



HAL
open science

A propos d'une expérience en vie réelle du vénétoclax chez le patient unfit

Loïc Osanno

► **To cite this version:**

Loïc Osanno. A propos d'une expérience en vie réelle du vénétoclax chez le patient unfit. Sciences pharmaceutiques. 2023. dumas-04227068

HAL Id: dumas-04227068

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04227068v1>

Submitted on 3 Oct 2023

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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0
International License

THÈSE D'EXERCICE
DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES
DE PHARMACIE HOSPITALIÈRE
PHASE D'APPROFONDISSEMENT

Soutenue le 22 septembre 2023

Par M. Loïc Osanno

Né(e) le 25 décembre 1994

Conformément aux dispositions du décret n°2019-2020 du 04 octobre
2019

----oOo----

TITRE :

**A propos d'une expérience en vie réelle du vénétoclax chez le
patient unfit**

----oOo----

JURY :

Président : Mme le Professeur Caroline SOLAS

Membres : Mme le Docteur Raphaëlle FANCIULLINO (Directrice de Thèse)

M. le Docteur Charléric BORNET

M. le Docteur Geoffroy VENTON

M. le Professeur Joseph CICCOLINI

27 Boulevard Jean Moulin – 13385 MARSEILLE Cedex 05
Tel. : 04 91 83 55 00 – Fax : 04 91 80 26 12

ADMINISTRATION :

<i>Doyen :</i>	M. Jean-Paul BORG
<i>Vice-Doyens :</i>	Mme Florence SABATIER-MALATERRE, M. François DEVRED, M. Pascal RATHELOT, Mme Alexandrine BERTAUD
<i>Chargés de Mission :</i>	Mme Pascale BARBIER, Mme Alexandrine BERTAUD, M. David BERGELFRANC, Mme Manon CARRE, Mme Caroline DUCROS, M. Philippe GARRIGUE, M. Guillaume HACHE, M. Thierry TERME
<i>Conseiller du Doyen :</i>	M. Patrice VANELLE, Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
<i>Doyens honoraires :</i>	M. Patrice VANELLE, M. Pierre TIMON-DAVID,
<i>Professeurs émérites :</i>	M. José SAMPOL, M. Athanassios ILIADIS, M. Philippe CHARPIOT, M. Riad ELIAS
<i>Professeurs honoraires :</i>	M. Guy BALANSARD, M. Yves BARRA, Mme Claudette BRIAND, M. Jacques CATALIN, Mme Andrée CREMIEUX, M. Gérard DUMENIL, M. Alain DURAND, Mme Danielle GARÇON, M. Maurice JALFRE, M. Joseph JOACHIM, M. Maurice LANZA, M. Patrick REGLI, M. Jean-Claude SARI
<i>Chef des Services Administratifs :</i>	Mme Sylvie BUREAU
<i>Chef de Cabinet :</i>	Mme Manon BONIFAY
<i>Responsable de la Scolarité :</i>	Mme Nathalie BESNARD

DEPARTEMENT BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Philippe PICCERELLE

PROFESSEURS

BIOPHYSIQUE	M. Vincent PEYROT M. Hervé KOVACIC M. François DEVRED
GENIE GENETIQUE ET BIOINGENIERIE	M. Christophe DUBOIS
PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE, BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE	M. Philippe PICCERELLE

MAITRES DE CONFERENCES

BIOPHYSIQUE	Mme Odile RIMET-GASPARINI Mme Pascale BARBIER Mme Manon CARRE M. Gilles BREUZARD Mme Alessandra PAGANO
GENIE GENETIQUE ET BIOTECHNOLOGIE	M. Eric SEREE-PACHA Mme Véronique REY-BOURGAREL
PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE, BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE	M. Pierre REBOUILLON M. Emmanuel CAUTURE Mme Véronique ANDRIEU Mme Marie-Pierre SAVELLI
BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE ET BIOTHERAPIES PHARMACO ECONOMIE, E-SANTE	M. Jérémy MAGALON Mme Carole SIANI Mme Muriel MASI

ENSEIGNANT CDI

ANGLAIS	Mme Angélique GOODWIN
---------	-----------------------

A.H.U.

PHARMACOTECHNIE	Mme Mélanie VELIER
-----------------	--------------------

DEPARTEMENT BIOLOGIE PHARMACEUTIQUE
Responsable : Professeur Françoise DIGNAT-GEORGE**PROFESSEURS**

BIOLOGIE CELLULAIRE	M. Jean-Paul BORG
HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Françoise DIGNAT-GEORGE Mme Laurence CAMOIN-JAU Mme Florence SABATIER-MALATERRE Mme Nathalie BARDIN M. Romaric LACROIX
MICROBIOLOGIE	M. Jean-Marc ROLAIN M. Philippe COLSON
PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE	Mme Nadine AZAS-KREDER

MAITRES DE CONFERENCES

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE	M. Edouard LAMY Mme Alexandrine BERTAUD Mme Claire CERINI Mme Edwige TELLIER M. Stéphane POITEVIN Mme Sandra GHAYAD
HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Aurélie LEROYER Mme Sylvie COINTE
MICROBIOLOGIE	Mme Anne DAVIN-REGLI Mme Véronique ROUX M. Fadi BITTAR Mme Isabelle PAGNIER Mme Sophie EDOUARD M. Seydina Mouhamadou DIENE
PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE	Mme Carole DI GIORGIO M. Aurélien DUMETRE Mme Magali CASANOVA Mme Anita COHEN
BIOLOGIE CELLULAIRE BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE	Mme Anne-Catherine LOUHMEAU Mme Alexandra WALTON

A.H.U.

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Amandine BONIFAY
----------------------------	----------------------

MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)

PRATIQUE OFFICINALE	M. Jérôme JOUVE Mme Emmanuelle TONNEAU-PFUG
---------------------	--

DEPARTEMENT CHIMIE PHARMACEUTIQUE Responsable : Professeur Patrice VANELLE

PROFESSEURS

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine BADENS
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. David BERGE-LEFRANC
CHIMIE THERAPEUTIQUE - CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE	M. Pascal RATHELOT M. Maxime CROZET
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE	M. Patrice VANELLE M. Thierry TERME
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE	Mme Sok Siya BUN

MAITRES DE CONFERENCES

BOTANIQUE ET CRYPTO GAMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE	Mme Anne FAVEL M. Quentin ALBERT
CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine DEFOORT M. Alain NICOLAY Mme Estelle WOLFF Mme Elise LOMBARD Mme Camille DESGROUAS M. Charles DESMARCHELIER M. Mathieu CERINO
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Duje BURIC M. Pascal PRINDERRE
CHIMIE THERAPEUTIQUE - CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE	Mme Sandrine ALIBERT Mme Caroline DUCROS M. Marc MONTANA Mme Manon ROCHE Mme Fanny MATHIAS
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE HYDROLOGIE	M. Armand GELLIS M. Christophe CURTI Mme Julie BROGGI M. Nicolas PRIMAS M. Cédric SPITZ M. Sébastien REDON
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE	Mme Valérie MAHIOU-LEDDET Mme Béatrice BAGHDIKIAN M. Elnur GARAYEV

MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	Mme Haïfa LAYACHI RAHABI M. Cyril PUJOL
DROIT ET ETHIQUE	Mme Laurie PAHUS
GESTION PHARMACEUTIQUE, PHARMACOECONOMIE ET ETHIQUE PHARMACEUTIQUE OFFICINALE, DROIT ET COMMUNICATION PHARMACEUTIQUES A L'OFFICINE ET GESTION DE LA PHARMAFAC	Mme Félicia FERRERA
DISPOSITIFS MEDICAUX	Mme Valerie MINETTI-GUIDONI

DEPARTEMENT MEDICAMENT ET SECURITE SANITAIRE
Responsable : Professeur Benjamin GUILLET

PROFESSEURS

PHARMACIE CLINIQUE	M. Stéphane HONORÉ
PHARMACODYNAMIE	M. Benjamin GUILLET
TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	M. Bruno LACARELLE M. Joseph CICCOLINI
TOXICOLOGIE GENERALE	Mme Caroline SOLAS-CHESNEAU

MAITRES DE CONFERENCES

PHARMACIE CLINIQUE	M. Florian CORREARD Mme Marie-Anne ESTEVE
PHARMACODYNAMIE	M. Guillaume HACHE Mme Ahlem BOUHLEL M. Philippe GARRIGUE
PHYSIOLOGIE	Mme Sylviane LORTET
PHYSIOLOGIE / PHARMACOLOGIE	Mme Anaïs MOYON
TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	Mme Raphaëlle FANCIULLINO Mme Florence GATTACECCA Mme Anne RODALLEC M. Nicolas FABRESSE
TOXICOLOGIE GENERALE	M. Pierre-Henri VILLARD

A.H.U.

PHYSIOLOGIE / PHARMACOLOGIE	M. Vincent NAIL
PHARMACIE CLINIQUE	Mme Maeva MONTALEYTANG Mme Charlotte BERARD

CHARGES D'ENSEIGNEMENT A LA FACULTE

Mme Valérie AMIRAT-COMBRALIER, Pharmacien-Praticien hospitalier
M. Pierre BERTAULT-PERES, Pharmacien-Praticien hospitalier
Mme Martine BUES-CHARBIT, Pharmacien-Praticien hospitalier
Mme Annie CILIA, Pharmacien-Praticien hospitalier
M. Yann COTTE, Pharmacien Assistant
M. Nicolas COSTE, Pharmacien-Praticien hospitalier
Mme Nicole FRANCOIS, Pharmacien-Praticien hospitalier
Mme Sophie GENSOLLEN, Pharmacien-Praticien hospitalier
M. Sylvain GONNET, Pharmacien titulaire
Mme Céline HIRSCH, Pharmacien Conseil de l'Assurance Maladie
Mme Christelle LABRANDE, Pharmacien-Praticien hospitalier
Mme Florence LEANDRO-DIJON, Pharmacien adjoint
Mme Nathalie MARTIN, Pharmacien-Praticien hospitalier
Mme Sophie MERLIN, Pharmacien Assistant
Mme Vanessa METZ, Pharmacien hospitalier
Mme Alice PERINEAU, Pharmacien Assistant
Mme Florence PEYRON, Pharmacien-Praticien hospitalier
M. Stéphane PICHON, Pharmacien titulaire
M. Bertrand POURROY, Pharmacien-Praticien hospitalier
Mme Clémence TABELLE, Pharmacien-Praticien attaché
M. Badr Eddine TEHHANI, Pharmacien – Praticien hospitalier
M. Joël VELLOZZI, Expert-Comptable

Mise à jour le 23 février 2023

Remerciements

Aux membres du jury,

A Madame le Professeur Caroline Solas, Présidente du jury, je vous remercie d'avoir accepté de présider ma thèse. Je vous remercie également de m'avoir accueilli au sein du laboratoire de pharmacocinétique-toxicocinétique lorsque j'effectuais en parallèle mon master 2. Ce fut un honneur de travailler à vos côtés pendant quelques mois.

A Madame le Docteur Raphaëlle Fanciullino, Directrice de thèse, je ne vous remercierai jamais assez pour l'étendue intellectuelle que vous m'apportez, et cela dès les premiers jours de mon internat. C'est avec une grande fierté que je travaille avec vous depuis maintenant trois ans et il reste du chemin à parcourir. Merci de m'avoir fait confiance dès mon premier stage en me prenant sous votre aile.

A Monsieur le Professeur Joseph Ciccolini, membre du jury, je vous remercie de me faire l'honneur d'être dans ce jury de thèse. Je continuerai à vous laisser gagner aux fléchettes.

A Monsieur le Docteur Charléric Bornet, membre du jury, je vous remercie d'avoir accepté de faire partie de ce jury. Merci pour la transmission de vos connaissances, tant pharmaceutiques qu'intellectuelles. J'espère pouvoir encore vous surprendre lors du prochain poisson d'avril.

A Monsieur le Docteur Geoffroy Venton, membre du jury, merci pour avoir accepté d'être membre de ce jury et d'apporter votre vision médicale sur ce travail.

A la famille,

A ma mère, merci pour tout ce que tu as pu faire pour moi durant toutes ces années où nous avons vécu tous les deux. Avec certains moments difficiles, tu m'as sans cesse accompagné lors des épreuves de ma vie professionnelle et personnelle. Nous avons aussi bien rigolé et ces moments resteront gravés.

A mon père, merci pour tout ce que tu as pu m'apporter. Nous en avons parcouru des kilomètres ensemble. Toutes ces parties de « qui veut gagner des millions » ou ces allers-retours à l'autre bout de la France resteront gravés à jamais. Le Jean-Marie d'une autre vie devait être routier.

A ma mère et mon père, merci à tous les deux de toujours avoir fait le nécessaire pour que je ne manque de rien. Merci à tous les deux pour votre présence à n'importe quel moment de ma vie. Merci de m'avoir apporté cet équilibre et c'est grâce à vous que j'en suis là aujourd'hui. Ma réussite est la vôtre.

A la (future) femme de ma vie et mon fils, merci d'être là au quotidien et de me supporter. Merci pour la confiance que tu me donnes. Merci de m'avoir fait découvrir ce qu'est l'Amour avec les joies qu'il entraîne. A tous ces moments où tu fais le clown et que tu me fais rire. Tout restera gravé à vie. Je suis tellement heureux que vous soyez à mes côtés. Merci.

A ma grand-mère, merci pour tous ces moments que nous avons pu passer ensemble. De la maternelle à aujourd'hui, en passant par nos repas hebdomadaires se terminant à chaque fois par un éclair au chocolat, tu as toujours fait le maximum pour moi. J'espère que nous pourrons encore vivre de précieux instants.

A mon parrain, merci d'avoir toujours été là et pour tous tes services rendus sur le versant mécanique et électronique. A nos parties de pêches et nos matchs de football, que de souvenirs.

A tonton Fred, pour le temps partagé ensemble que ce soit à la pêche ou au foot en salle. Merci pour ces prêts de matériel airsoft, grâce à toi je pouvais rivaliser avec les meilleurs.

Au sang de l'artère fémorale, à nos afterwork au canebière, à nos apéros et repas, à nos parties de xbox qui n'en finissaient plus. Merci d'être toujours présent à mes côtés.

A ma sœur, merci pour ta bienveillance et ta gentillesse. A tous nos souvenirs et aux futurs.

A Nathalie, merci de prendre soin de mon père. Tu as bien du courage.

A Maia, Jo, Nico, Laurie, vous faites partie de ma vie depuis plusieurs années avec tant de souvenirs passés ensemble et à créer.

A mon cousin Ethan, je t'ai vu grandir, te construire et devenir la belle personne que tu es. J'espère bientôt rivaliser avec toi au tennis.

A Adeline et Valentin, à nos journées piscine, barbeuc et à tous ces moments passés ensemble.

A Odile, Eric et ma filleule Mallau, à tous ces moments partagés. J'espère que nous pourrons continuer à organiser de précieux moments. Merci d'être là.

A Lilian, Guigui, Jules, Nolan, merci de me rajeunir de quelques années quand je vous vois. J'ai hâte de vous voir grandir.

A Thierry, merci de me donner la main de votre fille et de veiller sur nous au quotidien.

A Stéphanie et Alexis, merci de m'accepter dans votre vie et de me laisser prendre soin de Lysis.

A Valérie, Hervé, Julien et les jumeaux, merci pour ces journées partagées hautes en intensité. A ces journées piscine, pétanque et barbeuc.

A mes amis,

A Alex, mon deuxième frère, merci de m'accompagner dans ma vie depuis presque 15 ans. Tellement de moments vécus ensemble qui resteront gravés. Et dire que cela n'est même pas $\frac{1}{4}$ de ce que nous allons encore vivre. Hâte de voir où nous en serons dans 10 ans.

A Hubert et Simon, mes frères, merci pour tout ce que nous avons pu vivre. Tant de choses vécues et de souvenirs. Merci d'être encore à mes côtés. Nous avons encore beaucoup de moments à partager.

A Antonin, le binôme, nous nous suivons depuis la PACES. Merci d'avoir été à mes côtés pour traverser toutes ces épreuves. Tous ces souvenirs inoubliables avec les TP, les soirées, l'orga WEI...

A Valentin, merci pour ces moments partagés au ski ou encore au cap d'agde. J'espère que nous pourrons en créer de nouveaux.

A Jerem, pour ces matchs, ces discussions, tant de souvenirs créés en si peu de temps. Merci pour ton incroyable personnalité.

A Ced, merci pour tout ce que tu as pu faire pour nous, pour Lysis. A nos futures soirées au stade ou à la maison.

A Mathilde, première externe que j'ai pu former. A nos bières, nos restos et tous ces moments de partages.

Au Daniiii, sacrée rencontre pour mon premier stage. A la fois discret et gentil, merci pour tout ce que tu as pu m'apprendre. A nos futurs matchs au vélodrome et nos apéros endiablés.

Au Marcooo, merci pour ton apprentissage et pour tes conseils pour la préparation d'arabicas. Aux cafards et à nos futurs souvenirs.

Au Pedroooooo, à ces claquements de doigts qui n'en finissaient plus et à nos moments de rigolade.

Aux co internes de mon premier stage, merci pour ces merveilleux 6 mois. A jamais les meilleurs. Grâce à vous, mon semestre a été fantastique et je n'ai que de bons souvenirs.

Aux co internes des différents stages, merci pour tous ces semestres différents que nous avons pu partager.

Aux externes avec qui j'ai pu travailler et une mention spéciale à Carla et Mathilde qui auront été géniales.

Aux différents séniors que j'ai pu côtoyer, merci pour votre apprentissage.

« L'université n'entend donner aucune approbation, ni improbation aux opinions émises dans les thèses. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs »

Table des matières

Remerciements	8
Table des matières.....	14
Liste des abréviations.....	17
Liste des tableaux.....	19
Liste des figures	20
Introduction	21
I. La Leucémie aiguë myéloïde.....	22
1. Historique et définition.....	22
2. Epidémiologie de la LAM.....	22
3. Classification des LAM.....	23
4. Thérapies des LAM	24
4.1. Définition fit/unfit	24
4.2. Traitements disponibles dans la LAM.....	26
4.2.1. Traitements chez le patient fit	28
4.2.2. Traitements chez le patient unfit	33
II. Généralités sur le vénétoclax	37
1. Historique.....	37
2. Indications thérapeutiques.....	37
3. Mécanisme d'action.....	38
4. Pharmacocinétique.....	39
4.1. Généralités.....	39
4.1.1 L'absorption.....	39
4.1.2 La biodisponibilité	39
4.1.3 La distribution	40
4.1.4 Le métabolisme	41

4.1.5 L'élimination	41
4.2. Pharmacocinétique du vénétoclax.....	42
4.2.1 L'absorption.....	42
4.2.2 La distribution	42
4.2.3 Le métabolisme	42
4.2.4 L'élimination	42
4.2.5 Interactions médicamenteuses.....	43
III. Dosage LC-MS/MS du vénétoclax.....	45
1. Matériel et méthode.....	45
1.1. Produits chimiques et réactifs	45
1.2. Appareillage et conditions MS.....	45
1.3. Préparation des échantillons.....	46
1.4. Validation de la méthode de dosage	46
1.4.1. Linéarité et sensibilité	47
1.4.2. Précision et justesse.....	47
1.4.3. Sélectivité et spécificité	47
1.4.4. Effet matrice	48
1.4.5. Effet dilution	48
1.4.6. Stabilité du vénétoclax	48
1.4.6.1. Sang total	48
1.4.6.2. Plasma.....	48
1.4.6.3. Congélation/Décongélation	48
2. Résultats	49
2.1. Validation de la méthode de dosage	49
2.1.1. Linéarité et sensibilité	49
2.1.2. Précision et justesse.....	51
2.1.3. Sélectivité et spécificité	51

2.1.4.	Effet matrice	51
2.1.5.	Effet dilution	52
2.1.6.	Stabilité du vénétoclax	53
2.1.6.1.	Sang total	53
2.1.6.2.	Plasma	53
2.1.6.3.	Congélation/Décongélation	53
IV.	Etude pharmacocinétique du vénétoclax.....	55
1.	Introduction.....	55
2.	Méthode.....	56
2.1.	Patients.....	56
2.2.	Prélèvements sanguins.....	56
2.3.	Analyse des échantillons	56
2.4.	Toxicités	56
2.5.	Analyse statistique	57
3.	Résultats	57
3.1.	Description de la population	57
3.2.	Pharmacocinétique du vénétoclax chez les sujets LAM	60
3.2.1.	Analyse linéaire	60
3.2.2.	Variabilité inter-individuelle	61
3.2.3.	Variabilité intra-individuelle	62
3.2.4.	Etude de l'exposition selon la durée protocolaire utilisée	63
3.3.	Toxicités	65
4.	Discussion	65
5.	Conclusion et perspectives.....	68
	Bibliographie	69
	Annexes	75

Liste des abréviations

ACN: Acétonitrile

ADN: Acide désoxyribonucléique

AF: Acide formique

APHM: Assistance publique des hôpitaux de Marseille

ARA-CTP: Arabinofuranosyl cytosine triphosphate

ARN: Acide Ribonucléique

ATO: Arsenic trioxyde

ATRA: Acide tout trans rétinoïque

ATU: Autorisation temporaire d'utilisation

AUC: Aire Sous la Courbe

Cmax: Concentration maximale

Cmin: Concentration minimale

CQ: Contrôle qualité

CSH: Cellules souches hématopoiétiques

CTCAE: Common Terminology Criteria for Adverse Events

CV: Coefficient de variation

CYP3A4: Cytochrome P450 3A4

DMSO: Diméthylsulfoxyde

EI: Etalon interne

ELN: European LeukemiaNet

EMA: Agence européenne du médicament

F: Fraction biodisponible

FDA: Food and Drug Administration

HAS: Haute Autorité de Santé

HDAC: High dose cytarabine

IDAC: Intermediate dose cytarabine

INSEE: Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques

ITK: Inhibiteurs de tyrosine kinase

LAM: Leucémie aigüe myéloïde

LC-MS/MS: Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem

LLC: Leucémie lymphoïde chronique

LOQ: Limite de quantification

MRD: Minimal Residual Disease

RC: Rémission Complète

RCP: Résumé des Caractéristiques du Produit

STP: Suivi thérapeutique pharmacologique

Tmax: Temps d'obtention de la concentration maximale

Liste des tableaux

TABLEAU 1 CLASSIFICATION DU RISQUE DES LAM SELON L'ELN 2022 [7]	24
TABLEAU 2 CRITERES OPERATOIRES POUR DEFINIR L'INAPTITUDE A LA CHIMIOOTHERAPIE INTENSIVE DANS LA LAM [10]	25
TABLEAU 3 RESUME DES MOLECULES APPROUVEES PAR LA FDA EN FONCTION DE LEURS INDICATIONS [8]	27
TABLEAU 4 RESULTATS DE LA LINEARITE EXPRIMANT LE R ²	49
TABLEAU 5 RESULTATS DE LA LINEARITE EXPRIMANT LA PRECISION ET LA JUSTESSE DE LA GAMME	50
TABLEAU 6 RESULTATS DE L'ETAPE DE REPETABILITE DE LA LOQ	50
TABLEAU 7 PRECISION ET JUSTESSE DES CQ INTRA JOUR	51
TABLEAU 8 PRECISION ET JUSTESSE DES CQ INTER JOUR	51
TABLEAU 9 EFFET MATRICE	52
TABLEAU 10 EFFET DILUTION	52
TABLEAU 11 STABILITE DANS LE PLASMA	53
TABLEAU 12 STABILITE LORS DE LA CONGELATION/DECONGELATION	53
TABLEAU 13 DONNEES DEMOGRAPHIQUES ET CLINIQUES DE L'EFFECTIF	57
TABLEAU 14 DESCRIPTION DES DIFFERENTS PROTOCOLES DE L'EFFECTIF	59
TABLEAU 15 PARAMETRES MATHEMATiques PERMETTANT D'OBSERVER LA VARIABILITE INTERINDIVIDUELLE	62
TABLEAU 16 RESULTATS DE LA VARIABILITE INTRA-INDIVIDUELLE	63
TABLEAU 17 TOXICITES HEMATOLOGIQUES DE GRADE 3 ET 4 SELON LES CRITERES CTCAE	65

Liste des figures

FIGURE 1 TAUX D'INCIDENCE DES LAM SELON LA CLASSE D'AGE EN 2018 [6]	23
FIGURE 2 ARBRE DECISIONNEL POUR LA PRISE EN CHARGE D'UN PATIENT ATTEINT DE LAM [14]	28
FIGURE 3 STRUCTURE CHIMIQUE DE LA CYTARABINE [16]	29
FIGURE 4 STRUCTURE CHIMIQUE DE LA DAUNORUBICINE [18]	30
FIGURE 5 ALGORITHME INDIQUANT LE TRAITEMENT DE PREMIERE LIGNE CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS DE LAM NOUVELLEMENT DIAGNOSTIQUES NON ELIGIBLES A LA CHIMIOTHERAPIE INTENSIVE [14]	33
FIGURE 6 STRUCTURE CHIMIQUE DE L'AZACYTIDINE [31]	34
FIGURE 7 COURBE DE SURVIE GLOBALE [33]	35
FIGURE 8 : STRUCTURE CHIMIQUE DU VENETOCLAX	37
FIGURE 9 : MECANISME D'ACTION DU VENETOCLAX[39]	38
FIGURE 10 PREMIER POINT DE GAMME DU VENETOCLAX	49
FIGURE 11 COMPARAISON DES CMIN EN FONCTION DE LA DOSE ADMINISTREE	60
FIGURE 12 CMIN DE VENETOCLAX AJUSTEES EN FONCTION DE LA DOSE	61
FIGURE 13 VIOLIN PLOT REPRESENTANT VISUELLEMENT LA VARIABILITE INTERINDIVIDUELLE	62
FIGURE 14 COMPARAISON DE L'EXPOSITION SELON LE PROTOCOLE UTILISE AUX DOSES DE 400MG	63
FIGURE 15 COMPARAISON DE L'EXPOSITION SELON LE PROTOCOLE UTILISE AVEC LA CMIN AJUSTEE A LA DOSE	64

Introduction

Le cancer englobe un vaste groupe de maladies qui peuvent apparaître dans presque tous les organes ou tissus du corps, lorsque des cellules anormales se développent de manière incontrôlée et se répandent au-delà de leurs limites habituelles pour envahir des régions voisines du corps et/ou se propager à d'autres organes. Dans le second cas, on parle de métastases, qui constituent une cause majeure de décès par cancer.

Le cancer est la deuxième cause de décès dans le monde entier et a fait 9,6 millions de morts en 2018, soit un décès sur six [1].

Nous distinguons l'oncologie regroupant les cancers « solides » de l'oncohématologie rassemblant les cancers « liquides ». Plusieurs types de prises en charge pour le traitement des cancers existent telles que la chimiothérapie, l'hormonothérapie, l'immunothérapie, la radiothérapie, la chirurgie, la thérapie ciblée ainsi que la greffe de cellules souches [2].

Le vénétoclax fait partie des thérapies ciblées nouvellement arrivées sur le marché ces dernières années. En effet, ce médicament anticancéreux intervient dans le traitement des hémopathies malignes telles que la leucémie aigüe myéloïde (LAM) ainsi que la leucémie lymphoïde chronique (LLC). Commercialisé par le laboratoire de recherche pharmaceutique américain AbbVie®, le vénétoclax est un inhibiteur hautement sélectif de la protéine anti-apoptotique BCL-2. Administré par voie orale au moment du repas et métabolisé par le cytochrome P450 3A4 (CYP3A4), il est soumis à une importante variabilité pharmacocinétique intra et inter-individuelle. Le risque de variabilité s'accroît chez les patients leucémiques polymédiqués [3].

Devant la place grandissante du vénétoclax dans la prise en charge des patients en oncohématologie et la survenue de toxicités importantes, le suivi thérapeutique pharmacologique (STP) apparaît comme une option pertinente et nécessaire dans l'arsenal du clinicien.

Après avoir présenté la leucémie aigüe myéloïde et ce médicament, nous verrons la validation de la méthode de dosage selon la norme ISO 15189 et les guidelines internationales réalisée au laboratoire de pharmacocinétique et toxicologie de l'APHM (Assistance Publique des Hôpitaux de Marseille). Nous finirons par présenter une étude rétrospective portant sur l'utilisation du vénétoclax dans la LAM réalisée au sein du service d'hématologie du Pr. Costello (étude MR-004 n°RH7VR5).

I. La Leucémie aiguë myéloïde

1. Historique et définition

Rudolf Virchow, médecin pathologiste allemand, a employé pour la première fois le mot leucémie en 1856. Grâce à un microscope, il a pu observer un excès de globules blancs chez des patients présentant des symptômes similaires à ceux décrits par Velpeau et Bennett. Il nomma cette maladie leucémie, venant du grec « sang blanc » [4].

Les leucémies sont des affections malignes de la moelle osseuse qui elle-même est responsable de la fabrication des cellules du sang : globules rouges, globules blancs et plaquettes. Les leucémies peuvent être classées en aiguë ou chronique selon le pourcentage de blastes ou de cellules leucémiques dans la moelle osseuse ou le sang. En fonction de la prédominance de la lignée des cellules malignes, on distinguera les leucémies myéloïdes des leucémies lymphoïdes. La leucémie aiguë myéloïde est liée à l’envahissement de blastes anormaux dans la moelle osseuse [5].

Les blastes sont caractérisés par une prolifération incontrôlée et une incapacité à se différencier en cellules matures. Ce dysfonctionnement empêche la production normale des cellules sanguines pouvant se traduire par divers symptômes cliniques telles que les infections et les hémorragies [5].

2. Epidémiologie de la LAM

En 2018, en France métropolitaine, le nombre de cas d’hémopathies malignes est estimé à 45 000 soit 12% des nouveaux cas de cancer. Parmi ce dénombrement, 3 428 nouvelles personnes (7,6%) sont atteintes de LAM. Cela correspond à un taux d’incidence standardisé sur la population mondiale de 3,1 pour 100 000 personne-année chez l’homme et 2,3 chez la femme. Cette hémopathie touche principalement les sujets âgés puisque l’âge médian au diagnostic est de 69 ans chez l’homme et 72 ans chez la femme [6].

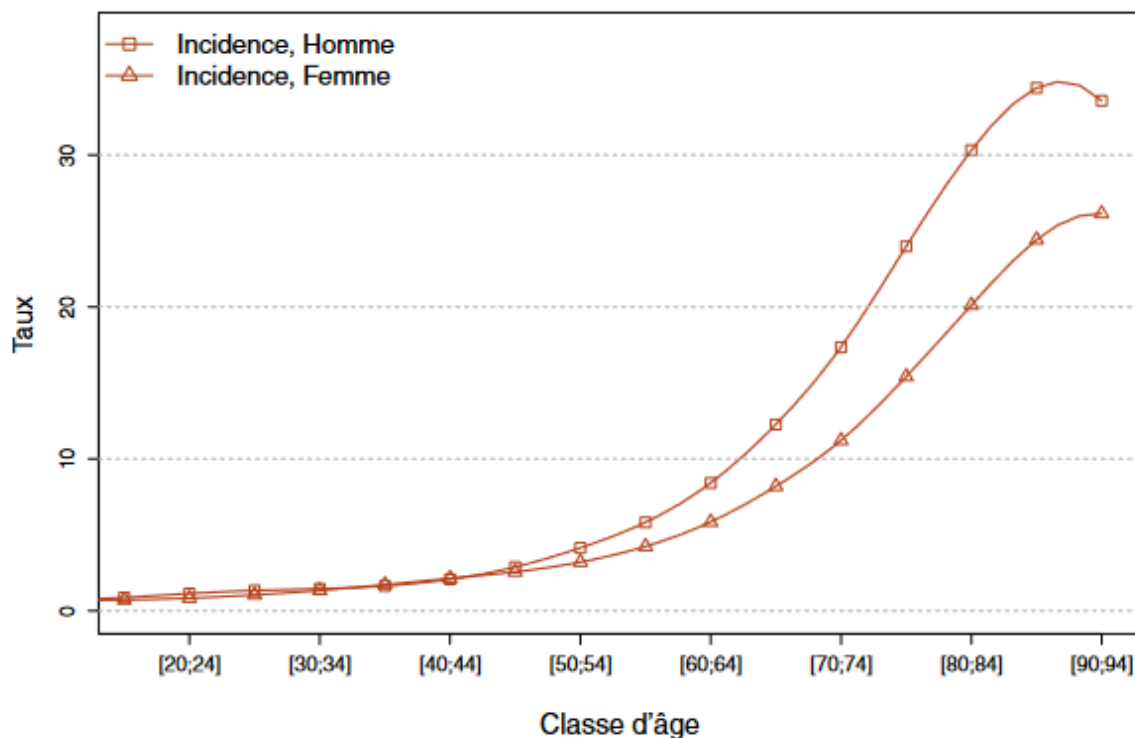


Figure 1 Taux d'incidence des LAM selon la classe d'âge en 2018 [6]

Dans leur ensemble, les LAM sont des hémopathies de pronostic défavorable avec une survie nette standardisée estimée de 50% à 1 an et 27% à 5 ans.

Toujours selon Santé Publique France, les sujets âgés de 80 ans diagnostiqués entre 2010 et 2015 ont une survie nette de seulement 6% à 5 ans contre 69% chez les sujets de 30ans [6].

3. Classification des LAM

Dans ce manuscrit, nous ne détaillerons ni les caractérisations génétiques, ni les caractérisations moléculaires. Nous détaillerons seulement la classification de l'European LeukemiaNet 2022 (ELN), mise à jour à partir de celle de 2017.

Cette classification permet de définir le risque de l'hémopathie en tenant compte des caractéristiques génétiques et moléculaires. Les LAM sont catégorisées en 3 groupes : favorable, intermédiaire et défavorable [7].

Tableau 1 Classification du risque des LAM selon l'ELN 2022 [7]

Risk category†	Genetic abnormality
Favorable	<ul style="list-style-type: none"> t(8;21)(q22;q22.1)/RUNX1::RUNX1T1†,‡ inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22)/CBFB::MYH11†,‡ Mutated NPM1†,§ without FLT3-ITD bZIP in-frame mutated CEBPA
Intermediate	<ul style="list-style-type: none"> Mutated NPM1†,§ with FLT3-ITD Wild-type NPM1 with FLT3-ITD (without adverse-risk genetic lesions) t(9;11)(p21.3;q23.3)/MLL3::KMT2A†,¶ Cytogenetic and/or molecular abnormalities not classified as favorable or adverse
Adverse	<ul style="list-style-type: none"> t(6;9)(p23.3;q34.1)/DEK::NUP214 t(v;11q23.3)/KMT2A-rearranged# t(9;22)(q34.1;q11.2)/BCR::ABL1 t(8;16)(p11.2;p13.3)/KAT6A::CREBBP inv(3)(q21.3q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2)/GATA2, MECOM(EV11) t(3q26.2;v)/MECOM(EV11)-rearranged -5 or del(5q); -7; -17/abn(17p) Complex karyotype,** monosomal karyotype†† Mutated ASXL1, BCOR, EZH2, RUNX1, SF3B1, SRSF2, STAG2, U2AF1, and/or ZRSR2†† Mutated TP53[§]

Ces différentes aberrations génétiques présentes dans le tableau 1 ont une importance pour la prise en charge du patient en impactant le pronostic et le traitement. En effet, certaines de ces mutations vont être la cible de thérapeutiques [8]:

- FLT3 est ciblé par le Giltéritinib et la Midostaurine
- IDH1 est ciblé par l'Ivosidénib
- IDH2 est ciblé par l'Enasidenib

Certaines de ces molécules peuvent être associées à des chimiothérapies. Par exemple, la midostaurine peut être associée au schéma standard chez les patients éligibles à la chimiothérapie intensive [8]. Également, l'ivosidenib peut être joint à l'azacytidine chez les sujets inaptes à la chimiothérapie intensive [9].

4. Thérapies des LAM

4.1. Définition fit/unfit

Pour le choix de la chimiothérapie, nous distinguons deux types de patients : fit ou unfit. Les patients fit sont considérés comme éligibles à la chimiothérapie intensive tandis que les patients unfit sont trop fragiles pour supporter ce type de thérapie. De ce fait, les patients unfit sont définis selon certains critères présents dans le tableau 2 [10].

Tableau 2 Critères opératoires pour définir l'inaptitude à la chimiothérapie intensive dans la LAM [10]

1. Age supérieur à 75 ans.
2. Insuffisance cardiaque congestive ou cardiomyopathie documentée avec une FEVG $\leq 50\%$.
3. Maladie pulmonaire documentée avec $DLCO \leq 65\%$ ou $FEV1 \leq 65\%$, ou dyspnée au repos ou nécessitant de l'oxygène, ou tout néoplasme pleural ou néoplasme pulmonaire non contrôlé.
4. Dialysé et âgé de plus de 60 ans ou carcinome rénal non contrôlé
5. Cirrhose ou maladie hépatique documentée avec élévation marquée des transaminases (>3 fois les valeurs normales) et un âge supérieur à 60 ans, ou tout carcinome biliaire ou hépatique non contrôlé ou hépatite virale aigue.
6. Infection active résistante aux traitements anti-infectieux
7. Maladie mentale actuelle nécessitant une hospitalisation psychiatrique, une institutionnalisation ou une prise en charge ambulatoire intensive, ou un état cognitif actuel engendrant une dépendance (confirmé par le spécialiste) non contrôlée par le soignant.
8. Statut de performance ECOG ≥ 3 non lié à la leucémie.
9. Toute autre comorbidité que le médecin juge incompatible avec une chimiothérapie intensive conventionnelle.

Abréviations : FEVG : Fraction d'éjection du ventricule gauche ; DLCO : Capacité de diffusion du monoxyde de carbone ; FEV1 : Volume d'expiration forcée en 1 seconde ; ECOG : Eastern Cooperative Oncology Group

Alors que l'OMS définit la personne âgée à 60 ans ou plus, l'INSEE (Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques ou les bases de données Pubmed® indiquent un âge de 65 ans ou plus[11]. Pour le centre national professionnel de gériatrie, le seuil est de 75 ans [12]. Les critères d'âges publiés par Ferrara et al. dans Leukemia [10] est en accord avec le centre national professionnel de gériatrie. Nous pouvons donc convenir que la définition de l'âge du sujet âgé est très abstraite. Cela peut entraîner des conséquences dans les services d'hématologie lors du choix de l'intensité du traitement. Le critère numéro 9 de la publication prend donc toute son importance pour le clinicien lorsqu'il a un patient moins âgé de 75 ans présentant une comorbidité qu'il juge incompatible avec la chimiothérapie conventionnelle.

4.2. Traitements disponibles dans la LAM

Dans le cas d'un patient fit, le traitement standard sera composé d'une polychimiothérapie (induction et consolidation) avec ou sans allogreffe de cellules souches hématopoïétiques.

Les patients unfit, définis selon les critères de la table 2, se verront proposer une thérapie moins intensive.

L'objectif des traitements est d'obtenir une rémission complète (RC). Elle se définit par l'absence de recours à la transfusion sanguine, un nombre absolu de polynucléaires neutrophiles $> 1 \text{ G/L}$, un nombre de plaquettes sanguines $> 100 \text{ G/L}$ et un taux de blastes inférieur à 5% dans la moelle osseuse [13].

Le tableau 3 présente toutes les molécules actuellement disponibles pour le traitement de la LAM. Il est scindé en deux parties avec les traitements concernant les patients fit et unfit. Il est également classé par année d'approbation par la FDA (Food and Drug Administration). Le code couleur indique les premières lignes thérapeutiques actuellement indiquées lors d'une LAM nouvellement diagnostiquée. Nous verrons ci-après quelques particularités lors du traitement de première ligne chez les patients fit.

A noter que pour la leucémie aigue promyélocytaire, la thérapie de première intention résulte de l'association acide tout trans rétinoïque (ATRA) et arsenic trioxyde (ATO).

Tableau 3 Résumé des molécules approuvées par la FDA en fonction de leurs indications [8]

Médicament	Année	Indications approuvées par la FDA	Références	
Cytarabine Daunorubicine	1970	LAM nouvellement diagnostiquée chez les patients éligibles à ICT	Crowther et al., 1970	Fit
Gemtuzumab Ozogamicine	2000	LAM CD33 positive nouvellement diagnostiquée avec ou sans ICT	Lambert et al., 2019 Amadori et al., 2016	
Midostaurine	2017	LAM mutée FLT3 nouvellement diagnostiquée, avec ICT	Stone et al., 2017	
Cytarabine et Daunorubicine liposomale (CPX-351)	2017	LAM-t ou LAM-MRC nouvellement diagnostiquées	Lancet et al., 2018	
Gilteritinib	2018	R/R LAM FLT3 mutée	Perl et al., 2019	
Azacytidine (oral)	2020	LAM en RC/RCI après ICT, incapable de continuer l'ICT	Wel et al., 2019	
Azacytidine (SC)	2004	R/R LAM CD33 positive LAM avec ≤30% blastes	Taksin et al., 2007 Fenaux et al., 2009 Silverman et al., 2006 Dombret et al., 2015	Unfit
Decitabine	2006	LAM avec ≤30% blastes	Lubbert et al., 2011 Beckert et al., 2015 Kantarjan et al., 2012	
Enasidenib	2017	R/R LAM mutée IDH2	Stein et al., 2017	
Ivosidenib	2018	LAM mutée IDH1 nouvellement diagnostiquée, avec un âge ≥75 ans ou non éligible à ICT	Roboz et al., 2020	
		R/R LAM mutée IDH1	DiNardo et al., 2018	
Venetoclax	2018	LAM nouvellement diagnostiquée, avec un âge ≥75 ans ou inéligible à ICT. Associé à azacytidine, décitabine ou faible dose de cytarabine	DiNardo et al., 2019 Wel et al., 2019 DiNardo et al., 2020 Wel et al., 2020	
Glasdegib	2018	LAM nouvellement diagnostiquée, avec un âge ≥75 ans ou inéligible à ICT. Associé à des faibles doses de cytarabine.	Cortes et al., 2019	

Abréviations : LAM-MRC : LAM avec modifications liées à la myélodysplasie ; RCI : Rémission complète avec une récupération hématologique partielle ; FDA : Food and drug administration ; FLT3 : fms-like tyrosine kinase 3 ; ICT : chimiothérapie intensive ; IDH : Isocitrate déshydrogénase ; R/R : Rechute/Réfractaire ; SC : sous-cutané ; LAM-t : LAM liée au traitement

4.2.1. Traitements chez le patient fit

L'algorithme représenté dans la figure 4 nous indique le traitement de première intention à suivre en fonction du sous-groupe correspondant le mieux au patient.

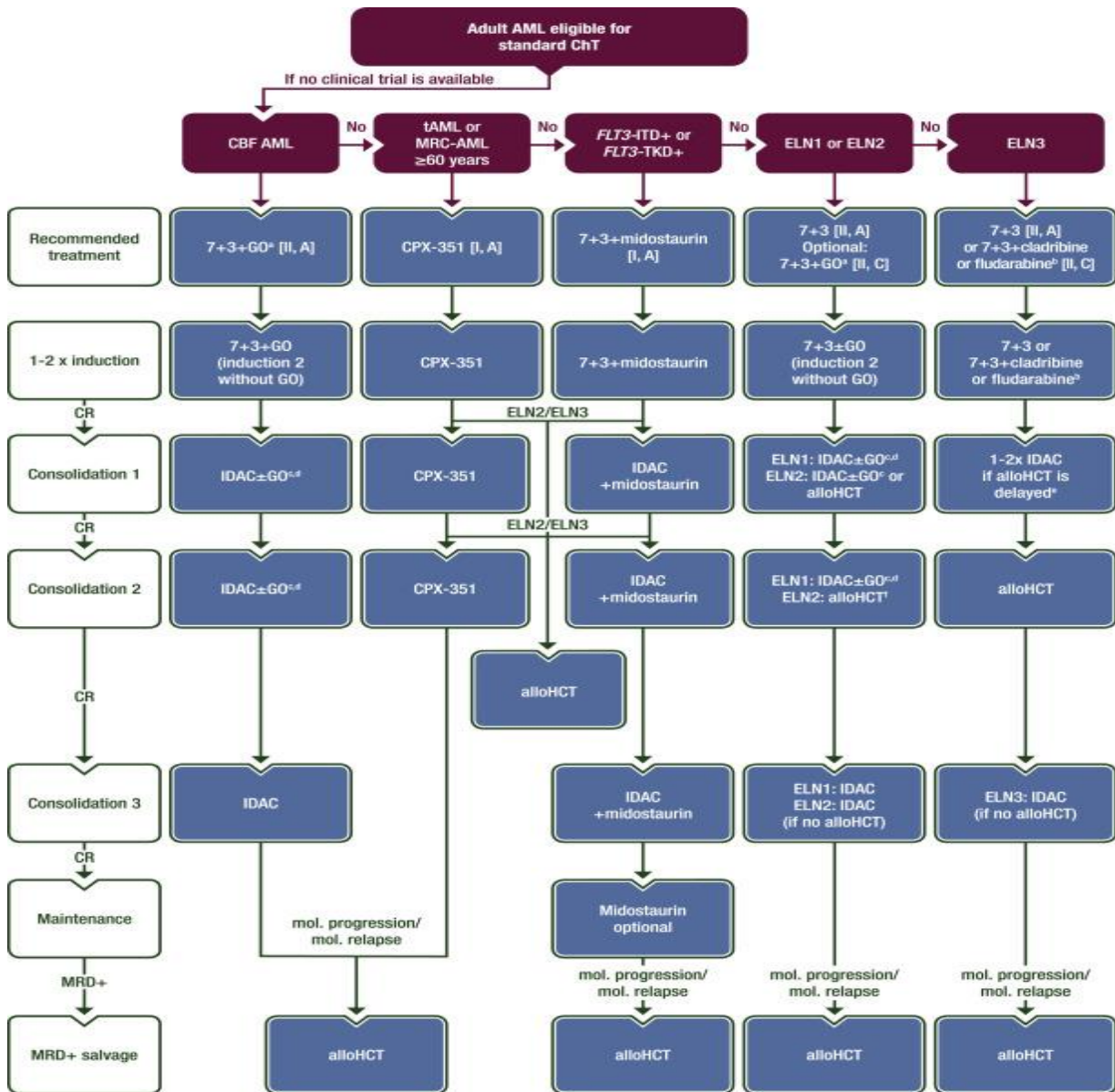


Figure 2 Arbre décisionnel pour la prise en charge d'un patient atteint de LAM [14]

Abréviations : 7+3, 7 jours de cytarabine à dose standard et 3 jours de daunorubicine ; 7+3+GO, 7 jours de cytarabine à dose standard, 3 jours de daunorubicine et 1 à 3 jours de gemtuzumab ozogamicine ; alloHCT, allogreffe de cellules hématopoïétiques ; CBF AML, Leucémie aiguë myéloïde à facteur de liaison central ; autoHCT, greffe de cellules hématopoïétiques autologues ; ChT, chimiothérapie ; CPX-351, daunorubicine liposomale et cytarabine ; CR, rémission complète ; ELN 1, 2, 3, European LeukaemiaNet risque favorable, intermédiaire et défavorable, respectivement ; GO, gemtuzumab ozogamicine ; IDAC, cytarabine à dose intermédiaire ; ITD, duplication tandem interne ; MACE, amsacrine, cytarabine, étoposide ; MIDAC, mitoxantrone, cytarabine à dose intermédiaire ; mol., moléculaire ; MRC-AML, leucémie myéloïde aiguë avec modifications cytogénétiques liées à la myélodysplasie ; MRD+, maladie résiduelle mesurable positive ; tAML, leucémie myéloïde aiguë liée au traitement ; TKD, domaine tyrosine kinase. Les sous-groupes sont triés hiérarchiquement de gauche à droite et les recommandations sont également hiérarchisées de gauche à droite

Dans cette partie, nous détaillerons seulement le schéma « gold standard » du patient fit.

Également appelé schéma 7+3, le protocole standard du patient fit a relativement peu changé depuis 1970. Cette thérapie associe la cytarabine et la daunorubicine (ou l'idarubicine) [8].

La cytarabine, un analogue nucléosidique de la pyrimidine, est un agent antinéoplasique [15], qui inhibe la synthèse de l'acide désoxyribonucléique (ADN), spécifiquement au cours de la phase S du cycle cellulaire. Elle a également des propriétés antivirales et immunosuppressives.

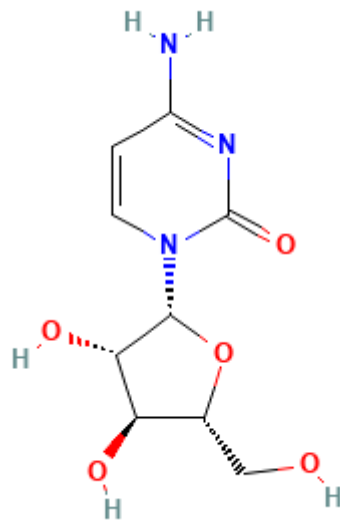


Figure 3 Structure chimique de la cytarabine [16]

La principale action de la cytarabine est d'inhiber la synthèse de la désoxycytidine, par l'intermédiaire de son métabolite actif triphosphaté, l'arabinofuranosyl cytosine triphosphate (ARA-CTP), mais une inhibition des kinases cytidyliques et l'intercalation du produit dans les acides nucléiques pourraient jouer un rôle dans ses effets cytostatique et cytotoxiques [17].

La daunorubicine (ou l'idarubicine) est un antinéoplasique cytostatique de la famille des anthracyclines.

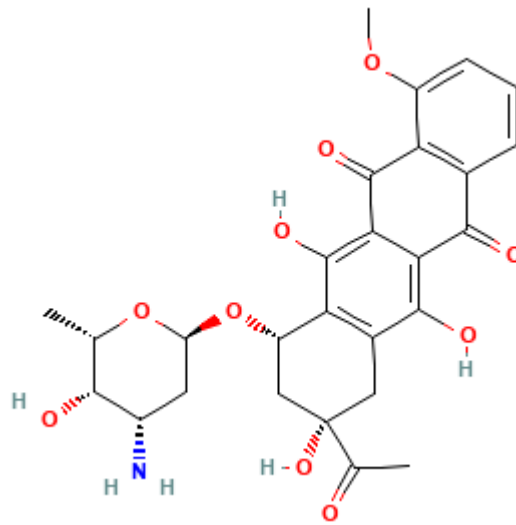


Figure 4 Structure chimique de la daunorubicine [18]

Cet antinéoplasique interagit avec l'ADN en s'intercalant entre deux bases adjacentes, provoquant des changements de structures et de fonctions des molécules d'ADN [19].

L'induction est la première phase du traitement. Le but est d'éradiquer du sang et de la moelle osseuse les cellules blastiques afin d'engendrer une RC [20].

Dans le schéma 7+3, la cytarabine est administrée en perfusion continue de 24 heures pendant 7 jours à une posologie de 200mg/m²/jour. L'anthracycline, quant à elle, est généralement administrée durant les trois premiers jours de l'induction en association avec la cytarabine. La daunorubicine est à la posologie de 90mg/m²/jour tandis qu'elle est de 12mg/m²/jour pour l'idarubicine [14].

Comme nous pouvons l'observer dans l'arbre décisionnel, d'autres molécules peuvent s'ajouter au schéma standard afin de s'adapter aux mutations de chaque patient. Lors d'une mutation FLT3, la midostaurine s'ajoutera au traditionnel 7+3. Le gemtuzumab-ozogamicine (Mylotarg®) a longtemps été en ATU (Autorisation Temporaire d'Utilisation) nominative (2010) puis de cohorte (2014) avant d'obtenir son AMM (Autorisation de Mise sur le Marché) en 2018 dans l'indication suivante : « indiqué en association avec la daunorubicine et la cytarabine dans le traitement de patients âgés de 15 ans et plus atteints de LAM d'expression positive du CD33 de novo, à l'exception de la leucémie aiguë promyélocytaire, naïfs de traitement ». Le Mylotarg® traite une nouvelle indication depuis novembre 2021 dans un cadre de prescription compassionnelle : « Traitement de la LAM CD33 positive en rechute ou

réfractaire chez l'adulte et l'enfant à partir de 2 ans, à l'exception de la leucémie aiguë promyélocytaire » [21]. Ainsi nous pouvons observer que l'utilisation de ce médicament dirigé contre les LAM positives à CD33 fait l'objet de controverses en France et est toujours suivi de près par la HAS (Haute autorité de Santé) alors qu'il est approuvé par la FDA depuis l'an 2000. Plus récemment, le Vyxeos[®], résultant de l'association de la cytarabine et de la daunorubicine sous une forme liposomale, a eu l'AMM dans la LAM nouvellement diagnostiquée secondaire à un traitement (LAM-t) ou dans la LAM associée à des myélodysplasies (LAM-MRC) [22]. Pour la première cure d'induction, les administrations de cette formulation ont lieu aux J1, J3 et J5 selon une perfusion intraveineuse de 90 minutes [23].

Après le premier cycle d'induction, la réponse au traitement est évaluée sous 14 à 21 jours par la réalisation d'un myélogramme. Les patients avec un taux $\geq 5\%$ de blastes dans la moelle osseuse peuvent recevoir un second cycle d'induction [14].

La consolidation est la deuxième phase du traitement. L'objectif est de consolider la réponse après l'induction. La consolidation peut être une chimiothérapie ou une greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH). Selon l'ELN 2022, en plus des facteurs de risque de base, l'évaluation de la MRD en RC est recommandée pour les patients présentant un risque non défavorable en première rémission afin d'éclairer le choix du traitement de consolidation [7]. Pour les patients présentant un risque estimé de rechute supérieur à 35 % à 40 %, la consolidation avec une allogreffe reste l'option privilégiée après la rémission. Ceux-ci incluent les patients atteints de LAM à risque défavorable ou de maladie à risque non défavorable avec persistance de la MRD. L'autogreffe, bien que peu utilisée, offre une option alternative post-rémission pour les patients présentant une maladie à risque favorable ou intermédiaire avec une réponse MRD adéquate ou pour lesquels l'allogreffe n'est pas disponible [7].

Les patients traités par chimiothérapie doivent suivre au moins trois cycles de consolidation. Il faut noter que la dose lors des cures de consolidation est plus élevée que lors de l'induction.

Les sujets âgés de moins de 60 ans vont suivre le protocole HDAC (High dose cytarabine). La posologie est de 3g/m²/12h de cytarabine en perfusion continue de 2 heures aux jours 1, 2 et 3 [24]. A l'inverse, les patients de plus de 60 ans bénéficient du schéma IDAC (Intermediate dose cytarabine). Le protocole résulte de l'administration d'une dose de cytarabine de 1,5g/m² toutes les 12 heures par des perfusions continues de 2 heures en intraveineuse aux jours 1,2 et 3 [24]. Les protocoles HDAC et IDAC peuvent également suivre un rythme d'administration discontinu avec des perfusions réalisées aux jours 1, 3 et 5. Cependant, il a été démontré que le

schéma J1, J2, J3 entraînait une durée d'hospitalisation significativement plus courte avec une récupération hématologique plus rapide sans affecter la réponse au traitement [25].

Le sous-groupe de patients recevant une induction avec un inhibiteur de FLT3 ou un anticorps anti CD33 peuvent être amenés à avoir une incorporation de midostaurine ou de gemtuzumab-ozogamicine, respectivement, lors de la consolidation [7].

Concernant le **traitement d'entretien** après la chimiothérapie intensive, la FDA le définit comme un traitement prolongé de la LAM mais limité dans le temps, généralement moins toxique, administré après l'obtention d'une RC dans le but de réduire le risque de rechute. Le traitement d'entretien par azacytidine orale, autorisé sur le marché en juin 2021, a permis une prolongation significative de la survie globale et sans rechute chez les patients âgés atteints de LAM qui étaient en rémission après une chimiothérapie intensive avec ou sans traitement de consolidation [26]. Les patients ayant reçu de la midostaurine pendant l'induction et la consolidation peuvent continuer à recevoir cet agent en traitement d'entretien, conformément à l'expérience de phase 3 rapportée [27]. L'utilisation d'un traitement d'entretien et préventif après l'allogreffe reste controversée. Les résultats d'essais randomisés en cours sont nécessaires afin de conclure sur la thérapeutique à adopter [14].

4.2.2. Traitements chez le patient unfit

L'arbre décisionnel représenté dans la figure 7 indique le traitement de première intention chez les patients non éligibles à la chimiothérapie intensive.

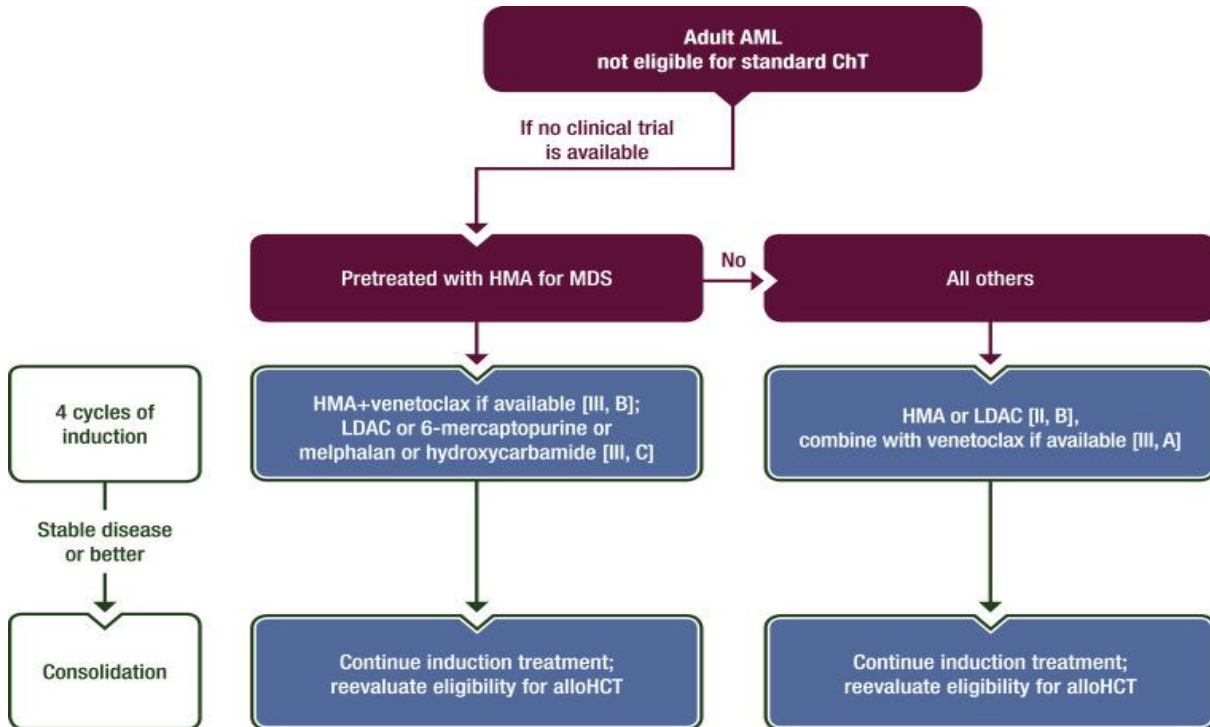


Figure 5 Algorithme indiquant le traitement de première ligne chez les patients atteints de LAM nouvellement diagnostiqués non éligibles à la chimiothérapie intensive [14]

Abréviations : alloHCT, allogreffe de cellules hématopoïétiques ; LAM, leucémie aiguë myéloïde ; ChT, chimiothérapie ; HMA, agent hypométhylant ; LDAC, cytarabine à faible dose ; SMD, syndrome myélodysplasique.

Dans cette partie, nous détaillerons seulement le schéma « gold standard » du patient unfit.

Comme nous avons pu le voir précédemment, les patients unfit sont des patients fragiles. Il s'agit généralement des patients âgés de 75 ans ou plus. Il existe d'autres critères présents dans le tableau 2 qui peuvent définir l'inaptitude du sujet à recevoir la chimiothérapie intensive.

L'association du vénétoclax avec un agent hypométhylant tel que l'azacytidine (Vidaza®) ou la décitabine (Dacogen®) est le protocole standard chez les patients nouvellement diagnostiqués atteints de LAM inaptes pour la chimiothérapie intensive. Aux Etats-Unis, le vénétoclax peut être associé à de faibles doses de cytarabine contrairement à la France où cette association n'a pas d'AMM en première ligne [14]. La littérature scientifique permet de faire la comparaison entre l'azacytidine et la décitabine. Il n'y aurait pas de différence d'efficacité entre les deux médicaments mais la voie d'administration sous cutanée ainsi que le nombre de toxicités hématologiques plus faibles de l'azacytidine font pencher la balance en sa faveur [28–30]. C'est

pour cela que nous détaillerons seulement le mécanisme d'action de l'azacytidine, qui est sensiblement le même pour la décitabine.

L'azacytidine et la décitabine sont deux antimétabolites analogues de la pyrimidine.

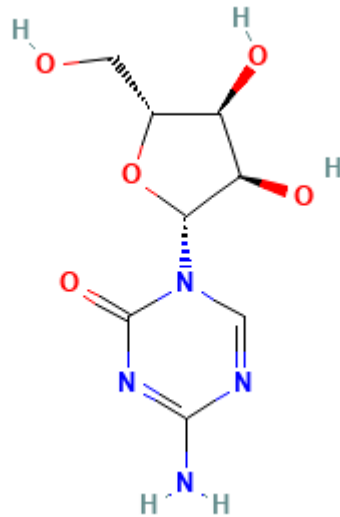


Figure 6 Structure chimique de l'azacytidine [31]

L'azacytidine pourrait exercer ses effets antinéoplasiques par des mécanismes multiples comprenant une cytotoxicité directe à l'encontre des cellules hématopoïétiques anormales de la moelle osseuse et une hypométhylation de l'ADN. Les effets cytotoxiques de l'azacytidine pourraient résulter de mécanismes multiples, comprenant l'inhibition de la synthèse de l'ADN, de l'ARN (Acide Ribonucléique) et de protéines, son incorporation dans l'ARN et l'ADN, et l'activation des voies de dégradation de l'ADN. Les cellules non prolifératives sont relativement insensibles à l'azacytidine. L'incorporation de l'azacytidine dans l'ADN entraîne l'inactivation des ADN méthyltransférases, ce qui engendre une hypométhylation de l'ADN. L'hypométhylation de l'ADN des gènes qui sont impliqués dans la régulation du cycle cellulaire normal, la différenciation et les voies de l'apoptose, et qui présentent une méthylation aberrante peut entraîner une réexpression des gènes suppresseurs de tumeurs et une restauration de leurs fonctions [32].

L'induction chez le patient unfit est réalisée par le schéma gold standard actuel résultant de l'association azacytidine-vénétoclax. Ce protocole est très récent et a obtenu l'AMM grâce à l'essai VIALE-A publié dans le « New England Journal of Medicine » en août 2020.

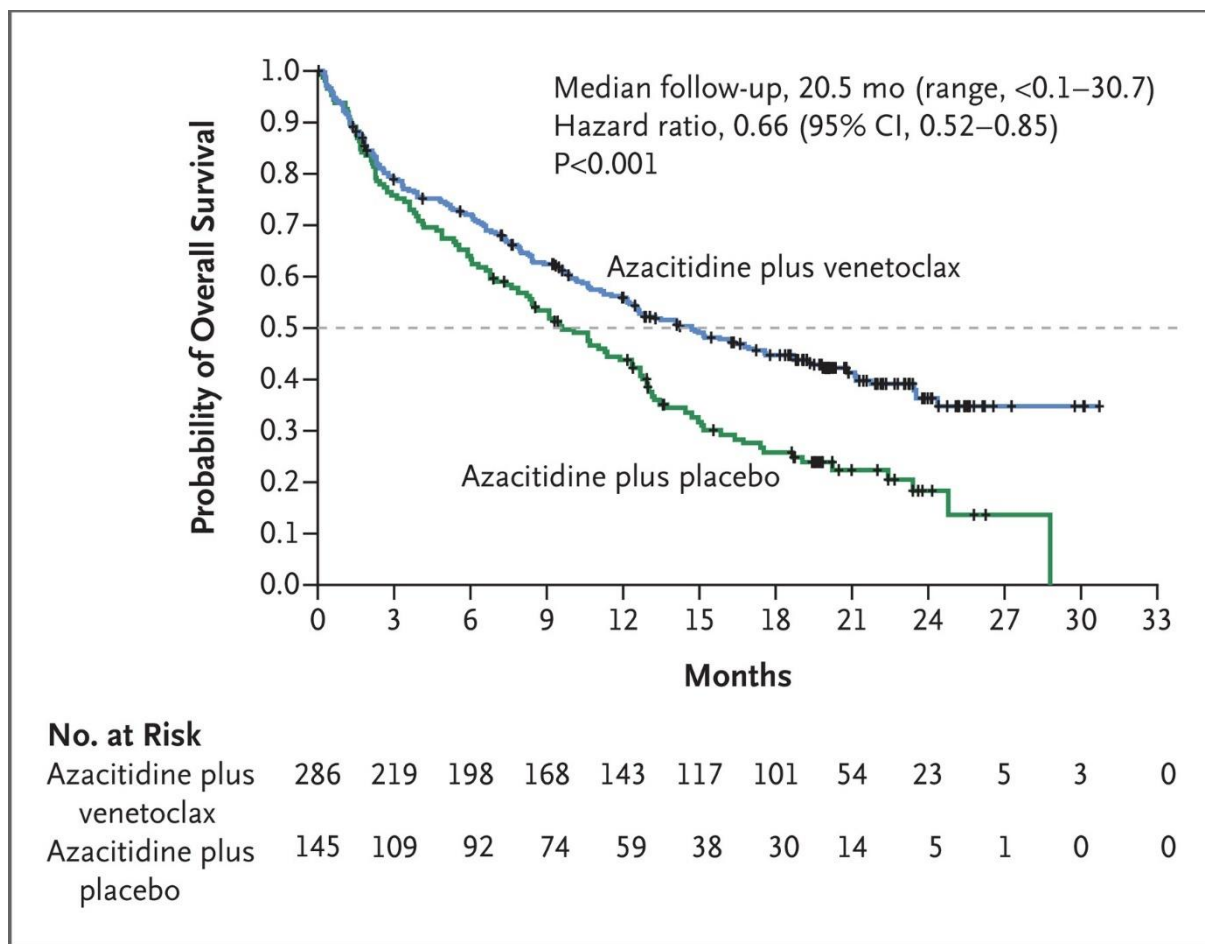


Figure 7 Courbe de survie globale [33]

DiNardo et al. ont montré que la survie globale médiane chez les patients randomisés sous azacytidine plus vénétoclax était de 14,7 mois, contre 9,6 mois avec l'azacytidine seule ($p < 0,001$) [33].

Les cycles de ce protocole durent 28 jours. L'azacytidine est administrée en voie sous cutanée à la dose standardisée de 75mg/m² tous les jours pendant 7 jours. Les administrations peuvent avoir lieu selon un rythme continu de J1 à J7. Cependant, cela peut également être discontinu avec des injections de J1 à J5 et de J8 à J9. Quelques experts s'accordent à dire qu'aucune différence est notable entre les deux schémas d'administrations, cependant aucune étude randomisée n'a pu étudier cela [34]. Le vénétoclax, quant à lui, est administré par voie orale selon le schéma suivant : 100mg au J1, 200mg au J2 et à partir du J3 et cela jusqu'au J28, la dose est de 400mg [33].

La première évaluation de la réponse au traitement est observée après 4 mois d'induction. Si le patient n'a pas supporté le traitement avant cette date, une autre ligne est mise en place. A partir du moment où le patient est en réponse, le traitement est poursuivi et nous pourrions nommer

cette phase **la consolidation**. Il peut y avoir une réévaluation de la faisabilité de l'allogreffe de cellules souches après ces 4 premiers cycles [14].

Pour conclure sur cette première partie, nous avons pu voir ensemble les grands principes de la LAM. Globalement, la thérapie standard n'a pas grandement évolué depuis les années 1970 mais peut se voir associée à d'autres molécules en fonction des mutations retrouvées chez le patient. La seule innovation que nous pouvons évoquer est la formulation liposomale, le vyxeos®. Il s'agit de la même thérapeutique mais présentée sous une autre formulation ce qui modifie considérablement sa pharmacocinétique.

A l'inverse, chez le patient inéligible à la chimiothérapie intensive, le traitement actuel innovant résulte de l'association azacytidine-vénétoclax. Cette association permet une prolongation de la survie globale, de la survie sans évènement et de la durée de réponse, des taux élevés de rémission complète composite, d'indépendance transfusionnelle mais au prix d'une augmentation des neutropénies fébriles et donc d'infections comme a pu le montrer DiNardo et al.[33]. L'application en « vie réelle » de cette association a conduit à des ajustements empiriques de la posologie du vénétoclax, que cela soit sur la durée des cycles mais également sur la dose administrée, dans le but de diminuer la toxicité hématologique de cette association. Des algorithmes pour la prise en charge de la cytopénie avec des schémas thérapeutiques combinés à base de vénétoclax ont été établis pour faciliter les décisions médicales [35]. De nombreuses présentations en congrès sur des effectifs réduits sont discordantes mais montrent pour certaines une diminution du taux de rémission complète composite et de la survie globale médiane. En effet, Laloï et al. ont montré un taux de rémission complète composite de 43,8 % bien inférieur à celui de DiNardo et al. (66%). Quant à Garciaz et al. la médiane de survie globale est de 9,4 mois chez les patients naïfs de traitement contre 14,7 mois chez DiNardo et al. amenant à questionner la faisabilité de ce traitement et le réel bénéfice de cette association [33,36]. Cette association est majoritairement destinée à des sujets âgés avec de nombreuses comorbidités, d'autres médications et une possible dénutrition pouvant altérer la pharmacocinétique du vénétoclax et ainsi pouvant majorer sa toxicité ou diminuer son efficacité.

Par conséquent, dans la suite de ce manuscrit, notre regard va se porter sur cette nouvelle thérapie orale qu'est le vénétoclax et nous allons tout d'abord décrire ses principales caractéristiques.

II. Généralités sur le vénétoclax

1. Historique

Le vénétoclax est une molécule récente approuvée pour la première fois par la FDA le 11 avril 2016 pour le traitement des patients atteints de LLC porteurs de la délétion chromosomique 17p [37].

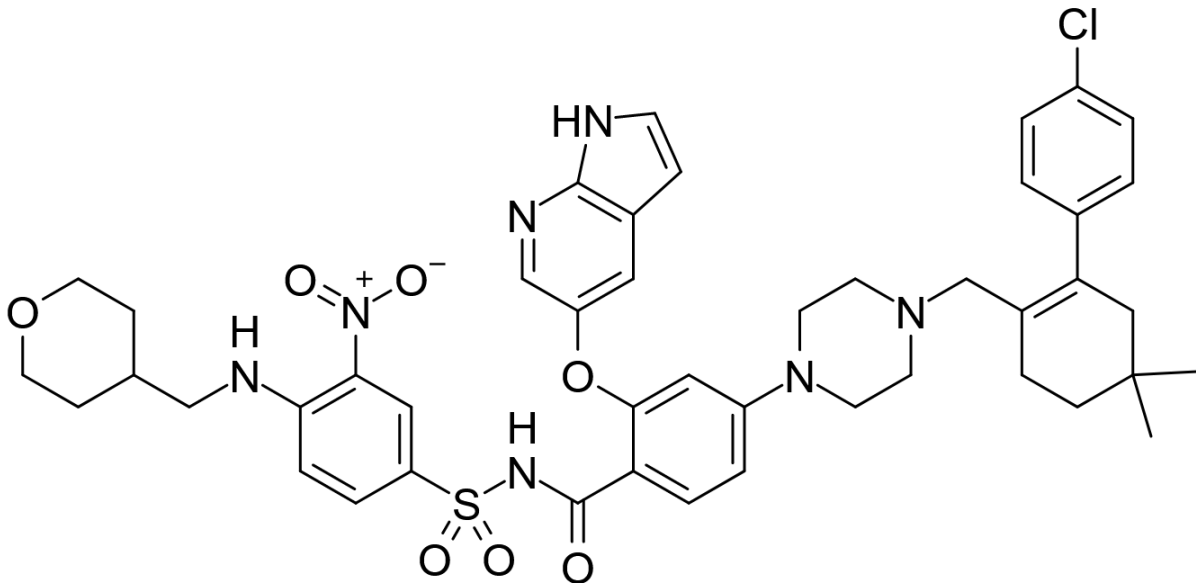


Figure 8 : Structure chimique du vénétoclax

Quelques mois plus tard, c'est au tour de l'agence européenne du médicament (EMA) d'autoriser la mise sur le marché de cette molécule et de la rendre disponible en France.

2. Indications thérapeutiques

Le vénétoclax a plusieurs indications telles que [38]:

- En association avec l'obinutuzumab, chez les patients adultes atteints d'une LLC non précédemment traités.
- En association avec le rituximab, chez les patients atteints d'une LLC ayant reçu au moins un traitement antérieur.
- En monothérapie pour le traitement d'une LLC
 - en présence de délétion 17p ou de mutation TP53 chez les patients adultes inéligibles ou en échec à un inhibiteur du récepteur antigénique des cellules B.

- en l'absence de délétion 17p ou de mutation TP53 chez les patients adultes en échec à la fois à une chimio-immunothérapie et à un inhibiteur du récepteur antigénique des cellules B.
- En association avec un agent hypométhylant pour le traitement des patients adultes atteints d'une LAM nouvellement diagnostiquée et inéligibles à la chimiothérapie intensive

Dans ce manuscrit, nous traiterons seulement l'association avec un agent hypométhylant pour le traitement des patients adultes atteints d'une LAM.

3. Mécanisme d'action

Le vénétoclax est un puissant inhibiteur sélectif de la protéine anti-apoptotique BCL-2 (B-cell lymphoma 2). Une surexpression de BCL-2 a été mise en évidence dans les cellules leucémiques (LLC et LAM) où elle agit en tant que médiateur de la survie tumorale et a été associée à la résistance à la chimiothérapie.

Le vénétoclax se lie directement au sillon de liaison du domaine BH3 de BCL-2. En déplaçant les protéines pro-apoptotiques contenant le motif BH3 telles que BIM, la perméabilisation de la membrane mitochondriale externe, l'activation des caspases et l'apoptose sont permises. Ainsi, ce processus explique comment le vénétoclax exerce une activité cytotoxique sur les cellules tumorales surexprimant BCL-2.

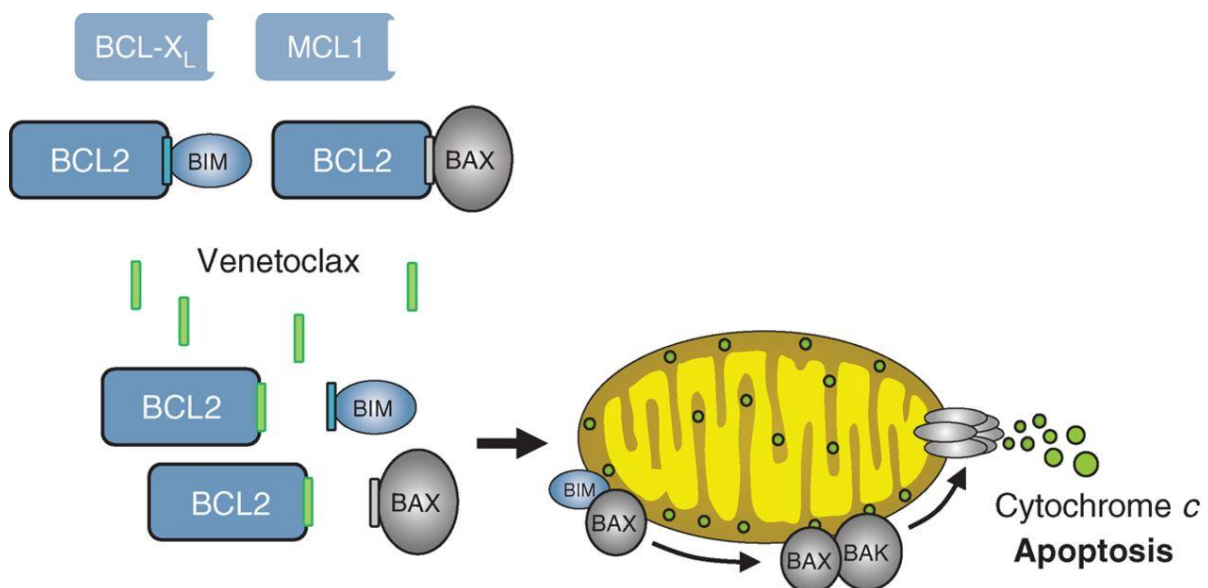


Figure 9 : Mécanisme d'action du vénétoclax[39]

4. Pharmacocinétique

4.1. Généralités

La pharmacocinétique se réfère au devenir du médicament depuis son entrée jusqu'à sa sortie de l'organisme. Elle décrit l'évolution en fonction du temps de l'absorption, la biodisponibilité, la distribution, le métabolisme et l'élimination du médicament [40].

4.1.1 L'absorption

L'absorption d'un médicament est déterminée par ses propriétés physico-chimiques, sa formulation galénique et sa voie d'administration. Les différentes formulations (comprimés, gélules, solutions...) contenant le principe actif et les excipients sont préparées pour être administrées selon différentes voies (orale, buccale, sublinguale, rectale, parentérale, locale et par inhalation). Quelle que soit la voie d'administration, les médicaments doivent être en solution pour être absorbés. Ainsi, les formes solides doivent pouvoir se désintégrer et se désagréger. À moins d'être administré par voie intraveineuse, un médicament doit traverser plusieurs membranes cellulaires semi-perméables avant d'atteindre la circulation systémique.

Les médicaments peuvent traverser les membranes cellulaires par :

- Diffusion passive,
- Diffusion passive facilitée
- Transport actif
- Pinocytose

Parfois, diverses protéines globulaires incluses dans la matrice fonctionnent comme des récepteurs et favorisent le transport de molécules à travers la membrane [40].

4.1.2 La biodisponibilité

La biodisponibilité est définie par la quantité de médicament qui atteint la circulation sanguine après administration extravasculaire et par la vitesse de ce phénomène, qui dépend de la vitesse d'absorption à partir du site d'administration.

La fraction biodisponible est exprimée par le facteur F. C'est un pourcentage pouvant varier de 0 à 100%. Le facteur vitesse est apprécié par la concentration maximale (C_{max}) atteinte et le délai (T_{max}) d'obtention de cette concentration maximale.

La biodisponibilité d'un même principe actif peut donc être variable. Elle est définie pour une voie d'administration et une formulation pharmaceutique données.

On distingue :

- La biodisponibilité absolue, correspondant au rapport de la quantité absorbée par une voie d'administration donnée à celle obtenue par voie intraveineuse. (égale à 100%, par définition).
- La biodisponibilité relative, permettant de comparer entre elles deux formes du médicament administrées par la même voie (ex. comprimé vs sirop). La comparaison porte alors sur les 3 paramètres : F, Cmax et Tmax. La démonstration que ces paramètres sont comparables permet de définir la bioéquivalence des deux formes. La bioéquivalence des formes sera un critère essentiel pour la reconnaissance d'un médicament générique.

La biodisponibilité absolue sert à calculer le rapport de dose à administrer lors du relais de la voie intraveineuse par une autre voie d'administration. Par exemple, si la biodisponibilité orale du médicament est de 50%, on devra administrer pour cette voie une dose double de celle de la voie intraveineuse. La biodisponibilité relative d'un médicament est déterminée par rapport à une autre forme pharmaceutique administrée par la même voie [41].

4.1.3 La distribution

La distribution se définit par l'entrée du médicament dans la circulation générale et sa répartition dans les différents tissus de l'organisme. La distribution est généralement inégale compte tenu du fait de différences en termes de débit sanguin irriguant les tissus, de fixation aux tissus (p. ex., liée à la teneur en lipides), du pH local et de la perméabilité des membranes cellulaires. La vitesse de pénétration d'un médicament dans un tissu dépend du débit sanguin irriguant le tissu, du volume tissulaire et de la répartition du médicament entre le sang et le tissu. Dans les régions richement vascularisées, l'équilibre de distribution entre le sang et les tissus (lorsque les vitesses d'entrée et de sortie sont les mêmes) s'établit plus rapidement, à moins que la diffusion à travers les membranes cellulaires ne soit le facteur limitant de la vitesse. Lorsque l'équilibre de distribution est atteint, les concentrations du médicament dans les tissus et les liquides extracellulaires sont représentées par la concentration plasmatique. Le métabolisme et l'excrétion se produisent en même temps que la distribution, ce qui rend le processus dynamique et complexe.

Le volume de distribution apparent est le volume théorique de liquide dans lequel la totalité du médicament administré devrait être diluée pour obtenir une concentration plasmatique donnée [40].

4.1.4 Le métabolisme

Le site principal du métabolisme est le foie. Les médicaments peuvent être métabolisés par oxydation, réduction, hydrolyse, hydratation, conjugaison, condensation ou isomérisation. Quel que soit le processus, l'objectif est de rendre le médicament plus facile à excréter. Bien que la métabolisation inactive généralement les médicaments, certains métabolites sont pharmacologiquement actifs, parfois même plus actifs que le produit parent. La vitesse de métabolisme des médicaments varie selon les patients.

Certains patients métabolisent un médicament si rapidement que les taux sanguins et tissulaires thérapeutiquement efficaces ne sont pas atteints. Chez d'autres, le métabolisme peut être si lent que des effets toxiques surviennent avec des doses usuelles. À l'échelle individuelle, les vitesses de métabolisme des médicaments sont sous l'influence de facteurs génétiques, d'états pathologiques concomitants (en particulier les hépatopathies chroniques et l'insuffisance cardiaque avancée) et des interactions médicamenteuses (en particulier celles impliquant l'induction ou l'inhibition du métabolisme).

Pour nombre de médicaments, le métabolisme s'effectue en 2 phases. Les réactions de phase I sont impliquées dans la formation d'un groupement fonctionnel nouveau ou modifié ou bien dans un clivage (oxydation, réduction, hydrolyse). Les réactions de phase II comprennent la conjugaison avec un substrat endogène (p. ex., acide glucuronique, sulfate, glycine) [40].

Le plus important système enzymatique du métabolisme de phase I est le cytochrome P-450 (CYP-450), une superfamille d'iso-enzymes microsomiales qui catalysent l'oxydation de nombreux médicaments. Les enzymes du cytochrome CYP-450 peuvent être induites ou inhibées par nombre de médicaments et substances contribuant des interactions médicamenteuses pour lesquelles un médicament augmente la toxicité ou réduit l'effet thérapeutique d'un autre médicament [40].

4.1.5 L'élimination

C'est l'étape qui correspond à l'élimination du principe actif et/ou de ses métabolites. Les deux principaux organes concernés sont le foie et le rein.

L'élimination hépatique (ou biliaire) permet aux métabolites sécrétés dans la bile par le foie d'être éliminés par voie fécale.

Quant à l'élimination rénale, on distingue trois phénomènes distincts : la filtration glomérulaire, la sécrétion tubulaire et la réabsorption tubulaire. Il existe d'autres voies d'éliminations comme la salive, la sueur, le lait maternel et les poumons mais leur participation est faible.

La durée de l'élimination est conditionnée par la demi-vie qui se définit par le temps au bout duquel la concentration du médicament a diminué de moitié. Il faut généralement entre 5 et 7 demi-vies pour que la totalité du médicament soit éliminée de l'organisme.

4.2. Pharmacocinétique du vénétoclax

4.2.1 L'absorption

Après administration par voie orale, le vénétoclax atteint sa C_{max} entre 5 et 8 heures. L'aire sous la courbe (AUC) à l'état d'équilibre augmente proportionnellement dans l'éventail de doses de 150 à 800 mg. Pour une dose de 400mg lors d'un repas hypolipidique, la C_{max} moyenne est de 2.1±1.1 µg/mL et l'AUC à 24h de 32.8±16.9 µg.h/mL.

Il est important de noter la modification de l'absorption en fonction de l'alimentation. L'exposition au vénétoclax est augmentée 3.4 fois après l'ingestion d'un repas hypolipidique contre 5.1 à 5.3 fois après un repas hyperlipidique en comparaison de l'administration à jeun. Le résumé des caractéristiques du produit (RCP) recommande la prise lors du repas [38].

4.2.2 La distribution

Le vénétoclax est très fortement lié aux protéines plasmatiques humaines avec une fraction libre inférieure à 0,01%. Le volume apparent de distribution se situerait entre 256 et 321L [38].

4.2.3 Le métabolisme

Le cytochrome P450 3A4 est le principal isoenzyme métabolisant le vénétoclax. De ce fait, l'association de cette molécule avec un inhibiteur de l'enzyme augmenterait la concentration du vénétoclax et pourrait entraîner des toxicités. A l'inverse, un inducteur de l'enzyme diminuerait la concentration et pourrait amener à un échappement thérapeutique.

De plus, ce médicament est substrat et inhibiteur de trois transporteurs étant la P-gp, la BCRP et l'OATP1B1 [38].

4.2.4 L'élimination

La demi-vie du vénétoclax est de 26 heures. Après une administration de 200mg, 99,9% de la dose a été retrouvée dans les fèces et 0.1 % dans les urines en 9 jours [38].

4.2.5 Interactions médicamenteuses

Le cytochrome P450 3A4 est l'isoenzyme principal du métabolisme du vénétoclax. Cependant, de nombreux inhibiteurs et inducteurs existent et peuvent être à l'origine d'interactions médicamenteuses.

Par exemple, le posaconazole est un inhibiteur puissant du CYP3A4. C'est un anti mycosique à usage systémique disponible en milieu hospitalier et rétrocédable. Lors de l'association au vénétoclax, le RCP recommande de diminuer la dose du vénétoclax de 75% [7,38,42]. Pour les inhibiteurs modérés, il en est de même avec une diminution de dose de 50% [7,38]. A l'inverse, les puissants inducteurs comme le millepertuis ou modérés comme le bosentan peuvent entraîner une diminution d'efficacité et un échappement thérapeutique [38].

Par ailleurs, le vénétoclax est lui-même un inhibiteur de la P-gp, BCRP et OATP1B1 et peut modifier les concentrations de certains médicaments. La digoxine, substrat de la P-gp, a sa Cmax augmentée de 35% et son AUC de 9% lors de l'administration conjointe du vénétoclax [38].

Le vénétoclax est devenu largement prescrit chez le patient unfit. Nous avons observé au sein du service d'oncohématologie de l'hôpital de la Conception que les patients traités par l'association azacytidine-vénétoclax voyaient leurs cures de chimiothérapie décalées de 7 à 14 jours selon les toxicités avec une large prédominance en faveur des neutropénies de grade 4. En conséquence, les cliniciens se doivent d'adapter la dose et/ou la durée de traitement de vénétoclax comme cela peut être proposé par Richard-Carpentier et DiNardo afin de gérer au mieux l'occurrence de ces toxicités [35]. Par ailleurs, l'association à certains médicaments causant des interactions et pouvant modifier la concentration du vénétoclax dans l'organisme nécessite également des adaptations de posologies.

Acteur central des analyses biologiques, le Biogénopole de l'APHM regroupe un plateau technique à réponse rapide et de nombreuses plateformes spécialisées : biologie moléculaire, biochimie spécialisée, séquençage à haut débit, cytométrie en flux, hématologie spécialisée, immunologie, pharmacologie, toxicologie. Le laboratoire de pharmacocinétique et de toxicologie du Pr.Solas permet entre autres de réaliser du STP (Suivi Thérapeutique Pharmacologique). Largement répandu dans le milieu de la cancérologie, cela consiste à mesurer la concentration sanguine d'un médicament afin de déterminer si une adaptation de posologie est nécessaire pour optimiser l'efficacité thérapeutique tout en minimisant le risque d'effets indésirables [43]. Plusieurs inhibiteurs de tyrosine kinase font l'objet d'un suivi

pharmacologique pour lesquels un intervalle thérapeutique est défini afin de maximiser les réponses tout en réduisant les toxicités [44]. Le STP fait intervenir plusieurs acteurs de la santé ayant tous un rôle majeur. Un manquement dans la chaîne peut devenir critique. Par exemple, un bon de prélèvement avec des horaires mal renseignés ou une mauvaise retranscription informatique entraînent une concentration médicamenteuse ininterprétable. Outre ces anomalies, le STP a un rôle majeur et comme évoqué ci-dessus, c'est la raison pour laquelle nous avons décidé de mettre au point la méthode de dosage du vénétoclax. Le laboratoire du Pr.Solas est le deuxième laboratoire national à pratiquer ce dosage plasmatique, après celui de l'hôpital St Louis à Paris.

III. Dosage LC-MS/MS du vénétoclax

1. Matériel et méthode

1.1. Produits chimiques et réactifs

Le vénétoclax et son étalon interne (EI, [²H₇]-vénétoclax) ont été achetés chez Alsachim (Illkirch-Graffenstaden, France). L'acétonitrile (ACN), le méthanol, l'acide formique (AF) et le DMSO (Diméthylsulfoxyde) ont été obtenus auprès de VWR International (Rosny sous Bois, France). Tous les solvants sont de qualité LC-MS/MS (Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem). Les dilutions ont été préparées dans de l'eau Milli-Q (Merck Millipore, Fontenay sous Bois, France). Le plasma humain utilisé pour les échantillons de la gamme d'étalonnage et des contrôles qualité (CQ) a été obtenu auprès de l'Etablissement Français du Sang (EFS, Marseille France).

1.2. Appareillage et conditions MS

Le système LC-MS/MS est un système ACQUITY TQD, ultra-compact, quadripolaire en tandem, à ionisation à pression atmosphérique (API), basé sur un détecteur de masse conçu pour les analyses UPLC-MS/MS de routine (Waters, Guyancourt, France). La tension du fragmenteur (volt, V) et l'énergie de collision (CE, eV) ont été optimisées et fixées à 50 V, 40 V ; 60 V, 40 V pour le vénétoclax et l'EI (c'est-à-dire [²H₇]-vénétoclax) respectivement. Le vénétoclax a été mesuré avec une transition spécifique m/z 868,5 (ion précurseur) et m/z 321,1 (qualificatif). [²H₇]-vénétoclax a été mesuré avec une transition spécifique m/z 875,5 (ion précurseur) et m/z 321,1 (qualificatif). La séparation chromatographique a été réalisée sur ACQUITY UPLC BEH, colonne C18, 130 Å, 1,7 µm, 2,1*50 mm (Waters, Guyancourt, France).

La phase mobile consiste en un solvant A sous la forme d'un mélange d'eau purifiée à l'aide du système Milli-Q (Merck Millipore, Fontenay sous Bois, France) et d'acide formique (0,1 % V/V). Le solvant B est sous la forme d'un mélange d'ACN et d'AF (0,1%). Dix microlitres ont été injectés dans la colonne éluée avec le programme de gradient suivant : 95% de solvant A et 5% de solvant B en phase initiale pour arriver à 100% de solvant B à la 5^{ème} minute (0-5min) puis entre 5,0 et 5,1 min retour aux conditions initiales c'est-à-dire 95% de solvant A et 5% de solvant B. Entre 5,1min et 6min, nous sommes encore dans les conditions initiales mais l'appareil se prépare pour le prochain puit. La température de la colonne et le débit sont de 50°C

et 0,4 ml/min, respectivement. Les temps de rétention pour le vénétoclax et l'EI sont de 3,20 min et 3,19 min respectivement (Figure 9)

Le logiciel MassLynx® (Waters, Guyancourt, France) est utilisé pour le contrôle MS et l'analyse des données (c'est-à-dire la mesure de la surface du pic, l'analyse de régression des courbes standard et le calcul des concentrations).

1.3. Préparation des échantillons

Les solutions mères sont préparées en dissolvant vénétoclax (1:1, V/V) et IS (1:10, V/V) dans du DMSO à des concentrations de 1 mg/ml et 0,1 mg/ml respectivement. Des aliquots de la solution mère sont ensuite conservés à -80°C pendant un an pour le vénétoclax et dix ans pour l'EI. Les solutions mères de vénétoclax sont diluées en série dans de l'eau Milli-Q le jour de l'extraction, pour obtenir des solutions de travail de 100, 10 et 1 µg/mL.

La plage de concentration est de 50 à 5 000 ng/ml pour le vénétoclax. Des échantillons de CQ contenant du vénétoclax à 150, 400 et 4000 ng/ml sont obtenus extemporanément en ajoutant des quantités connues de solutions mères diluées dans du plasma humain.

La solution d'étalon interne est préparée en mélangeant 10 µL d'EI (100 µg/mL) et 3 mL d'ACN (quantité pour environ 9 échantillons). 300 µL de la solution sont ajoutés aux étalons et aux échantillons pour une concentration finale (solution EI) de 100 ng/µL.

L'échantillon de plasma (50 µl) est mélangé avec 300 µL de solution contenant ACN et EI. Le mélange est vortexé pendant 2 min. La solution est centrifugée à 15000 tr/min pendant 10 min. Ensuite, nous prélevons 100µl de cette solution à laquelle nous allons ajouter 200µl d'eau. Le mélange est vortexé et la solution résultante est transférée dans des plaques à 96 puits (Waters®). Dix microlitres ont été injectés dans la colonne pour analyse.

1.4. Validation de la méthode de dosage

La validation de la méthode a été effectuée conformément aux directives actuelles pour la validation des méthodes bioanalytiques émises par l'EMA (Agence européenne du médicament). Plusieurs étapes indispensables ont été réalisées pour procéder à la validation de la méthode de dosage :

- La fidélité incluant la répétabilité et la fidélité intermédiaire
- La justesse
- La limite de quantification
- La spécificité.

D'autres étapes sont non indispensables mais à réaliser en fonction de la méthode :

- La linéarité
- Le rendement d'extraction
- L'effet matrice
- L'effet dilution
- La contamination inter-échantillons
- La stabilité des échantillons et/ou des réactifs

1.4.1. Linéarité et sensibilité

Les échantillons de la gamme d'étalonnage ont été préparés et analysés 6 fois sur 6 séries indépendantes. Les courbes d'étalonnage ont été mieux ajustées en utilisant une régression quadratique. Afin d'obtenir une linéarité acceptable, l'écart des concentrations moyennes calculé sur 6 essais devait être inférieur à $\pm 15\%$ des concentrations nominales pour les échantillons de la gamme d'étalonnage non nuls, sauf pour le niveau de la limite de quantification (LOQ) où un écart de $\pm 20\%$ était autorisé [45]. La LOQ a été déterminée en analysant 6 réplicats dans le même run. Une précision de $\pm 20\%$ et une exactitude de 80-120 % étaient autorisées pour la LOQ [45].

1.4.2. Précision et justesse

La précision et l'exactitude intra-analyse ont été déterminées en analysant 6 réplicats de chaque niveau de concentration CQ sur une seule analyse. La précision et l'exactitude inter-analyses ont été déterminées en analysant un échantillon CQ par jour à chaque concentration pendant 6 jours différents. Les précisions intra- et inter-analyses ont été exprimées sous forme de coefficient de variation (CV) à chaque concentration de CQ et ne doivent pas dépasser $\pm 15\%$ [45]. La précision a été calculée comme le pourcentage d'écart par rapport à la concentration nominale et devait être de $\pm 15\%$ [45].

1.4.3. Sélectivité et spécificité

Les interférences des composés plasmatiques endogènes ont été étudiées en analysant le plasma de 8 patients hospitalisés dans différentes unités cliniques et traités avec différents agents (c'est-à-dire antiviraux, antifongiques, antibiotiques, analgésiques).

1.4.4. Effet matrice

L'effet matrice a été évalué sur 6 échantillons de plasma blanc surchargés aux niveaux de concentration 150 ng/ml et 4 000 ng/ml de vénétoclax et injectés en triplicats. Nous avons comparé la surface du pic obtenue à partir de l'échantillon de plasma avec la surface du pic obtenue à partir de la solution mère diluée à la même concentration dans le mélange eau Milli-Q/Méthanol (50/50).

1.4.5. Effet dilution

Les procédures de dilution ont été validées en surchargeant le plasma blanc avec des solutions mères à une concentration correspondant à 200 fois la LOQ (soit 10 000 ng/mL) puis en diluant au 1/2 et au 1/4. Les 5 échantillons de plasma dilués ont été analysés et la limite d'acceptation était de $\pm 15\%$.

1.4.6. Stabilité du vénétoclax

1.4.6.1. Sang total

Cela permet de connaître la stabilité du tube de sang entier entre le prélèvement et la centrifugation. La concentration de vénétoclax dans le sang total a été évaluée à deux niveaux de CQ (150 ng/mL et 4000 ng/mL) à 0h, 5h (15-25°C) et 24h (4°C) et la limite d'acceptation était de $\pm 15\%$. Trois réplicats ont été effectués pour les différentes heures.

1.4.6.2. Plasma

La concentration plasmatique de vénétoclax a été évaluée à deux niveaux de CQ (150 ng/mL et 4000 ng/mL) à 0h, 5h et 24h selon une température comprise entre 15 et 25°C. Trois réplicats ont été effectués pour les trois temps d'analyse. La limite d'acceptation était de $\pm 15\%$.

1.4.6.3. Congélation/Décongélation

Cette étape a été évaluée à deux niveaux de concentrations (150 ng/mL et 4000 ng/mL) après surcharge de plasma blanc. Les échantillons ont été congelés-décongelés trois fois. La limite d'acceptation était de $\pm 15\%$.

2. Résultats

Le vénétoclax et son EI ($[^2\text{H}7]$ -vénétoclax) ont été détectés et quantifiés sur une durée totale de 6 min. La détection de tous les analytes a été optimisée avant leur quantification par LC-MS/MS. Pour le vénétoclax (m/z 868,5 \rightarrow 321,1) et son EI, $[^2\text{H}7]$ -vénétoclax (m/z 875,5 \rightarrow 321,1), les temps de rétention étaient respectivement de 3,20 et 3,19 min (Figure 9)

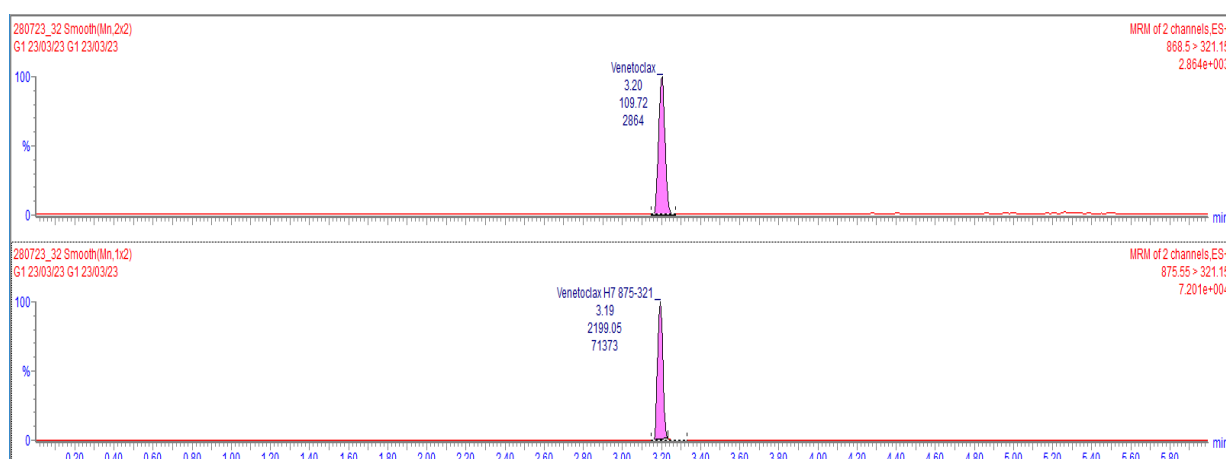


Figure 10 Premier point de gamme du vénétoclax

2.1. Validation de la méthode de dosage

2.1.1. Linéarité et sensibilité

Lors de l'analyse de régression quadratique, le coefficient de corrélation moyen (r^2) pour le vénétoclax (m/z 868,5 \rightarrow 321,1) était de 0,990 (Tableau 4).

Tableau 4 Résultats de la linéarité exprimant le r^2

	Conc théorique	Exactitude des calibrants (%), coefficient de corrélation, pente						Valeur limite
		Série 1	Série 2	Série 3	Série 4	Série 5	Série 6	
Cal1 =LOQ	50	1,6%	4,8%	3,6%	1,5%	6,3%	1,3%	20
Cal2	100	1,3%	-8,4%	-4,2%	-5,3%	-3,9%	-1,5%	15
Cal3	250	4,5%	19,2%	1,3%	1,8%	0,1%	-2,8%	15
Cal4	500	-10,6%	1,7%	1,2%	3,7%	0,7%	3,3%	15
Cal5	1000	2,2%	-8,6%	-3,2%	-1,3%	-6,5%	0,4%	15
Cal6	2500	1,3%	3,9%	1,5%	-0,5%	3,9%	-0,8%	15
Cal7	5000	-0,3%	-0,7%	-0,2%	0,1%	-0,7%	0,2%	15
Cal8								15
r^2		0,999	0,998	1,000	1,000	0,999	1,000	0,990
Pente		7,48E-09	1,58E-09	9,79E-09	2,26E-09	2,45E-09	-2,50E-09	

La précision variait de 0,4 % à 7,5 % (Tableau 5). Un écart allant de -3,7% à 4% pour le vénétoclast a été observé sur les 7 niveaux de calibrations (n=6 réplicats).

Tableau 5 Résultats de la linéarité exprimant la précision et la justesse de la gamme

C° (ng/mL)	50,0	100,0	250,0	500,0	1000,0	2500,0	5000,0
Moyenne (ng/mL)	51,6	96,4	260,00	500,0	971,6	2538,9	4986,6
Ecart type (ng/mL)	1,0	3,3	19,5	26,7	40,9	51,1	18,9
CV (%)	2,0	3,4	7,5	5,3	4,2	2,0	0,4
Justesse (%)	3,2	-3,7	4,0	0,01	-2,8	1,6	-0,3

Les concentrations moyennes calculées sur 6 essais n'ont pas dévié de plus de ± 15 % des concentrations nominales pour les normes d'étalonnage non nulles. La limite de quantification (LOQ) était de 50 ng/ml avec une précision de 13,6 % (Tableau 6). Par conséquent, la réponse à la LOQ était identifiable, discrète et reproductible avec une précision de ± 20 % et une exactitude de 80 à 120 %, répondant ainsi aux directives de l'EMA.

Tableau 6 Résultats de l'étape de répétabilité de la LOQ

	LOQ
Concentration (ng/mL)	50,0
1	45,1
2	57,4
3	55,1
4	53,4
5	41,5
6	43,6
Moyenne (ng/mL)	49,3
Ecart type (ng/mL)	6,7
CV (%)	13,6
Justesse (%)	-1,3

2.1.2. Précision et justesse

Les performances du test, évaluées à trois concentrations CQ différentes, sont résumées dans les tableaux 7 et 8 et étaient conformes aux directives de validation marquées par des coefficients de variation (CV) inférieurs à 15%.

Tableau 7 Précision et justesse des CQ intra jour

Concentration (ng/mL)	150,0	400,0	4000,0
Moyenne (ng/mL)	142,6	410,9	3997,0
Ecart type (ng/mL)	10,5	14,8	116,2
CV (%)	7,4	3,6	2,9
Justesse (%)	-5,0	2,7	-0,1

Tableau 8 Précision et justesse des CQ inter jour

Concentration (ng/mL)	150,0	400,0	4000,0
Moyenne (ng/mL)	143,7	401,6	3965,7
Ecart type (ng/mL)	6,1	15,9	113,4
CV (%)	4,3	3,9	2,9
Justesse (%)	-4,2	0,4	-0,9

2.1.3. Sélectivité et spécificité

Après injection de 8 échantillons de plasma prélevés chez des patients de routine traités pour plusieurs maladies, aucune interférence chromatographique significative des médicaments co-administrés n'a été observée avec le vénétoclax (données non présentées).

2.1.4. Effet matrice

Les rapports des surfaces des pics ont été faits et cela a permis de calculer l'effet matrice et d'exposer la moyenne, l'écart type ainsi que la précision (CV). Aucun effet matrice n'a été observé lors de cette analyse.

Tableau 9 Effet matrice

vénétoclax	
Concentration cible (ng/ml)	150,0
Concentration moyenne (ng/ml)	163,0
Ecart-type (ng/mL)	19,3
CV (%)	11,9
vénétoclax	
Concentration cible (ng/ml)	4000,0
Concentration moyenne (ng/ml)	3831,0
Ecart-type (ng/mL)	202,2
CV (%)	5,3

2.1.5. Effet dilution

Les concentrations mesurées après des dilutions au 1/2 et au 1/4 sont résumées dans le tableau 10. La précision et l'exactitude étaient toutes deux acceptables par rapport aux recommandations actuelles.

Tableau 10 Effet dilution

Dilution au 1/2	
Moyenne (ng/ml)	5592.4
Ecart-type (ng/ml)	183.3
Précision, CV (%)	3.3
Justesse (%)	11.9
Dilution au 1/4	
Moyenne (ng/ml)	2794.4
Ecart-type (ng/ml)	40.5
Précision, CV (%)	1.4
Justesse (%)	11.8

2.1.6. Stabilité du vénétoclax

2.1.6.1. Sang total

La concentration de vénétoclax dans le sang total a été évaluée à deux concentrations (150 ng/mL et 4 000 ng/mL) à 0h, 5h (15-25°C) et 24h (4°C). Pour le temps t=5h (n=3), l'écart était de 5,1% à la faible concentration et de 14,2% à la forte concentration. La stabilité à 5h était conforme aux directives. En revanche, pour t=24h (n=3), la stabilité en sang total n'était pas acceptable avec un écart de -216,9% pour la faible concentration (les échantillons de la concentration de 4 000 ng/mL n'ont pas été analysés au vu des résultats de la concentration basse).

2.1.6.2. Plasma

De la même manière que précédemment, les analyses ont été réalisées aux concentrations CQ basse et CQ élevée. La stabilité du plasma était conforme selon les directives actuelles (Tableau 11).

Tableau 11 Stabilité dans le plasma

Concentrations (ng/ml)	150,0	4000,0
Déviatation moyenne (%) (H0/H5)	1.1	1.4
Déviatation moyenne (%) (H0/H24)	12.5	-5.6

2.1.6.3. Congélation/Décongélation

Les résultats sont décrits dans le tableau 12, et le médicament s'est avéré stable à trois cycles de congélation-décongélation.

Tableau 12 Stabilité lors de la congélation/décongélation

Concentrations (ng/ml)	150,0	4000,0
Moyenne (ng/ml)	148.4	3977.2
Ecart-type (ng/ml)	8.8	91.5
Precision (CV %)	5.9	2.3

La méthode de dosage du vénétoclax a ainsi été validée selon les lignes directrices de l'EMA datant de 2012, la norme ISO 15189 ainsi que la FDA 2001.

Un certain nombre de prélèvements sanguins de patients traités par vénétoclax sont maintenant analysés au laboratoire de pharmacocinétique de l'APHM. En observant les concentrations résiduelles de chaque patient, il s'avère qu'une grande variabilité pharmacocinétique est observée. C'est la raison pour laquelle nous avons décidé d'étudier cette variabilité.

IV. Etude pharmacocinétique du vénétoclax

1. Introduction

Le vénétoclax est une molécule très innovante qui est très souvent associée à l'azacytidine dans la LAM. Comparativement à de nombreux inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK) [44], la littérature scientifique concernant le STP du vénétoclax est famélique. Les toxicités hématologiques endurées par les patients entraînent un ajustement de posologie empirique sans aucune notion de la saturation de la cible.

Toutefois, nous retrouvons quelques études décrivant l'exposition des patients au vénétoclax selon deux méthodes différentes, l'AUC et la Cmin (également appelée concentration résiduelle).

D'une part, Brackmann et al. et Cheung et al. ont décrit ces expositions par l'AUC mais ont une méthodologie divergente, tant sur le nombre de patients inclus que sur le schéma posologique. Brackmann et al. ont montré dans leur étude une biodisponibilité moyenne relative 67% plus élevée chez les patients asiatiques. Cependant la fourchette d'exposition individuelle par l'AUC entre les patients asiatiques et non asiatiques est généralement comparable [46]. Cheung et al. quant à eux, avec un effectif minime, ont précédemment montré qu'après une seule dose de 100mg de vénétoclax, l'exposition différait entre le groupe asiatique et non asiatique [3]. D'autre part, Yang et al. ont étudié les concentrations maximales et minimales sur une cohorte de patients asiatiques traités par vénétoclax et ont exprimé de la variabilité. Quel que soit l'hémopathie maligne traitée par vénétoclax, Brackmann et al. indiquent que la pharmacocinétique du médicament reste la même [46]. Compte tenu des caractéristiques du médicament, de la faisabilité sur le terrain, cela nous a poussé à étudier les concentrations plasmatiques résiduelles du vénétoclax disponibles dans notre CHU afin d'en observer la variabilité inter et intra individuelle.

L'objectif principal de cette étude est d'étudier la pharmacocinétique du vénétoclax chez les sujets atteints de LAM.

Les objectifs secondaires sont de décrire la pharmacocinétique du vénétoclax, d'établir un lien entre exposition plasmatique et toxicités et pour finir, établir un lien entre exposition et efficacité. Cela amènerait à l'obtention d'un intervalle thérapeutique cible tout en ayant une efficacité optimale et des toxicités réduites.

2. Méthode

2.1. Patients

Cette étude est conduite en accord avec la méthodologie de référence MR-004 (n° RH7VH5) encadrant les traitements de données à caractère personnel à des fins d'étude, évaluation ou recherche n'impliquant pas la personne humaine [47]. Il s'agit d'une étude rétrospective monocentrique, observationnelle.

2.2. Prélèvements sanguins

Le prélèvement sanguin est réalisé après le 8^{ème} jour de prise de la première cure ou le 6^{ème} jour pour les cures suivantes afin que le médicament soit à l'équilibre dans l'organisme. Le tube de sang est acheminé au laboratoire de pharmacocinétique de l'hôpital de la Timone. Lors de la phase pré-analytique, l'intervalle de temps entre le prélèvement et la centrifugation doit être inférieur à 5 heures (cf stabilité du vénétoclax dans le sang total).

2.3. Analyse des échantillons

Les concentrations plasmatiques du vénétoclax ont été déterminées à l'aide de la méthode de dosage décrite précédemment. Pour toutes les concentrations recueillies, les prélèvements ont eu lieu au moment de l'équilibre du vénétoclax. Les résultats des prélèvements non effectués au moment résiduel, c'est-à-dire quelques minutes avant la prochaine prise, ont été extrapolés à T24h par la formule de Van Eerden et al. [48]. La plupart de notre effectif a fait l'objet de plusieurs dosages de concentrations résiduelles.

2.4. Toxicités

Les paramètres biologiques ont été recueillis par le logiciel aXigate[®]. Les toxicités hématologiques ont été gradées avant traitement et après la cure 1 selon les CTCAE (Common Terminology Criteria for Adverse Events) du National Cancer Institute [49].

2.5. Analyse statistique

Les logiciels Pharma[®], Chimio[®] et aXigate[®] ont permis de réaliser le recueil de données. Les statistiques descriptives ont été faites à l'aide du logiciel JASP[®](version 0.17.3.0). Le reste des analyses statistiques ont été faites par le logiciel R[®] (version 4.3.1). Une valeur de $P \leq 0.05$ permet de considérer le résultat comme statistiquement significatif.

3. Résultats

3.1. Description de la population

Un total de 22 patients unfit présentant une LAM traités par vénétoclax-azacytidine ou vénétoclax-cytarabine faible dose, hospitalisés à l'hôpital de la conception à Marseille entre août 2022 et juillet 2023 ont été inclus dans cette étude.

Tableau 13 Données démographiques et cliniques de l'effectif

Caractéristiques	Patients	
	N	%
Nombre de patients	22	100
Sexe		
Femme	7	32
Homme	15	68
Age (années)		
Médiane	78	
Minimum-Maximum	40-85	
Leucémie aiguë myéloïde		
Primaire	8	36
Secondaire	14	64
European Leukemia Network		
Favorable	0	0
Intermédiaire	1	5
Défavorable	21	95
Caryotype		
Normal	5	

Monosomal	5	
Complexe	10	
Mutations		
FLT3	1	5
IDH1/2	4	18
NMP1	1	5
TP53	8	36
Lignes thérapeutiques		
Première ligne	14	64
Deuxième ligne ou plus	8	36
Blastes dans la moelle osseuse (%)		
Médiane		22
Minimum-Maximum		8-97
Cytopénies de grade ≥ 3		
Anémie	3	14
Thrombopénie	13	59
Neutropénie	11	50

Parmi ces patients, la majorité ont une LAM secondaire à un syndrome myéloprolifératif ou à un médicament. 95% des leucémies sont défavorables et pour 14 patients, il s'agit de leur première ligne de traitement. Les patients sont traités par l'association vénétoclax-azacytidine mis à part un patient chez lequel l'azacytidine a été remplacée par de la cytarabine faible dose. 14 de ces patients sont également inclus dans un protocole de recherche clinique : « Implication des enzymes du métabolisme CDA et/ou dCK dans la réponse au traitement par azacytidine des patients atteints d'hémopathies malignes » (eudraCT number : 2020-A02042-37).

Le schéma posologique est classique avec une dose de 100mg au J1, 200 mg au J2 et 400 mg au J3. Associé à un inhibiteur fort du CYP3A4, comme le posaconazole, la dose du vénétoclax se verra diminuer de 75% [42].

Tableau 14 Description des différents protocoles de l'effectif

Protocole vénétoclax	Patients	
	N	%
Dose initiale (mg)		
100	5	23
200	0	0
400	17	77
Durée initiale (j)		
7	3	14
14	6	27
21	5	23
28	8	36
Présence inhibiteur		
Oui	5	23
Non	17	77
Modification protocole de départ		
Dose	3	14
Durée	4	18
Dose et durée	0	0

Généralement, le vénétoclax est pris en continu, 28 jours sur 28 jours. Puis, en fonction des toxicités, le schéma peut être adapté avec des réductions de durée pouvant aller jusqu'à 7 jours. Le tableau 14 nous indique la grande disparité des protocoles initiaux. Seulement 7 patients ont démarré avec une dose de 400 mg et une durée de 28 jours. Parmi les patients recevant un inhibiteur, 1 patient aura une dose de 100mg et une durée classique de 28 jours. 7 patients ont vu leur protocole vénétoclax modifié sur la dose ou la durée. Pour l'ensemble des 22 patients, le vénétoclax a été administré une fois par jour pendant le repas. Les consultations pharmaceutiques téléphoniques ont permis de s'assurer de l'absence d'interactions médicamenteuses autres que le posaconazole.

3.2. Pharmacocinétique du vénétoclax chez les sujets LAM

3.2.1. Analyse linéaire

La linéarité est effectuée sur l'ensemble des concentrations à dispositions. Pour étudier la linéarité de la pharmacocinétique, nous allons regarder si les Cmin sont proportionnelles aux doses administrées.

Tout d'abord, nous avons comparé les Cmin selon la dose administrée.

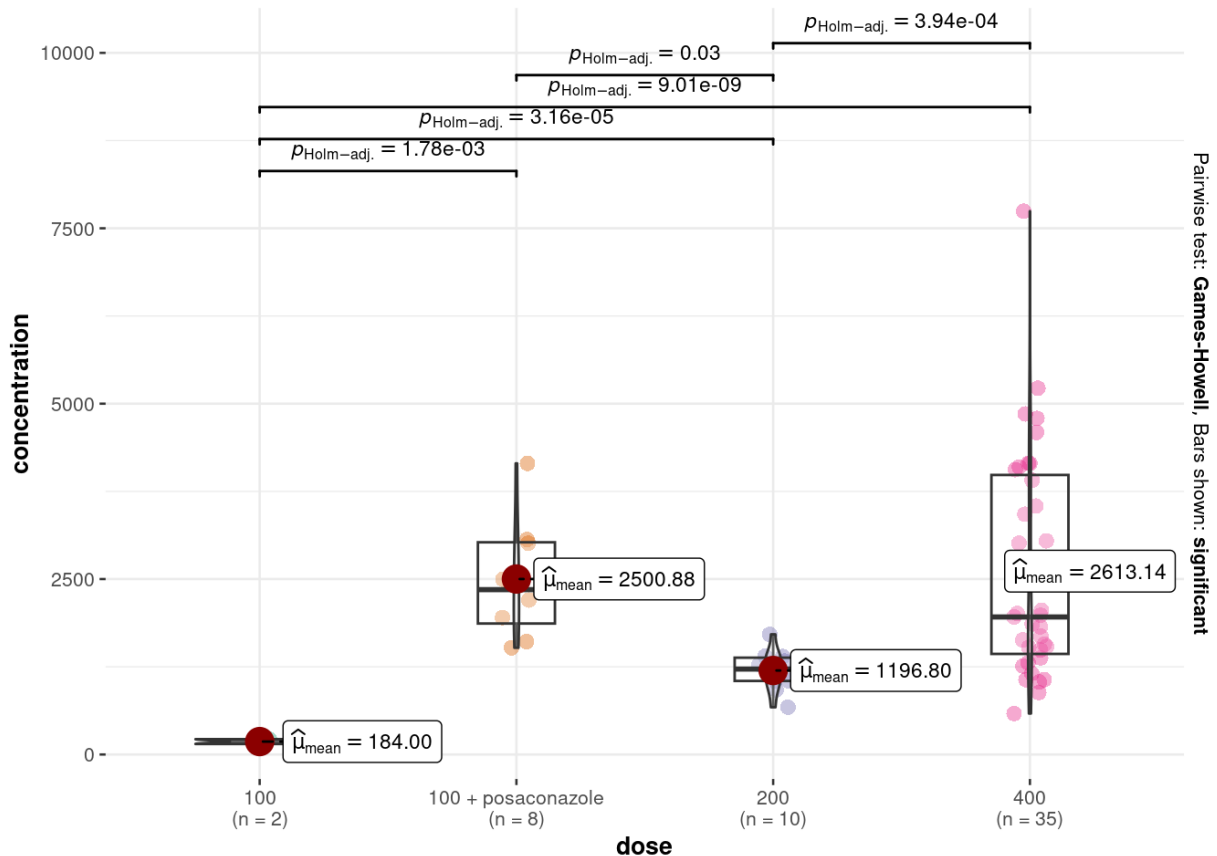


Figure 11 Comparaison des Cmin en fonction de la dose administrée

Toutes les Cmin moyennes permettent d'observer une différence significative d'exposition entre tous les paliers de doses, ce qui est attendu. Nous observons également que les patients traités par vénétoclax 100 mg en association au posaconazole ont une Cmin moyenne proche de celle des patients traités par 400 mg. Cela confirme les recommandations de diminution de dose de 75% du vénétoclax publiées dans la littérature scientifique [50].

Ensuite, les Cmin rapportées à la dose selon la dose administrée ont été étudiées. Après ajustement des Cmin en fonction de la dose, nous obtenons une concentration en ng/mL par mg de vénétoclax. Le palier « 100mg + posaconazole » a été retiré pour faciliter l'analyse. Nous

observons qu'il n'y a pas de différences statistiquement significatives entre les concentrations moyennes de 5,98 µg/L et 6,53 µg/L présentées à la dose de 200 et de 400mg respectivement.

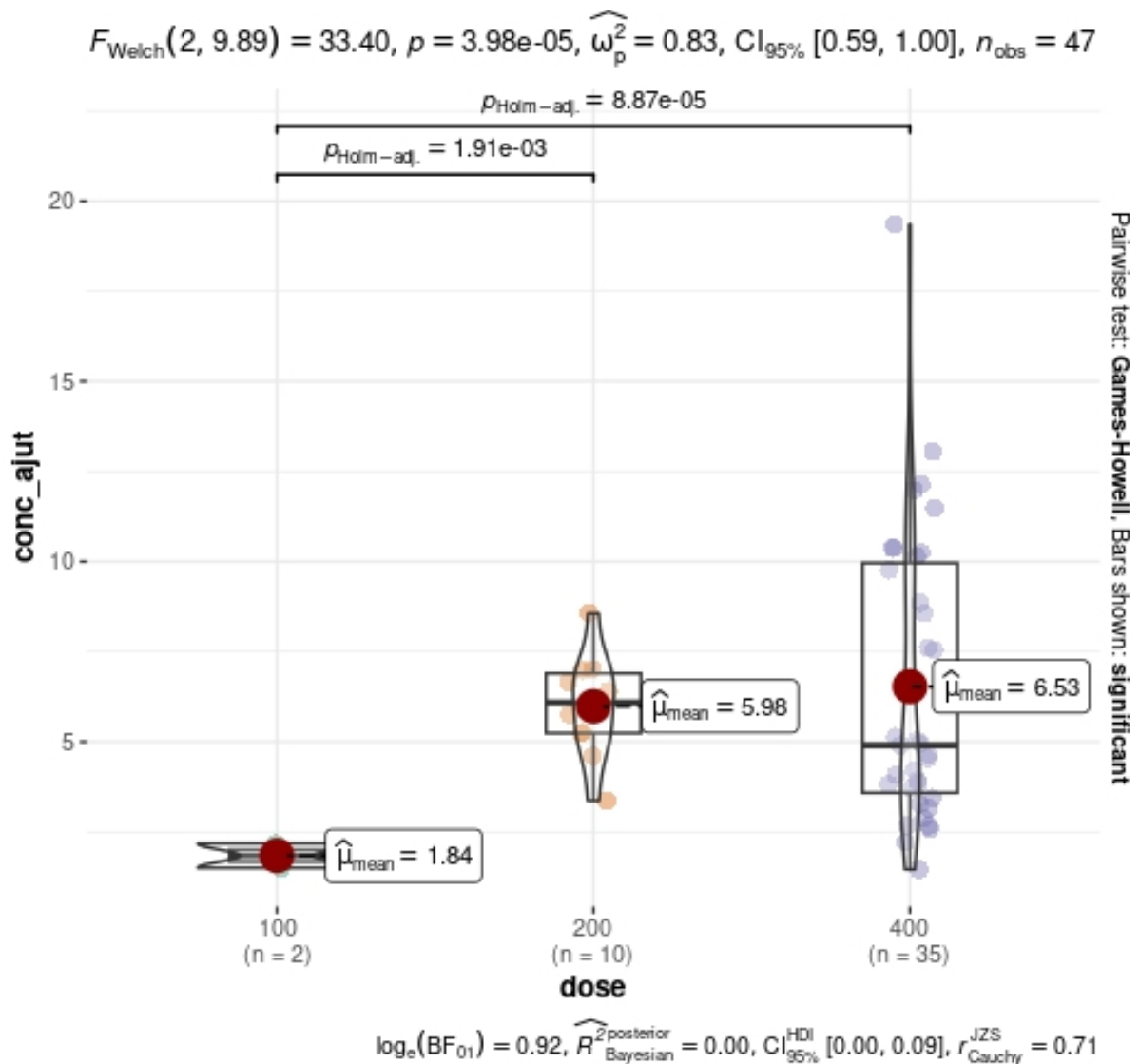


Figure 12 Cmin de vénétoclax ajustées en fonction de la dose

Les Cmin moyennes étant sensiblement les mêmes, cela permet de confirmer que la pharmacocinétique du vénétoclax est linéaire. Nous ne pouvons pas tenir compte des concentrations ajustées pour la dose de 100 mg en raison du faible effectif.

3.2.2. Variabilité inter-individuelle

Pour étudier la variabilité inter-individuelle de la pharmacocinétique, nous avons comparé la variabilité de l'exposition des patients par la Cmin. Tous ayant reçus la même dose, la première concentration résiduelle de chaque patient a été incluse dans cette analyse. Le violin plot ci-dessous représente la Cmin en fonction de la dose reçue.

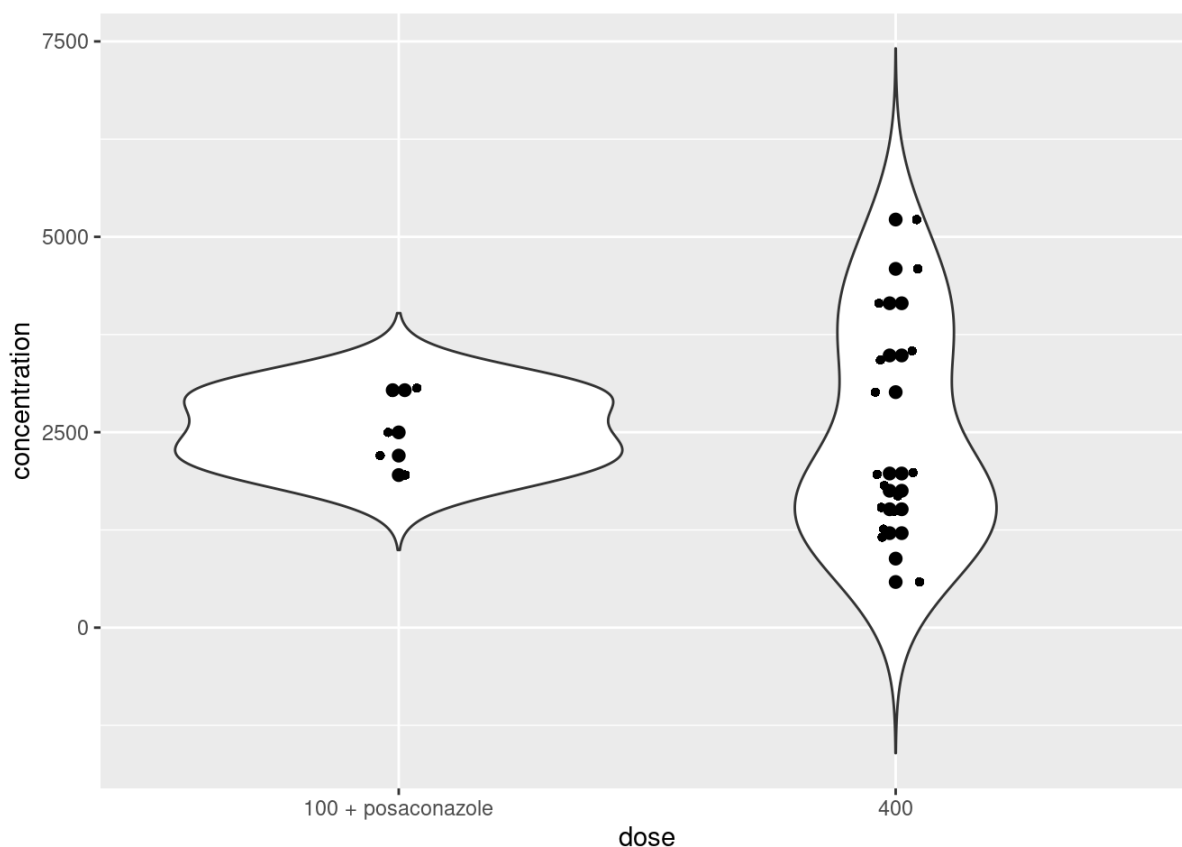


Figure 13 Violin plot représentant visuellement la variabilité interindividuelle

Cette représentation visuelle nous permet d’observer l’étendue des concentrations pour une même dose. Mathématiquement, la variabilité va s’exprimer par le coefficient de variation de 50%. Cependant, il semblerait que la variabilité soit moindre lorsque le vénétoclax est associé au posaconazole.

Tableau 15 Paramètres mathématiques permettant d’observer la variabilité interindividuelle

Concentrations résiduelles	N=22
Moyenne (Intervalle interquartiles) (ng/mL)	2 508 (1 576 ; 3 334)
Minimum-Maximum (ng/mL)	584 ; 5 221
Ecart-type (ng/mL) ; Variance ((ng/mL) ²)	1 266 ; 1 601 978
Coefficient de variation (%)	50.5

3.2.3. Variabilité intra-individuelle

La C_{min} a été standardisée par la dose afin d’étudier la variabilité pour un même patient. Les sujets ayant eu au moins 3 mesures ont fait l’objet de l’analyse.

Tableau 16 Résultats de la variabilité intra-individuelle

Coefficient de variation	N=7
Moyen (%)	45
Minimum-Maximum (%)	18 ; 127

La variabilité intra-individuelle est également conséquente avec un coefficient de variation moyen de 45%.

3.2.4. Etude de l'exposition selon la durée protocolaire utilisée

Il est difficile de comparer l'effet du protocole sur l'exposition tout en tenant compte de la dose. Dans un premier temps, on a étudié la Cmin en fonction du protocole aux doses de 400mg.

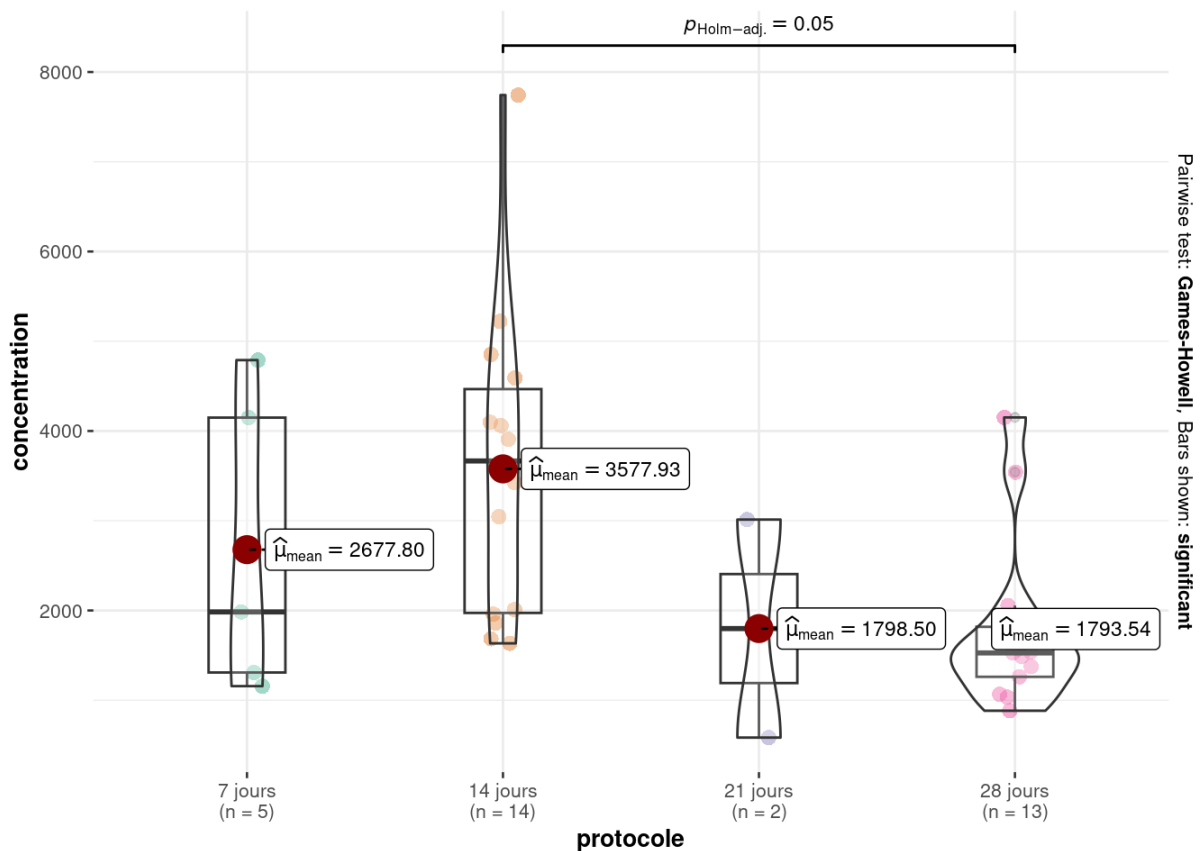


Figure 14 Comparaison de l'exposition selon le protocole utilisé aux doses de 400mg

On peut voir que le protocole de 28 jours a une concentration résiduelle moyenne significativement plus basse que celle du protocole de 14 jours (figure 14).

Dans un second temps, la même analyse a été réalisée mais cette fois-ci la Cmin a été rapportée à la dose.

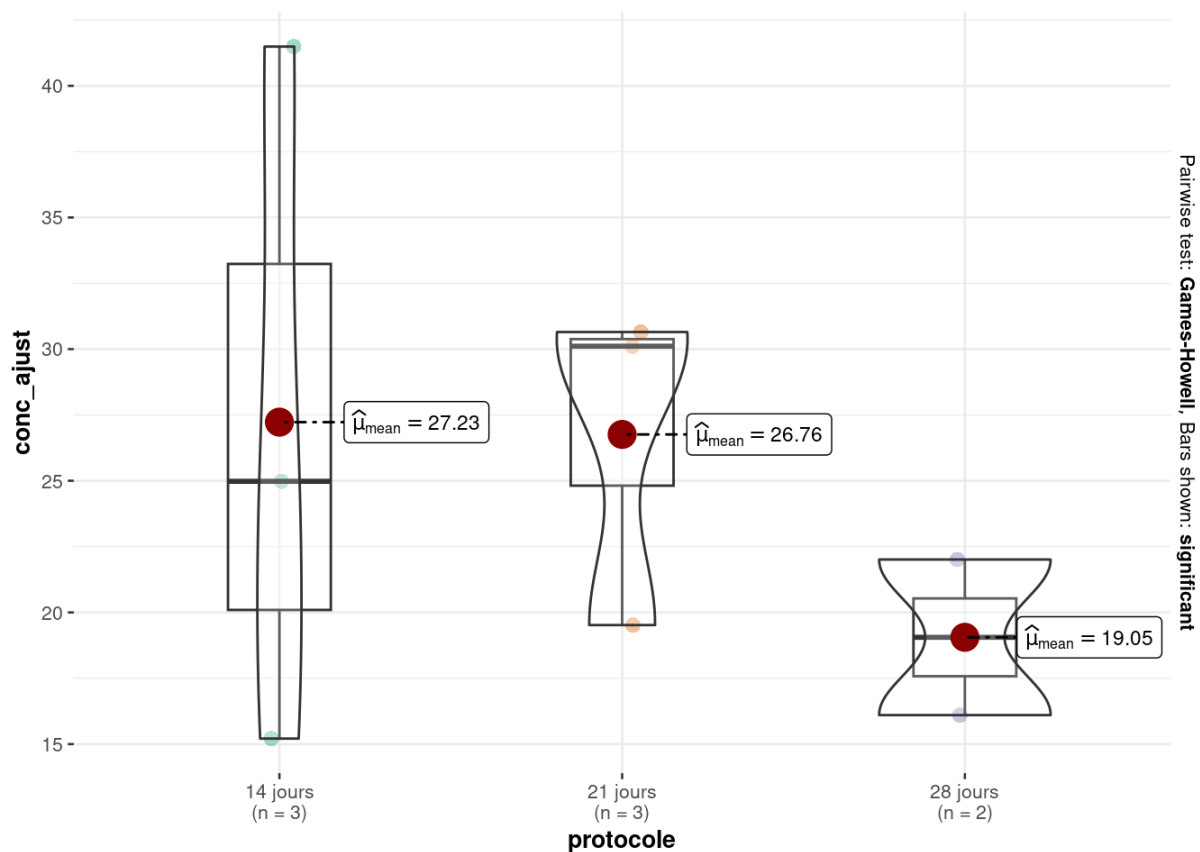


Figure 15 Comparaison de l'exposition selon le protocole utilisé avec la Cmin ajustée à la dose

A priori, lorsque la concentration résiduelle est ajustée à la dose, le protocole de 28 jours montrerait une Cmin plus basse que les autres. Cependant, cette différence n'est pas significative.

3.3. Toxicités

Les toxicités de grade 3 et 4 ont été recueillies dans le tableau 14. On observe une augmentation de la neutropénie après la première cure.

Tableau 17 Toxicités hématologiques de grade 3 et 4 selon les critères CTCAE

Toxicité hématologique grade 3 et 4	Patients par type de toxicités hématologiques			
	Au diagnostic		Après la première cure	
	N	%	N	%
Neutropénie	11	50	19	86
Thrombopénie	13	59	8	36
Anémie	3	14	6	27

	Pendant la première cure	
	N	%
Aplasie fébrile	9	41
Documentée	4	44
Non documentée	5	56

Les neutropénies de grade 3 et 4 sont à l'origine d'un décalage de cures de 7 à 14 jours chez 14 patients de notre effectif. Seulement 3 patients n'ont pas été décalés. Le reste correspond à des pertes de vue et des arrêts de traitement. Entre le début de la première et de la deuxième cure, tous les patients ont été transfusés au moins une fois en culots de globules rouges ou plaquettaires avec une moyenne de 5 et 3 culots respectivement.

Actuellement, nous n'observons pas de lien entre exposition et décès. Nous ne faisons aucune relation non plus entre exposition et toxicité. Au total, à ce jour (août 2023), 6 patients sont décédés et 3 sont perdus de vue.

4. Discussion

Le vénétoclax est une nouvelle thérapie ciblée contre la protéine anti-apoptotique BCL-2 [51]. Associé à un agent hypométylant, il est devenu le traitement standard des patients unfit atteints de LAM non mutée IDH. En effet, les patients présentant une mutation IDH 1 disposent depuis mai 2023 de l'association azacytidine-ivosidénib [52]. L'addition de l'azacytidine au

vénetoclax a permis une amélioration de durée de la survie globale à 14,7 mois contre 9,6 mois lorsque l'azacytidine était administrée seule [33]. Notre cohorte de patient présente un âge médian de 78 ans. Ces données sont comparables à celles de l'étude de Garciaz et al. Notre population est donc une population âgée. Conformément à l'AMM, il s'agit de la première ligne de traitement pour 14 de nos patients. Par rapport aux recommandations de DiNardo et al. seuls 7 patients ont été initiés selon le protocole standard, c'est à dire à la dose de 400mg pendant une durée de 28 jours. De ce fait, les cliniciens de notre service ont préalablement adapté le protocole standard en tenant compte des caractéristiques cliniques des patients.

Des études retrouvées dans la littérature se sont intéressées à la pharmacocinétique du vénetoclax. Avec une approche basée sur l'AUC, Cheung et al. ainsi que Brackmann et al. ont étudié l'exposition du vénetoclax. Cheung et al. ont montré que les asiatiques étaient plus exposés que les non asiatiques avec des AUC moyennes de 12.6 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ et 7.8 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ respectivement. Ces résultats sont contradictoires avec ceux de Brackmann et al qui ne retrouvent pas de différences d'expositions entre ces deux groupes. Nous pouvons noter que dans l'étude de Cheung et al., l'exposition des patients au vénetoclax a été faite après la prise d'un seul jour de traitement et un état d'équilibre non atteint. Compte tenu des caractéristiques pharmacocinétiques du vénetoclax et des contraintes non négligeables que représente l'étude de l'exposition par l'AUC, nous avons choisi de travailler sur des concentrations résiduelles. En effet, les AUC sont déjà expérimentées par notre protocole de recherche étudiant l'azacytidine et cela demande une organisation stricte au sein du service et difficile à mettre en place que ce soit pour le service mais également pour le patient.

Notre étude, centrée sur la concentration résiduelle du vénetoclax, confirme sa linéarité par l'ajustement des C_{min} en fonction de la dose, en lien avec les données du RCP. Cette linéarité est retrouvée lors de l'association à un inhibiteur. Nos données montrent que dans notre cohorte les patients sont plus exposés Nos patients caucasiens sont plus exposés avec une C_{min} moyenne de 2508 ± 1266 ng/mL contre une C_{min} moyenne de $1018 \pm 729,4$ chez les patients asiatiques de Yang et al.

Supposée par Yang et al., notre étude montre que la pharmacocinétique du vénetoclax fait preuve d'une grande variabilité inter-individuelle, de 50% avec des C_{min} allant de 584 à 5221 ng/mL. Par ailleurs, les dosages répétés réalisés chez différents patients, nous permettent d'objectiver une variabilité inter-individuelle mais également une variabilité intra-individuelle du vénetoclax de l'ordre de 45%. Il est à noter dans notre étude que les patients prenaient le vénetoclax au cours du repas conformément aux données du RCP et avaient bénéficié d'une analyse pharmaceutique permettant d'identifier et de limiter les interactions médicamenteuses.

Les patients traités selon ce protocole doivent bénéficier d'une prophylaxie antifongique. Les cliniciens sont amenés à choisir entre le posaconazole et l'amphotéricine B liposomale. Dans notre centre, le posaconazole est préféré avec une administration par voie orale une seule fois par jour. Néanmoins, inhibiteur fort du cytochromes P450 3A4, il oblige à réduire la dose de vénétoclax de 75% [42]. Par ailleurs, les sujets de notre étude sont âgés, avec de nombreuses comorbidités et souvent polymédiqués. De ce fait, ils peuvent avoir des traitements qui vont interagir avec le posaconazole et entraîner d'autres effets secondaires. Au contraire, d'autres centres vont préférer une prophylaxie par amphotéricine B liposomale (Ambisome®) ce qui peut être très intéressant pour éviter toute adaptation posologique. Cependant, cela nécessite de prolonger la durée d'hospitalisation du patient en service ou à domicile. De plus, cette alternative n'est pas sans risques puisque ce médicament est administré par voie intraveineuse, porte d'entrée des bactéries. Incompatibles avec un grand nombre de molécules, il devra être injecté seul pour éviter toute interaction chimique [53].

Outre l'étude d'interaction entre le posaconazole et le vénétoclax faite par Agarwal et al., ce papier montre la différence d'exposition de chaque patient au vénétoclax lorsqu'il est administré seul puis associé au posaconazole [42]. Notre étude montre une légère différence de concentration entre les patients traités et non traités par posaconazole, conformément à la recommandation de dose faite par l'étude d'Agarwal et al. Il semblerait qu'il y ait moins de variabilité lorsque le vénétoclax est associé au posaconazole à la dose de 100mg qu'à 400mg. Une des hypothèses serait qu'il y a une variabilité forte soit sur la phase de résorption soit un lissage de la variabilité au niveau hépatique avec le posaconazole qui inhibe le CYP3A4 et diminuerait la part variable liée au métabolisme.

Une des principales problématiques de ce protocole réside dans le fait que les patients traités par vénétoclax-azacytidine (ou faible dose de cytarabine) présentent des toxicités hématologiques entraînant un risque d'infections supplémentaire et des décalages de cures avec pour conséquence des adaptations soit de doses soit de durée de traitement-et des interruptions de traitement de 7 à 14 jours pour certains patients [33]. Brackmann et al. n'ont pas retrouvé de lien entre exposition et toxicités [46]. Dans notre cohorte, les patients ayant une exposition supérieure à la moyenne ont plus de décalages de cure mais autant d'aplasies fébriles que ceux étant moins exposés. En revanche la durée d'aplasie fébrile totale est plus importante dans le groupe étant plus exposé avec en moyenne une durée de 13 jours *versus* 4 jours chez les patients étant moins exposés. Dans la cohorte de DiNardo et al. 42% de patients présentent une neutropénie de grade 3-4 alors que nous en retrouvons 86% au sein de notre cohorte et ce après la première cure. Ceci pourrait s'expliquer par l'adaptation de dose faite à 100 mg chez nos

patients alors que DiNardo et al. recommande une diminution à 50mg lors de l'association à un inhibiteur fort du CYP3A4.

5. Conclusion et perspectives

L'objectif de ce travail était d'étudier la pharmacocinétique du vénétoclax. Notre étude met en évidence une très forte variabilité inter et intra individuelle avec d'importantes toxicités hématologiques chez les patients. Nous montrons également que la durée du protocole pourrait avoir un impact sur l'exposition du patient, sans que cela soit significatif pour autant. Par ailleurs, en raison du faible nombre de patient, bien qu'il y ait une tendance, nous n'avons pas pu mettre en évidence de lien significatif entre exposition et toxicités. Le STP systématique des patients sous vénétoclax devrait permettre d'étudier ce lien et à terme, si cela s'avère être le cas, proposer des adaptations de posologies aux cliniciens.

La poursuite immédiate de notre étude sera de s'intéresser au lien entre exposition et réponse afin d'aider les cliniciens dans le choix du protocole.

Bibliographie

- [1] Cancer, (n.d.). <https://www.who.int/fr/health-topics/cancer> (accessed June 20, 2023).
- [2] Cancer: Overview, causes, treatments, and types, (2020). <https://www.medicalnewstoday.com/articles/323648> (accessed June 20, 2023).
- [3] T.T. Cheung, A.H. Salem, R.M. Menon, W.P. Munasinghe, O.F. Bueno, S.K. Agarwal, Pharmacokinetics of the BCL-2 Inhibitor Venetoclax in Healthy Chinese Subjects, *Clin. Pharmacol. Drug Dev.* 7 (2018) 435–440. <https://doi.org/10.1002/cpdd.395>.
- [4] Leucémie aigüe myéloïde, Wikipédia. (2023). https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Leuc%C3%A9mie_aig%C3%BCe_my%C3%A9lo%C3%AFde&oldid=203607414#Histoire (accessed July 11, 2023).
- [5] leucemieaigue_myeloide.pdf, (n.d.). https://sfh.hematologie.net/sites/sfh.hematologie.net/files/medias/documents/leucemieaigue_myeloide.pdf (accessed July 11, 2023).
- [6] SPF, Survie des personnes atteintes de cancer en France métropolitaine 1989-2018 - Leucémies aigües myéloïdes, (n.d.). <https://www.santepubliquefrance.fr/import/survie-des-personnes-atteintes-de-cancer-en-france-metropolitaine-1989-2018-leucemies-aigues-myeloides> (accessed July 11, 2023).
- [7] H. Döhner, A.H. Wei, F.R. Appelbaum, C. Craddock, C.D. DiNardo, H. Dombret, B.L. Ebert, P. Fenaux, L.A. Godley, R.P. Hasserjian, R.A. Larson, R.L. Levine, Y. Miyazaki, D. Niederwieser, G. Ossenkoppele, C. Röhlig, J. Sierra, E.M. Stein, M.S. Tallman, H.-F. Tien, J. Wang, A. Wierzbowska, B. Löwenberg, Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN, *Blood.* 140 (2022) 1345–1377. <https://doi.org/10.1182/blood.2022016867>.
- [8] A. Bazinet, S. Assouline, A review of FDA-approved acute myeloid leukemia therapies beyond ‘7 + 3,’ *Expert Rev. Hematol.* 14 (2021) 185–197. <https://doi.org/10.1080/17474086.2021.1875814>.
- [9] C.D. DiNardo, A.S. Stein, E.M. Stein, A.T. Fathi, O. Frankfurt, A.C. Schuh, H. Döhner, G. Martinelli, P.A. Patel, E. Raffoux, P. Tan, A.M. Zeidan, S. de Botton, H.M. Kantarjian, R.M. Stone, M.G. Frattini, F. Lersch, J. Gong, D.A. Gianolio, V. Zhang, A. Franovic, B. Fan, M. Goldwasser, S. Daigle, S. Choe, B. Wu, T. Winkler, P. Vyas, Mutant Isocitrate Dehydrogenase 1 Inhibitor Ivosidenib in Combination With Azacitidine for Newly Diagnosed Acute Myeloid Leukemia, *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 39 (2021) 57–65. <https://doi.org/10.1200/JCO.20.01632>.

- [10] F. Ferrara, G. Barosi, A. Venditti, E. Angelucci, M. Gobbi, F. Pane, P. Tosi, P. Zinzani, S. Tura, Consensus-based definition of unfit to intensive and non-intensive chemotherapy in acute myeloid leukemia: a project of SIE, SIES and GITMO group on a new tool for therapy decision making, *Leukemia*. 27 (2013) 997–999. <https://doi.org/10.1038/leu.2012.303>.
- [11] Promouvoir la participation sociale des personnes âgées_la santé en action_mars 2018.pdf, (n.d.).
- [12] Le métier de gériatre – Annuaire CNP, (n.d.). <https://www.cnpgeriatrie.fr/le-metier-de-geriatre/> (accessed August 23, 2023).
- [13] Leucémie myéloïde aiguë (LMA) - Hématologie et oncologie, Édition Prof. Man. MSD. (n.d.). <https://www.msmanuals.com/fr/professional/h%C3%A9matologie-et-oncologie/leuc%C3%A9mies/leuc%C3%A9mie-my%C3%A9lo%C3%AFde-aigu%C3%AB-lma> (accessed July 26, 2023).
- [14] M. Heuser, Y. Ofran, N. Boissel, S.B. Mauri, C. Craddock, J. Janssen, A. Wierzbowska, C. Buske, Acute myeloid leukaemia in adult patients: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†, *Ann. Oncol.* 31 (2020) 697–712. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.02.018>.
- [15] article cytarabine.pdf, (n.d.).
- [16] PubChem, Cytarabine, (n.d.). <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6253> (accessed July 26, 2023).
- [17] Résumé des caractéristiques du produit - CYTARABINE ACCORD 100 mg/ml, solution injectable ou pour perfusion - Base de données publique des médicaments, (n.d.). <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=63318475&typedoc=R> (accessed July 26, 2023).
- [18] PubChem, Daunorubicin, (n.d.). <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/30323> (accessed July 31, 2023).
- [19] Résumé des caractéristiques du produit - CERUBIDINE 20 mg, poudre pour solution pour perfusion - Base de données publique des médicaments, (n.d.). <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=66863107&typedoc=R> (accessed July 27, 2023).
- [20] S. Lee, Traitements de la leucémie myéloïde aiguë, Société Can. Cancer. (2022). <https://cancer.ca/fr/cancer-information/cancer-types/acute-myeloid-leukemia-aml/treatment> (accessed July 27, 2023).

- [21] ATU/RTU - Mylotarg, ANSM. (n.d.). <https://ansm.sante.fr/tableau-acces-derogatoire/mylotarg-5-mg-poudre-pour-solution-a-diluer-pour-perfusion> (accessed August 25, 2023).
- [22] [vyxeos-liposomal-epar-product-information_fr.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/vyxeos-liposomal-epar-product-information_fr.pdf), (n.d.). https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/vyxeos-liposomal-epar-product-information_fr.pdf (accessed August 1, 2023).
- [23] J.E. Cortes, T.L. Lin, K. Asubonteng, S. Faderl, J.E. Lancet, T. Prebet, Efficacy and safety of CPX-351 versus 7 + 3 chemotherapy by European LeukemiaNet 2017 risk subgroups in older adults with newly diagnosed, high-risk/secondary AML: post hoc analysis of a randomized, phase 3 trial, *J. Hematol. Oncol.* 15 (2022) 155. <https://doi.org/10.1186/s13045-022-01361-w>.
- [24] [hematologie_-_referentiel_la_-v12_2022.pdf](https://www.oncopacacorse.org/sites/default/files/hematologie_-_referentiel_la_-v12_2022.pdf), (n.d.). https://www.oncopacacorse.org/sites/default/files/hematologie_-_referentiel_la_-v12_2022.pdf (accessed July 27, 2023).
- [25] P.-Y. Dumas, S. Bertoli, E. Bérard, T. Leguay, S. Tavitian, J. Galtier, C. Alric, A. Bidet, E. Delabesse, J.B. Rieu, J.-P. Vial, F. Vergez, N. Lechevalier, I. Luquet, E. Klein, A. Sarry, H. Rey, A.-C. de Grande, F. Despas, A. Pigneux, C. Récher, Delivering HDAC over 3 or 5 days as consolidation in AML impacts health care resource consumption but not outcome, *Blood Adv.* 4 (2020) 3840–3849. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2020002511>.
- [26] A.H. Wei, H. Döhner, C. Pocock, P. Montesinos, B. Afanasyev, H. Dombret, F. Ravandi, H. Sayar, J.-H. Jang, K. Porkka, D. Selleslag, I. Sandhu, M. Turgut, V. Giai, Y. Ofran, M. Kizil Çakar, A. Botelho de Sousa, J. Rybka, C. Frairia, L. Borin, G. Beltrami, J. Čermák, G.J. Ossenkoppele, I. La Torre, B. Skikne, K. Kumar, Q. Dong, C. I. Beach, G.J. Roboz, Oral Azacitidine Maintenance Therapy for Acute Myeloid Leukemia in First Remission, *N. Engl. J. Med.* 383 (2020) 2526–2537. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2004444>.
- [27] R.M. Stone, S.J. Mandrekar, B.L. Sanford, K. Laumann, S. Geyer, C.D. Bloomfield, C. Thiede, T.W. Prior, K. Döhner, G. Marcucci, F. Lo-Coco, R.B. Klisovic, A. Wei, J. Sierra, M.A. Sanz, J.M. Brandwein, T. de Witte, D. Niederwieser, F.R. Appelbaum, B.C. Medeiros, M.S. Tallman, J. Krauter, R.F. Schlenk, A. Ganser, H. Serve, G. Ehninger, S. Amadori, R.A. Larson, H. Döhner, Midostaurin plus Chemotherapy for Acute Myeloid Leukemia with a FLT3 Mutation, *N. Engl. J. Med.* 377 (2017) 454–464. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1614359>.
- [28] D.J.S. Braun Pr Thorsten, Les leucémies aiguës myéloïdes, *Onko+*. (2022). <https://onko.fr/les-leucemies-aigues-myeloides/> (accessed July 31, 2023).

- [29] J. Ma, Z. Ge, Comparison Between Decitabine and Azacitidine for Patients With Acute Myeloid Leukemia and Higher-Risk Myelodysplastic Syndrome: A Systematic Review and Network Meta-Analysis, *Front. Pharmacol.* 12 (2021) 701690. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.701690>.
- [30] C.D. DiNardo, K. Pratz, V. Pullarkat, B.A. Jonas, M. Arellano, P.S. Becker, O. Frankfurt, M. Konopleva, A.H. Wei, H.M. Kantarjian, T. Xu, W.-J. Hong, B. Chyla, J. Potluri, D.A. Pollyea, A. Letai, Venetoclax combined with decitabine or azacitidine in treatment-naive, elderly patients with acute myeloid leukemia, *Blood.* 133 (2019) 7–17. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-08-868752>.
- [31] PubChem, Azacitidine, (n.d.). <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/9444> (accessed July 31, 2023).
- [32] anx_158547_fr.pdf, (n.d.). https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2023/20230315158547/anx_158547_fr.pdf (accessed July 31, 2023).
- [33] C.D. DiNardo, B.A. Jonas, V. Pullarkat, M.J. Thirman, J.S. Garcia, A.H. Wei, M. Konopleva, H. Döhner, A. Letai, P. Fenaux, E. Koller, V. Havelange, B. Leber, J. Esteve, J. Wang, V. Pejisa, R. Hájek, K. Porkka, Á. Illés, D. Lavie, R.M. Lemoli, K. Yamamoto, S.-S. Yoon, J.-H. Jang, S.-P. Yeh, M. Turgut, W.-J. Hong, Y. Zhou, J. Potluri, K.W. Pratz, Azacitidine and Venetoclax in Previously Untreated Acute Myeloid Leukemia, *N. Engl. J. Med.* 383 (2020) 617–629. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2012971>.
- [34] R.M. Shallis, A.M. Zeidan, More is less, less is more, or does it really matter? The curious case of impact of azacitidine administration schedules on outcomes in patients with myelodysplastic syndromes, *BMC Hematol.* 18 (2018) 4. <https://doi.org/10.1186/s12878-018-0095-2>.
- [35] G. Richard-Carpentier, C.D. DiNardo, Venetoclax for the treatment of newly diagnosed acute myeloid leukemia in patients who are ineligible for intensive chemotherapy, *Ther. Adv. Hematol.* 10 (2019) 2040620719882822. <https://doi.org/10.1177/2040620719882822>.
- [36] S. Garciaz, M.-A. Hospital, A.-S. Alary, C. Saillard, Y. Hicheri, B. Mohty, J. Rey, E. D’Incan, A. Charbonnier, F. Villetard, V. Maisano, L. Lombardi, A. Ittel, M.-J. Mozziconacci, V. Gelsi-Boyer, N. Vey, Azacitidine Plus Venetoclax for the Treatment of Relapsed and Newly Diagnosed Acute Myeloid Leukemia Patients, *Cancers.* 14 (2022) 2025. <https://doi.org/10.3390/cancers14082025>.
- [37] C. for D.E. and Research, Venetoclax (Venclexta) Tablets, FDA. (2019). <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/venetoclax-venclexta-tablets> (accessed June 21, 2023).

- [38] [venclxyto-epar-product-information_fr.pdf](#), (n.d.).
https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/venclxyto-epar-product-information_fr.pdf (accessed June 21, 2023).
- [39] M. Konopleva, D.A. Pollyea, J. Potluri, B. Chyla, L. Hogdal, T. Busman, E. McKeegan, A.H. Salem, M. Zhu, J.L. Ricker, W. Blum, C.D. DiNardo, T. Kadia, M. Dunbar, R. Kirby, N. Falotico, J. Levenson, R. Humerickhouse, M. Mabry, R. Stone, H. Kantarjian, A. Letai, Efficacy and Biological Correlates of Response in a Phase II Study of Venetoclax Monotherapy in Patients with Acute Myelogenous Leukemia, *Cancer Discov.* 6 (2016) 1106–1117. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-16-0313>.
- [40] Revue générale de la pharmacocinétique - Pharmacologie clinique, Édition Prof. Man. MSD. (n.d.). <https://www.msdmanuals.com/fr/professional/pharmacologie-clinique/pharmacocin%C3%A9tique/revue-g%C3%A9n%C3%A9rale-de-la-pharmacocin%C3%A9tique> (accessed June 22, 2023).
- [41] Biodisponibilité, (n.d.).
<https://pharmacomedicale.org/pharmacologie/pharmacocinetique/38-parametres-pharmacocinetiques/78-biodisponibilite> (accessed June 22, 2023).
- [42] S.K. Agarwal, C.D. DiNardo, J. Potluri, M. Dunbar, H.M. Kantarjian, R.A. Humerickhouse, S.L. Wong, R.M. Menon, M.Y. Konopleva, A.H. Salem, Management of Venetoclax-Posaconazole Interaction in Acute Myeloid Leukemia Patients: Evaluation of Dose Adjustments, *Clin. Ther.* 39 (2017) 359–367. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2017.01.003>.
- [43] S. Couderc, N. Picard, Le suivi thérapeutique pharmacologique, *Actual. Pharm.* 56 (2017) 47–50. <https://doi.org/10.1016/j.actpha.2017.09.010>.
- [44] M. García-Ferrer, A. Wojnicz, G. Mejía, D. Koller, P. Zubiaur, F. Abad-Santos, Utility of Therapeutic Drug Monitoring of Imatinib, Nilotinib, and Dasatinib in Chronic Myeloid Leukemia: A Systematic Review and Meta-analysis, *Clin. Ther.* 41 (2019) 2558-2570.e7. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2019.10.009>.
- [45] [ich-guideline-m10-bioanalytical-method-validation-study-sample-analysis-frequently-asked-questions_en.pdf](#), (n.d.). https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-guideline-m10-bioanalytical-method-validation-study-sample-analysis-frequently-asked-questions_en.pdf (accessed May 22, 2023).
- [46] D. Brackman, D. Eckert, R. Menon, A.H. Salem, J. Potluri, B.D. Smith, A.H. Wei, J. Hayslip, D. Miles, S. Mensing, S. Gopalakrishnan, J. Zha, Venetoclax exposure-efficacy and exposure-safety relationships in patients with treatment-naïve acute myeloid leukemia who are

ineligible for intensive chemotherapy, *Hematol. Oncol.* 40 (2022) 269–279. <https://doi.org/10.1002/hon.2964>.

[47] Recherches n'impliquant pas la personne humaine, études et évaluations dans le domaine de la santé, (n.d.). <https://www.cnil.fr/fr/declaration/mr-004-recherches-nimpliquant-pas-la-personne-humaine-etudes-et-evaluations-dans-le> (accessed August 22, 2023).

[48] R.A.G. van Eerden, E. Oomen-de Hoop, A. Noordam, R.H.J. Mathijssen, S.L.W. Koolen, Feasibility of Extrapolating Randomly Taken Plasma Samples to Trough Levels for Therapeutic Drug Monitoring Purposes of Small Molecule Kinase Inhibitors, *Pharmaceuticals*. 14 (2021) 119. <https://doi.org/10.3390/ph14020119>.

[49] Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) | Protocol Development | CTEP, (n.d.). https://ctep.cancer.gov/protocoldevelopment/electronic_applications/ctc.htm#ctc_60 (accessed August 29, 2023).

[50] S.K. Agarwal, C.D. DiNardo, J. Potluri, M. Dunbar, H.M. Kantarjian, R.A. Humerickhouse, S.L. Wong, R.M. Menon, M.Y. Konopleva, A.H. Salem, Management of Venetoclax-Posaconazole Interaction in Acute Myeloid Leukemia Patients: Evaluation of Dose Adjustments, *Clin. Ther.* 39 (2017) 359–367. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2017.01.003>.

[51] A.J. Souers, J.D. Levenson, E.R. Boghaert, S.L. Ackler, N.D. Catron, J. Chen, B.D. Dayton, H. Ding, S.H. Enschede, W.J. Fairbrother, D.C.S. Huang, S.G. Hymowitz, S. Jin, S.L. Khaw, P.J. Kovar, L.T. Lam, J. Lee, H.L. Maecker, K.C. Marsh, K.D. Mason, M.J. Mitten, P.M. Nimmer, A. Oleksijew, C.H. Park, C.-M. Park, D.C. Phillips, A.W. Roberts, D. Sampath, J.F. Seymour, M.L. Smith, G.M. Sullivan, S.K. Tahir, C. Tse, M.D. Wendt, Y. Xiao, J.C. Xue, H. Zhang, R.A. Humerickhouse, S.H. Rosenberg, S.W. Elmore, ABT-199, a potent and selective BCL-2 inhibitor, achieves antitumor activity while sparing platelets, *Nat. Med.* 19 (2013) 202–208. <https://doi.org/10.1038/nm.3048>.

[52] tibsovo-epar-product-information_fr.pdf, (n.d.). https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/tibsovo-epar-product-information_fr.pdf (accessed September 4, 2023).

[53] AMBISOME 50 mg pdre p susp de lipos p perf, VIDAL. (n.d.). <https://www.vidal.fr/medicaments/ambisome-50-mg-pdre-p-susp-de-lipos-p-perf-749.html> (accessed August 31, 2023).

Annexes

AP-HM LBM Service de Pharmacocinétique et de Toxicologie Pr. C. SOLAS CHU TIMONE	
Dosage du VENETOCLAX par LC/MS-MS	
Date d'application: 2022-04-19 Version : 1	Rédaction : OSANNO Loïc Validation : CICCOLINI Joseph Approbation : DEVICTOR Bénédicte

<input type="checkbox"/> Modification majeure (surlignée en jaune)	<input checked="" type="checkbox"/> Revue complète de la procédure
<input type="checkbox"/> Modification minimale ne remettant pas en cause le processus	
<input type="checkbox"/> Suppression du § :	

Décrire la procédure du dosage plasmatique du Vénétoclax par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS/MS) sur la chaîne Waters :

➤ UPLC/TQD

1. PARTICULARITES

Si nécessité de recalibrer les valeurs des masses (ex. : forte variation de température de la pièce), réaliser une infusion des solutions de Vénétoclax et de l'étalon interne (cf. 05GRMP02M167A)

Un dosage d'un contrôle externe (IGR) de concentration connue et stocké à -80°C dans le CVI est systématiquement ajouté à la série.

2. L'ECHANTILLON

Nature de l'échantillon : Prélèvement sur tube héparinate de Lithium (bouchon vert) ou EDTA (bouchon violet).

Conservation :

- Avant analyse : les tubes sont conservés dans le C14 à -35°C
- Après analyse : les tubes dosés sont archivés 2 mois dans le CVI à -80°C

3. REACTIFS

- **Phase mobile (extemporanée)**
 - Phase aqueuse (phase A) : Eau MilliQ à 0.1% d'acide formique.
 - Phase organique (phase B) : Acétonitrile à 0.1% d'acide formique.

- **Weak Wash** : Eau MilliQ/Acétonitrile (80/20 v/v) à 0.1% d'acide formique
- **Strong wash** : Méthanol/Acétonitrile/Isopropanol/Eau MilliQ (3/3/3/1 v/v/v/v) à 0.1% d'acide formique
- **Phase de rinçage** : eau MilliQ/Acétonitrile (50/50 v/v) 45mn à débit 0.3 ml/mn

4. OPÉRATIONS DE CONTRÔLE

4.1. SOLUTIONS STANDARDS

!! La quantité de standard à peser peut varier en fonction du lot : cf dans TimoPharmaco / Base de données / Standac.

- **Vénétoclax SM à 1000 µg/mL** : 10 mg de poudre (CVI à -80°C) dans une fiole jaugée qsp 10 ml de DMSO.

Les dilutions des solutions filles sont réalisées le jour de la réalisation de la calibration dans un mélange méthanol/eau à 50/50.

Les SM du vénétoclax sont conservées aliquotées **1 an** dans le CVI à -80°C.

- **EI (Vénétoclax H7 Deutére) SM à 100 µg/mL**: 1 mg de poudre (CVI à -80°C) dans une fiole jaugée qsp 10 mL de DMSO

Les SM sont conservées aliquotées **10 ans** dans le CVI à -80°C.

4.2. RÉACTIFS

- **Solution 1 Vénétoclax Deutére à 100 ng/µL** : 10µL de la SM dans 3mL d'Acétonitrile (9 échantillons environ)

4.3. OBTENTION DES DROITES D'ÉTALONNAGE (*µTube 1.5 ml*)

La gamme d'étalonnage est conservée et aliquotée par 75µl à -80°C (durée de conservation en cours d'étude)

	A	B	C	D	E	F	G
Conc (ng/ml)	50	100	250	500	1000	2500	5000
Plasma blanc, µl	950	990	975	950	990	975	950
Vénétoclax, µl (1µg/ml)	50						
Vénétoclax, µl (10µg/ml)		10	25	50			
Vénétoclax, µl (100µg/ml)					10	25	50

4.4. CONTROLES DE QUALITE (conservation en cours d'étude)

Fabriqués à partir de la SM CQ de VENETOCLAX à 1000 µg/mL (conservation 1 an, CVI)

- CQB, 150 ng/ml : 15 µl à 10 µg/ml dans 985 µl de plasma blanc
- CQM, 400 ng/ml : 40 µl à 10 µg/ml dans 960 µl de plasma blanc
- CQH, 2500 ng/ml : 40 µl à 100 µg/ml dans 960 µl de plasma blanc

Les contrôles sont aliquoté par 75 µl et conservés à -80 °C dans le CVI

5. METHODOLOGIE

5.1. APPAREIL, CONDITIONS CHROMATOGRAPHIQUES ET DU SPECTROMETRE DE MASSE

➤ UPLC/TQD

- Colonne: ACQUITY UPLC BEH C181.7µm 2.1*50mm Rf 186002350 Waters

Mise en condition de la chaîne UPLC :

- Mettre en place les phases mobiles

- Phase aqueuse : En fonction de la méthode inlet sélectionnée (A1 ou A2)
- Phase organique : En fonction de la méthode inlet sélectionnée (B1 ou B2)
- Weak wash: Acetonitrile/eau MilliQ 20/80 à 0.1% acide formique
- Strong Wash: isopropanol/acétonitrile/methanol/eau MilliQ (3/3/3/1) à 0.1% acide formique

- Mettre en place la colonne :

- Position 1 ou 2 en fonction de la méthode inlet sélectionnée
-

- Ouvrir les méthodes suivantes :

- MS Tune : VENETOCLAX
- Inlet Method : fonction de la position de la colonne et des voies de travail
- MS Console : cf. 05GRMP02M172A (fonctionnement UPLC/TQD)

5.2. PROCEDURE D'EXTRACTION : précipitation

Ajouter dans les tubes eppendorf :

- 50µl CAL CQ Patients
- 300µl solution 1 d'EI (100ng/µl)
- Vortexer 2 mn
- Centrifugation 10mn
- Récupérer 100µl du précipitat dans un tube eppendorf
- Ajouter 200µl d'H₂O milliQ

- Vortexer
- Transférer dans la plaque d'injection
- Injecter 10 µl

Bottle	File name	Sample type	File text	Dilution	MS Tune	MS File	Inlet File	Inj Vol	Conc
Plateau - position 1 2 UPLC	Date_1 puis incrémenter	Analyte QC Standard	Saisie Libre	Saisir le facteur de dilution	New methode	New methode	New methode (voie et position colonne)	10'	Saisir conc. des standards et CQs

VALIDATION TECHNIQUE DE L'ANALYSE

Les critères de validité d'une série sont présentés dans la procédure 05ANAP07M003A.

▪ Vérification des échantillons :

- Dilution de la prise d'essai et réinjection pour une conc. > 5000 ng/ml.
- Non détectable (ND), si aucun pic visible ou concentration < 50 ng/ml (limite de quantification).

- Calcul réalisé sur le logiciel Masslynx (05GRMP02M172A) : charger la méthode 'New methode.mdb'.

- Impression des résultats :

Seuls le résumé du dosage et la droite de calibration sont imprimés.

- File
- Report format
- Cocher calibration
- Cocher compound summay report

NB : pour n'imprimer que les chromatogrammes des molécules dosés, aller dans la page de 'process' :

- File
- Report format
- Onglet: sample report
- Cocher : Select
- Clic Compound
- Sur la partie gauche choisir les molécules à imprimer
- Clic « add » pour les inclure dans la partie droite

6. INTERPRETATION BIOLOGIQUE DES RESULTATS

Cf 05POSP01D003

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence de mes 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, de respecter le secret professionnel.*
- ❖ 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, méprisé de mes confrères, si j'y manque.