

- L'acide 6-sulfénique-purine pourrait se lier au glutathion, et ainsi diminuer les réserves en glutathion intracellulaire, cofacteur nécessaire à certaines enzymes.
- La 6-MP pourrait inhiber l'expression du gène du FV, par inhibition d'une protéine kinase impliquée dans la trans-régulation de ce gène.

Ces mécanismes possibles conduiraient soit à l'absence de sécrétion de FV par les hépatocytes, soit à la sécrétion d'un FV dont l'activité serait diminuée ou absente. Le dosage de l'activité du FV en est donc abaissé.

Rapportons l'exemple similaire de certaines céphalosporines dont la structure possède un groupe 1-méthyltétrazole-5-thiol (MTT), qui sont responsables d'hypoprothrombinémie (moxalactam, céfamandole, céfoperazole). Le groupement MTT est libéré *in vivo*, se dimérise par oxydation en formant un pont disulfure, et inhibe la  $\gamma$ -glutamyl-carboxylase, dont le cofacteur est la vitamine K. La déplétion en glutathion augmente l'inhibition de la  $\gamma$ -carboxylation [63]. Une autre céphalosporine, la céfazoline, est également responsable d'hypoprothrombinémie, mais moins fréquemment. La céfazoline possède un groupement 2-méthyl-1,3,4-thiadiazole-5-thiol (MTD), qui possède la même activité inhibitrice de  $\gamma$ -carboxylation que le MTT. Cependant, le MTD est rapidement inactivé *in vivo* par méthylation par la TPMT [64]. Ainsi, l'hypoprothrombinémie s'observe majoritairement chez les patients déficitaires en TPMT.

#### 4.4. Projet de recherche

Afin de tester les différentes hypothèses physiopathologiques du déficit en FV induit par la 6-MP, plusieurs travaux pourraient être entrepris :

- Le dosage antigénique du FV chez des patients présentant une baisse de l'activité du FV sous 6-MP permettrait d'objectiver la présence, ou non, du FV plasmatique. En effet, il est possible que le FV soit sécrété dans le plasma, mais sous une forme inactive.
- Un défaut de modification post-traductionnelle du FV pourrait être étudié dans un système de culture d'hépatocytes en présence de thiopurines. Après lyse cellulaire, les différentes fractions cellulaires pourraient être analysées en *Western blot* après double marquage par un anticorps monoclonal anti-FV et un anticorps monoclonal reconnaissant une protéine chaperonne impliquée dans la dégradation des protéines

aberrantes. Une seule bande de migration électrophorétique pour ces 2 marquages indiquerait un défaut de modification post-traductionnelle.

- De même, une liaison d'un métabolite des thiopurines avec le FV pourrait être mise en évidence par analyse en *Western blot* utilisant un anticorps monoclonal anti-FV, après culture d'hépatocytes en présence de thiopurine marquée au  $^{14}\text{C}$ .

## 5. Conclusion

Les 3 observations rapportées dans ce travail illustrent l'existence d'une toxicité asymptomatique et réversible de la 6-MP sur le FV. Les explorations réalisées pour ces 3 patients ne sont pas toutes aussi approfondies. Il semblerait souhaitable qu'une réflexion sur la conduite à tenir devant l'apparition d'une baisse du TP et du FV en cours de traitement d'entretien d'une LAL, soit engagée entre les oncopédiatres, les biologistes en hémostase et les biologistes en pharmacologie.

En effet, le dosage systématique du TP et du FV ne fait pas partie de la surveillance habituelle des patients en cours de traitement d'entretien de LAL par 6-MP et MTX, mais il pourrait être intéressant de réaliser ce dépistage par TP et FV au cours du 4<sup>e</sup> ou 5<sup>e</sup> mois de traitement d'entretien, afin de dépister tous les patients, et le cas échéant, approfondir les explorations par un dosage des métabolites de la 6-MP, le dosage des facteurs II, V, VII, X, des facteurs VIII et IX, et le dosage antigénique du FV, afin d'estimer l'association du déficit en FV, avec la cytolysé hépatique et le taux de 6-MMPN, et d'établir sur un plus grand nombre de patients un tableau clinico-biologique plus précis des anomalies décrites dans ce travail.

De même, les mécanismes pathogéniques de cette toxicité sont inconnus. Un travail pourrait être entrepris dans un laboratoire de recherche effectuant des cultures cellulaires.

Même s'il est établi que le déficit en facteurs de la coagulation synthétisés par le foie, témoin d'une dysfonction hépatique sévère, doit conduire à la réduction de posologie de la 6-MP, nous ne pouvons pas actuellement recommander de diminuer ou de maintenir la posologie de la 6-MP en cas de déficit isolé en FV.

## 6. Bibliographie

- [1] Clavel J, Goubin A, Auclerc MF, *et al.* Incidence of childhood leukaemia and non-Hodgkin's lymphoma in France : National Registry of Childhood Leukaemia and Lymphoma, 1990-1999. *Eur J Cancer Prev* 2004;13:97-103.
- [2] Chow EJ, Puumala SE, Mueller BA, *et al.* Childhood cancer in relation to parental race and ethnicity: a 5-state pooled analysis. *Cancer* 2010;116:3045-53.
- [3] Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, *et al.* Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol* 1976;33:451-8.
- [4] Bene MC, Castoldi G, Knapp W, *et al.* Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia* 1995;9:1783-6.
- [5] Smith M, Bleyer A, Crist W, *et al.* Uniform criteria for childhood acute lymphoblastic leukemia risk classification. *J Clin Oncol* 1996;14:680-1.
- [6] Sullivan MP, Chen T, Dymont PG, *et al.* Equivalence of intrathecal chemotherapy and radiotherapy as central nervous system prophylaxis in children with acute lymphoblastic leukemia: a pediatric oncology group study. *Blood* 1982;60:948-58.
- [7] Henze G, Fengler R, ReiterA, *et al.* Impact of early intensive reinduction therapy on event-free survival in children with low-risk acute lymphoblastic leukemia. *Haematol Blood Transfus* 1990;33:483-8.

- [8] Reiter A, Schrappe M, Ludwig WD, *et al.* Chemotherapy in 998 unselected childhood acute lymphoblastic leukemia patients. Results and conclusions of the multicenter trial ALL-BFM 86. *Blood* 1994;84:3122-33.
- [9] Cavé H, van der Werff ten Bosch J, Sucio S, *et al.* Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia. European Organization for Research and Treatment of Cancer—Childhood Leukemia Cooperative Group. *N Engl J Med* 1998;339:591-8.
- [10] Norton L, Simon R. The Norton-Simon hypothesis revisited. *Cancer Treat Rep* 1986;70:163-9.
- [11] Yamada M, Wasserman R, Lange B, *et al.* Minimal residual disease in childhood B-lineage lymphoblastic leukemia – Persistence of leukemic cells during the first 18 months of treatment. *N Engl J Med* 1990;323:448-55.
- [12] Burchenal JH, Murphy ML, Ellison RR, *et al.* Clinical evaluation of a new antimetabolite, 6-mercaptopurine, in the treatment of leukemia and allied diseases. *Blood* 1953;8:965-99.
- [13] Jourdil N, Fonrose X, Boulieu R, *et al.* Suivi thérapeutique pharmacologique des 6-thioguanine nucléotides dans les maladies inflammatoires cryptogéniques de l'intestin : intérêt et limites. *Thérapie* 2010;65:177-86.
- [14] Elion GB. The purine path to chemotherapy. *Science* 1989;244:41-6.
- [15] Tay BS, Lilley RM, Murray AW, *et al.* Inhibition of phosphoribosyl pyrophosphate amidotransferase from Ehrlich ascites-tumour cells by thiopurine nucleotides. *Biochem Pharmac* 1969;18:936-8.
- [16] Derijks LJ, Gilissen LP, Engels LG, *et al.* Pharmacokinetics of 6-mercaptopurine in patients with inflammatory bowel disease: implications for therapy. *Ther Drug Monit* 2004;26:311-8.
- [17] Lennard L, Van Loon J, Lilleyman JS, *et al.* Thiopurine pharmacogenetics in leukemia : correlation of erythrocyte thiopurine methyltransferase activity an 6-thioguanine nucleotide concentrations. *Clin Pharmacol Ther* 1987;41:18-25.

- [18] Lennard L, Lilleyman JS, Van Loon J, *et al.* Genetic variation in response to 6-mercaptopurine for childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet* 1990; 336:225-9.
- [19] Schmiegelow K, Forestier E, Kristinsson J, *et al.* Thiopurine methyltransferase activity is related to the risk of relapse of childhood acute lymphoblastic leukemia: results from the NOPHO ALL-92 study. *Leukemia* 2009;23:557-64.
- [20] Relling MV, Hancock ML, Boyett JM, *et al.* Prognostic importance of 6-mercaptopurine dose intensity in acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1999;93:2817-23.
- [21] Stocco G, Cheok MH, Crews KR, *et al.* Genetic polymorphism of inosine triphosphate pyrophosphatase is a determinant of mercaptopurine metabolism and toxicity during treatment for acute lymphoblastic leukemia. *Clin Pharmacol Ther* 2009;85:164-72.
- [22] Lennard L, Van Loon JA, Weinshilboum RM. Pharmacogenetics of acute azathioprine toxicity: relationship to thiopurine methyltransferase genetic polymorphism. *Clin Pharmacol Ther* 1989;46:149-54.
- [23] Black AJ, McLeod HL, Capell HA, *et al.* Thiopurine methyltransferase genotype predicts therapy-limiting severe toxicity from azathioprine. *Ann Intern Med* 1998;129:716-8.
- [24] Relling MV, Hancock ML, Rivera GK, *et al.* Mercaptopurine therapy intolerance and heterozygosity at the thiopurine S-methyltransferase gene locus. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:2001-8.
- [25] Gupta G, Lautenbach E, Lewis JD. Incidence and risk factors for herpes zoster among patients with inflammatory bowel disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006;4:1483-90.
- [26] Nygaard U, Toft N, Schmiegelow K. Methylated metabolites of 6-mercaptopurine are associated with hepatotoxicity. *Clin Pharmacol Ther* 2004;75:274-81.
- [27] Dubinsky MC, Lamothe S, Yang HY, *et al.* Pharmacogenomics and metabolite measurement for 6-mercaptopurine therapy in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2000;118:705-13.

- [28] Adam de Beaumais T, Fakhoury M, Medard Y, *et al.* Determinants of mercaptopurine toxicity in paediatric acute lymphoblastic leukemia maintenance therapy. *Br J Clin Pharmacol* 2011;71:575-84.
- [29] Schmiegelow K, Pulczynska M. Prognostic significance of hepatotoxicity during maintenance chemotherapy for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Br J Cancer* 1990;61:767-72.
- [30] Caruso V, Iacoviello L, Di Castelnuovo A, *et al.* Thrombotic complications in childhood acute lymphoblastic leukemia: a meta-analysis of 17 prospective studies comprising 1752 pediatric patients. *Blood* 2006;108:2216-22.
- [31] Piest JR, Ramsay NKC, Bennett AJ, *et al.* The effect of L-asparaginase on antithrombin, plasminogen, and plasma coagulation during therapy for acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr* 1982;100:990-5.
- [32] Abshire TC, Gold SH, Odom LF, *et al.* The coagulopathy of childhood leukemia. Thrombin activation or primary fibrinolysis. *Cancer* 1990;66:716-21.
- [33] Mitchell L, Halton JM, Vegh PA, *et al.* Effect of disease and chemotherapy on hemostasis in children with acute lymphoid leukemia. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1994;16:120-6.
- [34] Oner AF, Gürgey A, Kirazi S, *et al.* Changes of hemostatic factors in children with acute lymphoblastic leukemia receiving combined chemotherapy including high dose methylprednisolone and L-asparaginase. *Leuk lymphoma* 1999;33:361-4.
- [35] Schneider P, Van Dreden P, Rousseau A, *et al.* Increased levels of tissue factor activity and procoagulant phospholipids during treatment of children with acute lymphoblastic leukemia. *Br J Haematol* 2010;148:582-92.
- [36] Muller HJ, Boos J. Use of L-asparaginase in childhood ALL. *Crit Rev Oncol/Hematol* 1998;28:97-113.
- [37] Mitchell L, Hoogendoorn H, Giles PV, *et al.* Increased endogenous thrombin generation in children with acute lymphoblastic leukemia: risk of thrombotic complications in L-asparaginase-induced antithrombin III deficiency. *Blood* 1994;83:386-91.

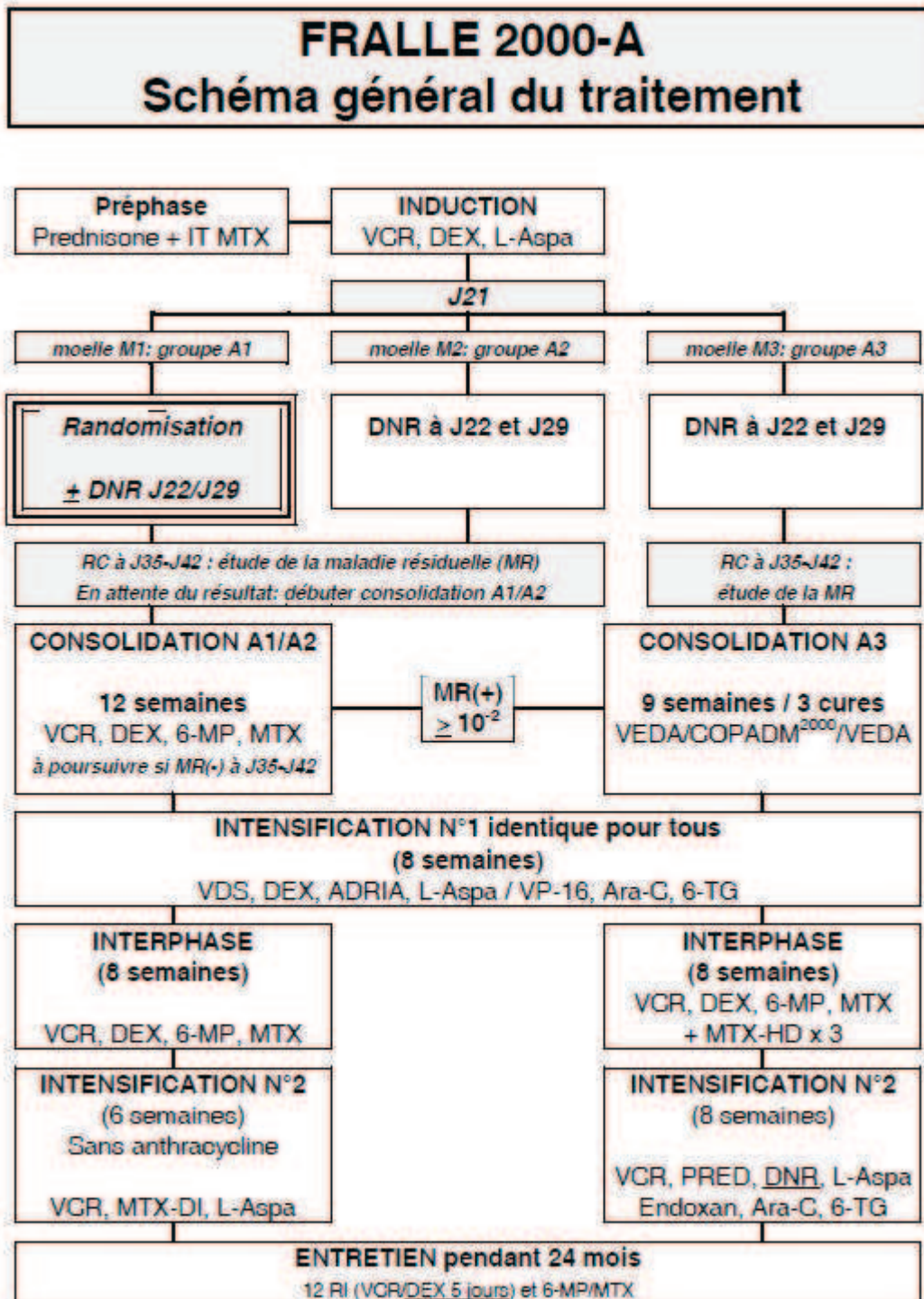
- [38] Ueda N. Effect of corticosteroids on some hemostatic parameters in children with minimal change nephritic syndrome. *Nephron* 1990;56:374-8.
- [39] Jørgenson KA, Sørensen P, Freund L. Effect of glucocorticoids on some coagulation tests. *Acta Haematol* 1982;68:39-42.
- [40] Nowak-Göttl U, Heinecke A, Von Kies R, *et al.* Thrombotic events revisited in children with acute lymphoblastic leukemia. Impact of concomitant *Escherichia coli* asparaginase and prednisone administration. *Thromb Res* 2001;103:165-72.
- [41] Mall V, Thomas KB, Sauter S, *et al.* Effect of glucocorticoids, *E. coli*- and *Erwinia L*-asparaginase on hemostatic proteins in children with acute lymphoblastic leukemia. *Klin Padiatr* 1999;211:205-10.
- [42] Totan M, Dagdemir A, Albayrak D, *et al.* Effects of high-dose methotrexate on the hemostatic system in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Med Pediatr Oncol* 2001;36:429-33.
- [43] Knöbl P, Lechner K. Acquired factor V inhibitors. *Baillieres Clin Haematol* 1998;11:305-18.
- [44] Streiff MB, Ness PM. Acquired FV inhibitors: a needless iatrogenic complication of bovine thrombin exposure. *Transfusion* 2002;42:18-26.
- [45] Lisman T, Leebeek FW, De Groot PG. Haemostatic abnormalities in patients with liver disease. *J Hepatol* 2002;37:280-7.
- [46] Hoeger PH, Helmke K, Winkler K. Chronic consumption coagulopathy due to an occult splenic haemangioma: Kasabach-Merritt syndrome. *Eur J Pediatr* 1995;154:365-8.
- [47] Naranjo CA, Busto U, Sellers EM, *et al.* A method for estimating the probability of adverse drug reactions. *Clin Pharmacol Ther* 1981;30:239-45.
- [48] Bégaud B, Evreux JC, Jouglard J, *et al.* Imputabilité des effets inattendus ou toxiques des médicaments. Actualisation de la méthode utilisée en France. *Thérapie* 1985;40:111-8.
- [49] Arrêté du 28 avril 2005 relatif aux bonnes pratiques de pharmacovigilance.



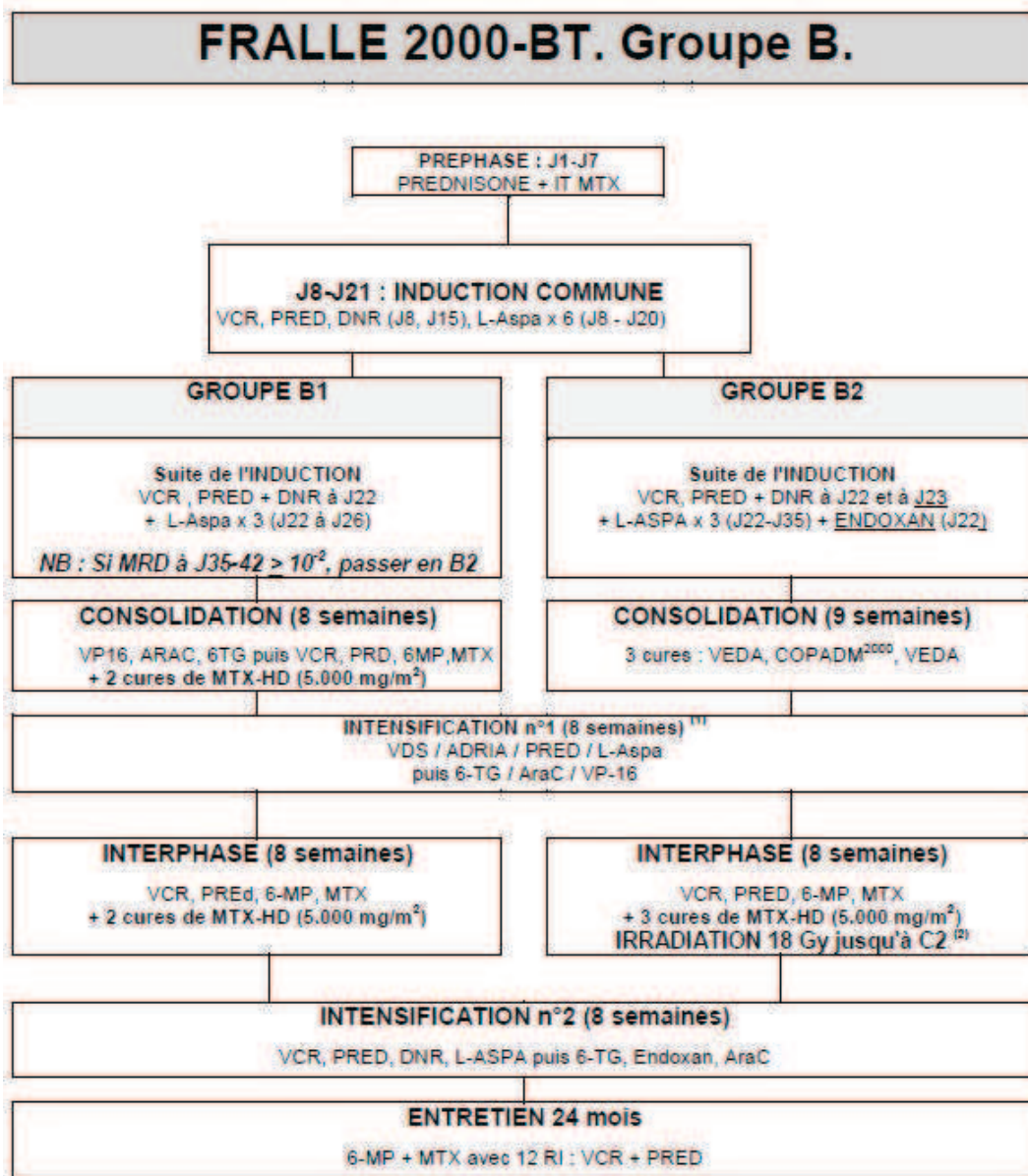
- [50] Vignand C, Couillault G, Jolimoy G, *et al.* Decreased activity of clotting factor V during ALL consolidation treatment with mercaptopurine in a child. *Ann Pharmacother* 2006;40:1887-8.
- [51] Poupeney S, Dray X, Reignier S, *et al.* Decrease in factor V activity: a new adverse effect of purine analogs in inflammatory bowel diseases? *Inflamm Bowel Dis* 2008;14:1024-5.
- [52] Aricò MP, Gamba G, Raiteri E, *et al.* Clotting abnormalities in children during maintenance chemotherapy for acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 1991;76:472-4.
- [53] Pereira A, Cervantes F, Ribeira JM, *et al.* [Changes in the ratio of coagulation factors as the only manifestation of hepatic toxicity caused by 6-mercaptopurine]. *Sangre* 1985;30:927-31 (article en espagnol, cité par Vignand *et al.*[50], et par Poupeney *et al.*[51]).
- [54] Hyslop RM, Jardine I. Metabolism of 6-Thiopurines. I. Irreversible binding of a metabolite of 6-thiopurine to mammalian hepatic protein *in vitro*. *J Pharmacol Exp Ther* 1981;218:621-8.
- [55] Hyslop RM, Jardine I. Metabolism of 6-Thiopurines. II. Covalent binding of a 6-thiopurine metabolite to mammalian tissue protein *in vivo*. *J Pharmacol Exp Ther* 1981;218:629-35.
- [56] Volonté C, Greene LA. Induction of ornithine decarboxylase by nerve growth factor in PC12 cells: dissection by purine analogues. *J Biol Chem* 1990;265:11050-5.
- [57] Volonté C, Ross AH, Greene LA. Association of a purine-analogue-sensitive protein kinase activity with p75 nerve growth factor receptors. *Mol Biol Cell* 1993;4:71-8.
- [58] Senali Abayratna Wansa KD, Harris JM, Yan G, *et al.* The AF-1 domain of the orphan nuclear receptor NOR-1 mediates trans-activation, coactivator recruitment, and activation by the purine anti-metabolite 6-mercaptopurine. *J Biol Chem* 2003;278:24776-90.
- [59] Mann KG, Kalafatis M. Factor V: a combination of Dr Jekyll and Mr Hyde. *Blood* 2003;101:20-30.

- [60] Pittman DD, Tomkinson KN, Michnick D, *et al.* Posttranslational sulfation of factor V is required for efficient thrombin cleavage and activation and for full procoagulant activity. *Biochemistry* 1994;33:6952-9.
- [61] Pittman DD, Tomkinson KN, Kaufman RJ. Posttranslational requirement for functional factor V and factor VIII secretion in mammalian cells. *J Biol Chem* 1994;269:17329-37.
- [62] Kalafatis M, Rand MD, Jenny RJ, *et al.* Phosphorylation of factor Va and factor VIIIa by activated platelets. *Blood* 1993;81:704-19.
- [63] Lipsky JJ. Mechanism of the inhibition of the gamma-carboxylation of glutamic acid by N-methylthiotetrazole-containing antibiotics. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984;81:2893–2897.
- [64] Wood TC, Johnson KL, Naylor S, *et al.* Cefazolin administration and 2-méthyl-1,3,4-thiadiazole-5-thiol in human tissue: possible relationship to hypoprothrombinemia. *Drug Metab Dispos* 2002;30:1123-8.

## Annexe 1 : Schéma général du traitement FRALLE 2000-A

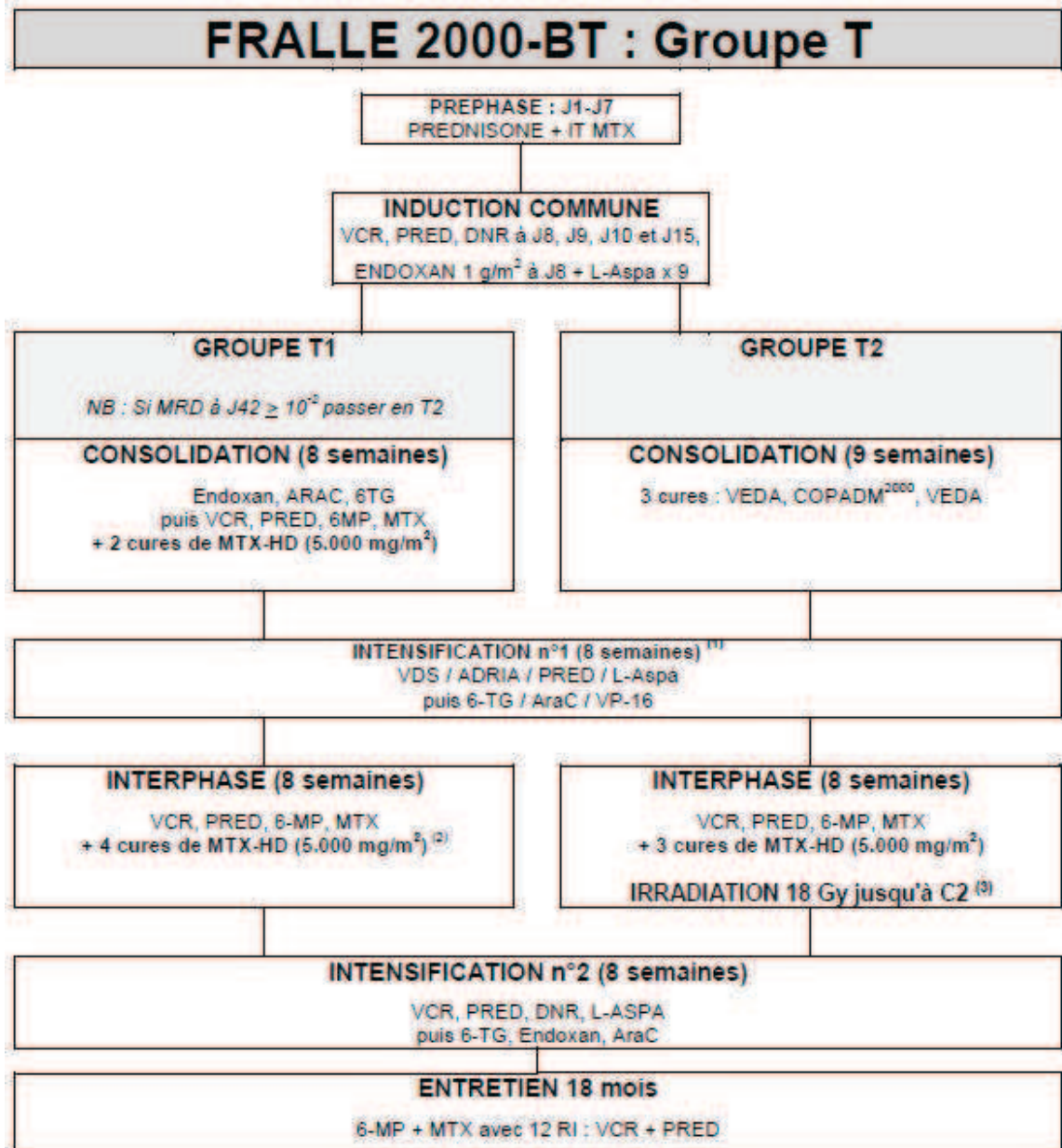


## Annexe 2 : Schéma général du traitement FRALLE 2000-BT, groupes B



(1) : les patients du groupe B2 allogreffés le sont après la 1<sup>ère</sup> partie de l'intensification n°1.  
 (2) : les patients du groupe B2 et âgés de moins de 4 ans ne sont pas irradiés sur le SNC en PROPHYLACTIQUE: cf. p

## Annexe 3 : Schéma général du traitement FRALLE 2000-BT, groupes T



(1) : les patients du groupe T2 allogreffés le sont après la 1<sup>ère</sup> partie de l'intensification n°1.

(2) : les seuls patients du groupe T1 irradiés sur le SNC en PROPHYLACTIQUE sont les patients ayant plus de 4 ans ET plus de 100.000 GB : cf. p

(3) : les patients du groupe T2 et âgés de moins de 4 ans ne sont pas irradiés sur le SNC en PROPHYLACTIQUE

## Annexe 4 : L'algorithme de Naranjo

Question	Oui	Non	Ne sait pas
1. Y a-t-il eu des rapports concluants antérieurs sur cette réaction ?	+1	0	0
2. L'effet indésirable est-il apparu après l'administration du médicament ?	+2	-1	0
3. L'état du patient s'est-il amélioré après arrêt du médicament ?	+1	0	0
4. La réaction est-elle réapparue lorsque le médicament a été ré administré ?	+2	-1	0
5. Y a-t-il d'autres causes qui pourraient à elles seules avoir provoqué la réaction ?	-1	+2	0
6. La réaction est-elle réapparue lorsqu'un placebo a été administré ?	-1	+1	0
7. Le médicament a-t-il été détecté dans le sang à une concentration réputée toxique ?	+1	0	0
8. La réaction était-elle plus grave quand la dose était augmentée, ou moins grave quand la dose était diminuée ?	+1	0	0
9. Le patient a-t-il eu une réaction similaire au même médicament ou à un autre médicament similaire lors d'une précédente exposition ?	+1	0	0
10. L'événement a-t-il été confirmé par des données objectives ?	+1	0	0

Correspondance entre le score et le degré de causalité :

- $\geq 9$  : réaction certaine
- 5 à 8 : réaction probable
- 1 à 4 : réaction possible
- $\leq 0$  : réaction improbable

## Annexe 5 : La méthode française d'imputabilité

**Tableau I** : Table de décision combinant les critères chronologiques (C).

Administration du médicament :	Délai d'apparition de l'événement						
	Très suggestif			compatible		incompatible	
Arrêt du médicament	Ré administration du médicament (R)						
	R <sub>(+)</sub>	R <sub>(0)</sub>	R <sub>(-)</sub>	R <sub>(+)</sub>	R <sub>(0)</sub>	R <sub>(-)</sub>	
Evolution suggestive : Régression de l'événement coïncidant bien avec cet arrêt	C <sub>3</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>0</sub>
Evolution non concluante : Régression paraissant au contraire plutôt spontanée ou provoquée par un traitement symptomatique non spécifique réputé efficace sur ces troubles, ou évolution inconnue, ou recul insuffisant, ou lésions de type irréversible	C <sub>3</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>0</sub>
Evolution non suggestive : Absence de régression d'un événement de type réversible (ou régression complète malgré la poursuite du médicament)	C <sub>1</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>0</sub>

R<sub>(+)</sub> : positive, l'événement récidive ; R<sub>(0)</sub> : non fait ou non évaluable ; R<sub>(-)</sub> : négative, l'événement ne récidive pas.

C<sub>3</sub> : chronologie vraisemblable ; C<sub>2</sub> : plausible ; C<sub>1</sub> : douteuse ; C<sub>0</sub> : paraissant exclure le rôle du médicament.

**Tableau II** : Table de décision combinant les critères sémiologiques (S).

Sémiologie (clinique ou paraclinique) :	Evocatrice du rôle de ce médicament (et/ou facteur très favorisant bien validé)			Autres éventualités sémiologiques		
Autre explication non médicamenteuse	Examen complémentaire spécifique fiable (L)					
	L <sub>(+)</sub>	L <sub>(0)</sub>	L <sub>(-)</sub>	L <sub>(+)</sub>	L <sub>(0)</sub>	L <sub>(-)</sub>
Absente (après bilan approprié)	S <sub>3</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>1</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>1</sub>
Possible (non recherchée ou présente)	S <sub>3</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>1</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>1</sub>	S <sub>1</sub>

L<sub>(+)</sub> : test de laboratoire positif ; L<sub>(0)</sub> : test non disponible pour le couple événement-médicament ; L<sub>(-)</sub> : test négatif.

S<sub>3</sub> : sémiologie vraisemblable ; S<sub>2</sub> : plausible ; S<sub>1</sub> : douteuse.

**Tableau III** : Table de décision de l'imputabilité intrinsèque (I).

Chronologie	Sémiologie		
	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>
C <sub>0</sub>	I <sub>0</sub>	I <sub>0</sub>	I <sub>0</sub>
C <sub>1</sub>	I <sub>1</sub>	I <sub>1</sub>	I <sub>2</sub>
C <sub>2</sub>	I <sub>1</sub>	I <sub>2</sub>	I <sub>3</sub>
C <sub>3</sub>	I <sub>3</sub>	I <sub>3</sub>	I <sub>4</sub>

I<sub>4</sub> : imputabilité intrinsèque très vraisemblable ; I<sub>3</sub> : vraisemblable ; I<sub>2</sub> : plausible ; I<sub>1</sub> : douteux ; I<sub>0</sub> : paraissant exclue.