



**HAL**  
open science

# État des lieux des Leucémies Myéloïdes Chroniques pédiatriques suivies au CHU de Bordeaux depuis 1993

Thibault Voisin

► **To cite this version:**

Thibault Voisin. État des lieux des Leucémies Myéloïdes Chroniques pédiatriques suivies au CHU de Bordeaux depuis 1993. Médecine humaine et pathologie. 2019. dumas-02103653

**HAL Id: dumas-02103653**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02103653>**

Submitted on 18 Apr 2019

**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.

**U.F.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

Année : 2019

Thèse n° 32

**MÉMOIRE DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES DE  
BIOLOGIE MÉDICALE**

Tenant lieu de Thèse pour l'obtention du

**DIPLÔME d'ÉTAT de DOCTEUR EN PHARMACIE**

Présentée et soutenue publiquement

À Bordeaux, le 15 avril 2019, par

**Thibault VOISIN**

Né le 27 décembre 1990 à Fontaine-lès-Dijon

**État des lieux des Leucémies Myéloïdes Chroniques  
pédiatriques suivies au CHU de Bordeaux depuis 1993**

Directrice de Thèse

Madame le Docteur Stéphanie DULUCQ

Membres du jury

Madame le Professeur Pascale Dufourcq PU	Président
Monsieur le Professeur François Xavier Mahon PU – PH	Juge
Madame le Docteur Charlotte Jubert PH	Juge
Madame le Docteur Emilie Klein PH	Juge
Monsieur le Docteur Laurent Weinmann PH	Juge

## Remerciements

**Madame le Professeur Pascale DUFOURCQ,**

Vous m'avez fait l'honneur d'accepter de présider ce jury, veuillez trouver ici l'expression de toute ma reconnaissance et de mon plus grand respect.

**Monsieur le Professeur François-Xavier Mahon,**

Vous me faites l'honneur d'accepter de juger ce travail. Veuillez trouver ici le témoignage de ma très profonde gratitude et de mon profond respect.

**Madame le Docteur Charlotte JUBERT,**

Je vous suis très reconnaissant de me faire l'honneur de composer ce jury et d'avoir accepté de juger ce travail. Soyez assurée de mon profond respect et de ma sincère considération.

**Madame le Docteur Emilie KLEIN,**

Je vous remercie sincèrement d'avoir accepté d'être membre de ce jury et vous prie de trouver ici l'expression de toute ma considération.

**Monsieur le Docteur Laurent WEINMANN,**

J'ai eu le privilège de te rencontrer lors de mon semestre à Pellegrin. J'ai pu apprécier tes compétences et ta gentillesse. Merci d'avoir accepté de juger ce travail et soit assuré de mon profond respect.

**Madame le Docteur Stéphanie DULUCQ,**

Tu as eu la gentillesse de m'encadrer pour cette thèse. Je tiens à t'exprimer mes plus sincères remerciements pour ta disponibilité, tes conseils avisés, ton soutien et ta sympathie.

A ceux qui ont contribué à ce travail

A Mme Sandrine DESTIPS pour avoir mis à notre disposition les dossiers papiers des patients.

A Jérémie LECARDEUX, pour m'avoir transmis les caryotypes des patients. Merci d'avoir pris du temps pour ça et courage, c'est bientôt la fin. Je suis ravi de te compter parmi mes amis et je reste impressionné par tes connaissances. Au plaisir de venir te voir en Dordogne.

A Morgane DELMOTTE, pour avoir pris la validation lors de la dernière ligne droite de ce travail. Merci du soutien et des bons moments passés en stage.

A Marine, Romain et William pour votre temps consacré à la relecture de ce travail.

A ceux qui ont contribué à ma formation

Au service d'Hématologie de Limoges : Franck, Magalie, Estelle, Jasmine, Nathalie, Jean et l'ensemble de l'équipe. Merci de m'avoir fait découvrir et apprécier cette matière.

Au service de Parasitologie-Mycologie : Fred, Isabelle, Laurence, Pascal et l'ensemble de l'équipe (Gégé, Philippe, etc.). Merci pour votre enseignement et pour l'ambiance conviviale du stage. Au plaisir de se retrouver plus que rapidement.

Au service de Bactériologie : Merci à l'ensemble des biologistes pour vos enseignements durant ces deux stages et aux techniciens pour le travail à la paillasse.

Au service d'Hématologie de Pellegrin : Laurent, Stéphanie, Valérie, Vanessa, Youssef et l'ensemble des techniciens. Un grand merci pour ces six mois.

Au service du laboratoire d'Arcachon : Anne, Michèle, Stéphanie B, Stéphanie M et l'ensemble du laboratoire. J'ai adoré travailler avec vous et ma formation s'en est ressentie. Vous m'avez donné goût à cet exercice polyvalent de la biologie.

Au service du laboratoire de Langon : Brigitte, David et toute l'équipe (Isabelle, Cathy, etc.). Merci de m'avoir donné ma chance durant ce remplacement. J'ai énormément appris à vos côtés et en étant responsabilisé. Je vous souhaite le meilleur.

Au service du laboratoire de Bergonié : Françoise, Julie, Morgane et tous les techniciens. Merci du bon déroulement de ce stage, de votre gentillesse et de vos compétences. C'est vraiment agréable de pouvoir travailler avec vous.

A mes parents : Vous avez toujours été des exemples pour nous. Papa, tu nous as appris le sens de l'effort et de la famille, merci d'être toujours présent pour nous. Maman, tu es plus que formidable et je n'aurais rêvé avoir une meilleure personne dans ma vie. Merci à vous deux pour votre soutien de tous les instants.

A Théo, mon « petit » frère : J'ai l'immense chance de t'avoir. Tu es un modèle pour moi et je ne te remercierai jamais assez d'être comme tu es.

A Romane : Merci de partager la vie du Toy. Je vous souhaite plein de bonheur.

A toute ma famille, grands-parents, oncles, tantes, cousins et cousines.

A ma belle-famille : Vous m'avez accueilli à bras ouvert.

A mon autre famille Dijonnaise, celle que l'on se créait pour la vie. Au pilier, gaouli, tachi crew, bref aux copains d'abord : Jd, Jonath, Louis, Romain, Will, Dof', Clémence, Camille, Niok, Margaux, Gigi, Claire et Marine. Pour tous les bons moments vécus ensemble et à venir ainsi qu'au plus dramatique. C'est pour la vie.

Aux Dijonnais de la fac : Réda, Matthieu, Simon, Paul, BigA, Yohann, Bertrand, Raymond, Francis, Pauline, Bibiche, Yassen, Mecton, Benji, etc. Ces années ont été superbes.

Aux Bordelais : Nico et Solène, ces années n'auraient pas été les mêmes sans vous, votre présence va me manquer. Florent, Simon, Jean et Adrien pour l'époque SA. Aux internes de bio : Maxime pour cette belle amitié, Florian, Jérémie, Julie, Camille, Jessica, Cécile, Xavier, Jacques, Justine, And-nan, Thibaut, Cécile, Marine et pour tous ceux que je n'ai pas cités. Aux autres internes : Margaux, Louis, MC, Mimi, Maité, Lucile, Charlotte, etc. Merci pour tout.

Et surtout à toi, Marine, la personne qui partage ma vie. Merci d'être présente chaque jour à mes côtés. Merci d'être ce que tu es, de me supporter et de rendre cette vie avec toi si agréable. Pour tous nos bons moments passés, présents et futurs.

A moi également, car mine de rien j'ai bien travaillé.

*Enfin à toi, Jonath, mon « frate » comme tu aimais le dire,*

*Toi qui es parti bien trop tôt, tu me manques terriblement.*

*Je te dédie ce travail*

# TABLE DES MATIERES

<b>LISTE DES ABREVIATIONS</b> .....	9
<b>LISTE DES FIGURES</b> .....	11
<b>LISTE DES TABLEAUX</b> .....	14
<b>INTRODUCTION</b> .....	16
<b>PARTIE I : GENERALITES SUR LA LMC</b> .....	17
1 La leucémie myéloïde chronique : données de la littérature .....	17
1.1 Epidémiologie.....	17
1.2 Etiologies .....	18
1.3 Physiopathologie .....	18
1.3.1 Le chromosome Philadelphie .....	18
1.3.2 Le gène <i>ABL1</i> et sa protéine.....	19
1.3.3 Le gène <i>BCR</i> et sa protéine.....	21
1.3.4 Le gène chimérique <i>BCR-ABL1</i> et sa protéine de fusion BCR-ABL1. ....	22
1.3.5 Pouvoir oncogène de BCR-ABL1.....	24
1.3.6 Instabilité génétique .....	26
1.4 Caractéristiques clinico-biologiques .....	28
1.4.1 Les trois phases de la maladie.....	28
Phase chronique.....	28
Phases accélérée et blastique .....	28
Particularités de l'enfant .....	30
1.4.2 Diagnostic biologique .....	31
Hémogramme.....	31
Myélogramme .....	33
Caryotype .....	34
Biologie moléculaire.....	37
1.5 Scores pronostiques .....	41
1.6 Prise en charge thérapeutique.....	45

1.6.1	Thérapeutiques non ciblées .....	45
	Chimiothérapies .....	45
	L'Interféron $\alpha$ (IFN $\alpha$ ) .....	46
	Allogreffe de cellules souches hématopoïétiques .....	47
1.6.2	Thérapeutiques ciblées : inhibiteurs de tyrosine kinase.....	49
	ITK de première génération : Imatinib mésylate (GLIVEC®) .....	49
	ITK de 2 <sup>ème</sup> génération.....	55
	ITK de 3 <sup>ème</sup> génération.....	59
1.6.3	Autres molécules à l'essai .....	60
1.6.4	Recommandations .....	62
1.7	Critères et objectifs de réponse .....	65
1.7.1	Réponses hématologiques .....	67
1.7.2	Réponses cytogénétiques .....	67
1.7.3	Réponses moléculaires.....	68
1.7.4	Objectifs de réponse .....	69
1.7.5	Résistances aux ITK.....	74
1.7.6	Arrêt de traitement .....	83
	Etudes sur les arrêts de traitement.....	83
	Persistance de cellules souches leucémiques (CSL).....	86
<b>Partie II : Analyses des données recueillies au CHU de Bordeaux</b> .....		<b>88</b>
1	Objectifs .....	88
2	Matériel et méthode .....	88
3	Résultats.....	92
3.1	Avant l'ère des ITK.....	95
3.1.1	Patient non-greffé .....	95
3.1.2	Patients greffés.....	98
3.1.3	Analyse descriptive des différents facteurs pronostiques.....	105
3.2	Depuis les ITK .....	107
3.2.1	Patients répondeurs .....	110



3.2.2	Patients non répondeurs ou intolérants .....	116
3.2.3	Analyse des différents facteurs pronostiques connus .....	123
3.2.4	Toxicité du traitement.....	128
3.2.5	Arrêt de traitement ? .....	130
4	Discussion .....	132
	<b>CONCLUSION</b> .....	<b>140</b>
	<b>ANNEXE</b> .....	<b>141</b>
	<b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....	<b>144</b>

## LISTE DES ABREVIATIONS

ABL : Abelson

ACA : Anomalie Cytogénétique Additionnelle

ADN : Acide désoxyribonucléique

ADNc : Acide désoxyribonucléique complémentaire

AMM : Autorisation de mise sur le marché

AOMI : Artérite Oblitérante des Membres Inférieurs

ARNm : Acide ribonucléique messenger

ATP : Adénosine triphosphate

BCR : Breakpoint cluster region (m : minor / M : major /  $\mu$  : micro)

CGH : Comparative Genomic Hybridization

CHU : Centre hospitalo-universitaire

CML : Chronic myeloid leukemia

CSH : Cellules Souches Hématopoïétiques

CSL : Cellules Souches Leucémiques

Ct : Cycle threshold

ELN : European leukemia net

ELTS : EUTOS Long-Term Survival

EUTOS : EUropean Treatment Outcome Study

Fi-LMC : France Intergroupe de la Leucémie Myéloïde Chronique

FISH : Fluorescence in situ hybridation

GH : Growth hormone

GVH : Greffon *versus* Hôte

GVL : Greffon *versus* Leucémie

IFN $\alpha$  : Interféron alpha

IGF : Insulin-like growth factor

InVS : Institut de Veille Sanitaire

ITK : Inhibiteurs de tyrosine kinase

JAK : Janus kinase  
kDa : kiloDalton  
LAL : Leucémie aigue lymphoblastique  
LAM : Leucémie aigue myéloblastique  
LMC : Leucémie myéloïde chronique  
MDR : Multi-drug resistance  
NFS : Numération Formule Sanguine  
NGS : Séquençage de Nouvelle Génération  
OMS : Organisation Mondiale de la Santé  
Pb : paires de bases  
PDGFR : Platelet-derived growth factor receptor  
Ph1 : Philadelphie  
PI3K : Phosphatidylinositol 3-kinase  
PN : Polynucléaire (PNB : PN Basophile / PNE : PN Eosinophile / PNN : PN Neutrophile)  
PCR : Polymerase chain reaction  
RC : Réponse Cytogénétique  
RCC : Réponse cytogénétique Complète  
RCyM : Réponse Cytogénétique majeure  
RCym : Réponse Cytogénétique mineure  
RHC : Réponse Hématologique Complète  
RMC : Réponse Moléculaire Complète  
RMM : Réponse Moléculaire Majeure  
RMP : Réponse Moléculaire Profonde  
RT-PCR : Real time polymerase chain reaction  
RT-qPCR : Retrotranscription Real time quantification polymerase chain reaction  
SH : Src homology  
SMP : Syndrome myéloprolifératif  
STAT : Signal transducer and activator of transcription  
Taq : Thermus aquaticus

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : le chromosome Philadelphie (18) .....	19
Figure 2 : le gène ABL1 (19).....	19
Figure 3 : Représentation schématique de la protéine ABL1 (20).....	20
Figure 4 : Les domaines tyrosines kinases d'ABL1 (21).....	21
Figure 5 : Représentation schématique de la protéine BCR (23).....	22
Figure 6 : différents gènes de fusion BCR-ABL1 et leurs protéines résultantes (25).....	23
Figure 7 : Les effets phénotypiques de BCR-ABL dans les cellules leucémiques (32).....	26
Figure 8 : Mécanismes multiples de progression du clone leucémique Ph1+ (32) .....	27
Figure 9 : Comparaison en fonction de l'âge au diagnostic des principales caractéristiques clinico-biologiques de la LMC, reportées par 6 études différentes issu de Hijiya et al. (35)...	30
Figure 10 : Caractéristiques biologiques au diagnostic, cohorte pédiatrique française de 2017 (13) .....	32
Figure 11 : image d'un frottis médullaire à l'objectif (26) .....	34
Figure 12 : Caryotype médullaire mettant en évidence une translocation réciproque t(9;22)(q34;q11) (41).....	36
Figure 13 : Gène de fusion BCR-ABL1 détecté par FISH (41) .....	36
Figure 14 : Visualisation des bandes d'ADN sur gel d'agarose (42).....	37
Figure 15 : Différents modes d'analyses des résultats d'une PCR (43).....	38
Figure 16 : : Schéma récapitulatif d'une RT-qPCR (44) .....	39
Figure 17 : Représentation des sites d'actions des ITK et inhibiteurs allostériques (21) .....	49
Figure 18 : Mécanisme d'action de l'Imatinib (68) .....	50
Figure 19 : Représentation de la survie globale en fonction des traitements (21) .....	51

Figure 20 : Représentation schématique des options thérapeutiques selon les caractéristiques de la LMC-PC au diagnostic et du risque cardiovasculaire (87) .....	56
Figure 21 : Schéma récapitulatif des réponses souhaitées (109) .....	67
Figure 22 : Réponse moléculaire idéale avec un traitement par ITK (109).....	69
Figure 23 : Principaux mécanismes de résistances à l'Imatinib (111).....	74
Figure 24 : Mutations du domaine tyrosine kinase de BCR-AB1L (21) .....	76
Figure 25 : Activités des ITK sur les principales mutations de BCR-ABL1 (21) .....	77
Figure 26 : Utilisation d'un didésoxyribonucléotide, le ddGTP, dans le séquençage de l'ADN (119) et représentation d'une électrophorèse sur gel (120) .....	78
Figure 27 : Séquençage direct du domaine de l'ABL1 kinase (121) .....	79
Figure 28 : Résumé des différentes étapes du NGS (123) .....	80
Figure 29 : Méthodes d'enrichissement de l'échantillon en ADN cible (123) .....	81
Figure 30 : Couverture et profondeur de séquençage (123) .....	82
Figure 31 : Résultats obtenus lors de l'essai STIM (109).....	84
Figure 32 : Résultats obtenus lors de l'essai Euroski, vie sans réévolution moléculaire et durée de traitement (109).....	85
Figure 33 : Essai STOP-ITK2, premiers résultats (109) .....	86
Figure 34 : résumé patient 1, patient « pré-ITK » non-greffé.....	97
Figure 35 : Relation entre la splénomégalie et l'anémie chez les patients « pré-ITK ».....	99
Figure 36 : Relation entre la splénomégalie et la leucocytose chez les patients « pré-ITK »..	99
Figure 37 : Résumé patient 2, patient « pré-ITK » greffé.....	101
Figure 38 : Résumé patient 6, patient « ITK » non répondeur.....	104
Figure 39 : Relation entre la splénomégalie et l'anémie chez les patients « ITK ».....	108
Figure 40: Relation entre la splénomégalie et la leucocytose chez les patients « ITK ».....	108
Figure 41 : Résumé patient 7, patient « ITK répondeur ».....	112

Figure 42 : Résumé patient 8, patient « ITK répondeur ».....	113
Figure 43 : Résumé patient 9, patient « ITK répondeur ».....	114
Figure 44 : Résumé patient 10, patient « ITK répondeur ».....	115
Figure 45 : Résumé patient 11, patient « ITK non répondeur ou intolérant » .....	118
Figure 46 : Résumé patient 12, patient « ITK non répondeur ou intolérant » .....	119
Figure 47 : Résumé patient 13, patient « ITK non répondeur ou intolérant » .....	121
Figure 48 : Résumé patient 14, patient ITK non répondeur ou intolérant .....	122

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Principaux variants moléculaires et leurs équivalents protéiques BCR-ABL1 en fonction des points de cassure au sein du gène BCR issu de (26) .....	23
Tableau 2 : Critères clinico-biologiques définissant les phases accélérée et blastique de la LMC (34) .....	29
Tableau 3 : Critères pronostiques dits de Sokal, de Hasford, d'EUTOS et d'ELTS.....	44
Tableau 4 : Recommandations pour le traitement de la LMC en phase chronique .....	63
Tableau 5 : Recommandations pour le traitement de la LMC en phase accélérée ou blastique .....	65
Tableau 6 : Définitions des réponses hématologiques, cytogénétiques et moléculaires .....	66
Tableau 7 : Définition de la réponse aux ITK de 1ère ligne de traitement (34).....	71
Tableau 8 : Définition de la réponse au traitement de 2ème ligne après échec de l'Imatinib (34) .....	72
Tableau 9 : Définition de la réponse au traitement par ITK, toutes lignes de traitement confondues (105) .....	73
Tableau 10 : Récapitulatif des patients « pré-ITK » .....	93
Tableau 11 : Récapitulatif des patients « ITK » et de l'ensemble des patients étudiés.....	94
Tableau 12 : Données cliniques et biologiques du patient « pré-ITK répondeur » .....	95
Tableau 13 : Données cliniques et biologiques des patients « pré-ITK » greffés .....	98
Tableau 14 : Calculs des scores pronostiques, patient « pré-ITK » répondeur .....	105
Tableau 15 : Calculs des scores pronostiques, patients « pré-ITK » greffés.....	105
Tableau 16 : Données cliniques et biologiques des patients « ITK répondeurs » .....	110
Tableau 17 : Données cliniques et biologiques des patients « ITK non répondeurs ou intolérants » .....	116
Tableau 18 : Calculs des scores pronostiques, patients ITK répondeurs .....	123

Tableau 19 : Calculs des scores pronostiques, patients ITK non répondeurs ou intolérants à une 1 <sup>ère</sup> ligne d'ITK .....	124
Tableau 20 : Décroissance du transcrit bcr-abl1 des patients ITK en 1 <sup>ère</sup> ligne de traitement .....	126
Tableau 21 : Recherche de mutation par techniques Sanger et NGS.....	127



## INTRODUCTION

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est une hémopathie maligne chronique. Il s'agit d'un syndrome myéloprolifératif (SMP), c'est-à-dire, une prolifération maligne des cellules de la lignée myéloïde et ce, sans blocage de maturation (1). La LMC est caractérisée par une anomalie cytogénétique acquise, la translocation réciproque entre les chromosomes 9 et 22 : t(9;22)(q34;q11) ou chromosome Philadelphie (Ph1) (2). Cette translocation réciproque génère un transcrite de fusion *BCR-ABL1* conduisant à la synthèse d'une protéine de fusion BCR-ABL1 possédant une activité tyrosine kinase (TK) dérégulée, responsable de l'hématopoïèse leucémique (3).

Chez l'enfant et chez l'adolescent, la LMC constitue une forme relativement rare des leucémies de l'enfant. Il existe plusieurs différences biologiques et cliniques entre la LMC pédiatrique et celles de l'adulte. L'apparition des Inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK) a révolutionné l'approche thérapeutique chez l'adulte en reléguant l'allogreffe de CSH en dernière intention. Cependant, dans la population pédiatrique, les schémas thérapeutiques sont moins bien définis avec une réponse aux ITK moins marquée que chez l'adulte et pouvant entraîner davantage de morbidité, notamment sur la croissance (4). Les données de la littérature rapportent en général 30 à 35 % de résistance primaire à l'Imatinib dans la population pédiatrique (5)(6) contre environ 15 % à 20 % chez l'adulte (7)(8).

Le suivi moléculaire des patients LMC consiste principalement en la quantification du transcrite *BCR-ABL1* par RT-qPCR. Chez les patients résistants (primaires ou secondaires), une recherche de mutation du domaine TK d'*ABL1* est classiquement réalisée par méthode Sanger. De nouveaux outils moléculaires sont cependant actuellement disponibles. Parmi ces nouveaux outils, le séquençage nouvelle génération (NGS) représente un certain nombre d'avantages de par ses performances techniques.

A travers cette thèse nous proposons d'illustrer le devenir des patients pédiatriques diagnostiqués pour une LMC au CHU de Bordeaux entre 1993 et 2019 et d'investiguer l'apport potentiel de ce nouvel outil dans la recherche de mutation du domaine Tyrosine Kinase d'*ABL1*.

## **PARTIE I : GENERALITES SUR LA LMC**

### **1 La leucémie myéloïde chronique : données de la littérature**

#### **1.1 Epidémiologie**

La LMC représente 15% des leucémies de l'adulte, avec une incidence évaluée entre 10 et 15 cas/million/an, sans aucune restriction géographique majeure ou différence ethnique (9). En France, en 2012, 807 nouveaux cas de LMC ont été recensés, soit une incidence estimée entre 0,6 et 1 pour 100 000 habitants (10). Cette pathologie touche préférentiellement les hommes avec un sexe ratio compris entre 1,3 et 1,8 (11). L'âge médian au diagnostic se situe entre 60 et 65 ans en Europe, mais est plus faible dans les pays où la population est plus jeune (9). Plus précisément, en France, selon le recueil de données de l'institut de veille sanitaire (InVS), l'âge médian de survenue de cette pathologie chez l'homme est de 62 ans et de 64 ans chez la femme (10). La prévalence de la LMC est en hausse constante en raison de l'allongement de la durée de survie obtenu grâce à un traitement ciblé (12).

Chez l'enfant et l'adolescent, La LMC représente 2 à 3 % des leucémies pédiatriques avec une incidence évaluée entre 0,6 et 1,2 par million d'enfants par an. Son incidence augmente avec l'âge : elle est extrêmement rare dans la petite enfance (incidence de 0,7/million d'enfants/an) pour les enfants âgés de 1 à 14 ans mais plus fréquente chez les adolescents (incidence de 1,2/million d'enfants/an) pour représenter 9 % des hémopathies malignes chez l'adolescent (4).

L'âge médian au diagnostic est évalué à 11 ans dans les diverses études de cette population (4). En 2017, une étude rétrospective sur 10 ans portant sur le diagnostic de LMC dans la population pédiatrique française (113 cas) confirmait cet âge médian au diagnostic à 11,6 ans (13) ainsi qu'une prévalence plus élevée de la maladie chez les patients de plus de 10 ans qui représente en moyenne 70 % de la population pédiatrique atteinte de LMC.

On remarque une augmentation de l'incidence chez les patients masculins, comme dans la population adulte. Les études établissent un sexe ratio compris entre 1,2 et 1,5 garçon pour 1 fille (13).

Enfin, environ 5 à 10 % des cas de LMC pédiatrique sont diagnostiqués en phase avancée (accélérée et blastique), ce qui représente une proportion plus élevée que chez les adultes pour laquelle on estime à 3 % de phase accélérée et 2 % de phase blastique au diagnostic (14).

## **1.2 Etiologies**

Aucune prédisposition génétique ni de facteurs d'hérédité n'ont pu être identifiés (1). Cependant, l'exposition à des radiations ionisantes pourrait jouer un rôle favorisant (15).

## **1.3 Physiopathologie**

### **1.3.1 Le chromosome Philadelphie**

Le chromosome Philadelphie (Ph1) est visible au caryotype standard dans la quasi-totalité (95 %) des cas de LMC. Ce chromosome 22 raccourci (mentionné 22q-), décrit pour la 1<sup>ère</sup> fois en 1960 par Peter Nowell et David Hungerford (16) est issu de la translocation réciproque entre le bras long du chromosome 9 en position q34 et le bras long du chromosome 22 en position q11. Cette translocation  $t(9;22)(q34;q11)$  fut démontrée quant à elle par Janet Rowley en 1973 (2). Ce ne sera que 10 ans plus tard, en 1983, que Nora Heisterkamp et John Groffen démontreront que cette translocation entraîne, d'un point de vue moléculaire, la juxtaposition du segment 3' de l'oncogène Abelson (*c-ABL1*) et de la partie 5' du gène *BCR* (*breakpoint cluster region*) au niveau du bras long du chromosome 22 (17).

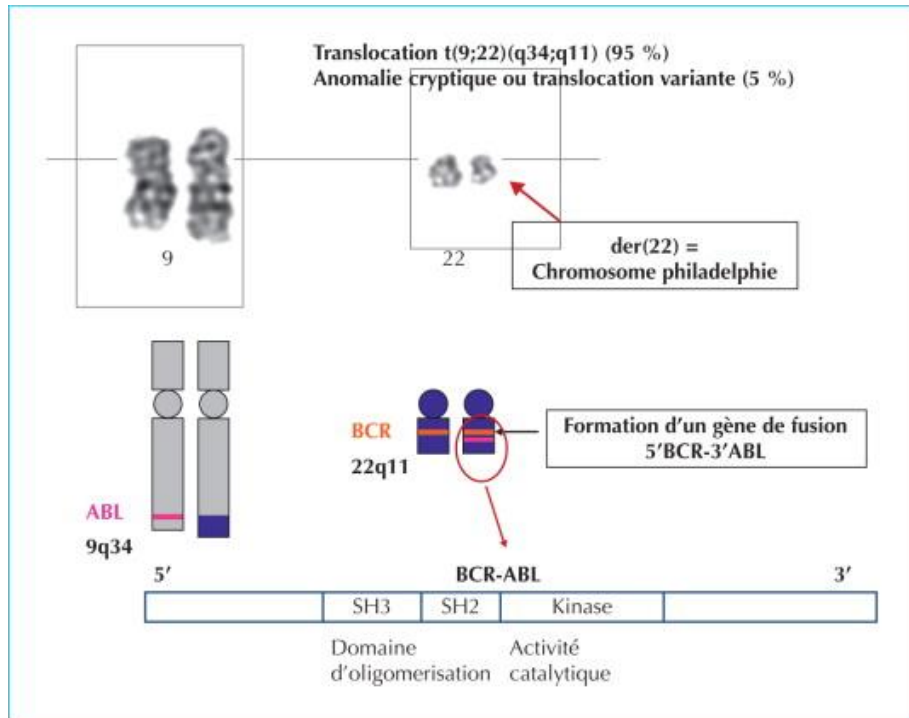


Figure 1 : le chromosome Philadelphie (18)

### 1.3.2 Le gène *ABL1* et sa protéine

Le gène *ABL1* est un oncogène, localisé sur le bras long du chromosome 9, au niveau de la bande q34 (soit en position 22q34) et code pour une protéine de 145 kDa. Il est composé de 11 exons et est transcrit en deux ARN messagers différents suivant la transcription du gène au niveau de l'exon 1a (majoritairement) ou au niveau de l'exon 1b (cf. Figure 2). La protéine c-ABL1 est organisée en domaines d'homologie SH (Src homology) avec le domaine SH1 portant l'activité tyrosine kinase (Figure 3).



Figure 2 : le gène *ABL1* (19)

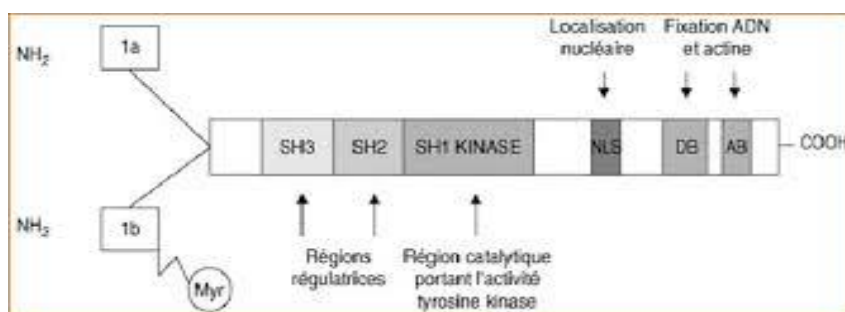


Figure 3 : Représentation schématique de la protéine ABL1. La forme 1b possède un groupement myristoyl (Myr) qui joue un rôle important dans l'auto-inhibition de la protéine et permet l'ancrage de la protéine dans la membrane (20)

Dans sa partie N-terminale, la protéine ABL1 est constituée des domaines régulateurs SH2 et SH3 et des deux lobes du domaine tyrosine kinase ou SH1 (lobes N et C-terminaux) (figure 4). Ce domaine SH1 comprend une suite d'hélices  $\alpha$  et de feuillets  $\beta$ . La boucle P permet la fixation du groupement phosphate de l'ATP, la boucle A permet l'activation de la protéine et la boucle C correspond au site catalytique permettant la phosphorylation des protéines substrats. La plupart du temps, les tyrosines kinases sont inaccessibles à l'ATP car elles sont dans une conformation inactive. Concernant la protéine ABL1, cette auto-inhibition correspond à des interactions fortes entre les domaines de régulations SH2 et SH3 et le domaine kinase. De plus, la protéine possède un autre groupement, le groupement myristate N-terminal, permettant de maintenir la protéine en conformation inactive ou auto-inhibée. L'activation se fait par déverrouillage du groupe myristoyl, déclantage des domaines SH2 et SH3 ainsi qu'un changement de conformation de la boucle A d'activation permettant l'autophosphorylation sur la tyrosine en position 393, stabilisant la protéine sous sa forme active (Figure 4) (21).

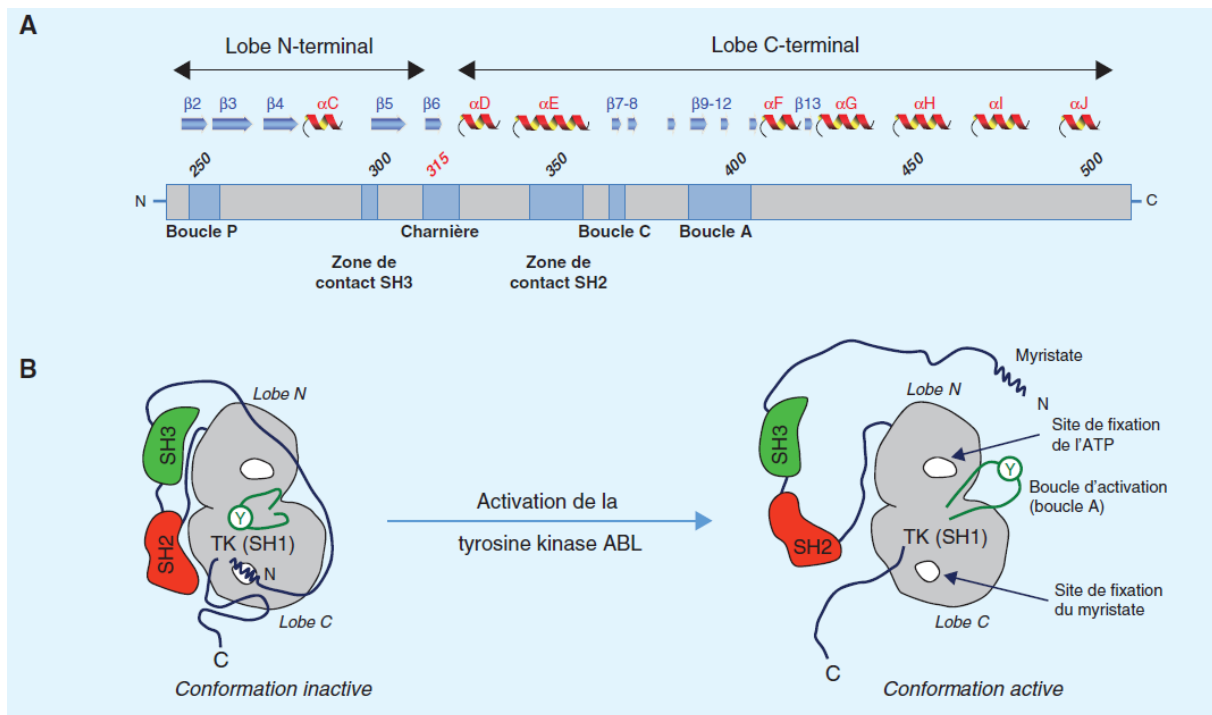


Figure 4 : Les domaines tyrosines kinases d'ABL1. A : représentation des différents domaines d'ABL1. B : Représentation de la protéine ABL1 et de son activation (21)

Lorsque la protéine ABL1 se situe dans le noyau, elle joue plutôt un rôle de régulateur négatif du cycle cellulaire alors qu'elle joue un rôle important dans la croissance et la prolifération cellulaire lorsqu'elle est localisée dans le cytoplasme.

### 1.3.3 Le gène *BCR* et sa protéine

Le gène *BCR* est situé sur le bras long du chromosome 22, au niveau de la bande q11 (soit en position 22q11) et code pour une protéine de 160 kDa qui est exprimée de façon ubiquitaire dans le cytoplasme des cellules. La protéine BCR porte une activité kinase (sérine et thréonine) mais il n'est connu qu'un seul substrat (Bap-1) et possiblement BCR lui-même (22). Constituée de plusieurs domaines, c'est le domaine 1B de la protéine BCR qui est impliqué dans l'oncogenèse de la protéine BCR-ABL1 (cf. figure 5).

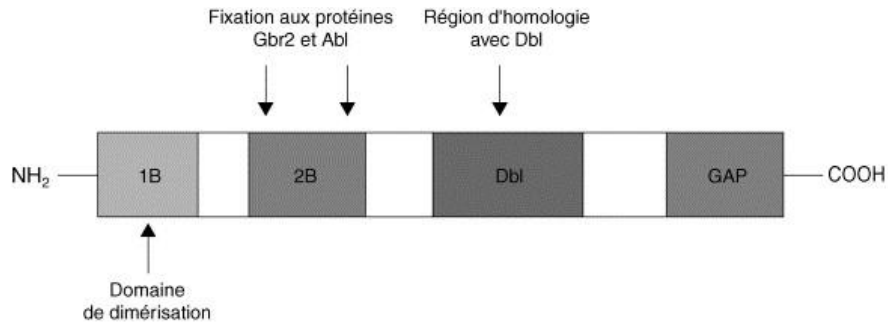


Figure 5 : Représentation schématique de la protéine BCR (23)

#### 1.3.4 Le gène chimérique *BCR-ABL1* et sa protéine de fusion *BCR-ABL1*.

Le gène chimérique *BCR-ABL1* résulte de l'hybridation du segment 5' (N-terminal) du gène *BCR* et du segment 3' (C-terminal) du gène *ABL1*. Il sera transcrit en ARN messager *BCR-ABL1* qui sera ensuite traduit en une protéine oncogénique *BCR-ABL1* dotée d'une forte activité enzymatique tyrosine kinase. Cette protéine de fusion *BCR-ABL1* est localisée au niveau cytoplasmique. On parle d'une activité tyrosine kinase active de façon constitutive car la conservation du domaine 1B issu de *BCR* lui confère une capacité de dimérisation. Elle possède également une capacité d'auto-activation par transphosphorylation. La perte de la région N-terminale, comprenant la partie régulatrice inhibitrice d'*ABL1*, empêche la régulation négative de cette protéine. En résulte ainsi une activation permanente de la tyrosine kinase d'*ABL1*.

Alors que les points de cassure dans *ABL1* se situent généralement entre les exons 1a et 1b (24), il existe différents points de cassure possibles sur le gène *BCR*, entraînant ainsi des transcrits de taille variable (cf. Figure 6 et Tableau 1).

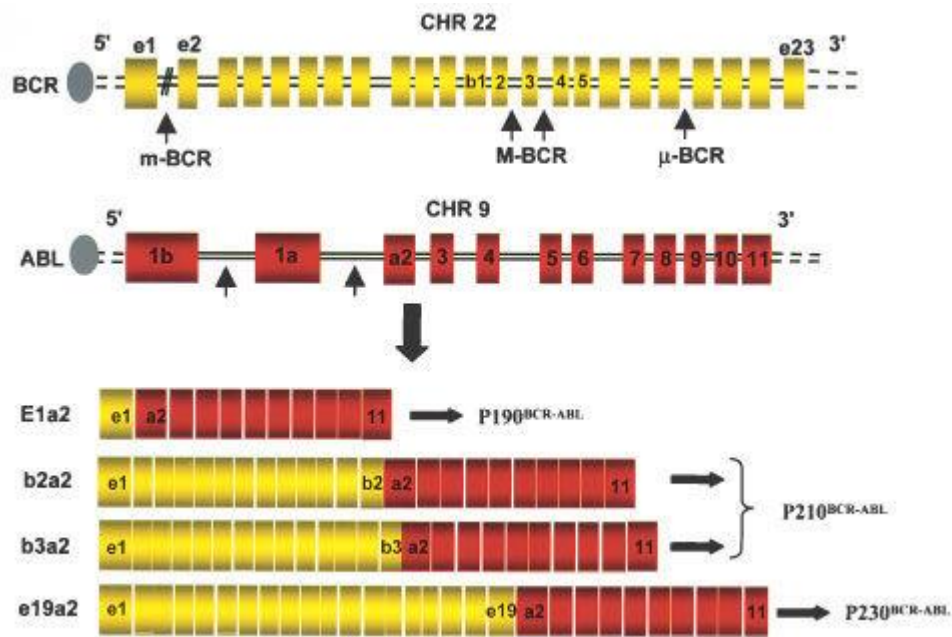


Figure 6 : différents gènes de fusion BCR-ABL1 et leurs protéines résultantes (25)

Points de cassure au sein du gène BCR	Région du gène BCR	Type de transcrit	Taille de la protéine chimérique (kDa)
Entre exon 1 et exon 2	m-BCR ( <i>minor breakpoint cluster region</i> )	e1a2	190
Entre exon 13 (ou b2) et exon 14 (ou b3)	M-BCR ( <i>major breakpoint cluster region</i> )	e13a2 (b2a2)	210
Entre exon 14 (ou b3) et exon 15 (ou b4)		e14a2 (b3a2)	
Entre exon 17 et exon 20	μ-BCR ( <i>micro breakpoint cluster region</i> )	e19a2	230

Tableau 1 : Principaux variants moléculaires et leurs équivalents protéiques BCR-ABL1 en fonction des points de cassure au sein du gène BCR (lorsque le point de cassure d'ABL1 se situe dans l'intron 1) issu de (26)



Le point de cassure se situant majoritairement (95 % des cas) dans la région M-*BCR*, on observe deux types d'ARNm *BCR-ABL1*, e13a2 (ou b2a2) ou e14a2 (ou b3a2) suivant si le point de cassure se situe dans l'intron 13 ou 14 de *BCR*. Ces deux ARNm seront traduits ensuite en la même protéine de fusion de 210 kDa : la p210 BCR-ABL1.

Dans de plus rares cas, le point de cassure se situe dans une zone différente, aboutissant à une protéine de fusion de poids moléculaire différent. Si le point de cassure se situe entre les exons 1 et 2 de *BCR*, dans la région m-*BCR* (< 5 % des cas de LMC), l'ARNm (e1a2) codera pour une protéine de fusion possédant un poids moléculaire de 190 kDa dite p190 BCR-ABL1. Cette protéine est retrouvée beaucoup plus fréquemment dans les leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) à chromosome Philadelphie. Si le point de cassure se situe entre les exons 19 et 20, région  $\mu$ -*BCR* (< 1 % des cas de LMC), l'ARNm (e19a2) sera traduit en une protéine de fusion de 230 kDa, dite p230 BCR-ABL1.

Plus rarement le point de cassure dans *ABL1* peut survenir dans l'intron2 entraînant alors la juxtaposition de l'exon 13/14 de *BCR* avec l'exon 3 d'*ABL1* (e13a3, e14a3).

### 1.3.5 Pouvoir oncogène de BCR-ABL1

Plusieurs mécanismes expliquent le pouvoir oncogène de la protéine BCR-ABL1. L'activité tyrosine kinase constitutive induit la phosphorylation de divers complexes protéiques entraînant une activation des différentes voies de signalisation cellulaire impliquées dans les processus de prolifération, d'adhésion cellulaire, de différenciation et d'apoptose (22). L'instabilité génétique est également une des caractéristiques majeures des cellules contenant la protéine de fusion BCR-ABL1.

Quatre mécanismes principaux sont impliqués dans cette leucémogénèse (cf. Figure 7):

- Altération de l'adhésion cellulaire

Les cellules tumorales immatures présentent une diminution de l'adhésion cellulaire au stroma et à la matrice extracellulaire médullaire par l'intermédiaire d'un variant de  $\beta 1$ -intégrine, non retrouvé dans les progéniteurs normaux (27). Il y a alors un défaut de l'interaction progéniteurs hématopoïétiques/stroma médullaire levant l'inhibition de la prolifération cellulaire. D'autres protéines d'adhésion comme les CRKL, la paxilline ou la talline sont phosphorylées, entraînant une dérégulation de leur fonction et du signal qu'elles induisent (22).

- Activation des voies de signalisation cellulaire

Les principales voies de signalisation impliquées sont la voie RAS/MAP kinase, la voie JAK/STAT, la voie PI3K/AKT et MYC. L'activation de ces voies par la phosphorylation de la tyrosine 117, la liaison de protéines telles que CRKL et SHC aux domaines SH2 et SH3 ou encore l'activation directe des protéines STAT par BCR-ABL1 entraînent une cascade enzymatique aboutissant à une prolifération cellulaire.

- Inhibition de l'apoptose

L'activation de la protéine antiapoptotique BCL-2 et la phosphorylation de BAD, protéine proapoptotique, via les voies de signalisation PI3 kinase et RAS permet de bloquer le relargage du cytochrome C par la mitochondrie et de fait, l'activation des caspases (28). L'activation des MAP kinases ERK1/2 qui phosphorylent la protéine proapoptotique BIM va entraîner un déficit quantitatif de cette protéine, rendant les cellules tumorales peu compétentes à l'apoptose (29).

- Dégradation des protéines inhibitrices

Il y a une dégradation des protéines ABI-1 et ABI-2 ayant une activité inhibitrice physiologique de la protéine ABL1. Ces dernières sont la cible d'un complexe de dégradation enzymatique stimulé par la protéine BCR-ABL1, le protéasome (30). De plus, la protéine BCR-ABL1 induit la dérégulation des protéines participant à la réparation de l'ADN contribuant en partie à l'instabilité génétique des cellules leucémiques (31).

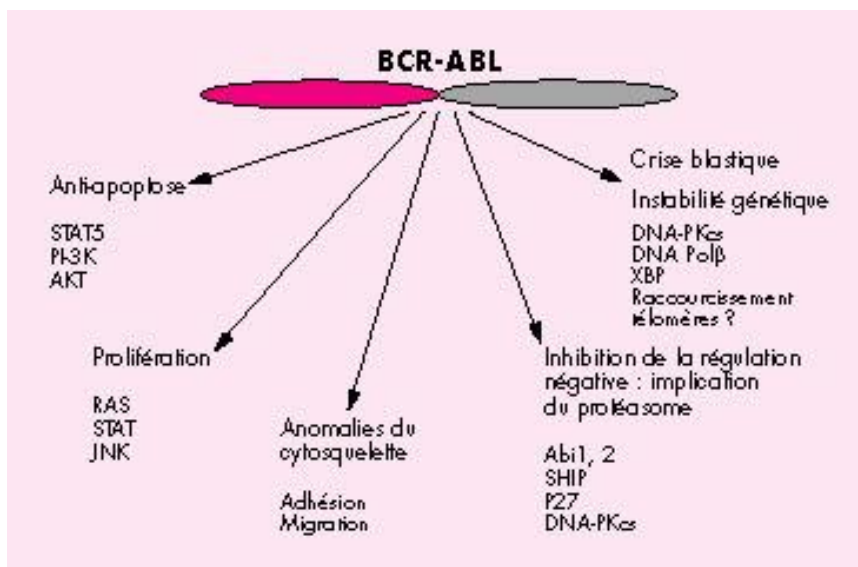


Figure 7 : Les effets phénotypiques de BCR-ABL dans les cellules leucémiques (32)

### 1.3.6 Instabilité génétique

L'instabilité génétique est une des caractéristiques majeures des cellules contenant la protéine de fusion BCR-ABL1. Cette protéine étant responsable de la phase chronique de la maladie, c'est l'instabilité génétique qui va entraîner la progression de la maladie vers les phases d'accélération et de transformation blastique. De plus, cette instabilité génétique est responsable de l'apparition d'anomalies clonales surajoutées au caryotype et du

développement des résistances aux traitements. Plusieurs mécanismes moléculaires complexes interviennent dans ce phénomène (cf. Figure 8).

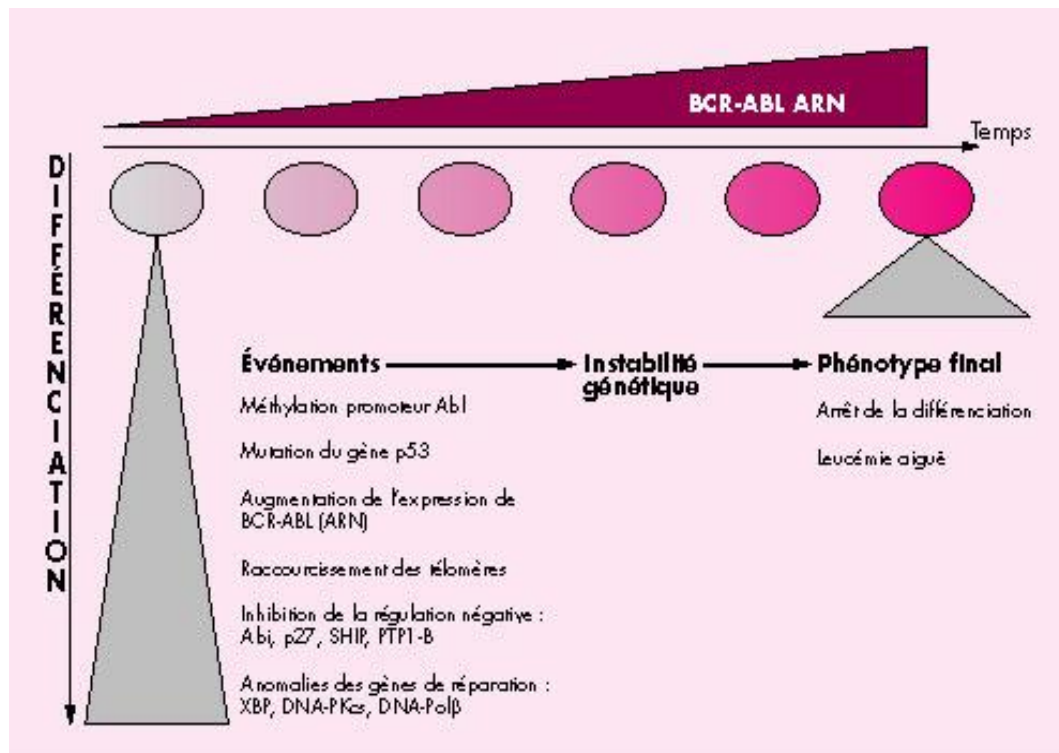


Figure 8 : Mécanismes multiples de progression du clone leucémique Ph1+ (32)

Ces mécanismes de progression clonales sont : la méthylation du promoteur d'*ABL1*, la mutation du gène suppresseur de tumeur *p53*, l'augmentation de l'expression de *BCR-ABL1* (par stimulation ou duplication du chromosome Philadelphie), le raccourcissement des télomères dans les cellules leucémiques (induit une activité télomérase moins efficace) et des anomalies des gènes de réparation de l'ADN (*XPB* et *DNA-PK*) (32) (cf. Figure 8). En 2007, un autre mécanisme entraînant des lésions de l'ADN par la production de dérivés réactifs de l'oxygène ROS (*reactive oxygen species*) liées à l'activité tyrosine kinase de BCR-ABL1 a été mis en évidence (33).

## **1.4 Caractéristiques clinico-biologiques**

### **1.4.1 Les trois phases de la maladie**

Le diagnostic de la maladie s'effectue dans la majorité des cas (> 90 %) au moment de la phase chronique. En l'absence de traitement, la LMC est mortelle, avec une évolution en 3 à 5 ans comportant une phase accélérée puis une phase dite blastique résultant d'une transformation aiguë prenant l'aspect d'une leucémie aiguë secondaire (23). Il existe ainsi un passage progressif d'une hyperproduction chronique d'éléments matures variés de la lignée myéloïde à une prolifération rapide de cellules immatures (hiatus de maturation et emballement d'un ou plusieurs sous-clones). Dans de rares cas, la maladie sera diagnostiquée en phase accélérée voire blastique, où les manifestations cliniques et biologiques de la pathologie seront plus marquées et dont le délai de prise en charge devra être plus rapide.

#### **Phase chronique**

La majorité des diagnostics de LMC est réalisée lors de la phase chronique. Dans la moitié des cas, il s'agit d'une découverte fortuite, sur un hémogramme pathologique mais sans signe clinique. Cette première phase est d'installation progressive et dure en moyenne 4 ans. La présentation clinique de la maladie peut être marquée par une altération de l'état général associée à un syndrome tumoral caractérisé par la présence d'une splénomégalie.

#### **Phases accélérée et blastique**

Il existe actuellement deux définitions pour chacune des phases selon les critères clinico-biologiques définis par l'European Leukemia Net (ELN), groupe d'experts européens du traitement de la LMC, et par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (cf. Tableau 2).

	<b>Critères ELN 2013</b>	<b>Critère OMS 2016</b>
<b>Phase accélérée</b>	15-29% blastos (sang ou moelle) ou > 30% blastos + promyélocytes (sang ou moelle) avec < 30% blastos  Basophilie sanguine $\geq$ 20%  Thrombopénie persistante (< 100 G/L), non liée au traitement  Anomalies chromosomiques additionnelles dans les cellules Ph+, au diagnostic ou en cours de traitement	10-19% blastos (sang ou moelle)  Basophilie sanguine $\geq$ 20%  Persistance ou augmentation de la leucocytose (> 10G/L) et/ou persistance ou augmentation de la splénomégalie ne répondant pas au traitement  Anomalies chromosomiques additionnelles dans les cellules Ph+ au diagnostic
<b>Phase blastique</b>	$\geq$ 30% blastos (sang ou moelle) prolifération blastique extramédullaire (en dehors de la rate)	$\geq$ 20% blastos (sang ou moelle) prolifération blastique extramédullaire (en dehors de la rate)

Tableau 2 : Critères clinico-biologiques définissant les phases accélérée et blastique de la LMC (34)

La phase d'accélération est considérée comme une phase de transition entre la phase chronique et la phase blastique. Elle dure en moyenne 15 mois en l'absence de traitement. La phase blastique se définit par un infiltrat blastique > 20 ou 30 % selon l'OMS ou l'ELN. Deux tiers des acutisations sont de phénotype myéloblastique et un tiers de phénotype lymphoblastique.

Ces deux phases, comme dit précédemment, sont plus rarement présentes lors du diagnostic et sont marquées par une majoration des symptômes cliniques (syndrome tumoral et altération de l'état général).

## Particularités de l'enfant

Le diagnostic de LMC chez l'enfant, comme chez l'adulte, est réalisé dans la majorité des cas de manière fortuite et au moment de la phase chronique de la maladie (> 90 % des cas) bien qu'une proportion plus importante de patients par rapport aux adultes sera diagnostiquée en phase accélérée ou blastique (7,5 % vs 2,5 %) (10). On observe également des signes biologiques et cliniques plus marqués dans la population pédiatrique au diagnostic de la maladie (Figure 9) (35).

Table 1. Comparison of age-dependent differences in CML characteristics

Ref.	Cohort age (y)*	Patients (No.)	Organomegaly	Blood counts (median)				Transcript phenotype	Risk profiles			Outcomes	
			Median spleen size (cm BCM)	WBC (cells/ $\mu$ L)	Platelets (cells/ $\mu$ L)	Hgb (g/dL)	Blasts in PB (%)	b3a2† (%)	High-risk Sokal score (%)	High-risk EUTOS score (%)	CCA (%)	CML progression‡ (%)	Response to treatment at defined time point after start of TKI
26	1-18	72	6	217	405	10.0	1	n.r.	16	19	n.r.	n.a.	<10% at 3 mo: 64%§
27	0.8-16.7	25	5	252	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	52	n.r.	n.r.	0.0	<10% at 3 mo: 63%§
	1.9-17.3	15	13	378	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	80	n.r.	n.r.	13.3	>10% at 3 mo: 37%§
28	2.8-17.9	47	n.r.	171	577	9.9	n.r.	72	n.r.	n.r.	n.r.	3.0	CCyR at 12 mo: 96% MMR at 12 mo: 67%
12	16-29	120	5	144	430	11.1	2	52	26	18	6	8.7	>10% at 3 mo: 42%§
	30-44	383	3	106	369	11.8	1	61	24	16	4	7.3	>10% at 3 mo: 42%§
	45-59	495	1	74	364	12.6	1	58	22	11	5	5.3	>10% at 3 mo: 26%§
	>60	526	0	57	381	12.5	0	62	24	8	3	6.1	>10% at 3 mo: 25%§
24	15-28	61	39%	30.5	332	12.2	0	n.r.	3	8	5	n.r.	CCyR at 12 mo: 83% MMR at 18 mo: 65% CMR 23%¶
	30-85	407	23%	27.4	343	12.3	0	n.r.	8	n.r.	4	n.r.	CCyR at 12 mo: 88% MMR at 18 mo: 78% CMR 41%¶
25	18-30	329	4.5	62	370	11.8	1	54	20	18	4	14	CCyR at 60 mo: 80% MMR at 60 mo: 71%
	30-39	444	5.0	66	355	12.1	1	44	15	9	5	5	CCyR at 60 mo: 90% MMR at 60 mo: 86%
	40-49	613	3.0	54	380	12.0	1		21	9			
	50-59	693	2.0	57	350	12.2	1		25	10			
	60-69	473	1.8	54	333	12.3	1	47	28	6	3	5	CCyR at 60 mo: 90%
	>70	232	1.0	71	345	12.1	0.7		36	5			MMR at 60 mo: 88%

BCM, below costal margin; CCA, complex cytogenetic aberrations in addition to Philadelphia chromosome; CCyR, complete cytogenetic response (no Ph+ chromosome detectable); CML, chronic myelogenous leukemia; CMR, complete molecular response (no BCR-ABL1 transcript detectable by RT-PCR; for details on sensitivity of PCR see text of referred publication); EUTOS, European Treatment and Outcome Study; Hgb, hemoglobin; MMR, major molecular response (transcript ratio BCR-ABL1/ABL1 < 0.1%); PB, peripheral blood; n.a., not applicable because of short follow-up; n.r., not reported; TKI, tyrosine kinase inhibitor; WBC, white blood cells.

\*Only trials reporting on cohorts of >30 patients and adult trials with data presented by age cohorts are included in the table.

†The percentage of patients showing both transcripts (b3a2 and b2a2) was added to the cohort expressing only transcript b3a2.

‡Length of follow-up time differs among the trials, thus age-dependent comparisons can only be made for subcohorts within a given trial.

§Percentage of the cohort achieving a transcript ratio higher or lower (as indicated) than 10% BCR-ABL1/ABL1 at month 3.

||Proportion of patients with enlarged spleen of any measured size.

¶Includes patients who were treated with second-generation TKIs.

*Figure 9 : Comparaison en fonction de l'âge au diagnostic des principales caractéristiques clinico-biologiques de la LMC, reportées par 6 études différentes issu de Hijiya et al. (35)*

A la phase chronique, l'apparition de symptômes et de signes cliniques semble plus importante dans la population pédiatrique. Les symptômes principaux sont l'asthénie, une perte de poids, des saignements spontanés et des douleurs abdominales ou inconfort splénique.

La présence d'une splénomégalie, bien que présente dans la plupart des cas de LMC chez l'adulte, semble plus prépondérante chez l'enfant, avec un débord costal moyen mesuré à 8 cm (mesures allant de 0 à 25 cm) (35). La présence de cette splénomégalie explique en partie les manifestations cliniques. Ce débord costal moyen n'est pas très différent de celui de l'adulte mais il est proportionnellement plus important chez les enfants car la taille normale de la rate chez ces derniers est inférieure à celle des adultes.

La maladie maintient ces caractéristiques cliniques agressives après l'enfance, les jeunes adultes présentent une maladie plus agressive que les adultes diagnostiqués à un âge plus avancé.

Le tableau ci-dessus (Figure 9) résume les caractéristiques cliniques et biologiques issues de diverses études menées sur des populations d'enfants et de jeunes adultes atteints de LMC (35).

#### **1.4.2 Diagnostic biologique**

##### **Hémogramme**

La numération formule sanguine (NFS) est un élément capital au diagnostic de la LMC et peut permettre à elle seule d'évoquer le diagnostic. On observe une hyperleucocytose franche (de 10 à 1000 G/L), avec une moyenne comprise entre 80 et 150 G/L (36), majoritairement composée de polynucléaires neutrophiles (30 – 50 %) ainsi que leurs précurseurs les plus différenciés (myélocytes et métamyélocytes) que l'on regroupe en myélémie. Cette présence de myélémie est quasi constante, pouvant être importante



(jusqu'à 30 %) et montre l'absence de hiatus de maturation. Également associée, la présence d'une basophilie quasi constante ainsi qu'une possible éosinophilie.

Concernant le reste de la NFS, une thrombocytose est habituellement présente, pouvant aller jusqu'à des valeurs supérieures à 1000 G/L et le taux d'hémoglobine est la plupart du temps normal avec parfois la présence d'une anémie normocytaire normochrome si elle est observée.

Plus rarement, seule une thrombocytose peut être observée et sera le mode de révélation de la LMC.

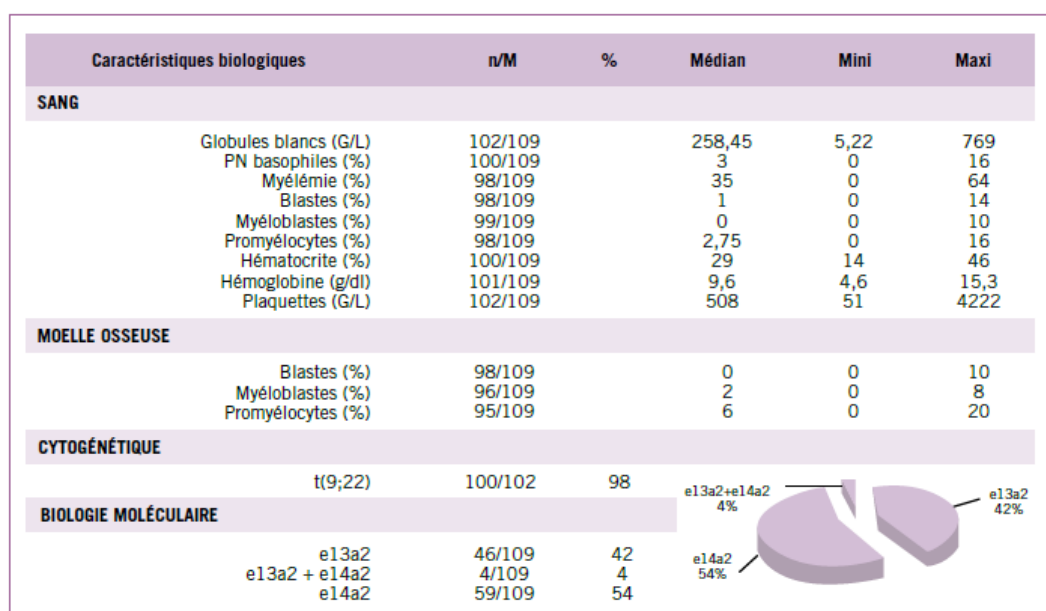


Figure 10 : Caractéristiques biologiques au diagnostic, cohorte pédiatrique française de 2017 (13)

Concernant la population pédiatrique, les diverses études convergent concernant la présence d'une leucocytose supérieure à celle retrouvée chez l'adulte. En 2005, Millot et al. (37) décrivaient sur une cohorte de 40 enfants atteints de LMC diagnostiqués entre 1991 et 2003 une hyperleucocytose médiane de 242 G/L [10 – 720] avec un pourcentage médian de précurseurs granuleux de 33,5 % [0 – 76]. Une étude internationale (étude I-CML-Ped) débutée en 2011 (38) recensant 200 patients, retrouve une numération leucocytaire médiane de 250 G/L [5 – 1037]. Enfin, dans une étude sur une cohorte française plus récente

(13), l'hyperleucocytose médiane était de 258 G/L [5 – 769] et était associée à une importante myélémie (médiane de 35%) ainsi qu'à une basophilie médiane de 3% (Figure 10).

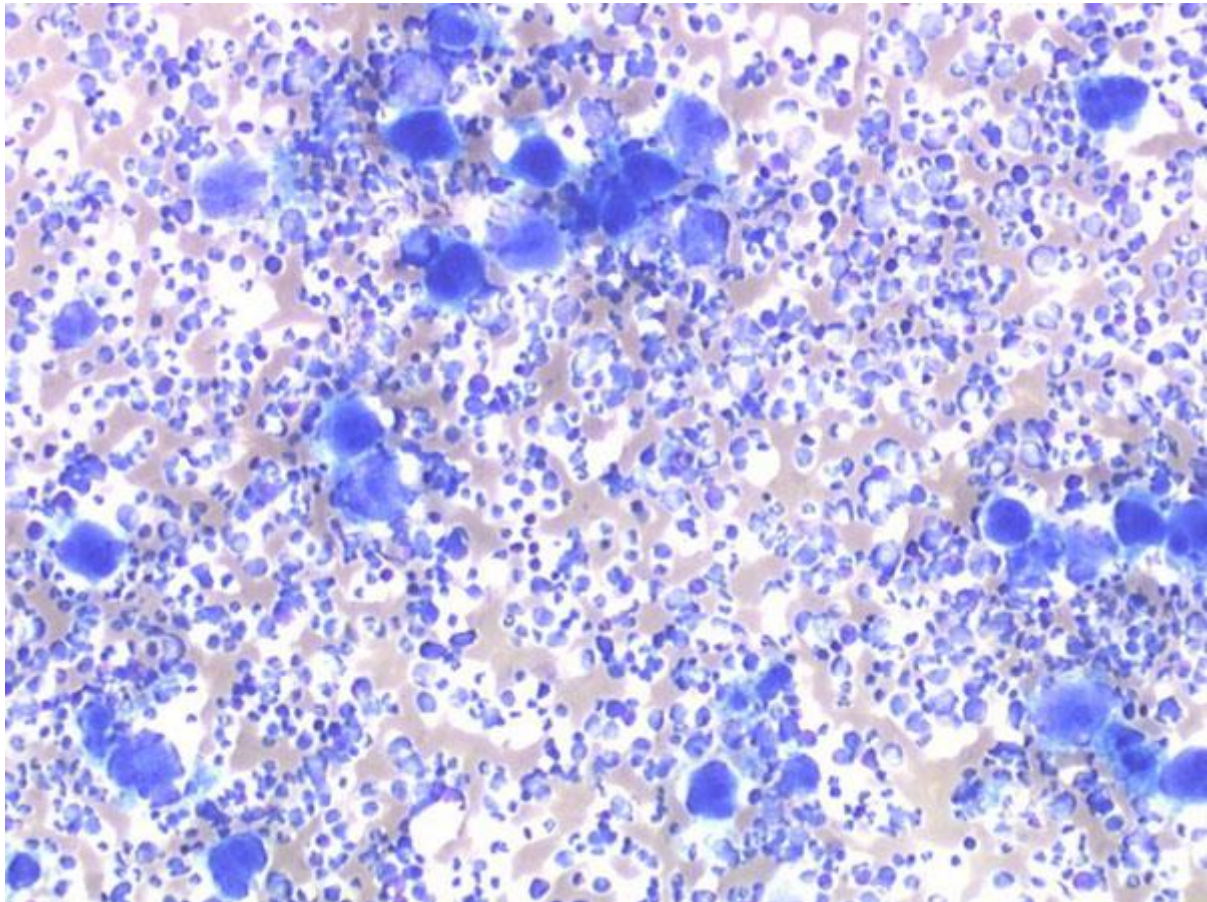
Une thrombocytose est retrouvée dans la majorité des cas (60 % des cas) avec une médiane estimée à 522 G/L. Cependant, des thrombocytoses majeures (> 1000 G/L) ont été observées (38). Cette thrombocytose est également retrouvée dans l'étude sur la cohorte française avec une thrombocytose médiane évaluée à 508 G/L [51 – 4222] (13).

Concernant la lignée érythrocytaire, la majorité des patients pédiatriques (> 70 %) présentent une anémie modérée corrélée pour la plupart aux symptômes cliniques comme la fatigue, l'asthénie et la splénomégalie (37).

### **Myélogramme**

Un myélogramme est systématiquement réalisé au diagnostic afin de préciser la phase de la maladie et de réaliser le caryotype initial. Les frottis médullaires montrent une hyperplasie importante de la lignée granuleuse à tous les stades de maturation sans anomalie morphologique des lignées granuleuse et érythroblastique. Le nombre de blastes permettra de définir le stade de la maladie (Tableau 2). Concernant les mégacaryocytes, ces derniers sont souvent en nombre augmenté avec le plus souvent un aspect morphologique anormal : de petite taille et à noyaux hypolobés.

Il n'a pas été répertorié de particularités pédiatriques concernant le myélogramme (Figure 10).



*Figure 11 : image d'un frottis médullaire à l'objectif (x10) montrant une richesse cellulaire augmentée ainsi que de nombreux mégacaryocytes de taille réduite (26)*

### **Caryotype**

Un caryotype médullaire conventionnel sera systématiquement réalisé afin de mettre en évidence la présence du chromosome Philadelphie (95 % des cas) et confirmer ainsi le diagnostic (Figure 12). Il permet également la détection d'éventuelles anomalies cytogénétiques additionnelles (ACA) dont les plus fréquentes sont : la duplication du chromosome Philadelphie, les trisomies 8 et 19 et un isochromosome (17q). Ces anomalies clonales surajoutées dans les métaphases Ph1+ (ACA/Ph1+) constituent une évolution clonale de la maladie et sont considérées comme un critère d'échec au traitement et un critère d'évolution de la maladie (34). En fonction des publications elles sont présentes dans 10 à 15 % des cas (39). En parallèle de ces ACA/Ph1+, des anomalies cytogénétiques

additionnelles peuvent également survenir dans les cellules ne présentant pas la translocation  $t(9;22)(q34;q11)$ , dites Philadelphie négatives (ACA/Ph1-). Celles-ci concerneraient entre 2 et 15 % des patients atteints de LMC, selon les études et constituent actuellement un critère d'alerte lorsqu'elles surviennent en cours de traitement (40).

Il est recommandé d'analyser au moins 20 métaphases et une anomalie clonale est établie si deux métaphases sont porteuses de la même anomalie en cas de remaniement de structure ou de gain de chromosome, ou de trois métaphases en cas de perte.

La  $t(9;22)(q34;q11)$  caractéristique n'est retrouvée que dans 95 % des cas. Dans les 5 % restant, le chromosome Philadelphie est dit « masqué » et donc non visible au caryotype. Ce phénomène est dû à l'insertion cryptique de 3' *ABL1* dans le chromosome 22. Non visible au caryotype, cela peut être révélé par des techniques de cytogénétique moléculaire, permettant de visualiser la fusion des gènes *BCR* et *ABL1* sur les chromosomes ou sur les noyaux en interphase. La plus utilisée est l'hybridation *in situ* par fluorescence (FISH) (Figure 13) mais il existe également la technique de CGH (*Comparative Genomic Hybridization*). Dans la LMC, ces techniques sont utilisées en cas de suspicion de LMC avec un caryotype normal afin de rechercher un Ph1 masqué dû à une insertion submicroscopique.

Caryotype: LMC PC au diagnostic

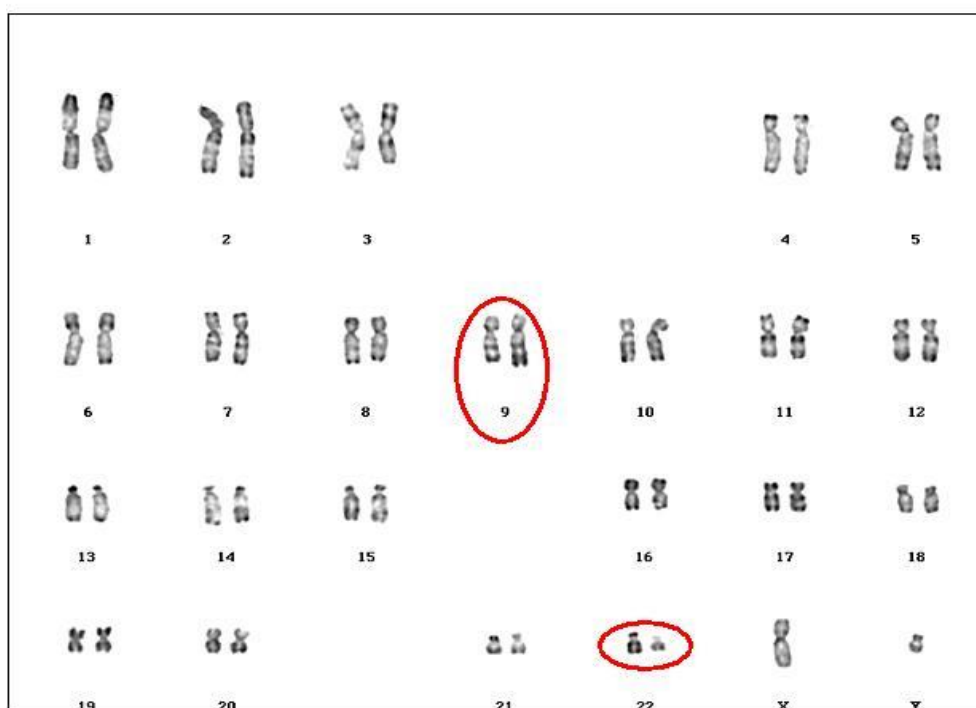


Figure 12 : Caryotype médullaire mettant en évidence une translocation réciproque  $t(9;22)(q34;q11)$   
(41)

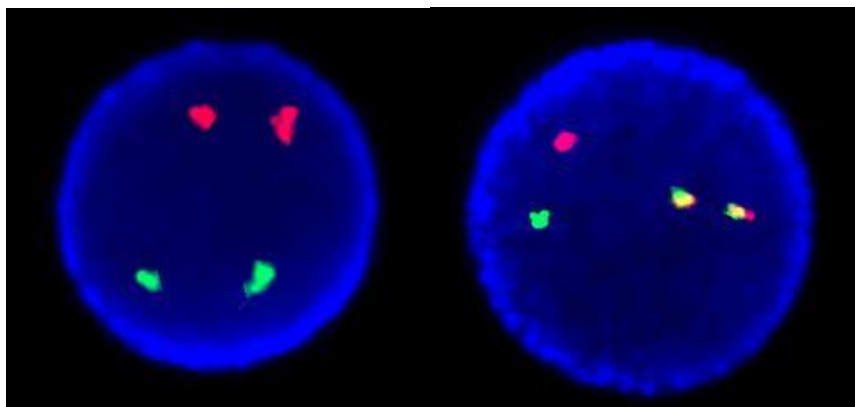


Figure 13 : Gène de fusion BCR-ABL1 détecté par FISH. A gauche : cellule normale (sonde BCR en vert, sonde ABL en rouge). A droite : détection du gène de fusion BCR-ABL1 en jaune (41)

## Biologie moléculaire

La recherche du transcrit de fusion *BCR-ABL1*, dans le sang, est indispensable au diagnostic et permet de définir le type de transcrit. Elle représente indirectement le nombre de cellules leucémiques présentes dans l'organisme.

Elle nécessite une étape préalable d'extraction des ARN à partir des globules blancs totaux et une étape de rétrotranscription de l'ARN en ADNc. La recherche du transcrit se fait ensuite par PCR multiplex (utilisant plusieurs couples d'amorces) en point final permettant d'amplifier tous les types de transcrits *BCR-ABL1* quel que soit leur point de cassure. La visualisation de la taille du transcrit amplifié sur gel d'agarose (Figure 14) permet de définir les points de cassure. Le type de transcrit supposé sera confirmé par PCR simple avec le couple d'amorce adéquat. Le typage du transcrit au diagnostic est fondamental afin de choisir le bon couple d'amorces pour la quantification du transcrit *BCR-ABL1* qui se fait par PCR en temps réel (Figure 15) sur l'ADNc obtenu après les étapes d'extraction et de rétrotranscription (RT-qPCR) (*retrotranscription quantitative real time polymerase chain reaction*).

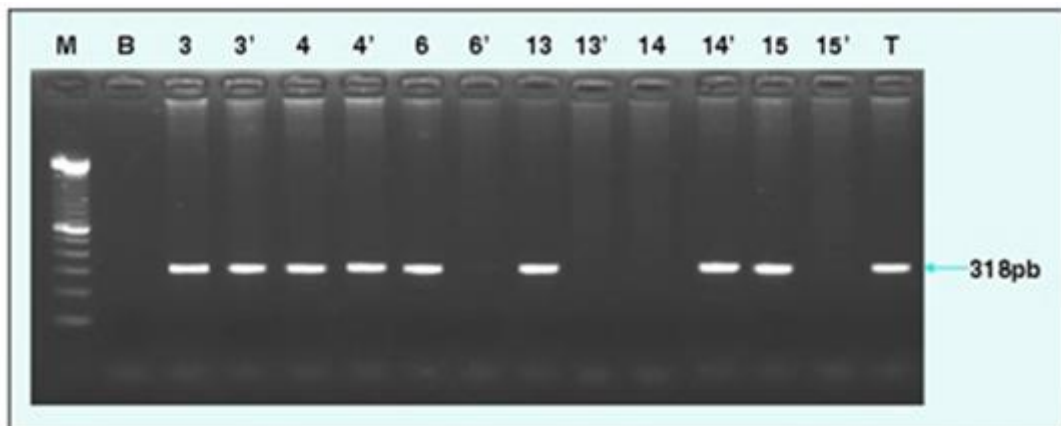


Figure 14 : Visualisation des bandes d'ADN sur gel d'agarose (42)

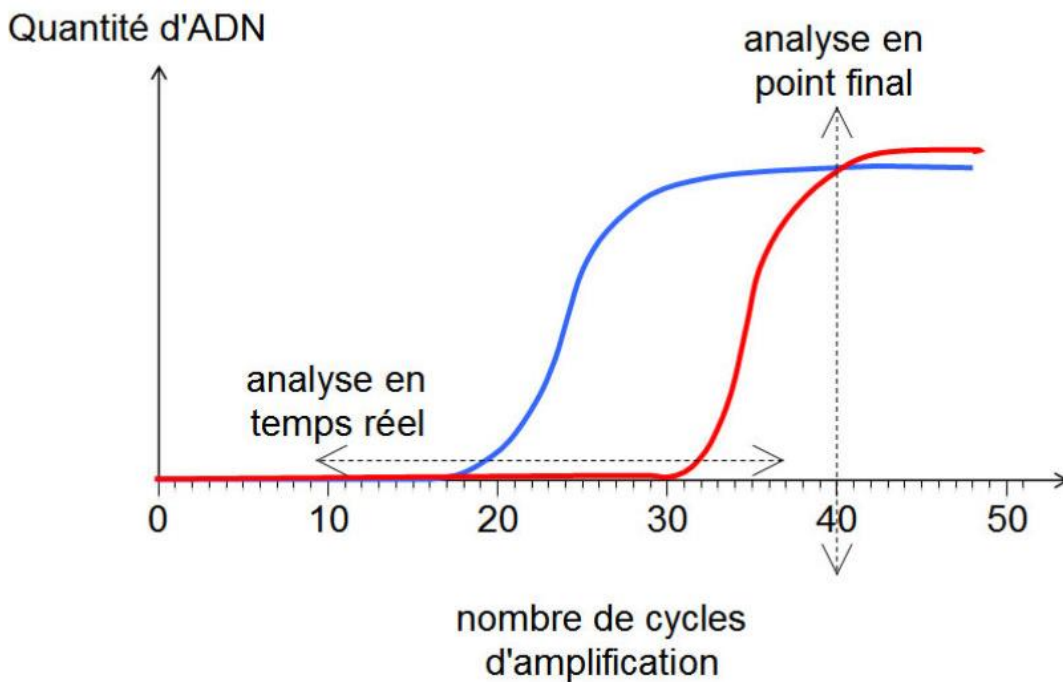


Figure 15 : Différents modes d'analyses des résultats d'une PCR (43)

La maladie résiduelle est rendue sous forme de ratio (en %) dans lequel le nombre total de copies BCR-ABL1 résiduelles est normalisé par rapport au nombre de copies totales du gène de contrôle, le plus souvent ABL1, contenues dans le même volume d'échantillon (% BCR-ABL1/ABL1). Pour déterminer le nombre de copies résiduelles par PCR en temps réel, on détermine le nombre de cycles à partir duquel le produit de PCR est détectable pour chaque gène. L'apparition de ce signal seuil, appelé cycle seuil ou Ct (*Cycle threshold*), est dépendant de la quantité initiale d'ADNc présente dans l'échantillon amplifié. Il est inversement proportionnel au logarithme décimal du nombre de copies initiales et apparait au cours de la phase exponentielle de la PCR.

En reportant la valeur de ce Ct sur une gamme d'étalonnage standardisé, titré en nombre de copies du gène, on peut ainsi calculer le nombre de copies initialement présent dans l'échantillon pour chaque transcrit. Deux courbes standards, une pour BCR-ABL1 et une pour ABL1, sont utilisées pour permettre le rendu du résultat final.

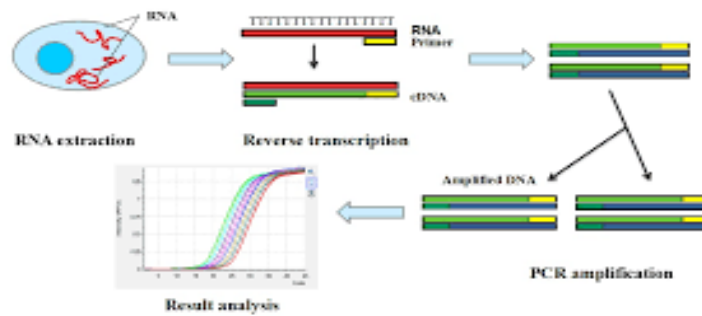


Figure 16 : : Schéma récapitulatif d'une RT-qPCR (44)

Pour permettre la comparaison des résultats entre les différents laboratoires réalisant cette technique, une échelle internationale a été créée. Afin de pouvoir aligner les résultats sur cette échelle internationale, chaque laboratoire doit obtenir un facteur de conversion. Les résultats ainsi convertis sont rendus sous forme d'un pourcentage de *BCR-ABL1/ABL1* aligné sur l'échelle internationale (% *BCR-ABL1/ABL1*<sup>IS</sup>).

La grande majorité des patients atteints de LMC présentent des réarrangements moléculaires de type *BCR-ABL1* au niveau de la région *M-BCR* du gène *BCR* sur le chromosome 22. Les réarrangements moléculaires principaux sont de type b2a2 et b3a2.

Dans la population adulte, une plus grande prévalence de sujet exprime le réarrangement moléculaire de type b3a2 (26).

Dans la population pédiatrique, les résultats des différentes études semblent plus contrastés. Les premières études semblaient montrer une prédominance du réarrangement moléculaire de type b2a2 dans la population pédiatrique avec, pour l'étude menée par Aurer et *al.* en 1990, 10 enfants sur 12 présentant le réarrangement b2a2, un présentant le type b3a2 et le dernier exprimant les deux arrangements (45). L'étude menée par Hasan et *al.* en Inde en 2006, semblait confirmer cela avec 68 % de la cohorte de 47 patients présentant un réarrangement de type b2a2 et aucun présentant une co-expression des deux réarrangements (46).



En revanche, en 2005, une étude menée par Millot et *al.* a montré des résultats contradictoires. Sur 16 patients, 63 % (soit 10 patients) exprimaient le réarrangement de type b3a2 (37). Puis en 2008, une autre étude menée par Adler et *al.*, regroupant une cohorte plus importante de patients (146 patients), aucune prédominance n'a pu être démontrée entre les deux réarrangements, avec respectivement 38 % de type b2a2 et 36 % de type b3a2. Ce qui dénotait en revanche par rapport aux autres études, était la grande proportion (26 %) de co-expression des deux types de réarrangements (47).

Enfin, sur la dernière étude française menée par Bouyer et *al.* et regroupant 113 enfants, 47 patients (42 %) exprimaient un réarrangement de type b2a2, 62 patients (55 %) exprimaient le type b3a2 et 4 patients (3 %) coexprimaient les deux réarrangements (13) rejoignant finalement les données retrouvées chez les adultes.

Plusieurs études ont tenté de mettre en évidence une corrélation entre le type de réarrangement moléculaire et les signes présents au diagnostic :

- Concernant le sexe, la dernière étude française sur la population pédiatrique ne permettait pas de mettre en évidence de prédominance d'un réarrangement moléculaire par rapport à un autre (13), infirmant les résultats de l'étude de Adler et *al.* en 2008 qui retrouvaient une prédominance du réarrangement b3a2 chez les filles (45 %) tandis que le type b2a2 s'exprimait préférentiellement chez les garçons (51 %) (47).
- Concernant les signes cliniques, aucune corrélation statistiquement significative n'a permis de mettre en évidence un lien entre l'âge, l'organomégalie (splénomégalie et hépatomégalie) et le type de réarrangement moléculaire (13).
- Concernant les paramètres biologiques, l'étude d'Adler et *al.* montre :
  - Un taux plaquettaire plus élevé chez les patients exprimant le réarrangement b3a2 (médiane à 624 G/L vs médiane à 280 G/L) pour les patients exprimant le réarrangement de type b2a2 (47).
  - Un taux d'hémoglobine plus élevé (médiane à 11,1 g/dL) chez les sujets b2a2 par rapport aux sujets b3a2 (taux médian d'hémoglobine de 10,2 g/dL).

- Un plus faible pourcentage de blastes dans la moelle osseuse chez les patients présentant les 2 réarrangements.
- Millot et *coll.* n'ont cependant pas retrouvé ces associations mais un taux de promyélocytes sanguins qui semblait plus élevé dans la population porteuse du réarrangement moléculaire de type b2a2.

## 1.5 Scores pronostiques

Plusieurs scores pronostiques sont utilisés dans la LMC.

Le premier fût établi par Sokal et *al.* en 1984 (48). Ce score prend en compte au moment du diagnostic des facteurs pronostiques indépendants comme la taille de la rate, le sexe ainsi que différents paramètres de l'hémogramme (les pourcentages de blastes et d'hématocrite et le taux de plaquettes). Etabli à partir de cohortes traitées par Busulfan et Hydroxyurée, le score de Sokal permet de séparer les patients en trois groupes selon le taux de survie globale, afin d'appréhender l'évolution de patients traités par chimiothérapie conventionnelle. Le groupe évalué à risque faible comprend les patients dont le calcul de l'indice est  $< 0,80$ . Les patients de ce groupe ont une survie globale médiane de 5 ans et un taux de survie à 2 ans évalué à 90 % avec un risque d'évolution péjoratif  $< 20$  % par an. Pour le groupe à risque élevé, dont l'indice calculé est  $> 1,2$ , la survie globale médiane est de 2,5 ans avec un taux de survie à 2 ans évalué à 65 %. Le groupe intermédiaire correspond aux patients dont l'indice de calcul est compris entre 0,80 et 1,20 et dont la survie globale médiane est évaluée à 4 ans.

Le score de Sokal a été modifié 1 an après, en 1985 pour les patients de moins de 45 ans (49). L'étude princeps avait pour but de déterminer dans une population de patients plus jeune (625 patients âgés de 5 à 45 ans), les patients candidats à une greffe de moelle osseuse en fonction du risque associé au traitement conventionnel (49). La répartition en trois groupes en fonction du calcul de l'indice est similaire au score de Sokal initial. Pour les

groupes à risque faible et intermédiaire, le taux de survie global à 2 ans était de 89 % et de 74 % à 3 ans. Pour le groupe à risque faible, il a été observé une mortalité à 2 ans de 9 % et une survie médiane de 5,5 ans. Pour le groupe à risque élevé, un risque de mortalité de 30 % a été observé dans les 2 ans suivant le diagnostic.

Ces indices fournissent une indication sur le potentiel évolutif spontané de la maladie et comme reflet de la masse tumorale mais ils sont moins performants pour donner un pronostic pour les patients traités par Interféron  $\alpha$  (IFN $\alpha$ ) (50).

En 1998, Hasford et *al.* établissent un score adapté aux patients traités par Interféron  $\alpha$ , les classant en trois groupes statistiquement différents concernant la survie globale (50). Cet indice est calculé à partir de l'âge, de la taille de la rate, du pourcentage de blastes circulants, de l'éosinophilie, de la basophilie et du taux de plaquettes. Le groupe à risque faible comprend les patients avec indice calculé  $\leq 780$  et dont la médiane de survie est évaluée de 96 mois. Le groupe intermédiaire comprend les scores entre 781 et 1480 et présente une survie médiane de 65 mois. Tandis que le groupe à risque élevé, score  $> 1481$ , présente une survie médiane de 42 mois.

Hasford et *al.* ont proposé plus récemment en 2011, un nouveau score EUTOS (European Treatment and Outcome Study for chronic myeloid leukemia) (51) développé et testé sur un groupe de patients traités en première intention par Imatinib et dans le but de prédire la rémission cytogénétique complète (RCC) à 18 mois après le début du traitement. Une RCC (0% de métaphases Ph1+) à 18 mois a en effet été associée à une survie sans progression plus importante. A 5 ans, la survie sans progression du groupe à risque élevé était de 82 % contre 90 % pour le groupe à risque faible (51). Les principaux facteurs prédictifs d'une RCC à 18 mois sont la taille de la rate (mesurée en cm du débord costal) et le pourcentage de polynucléaires basophiles circulants dans le sang. Ce score permet de classer les patients en deux groupes en fonction du risque de non obtention de la RCC à 18 mois. Si le score est  $> 87$

alors le risque est considéré comme élevé tandis que le risque est considéré comme faible si l'indice calculé est  $\leq 87$ .

Enfin, en 2015, un nouveau score a été établi à partir des données au diagnostic de 2205 patients adultes atteints de LMC en phase chronique. Ainsi, le score ELTS sert de référence pour l'évaluation prospective de l'efficacité anti-leucémique à long terme et de la survie globale des patients traités par l'Imatinib en première ligne (52). Ce score établi pour la population adulte inclut les paramètres accentuant significativement la probabilité de décès imputable à la LMC. Parmi les facteurs de risque de progression et décès on retrouve un âge plus avancé, un fort pourcentage de blastes circulants, un faible taux de plaquettes et une augmentation de la taille de la rate. Ce score classe les patients en trois groupes : risque faible (score  $\leq 1,5680$ ), intermédiaire ( $1,5681 < \text{score} < 2,2185$ ) et élevé (score  $> 2,2185$ ).

Les paramètres ainsi que les formules de calcul de ces scores sont résumés dans le tableau 3.

Score	Calcul	Interprétation
<b>Sokal</b>	$\text{Indice} = \exp [0,0116 (\text{âge} - 43,4) + 0,0345 (\text{rate} - 7,51) + 0,188 [( \text{plaquettes}/700)^2 - 0,563] + 0,0887 (\text{blastés} - 2,10)]$	Risque faible $< 0,80$ Risque intermédiaire : $0,80 - 1,2$ Risque élevé $> 1,2$
<b>Sokal modifié (<math>&lt; 45</math> ans)</b>	$\text{Indice} = \exp [0,0255 (\text{rate} - 8,14) + 0,0324 (\text{blastés} - 2,22) + 0,1025 [( \text{plaquettes}/700)^2 - 0,627] + 0,0173 (\text{Hématocrite} - 34,2) - 0,2682 (\text{sexe} - 1,4)]$	

<b>Hasford</b>	<b>Indice</b> = [(0,6666 x âge*) + (0,042 x rate) + (0,0584 x blastes) + (0,0413 éosinophiles) + (0,2039 x basophiles) + (1,0956 x plaquettes)] x 1000	Risque faible ≤ 780 Risque intermédiaire : 781 – 1480 Risque élevé : > 1480
<b>EUTOS</b>	<b>Indice</b> = rate x 4 + basophiles x 7	Risque faible ≤ 87 Haut risque : indice > 87
<b>ELTS</b>	<b>Indice</b> = (0,0025 x (âge/10) <sup>3</sup> ) + (0,0615 x rate) + (0,1052 x blastes) + (0,4104 x (plaquettes/1000) <sup>-0.5</sup> )	Risque faible ≤ 1,5680 Risque intermédiaire : 1,5860 – 2,2185 Risque élevé > 2,2185
<p>Âge en années (*<u>Hasford</u> : si âge &lt; 50 ans alors 0, si âge ≥ 50 ans alors 1)</p> <p><b>Rate</b> : taille en dessous du rebord costal en cm</p> <p><b>Plaquettes</b> en G/L (*<u>Hasford</u> : si taux plaquettaire &lt; 1500 alors 0, si ≥ 1500 alors 1)</p> <p><b>Blastes, PNE, PNB et Hématocrite</b> en pourcentage (%) (*<u>Hasford</u> : 0 si PNB &lt; 3% ou 1 si PNB ≥ 3%)</p> <p><b>Sexe</b> : 1 pour masculin et 2 pour féminin</p>		

Tableau 3 : Critères pronostiques dits de Sokal, de Hasford, d'EUTOS et d'ELTS

Pour la population pédiatrique, l'utilisation des scores pronostiques semble peu ou pas adaptée. En effet, ces différents scores sont basés sur des données issues de la population adulte. D'après une étude menée par Suttorp et *al.* en 2013, sur 90 enfants atteints de LMC en phase chronique issus de l'étude CML-PAEDII et traités par une dose standard d'Imatinib, seul le score EUTOS était corrélé avec le taux de transcrite *BCR-ABL1/ABL1* attendu à 3 mois (53). Cependant, dans cette même étude, aucun score pronostique n'a montré de corrélation statistiquement significative avec la réponse moléculaire attendue pour les différents groupes à 6 mois (54).

Par conséquent, un nombre plus important de patients et un suivi plus long sont encore nécessaires pour développer un score pronostique spécifiquement adapté aux cohortes d'âge pédiatriques et adolescentes.

## **1.6 Prise en charge thérapeutique**

Avant l'ère des inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK), thérapie ciblée apparue en 2001 ayant révolutionnée le pronostic vital des patients atteint de la LMC (21), les options thérapeutiques comprenaient l'utilisation de chimiothérapies comme l'Hydroxyurée, l'Aracytine ou l'Interféron  $\alpha$  (IFN $\alpha$ ). L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) lorsqu'elle est possible et indiquée (souvent en dernière ligne de traitement chez l'adulte), reste en 2019 encore le seul traitement curatif même si les résultats des essais thérapeutiques objectivant les possibilités d'arrêt thérapeutiques chez les patients avec les critères d'éligibilité permettent des rémissions complètes à long terme pour un peu moins de la moitié des patients (55).

### **1.6.1 Thérapeutiques non ciblées**

#### **Chimiothérapies**

Utilisées pour induire une réponse hématologique par normalisation du taux de leucocytes circulants, les traitements par chimiothérapies cytotoxiques n'induisent généralement pas de réponse cytogénétique en ne permettant pas de bloquer l'évolution de la maladie. En effet, leurs cibles premières étant les cellules en division rapide. Les principaux agents utilisés étaient le Busulfan (un agent alkylant) et l'Hydroxyurée (diminution de la synthèse d'ADN par inhibition de la ribonucléotide réductase). Bien que le Busulfan ait été abandonné, l'Hydroxyurée est encore utilisée afin de normaliser le taux de leucocytes en cas d'hyperleucocytose franche et symptomatique ou le taux plaquettaire en cas de

thrombocytose majeure (> 1000 G/L). Cette dernière est utilisée sur une courte durée, généralement le temps de la confirmation du diagnostic et avant l'instauration d'un traitement par ITK. La Cytarabine (agent antimétabolique, analogue nucléosidique de la pyrimidine, inhibant la synthèse de l'ADN par incorporation à celle-ci et par inhibition directe de l'ADN polymérase) peut aussi être employée seule ou en association avec l'Hydroxyurée ou l'IFN $\alpha$ .

### **L'Interféron $\alpha$ (IFN $\alpha$ )**

L'IFN $\alpha$  est un agent immunomodulateur utilisé à partir de 1980 chez les patients atteints de LMC, après avoir été utilisé comme traitement thérapeutique dans d'autres pathologies. C'est une cytokine ayant des propriétés antiprolifératives, en agissant sur les progéniteurs de la LMC mais également sur les cellules du stroma médullaire. Bien que son mode d'action soit mal connu, l'IFN $\alpha$  exerce de nombreuses actions sur les cellules leucémiques ou leur environnement comme l'activation du système immunologique ou la remise en cycle des cellules souches hématopoïétique (21).

Malgré ses effets secondaires (fièvre, nausées, perte de poids, lésions hépatiques, syndrome dépressif), l'IFN $\alpha$  était la thérapeutique de premier choix en 1998 (56) car elle permettait d'obtenir de bonnes réponses cytogénétiques. Son association avec la Cytarabine a permis un allongement de la survie des patients et une amélioration de la réponse cytogénétique par rapport aux patients traités par IFN $\alpha$  seul (57). Cette association a ainsi été le traitement de référence jusqu'au début des années 2000. Dans de rares cas, cette association a permis une rémission moléculaire de longue durée (*BCR-ABL1* indétectable dans le sang) et a conduit également à des arrêts de traitement sans rechute (21).

Désormais, l'Interféron  $\alpha$  pégylé (Peg-IFN $\alpha$ ) est utilisé en association avec un ITK, permettant d'obtenir de meilleurs taux de réponse cytogénétique et moléculaires par rapport à l'utilisation de l'ITK seul. Le bénéfice de l'association IFN $\alpha$  + Imatinib a été démontré par « the German CML Study IV » et le groupe français d'étude de la LMC (Fi-LMC) lors de l'étude

SPIRIT (58). Des essais cliniques sont désormais en cours afin de tester l'association de l'Interféron  $\alpha$  pégylé avec des ITK de 2<sup>ème</sup> génération, tels que l'essai « Dasa-Peg » (association Dasatinib + Peg-IFN $\alpha$ ) ou ont déjà montré l'intérêt et la faisabilité d'une telle association, via l'essai « Nilo-Peg » (association de Nilotinib et de Peg-IFN $\alpha$ ) (59). Les résultats de l'essai Nilo-Peg ont conduit à un essai de phase III actuellement en cours comparant l'association Nilotinib + Peg-IFN $\alpha$  *versus* le Nilotinib seul (essai « PETALS »).

Chez l'enfant et l'adolescent, l'IFN $\alpha$  a surtout été utilisé dans le traitement de la phase chronique avec des résultats similaires à ceux observés avec l'allogreffe de CSH. En 2005, les résultats d'une étude portant sur 30 patients diagnostiqués avec une LMC pendant l'enfance, entre 1980 et 2001, montraient une survie globale à 8 ans de 63 % pour 17 enfants traités par IFN $\alpha$  tandis que cette survie était de 61 % pour les 13 patients traités par allogreffe de CSH (60).

Une autre étude, menée en France sur 14 enfants, a testé l'association de l'IFN $\alpha$  avec la Cytarabine et montrait des résultats similaires à ceux obtenus chez l'adulte, avec l'obtention d'une RHC à 3 mois pour 58 % des enfants, une RCyM chez 50 % des enfants et une RCC chez 14 % des enfants à 12 mois. Cependant, après un an de traitement, 13 enfants ont bénéficié d'un switch vers Imatinib ou une allogreffe de CSH. Une toxicité importante a par ailleurs été retrouvée chez 8 enfants (61).

### **Allogreffe de cellules souches hématopoïétiques**

L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) reste à l'heure actuelle le seul traitement curatif de la LMC. Elle permet la reconstitution de l'hématopoïèse normale après l'élimination des cellules leucémiques grâce au conditionnement (chimiothérapies myélo-ablatives conduisant à l'aplasie afin de permettre la greffe de cellules de moelle osseuse) et à l'effet greffon *versus* leucémie (GVL : élimination par les lymphocytes T du donneur des cellules leucémiques du patient receveur).



L'allogreffe est dite géno-identique lorsque les cellules greffées proviennent d'un membre de la famille du receveur ou dite phéno-identique lorsqu'elles proviennent d'un donneur non apparenté.

L'allogreffe est un traitement pouvant entraîner de graves complications et dont les risques de mortalité restent élevés. Elle est ainsi réservée aux patients échouant à répondre durablement aux traitements de première puis de deuxième ligne.

Dans la LMC, il est recommandé d'allogreffer des CSH issues de la moelle osseuse et non provenant du sang périphérique car cela améliorerait le taux de survie en agissant sur la réaction GVL (62).

L'allogreffe de CSH reste aujourd'hui le seul traitement curatif de la LMC pédiatrique et de l'adulte. Ce traitement est envisagé en 2<sup>ème</sup> ou 3<sup>ème</sup> ligne de traitement, en fonction de la phase de la maladie et de l'efficacité des ITK.

Différentes études ont été menées afin de comparer la survie globale chez des patients greffés en fonction de la parenté du donneur et du stade de la maladie. La survie globale après plusieurs années est plus importante pour les patients transplantés de donneur apparenté et à la phase chronique de la maladie que chez des patients dont le donneur n'est pas apparenté et/ou lorsque l'allogreffe est réalisée à un stade plus avancé de la maladie. En 2003, une étude française portant sur 66 enfants allogreffés, montrait une survie globale de 73 % chez les patients greffés en phase chronique contre 27 % pour les patients présentant un stade avancé de la maladie. La cause principale de décès était la réaction greffon contre l'hôte (GVH) (63). Toujours en 2003, une étude portant sur la survie globale à 3 ans de 315 enfants atteints de LMC montrait que la survie globale chez les enfants allogreffés en phase chronique de la maladie était de 75 % lorsque le donneur était apparenté contre 46 % lorsque le donneur n'était pas apparenté. Lorsque le stade de la maladie était plus avancé, la survie globale passait à 65 % pour le groupe apparenté contre 39 % pour le groupe non apparenté (64).

## 1.6.2 Thérapeutiques ciblées : inhibiteurs de tyrosine kinase

Les inhibiteurs de tyrosine kinase ont révolutionné le pronostic de la LMC (65). Les premiers essais cliniques de phase I et II ont débuté en 1998 et ont été publiés en 2001 (66). Ces molécules sont désormais la base du traitement de la LMC.

Un inhibiteur de BCR-ABL1 doit pouvoir cibler la fonction enzymatique de la protéine, avoir une toxicité acceptable, pouvoir pénétrer à l'intérieur des cellules et son activité doit se restreindre aux cellules malignes.

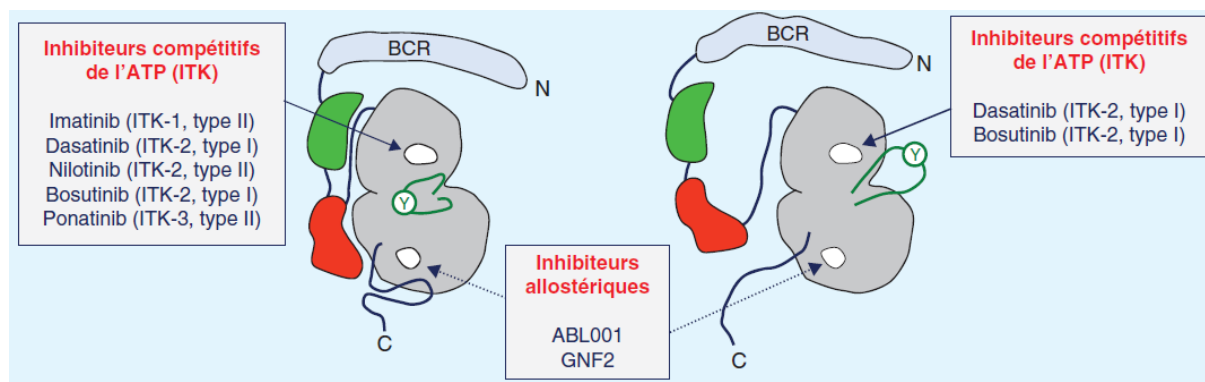


Figure 17 : Représentation des sites d'actions des ITK et inhibiteurs allostériques (21)

### ITK de première génération : Imatinib mésylate (GLIVEC®)

L'Imatinib mésylate (IM), ou STI571 (Glivec®), est le premier ITK utilisé dans le traitement de la LMC, pour son action inhibitrice sur ABL1 et BCR-ABL1 (67). L'Imatinib agit en se liant près du site de fixation de l'ATP, en le bloquant dans une conformation fermée (ou auto-inhibée), inhibant ainsi l'activité enzymatique de la protéine de manière compétitive. L'Imatinib reconnaît ainsi la forme inactive de la protéine (inhibiteur de type II) et fonctionne comme un inhibiteur compétitif de l'ATP (Figures 17 et 18). Ce processus aboutit à la désactivation des voies de signalisation en aval qui favorisent la leucémogénèse (66) (cf. Figure 13).

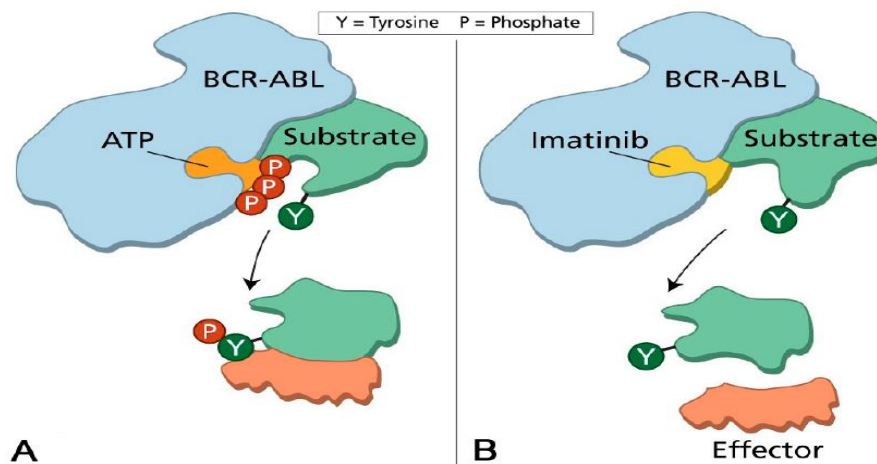


Figure 18 : Mécanisme d'action de l'Imatinib (68)

Analogue des phényl-amino-pyrimidines, l'Imatinib a obtenu l'autorisation de mise sur le marché (AMM) dans la LMC en phase chronique d'abord en 2<sup>ème</sup> intention en 2001 puis en 1<sup>ère</sup> intention en 2002 devant les résultats spectaculaires des études de phase II et phase III (69)(70). En effet, ces études ont permis de montrer une meilleure réponse des patients traités par Imatinib par rapport à ceux traités par IFN $\alpha$  et Cytarabine. A 6 ans, la survie globale des patients adultes atteints de LMC et traités par IM 400 mg est proche de 90 % (71) (Figure 19).

Chez l'enfant, la posologie est adaptée en fonction de la surface corporelle soit 340 mg/m<sup>2</sup>. Les résultats de l'étude de phase II menée chez 51 enfants atteints de LMC en phase chronique et traités par cette dose d'Imatinib montrent une survie sans progression (PFS) de 72 % +/- 6,4 % à 3 ans et une survie globale (OS) de 92 % +/- 3,9 % (72).

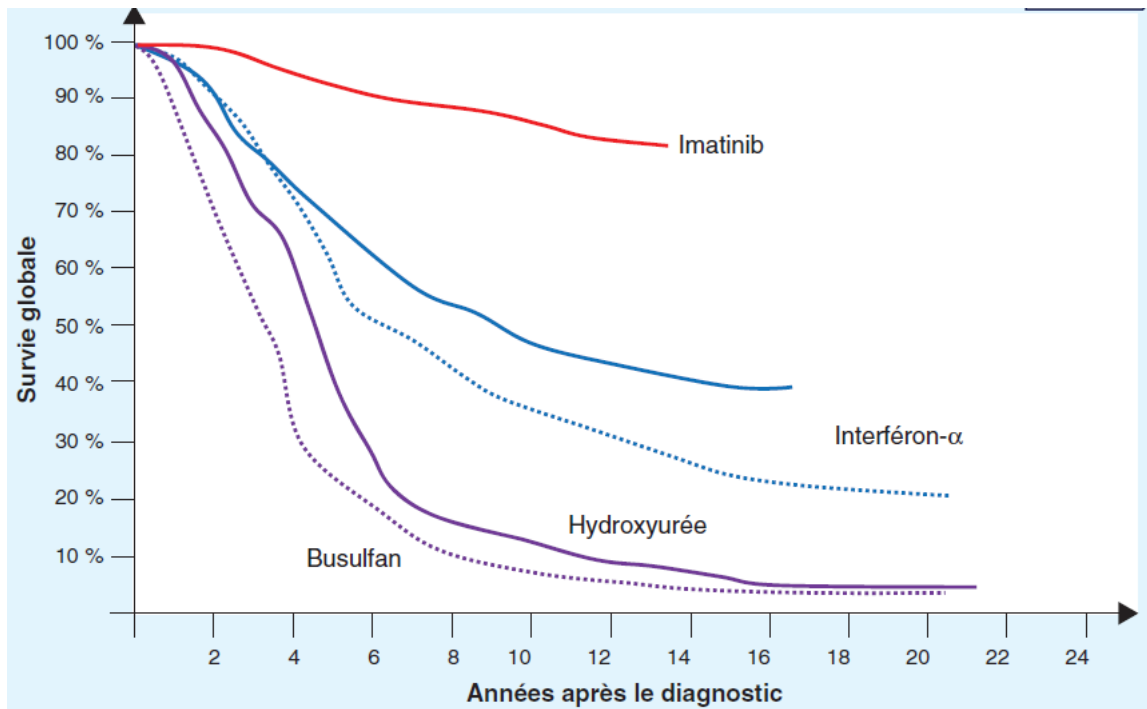


Figure 19 : Représentation de la survie globale en fonction des traitements (21)

L'Imatinib est généralement bien toléré par les patients, avec peu d'effets secondaires graves (grade 3 ou 4), dont les principaux sont d'ordre hématologique avec l'apparition de cytopénie (neutropénie, thrombopénie ou anémie).

Les effets indésirables décrits plus fréquemment sont des signes digestifs (diarrhées, nausées, douleurs abdominales), neuromusculaires (crampes, douleurs, asthénie, céphalées) ou cutanés (rash). De rares cas d'effets indésirables cardiaque ont été décrits avec un allongement du QT (73).

L'effet thérapeutique de l'Imatinib dépend de sa concentration plasmatique et un suivi thérapeutique des concentrations plasmatiques permet une adaptation de la posologie et une optimisation de l'efficacité du traitement (74). Le seuil de concentration efficace est évalué à 1000 ng/mL. Ce seuil a été confirmé dans plusieurs études et permet une meilleure probabilité d'obtention d'une réponse cytogénétique et moléculaire au-delà de ce seuil (74).

Concernant l'utilisation de l'Imatinib dans la population pédiatrique :

- Données de la littérature :

L'Imatinib est utilisé comme traitement de première ligne lors de la phase chronique de la LMC chez l'enfant, comme chez l'adulte. Cependant le nombre de publications concernant son utilisation dans cette population est limité mais l'Imatinib reste la molécule la plus étudiée.

La première étude portant sur cette population particulière a été menée par Champagne et *al.* en 2004 sur 31 enfants atteints de LMC en phase chronique (75). Une dose initiale de 260 à 570 mg/m<sup>2</sup>/jour a été administrée aux patients âgés de 3 à 20 ans (âge médian de 14 ans). La dose maximale tolérée n'a pas été atteinte du fait de la bonne tolérance et il a été établi par la suite, qu'une dose de 260 à 340 mg/m<sup>2</sup> chez l'enfant équivalait à une dose de 400 mg chez l'adulte. Les effets indésirables observés, bien que tolérés, étaient principalement des complications hématologiques.

Une étude prospective française de phase IV a été menée pour évaluer l'efficacité et la toxicité de l'Imatinib dans la LMC pédiatrique en phase chronique et les résultats ont été publiés en 2011 (6). L'étude portait sur 44 patients. La probabilité de survie sans progression (PFS) à trois ans était de 98%. L'obtention d'une réponse hématologique complète (RHC), d'une réponse cytogénétique complète (RCC) et d'une réponse moléculaire majeure (RMM) furent respectivement de 98 %, 61 % et 31 % à 1 an. Durant les 36 mois de la période d'étude, une RCC a été obtenue chez 77 % des patients et une RMM chez 57 %. Cependant, 30 % des patients ont arrêté l'Imatinib, principalement en raison d'une réponse insatisfaisante. Les événements indésirables les plus fréquents étaient la neutropénie et les événements musculo-squelettiques.

Une autre étude sur l'efficacité de l'Imatinib a été menée sur 30 enfants présentant un risque élevé, c'est-à-dire présentant une phase chronique tardive de la maladie (résistance au traitement par IFN $\alpha$ ) ou une phase avancée de la LMC ou une rechute post-allogreffe. Après administration de doses comprises entre 260 et 340mg/m<sup>2</sup>, il a été obtenu pour les

patients présentant une phase tardive, une RHC dans 80 % des cas et une RCC dans 60 % des cas. Concernant les patients en phase avancée de la maladie, une RHC a été obtenue chez 75 % des patients et une RCC chez 29 % d'entre eux (76).

- Effets indésirables :

L'Imatinib étant également un inhibiteur du récepteur du facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGFR) et du récepteur c-KIT, des effets indésirables et des conséquences sur la croissance des enfants sont en général redoutés (54).

Outre ce retentissement sur la croissance on retrouve les mêmes effets indésirables que chez l'adulte à savoir des éruptions cutanées, des symptômes gastro-intestinaux et des crampes musculaires. La plupart d'entre eux sont gérables avec une réduction de la dose ou une interruption temporaire de l'Imatinib.

Par ailleurs, une cardiotoxicité de l'Imatinib est possible en raison de l'inhibition d'ABL1 dans le tissu cardiaque, ce qui a des effets néfastes sur la viabilité des cardiomyocytes chez des modèles animaux, même si cela semble très rare. Bien qu'il n'y ait aucune preuve actuelle que cela puisse influencer la prise de décision clinique, cela pourrait être un sujet de préoccupation pour le traitement à long terme chez les enfants (4).

Le principal point de surveillance de l'utilisation de l'Imatinib chez l'enfant se porte donc sur l'impact sur le métabolisme osseux. En effet, plusieurs études tendent à démontrer que l'Imatinib induirait un remodelage osseux entraînant un retard de croissance chez les enfants traités, notamment lors de l'introduction de l'Imatinib en période pré-pubertaire (4). Une étude rétrospective française menée par Millot et *al.* portant sur 81 enfants atteints de LMC en phase chronique concluait à une diminution de la vitesse de croissance au cours des premières années de traitement par Imatinib chez les garçons, chez les filles et chez les patients d'âge pré-pubère ainsi que chez les adolescents (77). Dans une autre étude menée par Shima et *al.* durant 34 mois de suivi de traitement et portant sur 48 enfants traités par

Imatinib, une diminution de la croissance a été établie chez 73% des patients (78). Plusieurs études ont été entreprises afin de comprendre les différents mécanismes mis en jeu. Une étude sur un modèle murin exposé à des doses continues ou des doses intermittentes montraient que l'Imatinib avait principalement altéré la croissance longitudinale des os longs plutôt que les vertèbres des rats en croissance. De plus, l'exposition intermittente à l'Imatinib avait moins d'effets secondaires sur le squelette, ce qui pourrait être bénéfique chez les patients pédiatriques prenant de l'Imatinib (79). Ce remodelage osseux concernant particulièrement les os longs était aussi mis en avant par l'étude menée par Vandyke et *al.* où l'action non ciblée de l'Imatinib sur les récepteurs des plaquettes PDGFR A et B et sur les récepteurs c-Kit induit l'action ostéoclastique et inhibe l'action ostéoblastique (80). Bien que l'Imatinib soit connu chez l'adulte pour provoquer des hypocalcémies et des hypophosphorémies (4), des retentissements différents semblent être observés chez l'enfant. Jaeger et *al.* ont étudié les marqueurs du métabolisme osseux chez 17 patients atteints de LMC âgés de 4 à 17 ans et traités par Imatinib (81). Une hyperparathyroïdie s'est développée chez 8 patients et une faible concentration en 25-hydroxyvitamine-D3 a été observée chez 15 patients. Ils ont conclu que l'Imatinib pouvait dérégler le remodelage osseux et que les effets d'une altération de la formation osseuse étaient supérieurs à ceux d'une diminution de la résorption osseuse. L'Imatinib pourrait aussi agir en diminuant la sécrétion d'hormones de croissances telles que la GH et l'IGF-1 (82). Dans une autre étude menée par Rastogi et *al.* une diminution de la croissance a été observée mais elle semblait se rétablir quelque peu pendant la puberté, semblant suggérer un effet plateau de l'Imatinib sur la croissance (83). Ces différentes études montrent l'importance de la mise en place d'une surveillance de la croissance et du métabolisme osseux.

## ITK de 2<sup>ème</sup> génération

Malgré une efficacité prouvée, des cas de résistance primaire et surtout secondaire ont amené au développement d'inhibiteurs de tyrosine kinases de seconde génération tel que le Nilotinib (TASIGNA®), le Dasatinib (SPRYCEL®) et plus récemment le Bosutinib (BOSULIF®)

Le Nilotinib ou AMN107 possède un mécanisme d'action similaire à l'Imatinib, bien que plus puissant et sélectif, en se fixant de manière compétitive sur la forme inactivée de la protéine BCR-ABL1 (inhibiteur de type II) (Figure 17). Le Nilotinib a d'abord obtenu l'AMM en 2<sup>ème</sup> ligne dans le traitement de la LMC en 2007, puis en 1<sup>ère</sup> ligne en 2011 en France devant les résultats de l'étude ENESTnd (84) comparant le Nilotinib *versus* l'Imatinib chez des patients adultes nouvellement diagnostiqués pour une LMC en phase chronique. Les résultats de l'essai montrent une supériorité du Nilotinib à 12, 24 et 36 mois de suivi en termes de réponses cytogénétiques et moléculaires et de progression de la maladie.

La posologie recommandée est de 300 mg deux fois par jour chez l'adulte. Chez l'enfant, la posologie recommandée est similaire à celle de l'adulte avec des doses comprises entre 200 mg et 300 mg deux fois par jour (200 – 250 mg/m<sup>2</sup>) (85).

Sa tolérance est équivalente à l'Imatinib bien qu'il ait été rapporté un risque cardiovasculaire plus important (allongement de l'onde QT) (86)(87). Une élévation du taux de cholestérol a également été mise en évidence lors d'un essai de phase III, notamment chez les patients prenant une dose de 400 mg deux fois par jour (88). De plus, il a été observé chez moins de 10 % des patients, des artérites oblitérantes des membres inférieurs (AOMI). Elles peuvent survenir plusieurs mois après l'initiation du traitement (89). Des facteurs de risque, tel qu'un âge avancé, une hypertension, une hyperglycémie, une hypercholestérolémie ou des antécédents de tabagisme ont le plus souvent été retrouvés chez ces patients. Par conséquent, en 2015, le Fi-LMC a émis des recommandations sur la gestion du risque d'événements cardiovasculaires sous Nilotinib (87). Un bilan initial comprenant la recherche d'antécédents personnels et familiaux ainsi que des examens cliniques et biologiques doivent être réalisés. En fonction des résultats, des options thérapeutiques sont proposées



pour la prise en charge des patients LMC en France, en tenant compte des AMM et du remboursement des ITK en France (cf. Figure 20).

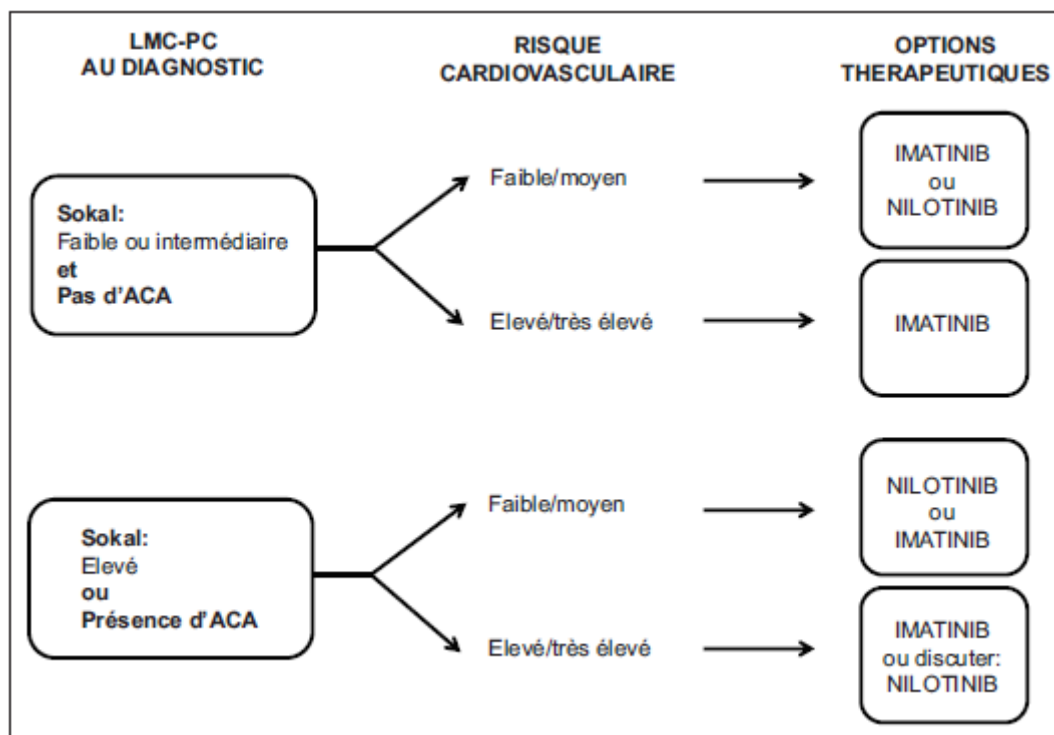


Figure 20 : Représentation schématique des options thérapeutiques selon les caractéristiques de la LMC-PC au diagnostic et du risque cardiovasculaire (87)

Dans la population pédiatrique, le Nilotinib est indiqué dans le traitement des enfants atteints de LMC résistants ou intolérants à l'Imatinib à la posologie de 230 mg/m<sup>2</sup> 2 fois par jour. Il dispose également de l'AMM depuis 2017 chez les enfants atteints de LMC nouvellement diagnostiquée mais le Service Médical Rendu a toutefois été jugé insuffisant (en 1<sup>ère</sup> ligne) par l'assurance maladie (contrairement à l'adulte) pour justifier d'une prise en charge par la solidarité nationale.

Le Dasatinib ou BMS354825 (SPRYCEL®) est un inhibiteur très puissant de type I<sub>1/2</sub>, qui possède un spectre d'inhibition assez large. Il peut se fixer à la forme inactivée de BCR-ABL1, mais il possède également la capacité de se fixer sur la forme active de l'oncoprotéine. Il

inhibe l'activité des kinases ABL1 et BCR-ABL1, avec notamment une activité conservée vis-à-vis d'un grand nombre de formes mutées de BCR-ABL résistantes à l'Imatinib.

Le Dasatinib a obtenu l'AMM en 2006, en 2<sup>ème</sup> ligne dans les LMC phase chronique ou accélérée et dans les LAL Ph1+ résistantes ou intolérantes à l'Imatinib chez l'adulte. Le Dasatinib a obtenu une extension d'AMM en 2010 en 1<sup>ère</sup> ligne dans les LMC en phase chronique nouvellement diagnostiquée chez l'adulte devant les résultats de l'essai DASISION (90). La Commission de Transparence a cependant considéré, contrairement au Nilotinib, un Service Médical Rendu (SMR) insuffisant en raison notamment d'un risque augmenté de survenue d'Hypertension Artérielle Pulmonaire (HTAP) et d'épanchement pleural (91).

La posologie recommandée est de 100 mg une fois par jour chez l'adulte. Chez l'enfant, la posologie recommandée est de 60 mg/m<sup>2</sup> (92).

Deux études de phase I ont été menées concernant l'utilisation du Dasatinib sur une population pédiatrique. La première, menée par Aplenc et *al.* en 2011 portait sur 39 enfants atteints de pathologies différentes. En effet, 28 enfants présentaient des tumeurs solides, 9 enfants présentaient une LMC en phase chronique et 2 enfants présentaient LAL Ph1+ (93). La dose initiale administrée était de 50 mg/m<sup>2</sup>/jour, puis des doses de 65, 80 et 110 mg/m<sup>2</sup> furent administrées. La dose toxique limite semble être celle de 110 mg/m<sup>2</sup> avec l'apparition de diarrhées et d'épanchement pleuraux en plus des maux de têtes observés avec les doses plus faibles. De plus, pour deux patients, il a été noté une toxicité de grade 3 ou 4 faisant apparaître une hypokaliémie et une hémorragie digestive. Concernant l'efficacité du Dasatinib chez les enfants atteints de LMC dans cette étude, il a été observé à un an trois réponses cytogénétiques complètes, trois réponses cytogénétiques partielles et deux réponses cytogénétiques mineure (93).

Dans l'autre étude, menée par Zwaan et *al.* en 2013, portant sur 58 enfants atteints de LMC ou d'une LAL Ph1+ et traités par Imatinib, les doses administrées étaient comprises entre 60 et 120 mg/m<sup>2</sup> (94). Les résultats ont montré que pour les 17 patients en phase chronique, 14 (82 %) présentaient une RCC et 8 (47 %) une RMM après 24 mois de suivi. Pour les patients en phase accélérée ou avec une LAL, sur 17 patients, 6 (35 %) ont présenté une RHC et 11 (65 %) une RCC. Les principaux effets indésirables identifiés non hématologiques étaient les

nausées (31 %), les maux de tête (22 %), la diarrhée (21 %) et les vomissements (17 %). Sur la base de ces résultats, des doses quotidiennes de 60 mg/m<sup>2</sup> et de 80 mg/m<sup>2</sup> ont été recommandées pour les études de phase II chez des enfants atteints de LAL Ph1+.

De ces deux études, l'utilisation du Dasatinib et sa tolérance étaient similaires à celles observées chez les patients adultes.

Concernant le Bosutinib ou SKI606 (BOSULIF®) son mécanisme d'action est semblable au Dasatinib en se fixant sur la protéine BCR-ABL1 en conformation active et inactive (inhibiteur de type I<sub>1/2</sub>).

Le Bosutinib a obtenu l'AMM chez l'adulte en 2014, en 2<sup>ème</sup> ligne de traitement.

L'essai BELA de phase III, comparant l'efficacité et la tolérance du Bosutinib par rapport au traitement de référence qu'est l'Imatinib montrent un taux de RMM à 12 mois supérieur dans le bras Bosutinib mais pas de différence en terme de RCC (70 % vs 68 % avec p = 0,6 %) (95). Aussi le Bosutinib a obtenu l'AMM en 1<sup>ère</sup> ligne aux Etats-Unis mais pas en France.

Sa tolérance est similaire aux autres ITK mais le Bosutinib entraîne davantage de complications hépatiques, avec l'apparition de cytolyses hépatiques biologiques marquées par l'augmentation des transaminases et de diarrhées (95).

La posologie recommandée est de 500 mg par jour chez l'adulte. Peu ou pas de données sont disponibles pour la population pédiatrique.

Peu de données dans la littérature concernant les concentrations plasmatiques efficaces du Nilotinib et du Dasatinib. Les concentrations moyennes observées cependant sont de l'ordre de 800 ng/mL pour le Nilotinib et pour le Dasatinib, de 1,5 ng/mL en résiduelle et de 50 ng/mL au pic (C<sub>max</sub> : 2 heures) (96).

### ITK de 3<sup>ème</sup> génération

Les ITK précédemment cités agissant sur le domaine catalytique de l'oncoprotéine BCR-ABL1, l'efficacité de ces derniers se trouve limitée lors de l'apparition de la mutation T315I du domaine tyrosine kinase d'*ABL1*. Cette mutation entraîne un encombrement stérique au niveau du site de liaison de l'ITK le rendant alors inaccessible. Il a ainsi été développé un ITK dit de 3<sup>ème</sup> génération, agissant au niveau d'une région extérieure au domaine catalytique.

Le Ponatinib ou AP24534 (ICLUSIG®) est un pan-inhibiteur puissant de la protéine BCR-ABL1. Il possède des éléments structurels, notamment une triple liaison carbone-carbone, qui lui confèrent une forte affinité de liaison à la fois à la protéine BCR-ABL1 native et aux formes mutantes de l'ABL-kinase (97).

Le Ponatinib a obtenu l'AMM chez l'adulte en 2<sup>ème</sup> intention pour le traitement des LMC en phase chronique, accélérée ou blastique présentant une résistance ou une intolérance au Nilotinib ou au Dasatinib et pour qui un traitement ultérieur par Imatinib n'est pas cliniquement approprié. Le Ponatinib est en revanche le traitement de 1<sup>ère</sup> intention pour la LMC en cas de mutation T315I.

Comme le Nilotinib, le Ponatinib peut être responsable de complications vasculaires (infarctus du myocarde, accident vasculaire cérébral, sténose de l'artère coronaire, ischémie et occlusion des membres inférieurs et thrombose veineuse) ce qui a entraîné l'arrêt prématuré de l'essai EPIC de phase III (98).

La posologie recommandée est de 45 mg par jour chez l'adulte avec une réduction à 30 mg par jour après obtention de la RCC (99). Pour l'enfant, la dose recommandée n'a pas été établie.

### 1.6.3 Autres molécules à l'essai

#### - **Inhibiteurs allostériques**

Les inhibiteurs allostériques modifient la conformation de la protéine et de son domaine kinase. Ils ne se fixent pas au niveau du site de liaison à l'ATP. Ils peuvent, comme GNF2 et ABL001 (Asciminib), mimer l'autoinhibition de la protéine ABL non réarrangée en se fixant sur le site d'insertion du groupement myristoyl (21). Leur utilisation, en association avec un ITK, permettrait de réduire le risque de résistance car une telle combinaison présenterait l'avantage de cibler le domaine des ABL kinases en deux endroits distincts, ce qui empêcherait, théoriquement, une résistance au traitement associée à une mutation ponctuelle (100).

Plusieurs études sont actuellement en cours concernant ABL001. Un essai de phase I cherche à établir la dose maximale tolérée ainsi que la dose recommandée à la fois pour la molécule seule ainsi que pour son association avec un ITK de 1<sup>ère</sup> ou 2<sup>ème</sup> ligne (Imatinib, Nilotinib ou Dasatinib). Un essai de phase II sur l'association Asciminib à 40 mg ou à 60 mg associé à de l'Imatinib par rapport à l'Imatinib ou au Nilotinib en continu est en cours afin d'évaluer le profil pharmacologique, l'efficacité et l'innocuité de cette association. Enfin un essai de phase III est également en cours afin de comparer l'efficacité d'ABL001 avec celle du Bosutinib chez des patients en phase chronique de LMC ayant été préalablement traités par au moins deux ITK et présentant un rapport BCR-ABL  $\geq 1$  % au diagnostic.

#### - **Pioglitazone**

Concernant la Pioglitazone, un antidiabétique, agoniste sélectif des récepteurs nucléaire PPAR- $\gamma$  (*peroxisome proliferator activated receptors*), il semblerait que ce médicament puisse agir sur la voie STAT5 impliquée dans le maintien de l'état de quiescence des CSL (Cellules Souches Leucémiques) et ainsi permettre l'érosion de ce compartiment (21). Une étude à long terme et portant sur une cohorte importante de patient en RMM mais non en Rémission Moléculaire Profonde (RMP) est en cours afin de tester l'association Imatinib et

Pioglitazone. Les premiers résultats de cette étude ont été publiés en 2017 et semblent indiquer une bonne tolérance de l'association ainsi qu'un taux favorable d'obtention de RM<sup>4.5</sup> chez 56 % des patients à 12 mois *versus* 23 % chez des patients traités par Imatinib seul (101). Cette association semblerait ainsi avoir une incidence sur la maladie résiduelle.

#### - **Inécalcitol**

L'Inécalcitol se lie au récepteur de la vitamine D qui lui-même se lie au récepteur rétinoïde X. Ce complexe se fixe ensuite sur des séquences d'ADN, appelées éléments de réponse à la vitamine D, qui stimulent ou inhibent l'expression de certains gènes impliqués dans la régulation du calcium ainsi que dans la prolifération et la différenciation cellulaire, l'apoptose, l'inflammation et l'immuno-modulation (102). Ce complexe se fixe préférentiellement sur les gènes impliqués dans la prolifération et différenciation cellulaire, l'apoptose et l'immuno-modulation.

Une étude de Phase II a été menée en France sur une association entre de l'Inécalcitol et de l'Imatinib sur des patients atteints de LMC, qui après un minimum de deux ans de traitement par Imatinib seul ont atteint le stade de RMM mais pas encore celui de RMP. L'objectif de cette étude était de pouvoir atteindre ce stade après un an d'association thérapeutique. 20 patients ont été recrutés pour cette étude et 8 patients (40 %) ont montré une diminution supplémentaire du marqueur *BCR-ABL1* et même quatre (20 %) ont montré une réduction supérieure à la RMP, c'est-à-dire à un *BCR-ABL1* indétectable (102). L'Inécalcitol inhiberait ainsi la prolifération des cellules souches et des progéniteurs de LMC isolés chez des patients atteints mais pas les progéniteurs myéloïdes normaux chez des personnes saines.

La dose retenue en association avec des doses classiques d'Imatinib est de 4 mg deux fois par jour.

## - Immunothérapie

De plus en plus d'études tendent à suggérer que le système immunitaire affecte le pronostic de la LMC comme pour d'autres pathologies cancéreuses (103). Dans la plupart des tumeurs solides, les lymphocytes T ont été associés à un pronostic positif. Concernant la LMC, il a été observé une augmentation de l'expression de marqueurs d'épuisement PD1, TIM3 et CTLA4 par les lymphocytes T CD4+ et CD8+ dans la moelle osseuse de patients atteints de LMC comparativement à des patients sains (103). En combinant ces données immunitaires avec les paramètres biologiques et cliniques des patients, cette étude montrait un intérêt à poursuivre des essais sur l'association d'immunomodulateurs avec les ITK afin d'obtenir une RMP.

Dans ce sens, une étude de phase II est actuellement en cours afin d'évaluer l'apport d'un immunomodulateur avec un traitement par ITK. L'essai ACTIW, visant à sélectionner suivant un plan adaptatif, différentes molécules d'intérêt dans le but d'augmenter le taux de RMP, propose entre autre d'associer à l'ITK que reçoit le patient, de l'Avelumab (anticorps anti PD-L1) qui agit en supprimant l'effet inhibiteur du PD-L1 sur les lymphocytes T CD8+ cytotoxiques mais également en induisant une lyse direct des cellules tumorales par les cellules Natural Killer (NK) via la cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps (104).

### 1.6.4 Recommandations

Les recommandations européennes pour la prise en charge des patients atteint de LMC ont été mises à jour en 2017 (105). Ces dernières recommandations européennes ESMO sont une adaptation provisoire des recommandations originales du consensus d'experts européens de l'ELN (Tableau 4 et 5) (34)(105).

<b>1<sup>ère</sup> ligne (un ITK au choix)</b>	<b>Imatinib</b>	<b>Nilotinib</b>	<b>Dasatinib</b>	<b>Typage HLA (patient et fratrie) si présence de critères d'avertissement à l'instauration du traitement</b>
<b>2<sup>ème</sup> ligne, si intolérance au 1<sup>er</sup> ITK</b>	Un des autres ITK approuvés en 1 <sup>ère</sup> ligne ou Bosutinib			
<b>2<sup>ème</sup> ligne, après échec de l'ITK de 1<sup>ère</sup> ligne</b>	Dasatinib ou Nilotinib ou Bosutinib ou Ponatinib	Dasatinib ou Bosutinib ou Ponatinib	Nilotinib ou Bosutinib ou Ponatinib	Typage HLA (patient et fratrie)
		Recherche d'un donneur de CSH apparenté Considérer l'allogreffe de CSH		
<b>3<sup>ème</sup> ligne, après échec et/ou intolérance à deux ITK</b>	Un des ITK restant			Allogreffe de CSH recommandée pour tous patients éligibles
<b>Toute ligne, en cas de mutation T315I</b>	Ponatinib			Typage HLA (patient et fratrie) Recherche d'un donneur de CSH non apparenté Considérer l'allogreffe de CSH

Tableau 4 : Recommandations pour le traitement de la LMC en phase chronique

Les ITK de première (Imatinib) et de deuxième génération (Dasatinib ou Nilotinib) peuvent être utilisés en 1<sup>ère</sup> ligne de traitement de la LMC en phase chronique. Le choix de l'un d'entre eux dépendra de différents critères (scores pronostiques, âge du patient, etc.) dont



le clinicien tiendra compte. A noter toutefois que le Dasatinib n'étant pas remboursé lorsqu'il est utilisé en 1<sup>ère</sup> ligne de traitement (SMR insuffisant), le choix se concentre en France en général, sur l'Imatinib ou le Nilotinib.

Un changement de molécule est envisagé en cas d'intolérance ou de critères objectifs d'échappement ou de résistance au traitement (voir paragraphe 1.7.4 objectifs de réponse).

Une bonne observance du patient est primordiale à l'obtention des critères de réponse (106) et un dosage plasmatique de la molécule peut s'avérer utile en cas de suspicion de non observance.

Avant un changement vers un autre ITK la recherche de mutation dans le domaine TK d'*ABL1* est recommandée (voir paragraphe 1.7.5).

La mention d'intolérance au traitement concerne les effets indésirables, généralement dose dépendant. Ces effets non souhaités, hématologique (anémie, neutropénie, thrombopénie) ou généraux (nausées, vomissements, myalgies, cytolysé hépatique), peuvent nécessiter une adaptation posologique voir un arrêt partiel ou définitif de la molécule concernée.

Concernant les autres phases de la maladie, la prise en charge de la phase accélérée est considérée comme proche de la phase chronique à haut risque, de sorte que les ITK restent prioritaires (34) (Tableau 5). Pour les patients évoluant vers une phase accélérée ou blastique pendant une thérapie par ITK, l'allogreffe de CSH est recommandée pour les patients éligibles car la réponse à tout traitement ultérieur par ITK sera plus faible et moins durable (34). Chez ces patients en association à l'ITK, une chimiothérapie cytotoxique peut être nécessaire pour retrouver un certain degré de rémission afin de permettre une allogreffe de CSH (34). En cas de phase blastique non contrôlé et résistante, l'allogreffe n'est pas recommandée (34). Il est à noter que le Nilotinib a été testé, mais non approuvé, pour le traitement de la phase accélérée (34).

Phases accélérée et blastique nouvellement diagnostiquées et naïves de traitement par ITK	Phases accélérée et blastique en tant que progression de la phase chronique chez patients prétraités par ITK
<p>Imatinib ou Dasatinib</p> <p>Recherche d'un donneur de CSH</p> <p>puis allogreffe recommandée pour tous les patients en phase blastique et pour les patients en phase accélérée n'ayant pas obtenus de réponse optimale</p> <p>Chimiothérapie éventuelle avant l'allogreffe de CSH pour contrôler la maladie</p>	<p>Un des ITK non utilisé avant la progression</p> <p>puis allogreffe pour tous les patients</p> <p>Chimiothérapie fréquemment recommandée pour rendre le patient éligible à l'allogreffe de CSH</p>

Tableau 5 : Recommandations pour le traitement de la LMC en phase accélérée ou blastique

## 1.7 Critères et objectifs de réponse

Le suivi biologique des patients LMC est bien standardisé (105). Il est en général recommandé d'effectuer une NFS tous les 15 jours jusqu'à obtention de la rémission hématologique complète (RHC) puis tous les 3 mois, un caryotype médullaire à partir de 3 mois jusqu'à l'obtention d'une RCC, et une quantification du transcrit *BCR-ABL1* par RT-qPCR tous les 3 mois jusqu'à au moins l'obtention d'une RMM définie par un taux de *BCR-ABL1/ABL1*  $\leq 0,1$  % confirmé à 3 mois, puis tous les 3 à 6 mois (107).

Différents critères de réponse au traitement ont été définis en tenant compte des caractéristiques cliniques et biologiques de la maladie et surtout de son marqueur, le

chromosome Philadelphie et son équivalent moléculaire (108)(34). Ces différents critères sont résumés dans le Tableau 6.

	<b>Définitions</b>	
<b>Réponse hématologique</b>	Complète (RHC) Plaquettes < 450 G/L Leucocytes < 10 G/L Absence de myélémie et < 5% de basophiles Absence de splénomégalie	
<b>Réponses cytogénétiques (% de métaphases Ph1+)</b>	Complète (RCC) Ph1+ = 0% Partielle (RCyP) Ph1+ = 1-35% Mineure (RCyM) Ph1+ = 36-65% Minime Ph1+ = 66-95% Absence Ph1+ > 95%	Majeure (RCyM) Ph1+ ≤ 35%
<b>Réponses moléculaires (ratio <i>BCR-ABL1/ABL1</i>)</b>	Majeure (RMM) : ≤ 0,1% (SI) RM <sup>4</sup> : ≤ 0,01% (SI) ou un transcrit indétectable avec 10 000 copies <i>ABL1</i> totales RM <sup>4,5</sup> : ≤ 0,0032% (SI) ou un transcrit indétectable avec 32 000 copies <i>ABL1</i> totales RM <sup>5</sup> : ≤ 0,001% (SI) ou un transcrit indétectable avec 100 000 copies <i>ABL1</i> totales	

Tableau 6 : Définitions des réponses hématologiques, cytogénétiques et moléculaires

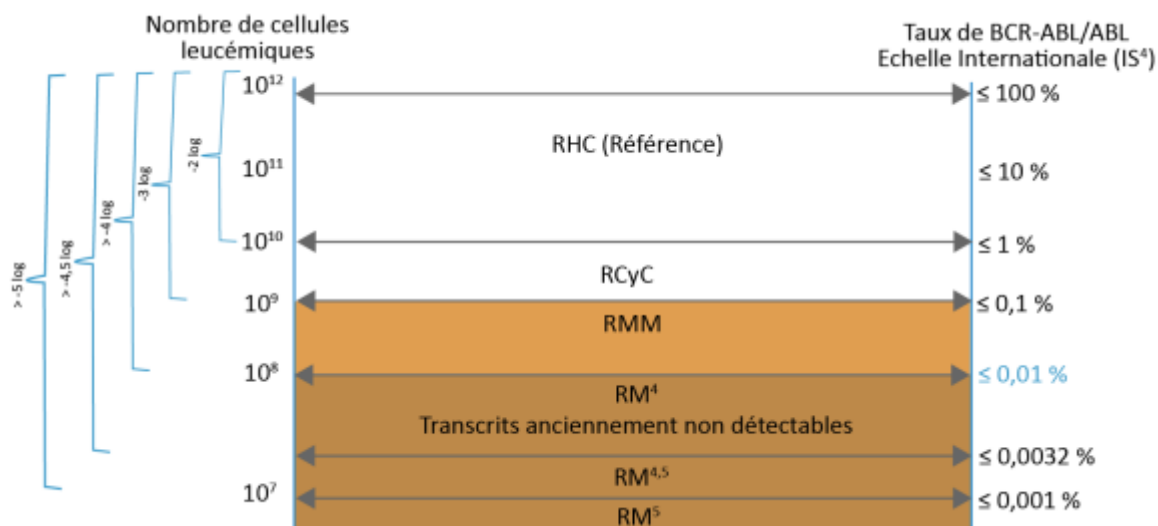


Figure 21 : Schéma récapitulatif des réponses souhaitées (109)

### 1.7.1 Réponses hématologiques

La réponse hématologique complète (RHC) est définie par la normalisation de la NFS (hémogramme dans les valeurs biologiques de référence) et par la disparition des signes et symptômes cliniques de la maladie (disparition notamment de la splénomégalie).

On évoque une réponse hématologique partielle (RHP) lorsque la diminution de la leucocytose atteint des valeurs entre 10 et 20 G/L ou lorsqu'il y a une normalisation de la NFS mais une persistance de la thrombocytose, de la myélémie ou de la splénomégalie.

### 1.7.2 Réponses cytogénétiques

La réponse cytogénétique est évaluée lors de l'analyse du caryotype médullaire (comprenant au minimum 20 métaphases), selon le pourcentage de cellules porteuses du chromosome Philadelphie. En fonction de cette analyse, cinq groupes sont établis, allant d'une réponse complète à l'absence de réponse. On considère qu'une réponse cytogénétique complète

(RCC) et qu'une réponse cytogénétique partielle (RCyP) font partie du groupe plus global de la réponse cytogénétique majeure (RCyM), regroupant ainsi les patients ayant moins de 35 % de cellules Ph1+ (Tableau 6).

### 1.7.3 Réponses moléculaires

Les différents niveaux de réponse moléculaire sont établis selon le pourcentage du transcrit de fusion *BCR-ABL1* résiduel plasmatique, reporté sur l'échelle internationale.

On parle de rémission moléculaire majeure (RMM) lorsque l'on observe une diminution d'au moins 3 log (logarithmes décimaux) du ratio *BCR-ABL1/ABL1* par rapport à un seuil standardisé ou un taux inférieur ou égal à 0,1 % IS (sur l'échelle internationale).

Des critères de réponse moléculaire profonde ont été établis en tenant compte du nombre de copies totales d'*ABL1* amplifiées et de la détection ou non du transcrit *BCR-ABL1*. Ces réponses sont décrites dans le tableau 6 et correspondent également à une diminution de log, respectivement : de 4 log pour la RM<sup>4</sup>, de 4,5 log pour la RM<sup>4,5</sup> et de 5 log pour la RM<sup>5</sup> (Figure 22).

A noter que les patients traités par Imatinib présentent une réponse moléculaire biphasique. Il y a une chute initiale rapide du niveau de *BCR-ABL1*, reflétant la clairance de la descendance mature de la LMC, suivie d'une deuxième phase avec un gradient peu profond reflétant l'épuisement progressif des précurseurs cellulaires de la LMC moins sensible à l'Imatinib (4).

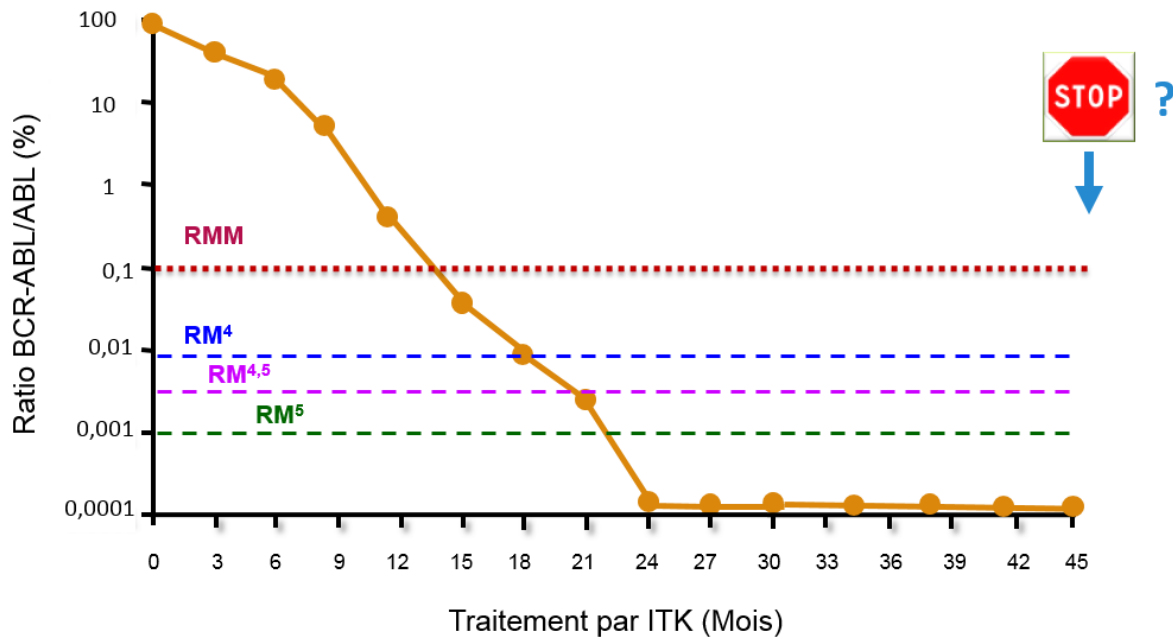


Figure 22 : Réponse moléculaire idéale avec un traitement par ITK (109)

#### 1.7.4 Objectifs de réponse

L'étude clinique IRIS en 2000, a été la première à montrer l'importance de la surveillance moléculaire à l'aide de RT-PCR quantitative pour les patients traités par Imatinib (7). Cette étude a permis d'identifier le seuil de *BCR-ABL1* offrant une protection contre la progression de la maladie. Ce seuil appelé réponse moléculaire majeure (RMM) est depuis devenu un critère d'évaluation important, correspondant à une diminution de 3 logarithme du niveau de base du patient (RMM : seuil  $\leq 0,1$  % de transcrite *BCR-ABL1*) (110). L'obtention d'une rémission moléculaire majeure au 18<sup>ème</sup> mois (M18) initialement puis au 12<sup>ème</sup> mois (M12) a été définie comme une étape importante, puis l'absence d'une réponse moléculaire précoce s'est également révélé être un paramètre pertinent pour déterminer l'agressivité de la LMC. L'analyse de suivi à long terme des données moléculaires standardisées de l'essai IRIS a ainsi permis de démontrer que pour les patients présentant des valeurs de *BCR-ABL1*  $\geq 10$  % à 6 mois, avaient une survie sans évènement (EFS) plus faible (56%) que les patients présentant des valeurs de *BCR-ABL1*  $\leq 10$  % à 6 mois. De plus, ces patients présentaient un risque accru

d'évolution de la maladie (24 % vs 5 %) (110). Une étude allemande comportant les résultats de plus de 1000 patients nouvellement diagnostiqués a même retrouvé une probabilité de décès et de progression plus élevée chez les patients présentant un taux de transcrit *BCR-ABL1*  $\geq 10$  % à M3 ou  $\geq 1$  % à M6 (110). Dans la population pédiatrique, Millot et *al.*, ont également retrouvé un impact du taux de transcrit *BCR-ABL1/ABL1*  $> 10$  % à 3 mois (5).

Ainsi l'ELN a défini en fonction du temps, différents niveaux de réponses à atteindre pour être en réponse optimale, en alerte ou en échec.

En première ligne de traitement par ITK (Tableau 7), la réponse optimale indique qu'il ne faut pas changer de traitement car est associée à des résultats à long terme équivalant à une survie globale similaire à la population générale. Lorsque les critères de réponses se situent dans la réponse dite en alerte, une surveillance plus particulière est préconisée afin de permettre des changements rapides dans la thérapie en cas d'échec au traitement. La notion d'échec thérapeutique implique une adaptation posologique ou un changement d'ITK.

Echéance\Réponse	Optimale	Alerte	Echec
<b>A l'instauration du traitement</b>	NA	Risque élevé s'il existe des anomalies cytogénétiques additionnelles	NA
<b>A 3 mois</b>	$BCR-ABL1$ (SI) $\leq$ 10 % et/ou Ph1+ $\leq$ 35 %	$BCR-ABL1$ (SI) $\geq$ 10 % et/ou Ph1+ = 36-95 %	Absence de RHC et/ou Ph1+ > 95 %
<b>A 6 mois</b>	$BCR-ABL1$ (SI) $\leq$ 1 % et/ou Ph1+ = 0 %	$BCR-ABL1$ (SI) 1-10 % et/ou Ph1+ = 1 - 35 %	$BCR-ABL1$ (SI) > 10 % et/ou Ph1+ > 35 %
<b>A 12 mois</b>	$BCR-ABL1$ (SI) $\leq$ 0,1 % (RMM)	$BCR-ABL1$ (SI) > 0,1 – 1 %	$BCR-ABL1$ (SI) > 1 % et/ou Ph1+ > 0 %
<b>Ultérieurement</b>	RMM	Anomalies cytogénétiques additionnelles (ACA)/Ph1-	Perte de RCH ou RCC, perte de RMM, mutation, anomalies cytogénétiques additionnelles (ACA)/Ph1+

Tableau 7 : Définition de la réponse aux ITK de 1ère ligne de traitement (34)

Pour les patients en seconde ligne de traitement, après échec de l'Imatinib, des critères de réponses ont également été définis (Tableau 8).



Echéance\Réponse	Optimale	Alerte	Echec
<b>A l'instauration du traitement</b>	NA	Absence de RHC ou perte de RHC sous Imatinib ou absence de RCC sous ITK 1 <sup>ère</sup> ligne ou haut risque	NA
<b>A 3 mois</b>	$BCR-ABL1$ (SI) $\leq$ 10 % et/ou Ph1+ < 65 %	$BCR-ABL1$ (SI) > 10 % et/ou Ph1+ = 66 - 95 %	Absence de RHC ou Ph1+ > 95 % ou nouvelles mutations
<b>A 6 mois</b>	$BCR-ABL1$ (SI) $\leq$ 1 % et/ou Ph1+ < 35 %	Ph1+ = 36-65 %	$BCR-ABL1$ (SI) > 10 % et/ou Ph1+ > 65 % et/ou nouvelles mutations
<b>A 12 mois</b>	$BCR-ABL1$ (SI) $\leq$ 1 % et/ou absence de Ph1+	$BCR-ABL1$ (SI) = 1 - 10% et/ou Ph+ = 1-35 %	$BCR-ABL1$ (SI) > 10 % et/ou Ph1+ > 35 % et/ou nouvelles mutations
<b>Ultérieurement</b>	$BCR-ABL1$ (SI) < 0,1 % (RMM)	Anomalies cytogénétiques additionnelles (ACA)/Ph1- ou $BCR-ABL1$ > 0,1 %	Perte de RCH ou perte de RCC ou RCyP, perte confirmée de RMM, nouvelles mutations, anomalies cytogénétiques additionnelles (ACA)/Ph1+

Tableau 8 : Définition de la réponse au traitement de 2<sup>ème</sup> ligne après échec de l'Imatinib (34)

L'ESMO a émis depuis une mise à jour des recommandations européennes en 2017. Il s'agit d'une adaptation provisoire des définitions originales de l'ELN résumée dans le Tableau 9.

Etapes importantes	Réponse optimale	Alerte	Echec
<b>Diagnostic</b>	NA	Score : risque élevé ou Anomalies cytogénétiques additionnelles (ACA)/Ph1-	NA
<b>3 mois</b>	Ph1+ < 35 % ou <i>BCR-ABL1</i> ≤ 10 %	Ph1+ = 36 - 95 % ou <i>BCR-ABL1</i> > 10 %	Absence de RHC ou Ph1+ > 90 %
<b>6 mois</b>	Ph1+ = 0 % ou <i>BCR-ABL1</i> < 1 %	Ph1+ = 1 - 65 % ou <i>BCR-ABL1</i> = 1% - 10%	Ph1+ > 35 % ou <i>BCR-ABL1</i> > 10 %
<b>12 mois</b>	<i>BCR-ABL1</i> < 0,1 %	<i>BCR-ABL1</i> = 0,1 – 1 %	Ph1+ ≥ 1 % ou <i>BCR-ABL1</i> > 1 %
<b>≥ 18 mois</b>	<i>BCR-ABL1</i> < 0,01 %*	<i>BCR-ABL1</i> = 0,1 - 1 %	NA
<b>A tout moment</b>	NA	NA	Rechute ou perte de RMM

\* Pour les patients dont l'objectif est une rémission sans traitement

Tableau 9 : Définition de la réponse au traitement par ITK, toutes lignes de traitement confondues

(105)

### 1.7.5 Résistances aux ITK

En dehors des problèmes d'observances et d'interactions médicamenteuses, environ 20 à 25 % des patients n'obtiendront pas les critères optimaux de réponse et 20 à 25 % des patients initialement répondeurs échapperont au traitement dans un 2<sup>ème</sup> temps. Différents mécanismes ont été démontrés parmi lesquels (107) :

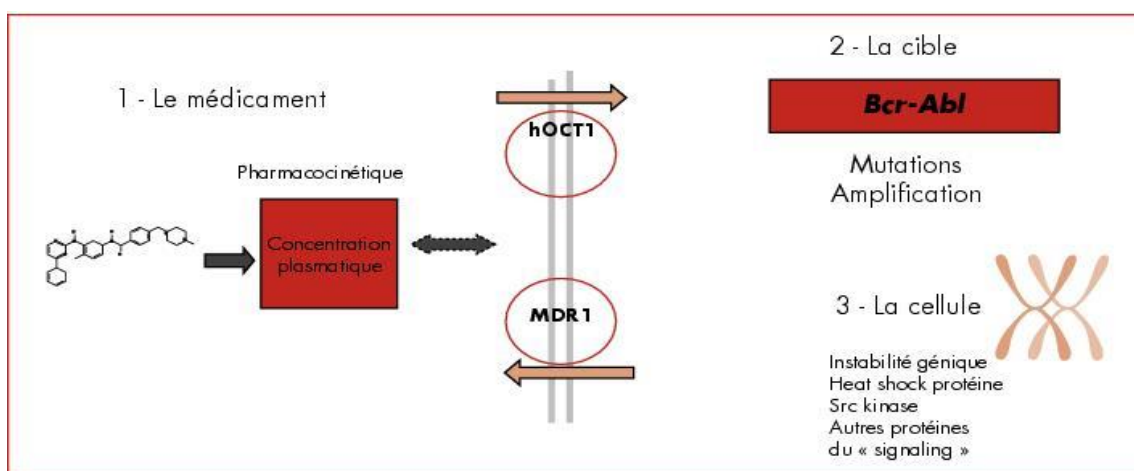


Figure 23 : Principaux mécanismes de résistances à l'Imatinib (111)

- Une modification des acteurs impliqués dans la pharmacocinétique de la molécule :

L'absorption gastro-intestinale, la distribution et l'excrétion des ITK sont dépendantes de la pénétration et/ou de l'efflux des ITK à l'intérieur ou à l'extérieur des cellules *via* les transporteurs membranaires.

Parmi les transporteurs membranaires d'efflux, la famille la plus largement étudiée est celle des transporteurs à *ATP binding cassette* (ABC) qui comprend la glycoprotéine P (P-gP ou ABCB1) produit du gène *MDR1*, l'ABCG2 ou BCRP (*breast cancer-resistance protein*) et les transporteurs MRPs (*Multidrug Resistance Associated Proteins*). Le transporteur actif de cations organiques hOCT1 permet quant à lui l'entrée de l'Imatinib dans les cellules. La concentration plasmatique en Imatinib, qui a été associée à un taux de RMM à 1 an plus

élevé chez les patients présentant des concentrations plasmatiques  $\geq 1000$  ng/mL, résulte en partie du fonctionnement de ces pompes. Certaines études ont ainsi retrouvé que les patients non répondeurs présentaient une expression initiale de l'hOCT1 plus faible pouvant rendre l'obtention des concentrations intracellulaires d'Imatinib non adéquates et ne permettant pas l'obtention des réponses cytogénétiques (112)(113).

De façon similaire, l'implication des transporteurs d'efflux dans la résistance à l'Imatinib est parfois controversée mais certains polymorphismes du gène *MDR1* entraînant des modifications d'expression de la P-gP ont également été associés à une résistance (114). Le polymorphisme C1236T notamment pourrait être un facteur de risque de réponse clinique non optimale à l'Imatinib (115).

- Modification de la cellule leucémique (voies de transduction du signal) :

L'activité tyrosine kinase dans la cellule leucémique n'étant pas portée uniquement par la protéine BCR-ABL1, d'autres tyrosines kinases impliquées dans la transduction du signal peuvent prendre le relais de BCR-ABL1. Les protéines de la famille des Src kinases pourraient participer à la résistance des ITK (116).

- Modification de la cible oncogénique *BCR-ABL1* :

La résistance aux ITK peut être liée à une modification de la cible, pouvant être expliquée par des phénomènes d'amplification génique du gène *BCR-ABL1* lui-même ou la survenue de mutation dans le domaine TK d'*ABL1* (117).

De nombreuses mutations du domaine tyrosine kinase ont été mises en évidence (Figure 24) (107). Elles peuvent être classées en quatre types : celles touchant la boucle P, celles touchant la boucle d'activation, celles modifiant la structure de la protéine tyrosine kinase et celles modifiant le site de liaison de l'ITK.

L'apparition de ces mutations a permis le développement des ITK de deuxième et de troisième génération, récupérant ainsi une activité. Cependant, la mutation T315I confère une résistance à l'ensemble des ITK excepté le Ponatinib. Cette mutation, remplaçant une

thréonine en position 315 par une isoleucine plus volumineuse, provoque un encombrement stérique empêchant l'accès au site de fixation de l'ATP pour les ITK et supprimant la liaison hydrogène normalement présente entre l'ITK et la thréonine. Le Ponatinib conserve son inhibition compétitive avec l'ATP par la formation de liaisons de Van der Waals avec l'isoleucine grâce à un groupement éthynyl qu'il lui a été ajouté.

Mutations		Mutations		Mutations	
A217P		L298V		V379I	
Y232H		V299L	W	A380T	W
M237V		F311L/I/V/Y		F382L	W
I242T		T315A	H	L384M	
M244V		T315I	H	L387M/F/V	
L248V	W	F317L/V/I/C	W	M388L	
G250A/E/V/R		L324Q		Y393C	
Q252E/H/R		Y342H		H396P/R/A	
Y253F/H	W	M343T		A397P	
E255K/V		A344V		S417F/Y	
E258D		A350V		I418S/V	
W261L		M351T/V		A433T	
L273M		E355D/G/A		S438C	
E275K/Q		F359V/I/C/L		P441L	
D276G		D363Y		E450K/G/A/V	
T277A		L364I		E453G/K/V/Q	
E279K		A365V		E459K/V/G/Q	
V280A		A366G		M472I	
V289A/I	W	L370P	W	P480L	
E292V/Q		V371A		F486S	
I293V		E373K		E507G	
		H375Y		G514S	

Figure 24 : Mutations du domaine tyrosine kinase de BCR-AB1L (21). Les mutations en rouges représentent les mutations les plus fréquentes, W et H correspondent respectivement les acides aminés impliqués dans des liaisons de van der Waals et des ponts hydrogènes

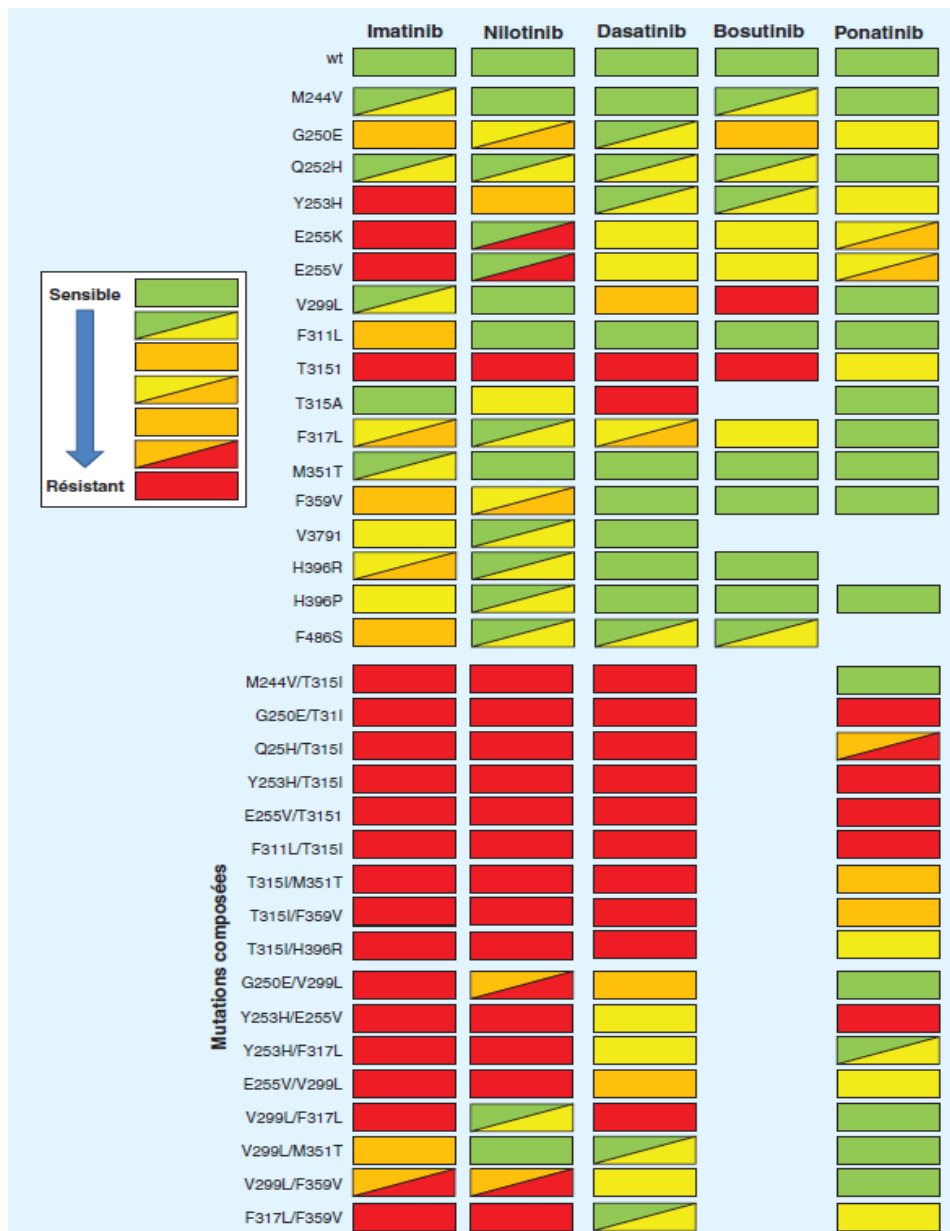


Figure 25 : Activités des ITK sur les principales mutations de BCR-ABL1. Le code couleur est basé sur le coefficient de multiplication des IC50 (non muté ou wt = 1) (21)

La méthode de référence pour la recherche des mutations du domaine TK d'ABL1 est le séquençage de la région génique d'ABL1 codant le domaine TK d'ABL1 (exon 4 - 10) par technique Sanger. Le séquençage génétique de Sanger est une technique de routine permettant de déterminer l'ordre des quatre nucléotides dans un brin d'ADN (118). On parle de stratégie « gène par gène » car cette méthode permet de séquencer un gène ou un

groupe de gènes préalablement défini que l'on va ensuite amplifier par une technique PCR. Cette technique utilise une enzyme appelée « ADN polymérase » capable de synthétiser un brin d'ADN complémentaire (ADNc) à partir d'un brin matrice en incorporant de nouvelles bases de nucléotides. Aux nucléotides ou désoxyribonucléotides (dNTP : désoxyNucléotide TriPhosphate) utilisés pour la synthèse d'ADN, on utilise dans la méthode Sanger des nucléotides modifiés auxquels un groupement OH a été retiré à l'extrémité 3' afin de bloquer la suite de la synthèse du brin d'ADN après ce nucléotide et auxquels un fluorophore a été ajouté. Ce sont les didésoxyribonucléotides (ddNTP). L'utilisation des ddNTP permet d'obtenir un ensemble de fragments d'ADN de différentes tailles, correspondant aux emplacements d'un nucléotide donné. Afin de révéler la séquence, les fragments seront séparés selon leur taille à l'aide d'une électrophorèse sur gel soumise à un courant électrique. Ainsi, la couleur de la bande, dû au fluorochrome, indique la base située à l'extrémité du fragment d'ADN (Figure 26).

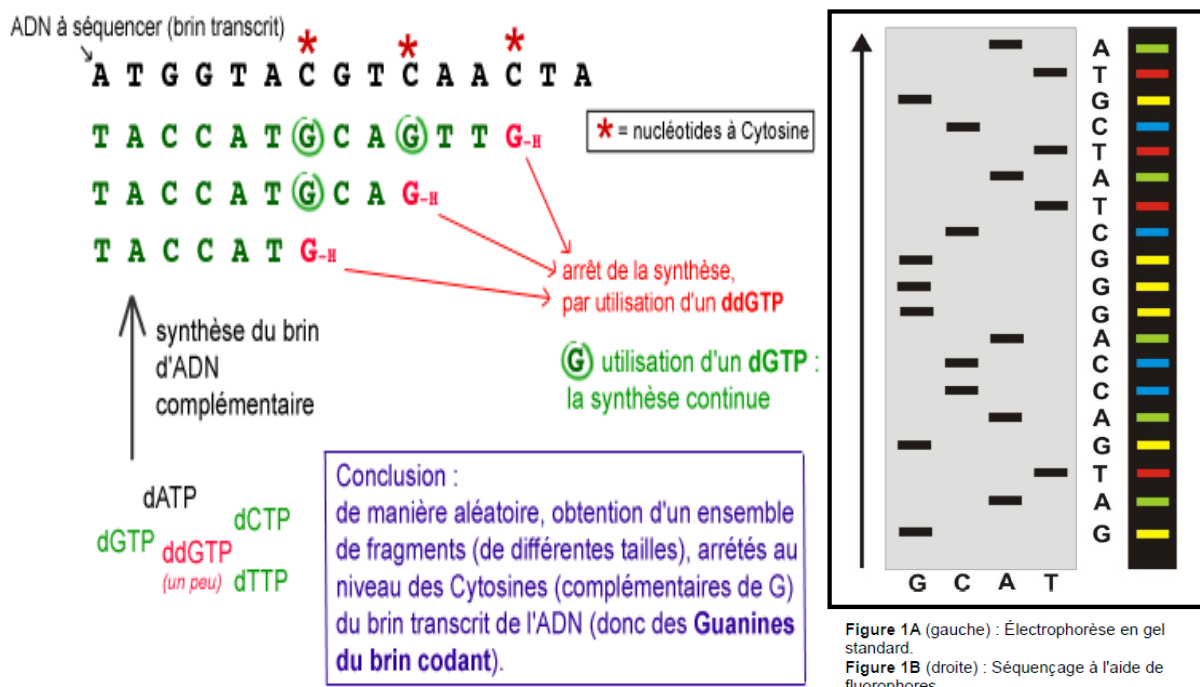


Figure 26 : Utilisation d'un didésoxyribonucléotide, le ddGTP, dans le séquençage de l'ADN (119) et représentation d'une électrophorèse sur gel (120)

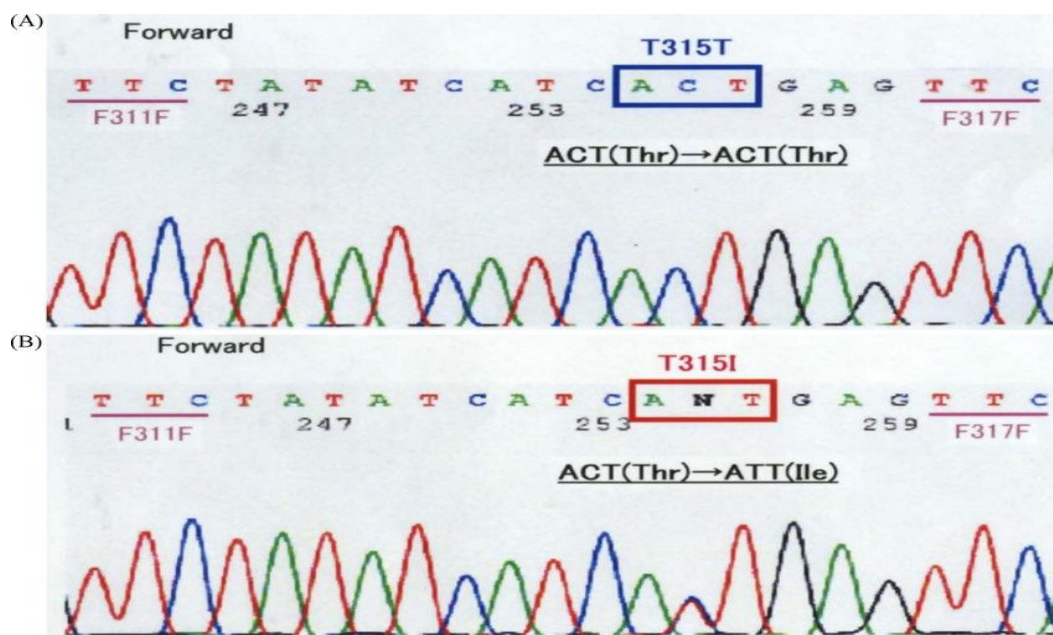


Figure 27 : Séquençage direct du domaine de l'ABL1 kinase. (A) aucune mutation T315 révélée. (B) présence de la mutation T315I (121)

Cependant, la sensibilité du séquençage conventionnel par méthode Sanger peut être un paramètre limitant car elle nécessite un minimum de 15 à 20 % du clone muté (122).

Les progrès de la biologie moléculaire et l'organisation des laboratoires en plateformes permettent d'avoir désormais accès au séquençage dit de nouvelle génération NGS (*Next generation Sequencing*) (Figure 28). Ce séquençage haut débit représente un changement d'échelle par rapport aux méthodes classiques. En effet, d'une cadence de 500 kilobases par jour au début des années 2000, le progrès des technologies de séquençage permet aujourd'hui de séquencer 1 gigabases en quelques heures (123). Ces améliorations sont permises grâce aux avancées informatiques et par l'émergence de nouvelles machines capables de réaliser plusieurs millions de réactions de séquences en parallèle sur des fragments de petites tailles. C'est cette capacité de réactions réalisées en parallèle qui permet à ces nouvelles technologies de séquencer plus rapidement le génome ainsi que de faire diminuer le coût du séquençage.



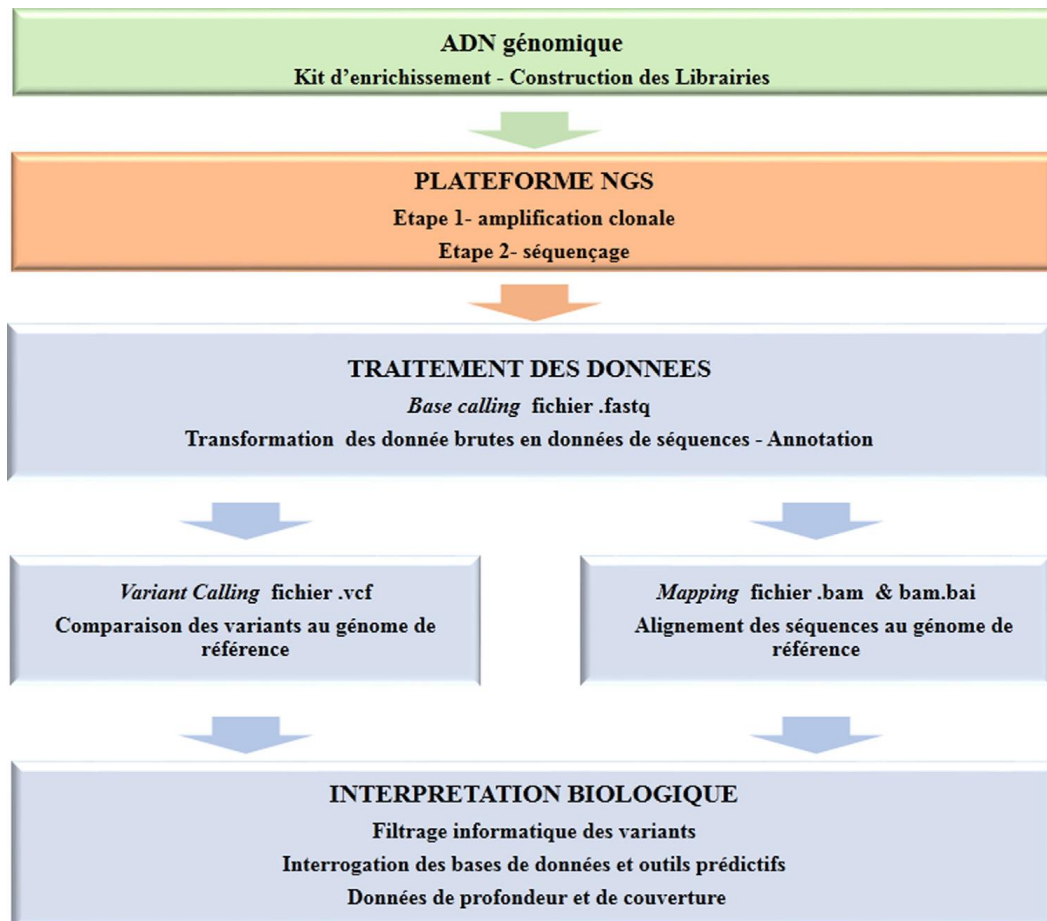


Figure 28 : Résumé des différentes étapes du NGS (123)

La première étape consiste à produire des millions de copies de courts fragments d'ADN correspondant aux régions d'intérêt que l'on souhaite étudier. Cette collection est appelée « librairie ». Deux techniques permettent d'amplifier ces fragments d'intérêt (Figure 29). La première est basée sur le principe de la PCR multiplex (plusieurs fragments amplifiés dans le même tube) puis des adaptateurs spécifiques ainsi qu'un code barre sont ajoutés aux produits de PCR. La deuxième est une technique d'enrichissement basée sur l'hybridation puis la capture d'ADN. L'ADN génomique est coupé en fragments de 200 bases puis associé aux adaptateurs et au code barre. Des sondes spécifiques des régions cibles sont ajoutées pour capturer les fragments ciblés avant une courte étape finale de PCR tandis que les régions non capturées sont éliminées (123).

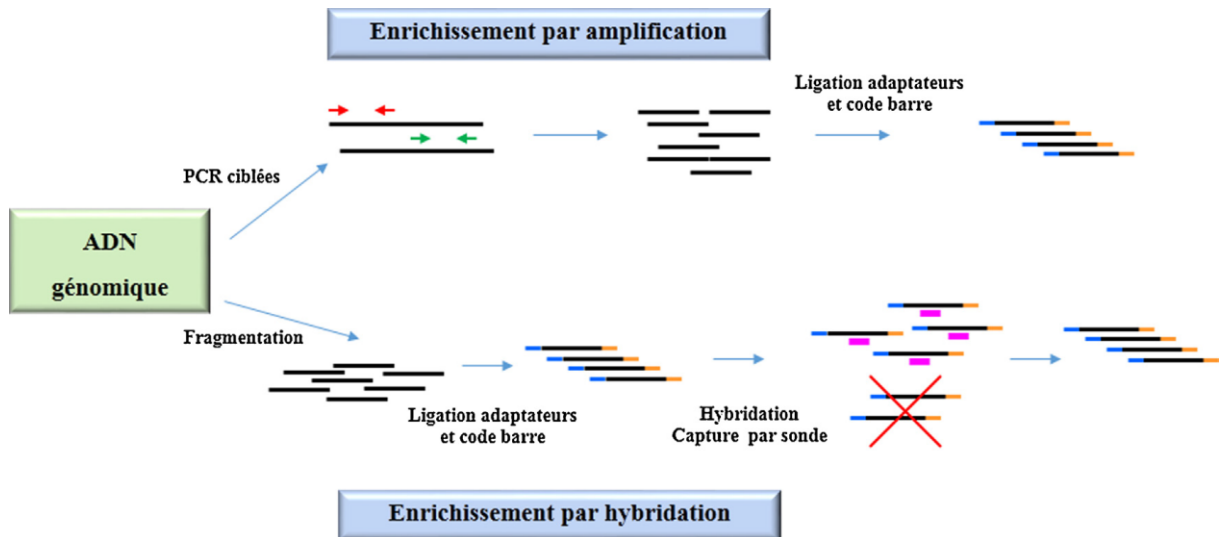


Figure 29 : Méthodes d'enrichissement de l'échantillon en ADN cible (123)

Ensuite, pour séquencer les « librairies », il est nécessaire de réaliser une amplification clonale de chaque fragment ciblé, permettant de multiplier le nombre de copies de chaque molécule d'ADN de la « librairie » (123). Ces fragments clonés sont ensuite séquencés et les données physiques, produites à partir d'un signal lumineux, fluorescent ou d'une variation de potentiel chimique, sont recueillies en temps réel (124).

Afin d'évaluer la qualité des données de séquençage, la « profondeur de séquençage » et la « couverture » sont les deux paramètres fondamentaux devant être pris en compte (125). La « profondeur de séquençage » correspond au nombre de lectures (ou *reads*) obtenues indépendamment pour chaque base ciblée, s'exprimant en nombre de fois (X). Il est recommandé par la Société Européenne de Génétique Humaine (ESHG) d'obtenir une profondeur minimum de 20 X, ce qui signifie que la région d'intérêt a été séquencée 20 fois de manière indépendante (125). La notion de « couverture » correspond au pourcentage de bases effectivement séquencées par rapport au nombre de bases ciblées au départ (123). La qualité globale du séquençage est appréciée par le pourcentage de couverture pour une profondeur minimale fixée ou pour une profondeur moyenne (123).

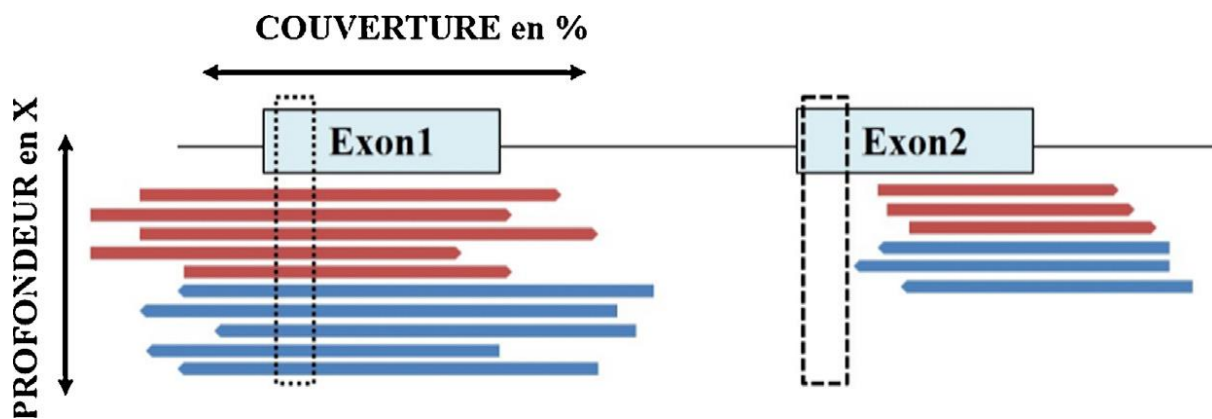


Figure 30 : Couverture et profondeur de séquençage (123)

Sur la figure 30, chaque boîte représente un séquençage indépendant d'une des régions ciblées (exons 1 et 2 ici). Les boîtes rouges sont les lectures dans un sens (sur un brin d'ADN), les boîtes bleues dans l'autre sens (sur l'autre brin), les deux allèles étant séquencés simultanément. La « couverture » (en %) représente le nombre total de bases séquencées par rapport au nombre total de bases ciblées. La « profondeur de lecture » (en X) est le nombre de séquences indépendantes obtenues pour une position donnée. L'exon 1 est couvert à 100 % car la totalité de ses bases ont été lues au moins une fois. La partie encadrée (en pointillés) est couverte à 100 % avec une profondeur de 10 X. A l'inverse, l'exon 2 n'est pas couvert à 100 % (en traitillés). La fin de l'exon 2 est couverte mais à une profondeur de 6 X seulement (123).

Ensuite, un traitement informatique basé sur plusieurs algorithmes (étape appelée *base calling*) permet de convertir les données brutes en données de séquence qui seront alignées sur un génome de référence (étape appelée *mapping*) (123).

Enfin la dernière étape consiste en l'interprétation biologique des données. Les séquences variantes, obtenues lors du « *mapping* » et appelée « *variant calling* », seront classées en fonction de leurs fréquences estimées dans la population générale et de leurs pathogénicités théoriques afin de sélectionner celles potentiellement responsables d'une pathologie (123).

Pour la recherche des mutations du domaine TK d'*ABL1* par NGS comme par Sanger une étape préalable d'amplification par PCR de l'*ABL1* tumoral est nécessaire.

### 1.7.6 Arrêt de traitement

Aujourd'hui, les patients diagnostiqués avec une LMC peuvent bénéficier d'une vie active normale et d'une espérance de vie similaire à la population générale mais la prise de traitements médicamenteux induit de potentiels effets indésirables voir délétères ainsi qu'un coût économique important. Un tiers des patients atteindront au cours de leur suivi une réponse moléculaire profonde stable dans le temps leur offrant la possibilité d'une tentative de stratégie d'arrêt.

#### Etudes sur les arrêts de traitement

Une étude pilote a montré en 2007 la faisabilité d'arrêter l'Imatinib chez des patients en rémission moléculaire profonde depuis plus de 2 ans avec 6 patients sur 12 restant en RMM après 18 mois d'arrêt de l'Imatinib (126). Ensuite, l'intergroupe français de la LMC (Fi-LMC) a initié le protocole STIM (Stop Imatinib) (55). Les critères d'inclusion comprenaient un traitement par Imatinib pendant au moins 3 ans et l'obtention d'un transcrit indétectable stable pendant au moins 2 ans. Après l'arrêt de l'Imatinib, un suivi mensuel du ratio *BCR-ABL1/ABL1* était réalisé durant la première année. L'augmentation d'un log du transcrit de fusion sur 2 points successifs ou la perte de la RMM sur un seul point définissait la rechute moléculaire et induisait la reprise du traitement par Imatinib. Cette étude portait sur 100 patients, dont la moitié avait été préalablement traitée par IFN $\alpha$ . L'étude montra une rechute moléculaire chez 60 % des patients dans les 7 premiers mois essentiellement mais également la conservation d'une réponse moléculaire profonde chez 40 % des patients (Figure 31).

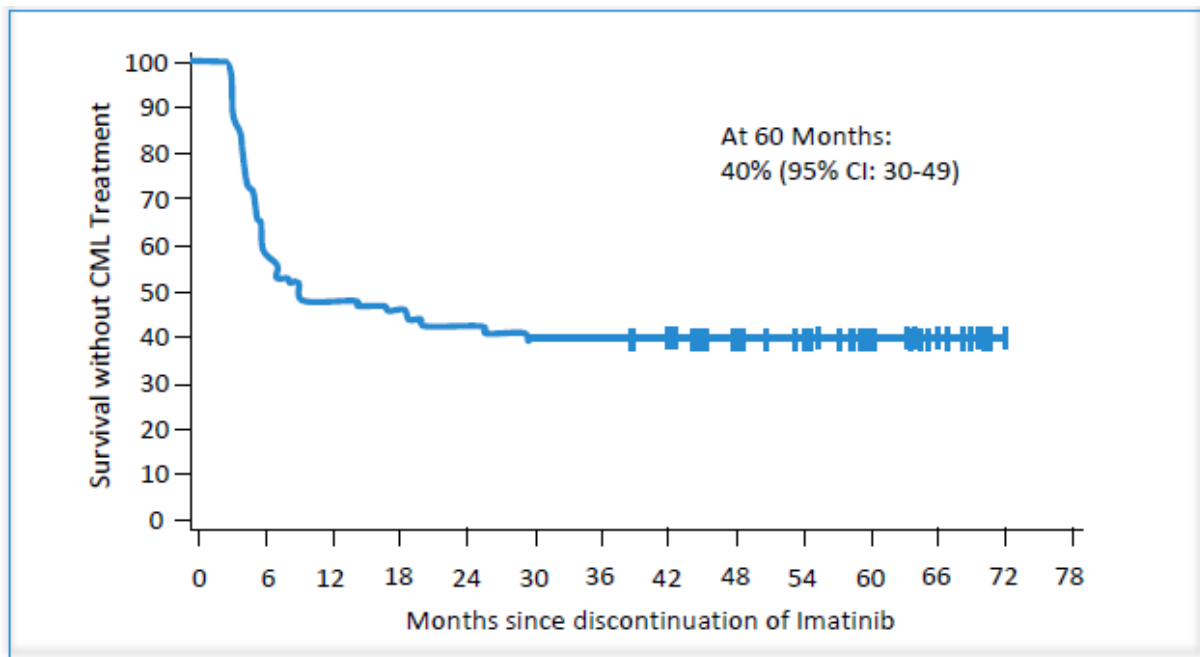


Figure 31 : Résultats obtenus lors de l'essai STIM (109)

Ces essais ont été confirmés en parallèle par l'essai australien TWISTER (127). A la suite de ces résultats encourageants, d'autres études ont été mises en place comme l'essai français STIM2 ou l'essai européen EUROSKI (European Stop Kinase Inhibitor) (128) dont les résultats confirment la possibilité d'arrêter le traitement chez environ 50 % des patients présentant les critères d'éligibilité (Figure 32). Le groupe Fi-LMC a depuis publié des recommandations sur les stratégies d'arrêt (128).

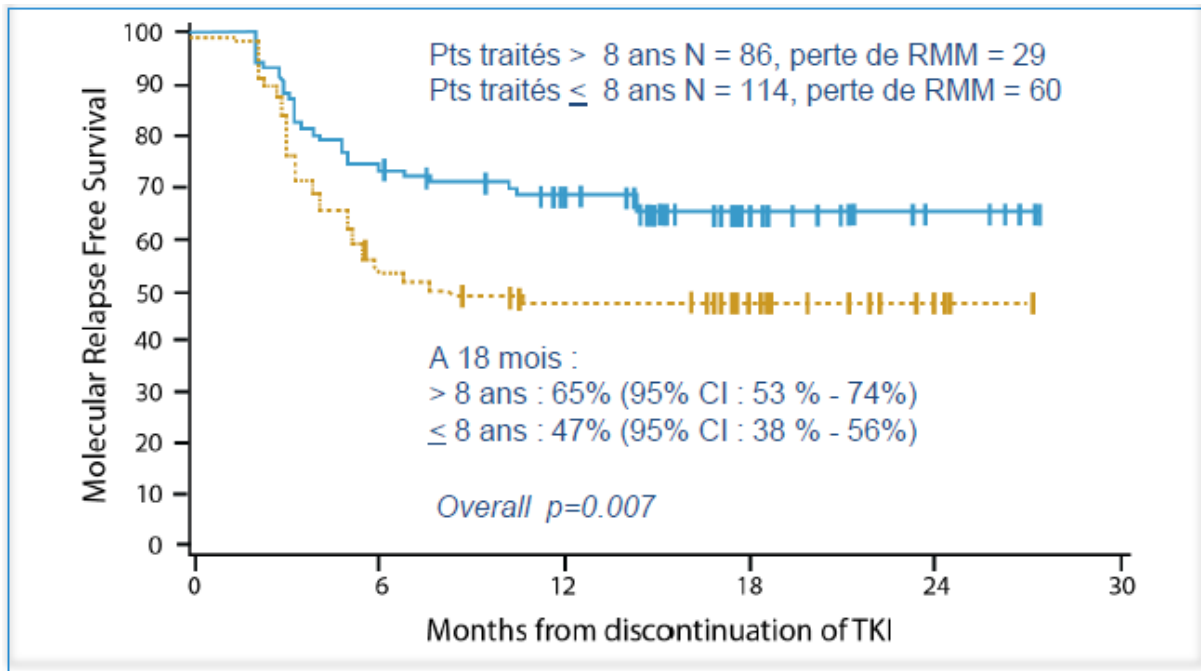


Figure 32 : Résultats obtenus lors de l'essai Euroski, vie sans réévolution moléculaire et durée de traitement (109)

D'autres études sur un possible arrêt de traitement des ITK de seconde génération ont également été mises en place, comme l'étude STOP-2G-TKI (129). Les conditions d'inclusion de cette étude étaient une mise sous ITK de 2<sup>ème</sup> génération (Nilotinib ou Dasatinib) en 1<sup>ère</sup> ou 2<sup>ème</sup> intention avec une réponse moléculaire de 4,5 log (RM<sup>4,5</sup>) ou un transcrit *BCR-ABL1* indétectable depuis au moins 2 ans. Les premiers résultats parus en 2017 montraient des taux de rémission sans traitement à 12, 24 et 48 mois de 59,6 %, 57,4 % et 53,6 % respectivement (Figure 33).

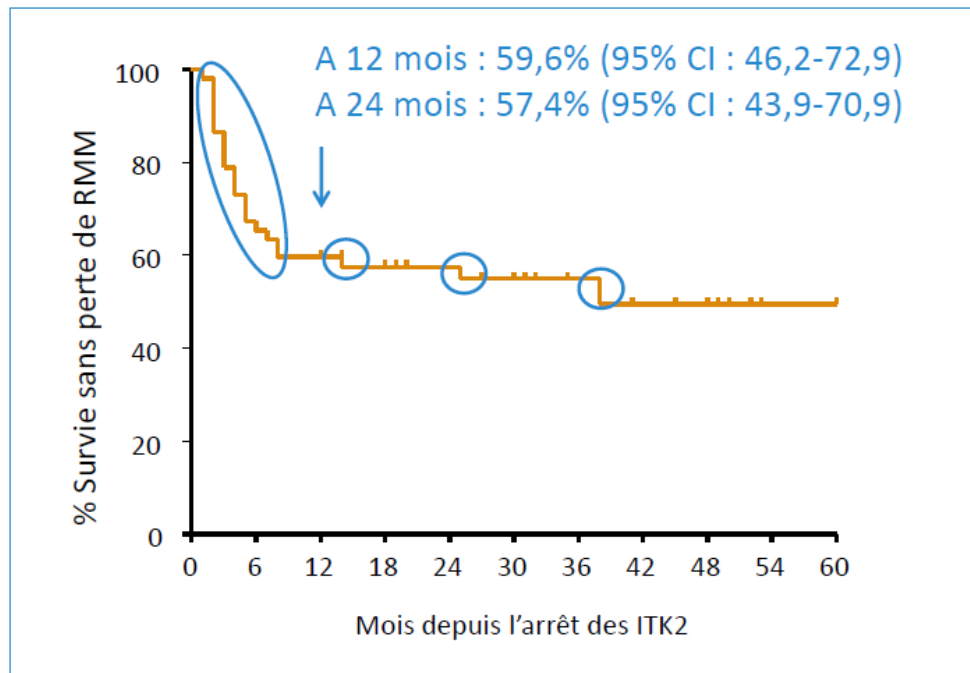


Figure 33 : Essai STOP-ITK2, premiers résultats (109)

### Persistence de cellules souches leucémiques (CSL)

Plusieurs études ont montré la persistance de cellules souches leucémiques (CSL) résiduelles chez des patients traités par ITK en rémissions cytogénétiques et moléculaires profondes (21). Les ITK agissant sur les cellules CD34+, dites matures, ils semblent incapables d'agir sur la fraction quiescente des CSL car ces dernières seraient capables de se libérer de leur dépendance à l'oncoprotéine BCR-ABL1. La persistance à long terme de ces CSL pourrait expliquer les rechutes moléculaires observées chez les patients arrêtant leur traitement par ITK car les ITK auraient un effet antiprolifératif mais non cytotoxique sur les cellules souches primitives de la LMC CD34+ et CD38 - (130).

Cela ouvre la perspective d'association entre un ITK et une molécule agissant davantage sur ce contingent quiescent. Cependant, les molécules à disposition actuellement ne sont pas spécifiques de l'hématopoïèse leucémique et peuvent induire des effets indésirables. Deux médicaments peuvent être cités et font l'objet d'essais cliniques actuellement, l'Interféron- $\alpha$  et la Pioglitazone (cf paragraphe 1.6.3).

La recherche et/ou l'éradication de ces CSL chez les patients traités par ITK au long court et dont la réponse moléculaire profonde est stable depuis quelques années pourrait ainsi permettre un arrêt définitif du traitement en diminuant le risque de rechute.



## Partie II : Analyses des données recueillies au CHU de Bordeaux

### 1 Objectifs

L'objectif de ce travail est d'analyser les données des patients atteints de LMC pédiatriques au CHU de Bordeaux afin d'illustrer le bénéfice engendré par l'arrivée des ITK sur le marché, de comparer les données observées avec celles publiées dans la littérature et d'identifier d'éventuels paramètres permettant de prédire la réponse au traitement.

Une moins bonne réponse au traitement par ITK étant en effet généralement rapportée dans cette tranche d'âge, nous avons voulu par ailleurs éliminer un mécanisme éventuel de résistance par la survenue de mutation dans le domaine TK d'*ABL1* grâce à un outil plus sensible que la technique actuelle de référence, le Sanger.

### 2 Matériel et méthode

- Patients

L'identification des patients a été réalisée à partir de la base ACCESS du laboratoire d'hématologie du CHU de Bordeaux et des fiches de suivi de biologie moléculaire des patients LMC. Les critères de sélection étaient un âge de diagnostic < 18 ans et la présence d'un chromosome Philadelphie détecté par analyse cytogénétique (caryotype conventionnel ou FISH) ou d'un transcrit *BCR-ABL1* en biologie moléculaire. Seuls les patients diagnostiqués en phase chronique ou accélérée ont été considérés. Les patients en phase blastique ont en effet été traités selon un traitement de LAL/LAM sachant qu'il est par ailleurs difficile de différencier une LA Ph1+ de novo d'une LMC acutisée d'emblée. La phase de la maladie a été

déterminée conformément aux recommandations de l'ELN telles que rapportées précédemment.

Nous avons comparé la liste des patients extraits avec celle recensée au sein du service clinique d'hématologie oncologie de l'hôpital des enfants et celle analysée par le Dr Anne Notz-Carrere lors de sa thèse d'exercice en 1996 (131).

- Données cliniques et biologiques.

Nous avons ensuite recherché les données cliniques et biologiques de ces patients au diagnostic puis lors du suivi de la maladie à l'aide des dossiers patients papiers pour les plus anciens et informatiques pour les plus récents en utilisant le logiciel DxCare® pour la gestion des données patients du CHU de Bordeaux, Synergy® et Glims® pour le système informatique des laboratoires du CHU et Access® pour le laboratoire d'hématologie de l'Hôpital Haut-Lévêque.

Pour les patients les plus anciens pour lesquels il n'a pas été possible de récupérer les dossiers complets papiers ou informatiques, nous avons complété les données manquantes en se basant sur les données présentes dans la thèse du Dr Notz-Carrere.

Concernant l'évaluation du débord costal en centimètre (cm), ce paramètre est difficilement évaluable chez les enfants et l'estimation du débord costal était parfois indiquée en nombre de travers de doigt dans les comptes rendus. Afin d'harmoniser nos données, nous avons estimé la mesure d'un travers de doigt à 1,5 cm (132).

Pour le calcul des différents scores pronostiques, nous avons utilisé les formules de calcul décrites plus haut (cf. paragraphe 1.5) et vérifié nos résultats avec ceux obtenus directement sur les sites de l'ELN (133) et de Blood (134).

- Caryotype

Les caryotypes ont tous été réalisés au laboratoire d'hématologie de l'Hôpital Haut-Lévêque en suivant les procédures standards (mise en culture, synchronisation, blocage des cellules en métaphases, choc hypotonique, fixation et étalement). La dénaturation réalisée en 1<sup>ère</sup> intention au laboratoire est une dénaturation par méthode thermique (bandes R). La formule chromosomique est établie selon la nomenclature internationale (ISCN 2009 : *International System for Human Nomenclature 2009*). Les résultats comprenaient l'analyse d'au moins 20 métaphases. Une anomalie a été considérée clonale si 2 métaphases étaient porteuses de la même anomalie en cas de remaniement de structure ou de gain de chromosome, ou 3 métaphases en cas de perte.

- RT-qPCR

L'ARN a été extrait à partir des leucocytes totaux circulants soit par méthode TRizol® soit par extraction automatique Maxwell® pour les plus récents.

La quantification des niveaux de transcrits *BCR-ABL1* a ensuite été réalisée par RT-qPCR selon le protocole *Europe against cancer* (EAC) en utilisant *ABL1* comme gène de contrôle interne (135). Un facteur de conversion réévalué régulièrement a été appliqué afin de corriger les résultats locaux et d'aligner ces derniers sur une échelle internationale (% *BCR-ABL1/ABL1<sup>SI</sup>*). L'évaluation des réponses moléculaires a été réalisée en suivant les recommandations de l'ELN (136).

Pour le calcul de la décroissance du transcrit de fusion *BCR-ABL1* entre les valeurs obtenues à 3 mois (M3) et 6 mois (M6), nous avons utilisé la formule suivante, issue de (137) :

% décroissance =  $(1 - M6/M3) * 100$  où M3 et M6 correspondent aux taux de *BCR-ABL1/ABL1* (en %) obtenu à M3 et M6 respectivement.

- Séquençage

La recherche de mutation du domaine TK d'*ABL1* a été réalisée sur l'ADNc. Une première PCR visant à amplifier l'*ABL1* tumoral, a été réalisée, parfois complétée par une deuxième PCR spécifique du domaine TK d'*ABL1* en cas de faible taux de transcrite *BCR-ABL1* (absence de bande sur gel d'agarose après migration du produit de la première PCR). Les amorces utilisées sont celles décrites dans Branford et al. (138).

Le séquençage Sanger ou NGS des produits de PCR a été réalisé après une étape de purification. Le séquençage Sanger a été réalisé sur le séquenceur ABI3130 et le séquençage NGS sur le séquenceur S5TM (Thermo Fisher). Pour la préparation de la librairie en NGS, le domaine TK d'*ABL1* est ciblé par 30 amplicons d'une taille comprise entre 95 et 140 Pb répartis dans 2 pools différents (panel custom « white gloves » de 3,9 kb couvrant les exons 2 à 11). Les amplicons barcodés et identifiés ont ensuite été amplifiés par une PCR en émulsion sur le Ion Chef TM® et le séquençage des fragments d'intérêt a été réalisé après chargement de ces derniers sur des puces S530. L'analyse bio-informatique a été réalisée grâce aux logiciels Torrent® (Torrent Suite) et des outils d'annotation personnalisés.

- Analyse descriptive

Compte tenu du faible nombre de patients, seule une analyse descriptive des patients a été réalisée. Afin de pouvoir comparer nos patients aisément, nous avons séparé nos patients en fonction de la prise ou non d'ITK. Dans le groupe des patients diagnostiqués avant l'ère des ITK, les patients ont été séparés selon s'ils ont été greffés ou non. Pour les patients diagnostiqués après l'ère des ITK, nous avons considéré comme patients dits « répondeurs » les patients ayant répondu favorablement à une seule ligne de traitement. Cette unique ligne de traitement par ITK étant de l'Imatinib. Les patients dits « non répondeurs ou intolérants » sont les patients n'ayant pas répondu au premier traitement d'ITK instauré ou ayant présenté une intolérance aboutissant alors à un changement de traitement de même classe voire à une allogreffe de CSH en dernière ligne.

### 3 Résultats

14 enfants ont été diagnostiqués pour une LMC en phase chronique entre 1993 et 2018, avant l'âge de 18 ans au CHU de Bordeaux. 6 enfants avant l'ère des ITK et 8 enfants après que l'Imatinib ait obtenu son AMM.

Les caractéristiques cliniques et biologiques au diagnostic, le principal traitement reçu et le statut vivant ou décédé de l'ensemble des enfants sont résumés dans les tableaux 10 et 11. En annexe 1 sont présentés les résultats des différents scores calculés pour nos patients.

L'ensemble des données sera détaillé en fonction de l'ère et de la réponse au traitement dans les parties suivantes.

Patients	sexe	âge au diagnostic (ans)	caryotype	transcrit bcr-abl1	Débord costal (cm)	GB (G/L)	Hb (g/dL)	Plaquettes (G/L)	Sokal modifié (< 45 ans)	Risque Sokal modifié	Traitement	Greffe	Décès
Patient 1	H	9,2	46,XY,t(9;22)(q34;q11) [20]	b3a2	0	18,5	13,1	475	0,76	1	IFN $\alpha$	NON	NON
Patient 2	H	15,6	46,XY,t(9;22)(q34;q11) [30]	b3a2	8	504	8,8	334	1,28	3	IFN $\alpha$	OUI	NON
Patient 3	F	11,6	46,XY,t(9;22)(q34;q11) [36]	b3a2	5	20	12,5	2560	2,59	3	IFN $\alpha$	OUI	NON
Patient 4	H	1,9	46,XY [30] Ph1 masqué	b2a2	0	125	8,3	325	0,92	2	IFN $\alpha$	OUI	OUI
Patient 5	F	13,7	46,XY,t(9;22)(q34;q11) [30]	b3a2	10	500	6,2	898	1,37	3	IFN $\alpha$ + Ara-C	OUI	NON
Patient 6	H	14,08	46,XY,t(9;22)(q34;q11) [29] /46,XY [1]	b2a2 + b3a2	15	310	8,7	913	1,82	3	ITK (hors AMM)	OUI	NON
Médiane Patients pré ITK	4 H et 2 F	12,7 [1,9 – 15,6]	1/6 non classique	1 b2a2 4 b3a2 et 1 b2a2 + b3a2	6,5 [0 – 15]	217,5 [18,5 – 504]	8,8 [6,2 – 13,1]	686,5 [325 – 2560]	1,3	3,0	-	5/6 greffés	1/6 décès

Tableau 10 : Récapitulatif des patients « pré-ITK »

Patients	sexe	âge au diagnostic (ans)	caryotype	transcrit bcr-abl1	Débord costal (cm)	GB (G/L)	Hb (g/dL)	Plaquettes (G/L)	Sokal modifié (< 45 ans)	Risque Sokal modifié	Traitement	Greffe	Décès
Patient 7	H	11,5	46,XY [30] Ph1 masqué	b2a2	8	416	7,7	676	1,5	2	ITK	NON	NON
Patient 8	F	11,8	46,XX,t(9;22)(q34;q11) [20]	b2a2	3	196,1	10,7	1021	0,85	2	ITK	NON	NON
Patient 9	F	11,5	46,XX,t(9;22)(q34;q11) [20]	b2a2	10	575	5,4	529	1,46	3	ITK	NON	NON
Patient 10	F	2,3	46,XX,t(9;22)(q34;q11) [20]	b3a2	3	56	8,7	1367	1,13	3	ITK	NON	NON
Patient 11	F	12,9	46,XX,inv(3)(p21;p12)?c,t(9;22)(q34;q11) [20]	b2a2	0	54,8	12,5	144	0,56	1	ITK	OUI	OUI
Patient 12	F	3,1	46,XX,t(9;22)(q34;q11) [20]	b3a2	5	54,1	10,7	218	0,74	1	ITK	OUI	NON
Patient 13	H	14,5	46,XY,t(9;22)(q34;q11) [25]	b3a2	6	518,3	7	327	1,51	3	ITK	OUI	NON
Patient 14	H	15,8	46,XY,t(9;22)(q34;q11) [20]	b2a2	12	220,6	6,9	192	1,4	2	ITK	NON	NON
Médiane Patients ITK	3 H et 5 F	11,7 [2,3 – 15,8]	2/8 non classique	5 b2a2 et 3 b3a2	5,5 [0 – 12]	208,4 [54,1 – 575]	8,2 [5,4 – 12,5]	428 [144 – 1367]	1,3	2,0	-	3/8 greffés	1/8 décès
Médiane ensemble patients	7 H et 7 F	11,7 [1,9 – 15,8]	3/14 non classique	6 b2a2 7 b3a2 et 1 b2a2 + b3a2	5,5 [0 – 15]	208,4 [18,5 – 575]	8,7 [5,4 – 13,1]	502 [144 – 2560]	1,3	2,5	-	8/14 greffés	2/14 décès

Tableau 11 : Récapitulatif des patients « ITK » et de l'ensemble des patients étudiés

### 3.1 Avant l'ère des ITK

Entre 1993 et 2003, 6 enfants ont été diagnostiqués pour une LMC en phase chronique. La découverte de la maladie était fortuite pour 3 enfants (50 %) qui consultaient initialement pour des infections ORL à répétition. Pour les 3 autres enfants, la symptomatologie était marquée par une altération de l'état général (AEG) avec une asthénie associée à une perte de poids et une symptomatologie digestive avec des douleurs abdominales associées à des dysphagies.

Parmi ces 6 enfants, 4 sont de sexe masculin et deux de sexe féminin (sexe ratio de 2). L'âge médian au diagnostic est de 12,7 ans [1,9 – 15,6].

Concernant le caryotype, 4 patients sur 6 présentaient un caryotype classique de LMC avec une translocation t(9;22)(q34;q11) dans l'ensemble des mitoses analysées, un patient présentait une translocation t(9;22)(q34;q11) dans 29 mitoses sur les 30 analysées tandis qu'un patient, le plus jeune au diagnostic (1,9 ans) présentait un chromosome Ph1 masqué.

La majorité des transcrits de fusion sont de type b3a2, présents chez 4 patients sur 6 tandis qu'un seul patient est porteur d'un transcrit de fusion b2a2 et un seul est porteur du double transcrit b2a2 + b3a2.

#### 3.1.1 Patient non-greffé

Parmi nos 5 patients, un seul n'est pas allé à l'allogreffe et est considéré comme répondeur au traitement.

	sexe	Age au diagnostic	type de transcrit	débord costal (cm)	GB (G/L)	Hb (g/dL)	plaquettes (G/L)	% PNB	% PNE	% myélémie	% blastes
<b>Patient 1</b>	H	9,2	b3a2	0	18,5	13,1	475	2	3	7	0

Tableau 12 : Données cliniques et biologiques du patient « pré-ITK répondeur »



Ce patient, de sexe masculin, âgé de 9,2 ans a été diagnostiqué de manière fortuite (1993) suite à une consultation pour une bronchite trainante depuis 3 mois. Il présentait une clinique frustrée avec une absence d'organomégalie et au niveau biologique, un taux de globule blanc (GB) de 18,5 G/L, peu élevé comparativement à l'ensemble des données de cette population, un pourcentage peu élevé de myélémie (7 %), de PNB (2 %) et de PNE (3 %). Initialement traité par IFN $\alpha$  à la dose de 2,5 millions d'unité/m<sup>2</sup>/jour, la dose a été augmentée jusqu'à 5 millions d'unité/m<sup>2</sup>/jour. Le traitement a ensuite été interrompu 8 ans après le diagnostic. La RHC a été obtenue à 2 mois. Une première RCC est obtenue à 13 mois mais la réapparition du chromosome Ph1 sur 6% des métaphases à 15 mois et 9 % à 22 mois nécessitera l'augmentation des doses d'IFN $\alpha$  pour une obtention définitive d'une RCC à 36 mois. La détection du transcrite de fusion *BCR-ABL1* étant réalisée initialement par RT-PCR qualitative, les données recueillies sur une quantification de ce transcrite débute à l'année 2001. On observe un maintien d'une RMM avant et après l'interruption du traitement mais avec un transcrite toujours détectable (Figure 34).

La dernière consultation de ce patient date de novembre 2018.

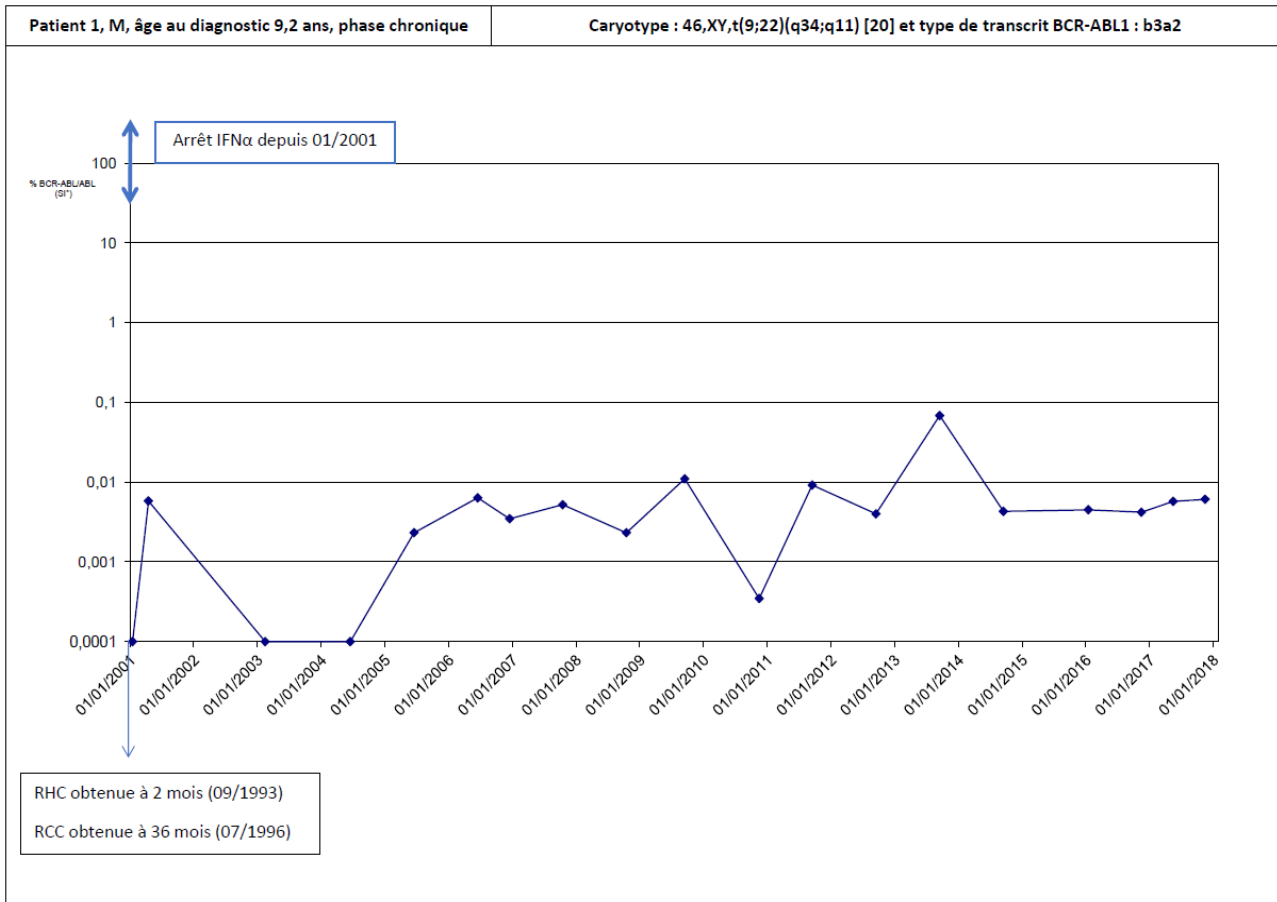


Figure 34 : résumé patient 1, patient « pré-ITK » non-greffé

### 3.1.2 Patients greffés

Concernant nos 5 autres patients diagnostiqués avant 2004, l'âge médian est de 13,7 ans [1,9 – 15,6] avec un sexe ratio de 1,5 (3 garçons et 3 filles).

	sexe	Age au diagnostic	type de transcrit	débord costal (cm)	GB (G/L)	Hb (g/dL)	plaquettes (G/L)	% PNB	% PNE	% myélémie	% blastes
Patient 2	H	15,6	b3a2	8	504	8,8	334	8	9	36	0
Patient 3	F	11,6	b3a2	5	20	12,5	2560	3	1	4	1
Patient 4	H	1,9	b2a2	0	125	8,3	325	6	3	20	0
Patient 5	F	13,7	b3a2	10	500	6,2	898	4	4	44	3
Patient 6	H	14,1	b2a2 + b3a2	15	310	8,7	913	6	2	47	5
Médiane	3H et 2F	13,7 [1,9 – 15,6]	1/5 b2a2 3/5 b3a2 1/5 b2a2 + b3a2	8 [0 – 15]	310 [20 – 504]	8,7 [6,2 – 12,5]	898 [325 – 2560]	6 [3 – 8]	3 [1- 9]	36 [4 – 47]	1 [0 – 5]

Tableau 13 : Données cliniques et biologiques des patients « pré-ITK » greffés (sexe : 1 = Homme et 2 = Femme)

3 patients sur 5 expriment lors du diagnostic un transcrit de fusion *BCR-ABL1* de type b3a2. Le patient le plus jeune (1,9 ans) est celui exprimant le transcrit b2a2 tandis qu'un patient présente un double transcrit b2a2 + b3a2. Il présente également au caryotype un Ph1 masqué et est le seul à ne pas présenter de splénomégalie.

Une hyperleucocytose majeure est observée chez 2 patients avec un taux de leucocytes  $\geq 500$  G/L associée à une augmentation importante des PNB, PNE et de la myélémie. On retrouve également une thrombocytose importante chez 2 patients, avec un taux plaquettaire  $\geq 1000$  G/L. Une anémie est également présente chez 4 patients sur 5.

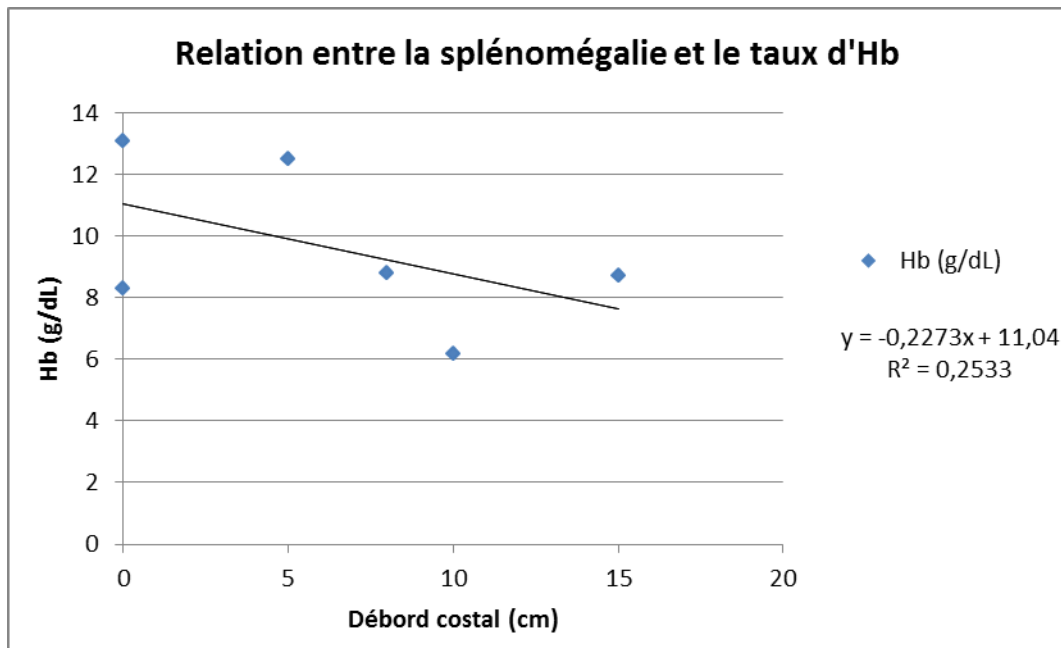


Figure 35 : Relation entre la splénomégalie et l'anémie chez les patients « pré-ITK »

La présence d'une splénomégalie tend à être corrélée avec la présence d'une anémie et à sa profondeur (Figure 35) comme l'importance de la leucocytose (Figure 36). Il ne semble pas en revanche exister de corrélation entre la splénomégalie et le taux plaquettaire.

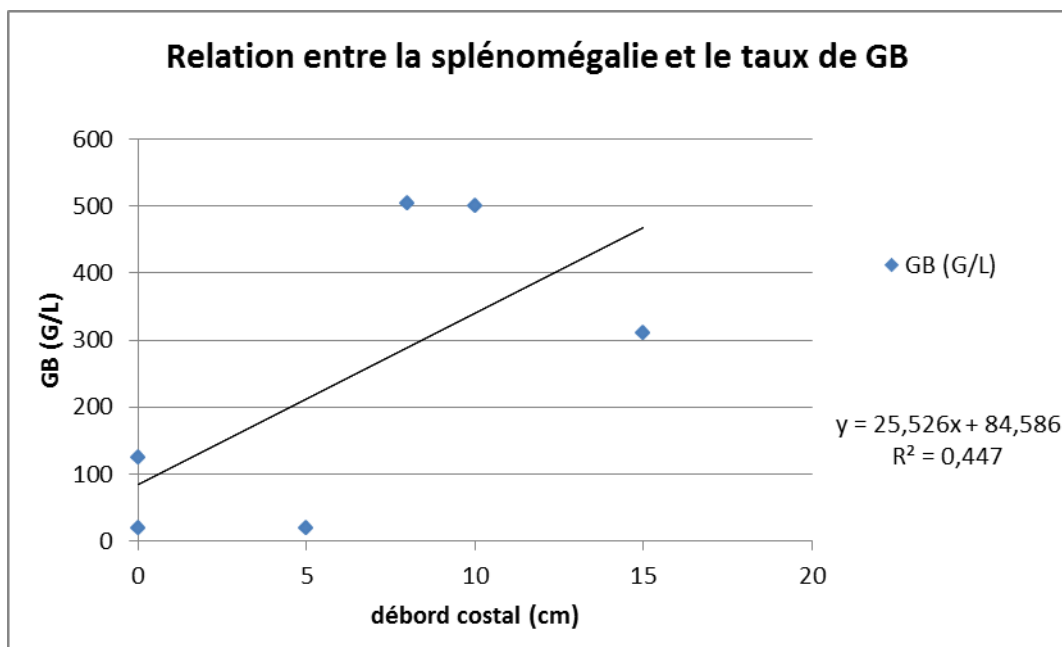


Figure 36 : Relation entre la splénomégalie et la leucocytose chez les patients « pré-ITK »

Concernant le patient 2, de sexe masculin, âgé de 15,6 ans lors du diagnostic (1995), la consultation initiale était pour une AEG avec perte de poids et asthénie associée à une symptomatologie digestive composée de douleurs abdominales et de dysphagie. Une splénomégalie évaluée à 8 cm sous le débord costal est retrouvée à l'examen clinique et la NFS montre une hyperleucocytose majeure (504 G/L) associée à une anémie mais sans thrombocytose. Le traitement débute par la réalisation de 4 cytophères puis par un traitement par INF $\alpha$  à la dose de 4 puis 4,5 millions d'unités/m<sup>2</sup>/jour, associée à de l'Hydroxyurée pendant le premier mois en raison de l'importance de la masse tumorale. La RHC est obtenue à 8 mois. La réponse cytogénétique est mineure (82 % de cellules Ph1+) à 8 mois et n'est pas contrôlée ensuite. Une allogreffe de CSH géno-identique (frère) est réalisée à 10 mois du diagnostic. Le conditionnement de cette greffe est composé de MISULBAN® + ENDOXAN®. On note l'absence de GVH chronique. Après la greffe, nous n'avons pas retrouvé la date d'obtention de la RHC et de la RCC. Au niveau de la biologie moléculaire, un transcrite de fusion *BCR-ABL1* est toujours détectable mais la RM est relativement stable dans le temps (Figure 37), ne témoignant pas d'une évolution de la maladie mais nécessitant une surveillance annuelle. La dernière consultation de ce patient date d'octobre 2018.

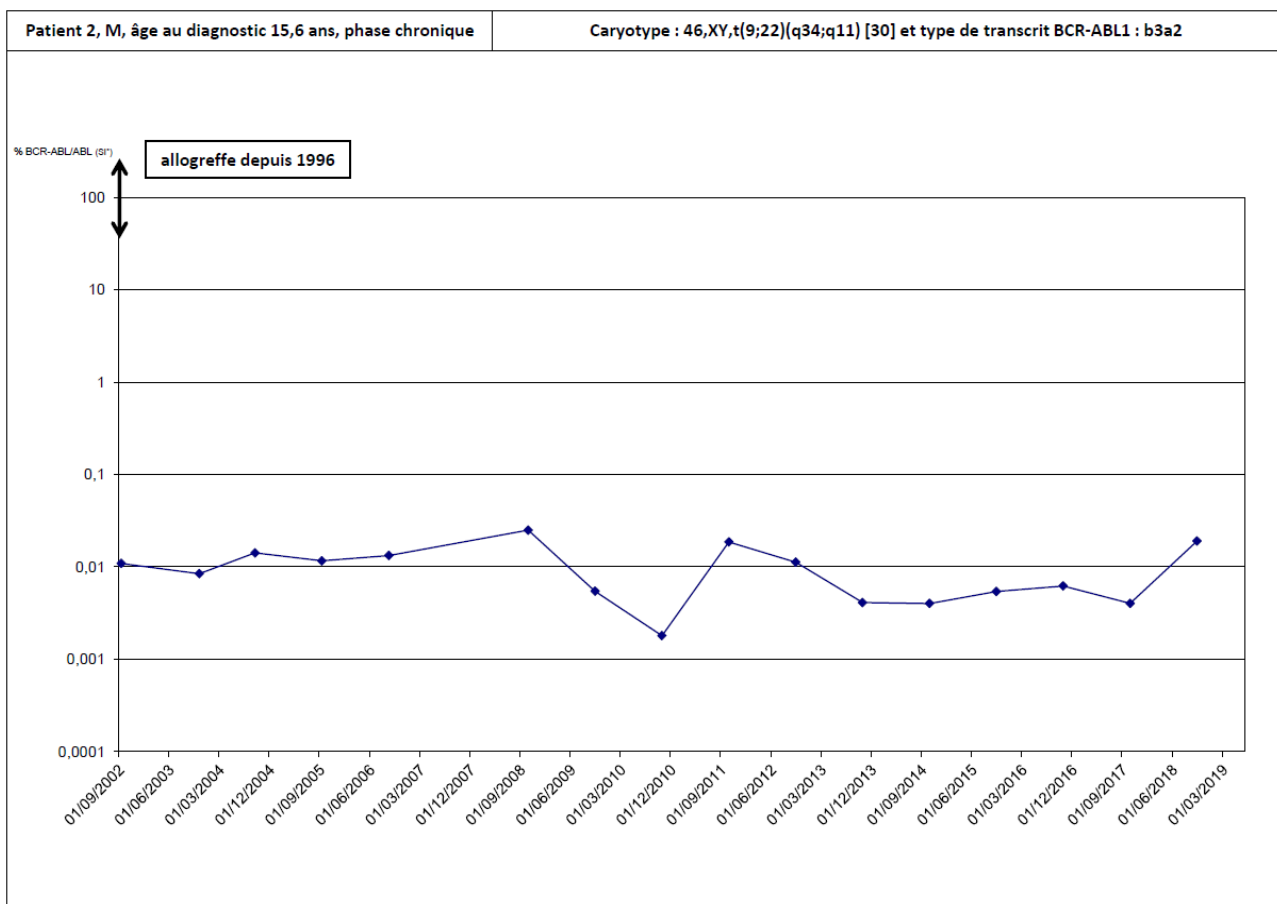


Figure 37 : Résumé patient 2, patient « pré-ITK » greffé

Pour la patiente 3, de sexe féminin, l'âge au diagnostic était de 11,6 ans et la découverte de la maladie (1993) était fortuite (consultation pour otite). La patiente présentait une splénomégalie évaluée à 5 cm sous le rebord costal sans retentissement clinique et une NFS perturbée avec une hyperleucocytose à 20 G/L mais surtout une thrombocytose majeure évaluée à 2560 G/L. Le traitement débute par la réalisation de 4 cytophères puis par un traitement par  $INF\alpha$  à la dose de 4 millions d'unités/m<sup>2</sup>/jour pendant 9 mois. La RHC est obtenue à 8 mois. La réponse cytogénétique est mineure (92 % de cellules Ph1+) à 8 mois. Une allogreffe de CSH géno-identique (sœur) est réalisée à 9 mois du diagnostic. Le conditionnement de cette greffe est composé de BUSULFAN® + ENDOXAN®. A 3 mois de la greffe, la RCC est obtenue et la RHC est maintenue. L'absence de détection de transcrit *BCR-ABL1* est montrée 2 ans après la greffe et est maintenue dans le temps. Il n'a pas été observé de GVH chez cette patiente, cependant un retard pubertaire est à noter.

Les dernières nouvelles de cette patiente datent de mars 2006, soit 13 ans après la greffe, par transmission d'un courrier. La patiente ne présentait pas de réapparition de sa maladie.

Pour le patient 4, de sexe masculin, âgé de 1,9 ans au diagnostic, la découverte de la maladie (1995) était fortuite (bronchite à répétition). Le diagnostic clinique était normal avec une absence d'organomégalie. Cependant la NFS était très perturbée avec une hyperleucocytose évaluée à 125 G/L et une anémie à 8,3 g/dL. Le caryotype médullaire ne montre pas de chromosome Philadelphie cependant la FISH met en évidence la présence du gène de fusion *BCR-ABL1* et la RT-PCR la présence d'un transcrite *BCR-ABL1* de type b2a2. Le traitement débute par de l'IFN $\alpha$  à la dose de 3 millions d'unités/m<sup>2</sup>/jour puis les doses sont progressivement augmentées jusqu'à 6 millions d'unités/m<sup>2</sup>/jour en raison d'un contrôle insuffisant de la leucocytose. A 10 mois, la RHC est obtenue ainsi qu'une RCym (72 % de cellules Ph1+). A 12 mois, on note une acutisation lymphoblastique de la LMC qui nécessitera l'arrêt de l'IFN $\alpha$  et sera traitée par chimiothérapie composée de corticoïdes + Vincristine + 6-mercaptopurine + Méthotrexate. 1 mois après la mise sous chimiothérapie, une deuxième RHC est obtenue ainsi qu'une RCyM (11 % de cellules Ph1+). A 3 mois de l'évolution de la maladie, soit 15 mois après le diagnostic, une allogreffe de CSH phéno-identique est réalisée. La suite de greffe est marquée par une GVH cutanée et digestive incontrôlable malgré une immunodépression très profonde. A 17 mois du diagnostic et 2 mois de la greffe, le patient décédera.

Pour la patiente 5, de sexe féminin, âgé de 13,7 ans au diagnostic, la découverte de la maladie (2001) était liée aux symptômes avec une consultation pour AEG et douleurs abdominales. L'examen clinique montrait une splénomégalie importante avec un débord costal mesuré à 10 cm et le bilan biologique était fortement perturbé avec une hyperleucocytose majeure à 500 G/L ainsi qu'une anémie profonde à 6,2 g/dL et une thrombocytose importante à 898 G/L. Le traitement initial était composé de l'association IFN $\alpha$  à la dose de 5 millions d'unités/m<sup>2</sup>/jour + Aracytine. La RHC est obtenue à 3 mois. Une RCyM est obtenue à 6 mois (2/29 cellules Ph1+) et confirmée à 9 mois (1/30 cellule Ph1+).

A 3 mois, la recherche de transcrit *BCR-ABL1* par RT-PCR est positive. Cette dernière n'a pas été réalisée à 6 mois ni à 9 mois. A 11 mois du diagnostic, l'exploration d'un nodule au niveau du sein gauche retrouve une acutisation extramédullaire en LAM avec translocation t(9;22)(q34;q11) avec 80 % de cellules blastiques observées. Une chimiothérapie est débutée, comprenant 3 jours de Daunorubicine (45 mg/m<sup>2</sup>), 7 jours d'Aracytine (100 mg/m<sup>2</sup>) et 28 jours d'Imatinib 400 mg alors en cours d'essai clinique sous le nom de STI 571. L'Imatinib sera interrompu à J15 pour aplasie fébrile non documentée. A 3 mois du diagnostic d'acutisation et 14 mois du diagnostic initial, une allogreffe de CSH phéno-identique est réalisée. Le conditionnement de l'allogreffe est composé d'ENDOXAN® + Irradiation Corporelle Totale (ICT) avec une prévention de la GVH par Ciclosporine + Méthotrexate. A 5 mois post greffe, la RHC et la RCC sont confirmées ainsi que l'absence de transcrit *BCR-ABL1*. La suite de greffe est cependant compliquée d'une GVH cutanée, résolutive sous corticoïdes mais également d'une GVH chronique entraînant des troubles neurologiques apparus à 6 mois post greffe nécessitant l'administration de corticoïdes et de Tacrolimus. La régression de cette GVH chronique extensive fut lente et entraîna l'apparition de crise convulsive, un ralentissement moteur et des troubles sensitivomoteurs en amélioration depuis. Les dernières informations concernant cette patiente datent de juin 2007, soit 6 ans post diagnostic et montraient un maintien des réponses hématologique, cytogénétique et moléculaire ainsi qu'une régression des signes neurologiques.

Enfin pour le patient 6, de sexe masculin, âgé de 14,1 ans au diagnostic, la découverte de la maladie (début 2003) était liée aux symptômes avec une consultation pour AEG et douleurs abdominales. L'examen clinique montrait une splénomégalie importante avec un débord costal mesuré à 15 cm et le bilan biologique était fortement perturbé avec une hyperleucocytose importante à 310 G/L et une thrombocytose importante à 898 G/L. La prise en charge initiale comprend 3 cytophèreses et de l'Hydroxyurée (50 mg/kg/j) afin de réduire l'hyperleucocytose. La décision thérapeutique s'oriente ensuite vers la réalisation d'une allogreffe géno-identique (frère). Cependant, en prévision de l'allogreffe, un traitement par Imatinib 400 mg est débuté à 1 mois du diagnostic en hors AMM (AMM obtenu pour les adultes mais encore en cours pour les enfants). La RHC est obtenue à 2 mois



de traitement et la RCC à 4 mois. A 4 mois, le taux de transcrit *BCR-ABL1* était de 1,92 %. L'Imatinib sera arrêté après 6 mois de traitement afin de réaliser le conditionnement de l'allogreffe par BUSULFAN® + ENDOXAN®. L'allogreffe est réalisée à 9 mois du diagnostic. Le suivi post greffe est marqué par une GVH cutanée de grade II à 1 mois, résolutive par corticothérapie. A 1 mois post greffe, obtention de la RHC, RCC et RMP. Par la suite, le suivi sera réalisé dans un autre CHU et les dernières nouvelles concernant ce patient datent de juillet 2008 (par courrier) et montrent un maintien des différentes réponses hématologique, cytogénétique et moléculaire.

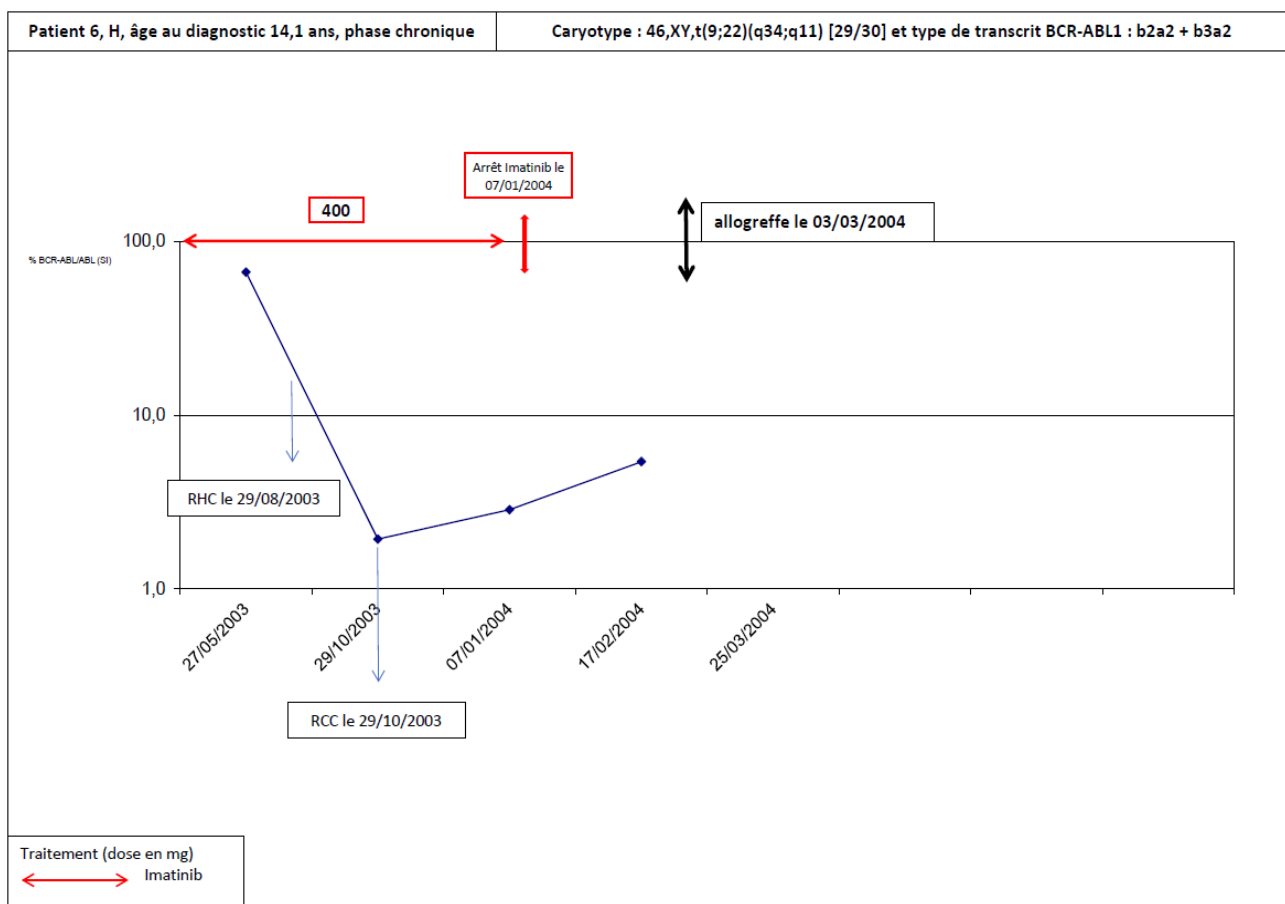


Figure 38 : Résumé patient 6, patient « ITK » non répondeur

### 3.1.3 Analyse descriptive des différents facteurs pronostiques

- Scores pronostiques :

	Score de Sokal	Risque Sokal	Score de Sokal < 45 ans	risque Sokal < 45 ans	résultat Hasford	risque Hasford	EUTOS	Risque EUTOS	EUTOS probability of no CCgR at 18 months (%)	Score ELTS	Risque ELTS
<b>Patient 1</b>	0,42	1	0,76	1	124	1	14	1	12	0,5976	1

Tableau 14 : Calculs des scores pronostiques, patient « pré-ITK » répondeur (interprétation du risque de Sokal, Hasford et ELTS : 1 faible ; 2 intermédiaire ; 3 élevé)

	Score de Sokal	Risque Sokal	Score de Sokal < 45 ans	Risque Sokal < 45 ans	résultat Hasford	Risque Hasford	EUTOS	Risque EUTOS	EUTOS probability of no CCgR at 18 months (%)	Score ELTS	Risque ELTS
<b>Patient 2</b>	0,57	1	1,28	3	912	2	88	3	23	1,2122	1
<b>Patient 3</b>	6,42	3	2,59	3	1609	3	41	1	16	0,6735	1
<b>Patient 4</b>	0,37	1	0,92	2	328	1	42	1	16	0,7199	1
<b>Patient 5</b>	1,26	3	1,37	3	1030	2	68	1	19	1,3704	1
<b>Patient 6</b>	1,47	3	1,82	3	1209	2	102	3	25	1,855	2
<b>Médiane</b>	<b>1,26</b>	<b>3</b>	<b>1,37</b>	<b>3</b>	<b>1030</b>	<b>2</b>	<b>68</b>	<b>1</b>	<b>19</b>	<b>1,2122</b>	<b>1</b>

Tableau 15 : Calculs des scores pronostiques, patients « pré-ITK » greffés (interprétation du risque : 1 faible ; 2 intermédiaire ; 3 élevé)

Les scores EUTOS et ELTS ont été établis pour les patients recourant à un traitement par ITK.

Ces scores ont tout de même été calculé pour nos patients dits « pré-ITK » à titre indicatif.

Concernant le patient non greffé, l'ensemble des scores pronostiques étaient favorables avec un risque faible d'évolution péjorative de la LMC.

Pour les patients greffés, au diagnostic, on observe une répartition hétérogène du score de Sokal dans cette population pédiatrique avec 2 patients présentant un risque faible et 3 patients présentant un risque élevé. Cependant en utilisant le score de Sokal corrigé (< 45 ans), on observe que les patients greffés présentaient un risque intermédiaire et même élevé pour 4 patients sur 5.

Concernant le score d'Hasford, on observe un risque intermédiaire ou élevé pour 4 patients sur 5.

Parmi nos 5 patients greffés ayant un score de Sokal modifié intermédiaire ou élevé, 2 patients (40 %) vont présenter une progression de la maladie dans les 12 mois suivant le diagnostic et cela entrainera le décès de l'un d'eux (20 %).

- Autres facteurs pronostiques :

Parmi les autres facteurs pronostiques décrit à l'ère de l'IFN $\alpha$  on retrouve notamment l'obtention d'une Réponse Cytogénétique Majeure (Ph1 < 35 %) avec une meilleure survie globale chez les patients ayant obtenu une RCyM (139). Une RHC à 3 mois a été par ailleurs fortement associée à l'obtention d'une RCyM et donc de la survie.

Dans notre cohorte, si on considère les 5 patients traités par IFN $\alpha$ , 2 patients (40 %) ont obtenu la RHC à 3 mois. Ces 2 patients sont d'ailleurs les seuls à avoir obtenu la RCyM sous IFN $\alpha$ . Parmi ces patients, on observe qu'un patient ne montrera pas d'évolution de sa maladie tandis que le deuxième présentera une progression de sa LMC nécessitant une allogreffe. On ne note pas de décès chez ces patients aux dernières nouvelles. Concernant les 3 patients (60 %) n'ayant pas obtenu la RHC à 3 mois, ces derniers n'ont pas obtenu de RCyM avant la greffe. On observe qu'un patient (33 %) est décédé des suites de greffe après avoir présenté une évolution de sa LMC tandis que les 2 autres patients (66 %) sont toujours vivants aux dernières nouvelles après avoir été greffés en géno-identique, gommant probablement l'effet péjoratif de la non obtention de la RCyM.

### 3.2 Depuis les ITK

8 enfants ont été diagnostiqués pour une LMC au CHU de Bordeaux, depuis juillet 2003, date correspondant à l'utilisation de l'Imatinib comme traitement de première intention pour les LMC de l'enfant, *normalement si ce dernier n'est pas éligible à une greffe de moelle osseuse* (140).

Le sexe ratio est de 0,6 avec 3 garçons et 5 filles, tous diagnostiqués en phase chronique de la LMC.

Pour 3 patients (38 %), la découverte était fortuite avec des consultations pour des infections ORL à répétitions ou des entorses récurrentes. Pour les 5 autres patients, la symptomatologie était marquée par des douleurs abdominales et une AEG avec asthénie et perte de poids.

Au niveau clinique, la présence d'une splénomégalie a été observée chez 7 patients (88 %) avec un débord costal médian estimé à 5,5 cm [0 – 12].

Au niveau biologique, une hyperleucocytose était présente chez l'ensemble des patients (Médiane des GB : 208,4 G/L [54,1 – 575]). Cette dernière était même > 500 G/L chez 2 patients. Une thrombocytose était présente chez 4 patients (50 %) (Médiane du taux plaquettaire : 428 G/L [144 – 1367]) avec un taux de plaquettes > 1000 G/L chez 2 patients. De plus, 7 patients (88 %) présentaient une anémie avec un taux d'hémoglobine médian de 8,2 g/dL [5,4 – 12,5].

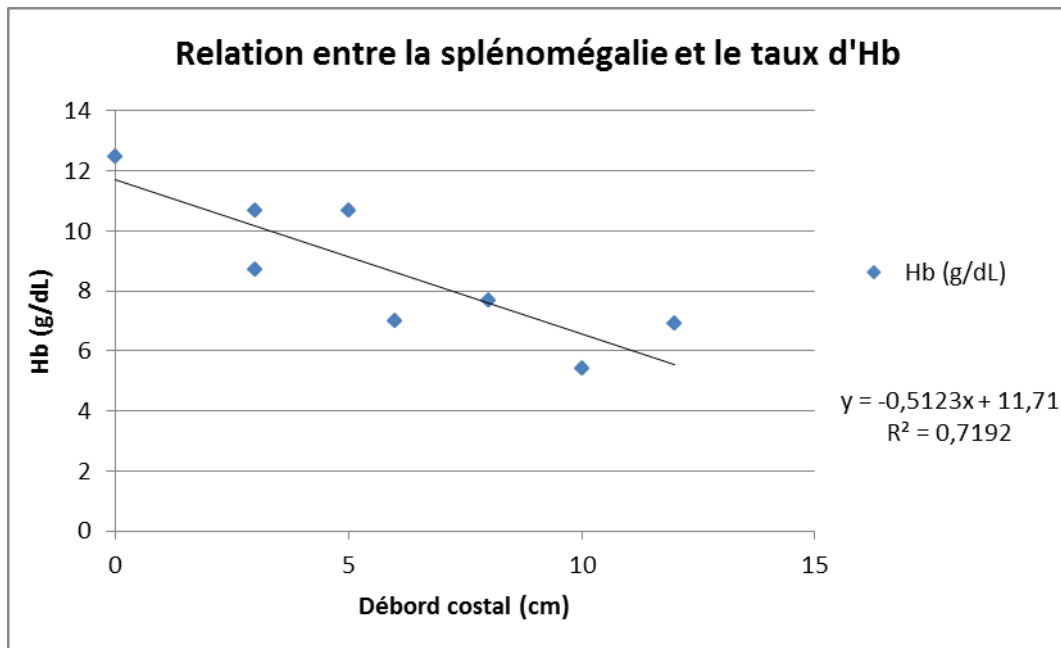


Figure 39 : Relation entre la splénomégalie et l'anémie chez les patients « ITK »

La présence d'une splénomégalie tend à être corrélée là aussi avec la présence d'une anémie et à sa profondeur (Figure 39) comme l'importance de la leucocytose (Figure 40). Il ne semble pas en revanche exister de corrélation entre la splénomégalie et le taux plaquettaire.

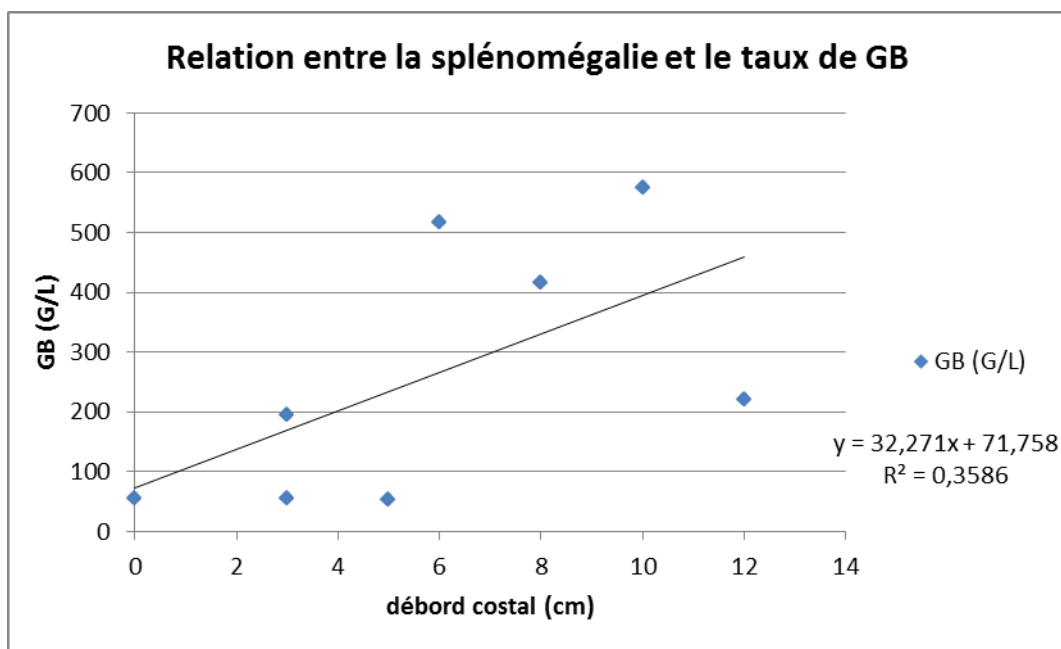


Figure 40: Relation entre la splénomégalie et la leucocytose chez les patients « ITK »

Nous observons chez 6 patients (75 %) la présence d'une basophilie (médiane de 3,6 % [1 – 8] et d'une éosinophilie (médiane de 3,5 % [1 – 7]). Pour l'ensemble des patients, on note la présence d'une importante myélémie (médiane de 32,5 % [7 – 49]). On retrouve également la présence de cellules immatures circulantes chez 7 patients (médiane de 2,5 % [0 – 9]).

6 patients (75 %) présentent un caryotype classique de LMC avec une translocation t(9;22)(q34;q11) dans l'ensemble des mitoses observées mais nous observons également la présence de 2 caryotypes plus particuliers avec pour un patient, la présence d'une fusion *BCR-ABL1* inhabituelle par l'insertion du gène *BCR* dans le bras long du chromosome 9, conduisant à un chromosome Ph1 masqué et pour un autre patient, la présence d'un caryotype complexe (46,XX,inv(3)(p21;p12)?c,t(9;22)(q34;q11)[20]).

L'ensemble des transcrits de fusion *BCR-ABL1* sont de types M-*BCR*, avec 5 patients (63 %) exprimant un transcrit de type b2a2 tandis que les 3 autres patients (37 %) expriment le transcrit b3a2.

### 3.2.1 Patients répondeurs

Les données clinico-biologiques d'intérêt des patients répondeurs au traitement par ITK de 1<sup>ère</sup> ligne sont résumées dans le tableau 17 ci-dessous.

	sexe	Age au diagnostic	type de transcrit	débord costal (cm)	GB (G/L)	Hb (g/dL)	plaquettes (G/L)	% PNB	% PNE	% myélémie	% blastes
<b>Patient 7</b>	H	11,5	b2a2	8	416	7,7	676	4	1	25	4
<b>Patient 8</b>	F	11,8	b2a2	3	196	10,7	1021	1	1	44	1
<b>Patient 9</b>	F	11,5	b2a2	10	575	5,4	529	4	4	49	9
<b>Patient 10</b>	F	2,3	b3a2	3	56	8,7	1367	3,1	3	12,7	1,6
<b>Médiane</b>	<b>1 H et 3 F</b>	<b>11,5</b>	<b>3/4 b2a2 et 1/4 b3a3</b>	<b>5,5</b>	<b>306</b>	<b>8,2</b>	<b>849</b>	<b>3,6</b>	<b>2,0</b>	<b>34,5</b>	<b>2,8</b>

Tableau 16 : Données cliniques et biologiques des patients « ITK répondeurs » (sexe : 1 = Homme et 2 = Femme)

L'âge médian au diagnostic est de 11,5 ans avec 3 patients sur 4 à un âge adolescent ou pré-adolescent et exprimant un transcrit de fusion *BCR-ABL1* de type b2a2. Le patient le plus jeune, 2,3 ans au diagnostic, présentait en revanche un transcrit de fusion b3a2.

Le sexe ratio est de 0,3 avec 1 garçon et 3 filles.

Au niveau clinique, on remarque la présence constante d'une splénomégalie évaluée à 5,5 cm [3 – 10].

Au niveau biologique, on observe une hyperleucocytose majeure, d'autant plus marquée chez les patients adolescents. La thrombocytose est constante et présente chez les 4 patients tout comme la présence d'une anémie au diagnostic.

Pour le patient 7, de sexe masculin, l'âge au diagnostic était de 11,5 ans et la découverte de la maladie (2007) faisait suite à une consultation pour asthénie et douleurs abdominales. Le patient présentait une splénomégalie évaluée à 8 cm sous le rebord costal et une NFS perturbée avec une hyperleucocytose majeure à 416 G/L associée à une thrombocytose à 676 G/L et une anémie à 7,7 g/dL. L'analyse cytogénétique révèle un caryotype normal 46, XY [30] cependant la FISH retrouve un chromosome Ph1 masqué avec une fusion *BCR-ABL1* inhabituelle car le gène *BCR* est inséré dans le bras long du chromosome 9. De l'Hydroxyurée est introduit au début de la prise en charge afin de réduire la leucocytose puis un traitement par Imatinib 300 mg par jour est débuté 1 mois après le diagnostic. Plusieurs adaptations de doses seront nécessaires pour aboutir 27 mois après le diagnostic à la dose de 400 mg qui est actuellement toujours prescrite. La RHC est obtenue à M3 de traitement par Imatinib 300 mg tandis que la RMM est obtenue à M18 de l'instauration de l'Imatinib et à 4 mois d'une augmentation de la posologie à 500 mg par jour. Un échappement transitoire a été observé en raison d'un probable sous dosage initial. L'absence de mutation dans le domaine TK d'*ABL1* et un dosage plasmatique résiduel < 1000 ng/mL ont incité à augmenter la posologie progressivement à 400 mg voir 600 mg puis à la diminuer à 500 mg et enfin 400 mg compte tenu des effets indésirables musculaires notamment. La RCC, non évaluable par cytogénétique conventionnelle, a été confirmée par FISH à M18. La dernière consultation du patient date de janvier 2019.



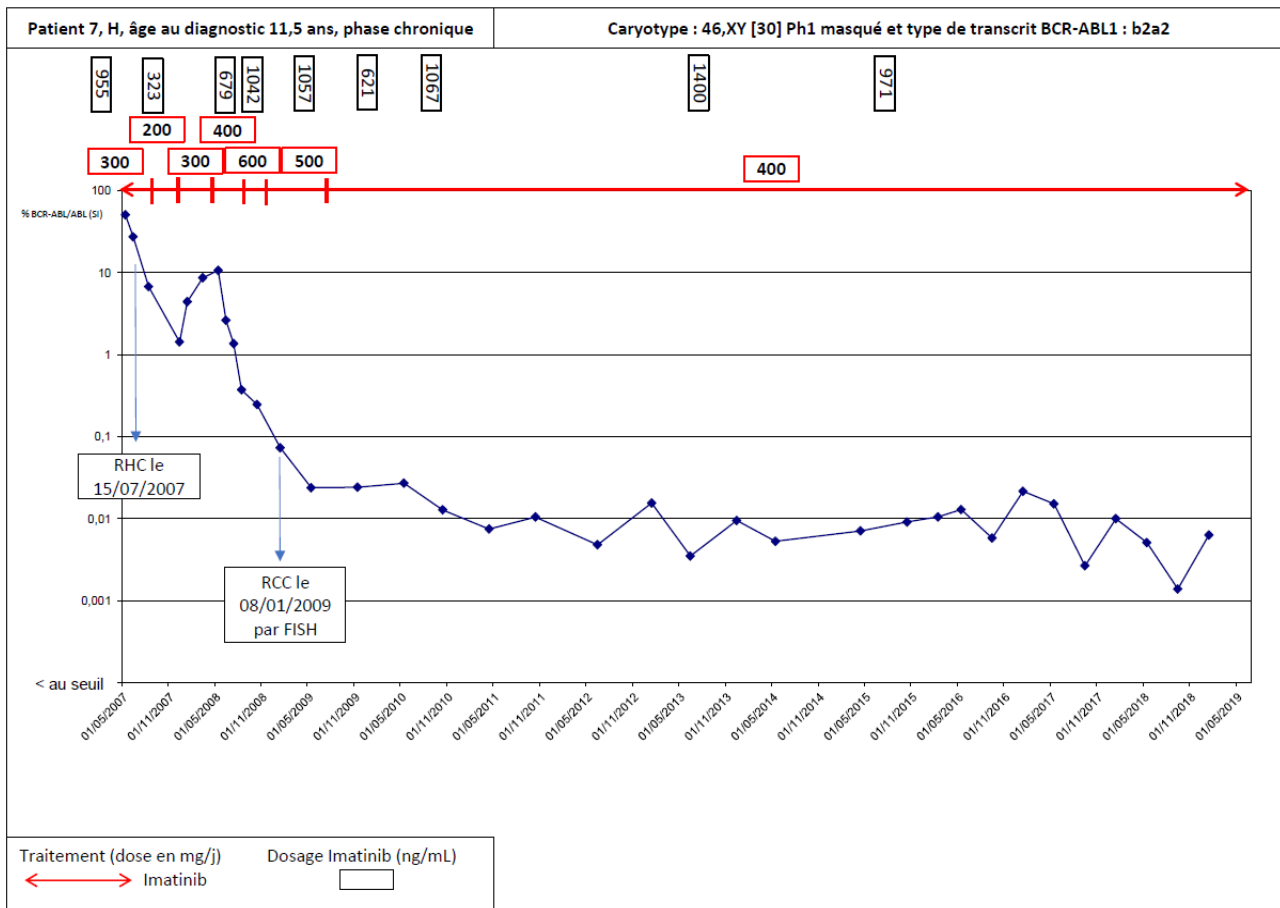


Figure 41 : Résumé patient 7, patient « ITK répondeur »

Pour la patiente 8, de sexe féminin, l'âge au diagnostic était de 11,8 ans et la découverte de la maladie (2008) était fortuite. La patiente présentait une légère splénomégalie évaluée à 3 cm sous le rebord costal sans retentissement clinique et une NFS perturbée avec une hyperleucocytose majeure à 196,1 G/L, une légère anémie à 10,7 g/dL mais surtout une thrombocytose à 1021 G/L. Un traitement par Imatinib 400 mg par jour est débuté 5 jours après le diagnostic (il n'a pas été utilisé d'Hydroxyurée). La posologie sera augmentée à 500 mg par jour, 4 mois après le début du traitement, pour ensuite rester à cette posologie. La RHC est obtenue à 1 mois de traitement par Imatinib 400 mg par jour. La RMM est obtenue à M6 de l'instauration du traitement et 2 mois après l'augmentation de posologie à 500 mg par jour tandis que la RCC est observée à M12. Cependant, il est important de relever que le caryotype réalisé à M6 était en échec ce qui nous empêche d'évaluer la

réponse cytogénétique avant le M12. Les dernières nouvelles de cette patiente datent de juin 2017 par courrier (suivi désormais au Québec).

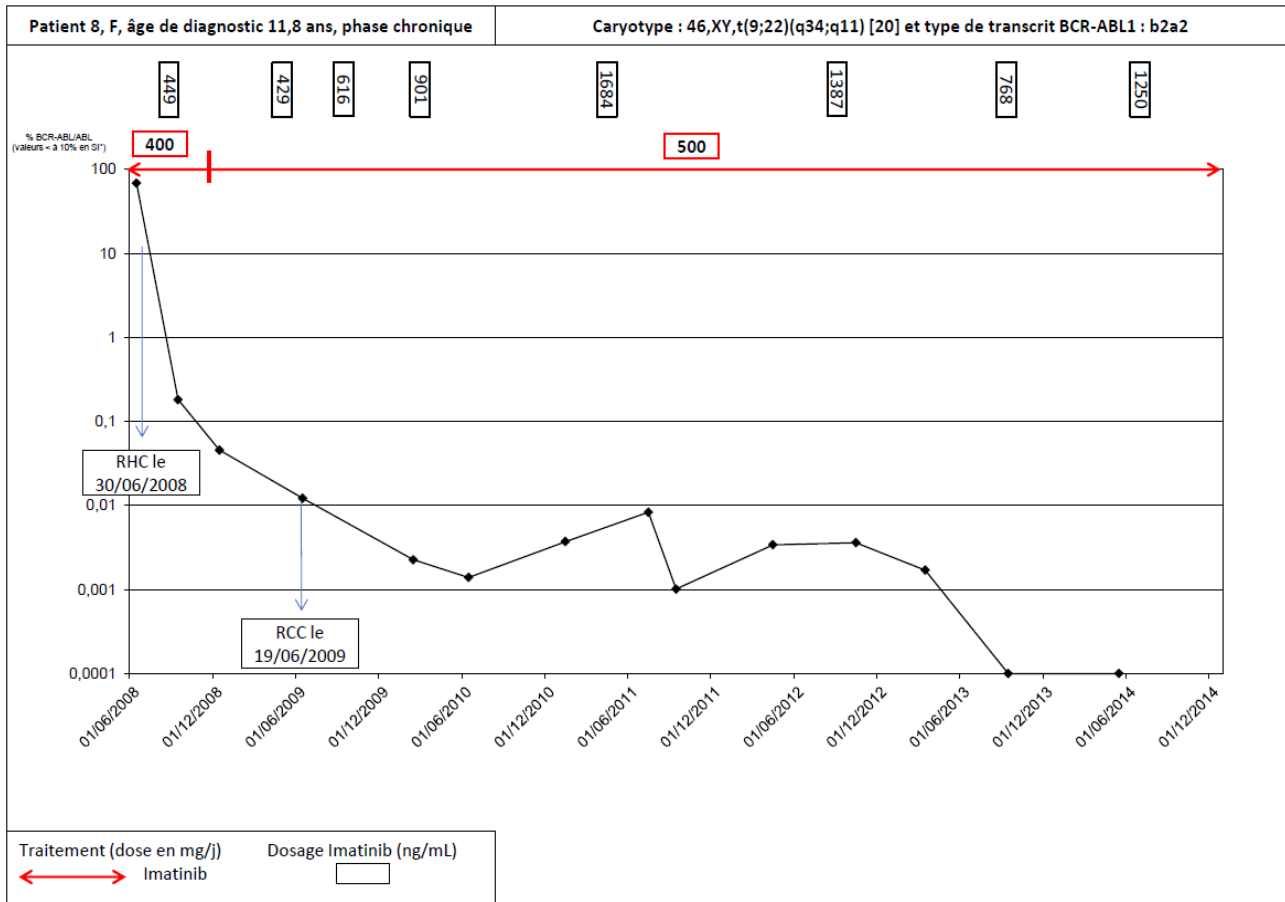


Figure 42 : Résumé patient 8, patient « ITK répondeur »

Pour la patiente 9, de sexe féminin, l'âge au diagnostic était de 11,5 ans et la découverte de la maladie (2009) était liée à sa symptomatologie avec une AEG (asthénie et perte de poids) associée à des douleurs abdominales et une augmentation de la taille du ventre. La patiente présentait une importante splénomégalie évaluée à 10 cm sous le rebord costal et une NFS très perturbée avec une hyperleucocytose majeure à 575 G/L, une thrombocytose modérée à 529 G/L et une anémie profonde à 5,4 g/dL. De l'Hydroxyurée est débutée à la dose de 500 mg 3 fois par jour pendant 15 jours puis un traitement par Imatinib 350 mg par jour est débuté à l'arrêt de l'Hydroxyurée. A 1 mois, la posologie sera augmentée à 400 mg par jour

puis à 12 mois, la posologie sera de nouveau augmentée à 600 mg par jour. Enfin, 9 ans après l'instauration du traitement par Imatinib, la posologie sera diminuée à 400 mg par jour. La RHC a été obtenue à 3 mois. La RCC a été obtenue à M6 mais elle a été perdue à M12 devant la réapparition d'une seule mais « indiscutable » mitose Ph1+ sur les 30 analysées. Au contrôle à M18, une nouvelle RCC a été obtenue et maintenue dans le temps. La RMM a été obtenue à M18. La dernière consultation de la patiente date de mars 2019 avec un maintien du traitement par Imatinib à 400 mg par jour et une RM<sup>4</sup>.

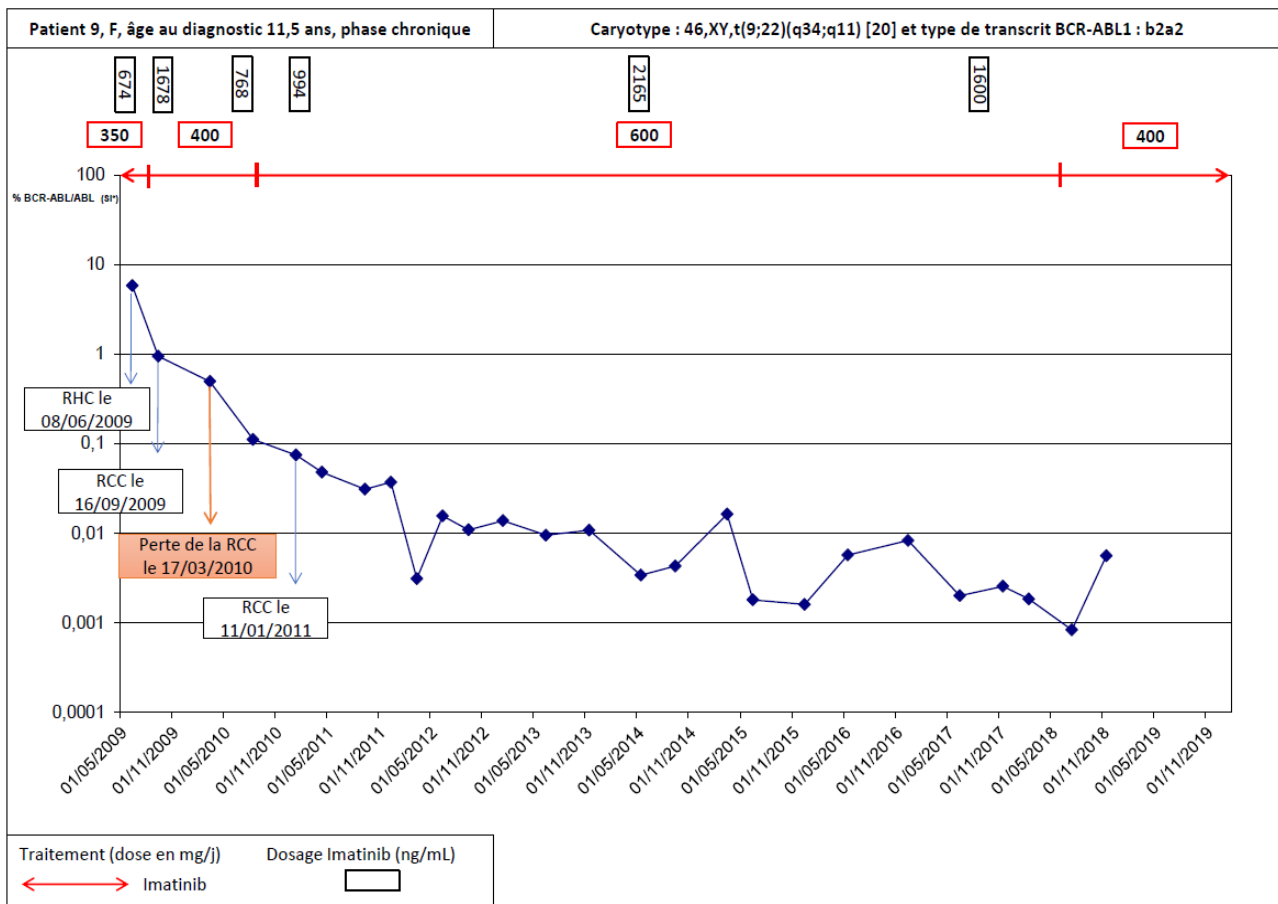


Figure 43 : Résumé patient 9, patient « ITK répondeur »

Enfin, pour la patiente 10, de sexe féminin, l'âge au diagnostic était de 2,3 ans et la découverte de la maladie (2016) était fortuite (consultation pour infections ORL à répétition). La patiente présentait cliniquement un bon état général, une légère

splénomégalie à 3 cm et une NFS perturbée avec une hyperleucocytose à 56 G/L, une thrombocytose majeure à 1367 G/L et une anémie à 8,7 g/dL. Le traitement par Imatinib est débuté à la dose de 150 mg par jour. A 3 mois, la posologie est diminuée à 100 mg (50 mg 2 fois par jour) puis sera augmentée 2 mois après (à 5 mois de l'instauration du traitement) à la posologie de 200 mg par jour en 2 prises. La RHC est obtenue à M3 tandis que la RCC et la RMM sont obtenues à M12. La dernière consultation date de décembre 2018 avec un maintien du traitement par Imatinib 200 mg par jour.

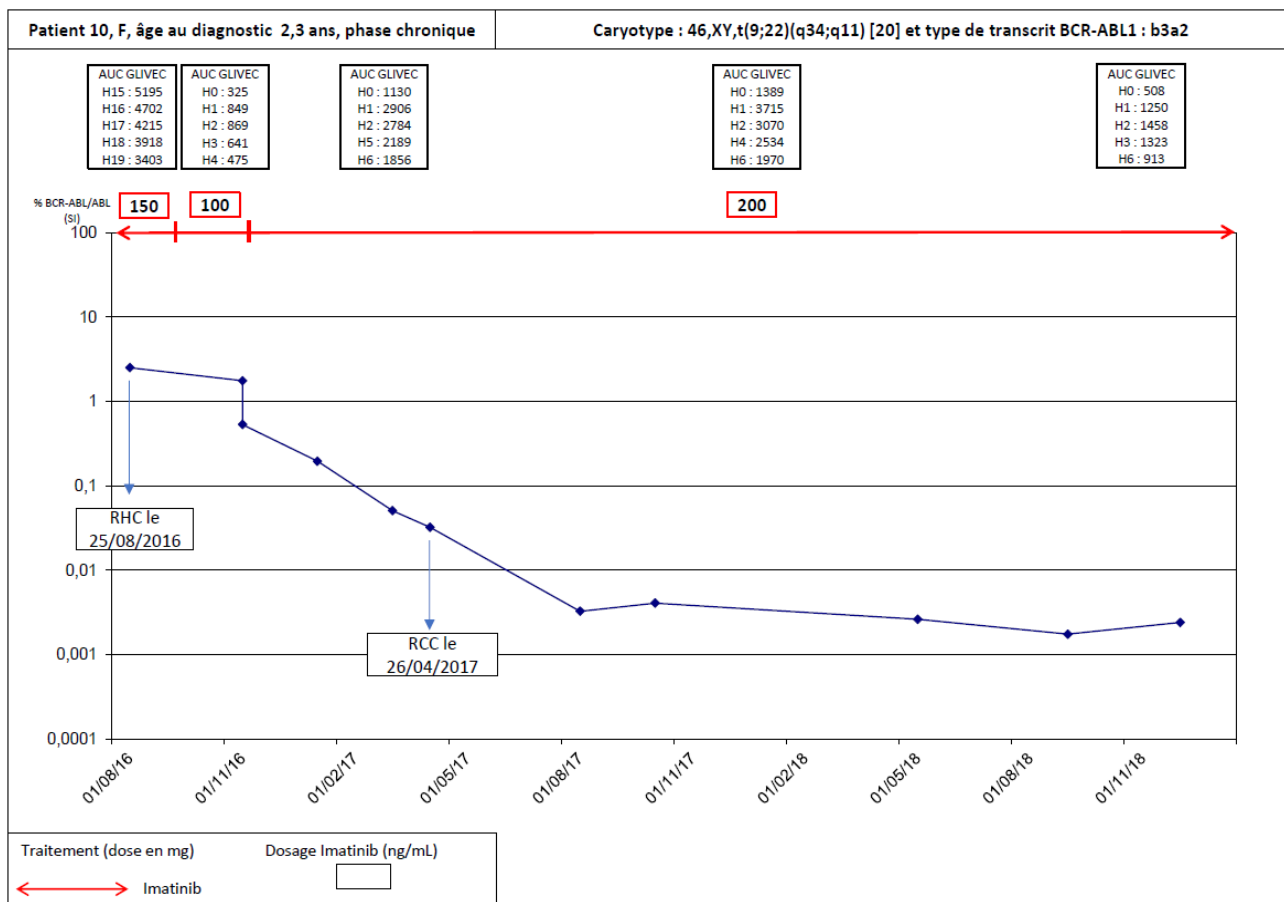


Figure 44 : Résumé patient 10, patient « ITK répondeur »

### 3.2.2 Patients non répondeurs ou intolérants 1<sup>ère</sup> ligne

Les données clinico-biologiques des patients non répondeurs ou intolérants à la 1<sup>ère</sup> ligne de traitement ayant nécessité une modification de molécule d'ITK sont résumées dans le tableau 17 ci-dessous.

	sexe	Age au diagnostic	type de transcrit	débord costal (cm)	GB (G/L)	Hb (g/dL)	plaquettes (G/L)	% PNB	% PNE	% myélémie	% blastes
<b>Patient 11</b>	F	12,9	b2a2	0	54,8	12,5	144	1,1	4,5	16,9	0
<b>Patient 12</b>	F	3,1	b3a2	5	54,1	10,7	218	7	7	7	1
<b>Patient 13</b>	H	14,5	b3a2	6	518,3	7	327	8	5	44	8
<b>Patient 14</b>	H	15,8	b2a2	12	220,6	6,9	192	3	2	40	2
<b>Médiane</b>	<b>2 H et 2 F</b>	<b>13,7</b>	<b>2 b2a2 2 b3a3</b>	<b>5,5</b>	<b>137,7</b>	<b>8,9</b>	<b>205,0</b>	<b>5,0</b>	<b>4,8</b>	<b>28,5</b>	<b>1,5</b>

*Tableau 17 : Données cliniques et biologiques des patients « ITK non répondeurs ou intolérants »  
(sexe : 1 = Homme et 2 = Femme)*

L'âge médian au diagnostic est de 13,7 ans [3,1 – 15,8] avec 3 patients au stade de l'adolescence et une patiente bien plus jeune (3,1 ans). Le sexe ratio est de 1 avec 2 garçons et 2 filles.

Au niveau clinique, la splénomégalie n'était pas présente chez l'ensemble des patients au diagnostic avec 1 patient sans organomégalie sur les 4 patients. Le débord costal médian est évalué à 5,5 cm [0 – 12].

Au niveau biologique, on retrouve une hyperleucocytose chez l'ensemble des patients avec une médiane évaluée à 137,7 G/L [54 – 518] marquée par une myélémie importante évaluée à 31 % [7 – 44] de la formule leucocytaire. Une anémie était présente chez 3 patients sur 4 tandis que le taux plaquettaire est normal pour l'ensemble des patients.

Pour la patiente 11, de sexe féminin, l'âge au diagnostic était de 12,9 ans et la découverte de la maladie (2015) était liée à la symptomatologie de cette dernière car la patiente présentait une discrète asthénie et des douleurs abdominales mais pas d'organomégalie. La NFS était légèrement perturbée avec une hyperleucocytose à 54,8 G/L associée à une myélémie évaluée à 16,9 % de la formule leucocytaire et des valeurs normales d'hémoglobine et de plaquettes. L'analyse cytogénétique révélait un caryotype compliqué (46,XX, ?inv(3)(p21;p12)?c,t(9;22)(q34;q11) [20]) avec notamment une inversion du chromosome 3. Cette anomalie additionnelle n'appartenant pas à la voie classique, cette dernière n'a pas d'impact pronostic selon l'ELN. Un traitement par Nilotinib 350 mg 2 fois par jour a été débuté dans le cadre d'un essai thérapeutique, permettant d'obtenir une RHC à 1 mois et une RCC à M6. Suite à une toxicité hépatique de grade III, le traitement par Nilotinib a été remplacé par de l'Imatinib pendant 16 mois, maintenant la RCC mais ne permettant pas d'atteindre la RMM. Aucune mutation dans le domaine TK d'*ABL1* n'a été mise en évidence. La patiente a ensuite été traitée par Ponatinib pendant 14 mois avant que soit réalisée une allogreffe de CSH phéno-identique, 38 mois après le diagnostic initial. Le conditionnement de cette greffe était une association médicamenteuse composée de BUSULFAN® + ENDOXAN® + SAL (Sérum anti-lymphocytaire) (prophylaxie GVH : Ciclosporine et Méthotrexate). Les examens réalisés 2 mois après l'allogreffe montrent l'obtention d'un transcrit indétectable. Cependant, la suite de greffe est compliquée par des infections bactériennes et virales faisant apparaître un lymphome EBV induit à 3 mois post greffe, traité par chimiothérapie CHOP. La patiente décédera 3 mois plus tard (janvier 2019) suite à une rechute méningée de son lymphome et des complications neurologiques.

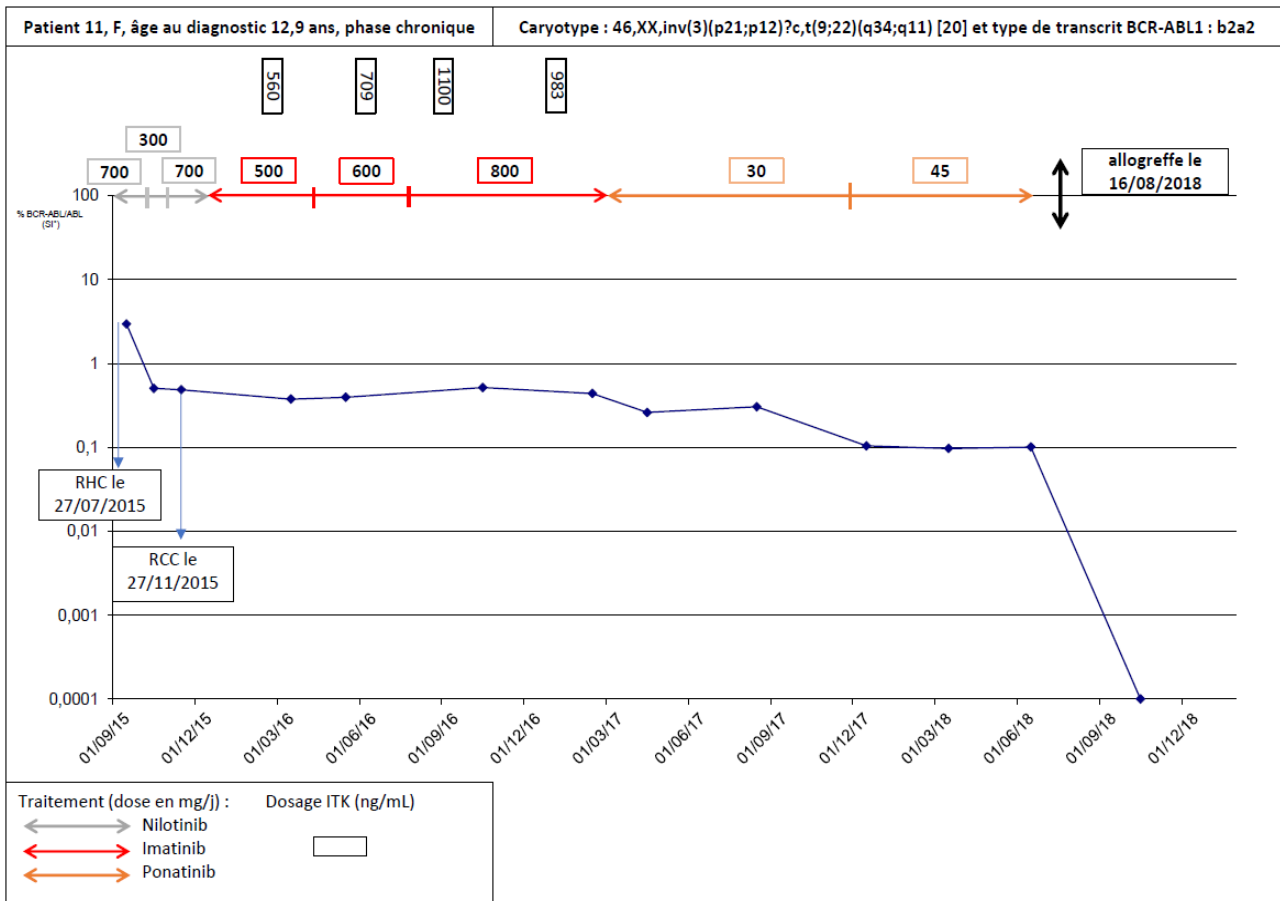


Figure 45 : Résumé patient 11, patient « ITK non répondeur ou intolérant »

Les 3 autres patients ont tous reçu de l'Imatinib en 1<sup>ère</sup> intention.

Pour la patiente 12, de sexe féminin, l'âge au diagnostic était de 3,1 ans et la découverte de la maladie (2008) était fortuite (consultation pour entorses à répétition). Elle présentait cliniquement une splénomégalie à 5 cm de débord costal sans retentissement clinique et une NFS peu perturbée avec une hyperleucocytose à 54,1 G/L associée à une très légère anémie à 10,7 g/dL. Un traitement par Hydroxyurée 30 mg/kg/j a été débuté avec une augmentation des doses jusqu'à 50 mg/kg/j pendant 15 jours. Ensuite, un traitement par Imatinib a été instauré pendant 29 mois, permettant d'obtenir une RHC à 3 mois, une RCC à 18 mois mais pas de RMM. L'Imatinib a ensuite été remplacé par du Dasatinib pendant 15 mois pour ensuite être remplacé par du Nilotinib pendant 10 mois. Devant l'absence de RMM à 54 mois post diagnostic, la patiente 12 a été allogreffée avec une moelle osseuse de

fichier et conditionnée par BUSULFAN® + ENDOXAN® (prophylaxie GVH : Ciclosporine + Méthotrexate). Le suivi post greffe est marqué par une GVH cutanée de grade II régressive sous corticoïde. Il est a noté un retard de croissance chez cette patiente nécessitant un suivi endocrinologique ainsi que l'administration d'hormones de croissance et un traitement substitutif hormonal d'induction de puberté. Sur le plan hématologique, la patiente est répondeuse et les examens complémentaires ne montrent plus de présence de *BCR-ABL1* ni de chromosome Philadelphie. La dernière consultation de cette patiente date de mars 2019.

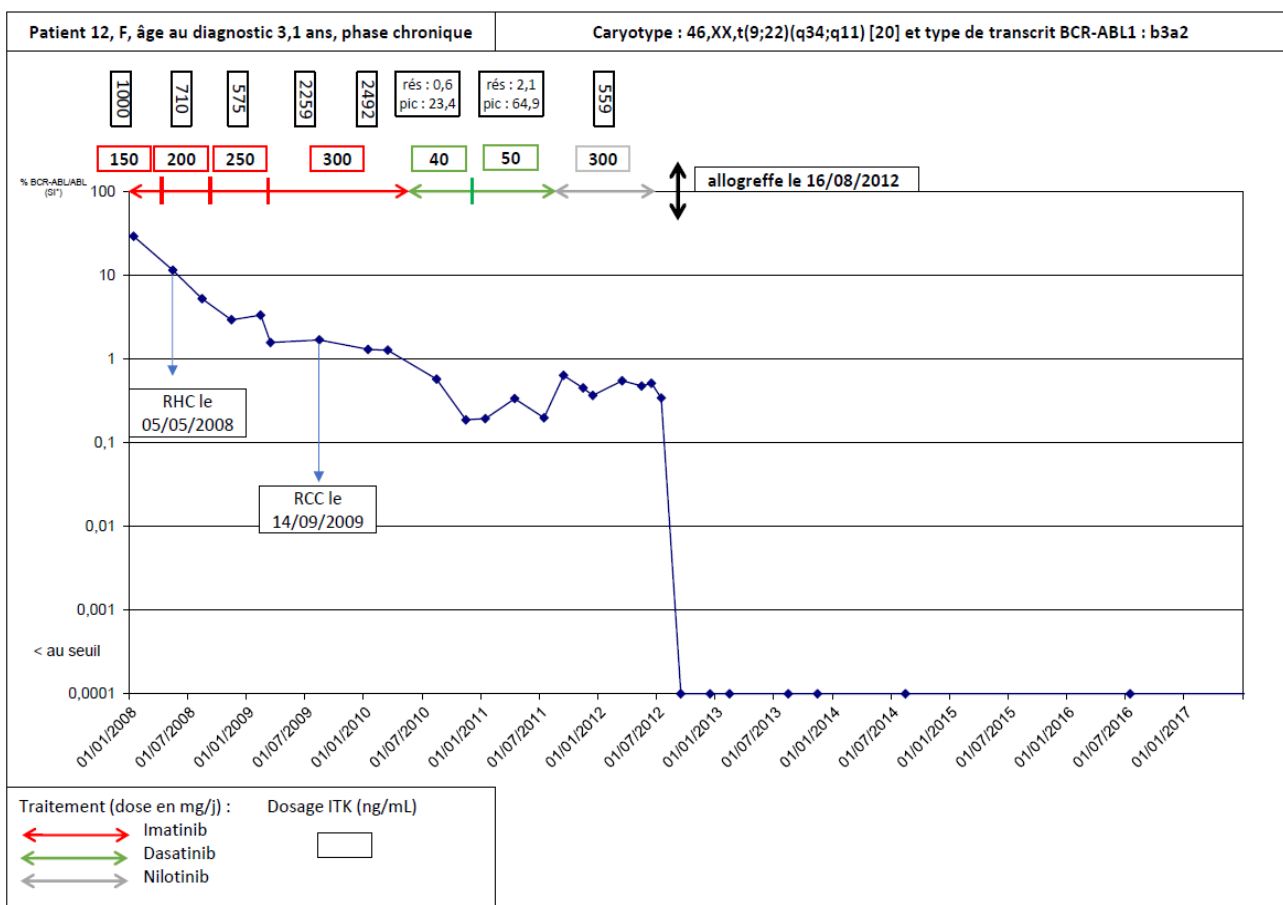


Figure 46 : Résumé patient 12, patient « ITK non répondeur ou intolérant »

Pour le patient 13, de sexe masculin, l'âge au diagnostic était de 14,5 ans et la découverte de la maladie (2012) faisait suite à une consultation pour AEG et douleurs abdominales avec une asthénie depuis 5 jours, une perte de poids de 10 kg en 3 mois dans un contexte de diarrhées et vomissements non fébriles. Une splénomégalie évaluée à 6 cm est retrouvée à



l'examen clinique et la NFS montre une hyperleucocytose majeure à 518,3 G/L associée à une importante myélémie (44 % de la formule leucocytaire) ainsi qu'une anémie à 7 g/dL. Un traitement par Hydroxyurée 1000 mg 2 fois par jour est instauré pendant 5 jours. Les trois traitements médicamenteux successifs par ITK n'ont pas permis d'obtenir de RCC ni de RMM. Initialement traité par Imatinib pendant 13 mois avec l'obtention de la RHC à 1 mois, le traitement a été changé par le Nilotinib pendant 4 mois sans amélioration notable au niveau du caryotype ni au niveau de la biologie moléculaire mais marqué par une intolérance à cette molécule (toxidermie de grade II à deux reprises). Un troisième ITK a ensuite été instauré, le Dasatinib, pendant 4 mois avant la réalisation d'une allogreffe de moelle osseuse de ficher à 21 mois post diagnostic et conditionnée par BUSULFAN® + ENDOXAN® (prophylaxie GVH : Ciclosporine et Méthotrexate). Le suivi post greffe est marqué par une GVH cutanée de grade III cortico-sensible et les examens hématologiques à 3 mois montrent l'obtention d'une RMP et d'une RCC qui seront conservées dans le temps. Les dernières nouvelles de ce patient datent de décembre 2018.

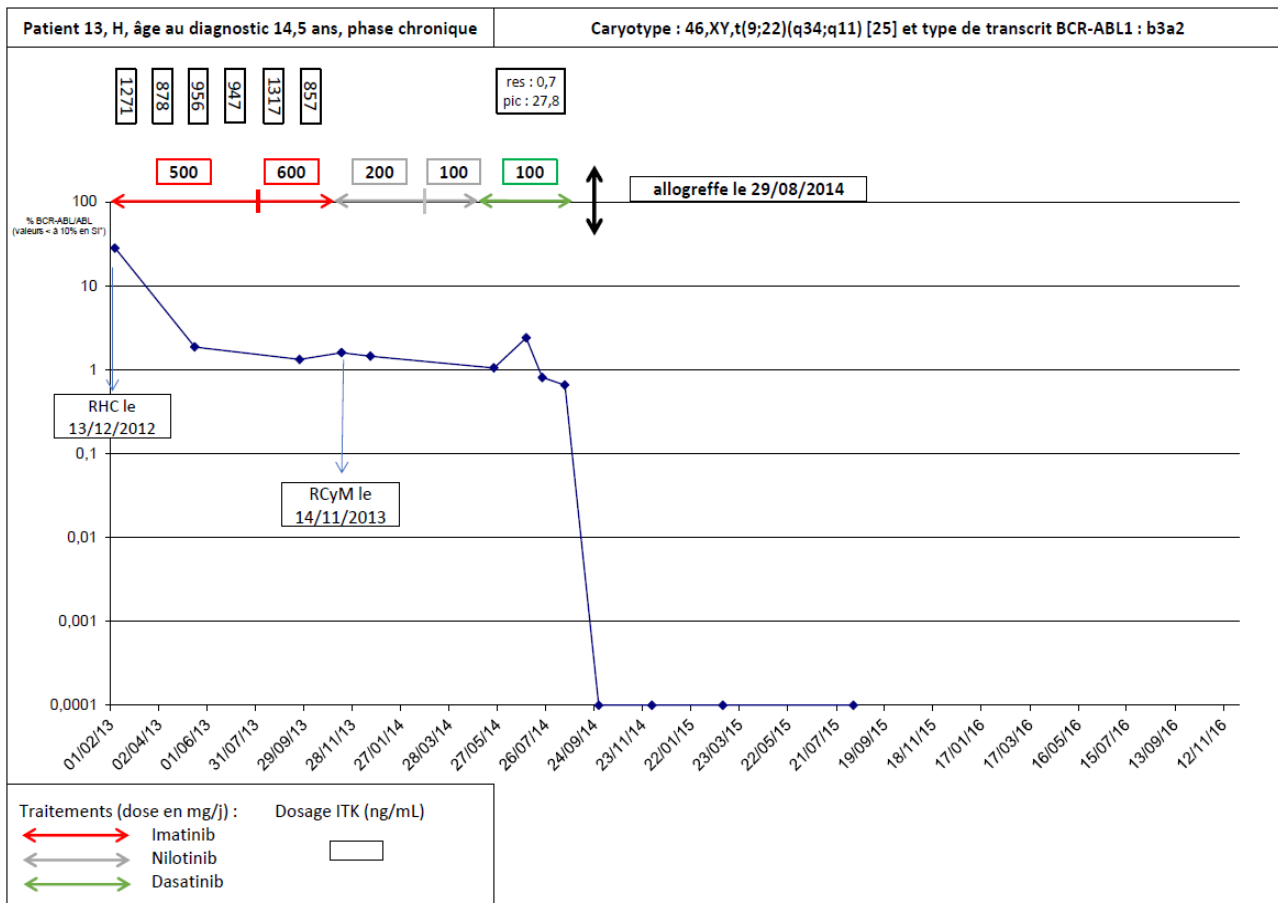


Figure 47 : Résumé patient 13, patient « ITK non répondeur ou intolérant »

Pour le patient 14, de sexe masculin, l'âge au diagnostic était de 15,8 ans et la découverte de la maladie (2017) résultait d'une consultation pour AEG avec asthénie et perte de poids de 10 kg associée à l'apparition d'hématomes spontanés depuis 3 mois. Une splénomégalie importante est retrouvée à l'examen clinique et la NFS montre une hyperleucocytose importante à 220,6 G/L associée à une importante myélémie (40 % de la formule leucocytaire) ainsi qu'une anémie à 6,9 g/dL. Un traitement par Hydroxyurée 500 mg 2 fois par jour est instauré pendant 10 jours. Un traitement par Imatinib est ensuite initié à la posologie de 400 mg par jour qui a rapidement été diminuée pour ensuite être arrêtée et remplacée par du Dasatinib à une dose de 100 mg suite aux effets indésirables, notamment des douleurs musculaires. La RHC est obtenue à 1 mois. A M6, on note l'absence d'obtention de RCC. A 9 mois, le taux de transcrit *BCR-ABL1* est de 7 % et la réponse cytogénétique est mineure (15 mitoses sur 30 présentent un chromosome Ph1+). A 12 mois, le taux de

transcrit *BCR-ABL1* est de 54 % sans mutation du domaine TK d'*ABL1* et on note une perte de la RHC. Le patient est alors mis sous Nilotinib 400 mg 2 fois par jour et un myélogramme de contrôle est réalisé 3 mois après. Le myélogramme montre une moelle équilibrée avec cependant une légère augmentation des éosinophiles évaluée à 4 % pour une normale < 3 %. Le caryotype montre une RCyM avec la persistance de 3 métaphases Ph1+ sur 30 (10 %) et un taux de transcrit *BCR-ABL1* de 4,33 %. Le traitement est maintenu ainsi et sera réévalué à la prochaine consultation.

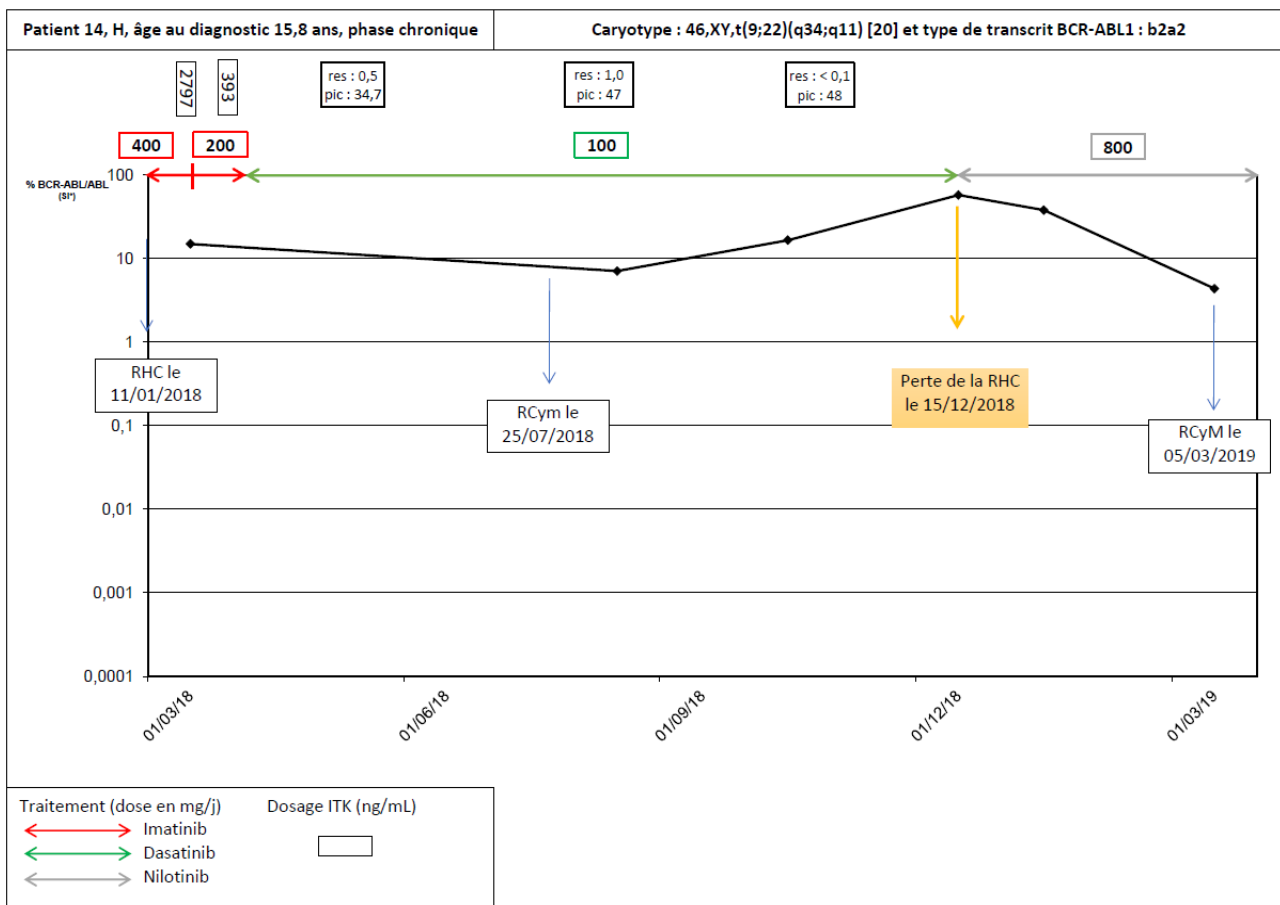


Figure 48 : Résumé patient 14, patient ITK non répondeur ou intolérant

### 3.2.3 Analyse des différents facteurs pronostiques connus

- Scores pronostiques

	Score de Sokal	Risque Sokal	Score de Sokal < 45 ans	Risque Sokal < 45 ans	résultat Hasford	Risque Hasford	EUTOS	Risque EUTOS	EUTOS probability of no CCgR at 18 months (%)	Score ELTS	Risque ELTS
<b>Patient 7</b>	0,89	2	1,5	2	815	2	60	1	18	1,4152	1
<b>Patient 8</b>	0,72	1	0,85	2	226	1	19	1	13	0,7003	1
<b>Patient 9</b>	1,49	3	1,46	3	1399	2	76	1	21	2,1261	2
<b>Patient 10</b>	0,97	2	1,13	3	571	1	68	1	19	0,8073	1
<b>Médiane</b>	<b>0,93</b>	<b>2</b>	<b>1,295</b>	<b>2,5</b>	<b>693</b>	<b>1,5</b>	<b>64</b>	<b>1</b>	<b>18,5</b>	<b>1,1113</b>	<b>1</b>

*Tableau 18 : Calculs des scores pronostiques, patients ITK répondeurs (interprétation du risque : 1 faible ; 2 intermédiaire ; 3 élevé)*

Parmi les patients répondeurs, le calcul du score de Sokal montre une disparité de résultat d'un patient à un autre avec 1 patient présentant un risque faible, 2 patients présentant un risque intermédiaire et 1 patient présentant un risque élevé. Concernant le score de Sokal modifié (< 45 ans), les résultats semblent plus homogènes mais inverses à ceux attendus avec un risque intermédiaire pour 2 patients et un risque élevé pour les 2 autres patients.

Concernant le score d'Hasford, le risque calculé semble en moyenne plus faible que celui calculé par le score de Sokal modifié (< 45 ans), avec 2 patients présentant un risque faible et 2 patients avec un risque intermédiaire.

Enfin, les scores récents et établis pour les patients traités par ITK, EUTOS et ELTS, montrent un risque faible excepté pour le score ELTS du patient 9 présentant un risque intermédiaire.

	Score de Sokal	Risque Sokal	Score de Sokal < 45 ans	Risque Sokal < 45 ans	résultat Hasford	Risque Hasford	EUTOS	Risque EUTOS	EUTOS probability of no CCgR at 18 months (%)	Score ELTS	Risque ELTS
<b>Patient 11</b>	0,41	1	0,56	1	207	1	7	1	12	1,0869	1
<b>Patient 12</b>	0,48	1	0,74	1	761	1	69	1	20	1,2918	1
<b>Patient 13</b>	1,07	2	1,51	3	1130	2	80	1	21	1,9352	2
<b>Patient 14</b>	0,75	1	1,4	2	907,3	2	69	1	20	1,8952	2
<b>Médiane</b>	<b>0,615</b>	<b>1</b>	<b>1,07</b>	<b>1,5</b>	<b>834,15</b>	<b>1,5</b>	<b>69</b>	<b>1</b>	<b>20</b>	<b>1,5935</b>	<b>1,5</b>

Tableau 19 : Calculs des scores pronostiques, patients ITK non répondeurs ou intolérants à une 1<sup>ère</sup> ligne d'ITK (interprétation du risque : 1 faible ; 2 intermédiaire ; 3 élevé)

Parmi les patients résistants ou intolérants à une 1<sup>ère</sup> ligne d'ITK, les scores de Sokal et Sokal modifié étaient faibles pour 2 des 4 patients. Les 2 autres patients présentaient un score de Sokal modifié intermédiaire ou élevé.

Concernant le score d'Hasford, les deux patients évalués avec un risque faible selon les scores de Sokal présentent également un risque faible tandis que les deux patients avec un risque intermédiaire ou élevé au score de Sokal modifié présentent un risque intermédiaire.

Le score EUTOS montre un risque faible pour les 4 patients.

Enfin selon le score ELTS, le risque est évalué comme faible pour les deux patients présentant un risque faible sur les autres scores et intermédiaire pour les deux autres patients.

Ainsi, aucun des scores pronostiques ne semblent être associés à la réponse aux ITK chez nos 8 patients. Le score ELTS est peut-être celui le plus prédictif avec 3 patients sur 5 (60%) étant répondeurs parmi les patients à risque faible contre 1 patient sur 3 (33%) étant répondeur parmi les patients avec un score ELTS intermédiaire ou élevé.

- Autres facteurs pronostiques

Les différentes réponses cytogénétiques et moléculaires au cours du temps ainsi que leur classement en fonction des critères ELN 2013 (ou ESMO) sont résumés en annexe 1 et 2 (annexe 1 pour les patients ITK répondeurs et annexe 2 pour les patients ITK non répondeurs ou intolérants 1<sup>ère</sup> ligne).

Concernant les patients répondeurs au traitement par Imatinib, on observe pour les quatre patients avec un recul supérieur à deux ans par rapport au diagnostic, qu'un seul ITK leur a été administré. Des adaptations de doses ont été nécessaires pour chacun d'entre eux mais en moyenne la dose administrée était de 400 mg/j pour les patients 7 et 9, âgés chacun de 11,5 ans lors du diagnostic, de 500 mg/j pour la patiente 7 âgée de 11,8 ans et de 200 mg/j pour la patiente 8 âgée de 2,3 ans.

On observe pour ces 4 patients une obtention de la RCC dans les 18 premiers mois [M6 à M18] et d'une RMM dans les 2 ans [M6 à M18]. On observe un maintien de ces réponses dans le suivi de ces patients.

Concernant les patients non répondeurs ou intolérants 1<sup>ère</sup> ligne, on observe que trois ITK différents ont été testés. Pour les patients 11, 12 et 13 cela n'a pas permis d'éviter l'allogreffe de CSH tandis que le patient 14 est en 3<sup>ème</sup> ligne de traitement par Nilotinib 400 mg 2 fois par jour et semble montrer un début de réponse avec un transcrit < 10 % à 3 mois et une réponse cytogénétique partielle.

La RHC a été obtenue chez l'ensemble des patients entre le M1 et le M3.

Parmi les patients ayant obtenu une RCC à 12 mois (3 patients sur 7), 2 patients (67 %) ont présenté une évolution favorable de leur LMC contre 2 patients sur 4 (50 %) parmi ceux sans RCC à 12 mois.

Concernant la réponse moléculaire à :

- M3 : 5 patients sur 8 (63 %) présentaient un taux de transcrit *BCR-ABL1*  $\leq$  10 %. Tous sauf 1 ont présenté une évolution favorable de leur LMC. Les 3 patients avec un taux  $>$  10 % à M3 ont en revanche nécessité un changement d'ITK.
- M6 : Les 7 patients ayant conservés leur traitement initial présentaient un taux de transcrit *BCR-ABL1*  $\leq$  10 % et 4 patients (57 %) présentaient un taux de transcrit *BCR-ABL1*  $\leq$  1 %. Parmi ceux ayant un transcrit  $\leq$  10 %, 4 patients (57 %) ont présenté une évolution favorable de leur LMC. Parmi les 4 patients présentant un taux de transcrit  $\leq$  1 % à M6, 3 patients (75 %) ont présenté une évolution favorable de leur LMC contre 1 patient sur les 3 (33 %) présentant un taux  $>$  1 %.
- M12 : 3 patients sur 6 (50 %) présentaient un taux de transcrit *BCR-ABL1*  $\leq$  1 % mais seulement 2 (33 %) était en RMM. Seul 1 patient sur les 3 présentant un taux de transcrit *BCR-ABL1*  $>$  1 % à M12 obtiendra la RMM (à M18). Les 2 autres patients changeront d'ITK.
- M18 : Seuls les 4 patients dits répondeurs n'ont pas changé de traitement dans les 18 premiers mois et étaient en RMM à M18.

Aucun des patients « non répondeurs ou intolérants 1<sup>ère</sup> ligne » n'a obtenu de RMM.

Concernant la cinétique de décroissance du transcrit *BCR-ABL1* :

Patients ITK	M3	M6	% décroissance M3 - M6
Patient 7	6,751	1,4279	78,8
Patient 8	0,1814	0,045	75,2
Patient 9	5,8431	0,9497	83,7
Patient 10	2,5181	0,5337	78,8
Patient 11	5,4473	0,4866	91,1
Patient 12	11,5878	5,2536	54,7
Patient 13	27,9693	1,8534	93,4
Patient 14	14,8694	Non évaluable	

Tableau 20 : Décroissance du transcrit *bcr-abl1* des patients ITK en 1<sup>ère</sup> ligne de traitement

Lorsque l'on compare la décroissance entre M3 et M6 dont l'impact pronostic sur la survenue d'évènements a été récemment publié (137), 6 patients sur 7 (86 %) présentent une décroissance > 67 %, dont l'ensemble des patients répondeurs. 1 seul des 3 patients « non répondeurs ou intolérants 1<sup>ère</sup> ligne » présente une décroissance < 67 %.

Résultats de la recherche de mutation du domaine TK d'*ABL1* par technique Sanger et NGS :

Les 4 patients identifiés non répondeurs ont tous eu une ou plusieurs recherche(s) de mutation par technique Sanger avant un switch vers un autre ITK notamment. Ces mêmes prélèvements ont été techniqués par méthode NGS. Aucune mutation n'a été mise en évidence par cette technique également (Tableau 21).

Nom	Date prélèvement	Traitement	% <i>BCR-ABL1/ABL1</i>	Sanger	NGS
Patient 11	30/10/2015	Nilotinib	0,5038	non muté	non muté
Patient 11	20/10/2016	Imatinib	0,5165	non muté	non muté
Patient 11	15/02/2017	Imatinib	0,4388	non muté	non muté
Patient 11	28/06/2018	Ponatinib	0,1008	non muté	non muté
Patient 12	26/03/2009	Imatinib	1,5823	non muté	non muté
Patient 12	15/03/2010	Imatinib	1,2827	non muté	non muté
Patient 12	20/09/2011	Dasatinib	0,6405	non muté	non muté
Patient 12	26/07/2012	Nilotinib	0,3435	non muté	non muté
Patient 13	06/02/2013	Imatinib	27,9693	non muté	non muté
Patient 13	14/11/2013	Imatinib	1,5894	non muté	non muté
Patient 13	01/07/2014	Nilotinib	2,3926	non muté	non muté
Patient 14	02/08/2018	Dasatinib	7,0430	non muté	non muté
Patient 14	30/10/2018	Dasatinib	16,4594	non muté	non muté

Tableau 21 : Recherche de mutation par techniques Sanger et NGS



### 3.2.4 Toxicité du traitement

Nos patients ayant reçu des ITK ont présenté des profils de tolérances variés.

Parmi les 9 patients ayant reçu de l'Imatinib, deux effets indésirables principaux ont été observés. Les premiers effets secondaires retrouvés sont des douleurs musculaires, notamment au niveau des jambes, chez 5 patients sur 9, d'intensités variables, allant de quelques crampes musculaires à des douleurs invalidantes nécessitant une diminution des doses chez le patient 7 (douleurs musculaires évaluées comme une toxicité de grade III) voire même un arrêt définitif et un changement de traitement pour le patient 14 après seulement 2 mois de traitement. L'autre effet indésirable majeur et présent également chez 5 patients sur 9 est la présence de symptômes gastro-intestinaux comme des nausées, des vomissements et des douleurs abdominales généralement après la prise d'Imatinib. Leurs intensités étaient également variables d'un patient à un autre, allant d'une fréquence rare à fréquente chez le patient 13 nécessitant au début du traitement la prise associée de VOGALENE®. A forte dose (600 mg) pour le patient 7, ces sensations de nausées et vomissements ont entraîné une diminution de la dose (500 mg) permettant une meilleure tolérance. D'autres effets indésirables ont été recensés plus ponctuellement comme la présence de céphalées et une hématotoxicité chez le patient 14. Il est à noter que pour le patient 7, à 4 ans de traitement par Imatinib, il a été découvert une scoliose nécessitant le port d'un corset la nuit mais qui ne semble pas liée au traitement par ITK (absence de relevé dans la littérature et âge osseux cohérent avec l'âge du patient).

Concernant le Nilotinib, 4 patients ont eu recours à ce traitement. La toxicité majeure relevée est une toxidermie présente chez 3 patients sur 4. Cette toxidermie s'est manifestée par des éruptions cutanées de grade I chez 2 patients tandis que pour le troisième patient (patient 13), cet effet indésirable s'est manifesté par la majoration d'une atteinte cutanée déjà présente (kératose pileaire) allant jusqu'à une toxidermie de grade II nécessitant à deux reprises un arrêt temporaire du Nilotinib et aboutissant à l'arrêt définitif du traitement devant l'intolérance de ce patient à ce médicament après 5 mois de traitement et malgré

l'ajout de préparation à base d'urée afin de soulager et faire régresser cette atteinte cutanée. Une cytolysé hépatique a été observée chez 2 patients. De grade I chez le patient 12 qui s'est ensuite normalisée, la cytolysé hépatique était de grade III chez le patient 11 nécessitant tout d'abord un arrêt temporaire du traitement pour aboutir à un arrêt définitif de ce dernier. Un autre effet indésirable présent chez 2 patients était la présence de douleurs musculaires mais ces dernières étaient de moindres intensités que celle ressenties lors de la prise d'Imatinib. D'autres effets indésirables ponctuels ont été relevés comme l'apparition de céphalées après l'introduction du traitement et évaluées comme une toxicité de grade II ayant nécessité l'ajout d'antalgique (Ibuprofène). Ces céphalées n'ont cependant pas perduré dans le temps. On note aussi une perturbation du bilan lipidique (toxicité grade I) avec une augmentation des triglycérides et du cholestérol chez le patient 13 à 1 mois de traitement qui s'est ensuite normalisée au cours du traitement.

Concernant le Dasatinib, ce traitement a été introduit chez 3 patients. Les effets indésirables ont été différents chez ces 3 patients mais ce médicament a été bien toléré. Concernant le patient 14 dont la durée de Dasatinib a été de 11 mois, il a été noté la présence d'insomnies durant la période du traitement. Pour le patient 12, on note la présence d'une perturbation du bilan lipidique de grade I avec une augmentation du taux de triglycérides et de cholestérol qui ensuite est restée constante sur la durée du traitement qui était d'un an. Enfin le patient 13 a présenté quelques douleurs abdominales suite à la prise du médicament et ce pendant les 3 mois de traitement.

Enfin, le patient 11 a été le seul à prendre du Ponatinib. Durant l'année de traitement, il n'a pas été observé d'effet indésirable notable et le traitement a été bien toléré.

Concernant le retentissement osseux imputable à la prise d'ITK au long cours chez les patients enfants ou adolescents, on note un retard de croissance staturo-pondéral pour la seule patiente 12. Cependant, cette patiente a présenté un retard de croissance intra-utérin et sa mère était réglée tardivement (à l'âge de 15 ans). Ce retard de croissance évalué à -3DS

(Déviation Standard) a été observé et probablement majoré lors du traitement par ITK. Il ne s'est pas amélioré suite à la greffe mais s'est amélioré suite à l'introduction d'un traitement par hormone de croissance 3,5 ans après l'allogreffe. Suite à ce traitement, un rattrapage évalué à 1 DS a été observé à 1 an. La patiente présente également un retard pubertaire à 11,5 ans, soit 4,5 ans après son allogreffe, ayant nécessité l'ajout d'un traitement d'imprégnation hormonale. Suite à l'introduction de ces traitements substitutifs, on note chez cette patiente un bon développement pubertaire ainsi qu'une amélioration du développement osseux.

### 3.2.5 Arrêt de traitement ?

Le patient 1, traité par IFN $\alpha$  pendant 8 ans, est désormais en abstention thérapeutique depuis 18 ans. Le transcrit *BCR-ABL1* est toujours détectable avec des taux fluctuants mais inférieurs à la RMM.

Parmi nos quatre patients répondeurs au traitement par ITK et traités au long cours par Imatinib, la possibilité d'arrêt de traitement a été envisagée pour deux d'entre eux suite à leurs passages à l'âge adulte.

Concernant le patient 7, le traitement par Imatinib a été débuté il y a 11,5 ans et cela fait quasiment 9 ans que la dose d'Imatinib est de 400 mg par jour. Le traitement est bien toléré et le patient est en RMM voire RM<sup>4</sup> depuis 9 ans. La RM<sup>4</sup> est fluctuante dans le temps avec une période de RM<sup>4</sup> pendant 2 ans puis deux dosages successifs en RMM puis de nouveau en RM<sup>4</sup>. Il a été envisagé un changement de traitement afin d'obtenir une réponse moléculaire plus profonde mais depuis 1,5 ans, la RM<sup>4</sup> est maintenue avec 1 point en RM<sup>4,5</sup>. L'arrêt du traitement ne semble donc pour le moment pas envisageable à court terme mais pourra être discuté à l'avenir.

Pour la patiente 8, le traitement par Imatinib a été débuté il y a 10,5 ans à une dose de 400 mg, augmentée 6 mois plus tard à 500 mg et qui reste la posologie actuelle. Cela fait

donc 10 ans que le traitement par Imatinib est pris à une dose de 500 mg par jour. La RMM a été obtenue à 6 mois et maintenue en RM<sup>4</sup> depuis 2010. Cependant, le suivi de cette patiente est depuis 2014 assuré à l'étranger et il a été noté en 2017 une perte de la RM<sup>4</sup> avec un taux de *BCR-ABL1* mesuré à 0,011 % non confirmé sur le prélèvement suivant à 0,003 %. Ce résultat ne témoigne pas nécessairement d'une réapparition de la maladie mais cela retarde la mise en place d'un sevrage médicamenteux pour l'instant.

Parmi les 2 autres patients « répondeurs », la patiente 9 est traitée depuis 10 ans et en RM<sup>4,5</sup> depuis 1,5 ans et la patiente 10 est traitée depuis 3 ans avec 2 ans de RM<sup>4</sup> et 1 an de RM<sup>4,5</sup>. Ils n'ont donc pas encore, stricto sensu, les critères d'arrêt des dernières recommandations du Fi-LMC (107), même si ces dernières ne s'appliquent normalement pas à la population pédiatrique.

## 4 Discussion

La LMC de l'enfant et de l'adolescent est une pathologie rare. Chez l'adulte, cette pathologie est bien étudiée et sert de modèle pour la physiopathologie de la leucémogénèse. Cependant, concernant la population pédiatrique, le nombre d'études réalisées est moindre et les effectifs représentés dans ces études sont de tailles réduites. Trois études concernent des effectifs de plus de cent patients, celles menées par Adler et *al.* (47) avec 146 patients, Bouyer et *al.* (13) avec une cohorte française de 113 enfants et enfin Millot et *al.* avec le registre international de la LMC pédiatrique de l'enfant et de l'adolescent (I-CML-Ped-Study) qui regroupent les données de 200 enfants de 9 pays différents (38). Des caractères clinico-biologiques ont ainsi pu être mis en évidence par rapport à la population adulte comme la présence d'une leucocytose plus importante ainsi qu'une splénomégalie présente plus fréquemment et proportionnellement plus importante.

Dans notre étude, nous avons analysé les données clinico-biologiques de 14 enfants diagnostiqués en phase chronique de LMC entre 1993 et mars 2019. Nous n'avons pas inclus un enfant, diagnostiqué en janvier 2013, car ce dernier présentait une LAM avec translocation  $t(9;22)(q34;q11)$  et il est difficile de différencier une LMC acutisée d'une LA de novo.

Le sexe ratio est de 1 avec 7 garçons et 7 filles. C'est légèrement inférieur à ceux retrouvés dans les études sur les patients atteints de LMC, tant adulte que pédiatrique où le sexe ratio est plutôt autour de 1,3 – 1,5 (13).

L'âge médian au diagnostic est de 11,7 ans [1,9 – 15,8] avec seulement 2 enfants (14 %) de moins de 9 ans retrouvant ainsi une population pédiatrique touchée préférentiellement aux alentours du stade de l'adolescence conformément à ce qui est décrit dans la littérature (13)(38).

La découverte de la maladie était fortuite pour 6 patients (43 %) avec notamment pour 4 patients, une consultation initiale pour des infections ORL résultant probablement d'un dysfonctionnement des leucocytes.

Au niveau clinique, une splénomégalie médiane de 5,5 cm était retrouvée chez 11 patients (79 %). Dans l'étude de Bouyer et *al.* (13), 76,9 % des patients présentaient une splénomégalie de taille médiane sous le rebord costal de 11 cm [1 – 21]. Dans l'étude I-CML-Ped-Study (38), 76 % des patients présentaient une splénomégalie dont la taille médiane était de 8 cm [0 – 25]. Nous retrouvons ainsi une proportion de patients présentant une splénomégalie similaire aux différentes études. Cependant, on retrouve une taille médiane inférieure. Cette différence peut être expliquée par le biais que nous avons introduit lors de l'absence de mesure en centimètre du débord costal pour certains patients car nous avons estimé un travers de doigt à 1,5 cm. De plus, la mesure de la taille de la rate chez les enfants est difficile à évaluer.

Au niveau biologique, 11 enfants (79 %) présentaient un caryotype de LMC classique avec une translocation t(9;22)(q34;q11) dans la quasi-totalité des mitoses analysées. Pour 2 patients, un caryotype avec un chromosome Ph1 masqué est retrouvé tandis que pour 1 patient, une inversion du chromosome 3 est retrouvée au caryotype. La proportion de Ph1 masqué est donc légèrement supérieure aux données de la littérature (14 % vs 5 %) (47) probablement en raison du faible effectif de notre cohorte.

Concernant le type de réarrangement *BCR-ABL1*, 6 patients (43 %) exprimaient le type b2a2 (ou e13a2), 7 patients (50 %) exprimaient le type b3a2 (ou e14a2) et 1 patient co-exprimait le réarrangement b2a2 + b3a2. Nous retrouvons une prédominance de réarrangement b3a2 concordant avec la majorité des résultats dans la population adultes (25). Dans la population pédiatrique, les résultats semblent plus contrastés car ces derniers reposent le plus souvent sur de faibles effectifs mais la plupart semblent montrer une prédominance de b3a2 (13)(38). Ceci est en accord avec nos données locales adultes et enfants confondus. Sur 493 diagnostics de LMC établis au CHU de Bordeaux entre 2000 et 2017, 176 patients (36 %) ont présenté un b2a2, 270 patients (55%) un b3a2, 35 patients (7%) un réarrangement conjoint b3a2 + b2a2 et 12 patients (2 %) un transcrit atypique. La répartition en fonction des classes d'âge ne montrait pas de différence (0 – 19 ans : b2a2 : 36 % ; b3a2 : 54 % ; b2a2 + b3a2 : 9 % ; 20 - 29 ans : b2a2 : 44 % ; b3a2 : 56 % ; b2a2 + b3a2 : 0 % et > 30 ans : b2a2 : 36 % ; b3a2 : 56 % ; b2a2 + b3a2 : 7 %) (données non publiées).

Concernant la NFS, nous retrouvons une leucocytose médiane de 208,4 G/L [18,5 – 575] avec 12 patients (86 %) présentant une leucocytose > 50 G/L et même 3 patients (21 %) présentant une hyperleucocytose majeure > 500 G/L. Ce taux est comparable aux données pédiatriques où Adler et *al.* (47) montraient une leucocytose à 191,6 G/L [3,4 – 890,6], Millot et *al.* (38) une leucocytose à 250 G/L [5 – 1037] et Bouyer et *al.* (13) une leucocytose à 258,45 G/L [5,22 – 769] avec 90 % de la cohorte présentant une leucocytose > 50 G/L. Chez l'adulte, ce taux médian ne dépasse que rarement 120 G/L (50). Cette hyperleucocytose est associée à une importante myélémie (30,5 %) et un taux médian de basophiles de 4 %. Une anémie était présente chez 11 patients (79 %) avec un taux médian de 8,7 g/dL [5,4 – 13,1] et cette anémie était d'autant plus importante lorsqu'elle était associée à une splénomégalie. Des données similaires ont été montrées par Millot et *al.* en 2005 (37) avec la présence d'une anémie chez 65 % de leurs patients d'autant plus marquée lors de la présence d'une splénomégalie au diagnostic. Enfin, nous observons la présence d'une thrombocytose médiane de 502 G/L [144 – 2560] chez 8 patients (57 %), ce qui est similaire aux données des études précédemment citées (13). Ces données biologiques concordent avec les principales études sur la population pédiatrique atteinte de LMC et semble montrer la particularité de la LMC pédiatrique par rapport à la LMC de l'adulte, avec à la clinique, la présence d'une splénomégalie plus importante proportionnellement à la taille et une biologie plus marquée avec une leucocytose plus importante et la présence d'une anémie chez la majorité des patients tandis qu'elle est moins fréquente chez l'adulte.

Concernant la prise en charge thérapeutique et la réponse au traitement, on peut dire que la place de l'allogreffe avant l'ère des ITK était prépondérante tandis qu'elle est désormais réservée aux patients résistants depuis l'arrivée sur le marché des ITK. En effet, on observe parmi nos patients « pré-ITK » que 5 patients sur 6 (83 %) ont été allogreffés contre 3 patients sur 8 (38 %) après l'avènement des ITK. Le taux de survie avant l'ère des ITK était proche de 60 % (60) tant pour l'allogreffe que pour un traitement par IFN $\alpha$ . Mais avec l'arrivée des ITK, la survie globale a été évaluée à 95 % à 42 mois (38) se rapprochant de celle des adultes. Nos observations montrent 1 décès (17 %) pour les patients « pré-ITK » et 1 décès (13 %) chez les patients « ITK » mais imputable à un lymphome secondaire à son

allogreffe. Les seuls cas de transformations de la maladie ont été observés chez les enfants « pré-ITK » avec une évolution en LAL pour l'un et en sarcome granulocyttaire pour l'autre. Ces données concordent avec celles de la littérature où l'évolution de la LMC tend pour 2/3 vers une LAM et 1/3 vers une LAL. Nos observations rapportent que 3 patients sur 7 (43 %) parmi nos patients « ITK » présentent une résistance primaire aux ITK contre 30 % décrit dans la littérature (38).

Lorsque l'on s'intéresse aux différents groupes de notre cohorte, on observe parmi nos 6 patients « pré-ITK » que seul un patient (16 %) n'a pas été à l'allogreffe et est depuis 2001 en arrêt thérapeutique de son traitement par IFN $\alpha$  avec une maladie résiduelle détectable mais stable sous la RMM. Concernant les 5 patients allogreffés, 3 patients ont reçu une greffe géno-identique avec un suivi post-greffe sans complication. Pour les 2 autres patients ayant reçu une greffe phéno-identique, on note un décès et des complications neurologique post greffe pour le second patient, possiblement dû au conditionnement de la greffe par irradiation corporelle totale même si cela n'est que peu décrit dans la littérature (141). Les complications post-greffes relevées sont présentes chez les patients greffés de donneur non apparentés. Cette prédominance est également montrée dans la littérature, tant sur les populations adultes que pédiatriques (63). Concernant le patient 6, non traité par IFN $\alpha$  mais par Imatinib en hors AMM, nous l'avons placé dans ce groupe car la décision de la réalisation de l'allogreffe a été envisagée dès le diagnostic compte-tenu du profil HLA compatible de son petit frère. La durée de traitement par Imatinib et la réponse thérapeutique à moyen terme ne pouvaient être appréciées correctement.

Concernant nos 8 patients diagnostiqués depuis l'avènement des ITK, nous avons observé deux tendances nous permettant de les classer en deux sous-groupes. En effet, 4 patients ont répondu d'un point de vue moléculaire (obtention de la RMM) au traitement de 1<sup>ère</sup> ligne par Imatinib tandis que les 4 autres patients ont été traités par trois ITK différents sans pour autant atteindre le stade de RMM ou pas encore, peut-on espérer, pour le patient 14. L'ensemble des 8 patients (100%) a atteint la RHC à 3 mois. La RCC n'a été obtenue que pour 6 patients (75 %), dont les 4 patients dits « répondeurs », dans un délai de 6 à 18 mois après l'introduction du traitement. Le changement d'ITK pour nos 4 patients « non répondeurs ou



intolérants » était motivé par une intolérance au traitement lorsque le changement a été effectué dans les 6 mois suivants l'introduction de la molécule (patient 11 : arrêt du Nilotinib à 6 mois pour cytolyse hépatique et patient 14 : arrêt de l'Imatinib à 3 mois pour atteinte musculaire). Tandis que le changement d'ITK survenait après plus d'un an de traitement lorsque la RMM n'était pas atteinte avec l'ITK utilisé. L'utilisation d'ITK de 2<sup>ème</sup> génération chez nos patients « non répondeurs ou intolérants » n'a pas permis d'obtenir de RMM, pour l'instant, chez 3 des 4 patients. Le patient 14 semble commencer à répondre avec une réponse optimale à M3. Chez l'adulte, l'utilisation de ces molécules a prouvé une efficacité supérieure à l'Imatinib dans le délai d'obtention des réponses cytogénétique et moléculaires chez l'adulte (84)(90). Dans la population pédiatrique, ces résultats semblent plus contrastés. Dans l'étude menée par Wayne et *al.* (142), 9 patients (56 %) avaient présenté un bénéfice clinique lorsqu'ils étaient traités par Nilotinib, ce qui contraste un peu avec nos résultats où parmi nos 4 patients traités par Nilotinib, 2 patients ont manifesté une intolérance, 1 patient n'a pas amélioré sa réponse et le dernier est en cours de réponse. L'utilisation du Ponatinib et du Dasatinib n'a pas permis d'améliorer la réponse chez les patients ayant pris ces molécules.

Parmi les facteurs pronostiques décrits dans la littérature et permettant de prédire la réponse aux ITK, notamment l'obtention de la RMM, le pourcentage de transcrit *BCR-ABL1* (< 10 %) à M3 et la décroissance du transcrit entre M3 et M6 nous semblent être les facteurs permettant de mieux diviser nos patients dans notre cohorte. En effet, 5 patients sur 8 (63 %) ont présenté un transcrit *BCR-ABL1* < 10 % à M3 dont nos 4 patients « répondeurs » et une décroissance > 67 % a été observée chez nos 4 patients « répondeurs » (100 %) contre seulement 2 patients sur 3 (66 %) parmi le groupe des « non répondeurs ou intolérants ».

De façon intéressante, nos observations rapportent des différences biologiques entre nos deux groupes de patients traités par ITK. On remarque une NFS plus perturbée chez les patients « répondeurs » avec des taux de leucocytes et de plaquettes supérieurs au groupe des patients « non répondeurs ou intolérants », avec une leucocytose médiane de 306 G/L contre 137,7 G/L et une thrombocytose médiane de 848 G/L contre 205 G/L respectivement. Ainsi, aucun de nos patients « non répondeurs ou intolérants » ne présentait de

thrombocytose au diagnostic. Il ne s'agit que de résultats préliminaires dont il est difficile de conclure à une différence statistiquement significative compte tenu du faible effectif, mais qui inciterait à une réflexion et une investigation probablement sur de plus large cohorte. Ces données méritent d'être vérifiées mais peut être que ceci est tout simplement le reflet d'une maladie différente avec un versant plus prolifératif (chronique) chez les enfants dont les progéniteurs engagés de façon active manifesteront une sensibilité accrue aux ITK. A l'inverse, des taux de leucocytes et de plaquettes « anormalement bas » pour une phase chronique pourraient signifier une moins bonne réponse des progéniteurs aux ITK par une prolifération moindre et peut être une implication du compartiment des cellules souches plus importante chez ce groupe d'enfant.

Concernant les scores pronostiques, aucun score ne semble idéal pour appréhender cette population particulière. Seuls les scores de Sokal modifié et d'Hasford comprenaient des enfants dans leurs cohortes de patients (143) et l'utilité de ces scores pronostiques n'a pas été formellement établie dans la population pédiatrique. On ne dispose que de données limitées sur l'utilisation du score EUTOS et du nouveau score EUTOS pour la survie à long terme (ELTS) dans la population pédiatrique (143). Nos résultats ne permettent pas de classer correctement nos différents patients avec même pour le score de Sokal modifié, nos patients ITK « répondeurs » présentant un risque plus important que nos patients ITK « non répondeurs ou intolérants ». Pour le score EUTOS, l'ensemble de nos patients présentaient un risque faible de ne pas obtenir la RCC à 18 mois mais cela n'a pas été le cas pour 2 d'entre eux. Le score ELTS est peut-être celui montrant une répartition « plus adéquate » pour notre cohorte de patients traités par ITK où 2 patients sur 4 (50 %) dans le groupe des patients « non répondeurs ou intolérants » étaient classés à risque intermédiaire contre un seul (25 %) dans l'autre groupe. Dans la population adulte, le score ELTS permettrait de mieux différencier la probabilité de décès liée à la LMC que les autres scores (52). Ces différents scores ne semblent donc pas prédictifs de l'évolution de la maladie ni de la réponse au traitement dans notre population pédiatrique. Il semble nécessaire d'établir un score pronostique plus adapté à la population pédiatrique plus restreinte en terme d'âge que le score de Sokal modifié qui prend en compte une population probablement trop large de 0 à 45 ans. De plus, la présence d'une biologie plus perturbée augmente les risques des scores

or nos observations montrent que celle-ci serait associée à une meilleure réponse au traitement chez nos patients. Par ailleurs, nos calculs des scores pourraient être remis en perspective compte tenu de notre approximation concernant la taille de la rate sous le débord costal car cette mesure est présente dans l'ensemble des scores pronostiques.

Différentes études ont montré l'importance de l'observance au traitement. En effet, une réponse sous-optimale a été observée plus fréquemment chez les patients non adhérents (23,2 %) que les patients adhérents (7,3 %) (144). L'absence de réponse moléculaire adéquate peut être expliquée par une mauvaise observance (145). Nous n'avons pas observé de mauvaise observance décrites dans les dossiers de nos patients.

Concernant les effets indésirables imputables aux ITK, nous avons observé ceux classiquement décrits dans la littérature (nausées, vomissements, crampes musculaires et céphalées). Parmi nos patients traités par ITK, seul un patient (13 %) a présenté un retard de croissance. Ce retentissement a été observé pour une patiente traitée par Imatinib pendant 2,5 ans et diagnostiquée avant l'âge de 5 ans. Cependant, les circonstances cliniques sont également à mettre en perspective avec un retard de croissance intra-utérin et une mère réglée tardivement. L'allogreffe de cette patiente a de plus confirmé ce retard de croissance qui n'a été rattrapé, en partie, qu'après ajout d'hormones de croissance. Une autre patiente a été diagnostiquée avant l'âge de 5 ans dans notre cohorte sans qu'un retentissement sur la croissance staturo-pondérale soit pour le moment relevé. Il sera intéressant de suivre l'évolution de cette patiente. Le retentissement des ITK sur la croissance semble finalement moins fréquent que dans les LA, probablement en raison d'un âge plus avancé des patients diagnostiqués pour une LMC (âge de l'adolescence majoritairement).

Concernant l'arrêt de traitement, parmi les enfants non greffés avec suffisamment de recul, 1 seul des 5 enfants a eu un arrêt de traitement avec succès pour l'instant. Il s'agissait de l'arrêt d'un traitement par IFN $\alpha$  selon les critères et outils disponibles à l'époque, à savoir l'obtention d'une RCC et une RT-PCR qualitative négative depuis 2 ans (146). Cet enfant n'a pas rechuté avec toutefois une maladie résiduelle détectable mais stable. Parmi les 4 autres

patients, aucun n'a pour l'instant les critères définis selon les recommandations Fi-LMC (plus de 5 ans de traitement et 2 ans de RM<sup>4,5</sup>) même si ces dernières ne s'appliquent normalement que chez les patients diagnostiqués à l'âge adulte (107). Nous observons 1 patient traité depuis 11,5 ans par Imatinib avec une RM<sup>4</sup> stable depuis 1,5 ans seulement, 1 patient traité depuis 11 ans mais suivi à l'étranger depuis 5 ans, 1 patient traité depuis 3 ans avec 1 an de RM<sup>4,5</sup> et 2 ans de RM<sup>4</sup> et enfin 1 patient traité depuis 10 ans et en RM<sup>4,5</sup> depuis 1,5 ans (bien que le dernier dosage du transcrit BCR-ABL1 soit en RM<sup>4</sup>). Il n'existe pas de données concernant un arrêt de traitement pour la population pédiatrique dans la littérature. Il est possible qu'une durée de traitement plus importante par rapport à l'âge adulte soit nécessaire afin d'éliminer le pool de cellules souches résiduelles. Une collecte des données nationales ou internationales voire un protocole de tentative d'arrêt chez les enfants seraient intéressants afin de voir si le pourcentage de rechute est le même dans la population pédiatrique et de voir si les mêmes facteurs prédictifs de rechute sont retrouvés dans cette population.

La LMC pédiatrique est probablement une maladie un peu différente de celle de l'adulte dont les mécanismes de résistance restent à élucider afin de mieux appréhender la réponse aux ITK. Grâce à un outil plus sensible que la méthode de Sanger, le NGS, nous n'avons pas retrouvé de mutation dans le domaine TK d'*ABL1*, éliminant ce mécanisme de résistance.

D'autres mécanismes peuvent être suspectés ou pourraient être explorés comme par exemple l'instabilité génétique ou les rôles des cellules souches et du système immunitaire dans la réponse et la résistance aux ITK. Ces derniers sont peut-être différents chez l'enfant par rapport à ceux de l'adulte.

## **CONCLUSION**

La LMC pédiatrique est une pathologie rare avec une présentation qui lui est propre. L'arrivée sur le marché des ITK a relégué l'allogreffe de CSH en deuxième intention dans l'arsenal thérapeutique des patients. Cependant, malgré une efficacité prouvée, la réponse aux ITK reste discrètement inférieure dans la population pédiatrique par rapport à la population adulte et différents mécanismes de résistance restent encore à être élucidés.

## ANNEXE

	Score de Sokal	Risque Sokal	Score de Sokal < 45 ans	Risque Sokal < 45 ans	résultat Hasford	Risque Hasford	EUTOS	Risque EUTOS	EUTOS probability of no CCgR at 18 months (%)	Score ELTS	Risque ELTS
<b>Patient 1</b>	0,42	1	0,76	1	124	1	14	1	12	0,5976	1
<b>Patient 2</b>	0,57	1	1,28	3	912	2	88	3	23	1,2122	1
<b>Patient 3</b>	6,42	3	2,59	3	1609	3	41	1	16	0,6735	1
<b>Patient 4</b>	0,37	1	0,92	2	328	1	42	1	16	0,7199	1
<b>Patient 5</b>	1,26	3	1,37	3	1030	2	68	1	19	1,3704	1
<b>Patient 6</b>	1,47	3	1,82	3	1209	2	102	3	25	1,855	2
<b>Patient 7</b>	0,89	2	1,5	2	815	2	60	1	18	1,4152	1
<b>Patient 8</b>	0,72	1	0,85	2	226	1	19	1	13	0,7003	1
<b>Patient 9</b>	1,49	3	1,46	3	1399	2	76	1	21	2,1261	2
<b>Patient 10</b>	0,97	2	1,13	3	571	1	68	1	19	0,8073	1
<b>Patient 11</b>	0,41	1	0,56	1	207	1	7	1	12	1,0869	1
<b>Patient 12</b>	0,48	1	0,74	1	761	1	69	1	20	1,2918	1
<b>Patient 13</b>	1,07	2	1,51	3	1130	2	80	1	21	1,9352	2
<b>Patient 14</b>	0,75	1	1,4	2	907,3	2	69	1	20	1,8952	2
<b>Moyenne</b>	<b>1,2</b>	<b>1,8</b>	<b>1,3</b>	<b>2,3</b>	<b>802,0</b>	<b>1,6</b>	<b>57,4</b>	<b>1,3</b>	<b>18,2</b>	<b>1,2633</b>	<b>1,3</b>
<b>Médiane</b>	<b>0,8</b>	<b>1,5</b>	<b>1,3</b>	<b>2,5</b>	<b>861,2</b>	<b>2,0</b>	<b>68,0</b>	<b>1,0</b>	<b>19,0</b>	<b>1,2520</b>	<b>1,0</b>

Annexe 1 : Résumé des différents scores pronostiques des patients de notre cohorte.

Patients ITK répondeurs																				
								M3				M6				M12				
sexe	Age au diagnostic	ITK	Date J1	Dose myenne (mg/j)	Autres ITK oui (=1)/non (=2)	ITK Imatinib (=1) Nilotinib (=2) Dasatinib (=3) Ponatinib (=4)	Dose moyenne (mg/L)	Réponse cytogénétique	Réponse Moléculaire (% SI)	ELN 2013	ESMO	Réponse cytogénétique	Réponse Moléculaire	ELN 2013	ESMO	Réponse cytogénétique	Réponse Moléculaire	ELN 2013	ESMO	
Patient 7	1	11,5	Imatinib	11/05/2007	400	2	-	-	/	6,751	1	1	RCym	1,4279	2	2	Rcym	10,6678	3	3
Patient 8	2	11,8	Imatinib	10/06/2008	500	2	-	-	/	0,1814	1	1	Echec	RMM	1	1	RCC	RMM	1	1
Patient 9	2	11,5	Imatinib	17/03/2009	400	2	-	-	RCym	5,8431	1	1	RCC	0,9497	1	1	RCyP	0,4951	2	2
Patient 10	2	2,3	Imatinib	27/05/2016	200	2	-	-	RCym	2,5181	1	1	RCym	0,5337	1	1	RCC	RMM	1	1
M18				M24				M30				M36				M48				
Réponse cytogénétique	Réponse Moléculaire	ELN 2013	ESMO	Réponse cytogénétique	Réponse Moléculaire	ELN 2013	ESMO	Réponse cytogénétique	Réponse Moléculaire	ELN 2013	ESMO	Réponse cytogénétique	Réponse Moléculaire	ELN 2013	ESMO	Réponse cytogénétique	Réponse Moléculaire	ELN 2013	ESMO	
Patient 7	RCC	RMM	1	1	RCC	RMM	1	1	RCC	RMM	1	1	RCC	RMM	1	1	RCC	RMM	1	1
Patient 8	RCC	RMM	1	1	RCC	RMM	1	1	RCC	RMM	1	1	RCC	RMM	1	1	RCC	RMM	1	1
Patient 9	RCC	RMM	1	1	RCC	RMM	1	1	RCC	RMM	1	1	RCC	RMM	1	1	RCC	RMM	1	1
Patient 10	RCC	RMM	1	1	RCC	RMM	1	1	RCC	RMM	1	1								

Annexe 2 : Suivi des réponses aux traitements – patients ITK répondeurs. RC : Réponse Cytogénétique (m : mineure ; P : partielle ; C : complète) ; RMM : Réponse Moléculaire Majeure. Critères de réponse selon ELN 2013 et ESMO : 1 =réponse optimale ; 2 = en alerte ; 3 = en échec.

Patients ITK non répondeurs ou intolérants 1ère ligne de traitement																								
								M3				M6				M12				M18				
sexe	Age au diagnostic	1er ITK	Date J1	Dose myenne (mg/l)	Autres ITK oui (-1)/non (=2)	ITK Imatinib (-1)/ Nilotinib (-2)/ Dasatinib (-3)/ Ponatinib (-4)	Dose moyenne (mg/L)	Réponse cytogénétique	Réponse moléculaire	ELN 2013	ESMO	Réponse cytogénétique	Réponse moléculaire	ELN 2013	ESMO	Réponse cytogénétique	Réponse moléculaire	ELN 2013	ESMO	Réponse cytogénétique	Réponse moléculaire	ELN 2013	ESMO	
Patient 11	2	12,9	Nilotinib	12/06/2015	350	1	1 et 4	550 et 30	/	5,4473	1	1	RCC	0,4866	1	1	RCC	0,3948	2	2	RCC	0,5165	2	2
Patient 12	2	3,1	Imatinib	01/02/2008	150	1	3 et 2	45 et 300	/	11,5878	2	2	RCyP	5,2536	2	2	RCyP	3,3692	3	3	RCC	1,7003	3	3
Patient 13	1	14,5	Imatinib	19/11/2012	500	1	2 et 3	150 et 100	/	27,9693	2	2	Rcym	1,8534	2	2	RCyP	1,5494	3	3	RCyP	1,0445	3	3
Patient 14	1	15,8	Imatinib	22/12/2017	400	1	3 et 2	100 et 800	RCym	14,8694	2	2	RCym	7,043	2	2	-	57,15	3	3				
M24				M30				M36				M42				M48				M56				
Réponse cytogénétique	Réponse moléculaire	ELN 2013	ESMO	Réponse cytogénétique	Réponse moléculaire	ELN 2013	ESMO	Réponse cytogénétique	Réponse moléculaire	ELN 2013	ESMO	Réponse cytogénétique	Réponse moléculaire	ELN 2013	ESMO	Réponse cytogénétique	Réponse moléculaire	ELN 2013	ESMO	Réponse cytogénétique	Réponse moléculaire	ELN 2013	ESMO	
Patient 11	RCC	0,2603	2	2	RCC	0,1041	2	2	RCC	0,1008	2	2	Greffe				Greffe				Greffe			
Patient 12	RCC	1,3099	3	3	RCC	0,5779	2	2	RCC	0,1948	2	2	RCC	0,6405	2	2	RCC	0,5527	2	2	Greffe			
Patient 13	Greffe			Greffe				Greffe				Greffe				Greffe				Greffe				
Patient 14																								

Annexe 3 : Suivi des réponses aux traitements – patients ITK non répondeurs ou intolérants 1<sup>ère</sup> ligne de traitement. RC : Réponse Cytogénétique (m : mineure ; P : partielle ; C : complète) ; RMM : Réponse Moléculaire Majeure. Critères de réponse selon ELN 2013 et ESMO : 1 =réponse optimale ; 2 = en alerte ; 3 = en échec. Parties surlignées en bleu clair correspondent à ITK différent de la 1<sup>ère</sup> ligne.



## BIBLIOGRAPHIE

1. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Beau MML, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 19 mai 2016;127(20):2391-405.
2. Rowley JD. A New Consistent Chromosomal Abnormality in Chronic Myelogenous Leukaemia identified by Quinacrine Fluorescence and Giemsa Staining. *Nature*. juin 1973;243(5405):290-3.
3. Shtivelman E, Lifshitz B, Gale RP, Canaani E. Fused transcript of abl and bcr genes in chronic myelogenous leukaemia. *Nature*. juin 1985;315(6020):550-4.
4. de la Fuente J, Baruchel A, Biondi A, de Bont E, Dresse M-F, Suttorp M, et al. Managing children with chronic myeloid leukaemia (CML): recommendations for the management of CML in children and young people up to the age of 18 years. *Br J Haematol*. oct 2014;167(1):33-47.
5. Millot F, Guilhot J, Baruchel A, Petit A, Bertrand Y, Mazingue F, et al. Impact of early molecular response in children with chronic myeloid leukemia treated in the French Glivec phase 4 study. *Blood*. 9 oct 2014;124(15):2408-10.
6. Millot F, Baruchel A, Guilhot J, Petit A, Leblanc T, Bertrand Y, et al. Imatinib is effective in children with previously untreated chronic myelogenous leukemia in early chronic phase: results of the French national phase IV trial. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 10 juill 2011;29(20):2827-32.
7. Hughes TP, Hochhaus A, Branford S, Müller MC, Kaeda JS, Feroni L, et al. Long-term prognostic significance of early molecular response to imatinib in newly diagnosed chronic myeloid leukemia: an analysis from the International Randomized Study of Interferon and STI571 (IRIS). *Blood*. 11 nov 2010;116(19):3758-65.
8. Hochhaus A, Larson RA, Guilhot F, Radich JP, Branford S, Hughes TP, et al. Long-Term Outcomes of Imatinib Treatment for Chronic Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 09 2017;376(10):917-27.
9. Hehlmann R, Hochhaus A, Baccarani M, European LeukemiaNet. Chronic myeloid leukaemia. *Lancet Lond Engl*. 28 juill 2007;370(9584):342-50.
10. Estimation nationale de l'incidence des cancers en France entre 1980 et 2012 / 2013 / Maladies chroniques et traumatismes / Rapports et synthèses / Publications et outils / Accueil [Internet]. <http://invs.santepubliquefrance.fr/Publications-et-outils/Rapports-et-syntheses/Maladies-chroniques-et-traumatismes/2013/Estimation-nationale-de-l-incidence-des-cancers-en-France-entre-1980-et-2012>

11. Rohrbacher M, Hasford J. Epidemiology of chronic myeloid leukaemia (CML). *Best Pract Res Clin Haematol.* sept 2009;22(3):295-302.
12. Bower H, Björkholm M, Dickman PW, Höglund M, Lambert PC, Andersson TM-L. Life Expectancy of Patients With Chronic Myeloid Leukemia Approaches the Life Expectancy of the General Population. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 20 2016;34(24):2851-7.
13. Bouyer S. La leucémie myéloïde chronique de l'enfant et de l'adolescent : caractéristiques biologiques et cliniques au diagnostic. 2017;07:3.
14. Suttorp M, Millot F. Treatment of pediatric chronic myeloid leukemia in the year 2010: use of tyrosine kinase inhibitors and stem-cell transplantation. *Hematol Am Soc Hematol Educ Program.* 2010;2010:368-76.
15. Deininger MW, Bose S, Gora-Tybor J, Yan XH, Goldman JM, Melo JV. Selective induction of leukemia-associated fusion genes by high-dose ionizing radiation. *Cancer Res.* 1 févr 1998;58(3):421-5.
16. Nowell PC. The minute chromosome (Ph1) in chronic granulocytic leukemia. *Blut.* avr 1962;8:65-6.
17. Groffen J, Stephenson JR, Heisterkamp N, de Klein A, Bartram CR, Grosveld G. Philadelphia chromosomal breakpoints are clustered within a limited region, bcr, on chromosome 22. *Cell.* janv 1984;36(1):93-9.
18. Ravinet A, Gay Belille M, Lemal R, Veronese L, Bay J-O, Prie N. [Physiopathological, diagnostic and therapeutic impacts of chromosomal translocations in hematological malignancies]. *Bull Cancer (Paris).* déc 2011;98(12):1403-18.
19. Rejali L, Poopak B, Hasanzad M, Sheikhsofla F, Varnoosfaderani AS, Safari N, et al. Characterizing of Four Common BCR-ABL Kinase Domain Mutations (T315I, Y253H, M351T and E255K) in Iranian Chronic Myelogenous Leukemia Patients With Imatinib Resistance. *Iran J Cancer Prev.* mai 2015;8(3):e2334.
20. Masson E. Leucémie myéloïde chronique [Internet]. EM-Consulte. <http://www.em-consulte.com/article/35751/leucemie-myeloide-chronique>
21. Sorel N, Cayssials É, Brizard F, Chomel J-C. Treatment and molecular monitoring update in chronic myeloid leukemia management. *Ann Biol Clin (Paris).* 2017;34(2):129–145.
22. Deininger MWN, Goldman JM, Melo JV. The molecular biology of chronic myeloid leukemia. 2000;96(10):15.
23. Leucémie myéloïde chronique - ScienceDirect [Internet]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1638621305000078>

24. Lichty BD, Kamel-Reid S. Exon-skipping in BCR/ABL is induced by ABL exon 2. *Biochem J.* 15 mai 2000;348 Pt 1:63-9.
25. Salessé S, Verfaillie CM. BCR/ABL: from molecular mechanisms of leukemia induction to treatment of chronic myelogenous leukemia. *Oncogene.* déc 2002;21(56):8547-59.
26. Laboratoire d'Hématologie Cellulaire du CHU d'Angers [Internet]. <http://www.hematocell.fr/index.php/enseignement-de-lhematologie-cellulaire/60-enseignement-de-lhematologie-cellulaire-les-principales-maladies-hematologiques/pathologie-granulocytaire-syndromes-myeloproliferatifs/105-leucemie-myeleide-chronique>
27. Gordon MY, Dowding CR, Riley GP, Goldman JM, Greaves MF. Altered adhesive interactions with marrow stroma of haematopoietic progenitor cells in chronic myeloid leukaemia. *Nature.* 23 juill 1987;328(6128):342-4.
28. Steelman LS, Pohnert SC, Shelton JG, Franklin RA, Bertrand FE, McCubrey JA. JAK/STAT, Raf/MEK/ERK, PI3K/Akt and BCR-ABL in cell cycle progression and leukemogenesis. *Leukemia.* févr 2004;18(2):189-218.
29. Kuribara R, Honda H, Matsui H, Shinjyo T, Inukai T, Sugita K, et al. Roles of Bim in apoptosis of normal and Bcr-Abl-expressing hematopoietic progenitors. *Mol Cell Biol.* juill 2004;24(14):6172-83.
30. Dai Z, Quackenbush RC, Courtney KD, Grove M, Cortez D, Reuther GW, et al. Oncogenic Abl and Src tyrosine kinases elicit the ubiquitin-dependent degradation of target proteins through a Ras-independent pathway. *Genes Dev.* 15 mai 1998;12(10):1415-24.
31. Deutsch E, Dugray A, AbdulKarim B, Marangoni E, Maggiorella L, Vaganay S, et al. BCR-ABL down-regulates the DNA repair protein DNA-PKcs. *Blood.* 1 avr 2001;97(7):2084-90.
32. Turhan A. Biologie de la protéine de fusion BCR-ABL : progrès récents. *Hématologie.* 14 mars 2002;8(1):35-45.
33. Penserga ETP, Skorski T. Fusion tyrosine kinases: a result and cause of genomic instability. *Oncogene.* 4 janv 2007;26(1):11-20.
34. Baccarani M, Deininger MW, Rosti G, Hochhaus A, Soverini S, Apperley JF, et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood.* 8 août 2013;122(6):872-84.
35. Hijjiya N, Schultz KR, Metzler M, Millot F, Suttorp M. Pediatric chronic myeloid leukemia is a unique disease that requires a different approach. *Blood.* 28 janv 2016;127(4):392-9.
36. Hasford J, Pfirrmann M, Hehlmann R, Allan NC, Baccarani M, Kluin-Nelemans JC, et al. A new prognostic score for survival of patients with chronic myeloid leukemia treated with

interferon alfa. Writing Committee for the Collaborative CML Prognostic Factors Project Group. *J Natl Cancer Inst.* 3 juin 1998;90(11):850-8.

37. Millot F, Traore P, Guilhot J, Nelken B, Leblanc T, Leverger G, et al. Clinical and biological features at diagnosis in 40 children with chronic myeloid leukemia. *Pediatrics.* juill 2005;116(1):140-3.

38. Millot F, Suttorp M, Guilhot J, Sedlacek P, Bont ESD, Li CK, et al. The International Registry for Chronic Myeloid Leukemia (CML) in Children and Adolescents (I-CML-Ped-Study): Objectives and Preliminary Results. *Blood.* 16 nov 2012;120(21):3741-3741.

39. Wang W, Cortes JE, Tang G, Khoury JD, Wang S, Bueso-Ramos CE, et al. Risk stratification of chromosomal abnormalities in chronic myelogenous leukemia in the era of tyrosine kinase inhibitor therapy. *Blood.* 02 2016;127(22):2742-50.

40. Baccarani M, Cortes J, Pane F, Niederwieser D, Saglio G, Apperley J, et al. Chronic Myeloid Leukemia: An Update of Concepts and Management Recommendations of European LeukemiaNet. *J Clin Oncol.* 10 déc 2009;27(35):6041-51.

41. filmc [Internet]. <http://www.lmc-cml.org/fr/pag13-Signes-biologiques-et-bilans.html>

42. La technique PCR — Wiki Auréa [Internet]. [https://wiki.aurea.eu/index.php/La\\_technique\\_PCR](https://wiki.aurea.eu/index.php/La_technique_PCR)

43. La PCR quantitative - Principe de la PCR quantitative [Internet]. <http://www.supagro.fr/ress-tice/PCR/3/co/principe.html>

44. rtPCR - Urgup.kapook.co [Internet]. <http://urgup.kapook.co/rtPCR/>

45. Aurer I, Butturini A, Gale RP. BCR-ABL rearrangements in children with Philadelphia chromosome-positive chronic myelogenous leukemia. *Blood.* 1 nov 1991;78(9):2407-10.

46. Hasan SK, Sazawal S, Kumar B, Chaubey R, Mishra P, Mir R, et al. Childhood CML in India: b2a2 transcript is more common than b3a2. *Cancer Genet Cytogenet.* août 2006;169(1):76-7.

47. Adler R, Viehmann S, Kuhlisch E, Martiniak Y, Röttgers S, Harbott J, et al. Correlation of BCR/ABL transcript variants with patients' characteristics in childhood chronic myeloid leukaemia. *Eur J Haematol.* 1 févr 2009;82(2):112-8.

48. Sokal JE, Cox EB, Baccarani M, Tura S, Gomez GA, Robertson JE, et al. Prognostic discrimination in « good-risk » chronic granulocytic leukemia. *Blood.* avr 1984;63(4):789-99.

49. Sokal JE, Baccarani M, Tura S, Fiacchini M, Cervantes F, Rozman C, et al. Prognostic discrimination among younger patients with chronic granulocytic leukemia: relevance to bone marrow transplantation. *Blood.* déc 1985;66(6):1352-7.

50. Hasford J, Pfirrmann M, Hehlmann R, Allan NC, Baccarani M, Kluijn-Nelemans JC, et al. A new prognostic score for survival of patients with chronic myeloid leukemia treated with

interferon alfa. Writing Committee for the Collaborative CML Prognostic Factors Project Group. *J Natl Cancer Inst.* 3 juin 1998;90(11):850-8.

51. Hasford J, Baccarani M, Hoffmann V, Guilhot J, Saussele S, Rosti G, et al. Predicting complete cytogenetic response and subsequent progression-free survival in 2060 patients with CML on imatinib treatment: the EUTOS score. *Blood.* 21 juill 2011;118(3):686-92.

52. Pfirrmann M, Baccarani M, Saussele S, Guilhot J, Cervantes F, Ossenkoppele G, et al. Prognosis of long-term survival considering disease-specific death in patients with chronic myeloid leukemia. *Leukemia.* janv 2016;30(1):48-56.

53. Gurrea Salas D, Glauche I, Tauer JT, Thiede C, Suttorp M. Can prognostic scoring systems for chronic myeloid leukemia as established in adults be applied to pediatric patients? *Ann Hematol.* août 2015;94(8):1363-71.

54. Tanizawa A. Optimal management for pediatric chronic myeloid leukemia. *Pediatr Int Off J Jpn Pediatr Soc.* mars 2016;58(3):171-9.

55. Mahon F-X, Réa D, Guilhot J, Guilhot F, Huguet F, Nicolini F, et al. Discontinuation of imatinib in patients with chronic myeloid leukaemia who have maintained complete molecular remission for at least 2 years: the prospective, multicentre Stop Imatinib (STIM) trial. *Lancet Oncol.* nov 2010;11(11):1029-35.

56. Sacchi S, Kantarjian HM, Smith TL, O'Brien S, Pierce S, Kornblau S, et al. Early treatment decisions with interferon-alfa therapy in early chronic-phase chronic myelogenous leukemia. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* mars 1998;16(3):882-9.

57. Guilhot F, Chastang C, Michallet M, Guerci A, Harousseau JL, Maloisel F, et al. Interferon alfa-2b combined with cytarabine versus interferon alone in chronic myelogenous leukemia. French Chronic Myeloid Leukemia Study Group. *N Engl J Med.* 24 juill 1997;337(4):223-9.

58. Palandri F, Castagnetti F, Iacobucci I, Martinelli G, Amabile M, Gugliotta G, et al. The response to imatinib and interferon- $\alpha$  is more rapid than the response to imatinib alone: a retrospective analysis of 495 Philadelphia-positive chronic myeloid leukemia patients in early chronic phase. *Haematologica.* 1 août 2010;95(8):1415-9.

59. Nicolini FE, Etienne G, Dubruille V, Roy L, Huguet F, Legros L, et al. Nilotinib and peginterferon alfa-2a for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukaemia (NiloPeg): a multicentre, non-randomised, open-label phase 2 study. *Lancet Haematol.* janv 2015;2(1):e37-46.

60. Giona F, Moleti ML, Del Giudice I, Testi AM, Diverio D, De Cuià MR, et al. Long-term follow-up of Philadelphia chromosome-positive (Ph) chronic myeloid leukaemia (CML) in children and adolescents managed at a single institution over a 20-year period. *Br J Haematol.* sept 2005;130(6):970-2.

61. Results of a phase II trial testing interferon-alpha 2b and cytarabine in children and adolescents with chronic myelogenous leukemia. - Semantic Scholar [Internet]. <https://www.semanticscholar.org/paper/Results-of-a-phase-II-trial-testing-2b-and-in-and-Millot-Guilhot/91fdadb1b7283a458967880471a9f2f3292eb341>
62. Eapen M, Logan BR, Appelbaum FR, Antin JH, Anasetti C, Couriel DR, et al. Long-term survival after transplantation of unrelated donor peripheral blood or bone marrow hematopoietic cells for hematologic malignancy. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. janv 2015;21(1):55-9.
63. Millot F, Esperou H, Bordigoni P, Dalle J-H, Michallet M, Michel G, et al. Allogeneic bone marrow transplantation for chronic myeloid leukemia in childhood: a report from the Société Française de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire (SFGM-TC). *Bone Marrow Transplant*. nov 2003;32(10):993-9.
64. Cwynarski K, Roberts IAG, Iacobelli S, van Biezen A, Brand R, Devergie A, et al. Stem cell transplantation for chronic myeloid leukemia in children. *Blood*. 15 août 2003;102(4):1224-31.
65. Druker BJ, Guilhot F, O'Brien SG, Gathmann I, Kantarjian H, Gattermann N, et al. Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 7 déc 2006;355(23):2408-17.
66. Imatinib: A Breakthrough of Targeted Therapy in Cancer [Internet]. <https://www.hindawi.com/journals/cherp/2014/357027/>
67. Druker BJ, Tamura S, Buchdunger E, Ohno S, Segal GM, Fanning S, et al. Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells. *Nat Med*. mai 1996;2(5):561-6.
68. Mughal TI, Goldman JM. Molecularly targeted treatment of chronic myeloid leukemia: beyond the imatinib era. *Front Biosci J Virtual Libr*. 1 janv 2006;11:209-20.
69. Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, Peng B, Buchdunger E, Ford JM, et al. Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 5 avr 2001;344(14):1031-7.
70. O'Brien SG, Guilhot F, Larson RA, Gathmann I, Baccarani M, Cervantes F, et al. Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 13 mars 2003;348(11):994-1004.
71. Hochhaus A, O'Brien SG, Guilhot F, Druker BJ, Branford S, Foroni L, et al. Six-year follow-up of patients receiving imatinib for the first-line treatment of chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. juin 2009;23(6):1054-61.

72. Champagne MA, Fu CH, Chang M, Chen H, Gerbing RB, Alonzo TA, et al. Higher dose imatinib for children with de novo chronic phase chronic myelogenous leukemia: a report from the Children's Oncology Group. *Pediatr Blood Cancer*. 15 juill 2011;57(1):56-62.
73. Debourdeau P, Stancu A, Debourdeau V, Serin D. Allongement de l'intervalle QT secondaire aux inhibiteurs des tyrosines-kinases. *Oncologie*. 1 janv 2016;18(1):47-54.
74. Picard S, Titier K, Etienne G, Teillet E, Ducint D, Bernard M-A, et al. Trough imatinib plasma levels are associated with both cytogenetic and molecular responses to standard-dose imatinib in chronic myeloid leukemia. *Blood*. 15 avr 2007;109(8):3496-9.
75. Champagne MA, Capdeville R, Krailo M, Qu W, Peng B, Rosamilia M, et al. Imatinib mesylate (STI571) for treatment of children with Philadelphia chromosome-positive leukemia: results from a Children's Oncology Group phase 1 study. *Blood*. 1 nov 2004;104(9):2655-60.
76. Millot F, Guilhot J, Nelken B, Leblanc T, De Bont ES, Békassy AN, et al. Imatinib mesylate is effective in children with chronic myelogenous leukemia in late chronic and advanced phase and in relapse after stem cell transplantation. *Leukemia*. févr 2006;20(2):187-92.
77. Millot F, Guilhot J, Baruchel A, Petit A, Leblanc T, Bertrand Y, et al. Growth deceleration in children treated with imatinib for chronic myeloid leukaemia. *Eur J Cancer Oxf Engl 1990*. déc 2014;50(18):3206-11.
78. Shima H, Tokuyama M, Tanizawa A, Tono C, Hamamoto K, Muramatsu H, et al. Distinct impact of imatinib on growth at prepubertal and pubertal ages of children with chronic myeloid leukemia. *J Pediatr*. oct 2011;159(4):676-81.
79. Tauer JT, Hofbauer LC, Jung R, Gerdes S, Glauche I, Erben RG, et al. Impact of Long-Term Exposure to the Tyrosine Kinase Inhibitor Imatinib on the Skeleton of Growing Rats. *PLoS ONE* [Internet]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4479438/>
80. Vandyke K, Fitter S, Dewar AL, Hughes TP, Zannettino ACW. Dysregulation of bone remodeling by imatinib mesylate. *Blood*. 28 janv 2010;115(4):766-74.
81. Jaeger BAS, Tauer JT, Ulmer A, Kuhlisch E, Roth HJ, Suttorp M. Changes in bone metabolic parameters in children with chronic myeloid leukemia on imatinib treatment. *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res*. déc 2012;18(12):CR721-728.
82. Narayanan KR, Bansal D, Walia R, Sachdeva N, Bhansali A, Varma N, et al. Growth failure in children with chronic myeloid leukemia receiving imatinib is due to disruption of GH/IGF-1 axis. *Pediatr Blood Cancer*. juill 2013;60(7):1148-53.
83. Rastogi MV, Stork L, Druker B, Blasdel C, Nguyen T, Boston BA. Imatinib mesylate causes growth deceleration in pediatric patients with chronic myelogenous leukemia. *Pediatr Blood Cancer*. nov 2012;59(5):840-5.

84. Giles FJ, Rosti G, Beris P, Clark RE, le Coutre P, Mahon F-X, et al. Nilotinib is superior to imatinib as first-line therapy of chronic myeloid leukemia: the ENESTnd study. *Expert Rev Hematol*. déc 2010;3(6):665-73.
85. Al-Jafar HA, Al-Mulla A, AlDallal S, Buhamad JH, Askar H. Successful Nilotinib Treatment in a Child with Chronic Myeloid Leukemia. *Case Rep Oncol*. 3 mars 2015;8(1):122-7.
86. Shah RR, Morganroth J, Shah DR. Cardiovascular safety of tyrosine kinase inhibitors: with a special focus on cardiac repolarisation (QT interval). *Drug Saf*. mai 2013;36(5):295-316.
87. Rea D, Ame S, Charbonnier A, Coiteux V, Cony-Makhoul P, Escoffre-Barbe M, et al. [Management of the cardiovascular disease risk during nilotinib treatment in chronic myeloid leukemia: 2015 recommendations from the France Intergroupe des Leucémies Myéloïdes Chroniques]. *Bull Cancer (Paris)*. févr 2016;103(2):180-9.
88. anx\_137917\_fr.pdf [Internet]. [https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2017/20170524137917/anx\\_137917\\_fr.pdf](https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2017/20170524137917/anx_137917_fr.pdf)
89. Le Coutre P, Rea D, Abruzzese E, Dombret H, Trawinska MM, Herndlhofer S, et al. Severe peripheral arterial disease during nilotinib therapy. *J Natl Cancer Inst*. 7 sept 2011;103(17):1347-8.
90. Kantarjian HM, Shah NP, Cortes JE, Baccarani M, Agarwal MB, Undurraga MS, et al. Dasatinib or imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia: 2-year follow-up from a randomized phase 3 trial (DASISION). *Blood*. 2 févr 2012;119(5):1123-9.
91. Conchon M, Freitas CMB de M, Rego MA do C, Braga Junior JWR. Dasatinib - clinical trials and management of adverse events in imatinib resistant/intolerant chronic myeloid leukemia. *Rev Bras Hematol E Hemoter*. 2011;33(2):131-9.
92. Andolina JR, Neudorf SM, Corey SJ. How I treat childhood CML. *Blood*. 23 févr 2012;119(8):1821-30.
93. Aplenc R, Blaney SM, Strauss LC, Balis FM, Shusterman S, Ingle AM, et al. Pediatric phase I trial and pharmacokinetic study of dasatinib: a report from the children's oncology group phase I consortium. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 mars 2011;29(7):839-44.
94. Zwaan CM, Rizzari C, Mechinaud F, Lancaster DL, Lehrnbecher T, van der Velden VHJ, et al. Dasatinib in children and adolescents with relapsed or refractory leukemia: results of the CA180-018 phase I dose-escalation study of the Innovative Therapies for Children with Cancer Consortium. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 juill 2013;31(19):2460-8.
95. Brümmendorf TH, Cortes JE, de Souza CA, Guilhot F, Duvillié L, Pavlov D, et al. Bosutinib versus imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukaemia:



results from the 24-month follow-up of the BELA trial. *Br J Haematol.* janv 2015;168(1):69-81.

96. Bouchet S, Poulette S, Molimard M. Dosage plasmatique des inhibiteurs de tyrosine kinase. :2.

97. VIDAL - Ponatinib [Internet]. <https://www.vidal.fr/substances/23899/ponatinib/>

98. Lipton JH, Chuah C, Guerci-Bresler A, Rosti G, Simpson D, Assouline S, et al. Ponatinib versus imatinib for newly diagnosed chronic myeloid leukaemia: an international, randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 1 mai 2016;17(5):612-21.

99. Müller MC, Cervantes F, Hjorth-Hansen H, Janssen JJWM, Milojkovic D, Rea D, et al. Ponatinib in chronic myeloid leukemia (CML): Consensus on patient treatment and management from a European expert panel. *Crit Rev Oncol Hematol.* 1 déc 2017;120:52-9.

100. Schoepfer J, Jahnke W, Berellini G, Buonamici S, Cotesta S, Cowan-Jacob SW, et al. Discovery of Asciminib (ABL001), an Allosteric Inhibitor of the Tyrosine Kinase Activity of BCR-ABL1. *J Med Chem.* 27 sept 2018;61(18):8120-35.

101. Rousselot P, Prost S, Guilhot J, Roy L, Etienne G, Legros L, et al. Pioglitazone together with imatinib in chronic myeloid leukemia: A proof of concept study. *Cancer.* 15 2017;123(10):1791-9.

102. Leucémie Myéloïde Chronique [Internet]. <https://www.hybrigenics.com/contents/inecalcitol/leucemie-myeloide-chronique>

103. Brück O, Blom S, Dufva O, Turkki R, Chheda H, Ribeiro A, et al. Immune cell contexture in the bone marrow tumor microenvironment impacts therapy response in CML. *Leukemia.* juill 2018;32(7):1643-56.

104. Avelumab.pdf [Internet]. [https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2017/20170918138675/anx\\_138675\\_fr.pdf](https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2017/20170918138675/anx_138675_fr.pdf)

105. Chronic Myeloid Leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines | ESMO [Internet]. <https://www.esmo.org/Guidelines/Haematological-Malignancies/Chronic-Myeloid-Leukaemia>

106. Radich JP. How I monitor residual disease in chronic myeloid leukemia. *Blood.* 15 oct 2009;114(16):3376-81.

107. Preudhomme C, Cayuela J-M, Chomel J-C, Corm S, Hayette S, Mahon F-X, et al. Management of positive Philadelphia chromosome leukemia with ABL point mutations : recommendations from the FI-LMC group. *Hématologie.* 1 janv 2010;16(1):65-79.

108. Baccarani M, Cortes J, Pane F, Niederwieser D, Saglio G, Apperley J, et al. Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendations of European LeukemiaNet. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 10 déc 2009;27(35):6041-51.

109. fi-lmc6emejourneeverisiondefinitive2.pdf [Internet].  
<http://proxy.siteo.com.s3.amazonaws.com/www.lmc-cml.org/file/fi-lmc6emejourneeverisiondefinitive2.pdf>
110. Branford S. Monitoring and defining early response: Where to draw the line? *Best Pract Res Clin Haematol.* 2016;29(3):284-94.
111. Preudhomme C, Cayuela J-M, Chomel J-C, Corm S, Hayette S, Mahon F-X, et al. Recommandations du groupe FI-LMC pour la prise en charge des patients présentant des mutations du domaine tyrosine kinase de BCR-ABL dans les hémopathies malignes à chromosome Philadelphie. *Hématologie.* 1 janv 2010;16(1):65-79.
112. Apperley JF. Part I: mechanisms of resistance to imatinib in chronic myeloid leukaemia. *Lancet Oncol.* nov 2007;8(11):1018-29.
113. Crossman LC, Druker BJ, Deininger MWN. hOCT 1 and resistance to imatinib. *Blood.* 1 août 2005;106(3):1133-4.
114. Dulucq S, Bouchet S, Turcq B, Lippert E, Etienne G, Reiffers J, et al. Multidrug resistance gene (MDR1) polymorphisms are associated with major molecular responses to standard-dose imatinib in chronic myeloid leukemia. *Blood.* 1 sept 2008;112(5):2024-7.
115. Zu B, Li Y, Wang X, He D, Huang Z, Feng W. MDR1 gene polymorphisms and imatinib response in chronic myeloid leukemia: a meta-analysis. *Pharmacogenomics.* avr 2014;15(5):667-77.
116. Mahon F-X, Hayette S, Lagarde V, Belloc F, Turcq B, Nicolini F, et al. Evidence that resistance to nilotinib may be due to BCR-ABL, Pgp, or Src kinase overexpression. *Cancer Res.* 1 déc 2008;68(23):9809-16.
117. Mahon FX, Deininger MW, Schultheis B, Chabrol J, Reiffers J, Goldman JM, et al. Selection and characterization of BCR-ABL positive cell lines with differential sensitivity to the tyrosine kinase inhibitor ST1571: diverse mechanisms of resistance. *Blood.* 1 août 2000;96(3):1070-9.
118. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci.* 1 déc 1977;74(12):5463-7.
119. Le séquençage d'un ADN [Internet]. Planet-Vie. <http://planet-vie.ens.fr/article/1485/sequencage-adn>
120. Sanger Sequencing BackgrounderFR.pdf [Internet].  
<https://explorecuriocyte.org/Portals/2/themes/biotechnology/Sanger%20Sequencing%20BackgrounderFR.pdf>

121. Hirase C, Maeda Y, Takai S, Kanamaru A. Hypersensitivity of Ph-positive lymphoid cell lines to rapamycin: Possible clinical application of mTOR inhibitor. *Leuk Res.* mars 2009;33(3):450-9.
122. Baer C, Kern W, Koch S, Nadarajah N, Schindela S, Meggendorfer M, et al. Ultra-deep sequencing leads to earlier and more sensitive detection of the tyrosine kinase inhibitor resistance mutation T315I in chronic myeloid leukemia. *Haematologica.* 2016;101(7):830-8.
123. Lacoste C, Fabre A, Pécheux C, Lévy N, Krahn M, Malzac P, et al. Le séquençage d'ADN à haut débit en pratique clinique. *Arch Pédiatrie.* 1 avr 2017;24(4):373-83.
124. Mardis ER. The impact of next-generation sequencing technology on genetics. *Trends Genet TIG.* mars 2008;24(3):133-41.
125. Matthijs G, Souche E, Alders M, Corveleyn A, Eck S, Feenstra I, et al. Guidelines for diagnostic next-generation sequencing. *Eur J Hum Genet.* janv 2016;24(1):2-5.
126. Imatinib mesylate discontinuation in patients with chronic myelogenous leukemia in complete molecular remission for more than 2 years. - PubMed - NCBI [Internet]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16973963>
127. Ross DM, Branford S, Seymour JF, Schwarzer AP, Arthur C, Yeung DT, et al. Safety and efficacy of imatinib cessation for CML patients with stable undetectable minimal residual disease: results from the TWISTER study. *Blood.* 25 juill 2013;122(4):515-22.
128. Saussele S, Richter J, Guilhot J, Gruber FX, Hjorth-Hansen H, Almeida A, et al. Discontinuation of tyrosine kinase inhibitor therapy in chronic myeloid leukaemia (EURO-SKI): a prespecified interim analysis of a prospective, multicentre, non-randomised, trial. *Lancet Oncol.* juin 2018;19(6):747-57.
129. Rea D, Nicolini FE, Tulliez M, Guilhot F, Guilhot J, Guerci-Bresler A, et al. Discontinuation of dasatinib or nilotinib in chronic myeloid leukemia: interim analysis of the STOP 2G-TKI study. *Blood.* 16 févr 2017;129(7):846-54.
130. Guilhot F, Roy L, Saulnier P-J, Guilhot J. Interferon in chronic myeloid leukaemia: past and future. *Best Pract Res Clin Haematol.* 1 sept 2009;22(3):315-29.
131. Notz-Carrere A. Leucémie Myéloïde Chronique : particularités chez l'enfant. 1996.
132. chap-19\_fondamentaux-pathologie-digestive\_octobre-2014.pdf [Internet]. [https://www.snfge.org/sites/default/files/SNFGE/Formation/chap-19\\_fondamentaux-pathologie-digestive\\_octobre-2014.pdf](https://www.snfge.org/sites/default/files/SNFGE/Formation/chap-19_fondamentaux-pathologie-digestive_octobre-2014.pdf)
133. Calculation of Relative Risk of CML Patients [Internet]. [https://www.leukemia-net.org/content/leukemias/cml/euro\\_\\_and\\_sokal\\_score/index\\_eng.htm](https://www.leukemia-net.org/content/leukemias/cml/euro__and_sokal_score/index_eng.htm)
134. BloodRef – hematology reference › CML EUTOS score calculator [Internet]. <http://bloodref.com/myeloid/cml/eutos>

135. Gabert J, Beillard E, van der Velden VHJ, Bi W, Grimwade D, Pallisgaard N, et al. Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia – A Europe Against Cancer Program. *Leukemia*. déc 2003;17(12):2318-57.
136. Cross NCP, White HE, Colomer D, Ehrencrona H, Foroni L, Gottardi E, et al. Laboratory recommendations for scoring deep molecular responses following treatment for chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. mai 2015;29(5):999-1003.
137. Dulucq S, Etienne G, Morisset S, Klein E, Chollet C, Robbesyn F, et al. Impact of second decline rate of BCR-ABL1 transcript on clinical outcome of chronic phase chronic myeloid leukemia patients on imatinib first-line. *Ann Hematol*. 23 févr 2019;
138. Branford S, Rudzki Z, Walsh S, Grigg A, Arthur C, Taylor K, et al. High frequency of point mutations clustered within the adenosine triphosphate-binding region of BCR/ABL in patients with chronic myeloid leukemia or Ph-positive acute lymphoblastic leukemia who develop imatinib (STI571) resistance. *Blood*. 1 mai 2002;99(9):3472-5.
139. Bonifazi F, Vivo A de, Rosti G, Guilhot F, Guilhot J, Trabacchi E, et al. Chronic myeloid leukemia and interferon- $\alpha$ : a study of complete cytogenetic responders. *Blood*. 15 nov 2001;98(10):3074-81.
140. glivec\_-\_ct-6889.pdf [Internet]. [https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2009-10/glivec\\_-\\_ct-6889.pdf](https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2009-10/glivec_-_ct-6889.pdf)
141. Belkacémi Y, Rio B, Touboul E. Irradiation corporelle totale: techniques, dosimétrie et complications. *Cancer/Radiothérapie*. 1 mars 1999;3(2):162-71.
142. Wayne AS, Macedo CR, Szczudlo T, Woodman RC. Nilotinib Treatment in Pediatric Patients (pts) with Philadelphia Chromosome- Positive (Ph+) Leukemia Refractory to Prior Tyrosine Kinase Inhibitor (TKI) Therapy: Results from Nilotinib Compassionate Use Program. *Blood*. 16 nov 2008;112(11):4264-4264.
143. Millot F, Guilhot J, Suttorp M, Güneş AM, Sedlacek P, De Bont E, et al. Prognostic discrimination based on the EUTOS long-term survival score within the International Registry for Chronic Myeloid Leukemia in children and adolescents. *Haematologica*. oct 2017;102(10):1704-8.
144. Noens L, Lierde M-A van, Bock RD, Verhoef G, Zachée P, Berneman Z, et al. Prevalence, determinants, and outcomes of nonadherence to imatinib therapy in patients with chronic myeloid leukemia: the ADAGIO study. *Blood*. 28 mai 2009;113(22):5401-11.
145. Marin D, Bazeos A, Mahon F-X, Eliasson L, Milojkovic D, Bua M, et al. Adherence Is the Critical Factor for Achieving Molecular Responses in Patients With Chronic Myeloid Leukemia Who Achieve Complete Cytogenetic Responses on Imatinib. *J Clin Oncol*. 12 avr 2010;28(14):2381-8.

146. Reiffers J, Mahon F-X. Leucémie myéloïde chronique : étude critique des essais thérapeutiques de l'interféron-alpha recombinant et analyse des facteurs de pronostic. *Hématologie*. 23 juill 1999;5(3):225-32.

## **SERMENT DE GALIEN**

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

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

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

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.