



Université  
de Toulouse

ANNEE : 2021

**UNIVERSITÉ TOULOUSE III PAUL SABATIER**

**FACULTÉ DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

**Thèse N°2021/TOU3/2096**

# **THÈSE**

**POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

Présentée et soutenue publiquement par

Auriane FAVRIN

née le 10 avril 1998 à Perpignan (66)

**Midostaurine en pratique courante : Évaluation et impact  
des traitements associés sur la réponse et la toxicité dans la  
prise en charge des leucémies aiguës myéloïdes**

Mercredi 8 décembre 2021

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur PUISSET Florent

## **JURY**

Président : Madame le Professeur GANDIA Peggy  
1er assesseur : Monsieur le Docteur PUISSET Florent,  
2ème assesseur : Madame le Docteur BERTOLI Sarah  
3ème assesseur : Madame le Docteur DE GRAEVE Sylvie

**PERSONNEL ENSEIGNANT**  
**de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier**  
**au 1er octobre 2020**

**Professeurs Emérites**

Mme BARRE A.	Biologie Cellulaire
M. BENOIST H.	Immunologie
M. BERNADOU J.	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G.	Physiologie
M. GAIRIN J.E.	Pharmacologie
Mme NEPVEU F.	Chimie analytique
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire
M. SALLES B.	Toxicologie

**Professeurs des Universités**

**Hospitalo-Universitaires**

Mme AYYOUB M.	Immunologie
M. CESTAC P.	Pharmacie Clinique
M. CHATELUT E.	Pharmacologie
Mme DE MAS MANSAT V.	Hématologie
M. FAVRE G.	Biochimie
Mme GANDIA P.	Pharmacologie
M. PARINI A.	Physiologie
M. PASQUIER C. (Doyen)	Bactériologie - Virologie
Mme ROQUES C.	Bactériologie - Virologie
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie
Mme SALLERIN B.	Pharmacie Clinique
M. VALENTIN A.	Parasitologie

**Universitaires**

Mme BERNARDES-GÉNISSON V.	Chimie thérapeutique
Mme BOUTET E.	Toxicologie - Sémiologie
Mme COUDERC B.	Biochimie
M. CUSSAC D. (Vice-Doyen)	Physiologie
M. FABRE N.	Pharmacognosie
Mme GIROD-FULLANA S.	Pharmacie Galénique
M. GUIARD B.	Pharmacologie
M. LETISSE F.	Chimie pharmaceutique
Mme MULLER-STAU MONT C.	Toxicologie - Sémiologie
Mme REYBIER-VUATTOUX K.	Chimie analytique
M. SEGUI B.	Biologie Cellulaire
Mme SIXOU S.	Biochimie
M. SOUCHARD J-P.	Chimie analytique
Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique
M. VERHAEGHE P.	Chimie Thérapeutique

## Maîtres de Conférences des Universités

### Hospitalo-Universitaires

M. DELCOURT N.	Biochimie
Mme JUILLARD-CONDAT B.	Droit Pharmaceutique
M. PUISSET F.	Pharmacie Clinique
Mme ROUCH L.	Pharmacie Clinique
Mme ROUZAUD-LABORDE C.	Pharmacie Clinique
Mme SERONIE-VIVIEN S (*)	Biochimie
Mme THOMAS F. (*)	Pharmacologie

### Universitaires

Mme ARELLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme AUTHIER H.	Parasitologie
M. BERGE M. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme BON C. (*)	Biophysique
M. BOUJILA J. (*)	Chimie analytique
M. BROUILLET F.	Pharmacie Galénique
Mme CABOU C.	Physiologie
Mme CAZALBOU S. (*)	Pharmacie Galénique
Mme CHAPUY-REGAUD S.	Bactériologie - Virologie
Mme COLACIOS C.	Immunologie
Mme COSTE A. (*)	Parasitologie
Mme DERAËVE C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme ECHINARD-DOUIN V.	Physiologie
Mme EL GARAH F.	Chimie Pharmaceutique
Mme EL HAGE S.	Chimie Pharmaceutique
Mme FALLONE F.	Toxicologie
Mme FERNANDEZ-VIDAL A.	Toxicologie
Mme GADEA A.	Pharmacognosie
Mme HALOVA-LAJOIE B.	Chimie Pharmaceutique
Mme JOUANJUS E.	Pharmacologie
Mme LAJOIE-MAZENC I.	Biochimie
Mme LEFEVRE L.	Physiologie
Mme LE LAMER A-C.	Pharmacognosie
M. LE NAOUR A.	Toxicologie
M. LEMARIE A.	Biochimie
M. MARTI G.	Pharmacognosie
Mme MONFERRAN S.	Biochimie
M. SAINTE-MARIE Y.	Physiologie
M. STIGLIANI J-L.	Chimie Pharmaceutique
M. SUDOR J. (*)	Chimie Analytique
Mme TERRISSE A-D.	Hématologie
Mme TOURRETTE-DIALLO A. (*)	Pharmacie Galénique
Mme VANSTEELANDT M.	Pharmacognosie
Mme WHITE-KONING M. (*)	Mathématiques

(\*) Titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

## Enseignants non titulaires

### Assistants Hospitalo-Universitaires

Mme LARGEAUD L.	Immunologie
M. LE LOUEDEC F.	Pharmacologie
M. MOUMENI A.	Biochimie
M. PAGES A.	Pharmacie Clinique
Mme SALABERT A.S	Biophysique
Mme TRIBAUDEAU L.	Droit Pharmaceutique

### Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche (ATER)

M. François-Xavier TOUBLET	Chimie Thérapeutique
----------------------------	----------------------

# **REMERCIEMENTS**

Je souhaite remercier toutes les personnes qui ont contribué à ma thèse, qui m'ont soutenu durant mes années d'études, de près ou de loin, et qui ont toujours cru en moi.

## **Aux membres du jury,**

Madame Peggy GANDIA, Docteur en pharmacie, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, Présidente du jury de cette thèse.

Vous me faites l'honneur de présider ce jury de thèse et je vous en remercie. Votre participation est un privilège. Soyez assurée de ma profonde reconnaissance.

Monsieur Florent PUISSET, Docteur en pharmacie, Maître de Conférences Universitaires, Praticien Hospitalier, Directeur de cette thèse.

Je vous suis reconnaissante de m'avoir encadré tout au long de ma thèse et de m'avoir accordé du temps. Je vous remercie de m'avoir aidé, écouté, conseillé et d'avoir accepté d'être mon directeur de thèse ; c'est un honneur pour moi.

Madame Sarah BERTOLI, Docteur en médecine, Spécialité Hématologie, Chef de Clinique Assistant.

Je vous remercie pour l'intérêt que vous portez à ma thèse. C'est un honneur pour moi de vous avoir dans mon jury.

Mademoiselle Sylvie DE GRAEVE, Docteur en pharmacie, Pharmacien titulaire d'officine.

Vous avez été mon maître de stage pendant 6 mois, j'ai beaucoup appris grâce à vous. Je vous remercie énormément pour votre implication, votre gentillesse et votre disponibilité. Je suis honorée que vous fassiez partie du jury de ma thèse.

## **A ma famille,**

A mes parents. Vous avez toujours été là pour moi, vous m'avez soutenu pendant toutes mes années d'études, de sport, dans ma vie de tous les jours ! Je ne vous remercierai jamais assez pour tout ce que vous faites. Si j'en suis arrivée là à ce jour, c'est grâce à vous.

Mention spéciale pour ma maman ; merci pour tout le temps passé à corriger ma thèse et ton implication !

A mes grands-parents. Je vous remercie de me soutenir, de m'encourager dans tout ce que j'entreprends. J'espère vous avoir rendu fiers. Merci pour tous les bons moments passés ensemble !

A mes tantes, à mes oncles. Je vous remercie pour tous les moments passés en famille et votre soutien !

### **A mes amis,**

A toi Sophie, qui malgré la distance, m'a toujours soutenu dans mes études ! A notre amitié depuis de nombreuses années maintenant, pourvu que ça dure encore et encore !

A toi Laura, merci pour ces années de fac à tes côtés ! Toi et ta bonne humeur vont beaucoup me manquer ! Merci d'avoir rendu plus agréable nos séances de TP ! Je te souhaite de réussir tes années d'internat, comme tu l'as toujours fait jusqu'à maintenant.

A vous Laure et Justine, vous avez égayé ces longues journées de cours en amphi ! Merci pour ces années de fac, ces repas improvisés et ces discussions de cours à n'en plus finir ! Tous les bons moments passés ensemble vont me manquer.

Je tiens à remercier l'ensemble de l'équipe de la pharmacie de l'Europe à Muret : Alexia, Aude, Carla, Christophe, Coralie, Julia, Marine, Marie-France, Mélanie, Nathalie, Pauline pour m'avoir acceptée et intégrée au sein de la pharmacie durant mes six mois de stage. C'était un plaisir d'apprendre à vos côtés ! Merci pour votre bienveillance et votre générosité, vous avez été formidables !

# TABLE DES MATIÈRES

<b>Liste des figures</b>	<b>page 7</b>
<b>Liste des tableaux</b>	<b>page 10</b>
<b>Liste des abréviations</b>	<b>page 12</b>
<b>Introduction</b>	<b>page 17</b>
<b>Partie 1 : Leucémie aiguë myéloïde</b>	<b>page 19</b>
1.1) Définition	
1.2) Épidémiologie et facteurs de risque	
1.2.1) Épidémiologie	
1.2.2) Facteurs de risque	
1.3) Hématopoïèse physiologique, physiopathologie des leucémies aiguës myéloïdes	
1.3.1) Hématopoïèse physiologique	
1.3.2) Physiopathologie des leucémies aiguës myéloïdes	
1.4) Classification des leucémies aiguës myéloïdes	
1.5) Diagnostic :	
1.5.1) Clinique : insuffisance médullaire, infiltration tumorale	
1.5.2) Biologique : hémogramme, myélogramme, étude cytochimique, biologie moléculaire, immunophénotypage, cytogénétique	
1.6) Pronostic, traitements et survie des leucémies aiguës myéloïdes	
1.6.1) Pronostic des leucémies aiguës myéloïdes	
1.6.2) Traitements, survie et suivi des leucémies aiguës myéloïdes	
<b>Partie 2 : Inhibiteur de tyrosine kinase anti-FLT3</b>	<b>page 79</b>
2.1) Récepteur à activité tyrosine kinase	
2.2) Complexe FLT3 ligand-FLT3 récepteur	
2.3) Inhibiteur tyrosine kinase de 1ère génération	
2.4) Inhibiteur tyrosine kinase de 2ème génération	
2.5) Mécanismes de résistance aux inhibiteurs de tyrosine kinase anti-FLT3	
<b>Partie 3 : Interactions médicamenteuses et impact sur la réponse au traitement par la Midostaurine</b>	<b>page 124</b>
3.1) Introduction	
3.2) Méthodes	
3.3) Résultats	
3.4) Discussion	
3.5) Conclusion	
<b>Conclusion</b>	<b>page 145</b>
<b>Références Bibliographiques</b>	<b>page 146</b>
<b>Annexe</b>	<b>page 171</b>
<b>Serment de Galien</b>	<b>page 172</b>

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Développement des cellules sanguines

Figure 2 : Estimations du nombre de nouveaux et de décès par leucémies aux États-Unis en 2019

Figure 3 : Incidence des patients atteints de leucémie aiguë myéloïde aux États-Unis en fonction de l'âge de diagnostic entre 2011 et 2016

Figure 4 : Hématopoïèse physiologique

Figure 5 : Hématopoïèse physiologique

Figure 6 : Influence de l'EPO sur les globules rouges

Figure 7: Physiopathologie des LAM

Figure 8 : Représentation des histones

Figure 9 : Cycle de méthylation et déméthylation des cytosines

Figure 10 : Régulation des enzymes TET

Figure 11 : Réaction d'oxydoréduction par la myéloperoxydase

Figure 12 : Survie globale à 5 ans des patients atteints de leucémies aiguës myéloïdes selon l'âge du diagnostic aux États-Unis entre 2000 et 2016

Figure 13 : Pourcentage de patients en fonction du risque cytogénétique de la LAM et par catégories d'âge

Figure 14 : Survie globale des patients atteints de leucémies aiguës myéloïdes selon leur statut tabagique

Figure 15 : Survie sans rechute et survie globale des patients atteints de leucémies aiguës myéloïdes avec mutation NPM1

Figure 16 : Survie sans rechute et survie globale des patients atteints de leucémies aiguës myéloïdes en fonction du profil d'expression des gènes FLT3 et NPM1

Figure 17 : (A) Survie sans maladie et (B) survie globale des patients de plus de 60 ans avec une leucémie aiguë myéloïde *de novo* avec caryotype normal en fonction du profil du gène NPM1. (C) Survie sans maladie et (D) survie globale des patients de plus de 70 ans avec une leucémie aiguë myéloïde *de novo* avec caryotype normal en fonction du profil du gène NPM1.

Figure 18 : Taux de rémission complète après traitement de consolidation par cytarabine en fonction du risque cytogénétique de la leucémie aiguë myéloïde. (A) : cytogénétique favorable ; (B) : cytogénétique intermédiaire ; (C) : cytogénétique défavorable

Figure 19 : Survie des patients atteints de leucémies aiguës myéloïdes en fonction de l'âge au diagnostic (< 60 ans et ≥ 60 ans)

Figure 20 : Survie globale des patients atteints de leucémie aiguë myéloïde avec ou sans lomustine en traitement d'induction

Figure 21 : Survie globale des patients atteints de leucémies aiguës myéloïdes traités par CPX-351 ou par daunorubicine cytarabine « 3+7 »

Figure 22 : Cascade de phosphorylation des protéines kinases

Figure 23 : Exemples de récepteurs à activité tyrosine kinase

Figure 24 : Activation des récepteurs à activité tyrosine kinase

Figure 25 : Activation du récepteur EGFR et des voies de signalisation intracellulaires

Figure 26 : Voies de signalisation RAS/MAPK et PI-3 K/AKT

Figure 27 : Forme active et inactive de la protéine RAS

Figure 28 : Voie de signalisation RAS/MAPK

Figure 29 : Voie de signalisation JAK/STAT

Figure 30 : Structure du gène FLT3 (A : gène humain ; B : gène murin)

Figure 31 : Région promotrice et sites de liaison des facteurs de transcription du gène FLT3

Figure 32 : Structures du ligand FLT3 (A : forme soluble ; B : forme liée à la membrane)

Figure 33 : Mécanisme d'activation du récepteur FLT3

Figure 34 : Voies de signalisation activées par la liaison du ligand FLT3 sur son récepteur

Figure 35 : Type de mutations du récepteur FLT3

Figure 36 : Survie globale moyenne des patients de l'essai clinique CALGB 10603

Figure 37 : Survie globale des patients de l'essai clinique CALGB 10603 en fonction du statut FLT3

Figure 38 : Mécanismes de résistance aux inhibiteurs de tyrosine kinase anti-FLT3



Figure 39 : Courbe de durée de réponse pour les patients traités pour une LAM ayant obtenu une réponse complète à l'induction (N = 14)

Figure 40 : Courbe de durée de réponse des patients traités pour une LAM ayant obtenu une réponse complète à l'induction (N = 14) en fonction de l'association ou non avec un inhibiteur puissant du cytochrome 3A4

Figure 41 : Courbe de survie globale des patients traités pour une LAM (N = 16)

Figure 42 : Courbe de survie globale des patients traités pour une LAM (N = 16) en fonction de l'association ou non avec un inhibiteur puissant du cytochrome 3A4

## **LISTE DES TABLEAUX**

Tableau 1 : Évolution des taux d'incidence entre 1990 et 2018, en France métropolitaine, par sexe et par âge pour les leucémies aiguës myéloïdes

Tableau 2 : Altérations génétiques induites par les facteurs de risques de leucémies aiguës myéloïdes

Tableau 3 : Mutations génétiques et maladies hématologiques constituant un facteur de risque de leucémie aiguë myéloïde

Tableau 4 : Nombre de cas de leucémies aiguës myéloïdes par type d'anomalies chromosomiques et de sujets témoins pour l'enzyme NQO1

Tableau 5 : Classification FAB des leucémies aiguës myéloïdes

Tableau 6 : Classification OMS des leucémies aiguës myéloïdes

Tableau 7 : Anomalies chromosomiques fréquentes dans les leucémies aiguës myéloïdes

Tableau 8 : Examens réalisés pour le diagnostic d'une leucémie aiguë myéloïde

Tableau 9 : Expression des marqueurs cellulaires et cytoplasmiques dans le diagnostic des leucémies aiguës myéloïdes et des leucémies aiguës de phénotype mixte

Tableau 10 : Associations entre anomalies chromosomiques et mutations génétiques

Tableau 11 : Mortalité dans les 30 jours suivant le début du traitement d'induction

Tableau 12 : Profil de risque des LAM en fonction des anomalies cytogénétiques et moléculaires

Tableau 13 : Mutations génétiques fréquentes dans les leucémies aiguës myéloïdes à caryotype normal

Tableau 14 : Critères de réponse au traitement de la leucémie aiguë myéloïde

Tableau 15 : Traitements de consolidation des patients de moins de 60 ans en fonction du pronostic de la leucémie aiguë myéloïde

Tableau 16 : Facteurs pronostiques de la rechute des patients de moins de 60 ans dans le traitement de la leucémie aiguë myéloïde

Tableau 17 : Résumé des caractéristiques des patients de l'étude

Tableau 18 : Descriptif de l'utilisation de la Midostaurine pendant la phase d'induction

Tableau 19 : Descriptif de l'utilisation de la Midostaurine pendant la phase de consolidation

Tableau 20 : Données d'efficacité de la Midostaurine suite à la phase d'induction pour les patients atteints de LAM

Tableau 21 : Incidence des toxicités non hématologiques pendant la phase d'induction pour tous les patients inclus dans l'étude

Tableau 22 : Incidence des toxicités hématologiques pendant la phase d'induction pour tous les patients inclus dans l'étude

## **LISTE DES ABRÉVIATIONS**

ADAM : A Disintegrin And Metalloproteinase

ADP : Adénine Diphosphate

ALAT : Alanine Aminotransférase

ALK : Anaplastic Lymphoma Kinase

ALL : Acute Lymphocytic Leukemia

AML : Acute Myeloid Leukemia

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ASAT : Aspartate Aminotransférase

ATP : Adénine Triphosphate

AUL : Acute Undifferentiated Leukemia

Bcl-2 : B-cell Lymphoma 2

BCR-ABL : Breakpoint Cluster Region-Abelson

BCRP : Breast Cancer Resistance Protein

BFU-E : Burst Forming Unit-Erythroïde

BM : Bone Marrow

caC : carboxyl-Cytosine

CDC25A : Cell Division Cycle 25A

CEPBA : CCAAT/enhancer-binding protein

CFU-B : Colony Forming Unit-Basophile

CFU-Eo : Colony Forming Unit-Eosinophile

CFU-G : Colony Forming Unit-Granuleuse

CFU-GEMM : Colony Forming Unit-Granulocyte Érythrocyte Monocyte Mégacaryocyte

CFU-GM : Colony Forming Unit-Granulo-Monocyttaire

CFU-L : Colony Forming Unit-Lymphocyte

CFU-M : Colony Forming Unit-Monocyttaire

CFU-MK : Colony Forming Unit-Mégacaryocytaire  
CLL : Chronic Lymphocytic Leukemia  
CMF : Cytométrie en Flux  
CML : Chronic Myeloid Leukemia  
CN : Cytogenetically Normal  
CR : Complete Remission  
CSF-1R : Colony Stimulating Factor 1 Receptor  
CSH : Cellule Souche Hématopoïétique  
CSL : Cellule Souche Leucémique  
DDI : Drug Drug Interaction  
DNMT : DNA Méthyltransferase  
ECOG : Eastern Cooperative Oncology Group  
EFS : Event-Free Survival  
EGF : Epidermal Growth Factor  
EGFR : Epidermal Growth Factor Receptor  
EPO : Érythropoïétine  
ERK : Extracellular signal-Regulated Kinase  
FAB : Franco-Americano-Britannique  
FDA : Food and Drug Administration  
FGF2 : Fibroblast Growth Factor 2  
FGFR : Fibroblasts Growth Factor Receptor  
FIK-2 : Fetal Liver Kinase 2  
FISH : Hybridation In Situ par Fluorescence  
FLT3 : FMS-like tyrosine kinase 3  
G-CSF : Granulocyte Colony Stimulating Factor  
GDP : Guanosine Di-Phosphate  
GIST : Tumeurs Stromales Gastro-Intestinales

Grb-2 : Growth factor Receptor-Bound protein 2

GSK3 : Glycogène Synthase Kinase 3

GTP : Guanosine Tri-Phosphate

2-HG : 2-Hydroxyglutarate

HER 1 : Human EGF Receptor 1

HOCl : acide hypochloreux

hmC : hydroxyméthyl-Cytosine

HOXA9 : Homeobox A9

IC : Intervalle de Confiance à 95 %

IDH : Isocitrate Deshydrogenase

IGF-1 : Insulin-like Growth Factor 1

IL-15 : Interleukine 15

IRS-1 : Insulin Receptor Substrate 1

ITD : Internal Tandem Duplication

ITK : Inhibiteur de Tyrosine Kinase

IV : intra-veineux

JAK : Janus Kinase

JM : Juxtamembrane domain

KI : Kinase Insert

KMT2A : Lysine Méthyltransférase 2A

LAL : Leucémie Aiguë Lymphoïde

LAM : Leucémie Aiguë Myéloïde

LDH : Lactate Déshydrogénase

MAPK : Mitogen-Activated Protein Kinase

mC : méthyl-Cytosine

MCL-1 : Myeloid Cell Leukemia 1 protein

MDR : Multi Drug Resistance

MEIS1 : Meis homeobox 1

MEK : MAPK-ERK-Kinase

MLL : Mixed-Lineage Leukemia

MPAL : Mixed Phenotype Acute Leukemia

MPO : Myélopéroxydase

MRD : Matched Related Donor

MRD : Minimal Residual Disease

mTor : mammalian Target of rapamycin

MYB : Myeloblastosis oncogene

NFS : Numération Formule Sanguine

NPM1 : Nucleophosmine 1

NQO1 : NAD(P)H : quinone oxidoreductase 1

NRAS : Neuroblastoma RAS viral oncogene

OAT-P1B1 : Polypeptide Transporteur d'Anion Organique 1B1

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

OR : Odds Ratio

OS : Overall Survival

PCR : Réaction en Chaîne à la Polymérase

PDGFR : Platelet Derived Growth Factor Receptor

P-gp : P-glycoprotein

PI-3 K : Phosphatidyl Inositol 3 Kinase

PIP2 : Phosphatidylinositol-4,5-biphosphate

PIP3 : Phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate

PLC : Progéniteur Lymphoïde Commun

PMC : Progéniteur Myéloïde Commun

PTD : Partial Tandem Duplication

RAF : Rapidly Accelerated Fibrosarcoma

RC : Rémission Complète

RCP : Réunion de Concertation Pluridisciplinaire

RFS : Relapse-Free Survival

RT-PCR : Reverse Transcriptase-Réaction en Chaîne à la Polymérase

RUNX1 : Runt-related transcription factor 1

SCFR : Stem Cell Factor Receptor

SH2 : Sarcoma homology-2

SNC : Système Nerveux Central

SOS : Son Of Sevenless

SP : Signal Peptide

STAT : Signal Transducer and Activator of Transcription

STK-1 : human Stem Cell Kinase-1

STP : Suivi Thérapeutique Pharmacologique

TET : Tet Eleven Translocation

TGF $\alpha$  : Transforming Growth Factor  $\alpha$

TKD : Tyrosine Kinase Domain

TM : Transmembranaire

TPO : Thrombopoïétine

UPD : Uniparental Disomy

VAM : Valeur Annuelle Moyenne

VEGFR : Vascular Endothelial Growth Factor

WT1 : Wilms' Tumor 1



## **INTRODUCTION**

On regroupe sous le terme leucémie myéloïde, l'ensemble des hémopathies malignes touchant les cellules précurseurs impliquées dans la différenciation de la lignée myéloïde. Ce type de pathologie prend naissance dans les cellules souches hématopoïétiques de la moelle osseuse. En temps normal, ces dernières deviennent des cellules sanguines immatures, également appelées blastes. Elles se différencieront ensuite en cellules sanguines matures ayant des fonctions distinctes. Dans le cas de la leucémie aiguë myéloïde, les cellules blastiques s'accumulent, se développent anormalement et ne se différencieront pas en cellules sanguines matures. Avec le temps, les cellules blastiques prennent la place des cellules sanguines normales, les empêchant ainsi d'accomplir leurs rôles. Cette prolifération de cellules immatures se traduit par un ensemble de symptômes très caractéristiques de la leucémie aiguë myéloïde. Cette pathologie peut survenir à n'importe quel âge, mais touche essentiellement les personnes âgées de plus de 65 ans.

Actuellement, le traitement de référence de la leucémie aiguë myéloïde repose sur la chimiothérapie intensive, sous réserve que l'état général du patient soit satisfaisant. Cependant, de nouvelles stratégies thérapeutiques voient le jour dans le but de s'adapter à chaque patient et à chaque caractéristique de la leucémie aiguë myéloïde.

Néanmoins, ces traitements personnalisés ne sont pas sans inconvénient. En effet, d'après les études récentes, de nombreuses interactions médicamenteuses ont été mises en évidence avec un certain nombre de médicaments pris de manière concomitante. Ainsi, une utilisation prudente est de mise lorsque les patients sont déjà pris en charge pour d'autres pathologies.

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'impact des traitements associés sur la réponse et la toxicité de la Midostaurine, une molécule de thérapie ciblée, dans la prise en charge des leucémies aiguës myéloïdes.

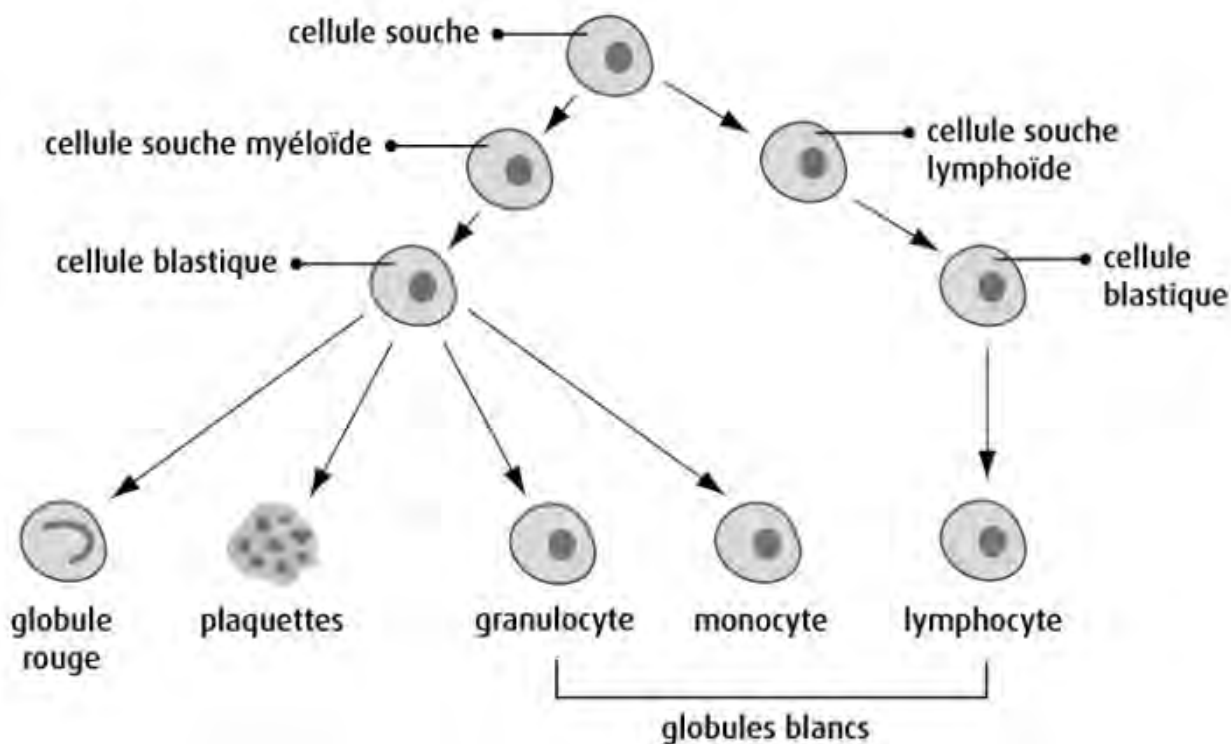
La première partie sera consacrée à la présentation générale des leucémies aiguës myéloïdes : épidémiologie, classification, physiopathologie, diagnostic, pronostic et traitements. Les inhibiteurs de tyrosine kinase anti-FLT3 dont la Midostaurine, seront développés dans la partie suivante. Et enfin, la dernière partie sera dédiée à l'impact des

interactions médicamenteuses sur la réponse au traitement par la Midostaurine. L'impact sera évalué par le biais d'une étude rétrospective observationnelle en pratique courante.

# **PARTIE 1 : Leucémie aiguë myéloïde**

## **1.1) Définition**

La leucémie aiguë myéloïde (LAM) est une pathologie cancéreuse d'expression sanguine. Elle regroupe l'ensemble des proliférations malignes conduisant à une multiplication incontrôlée et une accumulation de cellules sanguines immatures de nature myéloïde, appelées les blastes, dans le sang et la moelle osseuse. Ces cellules immatures ou blastes ont perdu totalement ou partiellement leur capacité de différenciation et ainsi ne se développent pas en cellules sanguines matures. Les cellules souches myéloïdes se transforment normalement en cellules blastiques, qui se différencieront ensuite en cellules sanguines matures de type globule rouge, plaquette, granulocyte ou monocyte. Les granulocytes et les monocytes appartiennent au groupe des globules blancs. (Figure 1)



*Figure 1 : Développement des cellules sanguines*

L'excès de prolifération de blastes associé à l'arrêt de différenciation en cellules sanguines conduit à un ensemble de symptômes caractéristiques qui seront détaillés ensuite.

Le terme « aigu » caractérisant ce type de leucémie signifie que la maladie s'installe brutalement, et se développe rapidement en quelques jours ou quelques semaines, contrairement aux leucémies chroniques. Le diagnostic de leucémie aiguë est le plus souvent fait en urgence. (1)

La leucémie aiguë myéloïde porte aussi le nom de leucémie aiguë myéloblastique, leucémie aiguë myélocytaire, leucémie aiguë myélogène, leucémie aiguë granuleuse et leucémie aiguë non lymphoblastique. (2)

## **1.2) Épidémiologie et facteurs de risque**

### **1.2.1) Épidémiologie**

La LAM est la leucémie myéloïde la plus fréquente. Le diagnostic peut se faire à tout âge, cependant l'âge moyen est situé entre 65 et 70 ans.

Avec l'avancée en âge, il est observé une forte augmentation de la fréquence des LAM. En effet, l'incidence passe de 3,8 cas pour 100 000 personnes à 17,9 cas pour 100 000 personnes chez les personnes de 65 ans et plus. (3)

En France en 2018, l'incidence est estimée à 45 000 pour les hémopathies malignes. Parmi ces 45 000 nouveaux patients atteints d'hémopathies malignes, 3 428 sont atteints de LAM dont 1 787 hommes et 1 641 femmes. L'âge médian de diagnostic était de 69 ans pour les hommes et 72 ans pour les femmes en 2018. (4)

Entre 1990 et 2018, en France, la variation annuelle moyenne (VAM) du taux d'incidence des LAM augmente de 1 % ou plus chez l'homme et la femme.

En effet, sur cette période, le nombre de nouveaux cas augmente de 114 % chez l'homme et 115 % chez la femme. Cette forte augmentation de l'incidence s'explique par un accroissement et un vieillissement de la population associés à une augmentation du risque de ces maladies.

Le tableau 1 met en évidence l'évolution des taux d'incidence pour chaque classe d'âge selon l'année de diagnostic pour les LAM, entre 1990 et 2018, en France métropolitaine.

Ainsi, l'augmentation du taux d'incidence concerne toutes les classes d'âge chez l'homme comme chez la femme et est constante sauf à partir des années 2000 où cette augmentation devient moins nette. (Tableau 1) (4)

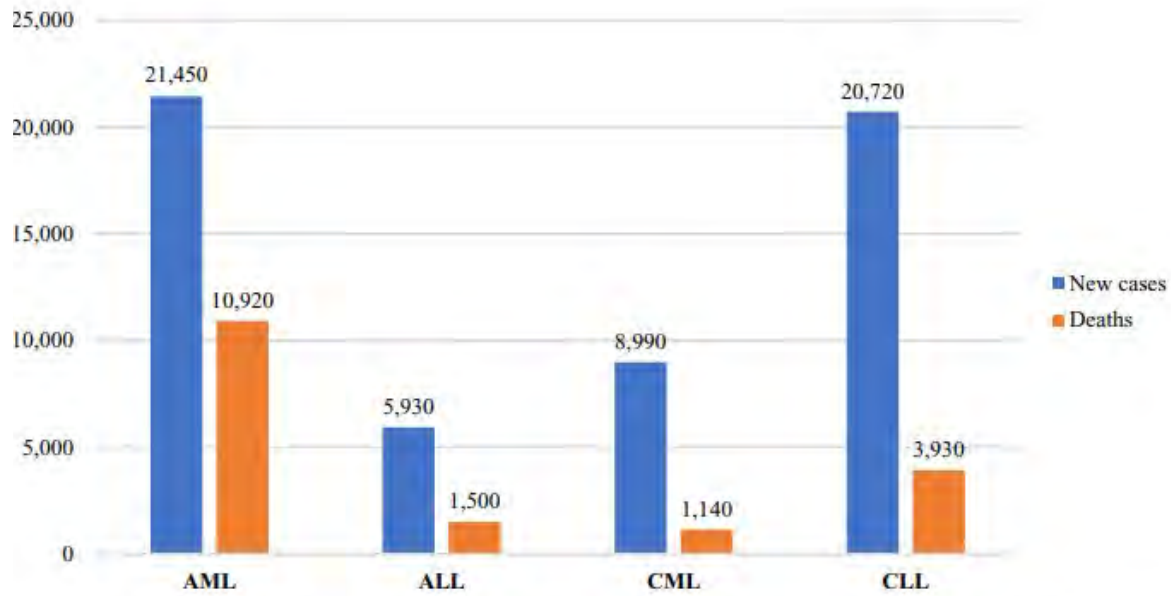
Âge (années)	Homme			Femme		
	Taux <sup>(1)</sup> 1990	Taux <sup>(1)</sup> 2018	VAM <sup>(2)</sup> (%) et [IC 95%]	Taux <sup>(1)</sup> 1990	Taux <sup>(1)</sup> 2018	VAM <sup>(2)</sup> (%) et [IC 95%]
40	1,3	1,8	1,2 [0,8 ; 1,6]	1,5	2,0	1,0 [-0,2 ; 2,2]
50	2,6	3,6	1,2 [0,8 ; 1,6]	2,1	2,9	1,1 [0,0 ; 2,2]
60	5,2	7,2	1,2 [0,8 ; 1,6]	3,7	5,1	1,1 [0,3 ; 2,0]
70	11,1	15,3	1,2 [0,8 ; 1,6]	7,3	10,0	1,1 [0,3 ; 1,9]
80	20,3	28,1	1,2 [0,8 ; 1,6]	10,3	18,1	2,0 [1,3 ; 2,8]

*Tableau 1 : Évolution des taux d'incidence entre 1990 et 2018, en France métropolitaine, par sexe et par âge pour les LAM*

*(1 : Taux d'incidence exprimés pour 100 000 personnes-années, 2 : VAM : variation annuelle moyenne et intervalle de confiance à 95%)*

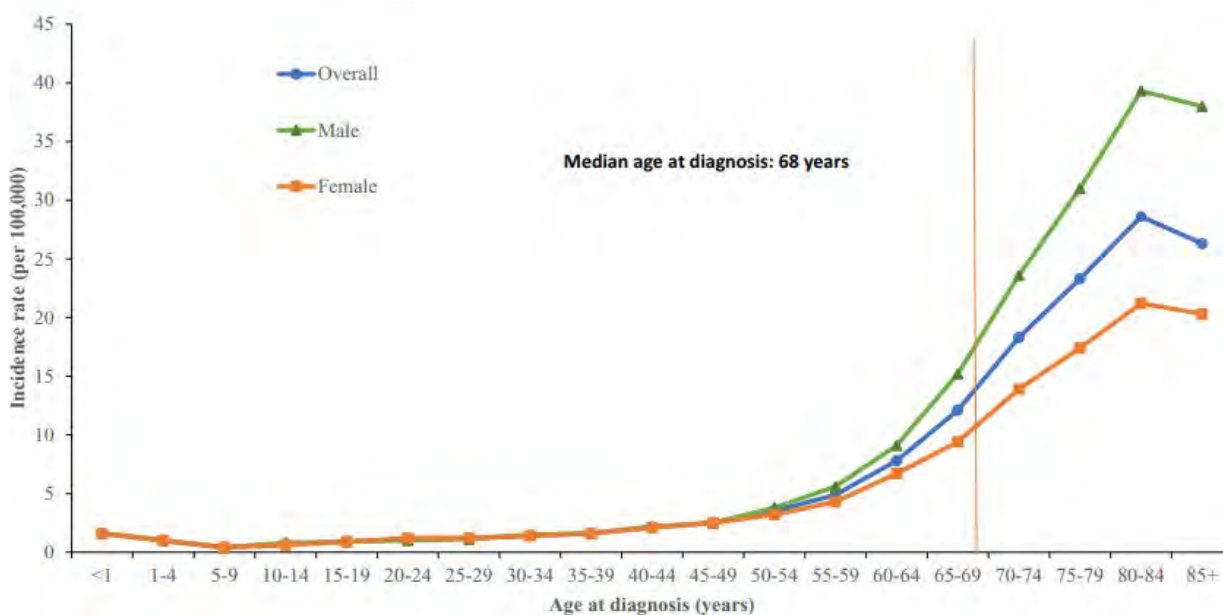
Jusqu'en 2017, l'incidence de la LAM aux États-Unis a été supérieure à celle des trois autres types de leucémies (leucémie aiguë lymphoïde, leucémie myéloïde chronique et leucémie lymphoïde chronique).

En 2019, 21 450 patients ont reçu un diagnostic de LAM dont 11 650 hommes et 9 800 femmes. Dans cette même année, la LAM a entraîné le plus grand nombre de décès parmi tous les patients atteints de leucémie quelle qu'elle soit, soit 10 920 décès contre 1 500 pour la leucémie aiguë lymphoïde, 1 140 pour la leucémie myéloïde chronique et 3 930 pour la leucémie lymphoïde chronique. (Figure 2) (5)



*Figure 2 : Estimations du nombre de nouveaux cas de leucémies et de décès par leucémies aux États-Unis en 2019*

La LAM est une maladie généralement diagnostiquée à l'âge adulte, contrairement à la leucémie aiguë lymphoïde, essentiellement diagnostiquée entre 2 et 5 ans. En effet, aux États-Unis l'incidence passe de 2 personnes atteintes de LAM pour 100 000 personnes avant 65 ans à 20,1 personnes après 65 ans. L'âge médian de diagnostic aux États-Unis est de 68 ans entre 2011 et 2016. (Figure 3) (5)



**Figure 3 :** Incidence des patients atteints de LAM aux États-Unis en fonction de l'âge de diagnostic entre 2011 et 2016

De plus, les hommes présentent un risque plus important de développer une LAM que les femmes. En effet, le sexe-ratio est de 3 hommes atteints de LAM pour 2 femmes. Ce risque est mis en évidence à partir de 50 ans, et augmente avec l'âge. D'après le graphique suivant, les hommes ont un risque 1,2 à 1,6 fois plus important que les femmes de développer ce type de maladie. (3,5)

## 1.2.2) Facteurs de risque

Bien que la plupart des cas de LAM soient des maladies sporadiques survenant chez des personnes en bonne santé, certains facteurs de risque ont été identifiés.

Ce sont par exemple, une exposition répétée au benzène, les traitements par chimiothérapies cytotoxiques et radiothérapies pour traiter d'autres cancers. Il s'agit alors de LAM secondaires. (6)

En France, les radiations ionisantes et l'exposition au benzène sont reconnues comme des causes professionnelles pouvant être à l'origine de leucémies aiguës. (1)

Les LAM secondaires représentent 10 à 30 % des leucémies aiguës myéloïdes et 10 à 15 % des LAM sont diagnostiquées après un traitement par chimiothérapie.

Deux types de chimiothérapies cytotoxiques sont principalement responsables de LAM :

- les agents alkylants. Dans ce cas, la maladie se développe généralement 5 à 10 ans après l'exposition à ce type de traitement, et se caractérise par des monosomies ou des délétions sur le bras long des chromosomes 5 et/ou 7.
- les inhibiteurs de Topoisomerase II. Les LAM surviennent le plus souvent 1 à 5 ans après l'exposition à ces traitements. Ces chimiothérapies sont à l'origine d'anomalies au niveau des chromosomes 11 et 21, et de translocations entre les chromosomes 15 et 17.



L'exposition au benzène, principalement retrouvé dans la cigarette, se manifeste par des anomalies sur les chromosomes 5 et/ou 7 et une trisomie sur le chromosome 8 avec notamment une translocation équilibrée entre les chromosomes 8 et 21. (Tableau 2) (3,5)

Toxin	Associated DNA damage effects
Therapy-related	
Alkylating agents	Monosomy 5, monosomy 7, del(5q), del(7q), <i>TP53</i> mutation
Topoisomerase II inhibitors	Balanced translocation of 11q23.3 ( <i>KMT2A</i> ) and 21q22.1 ( <i>RUNX1</i> )
Radiotherapy	Complex karyotype, monosomy 5, monosomy 7, del(5q), del(7q)
Non-therapeutic exposures	
Benzene	Monosomy of chromosomes 5, 6, 7 and 10 and trisomy of chromosomes 8, 9, 17, 21 and 22; mutations in <i>RUNX1</i> , <i>RUNX3</i> , <i>MSH3</i> , <i>TP53</i>

Tableau 2 : Altérations génétiques induites par les facteurs de risques de LAM (5)

Ces anomalies chromosomiques sont responsables de mutations au niveau de l'ADN des cellules souches hématopoïétiques, transformant ainsi une cellule normale en une cellule souche leucémique. Ces cellules souches hématopoïétiques sont normalement à l'origine de l'ensemble des éléments figurés du sang. Les cellules souches leucémiques vont alors proliférer et se bloquer à un stade précoce de différenciation pour donner les blastes. La physiopathologie de la LAM sera développée par la suite.

De plus, certaines maladies hématologiques et mutations génétiques sont associées au développement de LAM. (Tableau 3) (5)

Syndrome	Associated abnormality
Germline mutations	
Ataxia-pancytopenia syndrome	<i>SAMD9L</i>
Bloom Syndrome	<i>BLM</i>
Diamond-Blackfan anemia	<i>RPS19, RPL5, RPL11, RPS35A, RPS10, RPS17, RPS24, RPS26</i>
Dyskeratosis congenita	<i>DKC1, TERT, TERC</i>
Fanconi anemia	<i>FANCA, FANCC, FANCG</i>
Familial AML with mutated <i>CEBPA</i>	<i>CEBPA</i>
Familial AML with mutated <i>DDX41</i>	<i>DDX41</i>
Familial platelet syndrome	<i>RUNX1</i>
<i>GATA2</i> haploinsufficiency	<i>GATA2</i>
MIRAGE syndrome	<i>SAMD9</i>
Noonan syndrome	<i>PTPN11</i>
Severe congenital neutropenia (Kostmann syndrome)	<i>ELANE, HAX1, G6PC3, WASP</i>
Shwachman-Diamond syndrome	<i>SBDS</i>
Thrombocytopenia-2	<i>ANKRD26</i>
Thrombocytopenia-5	<i>ETV6</i>
Chromosomal aberrations	
Down syndrome	Trisomy 21
Familial monosomy 7 syndrome	Monosomy 7

Tableau 3 : Mutations génétiques et maladies hématologiques constituant un facteur de risque de LAM (5)

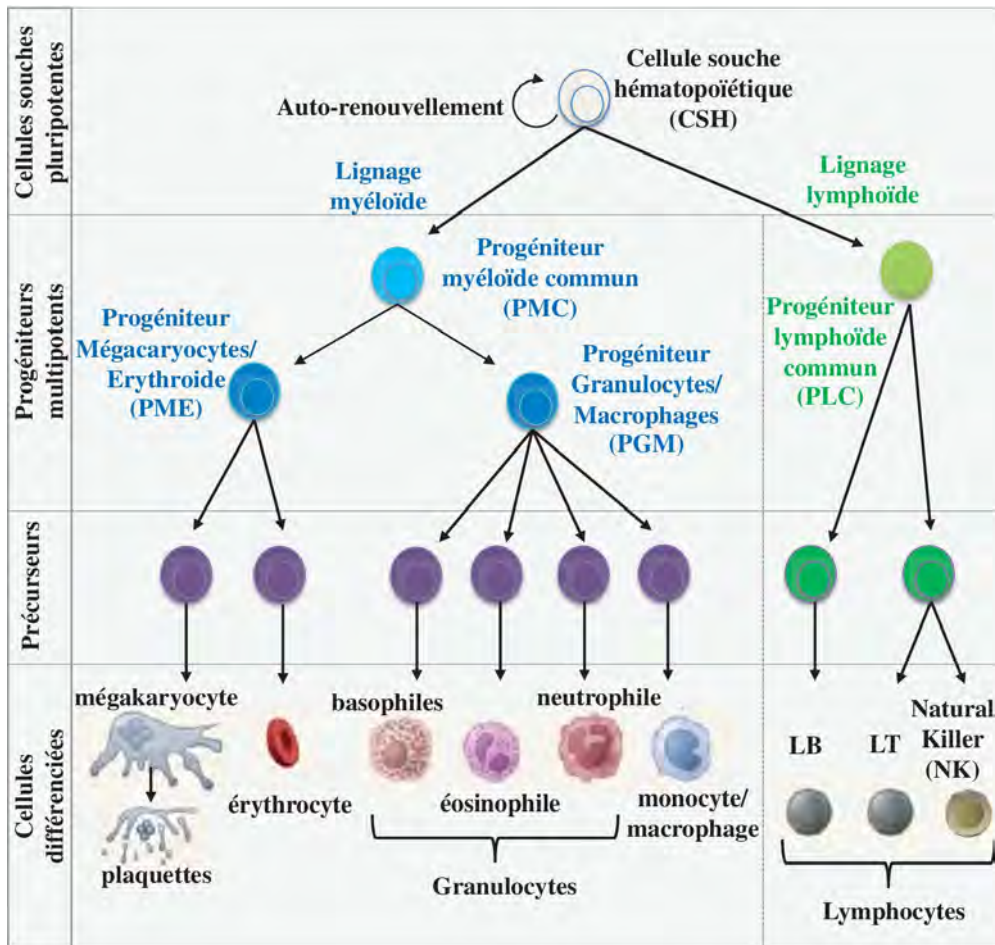
### 1.3) Hématopoïèse physiologique, physiopathologie des leucémies aiguës myéloïdes

#### 1.3.1) Hématopoïèse physiologique

L'hématopoïèse est un processus physiologique qui se déroule dans la moelle osseuse. Elle permet la fabrication et le remplacement en continu des cellules sanguines (globules rouges, globules blancs et plaquettes) à partir de cellules souches indifférenciées.

Le processus d'hématopoïèse débute donc dans la moelle osseuse à partir de cellules souches hématopoïétiques (CSH). Ces cellules sont dites « pluripotentes », c'est à dire qu'elles ont la capacité de s'auto-renouveler et de donner naissance à l'ensemble des

cellules sanguines (globules rouges, globules blancs et plaquettes) sous l'action de facteurs de croissance. (Figure 4) (7)



*Figure 4 : Hématopoïèse physiologique*

Une cellule souche hématopoïétique (CSH) donne naissance à deux progénéiteurs multipotents dans la moelle osseuse : le progénéiteur myéloïde commun (PMC), également appelé CFU-GEMM qui sera à l'origine de la lignée myéloïde et le progénéiteur lymphoïde commun (PLC), également appelé CFU-L qui donnera la lignée lymphoïde.

Les progénéiteurs hématopoïétiques se différencient en précurseurs qui donneront chacun une lignée cellulaire sanguine spécifique.

Le progénéiteur lymphoïde commun ou CFU-L forme les progénéiteurs B et T. Le progénéiteur B par l'intermédiaire du précurseur lymphoblaste B se différencie en lymphocyte B. Le progénéiteur T par l'intermédiaire du précurseur lymphoblaste T se différencie en

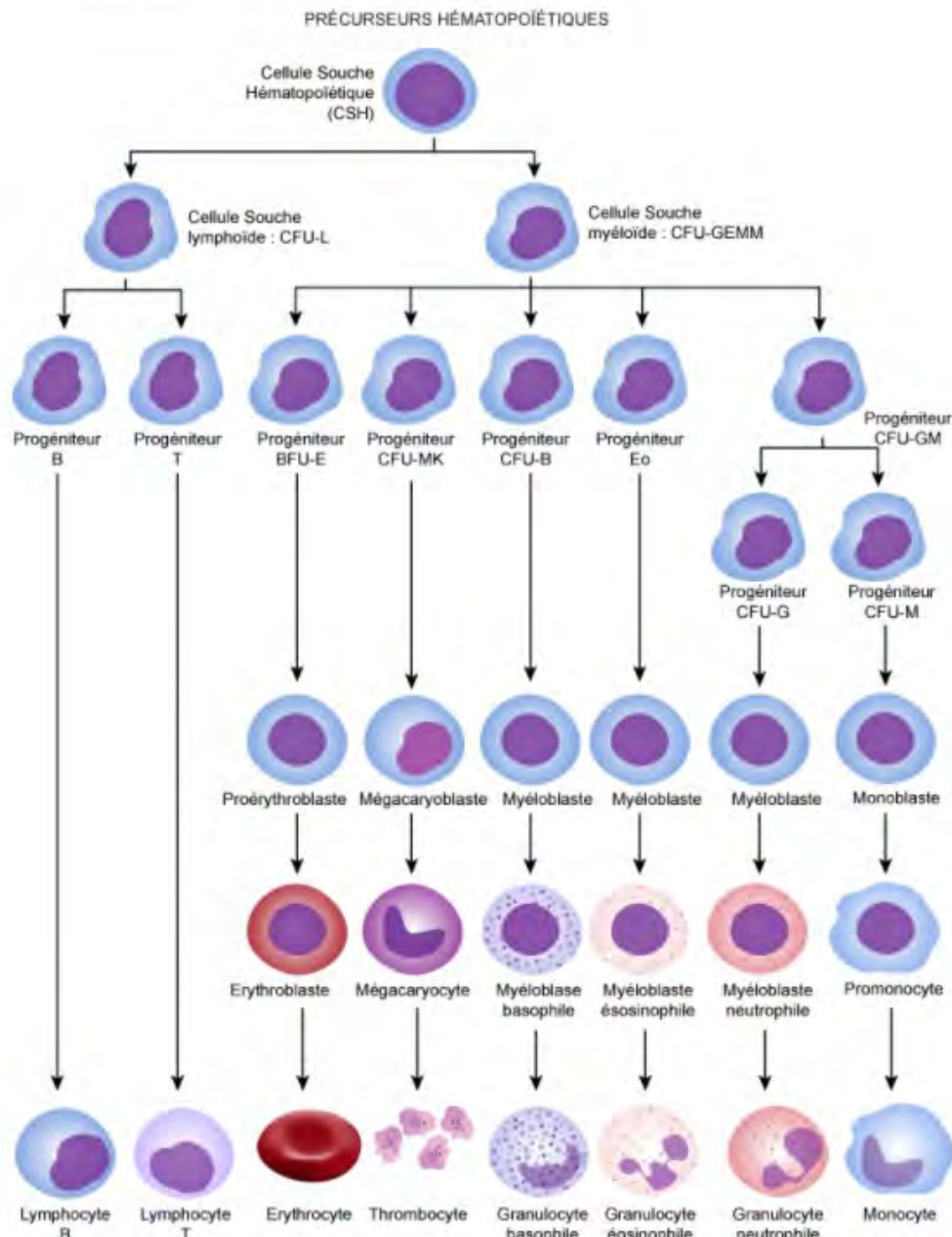
lymphocyte T.

Le progéniteur myéloïde commun ou CFU-GEMM est à l'origine de différents progéniteurs : BFU-E, CFU-MK, CFU-B, CFU-Eo et CFU-GM.

Le progéniteur BFU-E se transforme en précurseur proérythroblaste, qui se différencie ensuite en érythrocyte ou globule rouge. Le progéniteur CFU-MK donne le précurseur mégacaryoblaste qui se différencie en mégacaryocyte pour finalement se fragmenter et donner les thrombocytes ou plaquettes. Le progéniteur CFU-B donne un précurseur myéloblaste qui se différencie ensuite en granulocyte basophile ou polynucléaire basophile.

Le progéniteur CFU-Eo se transforme en précurseur myéloblaste, puis se différencie en granulocyte éosinophile ou polynucléaire éosinophile. Enfin, le progéniteur CFU-GM donne deux progéniteurs : CFU-G et CFU-M. Le progéniteur CFU-G donne un précurseur myéloblaste et se différencie ensuite en granulocyte neutrophile ou polynucléaire neutrophile. Le progéniteur CFU-M se transforme en précurseur monoblaste et se différencie ensuite en monocyte. (7)

Finalement, la lignée lymphoïde donnera les lymphocytes T et les lymphocytes B. Les lymphocytes T se forment dans la moelle osseuse, tandis que leur différenciation et leur maturation ont lieu dans le thymus. La lignée myéloïde sera à l'origine des hématies ou globules rouges, des plaquettes, des granulocytes ou polynucléaires (basophiles, éosinophiles et neutrophiles) et des monocytes. (Figure 5) (8)

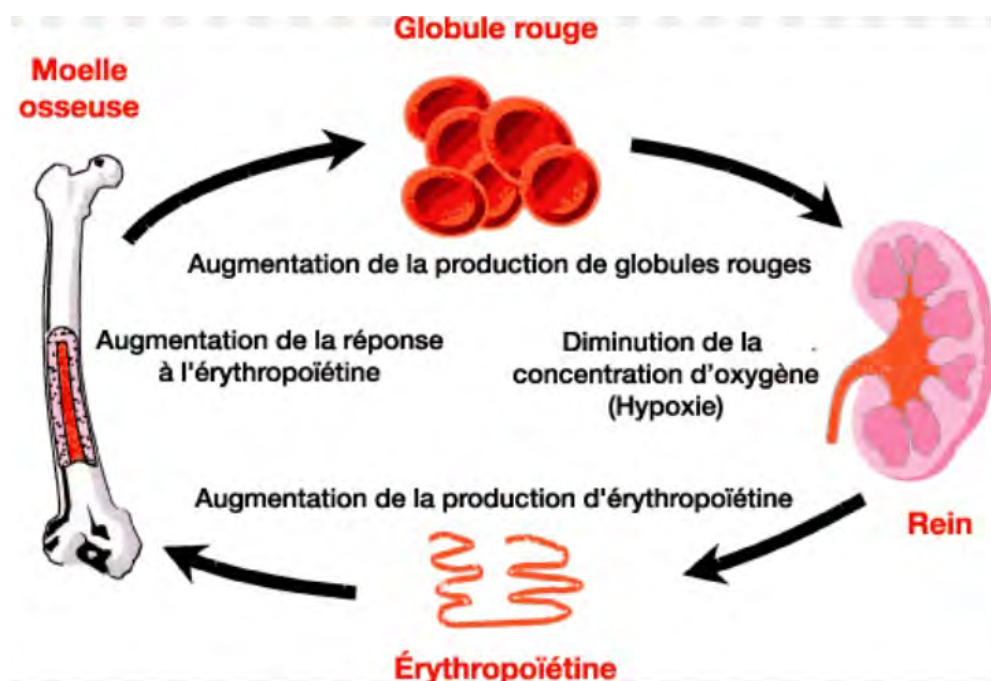


*Figure 5 : Hématopoïèse physiologique (7)*

Une cellule souche hématopoïétique peut donc donner 3 lignées cellulaires :

- globule rouge ou érythrocyte
- plaquette ou thrombocyte
- globule blanc ou leucocyte : polynucléaire ou granulocyte, lymphocyte et monocyte

La formation des globules rouges correspond à l'érythropoïèse. Elle est régulée par l'érythropoïétine (EPO), hormone sécrétée par le rein dont la synthèse est dépendante de l'oxygène. En effet, lors d'une diminution du nombre de globules rouges au niveau du rein ou lors d'une baisse du taux d'oxygène détecté au niveau des artères rénales, la synthèse d'érythropoïétine augmente. Elle permet ainsi, de stimuler la synthèse et la maturation des globules rouges au niveau de la moelle osseuse. (Figure 6) (8, 9)



*Figure 6 : Influence de l'EPO sur les globules rouges*

Les globules rouges jouent un rôle important dans les échanges gazeux de l'organisme. Ils permettent l'oxygénation des tissus en assurant le transport de l'oxygène des poumons vers les tissus et participent à l'élimination du gaz carbonique en transportant le CO<sub>2</sub> des tissus vers les poumons.

La production des thrombocytes ou plaquettes est appelée la thrombopoïèse et dépend de la production de thrombopoïétine (TPO). Cette hormone glycoprotéique est produite principalement par le foie et le rein. Elle stimule la production et la différenciation des mégacaryocytes qui se fragmentent ensuite en plaquettes.

Les plaquettes interviennent dans la coagulation du sang pour stopper les hémorragies. Elles ont la capacité de s'activer, d'adhérer à l'endothélium des vaisseaux sanguins et de s'agréger entre elles pour former un clou plaquettaire à l'endroit où le vaisseau a été lésé. Elles permettent ainsi d'arrêter le saignement.

La formation des granulocytes ou polynucléaires correspond à la granulopoïèse et est sous l'action de facteurs de croissance. Les polynucléaires contribuent activement aux défenses immunitaires en luttant contre l'inflammation et l'infection.

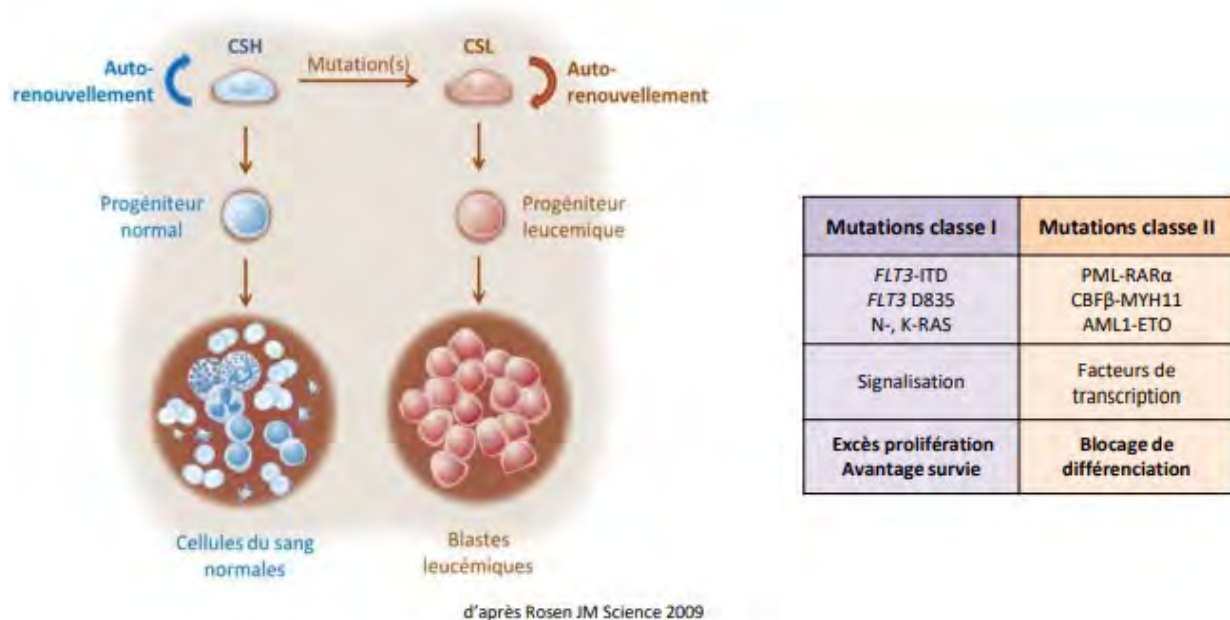
La formation des lymphocytes est la lymphopoïèse. Les lymphocytes B et T ont des fonctions différentes dans l'organisme. Les lymphocytes B sont impliqués dans l'immunité humorale et sont responsables de la production des anticorps. A l'inverse, les lymphocytes T participent à l'élimination des cellules cancéreuses ou des cellules infectées par un virus. Ils sont donc impliqués dans l'immunité à médiation cellulaire.

Enfin, les monocytes contribuent à protéger l'organisme contre les agents pathogènes de type virus, bactéries, parasites... Ils circulent normalement dans le sang et ont la capacité de se rendre dans les tissus où ils se transforment en macrophages. Ils sont alors capables de phagocyter et de neutraliser les agents pathogènes. (8)

### **1.3.2) Physiopathologie des leucémies aiguës myéloïdes**

Plusieurs hypothèses peuvent expliquer le développement des LAM. De nombreux progrès ont été réalisés ces dernières années pour préciser la leucémogénèse. Tout d'abord, la cellule souche hématopoïétique (CSH) possède les mêmes caractéristiques que la cellule souche leucémique (CSL), c'est à dire les capacités d'auto-renouvellement et de prolifération. (10)

Ainsi, différents types de mutations dans le matériel génétique des cellules souches hématopoïétiques conduiraient à la formation de cellules souches leucémiques. Ces dernières, étant dotées de capacités d'auto-renouvellement donnent naissance à des progéniteurs leucémiques et in fine à des blasts. (Figure 7)



**Figure 7 : Physiopathologie des LAM**

La théorie du « two-hit model » signifie qu'au moins deux mutations génétiques de classe différentes sont nécessaires pour le développement d'une LAM :

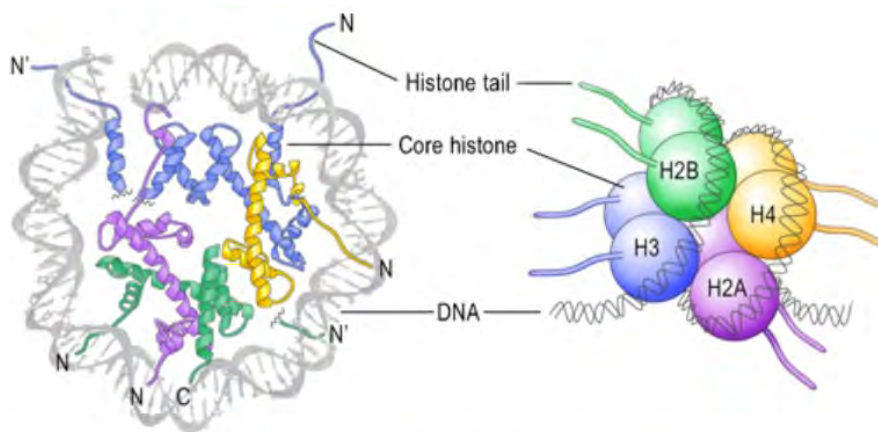
- mutations de classe I : ce type de mutations induit une activation constitutive des voies de signalisation médiée par les récepteurs cellulaires RAS ou les récepteurs tyrosine kinase comme FLT3 ou c-KIT. Ces mutations confèrent un excès de prolifération et un avantage pour la survie des progéniteurs leucémiques. Dans les modèles animaux, il a été observé que les souris ayant subi ce type de mutations ne développaient pas de LAM mais seulement un désordre myéloprolifératif. (11)
- mutations de classe II : ces mutations sont représentées par la translocation, la fusion de gènes codant les facteurs de transcription (CEPBA, RUNX1) ou les mutations de gènes impliqués dans le cycle cellulaire (NPM1). Ce type de mutations entraîne un blocage de la différenciation myéloïde, mais n'induit pas de LAM dans les modèles murins, comme précédemment. (3, 11)



Ce modèle de leucémogénèse soutient que ces deux types de mutations doivent être présentes pour développer une LAM ; une mutation de classe I ou de classe II ne suffit pas.

Depuis quelques années, la découverte d'altérations dans les gènes impliqués dans la régulation épigénétique suggère l'existence d'une troisième classe de mutations.

Le composant de base de la chromatine est le nucléosome. Il est formé de 146 paires de bases d'ADN enveloppé autour d'un noyau protéique, lui-même composé de deux sous-unités de chacune des histones H2A, H2B, H3, et H4. Les nucléosomes adjacents sont reliés par un court tronçon d'ADN en double hélice. In vivo, les polymères du nucléosome sont disposés de manière plus ordonnée pour former des fibres de chromatine. La chromatine condensée forme le chromosome. (Figure 8)



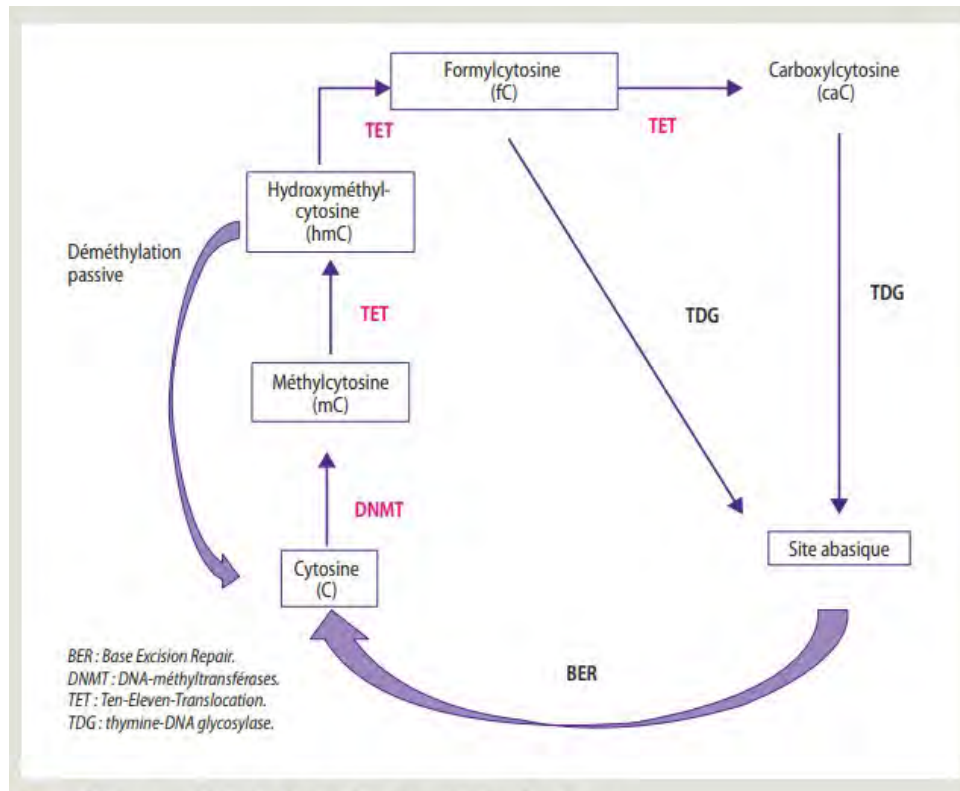
*Figure 8 : Représentation des histones*

(« Histone tail » : extrémité ou queue des histones, « Core histone » : histone centrale)

L'ADN présent dans la chromatine est très compacté, ce qui rend inaccessible l'accès aux facteurs de transcription. Cependant, les extrémités N-terminales des histones sont accessibles et peuvent être modifiées par acétylation, méthylation, phosphorylation...

Ainsi, les modifications post-traductionnelles des histones, par acétylation et désacétylation influencent l'accessibilité de l'ADN aux facteurs de transcription et de réplication. L'hypoacétylation des histones favorise l'inhibition des gènes, tandis que l'acétylation facilite la transcription. (12)

De plus, l'hyper-méthylation de l'ADN est une modification épigénétique supplémentaire qui contribue à la régulation de l'expression des gènes. Ce mécanisme post-réplicatif concerne le carbone 5 des cytosines quand celles-ci sont associées à une guanine dans un doublet CpG. (Figure 9)



**Figure 9 :** Cycle de méthylation et déméthylation des cytosines

Les enzymes de la famille des DNA méthyltransférase transforment la cytosine en 5-méthyl-Cytosine (mC), tandis que les enzymes de la famille TET réalisent la réaction d'oxydation de la 5-méthyl-Cytosine (mC) en 5-hydroxyméthyl-Cytosine (hmC). Les enzymes TET sont en capacité de continuer les réactions d'oxydation jusqu'à formation de 5-carboxyl-Cytosine (caC). (13, 14)

L'hyper-méthylation de l'ADN joue un rôle sur la conformation de la molécule d'ADN. En effet, l'hyper-méthylation des cytosines par les enzymes de type DNA méthyltransférases (DNMT) va entraîner une modification de l'architecture de la chromatine qui aboutit à une

compaction des nucléosomes. Cette nouvelle conformation empêche l'accès des facteurs de transcription.

De manière générale, l'hyper-méthylation est donc associée à une répression de la transcription des gènes. (15, 16)

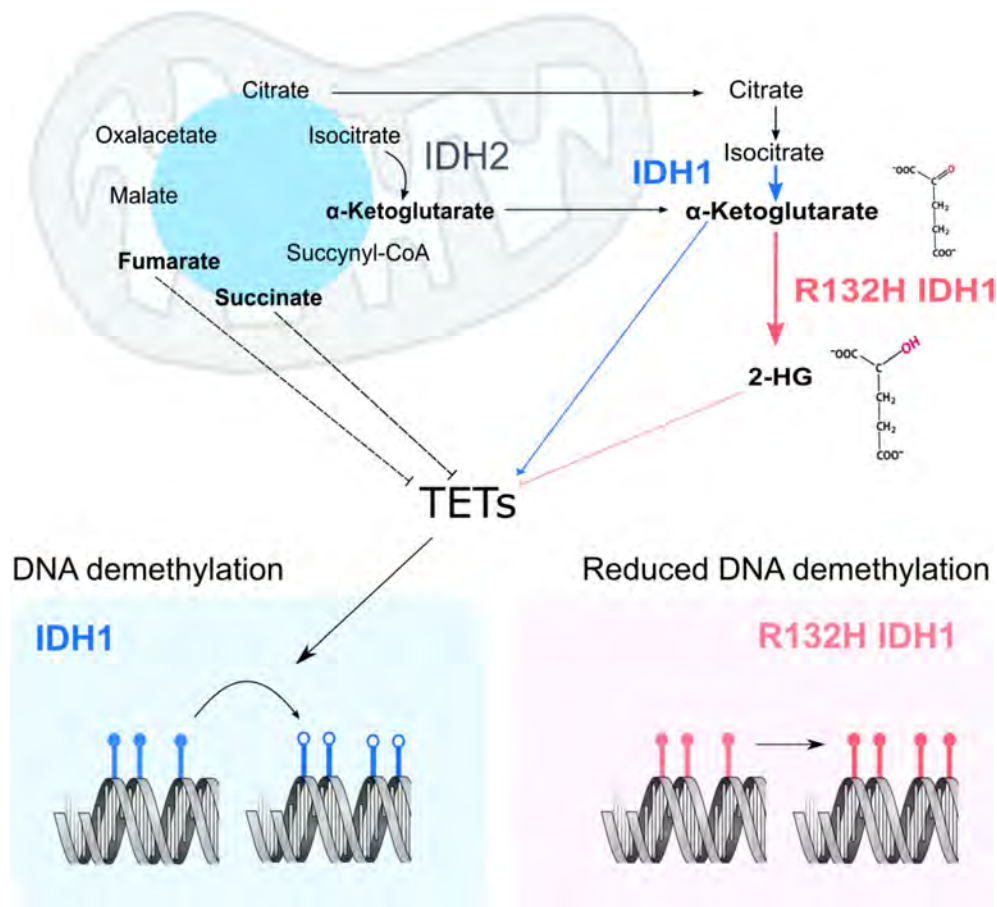
L'hyper-méthylation aberrante de l'ADN peut contribuer au développement de pathologies. C'est le cas par exemple, de la méthylation des doublets CpG des gènes suppresseurs de tumeurs. En effet, l'hyper-méthylation de ces doublets met sous silence les gènes suppresseurs de tumeurs et prédispose au développement de cancers. (17)

L'hyper-méthylation a été mise en évidence dans le génome des patients souffrant de LAM. En effet, les mutations sont retrouvées essentiellement au niveau des gènes régulant le mécanisme de méthylation de l'ADN, c'est à dire DNMT3A, TET2, IDH1 et 2. Ces mutations sont retrouvées dans 40 % des cas de LAM. (18)

Les protéines codées par les gènes IDH 1 et IDH 2 catalysent la transformation d'isocitrate en  $\alpha$ -cétoglutarate. Ce dernier joue un rôle primordial dans les réactions d'oxydations par les enzymes TET. En effet, une mutation sur les gènes IDH 1 et IDH 2 diminue la production d' $\alpha$ -cétoglutarate et augmente celle de 2-Hydroxyglutarate (2-HG). L'activité des enzymes TET est donc inhibée et n'exerce pas leur réaction de déméthylation. (Figure 10)

Les mutations d'IDH 1, d'IDH 2 et de TET sont donc mutuellement exclusives.

Le 2-Hydroxyglutarate est produit de manière physiologique à des niveaux très bas et donc des niveaux élevés chez les patients atteints d'une LAM constituent un marqueur diagnostique des mutations des gènes IDH et prédictif de la rechute. (14, 19)



*Figure 10 : Régulation des enzymes TET*

(« TET » : Tet Eleven Transcription, « 2-HG » : 2-Hydroxyglutarate)

Comme mentionné précédemment, le benzène constitue un facteur de risque de développement des leucémies aiguës. Pour détoxifier les quinones dérivées du benzène et réduire le stress oxydant des cellules, une enzyme intervient, la NAD(P)H : quinone oxidoreductase 1 (NQO1). La substitution d'une cystéine par une thréonine en position 609 du gène NQO1 codant cette enzyme induit une diminution de l'activité de la NAD(P)H : quinone oxidoreductase 1. L'activité de cette enzyme est nulle chez les personnes homozygotes mutées pour ce gène, tandis qu'elle est intermédiaire pour les personnes hétérozygotes. Ainsi, une diminution ou une absence totale d'activité de l'enzyme NQO1

peut prédisposer les personnes exposées aux chimiothérapies et au benzène, à un plus grand risque de leucémie aiguë. (20)

Des études ont été menées à ce sujet et ont mis en évidence une augmentation du risque de LAM chez les personnes ayant une diminution, voire une absence totale d'activité pour cette enzyme.

En effet, les données suivantes suggèrent une association significative entre la diminution ou l'absence totale d'activité de NQO1 et le risque de développer une LAM de caryotype normal (Odds ratio = 1,71 ; IC 95 % = 1,09-2,69). Cela est également observé pour les LAM avec translocations et inversions (Odds ratio = 2,39 ; IC 95 % = 1,34-4,27). L'association est la plus significative pour les LAM avec inversion sur le chromosome 16 (Odds ratio = 8,13 ; IC 95 % = 1,43-46,42). Pour les LAM avec d'autres caractéristiques génétiques, le risque n'est pas significatif. (Tableau 4)

Cytogenetics*	Wild type		Heterozygote + Homozygote			
	Case	Control	Case	Control	OR†	95% CI†
Normal	83	177	65	85	1.71	(1.09, 2.69)
Translocations:	46	106	42	37	2.39	(1.34, 4.27)
t(15;17)	28	51	16	23	1.46	(0.64, 3.36)
t(8;21)	12	33	14	9	2.88	(0.97, 8.57)
inv(16)	6	22	12	5	8.13	(1.43, 46.42)
5q-/-7q-	11	21	11	16	1.57	(0.38, 6.49)
Other abnormality	53	90	28	48	1.05	(0.58, 1.89)
Failed/not tested	51	90	29	49	1.03	(0.58, 1.82)

*Tableau 4 : Nombre de cas de LAM par type d'anomalies chromosomiques et de sujets témoins pour l'enzyme NQO1*

Les agents environnementaux normalement détoxifiés par l'enzyme NQO1 sont des facteurs de risque de LAM avec anomalies chromosomiques.

Ainsi, le polymorphisme de l'enzyme NQO1 C609T est associé à un plus grand risque d'hématotoxicité et de leucémie induite par le benzène et les chimiothérapies. Le risque est accru pour les LAM avec inversion sur le chromosome 16. L'explication vient probablement du fait que certains substrats normalement détoxifiés par NQO1, induiraient eux-mêmes l'inversion chromosomique du fait de leur accumulation.

Finalement, les études ont montré qu'une diminution ou une absence totale d'activité de l'enzyme NQO1 est associée à un risque accru de LAM. (20)

## **1.4) Classification des leucémies aiguës myéloïdes**

Deux classifications sont utilisées pour les LAM : la classification FAB (Franco-Américano-Britannique) et la classification OMS.

La classification FAB établie en 1976, décrit huit types de LAM, de M0 à M7, en se basant sur des caractéristiques morphologiques observées au microscope et des caractéristiques cytochimiques. La classification est fonction de la lignée d'origine des blastes et du degré de maturation. Les cellules leucémiques peuvent présenter les caractéristiques des globules rouges, des globules blancs, des plaquettes ou des globules blancs immatures comme les myéloblastes ou les promyélocytes. Le sous-type de la classification FAB prend le nom de la population cellulaire dominante, par exemple leucémie myéloblastique, promyélocytaire aiguë, monocytaire aiguë... (Tableau 5)

D'après cette classification, le diagnostic de LAM est posé lorsque la moelle osseuse contient plus de 30 % de blastes. (21, 22)

<b>Sous types FAB/ Fréquence</b>	<b>Nom de la leucémie</b>	<b>% blastes dans la moelle osseuse</b>	<b>Caractéristiques morphologiques des blastes</b>
M0 2 % des LAM	LAM avec différenciation minimale	Blastes > 90 %	Myéloblastes sans granulations, pas de corps d'Auer
M1 20 % des LAM	LAM sans maturation	Blastes > 90 %	Myéloblastes avec granulations, présence de corps d'Auer
M2 30 % des LAM	LAM avec maturation	Blastes > 30 %	Myéloblastes, présence de corps d'Auer volumineux
M3 10 % des LAM	Leucémie promyélocytaire aiguë	Promyélocytes anormaux > 30 %	Blastes hypergranuleux, présence de corps d'Auer
M4 15 % des LAM	LA myélomonocytaire (LAM4Eo : excès d'éosinophiles dysplasiques dans la moelle osseuse)	Blastes > 30 %	Myéloblastes, présence de corps d'Auer volumineux
M5 15 % des LAM	LA monoblastique ou monocytaire (LAM5a : présence de monoblastes → peu différenciée ; LAM5b : présence de monocytes → différenciée)	Cellules monocytaires > 80 %	
M6 5 % des LAM	LA érythroblastique ou érythroïde ou érythroleucémie	Myéloblastes > 30 %, Erythroblastes > 50 %	
M7 2 % des LAM	LA mégacaryocytaire ou mégacaryoblastique	Blastes > 20 % dont au moins la moitié sont des mégacaryoblastes	

*Tableau 5 : Classification FAB des LAM (6, 23)*

Contrairement à la classification de l'OMS, cette classification ne tient pas compte des anomalies chromosomiques.

Cette classification ne reflète pas la sévérité de la maladie.

Le traitement est essentiellement similaire pour tous les sous types avec l'ajout de l'acide transrétinoïque pour le sous type LAM3. (23)

En 2001, une nouvelle classification réalisée par l'OMS voit le jour. Elle a ensuite été révisée en 2008 et en 2016. Cette classification prend en compte plus de critères, avec notamment les anomalies chromosomiques, l'immunophénotypage et la présentation clinique. Elle permet de définir six nouvelles entités : LAM avec anomalies cytogénétiques récurrentes, LAM avec anomalies associées aux myélodysplasies, LAM secondaires aux chimiothérapies, LAM non spécifiquement définies, Sarcome myéloïde, Proliférations myéloïdes associées au syndrome de Down. (Tableau 6) (24)

<b>Acute myeloid leukemia (AML) and related neoplasms</b>
AML with recurrent genetic abnormalities
AML with t(8;21)(q22;q22.1); <i>RUNX1-RUNX1T1</i>
AML with inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i>
APL with <i>PML-RARA</i>
AML with t(9;11)(p21.3;q23.3); <i>MLLT3-KMT2A</i>
AML with t(6;9)(p23;q34.1); <i>DEK-NUP214</i>
AML with inv(3)(q21.3q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2); <i>GATA2, MECOM</i>
AML (megakaryoblastic) with t(1;22)(p13.3;q13.3); <i>RBM15-MKL1</i>
Provisional entity: AML with <i>BCR-ABL1</i>
AML with mutated <i>NPM1</i>
AML with biallelic mutations of <i>CEBPA</i>
Provisional entity: AML with mutated <i>RUNX1</i>
AML with myelodysplasia-related changes
Therapy-related myeloid neoplasms
AML, NOS
AML with minimal differentiation
AML without maturation
AML with maturation
Acute myelomonocytic leukemia
Acute monoblastic/monocytic leukemia
Pure erythroid leukemia
Acute megakaryoblastic leukemia
Acute basophilic leukemia
Acute panmyelosis with myelofibrosis
Myeloid sarcoma
Myeloid proliferations related to Down syndrome
Transient abnormal myelopoiesis (TAM)
Myeloid leukemia associated with Down syndrome

Tableau 6 : Classification OMS des LAM (24)



D'après la classification OMS, le taux minimal de blastes dans la moelle osseuse doit être de 20 % pour poser le diagnostic de leucémie aiguë. (24)

Une fois ce taux atteint, il est nécessaire de démontrer leur origine myéloïde. L'expression d'antigènes CD13 ou CD33 à la surface d'au moins 20 % des blastes permet de confirmer une origine myéloïde. Si plus de 80 % de la moelle osseuse sont constitués de monocytes, il s'agit d'une leucémie aiguë monocyttaire. Si plus de 50 % de la moelle sont composés d'érythroblastes et si les myéloblastes représentent plus de 30 % de la population non érythrocytaire, le diagnostic de leucémie aiguë érythroblastique ou érythroïde est fait. (3)

Les anomalies chromosomiques les plus fréquemment rencontrées dans les LAM sont rassemblées dans le tableau suivant. (Tableau 7) Il est possible de faire la correspondance entre les classifications FAB et OMS pour définir une LAM.

	Genes	Morphological association	Incidence*
<b>Translocations/inversions</b>			
t(8;21)(q22;q22)	RUNX1;RUNX1T1	M2 with Auer rods	6%
inv(16)(p13q22) or t(16;16)(p13;q22)	CBFB;MYH11	M4Eo	7%
t(15;17)(q22;q11-21)	PML;RARA	M3/M3v	7%
t(9;11)(p22;q23)	MLL;AF9	M5	2%
t(6;11)(q27;q23)	MLL;AF6	M4 and M5	~1%
inv(3)(q21q26) or t(3;3)(q21;q26)	EVI1;RPN1	M1, M4, M6, M7?	~1%
t(6;9)(p23;q34)	DEK;NUP214	M2, M4	~1%
<b>Chromosomal imbalances</b>			
+8	..	M2, M4 and M5	9%
-7/7q-	..	No FAB preference	7%
-5/5q-	..	No FAB preference	7%
-17/17p-	TP53	No FAB preference	5%
-20/20q-	..	No FAB preference	3%
9q-	..	No FAB preference	3%
+22	..	M4, M4Eo	3%
+21	..	No FAB preference	2%
+13	..	M0, M1	2%
+11	MLL1†	M1, M2	2%
Complex karyotype‡			10%
Normal karyotype			44%

**Tableau 7 : Anomalies chromosomiques fréquentes dans les LAM (3)**

## **1.5) Diagnostic :**

### **1.5.1) Clinique : insuffisance médullaire, infiltration tumorale**

La LAM est liée à la multiplication anarchique de blastes anormaux dans la moelle osseuse. Cette dernière étant envahie, la conséquence est un défaut de production des cellules sanguines normales, appelé insuffisance médullaire. (1)

Les répercussions cliniques sont : une anémie, du fait de la diminution des globules rouges et de l'hémoglobine, se manifestant par une asthénie ; une pâleur cutanéomuqueuse, des malaises et une dyspnée lors des activités quotidiennes. De plus, les personnes souffrant de LAM sont plus sensibles aux infections à répétition, le plus souvent avec fièvre, du fait de la diminution des globules blancs et plus particulièrement des polynucléaires neutrophiles : il s'agit alors de neutropénies. Enfin, le nombre de plaquettes diminue, appelé thrombopénie, ce qui expose les patients à un plus grand risque de saignement et dans les cas les plus graves, d'hémorragies. Les saignements les plus fréquemment rencontrés sont des saignements au niveau des muqueuses, de type épistaxis ou gingivorragies et au niveau de la peau, comme les ecchymoses, au moindre choc voire même sans traumatisme particulier. La symptomatologie liée aux syndromes anémique, infectieux et hémorragique est plus ou moins marquée selon les patients. L'atteinte de la production de cellules sanguines normales peut prédominer sur une des trois lignées. Ces symptômes sont la conséquence d'un arrêt de fonctionnement de la moelle osseuse. (1, 25)

Une altération de l'état général est observée dans de nombreux cas et se caractérise par une asthénie, une perte d'appétit, et une perte de poids.

Les symptômes de la LAM se développent rapidement en quelques jours ou quelques semaines, et nécessitent une prise en charge urgente. (1, 6)

Cependant, il est possible que les blastes s'accumulent dans les organes et soient à l'origine d'un syndrome ou infiltration tumorale. Cela se manifeste par des douleurs osseuses, une adénopathie, une splénomégalie, une hépatomégalie... La splénomégalie est retrouvée dans 15 à 20 % des cas et peut orienter le diagnostic vers une leucémie aiguë myéloïde de type monocyttaire. L'hyperplasie gingivale et les localisations cutanées

sont plus fréquentes pour les LAM de type monocytaire. Dans un faible nombre de cas, une atteinte des méninges peut être mise en évidence, du fait du passage des blastes anormaux dans le liquide céphalo-rachidien. (6)

### **1.5.2) Biologique : hémogramme, myélogramme, étude cytochimique, biologie moléculaire, immunophénotypage, cytogénétique**

Le diagnostic de LAM est fait lorsque plus de 20 % des cellules de la moelle osseuse sont des blastes myéloïdes. Le diagnostic peut également être posé en présence d'anomalies cytogénétiques récurrentes de type translocations chromosomiques entre les chromosomes 8 et 21 t(8;21), 15 et 17 t(15;17), ou bien une inversion sur le chromosome 16 (inv(16)) quel que soit le pourcentage de blastes dans la moelle osseuse. Le diagnostic peut être fait selon les mêmes critères sur du sang périphérique. (25)

Les myéloblastes, les monoblastes et les mégacaryoblastes sont comptés comme des blastes à l'inverse des érythroblastes, non considérés comme des blastes à l'exception des cas de leucémie érythroïde pure. (26)

Différents examens médicaux permettent de réaliser le diagnostic (Tableau 8), l'ensemble de ces examens sera détaillé dans cette partie.

Test/procedure	General practice	Clinical trial
<b>Tests to establish the diagnosis</b>		
Complete blood counts and differential count	Yes	Yes
Bone marrow aspirate	Yes	Yes
Bone marrow trephine biopsy	Optional <sup>f</sup>	Optional <sup>f</sup>
Immunophenotyping	Yes	Yes
Cytogenetics	Yes	Yes
<i>RUNX1-RUNX1T1, CBFB-MYH11, PML-RARA</i> , or other gene fusion screening	Optional <sup>g</sup>	Optional <sup>g</sup>
<b>Additional tests/procedures at diagnosis</b>		
Demographics and medical history <sup>a</sup>	Yes	Yes
Performance status (ECOG/WHO score)	Yes	Yes
Analysis of comorbidities	Yes	Yes
Biochemistry, coagulation tests, urine analysis <sup>b</sup>	Yes	Yes
Serum pregnancy test <sup>c</sup>	Yes	Yes
Information on oocyte and sperm cryopreservation	Optional <sup>h</sup>	Optional <sup>h</sup>
Eligibility assessment for allogeneic HSCT	Yes <sup>i</sup>	Yes <sup>i</sup>
Hepatitis A, B, C; HIV-1 testing	Yes	Yes
Chest x-ray, 12-lead ECG; echocardiography (on indication)	Yes	Yes
Lumbar puncture <sup>d</sup>	No	No
Biobanking <sup>e</sup>	Optional <sup>l</sup>	Yes
<b>Prognostic/predictive marker assessment</b>		
<i>NPM1, CEBPA, FLT3</i> gene mutation	Optional <sup>k</sup>	Yes
<i>WT1, RUNX1, MLL, KIT, RAS, TP53, TET2, IDH1</i> gene mutation	No	Investigational
<i>ERG, MN1, EVI1, BAALC</i> gene expression	No	Investigational
Detection of minimal residual disease	No	Investigational

<sup>a</sup>Including race or ethnicity, family history, prior exposure to toxic agents, prior malignancy, therapy for prior malignancy, information on smoking.

<sup>b</sup>Biochemistry: glucose, sodium, potassium, calcium, creatinine, aspartate amino transferase (AST), alanine amino transferase (ALT), alkaline phosphatase, lactate dehydrogenase, bilirubin, urea, total protein, uric acid, total cholesterol, total triglycerides, creatinine phosphokinase (CPK). *Coagulation tests*: prothrombin time (PTT), international normalized ratio (INR) where indicated, activated partial thromboplastin time (aPTT). *Urine analysis*: pH, glucose, erythrocytes, leukocytes, protein, nitrite.

<sup>c</sup>In women with childbearing potential.

<sup>d</sup>Required in patients with clinical symptoms suspicious of central nervous system involvement; patient should be evaluated by imaging study for intracranial bleeding, leptomeningeal disease, and mass lesion; lumbar puncture considered optional in other settings (eg, high WBC).

<sup>e</sup>Pretreatment leukemic bone marrow and blood sample; for further optional storing see section 4.7.

<sup>f</sup>Mandatory in patients with a dry tap (punctio sicca).

<sup>g</sup>Should be performed if chromosome morphology is of poor quality, or if there is typical morphology but the suspected cytogenetic abnormality is not present.

<sup>h</sup>Cryopreservation to be done in accordance with the wish of the patient.

<sup>i</sup>HLA typing and CMV testing should be performed in those patients eligible for allogeneic stem cell transplantation.

<sup>j</sup>Biobanking should also be performed in general practice if at all possible.

<sup>k</sup>Strongly encouraged in AML with normal karyotype.

**Tableau 8 : Examens réalisés pour le diagnostic d'une LAM (26)**

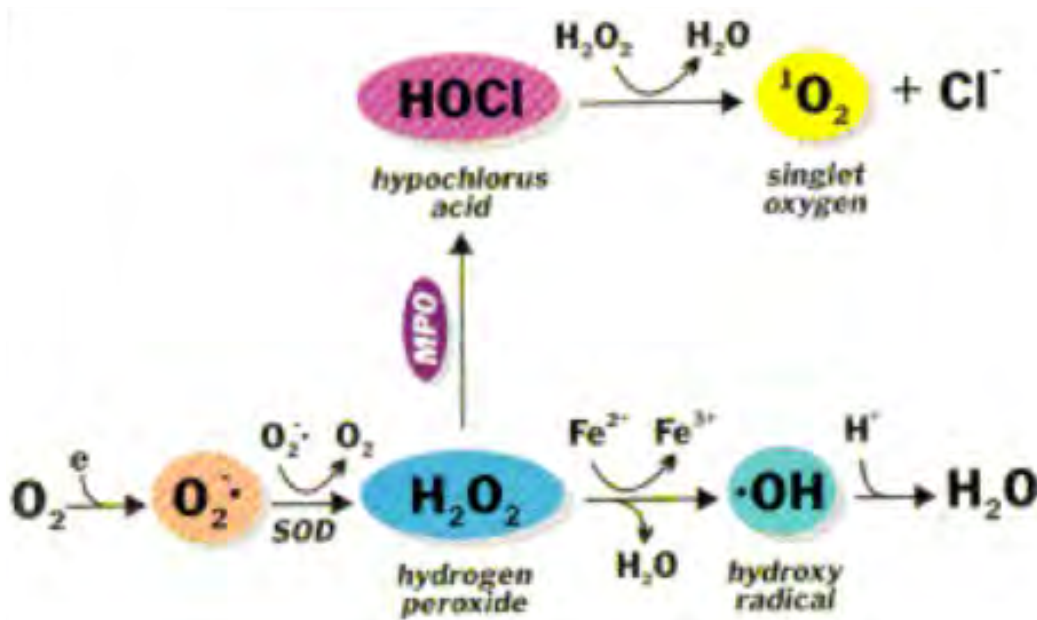
Tout d'abord, l'hémogramme ou numération formule sanguine (NFS) permet une analyse quantitative et qualitative des éléments figurés du sang : hématies, leucocytes et thrombocytes. Le plus souvent, il est mis en évidence une anémie due à une diminution de l'hémoglobine, une leucopénie et une thrombopénie. La diminution des trois lignées sanguines est également appelée pancytopénie. Il est parfois observé une hyperleucocytose en raison de la présence de cellules leucémiques dans le sang.

Le myélogramme est un examen de la moelle osseuse, réalisé sous anesthésie locale. Cet examen consiste à prélever de la moelle osseuse dans un os tel que le sternum ou l'os iliaque afin d'analyser les cellules anormales. (1) Le myélogramme permet de mettre

en évidence une moelle osseuse anormalement riche en cellules immatures ou blastes, plus de 20 % dans les cas de LAM contre moins de 5 % en temps normal. Un examen plus approfondi de ces cellules détermine le type de leucémie en fonction de la lignée d'origine des blastes. (25)

Les études cytochimiques consistent à utiliser un colorant pour identifier une enzyme, les structures tissulaires spécifiques d'une lignée ou un stade de différenciation. (6)

La détection de myéloperoxydase dans plus de 3 % des blastes indique une origine myéloïde de ces cellules. Cependant, l'absence d'expression de la myéloperoxydase n'exclut pas une origine myéloïde, car les myéloblastes et les monoblastes précoces peuvent manquer de myéloperoxydase. (26) Cette enzyme permet donc de distinguer les blastes d'origine myéloïde des blastes d'origine lymphoïde. En effet, la myéloperoxydase est une oxydoréductase lysosomique présente dans les cellules de la lignée myéloïde, qui métabolise la plus grande partie du peroxyde d'hydrogène produit par les phagocytes en acide hypochloreux HOCl, un puissant oxydant. (Figure 11) L'acide hypochloreux est l'oxydant le plus bactéricide produit par les polynucléaires neutrophiles. La myéloperoxydase caractérise les cellules myéloïdes granulocytaires et à un moindre degré les cellules monocytaires. (27)



*Figure 11 : Réaction d'oxydoréduction par la myéloperoxydase (MPO : Myéloperoxydase)*

La coloration ainsi obtenue peut être observée au microscope et aide à déterminer le type de cellules présentes. La cristallisation de granules riches en myéloperoxydase induit la formation de bâtonnets d'Auer, qui sont pathognomoniques de la LAM. (28)

Sur les prélèvements sanguin et médullaire, il est important de réaliser une analyse moléculaire afin de détecter les différentes mutations des cellules leucémiques. Cela apporte des informations sur le pronostic et permet d'adapter le traitement. Cette analyse de biologie moléculaire est réalisée sur l'ARN extrait des cellules leucémiques viables grâce à la technique de réaction en chaîne à la polymérase avec la reverse transcriptase (RT-PCR). Cette technique permet ainsi de mettre en évidence les mutations sur les gènes suivants : NPM1, FLT3, CEBPA, MLL, RAS, WT1, RUNX1, TET2, IDH1/2...

La fréquence de ces mutations varie en fonction des groupes cytogénétiques.

Les LAM avec mutations NPM1 et CEPBA ont été intégrées dans la classification de l'OMS (Tableau 6). La recherche des mutations NPM1, CEPBA et FLT3 est fortement recommandée en pratique courante lorsqu'un patient est atteint d'une LAM avec un caryotype normal, alors qu'elle est faite systématiquement lors des essais cliniques. (Tableau 8)

- Le récepteur FLT3 est un récepteur tyrosine kinase de classe 3. Avec son ligand, ils jouent un rôle important dans la prolifération et la différenciation des cellules progénitrices hématopoïétiques précoces. Les mutations de FLT3 sont les plus fréquentes dans les LAM et peuvent être retrouvées à deux endroits bien distincts : au niveau du domaine juxta-membranaire (JM) ou au niveau du domaine tyrosine kinase (TKD). Ce sont les duplications dites en tandem interne (ITD) qui sont retrouvées au niveau du domaine juxta-membranaire. Ces duplications ont été identifiées chez 20 % des patients atteints de LAM et 28 à 34 % des patients atteints de LAM avec un caryotype normal. Une mutation somatique de FLT3 conduit à une activation constitutive de ce gène. Le gène FLT3 et ses mutations seront traités de manière approfondie dans une seconde partie. D'un point de vue clinique, les mutations du gène FLT3 sont pertinentes en raison de leur impact pronostique et constituent une cible thérapeutique.

- Le gène NPM1 appartient à la famille nucléophosmine/nucléoplasmine et code pour une protéine, la nucléophosmine ou NPM1. Cette phosphoprotéine est exprimée de façon ubiquitaire dans l'organisme et principalement dans le nucléole des cellules. Cependant, elle peut être exportée vers le cytoplasme pour effectuer certaines fonctions, mais en conditions physiologiques l'importation nucléaire est plus fréquente que l'exportation. La protéine NPM1 a différentes fonctions, dont le maintien de la stabilité de gènes suppresseurs de tumeurs et la régulation du cycle cellulaire et de l'apoptose. (38) Les mutations de NPM1 sont présentes dans environ 30 % des LAM de l'adulte et dans environ 50 % des LAM à caryotype normal. Elles sont principalement localisées au niveau de l'exon 12 du gène. Ces mutations conduisent à l'accumulation cytoplasmique anormale de mutants NPM1. Cette délocalisation de la protéine NPM1 perturberait la stabilité génomique et contribuerait au développement de la LAM.
- La protéine « CCAAT/enhancer-binding protein alpha » est codée par le gène CEPBA dans le génome humain. Cette protéine est un facteur de transcription impliquée dans la différenciation des progéniteurs myéloïdes multipotents en polynucléaires neutrophiles matures. Deux principaux types de mutations du gène CEPBA ont été identifiées dans les LAM : des mutations non-sens affectant la région N-terminale du gène empêchant l'expression de la protéine « CCAAT/enhancer-binding protein alpha » et des mutations dans la région C-terminale du gène produisant des protéines avec une activité de dimérisation ou de liaison à l'ADN diminuée. Les mutations dans les régions N-terminale et C-terminale sont souvent présentes de manière simultanée. (38, 43) Les mutations du gène CEPBA sont retrouvées dans 7 à 15 % des LAM et 15 à 20 % des LAM à caryotype normal. (43)
- Le gène Mixed-Lineage Leukemia (MLL) également appelé KMT2A code une protéine, l'histone méthyl-transférase, qui permet la régulation positive de gènes. Cette protéine à activité méthyl-transférase coordonne les modifications de la chromatine. Les mutations du gène MLL sont retrouvées dans 5 à 11 % des LAM de caryotype normal.
- Les gènes RAS codent des protéines de la voie de signalisation RAS GTPase. Ces protéines régulent la transduction du signal en se fixant aux récepteurs membranaires et jouent un rôle important dans la prolifération, la différenciation et l'apoptose. Les mutations de N-RAS sont présentes dans environ 9 % des LAM.

Tandis que les mutations K-RAS sont moins fréquentes et représentent 5 % des LAM.

- Le gène WT1 est un gène suppresseur de tumeur, qui joue un rôle important dans la quiescence des cellules progénitrices hématopoïétiques et dans la différenciation des cellules myélomonocytaires. Les mutations du gène WT1 dans les LAM ont été mises en évidence en 1998 pour la première fois. La fréquence des mutations du gène WT1 est entre 1 et 5 %.
- Le gène DNMT3A code une enzyme de la famille des méthyl-transférases. Cette enzyme est responsable de la méthylation de l'ADN. La présence de mutations sur le gène codant l'enzyme DNA méthyltransferase 3A (DNMT3A) est observée dans 20 % des LAM et environ 35 % des LAM à caryotype normal. La mutation la plus fréquemment retrouvée se situe sur le codon 882 et est donc à l'origine d'une anomalie de la méthylation de l'ADN.
- Les protéines codées par les gènes IDH 1 et IDH 2 transforment l'isocitrate en  $\alpha$ -cétoglutarate. (Figure 11) Une mutation sur les gènes IDH 1 et IDH 2 diminue la production d' $\alpha$ -cétoglutarate et augmente celle de 2-Hydroxyglutarate (2-HG). Cela conduit à une inhibition de l'enzyme TET2 et à l'arrêt de la maturation des myéloblastes. Ces mutations sur les gènes IDH 1 et IDH2 sont présentes dans 15 à 20 % des LAM et 25 à 30 % des LAM à caryotype normal.

L'immunophénotypage est une technique de biologie médicale qui permet de déterminer les protéines exprimées par les cellules grâce à l'utilisation d'anticorps spécifiques.

Dans le cas des LAM, il est question d'identifier les antigènes à la surface des cellules blastiques pour déterminer le sous-type de LAM.

Les anticorps monoclonaux utilisés sont marqués d'une substance fluorescente et viennent se fixer à la surface des cellules leucémiques porteurs de l'antigène correspondant. Il s'agit alors d'une réaction antigène-anticorps.

Deux techniques d'immunophénotypage sont majoritairement utilisées pour préciser le diagnostic des leucémies : l'immunohistochimie et la cytométrie en flux.

L'immunohistochimie est une méthode de localisation des protéines dans les cellules d'un tissu, par la détection d'antigènes au moyen d'anticorps. Les anticorps se lient spécifiquement à des antigènes dans les tissus biologiques. Le marquage des cellules est ensuite visualisé au microscope.



La cytométrie en flux est une technique qui permet de trier et de classer les cellules à l'aide de marqueurs fluorescents présents à leur surface. Les cellules sont ensuite exposées à un laser qui leur fait émettre une lumière. Les images sont recueillies et analysées par un ordinateur pour aider à déterminer le type de leucémie. Selon le type de protéines présentes à la surface des cellules, il est possible de déterminer la lignée cellulaire à l'origine des blastes. (Tableau 9) (25,28) Il n'y a pas de consensus sur la valeur des marqueurs à atteindre, pour poser le diagnostic de LAM. Cependant, pour la plupart des marqueurs, la valeur seuil couramment utilisée est 20 % de cellules leucémiques exprimant le marqueur en question. Par contre, pour certains marqueurs comme CD3, MPO, CD34, CD117, la valeur seuil choisie est de 10 %. (26)

Expression of markers for diagnoses	
<b>Diagnosis of acute myeloid leukemia (AML)*</b>	
Precursor stage	CD34, CD38, CD117, CD133, HLA-DR
Granulocytic markers	CD13, CD15, CD16, CD33, CD65, cytoplasmic myeloperoxidase (cMPO)
Monocytic markers	Nonspecific esterase (NSE), CD11c, CD14, CD64, lysozyme, CD4, CD11b, CD36, NG2 homologue†
Megakaryocytic markers	CD41 (glycoprotein IIb/IIIa), CD61 (glycoprotein IIIa), CD42 (glycoprotein 1b)
Erythroid marker	CD235a (glycophorin A)
<b>Diagnosis of mixed phenotype acute leukemia (MPAL)†</b>	
Myeloid lineage	MPO or evidence of monocytic differentiation (at least 2 of the following: NSE, CD11c, CD14, CD64, lysozyme)
B-lineage	CD19 (strong) with at least one of the following: CD79a, cCD22, CD10, or CD19 (weak) with at least 2 of the following: CD79a, cCD22, CD10
T-lineage	cCD3, or surface CD3

*Tableau 9 : Expression des marqueurs cellulaires et cytoplasmiques dans le diagnostic des LAM et des leucémies aiguës de phénotype mixte (26)*

La technique d'immunophénotypage est indispensable pour établir le diagnostic de LAM avec différenciation minimale. Ce type de leucémie est inclus dans le groupe des LAM non spécifiquement définies de la classification de l'OMS. Une LAM avec différenciation minimale est une LAM sans critère morphologique et cytochimique évident de différenciation myéloïde. Dans la majorité des cas, ces leucémies sont caractérisées par l'expression d'antigènes associés à l'hématopoïèse précoce, par exemple CD34 et CD38, avec un défaut d'expression des marqueurs myéloïdes et de différenciation monocyttaire. L'expression de la myéloperoxydase est négative par cytochimie, tandis que la détection d'antigènes intracytoplasmiques de myéloperoxydase peut être positive par cytométrie en flux dans une faible proportion de blastes.

Les leucémies aiguës mégacaryoblastiques sont caractérisées par la présence de 20 % ou plus, de blastes dont 50 % sont issus de la lignée mégacaryocytaire. Les mégacaryoblastes expriment généralement des glycoprotéines de type CD41, CD61 et moins largement CD42. (Tableau 9)

Les leucémie aiguës de lignée ambiguë correspondent aux cas de leucémies aiguës sans preuve de différenciation de la lignée, également appelées leucémies aiguës indifférenciées (AUL), mais également aux leucémies où les blastes expriment les marqueurs de différentes lignées, appelées leucémies aiguës de phénotype mixte (MPAL). Ces types de leucémies sont rares.

Les LAM avec anomalies génétiques récurrentes de la classification OMS sont associées à certaines caractéristiques immunophénotypiques.

Par exemple, les LAM avec translocation entre le chromosome 8 et 21 expriment très souvent le marqueur lymphoïde CD19 et dans une moindre mesure, CD7. Les LAM avec inversion sur le chromosome 16 sont fréquemment caractérisées par l'expression du marqueur CD2 et les LAM avec une mutation sur le gène NPM1 expriment fortement le marqueur CD33 avec une absence ou une faible expression de CD34.

La cytogénétique est l'étude des phénomènes génétiques au niveau de la cellule et plus précisément au niveau des chromosomes avec analyse de leurs nombres, de leurs tailles, de leurs formes et de leurs dispositions. Le but étant de mettre en évidence d'éventuelles anomalies chromosomiques. Ces dernières peuvent être révélées par différentes techniques : analyse du caryotype cytogénétique, hybridation in situ par fluorescence (FISH).

La FISH est une technique de biologie moléculaire d'hybridation in situ utilisant des sondes marquées à l'aide d'un marqueur fluorescent et utilisées sur des coupes en microscopie et en imagerie moléculaire. Cette technique met en évidence des anomalies chromosomiques, car elle permet de voir des éléments situés à l'intérieur même de la cellule. (28)

50 à 60 % des patients atteints de LAM présentent des chromosomes anormaux, que ce soit en terme de nombre ou de structure. Ces anomalies chromosomiques ont pour conséquence des mutations génétiques, comme le montre le tableau 10. Cependant, les

patients souffrant de LAM avec un caryotype normal, peuvent tout de même avoir des mutations génétiques. (3)

	Molecular genetic defect	Prevalence
t(8;21)	KIT exon 8 mutation	2%
	KIT codon 816 mutation	11%
	FLT3 ITD or D835 mutation	6–11%
inv(16)/t(16;16)*	KIT exon 8 mutation	24–26%
	KIT codon 816 mutation	7–8%
	FLT3 ITD or D835 mutation	8%
	NRAS mutation	18–26%
	KRAS mutation	9–17%
Normal karyotype	FLT3 ITD	28–34%
	FLT3 TKD mutation	11–14%
	NPM1 mutation	48–64%
	CEBPA mutation	15–18%
	MLL1 PTD	8–11%
	NRAS mutation	14%
	KRAS mutation	4%
gene overexpression	..	..
t(6;9)	FLT3 ITD	90%†
+11	MLL PTD	91%†
+21	RUNX1 mutation	38%†
del(9q)	CEBPA mutation	41%

*Tableau 10 : Associations entre anomalies chromosomiques et mutations génétiques (3)*

Au minimum, 20 cellules issues de la moelle osseuse doivent être en métaphase pour établir le diagnostic d'un caryotype normal. Ce seuil est également recommandé pour déterminer un caryotype anormal.

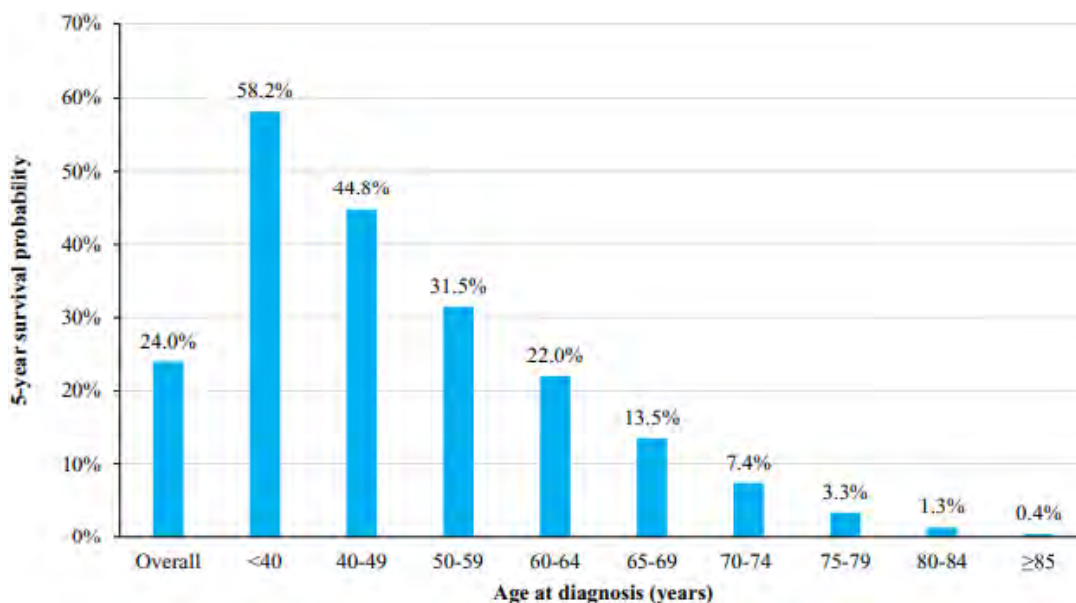
## 1.6) Pronostic, traitements et survie des leucémies aiguës myéloïdes

### 1.6.1) Pronostic des leucémies aiguës myéloïdes

Le pronostic des LAM varie en fonction de plusieurs paramètres. En effet, il faut prendre en compte les facteurs pronostiques intrinsèques au patient et à sa condition physique et les facteurs pronostiques liés à la LAM elle-même. L'ensemble de ces facteurs pronostiques oriente l'équipe médicale dans le choix des traitements et dans la réalisation de l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques.

Les facteurs pronostiques liés au patient et à sa condition physique, permettent de prédire la mortalité liée au traitement. Celle-ci devient de plus en plus importante quand l'âge augmente. A l'inverse, les facteurs pronostiques liés à la maladie sont des éléments prédictifs de la résistance au traitement conventionnel de la LAM. (26)

Parmi les facteurs pronostiques liés au patient, l'âge de diagnostic occupe une place primordiale. Le diagnostic de LAM à un âge avancé est un facteur de mauvais pronostic. Les patients diagnostiqués avant l'âge de 40 ans ont une survie globale à 5 ans estimée à 58,2 %, avec une diminution de 10 % tous les dix ans. Tandis que les patients diagnostiqués après l'âge de 85 ans ont une survie globale à 5 ans estimée à 0,4 %. (29) Cette survie globale à 5 ans mesurée chez les patients de moins de 40 ans est cinq fois plus élevée que celle mise en évidence pour les patients diagnostiqués à 65 ans et plus. (Figure 12)

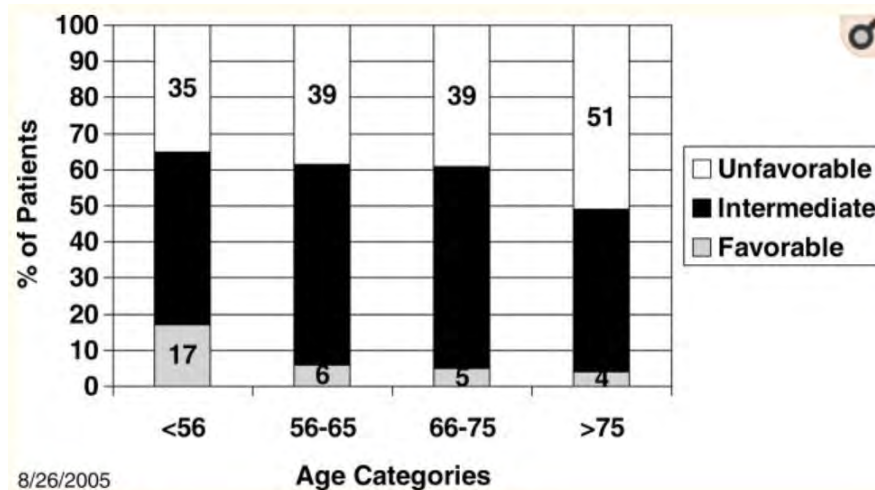


*Figure 12 : Survie globale à 5 ans des patients atteints de LAM selon l'âge du diagnostic aux États-Unis entre 2000 et 2016 (5)*

*Appelbaum et al* ont mené une analyse rétrospective portant sur 968 patients atteints de LAM afin d'en savoir plus sur les différentes caractéristiques de cette pathologie chez le sujet jeune et chez le sujet âgé. Les patients les plus âgés de l'étude présentaient un

score de performance plus faible, des globules blancs moins nombreux et un pourcentage de blastes dans la moelle osseuse plus faible.

Le pourcentage de patients présentant une cytogénétique favorable est passé de 17 % chez les moins de 56 ans à 4 % chez les plus de 75 ans. En revanche, la proportion de patients présentant une cytogénétique défavorable est passée de 35 % chez les moins de 56 ans à 51 % chez les patients de plus de 75 ans. (Figure 13)



*Figure 13 : Pourcentage de patients en fonction du risque cytogénétique de la LAM et par catégories d'âge (30)*

Les anomalies chromosomiques sur les chromosomes 5, 7 et 17 sont beaucoup plus fréquentes chez les personnes âgées. L'incidence accrue des caractéristiques cytogénétiques défavorables chez le sujet âgé conduit à un pronostic plus sombre.

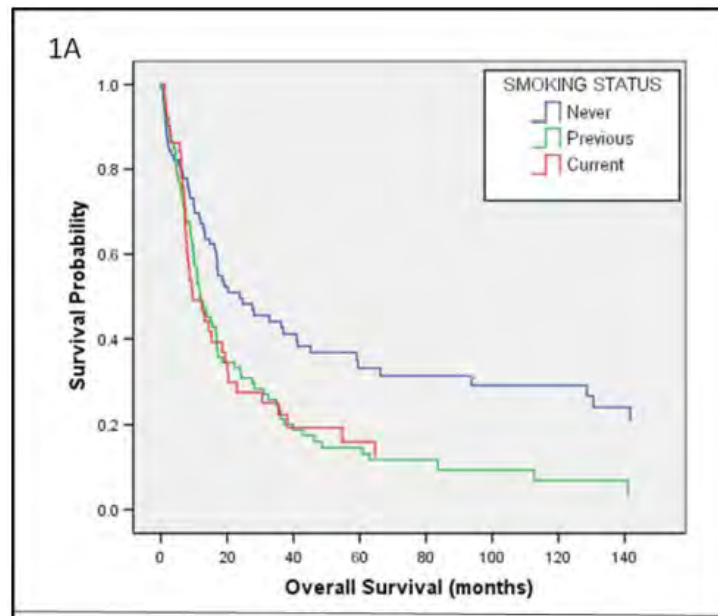
La probabilité de décès dans les 30 premiers jours suivant le début du traitement d'induction en fonction de l'âge et du score de performance, est présentée dans le tableau suivant. Chez les patients présentant un score de performance élevé (score de performance égal à 0), l'âge a eu un effet modeste. A l'inverse, pour les patients ayant un score de performance égal à 2 ou 3, l'âge a eu un effet spectaculaire. En effet, 82% des patients âgés de plus de 75 ans ayant un score de performance de 3 sont décédés dans les 30 jours suivant le début du traitement d'induction. (Tableau 11) (30)

	Younger than 56 y	56-65 y	66-75 y	Older than 75 y
No. patients	364	242	270	79
<b>Early deaths* by performance status, no./no. total patients (%)</b>				
0	3/129 (2)	8/72 (11)	9/73 (12)	2/14 (14)
1	6/180 (3)	6/112 (5)	20/126 (16)	7/40 (18)
2	1/46 (2)	6/34 (18)	16/52 (31)	7/14 (50)
3	0/9 (0)	7/24	9/19 (47)	9/11 (82) (29)

***Tableau 11 : Mortalité dans les 30 jours suivant le début du traitement d'induction (30)***

Néanmoins, l'âge civil ne doit pas être une raison pour ne pas mettre en place un traitement curatif à un patient plus âgé. En effet, l'âge n'est pas le facteur pronostique le plus important pour prédire la mortalité liée au traitement ou la résistance au traitement curatif. (31)

Le mode de vie et les facteurs sociogéographiques sont également des facteurs pronostiques intrinsèques au patient, qui jouent un rôle dans sa survie. Un usage ancien de tabac ou un tabagisme actif confère une survie inférieure à celle d'un patient non fumeur. (Figure 14) (32, 33)



*Figure 14 : Survie globale des patients atteints de LAM selon leur statut tabagique (33)*

Les données sur le rôle pronostique de la situation socio-économique des patients atteints de LAM sont incohérentes. Cependant, il ressort que les patients dont le revenu du ménage est faible ou qui résident dans une région où le niveau de pauvreté est le plus élevé, ont tendance à avoir une moins bonne survie que les patients ayant un milieu socio-économique plus favorable. (34)

Il semblerait que l'origine des personnes atteintes de LAM jouent un rôle dans le pronostic. En effet, le taux de survie à 5 ans des patients atteints de LAM tout âge confondu, est le plus élevé pour les autochtones d'Alaska et les insulaires du Pacifique, avec un taux de survie de 16,7 %. Cette tendance est similaire pour les personnes d'origine caucasienne avec un taux de survie à 5 ans de 16,4 %. En revanche, ce taux est diminué chez les patients africains et américains et est égal à 12,1 %. (35)

Les facteurs pronostiques liés à la LAM elle-même comprennent la numération de formule sanguine (NFS), l'existence d'un syndrome myélodysplasique antérieur et les anomalies

cytogénétiques et moléculaires des cellules leucémiques au moment du diagnostic. La réalisation d'un traitement antérieur par chimiothérapie cytotoxique constitue également un facteur pronostique et permet de définir une LAM secondaire. D'autres facteurs comme la splénomégalie ou un taux sérique de lactate déshydrogénase (LDH) élevé ont une valeur pronostique variable selon les études.

Le caryotype permet de réaliser l'analyse cytogénétique des cellules leucémiques et constitue le facteur pronostique le plus fort pour la réponse au traitement d'induction et pour la survie. Les patients adultes jeunes sont généralement classés en 3 groupes de risque : favorable, intermédiaire ou défavorable. (Tableau 12) (37)

Genetic Group	Subsets
Favorable	t(8;21)(q22;q22); <i>RUNX1-RUNX1T1</i> inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i> Mutated <i>NPM1</i> without <i>FLT3-ITD</i> (normal karyotype) Mutated <i>CEBPA</i> (normal karyotype)
Intermediate-I	Mutated <i>NPM1</i> and <i>FLT3-ITD</i> (normal karyotype) Wild-type <i>NPM1</i> and <i>FLT3-ITD</i> (normal karyotype) Wild-type <i>NPM1</i> without <i>FLT3-ITD</i> (normal karyotype)
Intermediate-II	t(9;11)(p22;q23); <i>MLL3-MLL</i> Cytogenetic abnormalities not classified as favorable or adverse
Adverse	inv(3)(q21q26.2) or t(3;3)(q21;q26.2); <i>RPN1-EVI1</i> t(6;9)(p23;q34); <i>DEK-NUP214</i> t(v;11)(v;q23); <i>MLL</i> rearranged -5 or del(5q) -7 abn(17p) Complex karyotype*

**Tableau 12 : Profil de risque des LAM en fonction des anomalies cytogénétiques et moléculaires (37)**

Les réarrangements chromosomiques de type translocation entre les chromosomes 8 et 21 [t(8;21)], inversion sur le chromosome 16 [inv(16)] et translocation entre les chromosomes 15 et 17 [t(15;17)] sont tous de pronostic favorable. La survie globale à 3 ans en présence de ces anomalies chromosomiques est de 66 % pour les patients de moins de 60 ans et de 33 % pour les patients de plus de 60 ans. (37)

Parmi les patients porteurs de la translocation entre les chromosomes 8 et 21, la présence de la mutation c-KIT augmente considérablement le risque de rechute et diminue la survie globale pour être finalement similaire à celle des leucémies aiguës myéloïdes de risque



intermédiaire. Le récepteur KIT est un récepteur à activité tyrosine kinase, jouant un rôle important dans l'hématopoïèse. Les mutations de ce récepteur représentent moins de 5 % des cas de LAM. La mutation du codon D816 au niveau du gène KIT est associée à une diminution de la survie des patients avec la translocation entre les chromosomes 8 et 21 (t(8;21)). A l'inverse, la survie des patients avec l'inversion sur le chromosome 16 (inv(16)) n'est pas impactée par cette mutation. (38)

Les LAM de pronostic intermédiaire sont essentiellement caractérisées par un caryotype normal. Les LAM à caryotype normal seront approfondies par la suite.

Le caryotype complexe est défini par la présence de 3 ou plus (dans certaines études  $\geq 5$ ) anomalies chromosomiques en l'absence des anomalies suivantes : translocation entre les chromosomes 8 et 21 [t(8;21)], inversion sur le chromosome 16 [inv(16)], translocation sur le même chromosome 16 [t(16;16)], et translocation entre les chromosomes 15 et 17 [t(15;17)]. Dans les caryotypes complexes, ce sont essentiellement des déséquilibres chromosomiques qui sont mis en évidence et très peu de réarrangements équilibrés.

En effet, les pertes génomiques ont été plus fréquentes que les gains. Par exemple, les pertes les plus fréquentes sont les chromosomes 5q (77 %), 17p (55 %) et 7q (45 %) et les gains génomiques les plus fréquents sont 11q (40 %) et 8q (38 %). Une leucémie aiguë myéloïde avec un caryotype complexe est de mauvais pronostic. (39)

Comme le montre la figure 13, il est observé une incidence croissante des anomalies cytogénétiques défavorables avec l'avancée en âge. Cela contribue en partie au diagnostic plus sombre des LAM chez le sujet âgé. (30)

L'analyse des mutations génétiques et la dérégulation de l'expression des gènes, permettent de déterminer de manière précise les caractéristiques cytogénétiques d'une LAM, plus particulièrement au sein du large groupe de LAM à caryotype normal.

Les LAM à caryotype normal sont caractérisées par différentes mutations génétiques dans les gènes suivants : le gène de la nucléophosmine 1 (NPM1), le gène FLT3, le gène CEPBA, le gène MLL et le gène NRAS. (Tableau 2, 13)

Gene	Biological/clinical features
<i>NPM1</i>	Protein with pleiotropic functions Associated with presenting clinical and laboratory features such as female sex, higher BM blast counts and LDH levels, as well as high CD33 but low or absent CD34 levels Found in 25% to 35% of AML; predominantly in CN-AML (45% to 62%) Associated with <i>FLT3</i> -ITD and TKD mutations <i>NPM1<sup>mut</sup>/FLT3-ITD<sup>neg</sup></i> genotype associated with a favorable prognosis Patients with <i>NPM1<sup>mut</sup>/FLT3-ITD<sup>neg</sup></i> genotype may not benefit from MRD allogeneic transplantation in first CR
<i>FLT3</i>	Member of the class III receptor tyrosine kinase family Constitutively active <i>FLT3</i> molecules are targets for molecular therapy
ITD	Found in 28% to 34% of CN-AML In-frame mutations, mostly in exons 14 and 15 of the JM domain Consistently associated with inferior outcome Level of mutant allele likely of importance Homozygous <i>FLT3</i> mutations as a result of mitotic recombination leading to partial UPD
TKD	TKD point mutations found in 11% to 14% of CN-AML More recently associated with better OS Level of mutant allele may be of importance: high-level mutants associated with improved OS
<i>CEBPA</i>	Transcription factor mediating lineage specification and differentiation of multipotent myeloid progenitors into mature neutrophils Found predominantly in CN-AML and AML with 9q deletion Associated with higher CR rate and better RFS and OS
<i>MLL</i>	PTD found in 5% to 11% of CN-AML Associated with shorter CR duration, or inferior RFS and EFS Autologous transplantation may improve outcome Rationale for the use of DNA methyltransferase and/or histone deacetylase inhibitors based on <i>in vitro</i> data
<i>RAS</i>	<i>NRAS</i> mutations found in ~9% of CN-AML No prognostic significance
<i>WT1</i>	Mutations found in ~10% of CN-AML Initial studies on small patient cohorts suggest association with induction failure

**Tableau 13 :** Mutations génétiques fréquentes dans les LAM à caryotype normal (38)

(BM : bone marrow; LDH : lactate dehydrogenase; CN : cytogenetically normal; ITD : internal tandem duplication; TKD : tyrosine kinase domain; MRD : matched related donor; CR : complete remission; JM : juxtamembrane domain; UPD : uniparental disomy; OS : overall survival; RFS : relapse-free survival; EFS : event-free survival; PTD : partial tandem duplication)

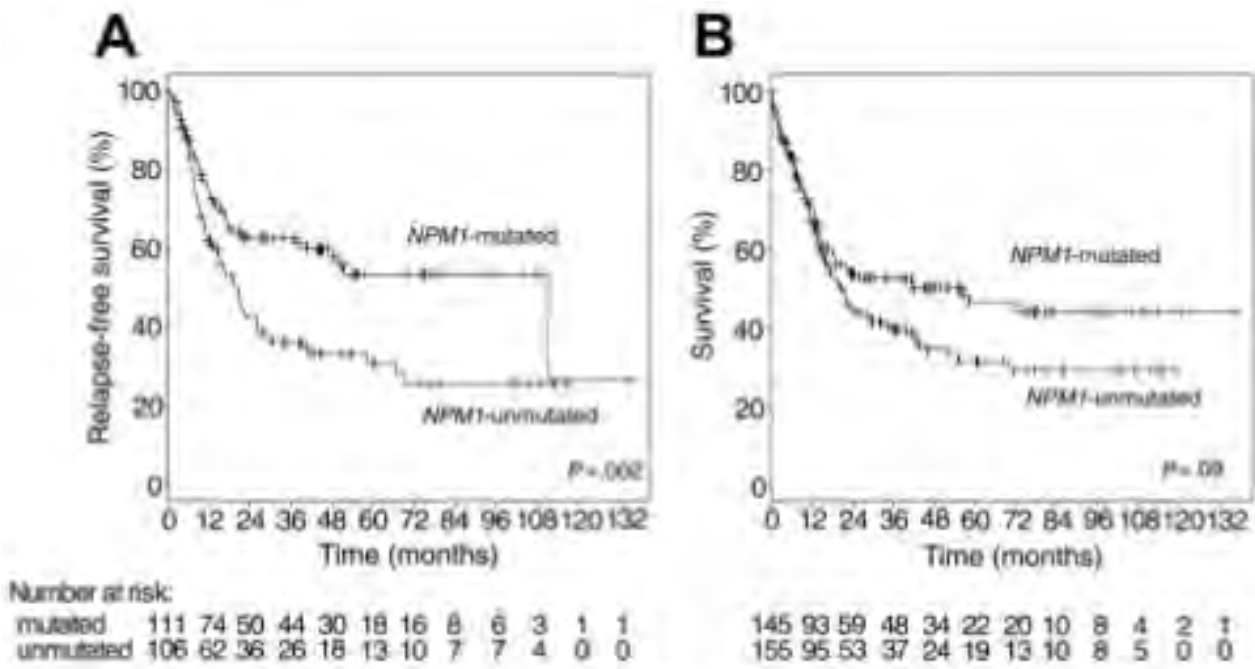
Le pronostic des LAM à caryotype normal a été observé pour les mutations dans les gènes NPM1, CEPBA et FLT3 chez des patients adultes jeunes.

Les mutations de FLT3 peuvent être retrouvées au niveau du domaine juxta-membranaire (JM) ou au niveau du domaine tyrosine kinase (TKD). Ce sont les duplications dites en tandem interne (ITD) qui sont retrouvées au niveau du domaine juxta-membranaire. Une mutation somatique de FLT3 conduit à une activation constitutive de ce gène.

De nombreuses études ont montré que les patients ayant une mutation de type « Internal Tandem Duplication » (ITD) au niveau du gène FLT3, ont un pronostic inférieur à celui des patients sans cette mutation. Les données plus récentes suggèrent que l'impact pronostique est davantage lié au niveau d'expression de l'allèle muté et pas seulement à sa simple présence. A l'inverse, la pertinence clinique de la mutation dans le domaine tyrosine kinase (TKD) du gène FLT3 reste controversée. (26, 38)

Les mutations de NPM1 sont très fréquentes et sont essentiellement localisées au niveau de l'exon 12 du gène. Ces mutations conduisent à l'accumulation cytoplasmique anormale de mutants NPM1. Cette délocalisation de la protéine NPM1 perturberait la stabilité génomique et contribuerait au développement de la LAM.

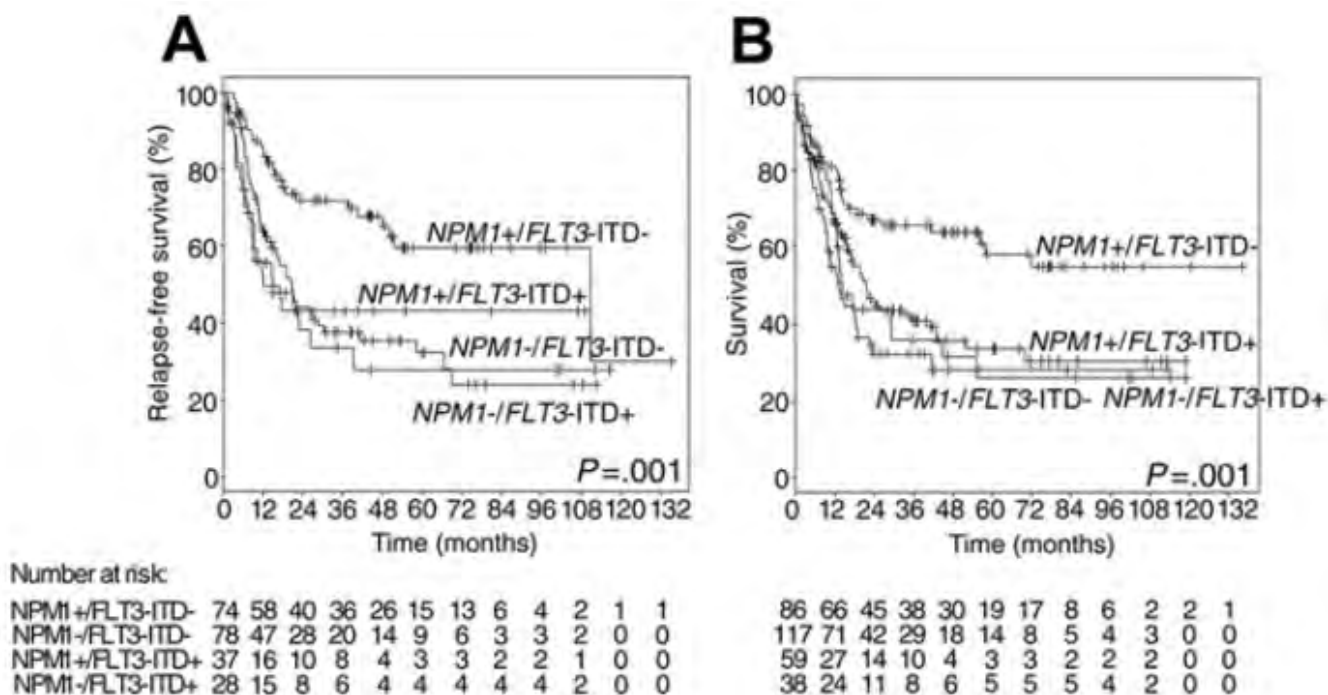
Dans de nombreuses études, la présence de la mutation dans le gène NPM1 est associée à de meilleurs taux de survie globale ( $p = 0,09$ ) et de survie sans rechute ( $p = 0,002$ ). (Figure 15) (40)



**Figure 15 :** Survie sans rechute et survie globale des patients atteints de LAM avec mutation NPM1 (40)

La différence observée pour la survie sans rechute est principalement due à l'issue favorable des patients mutés NPM1, mais sans la mutation FLT3-ITD. En effet, il est important de noter qu'environ 40 % des patients possédant la mutation NPM1, ont également la mutation FLT3-ITD.

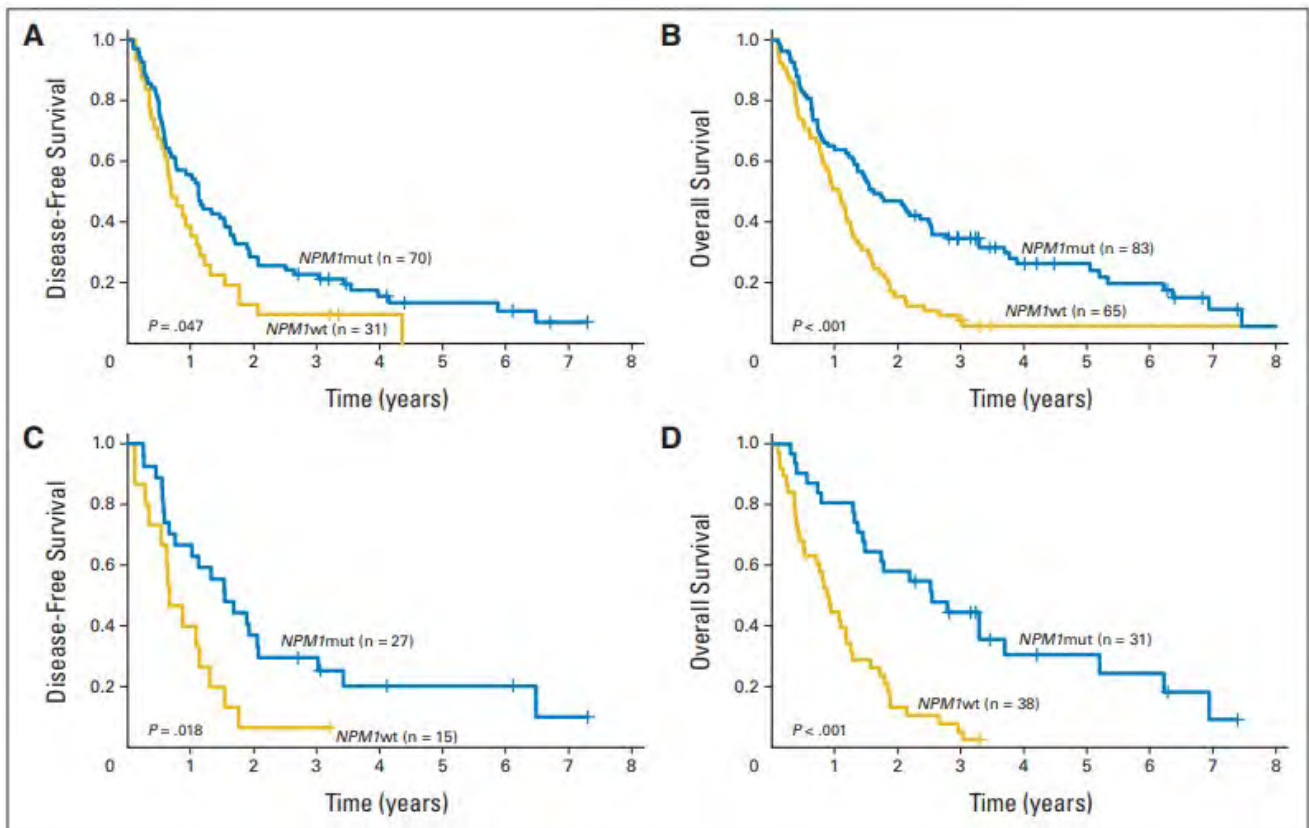
Des études ont montré que le génotype « NPM1 muté FLT3-ITD non muté » représente un marqueur pronostique favorable. (Figure 16) (38)



*Figure 16 : Survie sans rechute et survie globale des patients atteints de LAM en fonction du profil d'expression des gènes FLT3 et NPM1 (40)*

En effet, le génotype « NPM1 muté FLT3-ITD non muté » confère une survie sans rechute ( $p = 0,001$ ) et une survie globale ( $p = 0,001$ ) nettement meilleures que les 3 autres génotypes mentionnés dans la figure précédente. (40)

L'impact pronostic favorable du gène NPM1 muté serait également observé sur les paramètres de survie des patients atteints de LAM avec un âge avancé. (Figure 17) (41)



**Figure 17 :** (A) *Survie sans maladie et (B) survie globale des patients de plus de 60 ans avec une LAM de novo avec caryotype normal en fonction du profil du gène NPM1. (C) Survie sans maladie et (D) survie globale des patients de plus de 70 ans avec une LAM de novo avec caryotype normal en fonction du profil du gène NPM1. (41) (NPM1mut : NPM1 mutant ; NPM1wt : NPM1 wild type)*

Chez les patients de plus de 70 ans, la mutation du gène NPM1 confère une survie sans maladie ( $p = 0,018$ ) et une survie globale ( $p < 0,001$ ) plus longue qu'en l'absence de mutations. Cette différence est également significative pour les patients de plus de 60 ans possédant la mutation NPM1, avec  $p = 0,047$  pour la survie sans maladie et  $p < 0,001$  pour la survie globale.

Les mutations du gène NPM1 sont souvent associées à des caractéristiques de pré-traitement des patients atteints de LAM à caryotype normal de type : prédominance du sexe féminin, pourcentage de blastes médullaires plus élevés, expression élevée de la

lactate déshydrogénase (LDH), taux élevé de globules blancs et plaquettes, expression de l'antigène CD33 élevé mais absence ou faible expression de l'antigène CD34. (42)

Cependant, l'impact pronostic des mutants NPM1 est controversé. A l'inverse des études précédemment citées, certaines études suggèrent que les mutations NPM1 n'ont pas d'effet significatif sur le taux de rémission complète de survie sans rechute ou de survie sans évènement. (38)

Les mutations du gène CEPBA jouent un rôle important dans la leucémogénèse et influencent le pronostic des LAM. (43) Comme mentionné précédemment, les mutations peuvent se retrouver dans la région N-terminale du gène empêchant l'expression de la protéine « CCAAT/enhancer-binding protein alpha », ou dans la région C-terminale produisant des protéines avec une activité de dimérisation ou de liaison à l'ADN diminuée. (38, 43) Ces mutations sont présentes essentiellement dans les LAM à caryotype normal. Les mutations de CEPBA dans les LAM à caryotype normal sont un facteur de bon pronostic concernant la survie globale et la survie sans rechute. Cependant, ces données ne sont observées qu'en présence de mutation biallélique du gène CEPBA, présente dans 4 à 5 % des LAM. En effet, une mutation monoallélique n'a pas d'impact sur le pronostic des LAM à caryotype normal. Cependant, la présence d'une mutation monoallélique sur le gène CEPBA est associée à un avantage en terme de survie globale lorsqu'elle est accompagnée de la mutation NPM1. (75, 76)

Les mutations au niveau du gène MLL sont les premières mutations mises en évidence comme facteur pronostic des patients atteints de leucémies aiguës myéloïdes de caryotype normal. D'après les études réalisées, il semblerait que ce type de mutations entraîne une rémission complète plus courte dans le temps et une survie sans rechute de faible durée par rapport aux autres mutations mentionnées précédemment.

D'après les études récentes, les mutations de N-RAS et K-RAS n'ont pas d'impact pronostique sur la survie globale des patients.

Des mutations du gène WT1 conduiraient à un échec du traitement d'induction d'après les dernières études réalisées. En effet, les LAM caractérisées par une surexpression du gène WT1 sont plus à risque de rechute. (38)

La présence de mutations sur le gène codant l'enzyme DNA méthyltransferase 3A (DNMT3A) est associée à un mauvais pronostic. En effet, les mutations DNMT3A sont fréquemment associées à un âge plus élevé, un taux de leucocyte plus important et une fréquence des mutations NPM1, FLT3 et IDH1 plus importante. (22, 44)

L'impact pronostique des mutations IDH-1/IDH-2 est moins bien établi et semble être modifié par d'autres mutations coexistantes. (22) En effet, d'après une étude récente menée sur des patients atteints de LAM dont le statut IDH-1/IDH-2 était connu, il semblerait que ces mutations n'impactent pas le pronostic de la réponse au traitement ni le pronostic de la survie globale. (45) A l'inverse, dans une autre étude, les mutations IDH-1/IDH-2 ont amélioré la survie globale des patients atteints de LAM « NPM1 muté FLT3-ITD négative ». (22, 46)

## **1.6.2) Traitements, survie et suivi des leucémies aiguës myéloïdes**

Du fait de son installation rapide et brutale, la LAM conduit au décès en l'absence de traitement. L'objectif du traitement est l'obtention d'une rémission complète, dont un des critères majeurs est la présence d'un taux de blastes médullaires inférieur à 5 % avec absence de blastes circulants. (26)

La stratégie thérapeutique est déterminée selon l'évaluation réalisée au diagnostic, et notamment en fonction des facteurs pronostiques comme l'âge par exemple.

### ➤ Traitements des patients de moins de 60 ans

Le traitement de référence se déroule en 2 parties : un traitement d'induction suivi d'un traitement de consolidation. Ce schéma s'adresse aux patients les plus robustes, car il s'agit d'un traitement de chimiothérapie intensive.

### Traitement d'induction

L'association de daunorubicine, une molécule cytotoxique de la famille des anthracyclines, par voie IV à la dose de 45 ou 60 mg/m<sup>2</sup>/jour pendant 3 jours et de cytarabine à dose standard, c'est à dire 100 mg/m<sup>2</sup>/jour en perfusion continue pendant 7 jours, selon le schéma « 3 + 7 », permet d'obtenir un taux de rémission complète entre 65 et 75 % chez les patients de 18 à 60 ans. (50)

L'utilisation d'idarubicine (51, 52) une autre molécule cytotoxique de la famille des anthracyclines, de mitoxantrone, de forte dose de cytarabine (53), ou bien l'ajout d'autres molécules cytotoxiques comme l'etoposide, la fludarabine ou le topotecan a le plus souvent conduit à un échec de traitement. Il est à noter que dans certains sous groupes de patients, l'utilisation de ces molécules a apporté une amélioration notable de la survie. Une étude récente a montré l'intérêt d'utiliser la daunorubicine à 90 mg/m<sup>2</sup>/jour en traitement d'induction chez les patients âgés de moins de 60 ans. En effet, l'utilisation de daunorubicine à cette dose induirait une amélioration du taux de rémission complète mais pas de la survie globale. (54)

Le choix du traitement est fait en réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP) en fonction de l'âge du patient mais pas uniquement ; de ses comorbidités, de ses facteurs pronostiques liés à la maladie et ses traitements sont également pris en compte.

L'objectif de cette phase d'induction est l'obtention d'une rémission complète.

### Traitement de consolidation

Cette phase débute initialement par de la chimiothérapie. Et en fonction de l'âge, du taux de rémission complète post induction et des facteurs pronostiques du patient, l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques est réalisée.

Le traitement de consolidation n'est mis en place qu'après obtention d'une rémission complète après la phase d'induction.



Des études ont montré l'intérêt de réaliser 4 cycles de cytarabine haute dose soit 3 g/m<sup>2</sup> toutes les 12 heures pendant 3 jours plutôt que 4 cycles à dose intermédiaire (400 mg/m<sup>2</sup>) ou à dose standard (100 mg/m<sup>2</sup>). Le bénéfice est restreint aux patients atteints d'une LAM avec un risque cytogénétique faible et intermédiaire. (Tableau 15) (Figure 18)

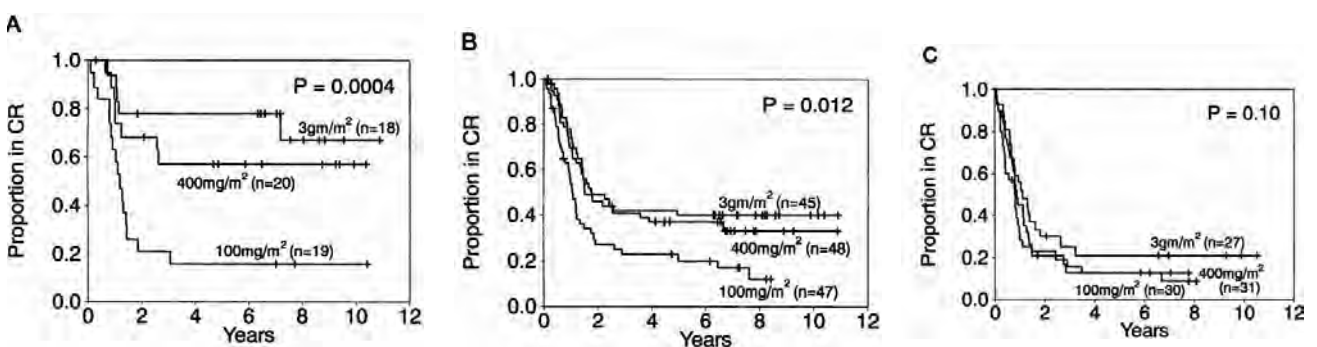
	Best option	Comments
Favourable	Repeat cycles of HDAC +/- additional drug	Optimum dose, schedule, number of cycles unknown Three or four cycles better than one cycle <sup>120-123</sup> Two cycles + anthracycline or anthracenedione or other intense therapy may be as effective <sup>71,72</sup> One cycle of HDAC effective in MRC AML14 <sup>66</sup> Autologous SCT not better than HDAC-based therapy <sup>71</sup> Allogeneic SCT not better than HDAC-based therapy <sup>71,121,122</sup>
Intermediate	Repetitive cycle of HDAC +/- additional therapy	Optimum dose, schedule, number of cycles unknown Multiagent chemotherapy not better than HDAC alone <sup>119</sup> Autologous SCT not better than HDAC-based therapy <sup>125-127</sup> Allogeneic SCT not better than HDAC-based therapy <sup>126-127</sup> Discordant data for allogeneic SCT in the FLT3 ITD+ group <sup>80,131</sup>
Adverse	Allogeneic SCT	Dismal outcome after intense chemotherapy <sup>61,118,126</sup> Dismal outcome after autologous SCT <sup>61,118,126</sup> Allogeneic SCT may improve outcome <sup>61,125</sup> Experimental conditioning protocols under study <sup>132-134</sup> Consider new drugs (non-transplant approaches)

HDAC=high-dose cytarabine. SCT=stem-cell transplantation.

**Table 4: Current best options for postremission therapy of young adults with AML by risk group**

**Tableau 15 :** Traitements de consolidation des patients de moins de 60 ans en fonction du pronostic de la LAM (3)

Il n'a pas été observé de bénéfice chez les patients atteints d'une LAM à haut risque cytogénétique. (55)



**Figure 18 :** Taux de rémission complète après traitement de consolidation par cytarabine en fonction du risque cytogénétique de la LAM. (A) : cytogénétique favorable ; (B) : cytogénétique intermédiaire ; (C) : cytogénétique défavorable (55)

La cytarabine haute dose est le traitement de consolidation standard pour la LAM de type (8; 21) ou de type inv (16), conduisant à un taux de survie compris entre 60 et 75 % des patients. Le nombre de cycles de cytarabine envisagé dans ces cas là est de 3 ou 4 cycles de cytarabine haute dose, ce qui correspond à une dose cumulative de 54 à 72 g/m<sup>2</sup>. (56)

L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques est envisagée en première intention chez les patients atteints d'une LAM avec des caractéristiques cytogénétiques défavorables. Ce traitement peut aussi être proposé aux patients non répondeurs à la chimiothérapie conventionnelle, quelle que soient les caractéristiques initiales de la LAM. Ce sont des patients dont la rémission complète n'a pas été obtenue après des traitements de chimiothérapie conventionnelle. De ce fait, la LAM est dite de pronostic défavorable.

L'allogreffe est un traitement puissant de par l'effet immunologique anti-leucémique du greffon contre la leucémie. Un conditionnement cytoréducteur est réalisé avant l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques.

Pour les patients atteints de LAM à risque cytogénétique intermédiaire, il semblerait que l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques n'apporte aucun bénéfice chez les patients en rémission complète après le traitement de chimiothérapie conventionnelle. (57, 58) En effet, la survie globale des patients atteints de LAM à risque intermédiaire traités par allogreffe de cellules souches hématopoïétiques est similaire à celle des patients traités par cytarabine haute dose en traitement de consolidation. (59)

Cependant, l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques a des effets secondaires plus importants sur la qualité de vie.

Chez les patients porteurs de mutations FLT3-ITD, les données sont contradictoires concernant l'intérêt de réaliser une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques.

En effet, il semblerait que l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques améliore le pronostic des patients porteurs de ce type de mutations, qui sont initialement de mauvais pronostic. Cependant, cette observation n'est pas constatée dans toutes les études. (40)

Les patients porteurs d'un génotype « NPM1 muté FLT3 non muté », traités par chimiothérapie conventionnelle en traitement de consolidation, ont une survie globale et

une survie sans rechute supérieure ou égale à 60 %. Ainsi, le fait de réaliser une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques n'améliore pas de manière significative le pronostic.

Chez les patients porteurs d'une LAM à caractéristiques cytogénétiques défavorables, il semblerait que l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques apporte un réel bénéfice sur la survie globale en cas de rémission complète après le traitement d'induction, comparativement à la chimiothérapie conventionnelle. (60) L'allogreffe est précédée d'un conditionnement standard qui permet d'augmenter l'effet immunologique du greffon contre la leucémie.

### Traitement de la rechute

Après l'obtention d'une rémission complète de la LAM, la rechute survient généralement dans les 3 ans après le diagnostic. Le pronostic après la rechute est le plus souvent sombre et les options thérapeutiques insuffisantes.

Une estimation de la survie à long terme peut être obtenue en évaluant un ensemble de facteurs pronostiques. (Tableau 16) Par exemple, un patient présentant une rechute dans les 6 mois après la rémission complète, une cytogénétique défavorable et/ou un âge supérieur à 45 ans présente un pronostic médiocre.

Risk	Index score in points	Survival probability, %	
		at 1 y	at 5 y
Favorable (9% of patients)	0-6	70	46
Intermediate (25% of patients)	7-9	49	18
Unfavorable (66% of patients)	10-14	16	4

Evaluated in patients 15 to 60 years<sup>234</sup>; APL with t(15;17) excluded; prognostic relapse score is estimated according to the following factors:

- Duration of remission prior to relapse: > 18 months (0 points); 7 to 18 months (3 points); and 6 months or less (5 points).
- Cytogenetics at initial diagnosis: inv(16) or t(16;16) (0 points); t(8;21) (3 points); other (5 points).
- Prior hematopoietic stem cell transplantation: no (0 points); yes (2 points).
- Age at time of relapse: 35 years or less (0 points); 36 to 45 years (1 point); more than 45 years (2 points).

**Tableau 16 : Facteurs pronostiques de la rechute des patients de moins de 60 ans dans le traitement de la LAM (26)**

Le score pronostique fournit une base pour les recommandations concernant le traitement avec différents objectifs possibles : curatif ou palliatif.

En cas de rechute, un nouveau traitement d'induction est nécessaire pour provoquer une seconde rémission complète. Il n'y a pour l'instant pas de traitement standard établi pour traiter une LAM en rechute. L'approche actuellement adoptée consiste à définir un traitement qui vise à obtenir une nouvelle rémission et qui, par la suite, permettra de réaliser une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques.

L'un des principaux traitements de seconde intention est la cytarabine. Cette molécule peut être utilisée à dose intermédiaire (1 g/m<sup>2</sup>) et à haute dose (2 à 3 g/m<sup>2</sup>). Elle peut être associée à la daunorubicine ou à l'idarubicine. (53) Les protocoles de traitement à base de cytarabine haute dose s'adressent uniquement à des patients suffisamment robustes et jeunes, du fait de la toxicité de la chimiothérapie.

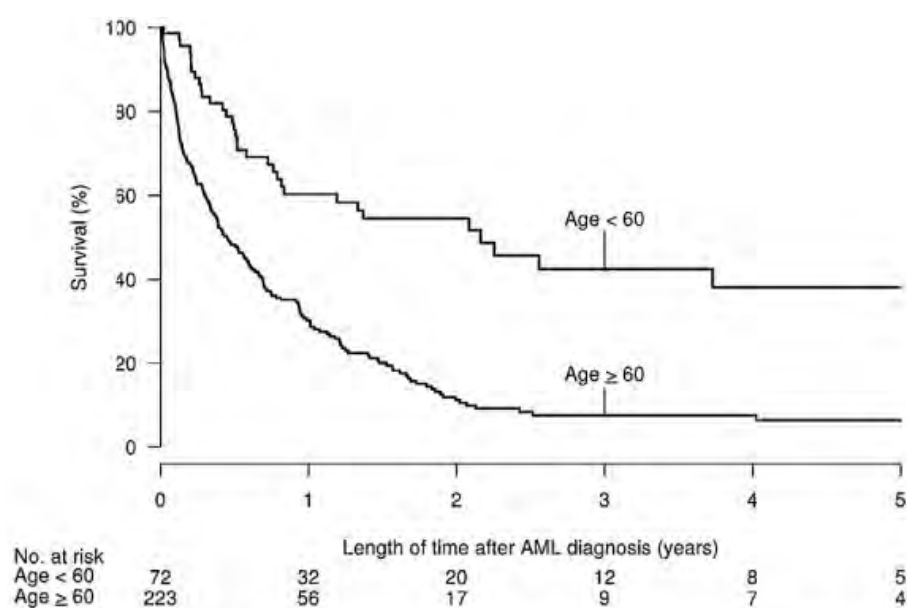
Il est également possible d'associer la mitoxantrone, un agent intercalant et l'etoposide, un inhibiteur de topoisomérase II, pendant 5 jours, à la dose de 10 mg/m<sup>2</sup> par jour et 100 mg/m<sup>2</sup> par jour respectivement. (61, 62)

Un traitement par Gentuzumab ozogamicin, un anticorps monoclonal anti-CD33 couplé à une molécule toxique, la calichéamicine, peut être utilisé en cas de rechute. En effet, ce traitement s'adresse essentiellement aux patients les plus âgés en rechute, plus de 6 mois après avoir été en rémission complète.

➤ Traitements des patients de plus de 60 ans

L'âge des patients au diagnostic est un facteur de mauvais pronostic. (Figure 19) (26)

En effet, la survie des patients de moins de 60 ans à 1, 3 et 5 ans après le diagnostic de leucémie aiguë myéloïde est de 60 % (IC 95 % : 49-74%), 42 % (IC 95 % : 30-60%) et 38 % (IC 95 % 23-57%), respectivement. La survie des patients de plus de 60 ans à 1, 3 et 5 ans après le même diagnostic est de 30% (IC 95 % : 25-37%), 8% (IC 95 % : 4-13%), et 6% (IC 95 % : 3-12%), respectivement.



*Figure 19 : Survie des patients atteints de LAM en fonction de l'âge au diagnostic (< 60 ans et ≥ 60 ans) (32)*

Le traitement des patients de plus de 60 ans demeure insatisfaisant avec un taux de rémission complète entre 50 et 60 % après un traitement de chimiothérapie d'induction par anthracycline et cytarabine, un risque de rechute pour les patients initialement répondeurs d'environ 80 % et une survie à 3 ans entre 10 et 20 %. (3, 63) Cela s'explique par des critères biologiques, notamment un caryotype défavorable, l'expression de glycoprotéines MDR et l'existence d'un syndrome myélodysplasique antérieur. De plus, la fréquence croissante des comorbidités rend les personnes âgées moins capables de supporter une chimiothérapie intensive ou une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques. (3)

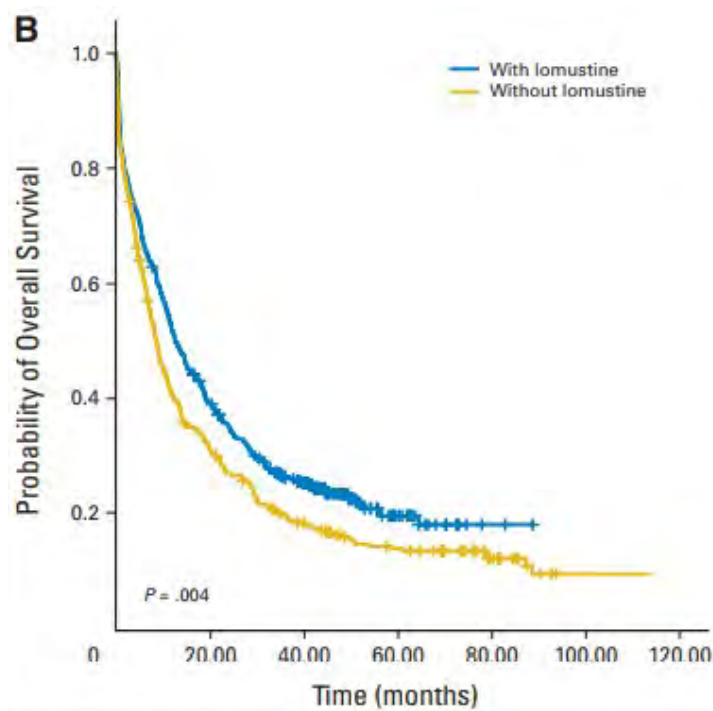
### Traitement d'induction

Pour les patients dont l'état général est satisfaisant, sans comorbidités, un traitement d'induction de type « 3 + 7 » avec daunorubicine (45 ou 60 mg/m<sup>2</sup>) pendant 3 jours, et cytarabine (100 mg/m<sup>2</sup>) en perfusion continue pendant 7 jours peut être envisagé. Ce traitement peut induire une rémission complète dans 50 % des cas. (30)

*Pigneux et al* ont montré l'intérêt d'ajouter un traitement par lomustine, un agent alkylant de la famille des nitrosourées pendant la phase d'induction pour les patients âgés de plus de 60 ans. (64) Dans cette étude, il était question de comparer deux schémas de chimiothérapie d'induction : idarubicine 8 mg/m<sup>2</sup> J1 à J5 et cytarabine 100 mg/m<sup>2</sup> J1 à J7 par voie intraveineuse (IV) vs idarubicine 8 mg/m<sup>2</sup> J1 à J5, cytarabine 100 mg/m<sup>2</sup> J1 à J7 et lomustine 200 mg/m<sup>2</sup> J1 par voie orale.

Le taux de rémission complète est de 68 % (IC 95 % : 62-72 %) pour les patients traités par idarubicine, cytarabine et lomustine contre 58 % (IC 95 % : 55-62 %) pour les patients traités par idarubicine et cytarabine avec  $p = 0,002$ . Pour les patients ayant une LAM avec des caractéristiques cytogénétiques non défavorables, la lomustine améliore significativement le taux de rémission complète (73 % avec lomustine vs 64 % sans lomustine avec  $p = 0,05$ ). Le constat est le même pour les patients ayant une LAM avec caractéristiques cytogénétiques défavorables, le taux de rémission complète est de 56 % (IC 95 % : 46,5-65,5 %) avec la lomustine contre 39 % (IC 95 % : 32-46 %) sans la lomustine ( $p = 0,018$ ). L'échec des traitements qui se traduit par la résistance aux traitements d'induction est significativement diminué dans le groupe des patients traités par lomustine avec  $p = 0,001$ . En revanche, l'incidence des décès n'est pas différente dans les deux groupes de traitements.

La survie globale après traitement d'induction est significativement plus importante chez les patients ayant reçu de la lomustine (12,7 mois vs 8,7 mois sans lomustine) avec  $p = 0,004$ . (Figure 20)



*Figure 20 : Survie globale des patients atteints de LAM avec ou sans lomustine en traitement d'induction (64)*

Cette amélioration de la survie globale a été mise en évidence chez les patients de moins de 69 ans et chez les patients de plus de 69 ans ( $p = 0,001$  et  $p = 0,04$  respectivement).

En analyse multivariée, 5 facteurs pronostiques ont amélioré la survie globale : l'ajout de lomustine ( $p = 0,002$ ), l'âge  $\leq 69$  ans ( $p < 0,001$ ), score de performance ECOG  $< 2$  ( $p = 0,002$ ), LAM 1 et 2 de la classification FAB ( $p = 0,02$ ) et la présence de caractéristiques cytogénétiques non défavorables ( $p < 0,001$ ).

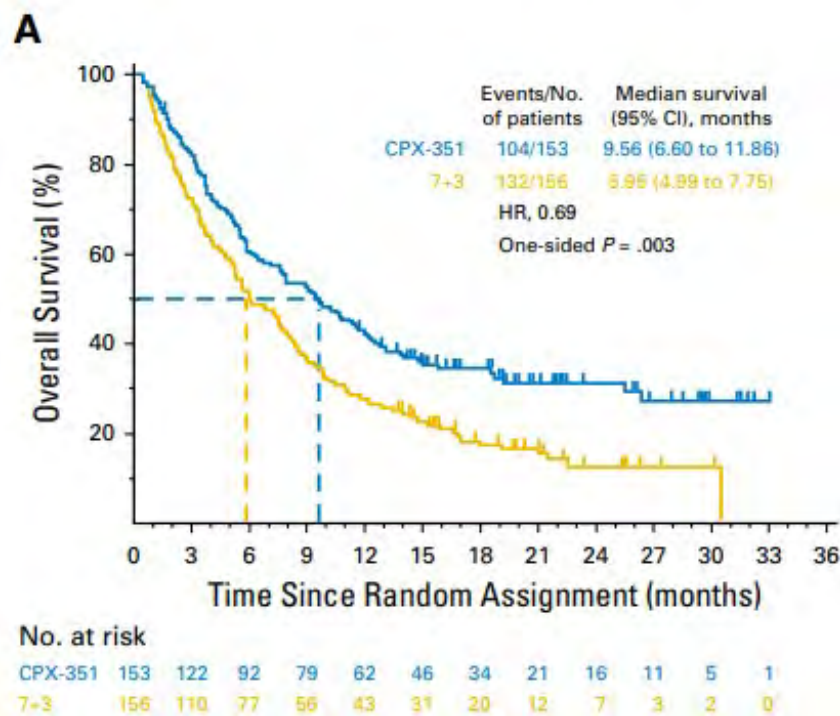
Finalement, l'ajout de lomustine dans le traitement d'induction a permis une amélioration significative du taux de rémission complète, de la survie globale et de la survie sans événement. Il a été observé une toxicité digestive (nausées, mucites) et hématologique supérieure de la lomustine conduisant à une prolongation d'hospitalisation d'un jour supplémentaire. A l'inverse, les décès induits par une toxicité excessive sont similaires en terme de nombre dans les deux groupes de traitements.

La limite de cette étude réside dans son analyse rétrospective. Le meilleur moyen de confirmer les résultats observés, est de mettre en place une étude prospective randomisée.

Une autre étude a mis en avant l'intérêt d'un traitement d'induction par daunorubicine et cytarabine encapsulés dans un liposome, appelé également CPX-351 (VYXEOS®), chez les patients de plus de 60 ans. (65)

Ce liposome est une combinaison synergique, constituée de cytarabine et de daunorubicine avec un ratio 5 :1, ce qui permet une meilleure pénétration des médicaments dans les cellules leucémiques que dans les cellules normales de la moelle osseuse.

Avec un suivi d'une durée moyenne de 20,7 mois, CPX-351 a amélioré la survie globale de manière significative par rapport aux traitements conventionnels daunorubicine et cytarabine « 3+7 » : 9,56 mois pour CPX-351 vs 5,95 mois pour daunorubicine et cytarabine « 3+7 » avec  $p = 0,003$  (IC 95 % = 0,52-0,90). (Figure 21)



*Figure 21 : Survie globale des patients atteints de LAM traités par CPX-351 ou par daunorubicine cytarabine « 3+7 » (65)*



De plus, un traitement par CPX-351 est associé à un taux de rémission globale significativement plus élevé qu'un traitement par daunorubicine et cytarabine « 3+7 » : 47,7 % pour CPX-351 vs 33,3 % pour cytarabine et daunorubicine « 7+3 » avec  $p = 0,016$ .

L'incidence des évènements indésirables non hématologiques est comparable entre les deux traitements, malgré une phase de traitement plus longue et une phase de récupération prolongée des polynucléaires neutrophiles et de la numération plaquettaire avec CPX-351.

La formulation du liposome permet une exposition persistante des cellules leucémiques à la cytarabine et à la daunorubicine, qui ne peut être obtenue avec la chimiothérapie conventionnelle sans liposome. La persistance du liposome dans le sang prolonge également l'action synergique des médicaments et augmente l'activité cytotoxique contre les cellules leucémiques.

Finalement, un traitement par CPX-351 entraîne l'augmentation significative de la survie globale, de la survie sans évènement et du taux de rémission des patients de plus de 60 ans, contrairement à la chimiothérapie conventionnelle, daunorubicine cytarabine avec le schéma « 3+7 ».

Bien que les études aient montré une augmentation des glycoprotéines MDR avec l'âge, il semblerait que CPX-351 échappe au mécanisme d'efflux en pénétrant dans les cellules leucémiques. Cela permet de contourner les phénomènes de résistance au traitement mis en évidence chez les patients âgés de plus de 60 ans.

D'autres études ont montré que l'utilisation de mitoxantrone et d'etoposide en traitement d'induction, n'apportent pas de bénéfice sur la survie des patients de plus de 60 ans traités pour une leucémie aiguë myéloïde. (63)

L'utilisation de Gemtuzumab ozogamicin en traitement d'induction et de consolidation chez les patients de plus de 60 ans permet une amélioration de la survie globale à 2 ans de 41,9 % à 53,2 %. Cette amélioration n'est cependant pas retrouvée chez les patients atteints d'une LAM avec des caractéristiques cytogénétiques défavorables. (66, 67)

### Traitement de consolidation

Il n'y a pour le moment pas de recommandations précises pour le traitement de consolidation des patients âgés de plus de 60 ans. Il peut être envisagé de réaliser une chimiothérapie intensive selon l'état général du patient et les caractéristiques cytogénétiques. L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques est à discuter au cas par cas chez les patients de plus de 60 ans. Le traitement cytoréducteur précédant la greffe peut être diminué selon l'état des patients.

Chez les patients très âgés ou fragiles, inaptes à recevoir les traitements précédemment cités, il est possible d'envisager d'autres alternatives thérapeutiques.

Par exemple, il peut être décidé de mettre en place des soins de support incluant des transfusions, des anti-infectieux (antibiotiques, antifongiques, antiviraux), une hydratation, un traitement par allopurinol pour traiter l'hyperuricémie, l'hyperphosphatémie, l'hypocalcémie et l'hyperkaliémie. (25) Il est également possible d'ajouter aux soins de support, un traitement cytoréducteur comme l'hydroxyurée.

Une autre alternative consiste à injecter de la cytarabine à faible dose en sous cutanée. Ce traitement induirait une amélioration de la survie en comparaison avec l'hydroxyurée chez les patients souffrant d'une LAM à caryotype normal. Cependant, cette amélioration n'est pas retrouvée en cas d'anomalies caryotypiques. (68)

Les agents déméthylants comme l'azacitidine et la decitabine, constituent une autre alternative dans l'arsenal thérapeutique, notamment en cas d'anomalies caryotypiques chez les patients les plus âgés et/ou fragiles. L'azacitidine améliore la survie globale à 2 ans des patients les plus âgés ayant une blastose médullaire comprise entre 20 et 30 %. En effet, chez les patients présentant cette caractéristique, la survie globale à 2 ans est de 50 % avec l'azacitidine contre 16 % avec les traitements de chimiothérapie conventionnels. Avec ces résultats, l'azacitidine a été approuvée pour les patients les plus âgés souffrant d'une LAM avec une blastose comprise entre 20 et 30 %. (69)

Une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires impliqués dans le développement des LAM a permis, ces dernières années, le développement de nouvelles thérapeutiques. Le fait de cibler une seule protéine ne permet pas d'éliminer le clone leucémique en totalité, c'est la raison pour laquelle les nouvelles thérapies ciblées doivent être utilisées en combinaison avec les traitements cytotoxiques conventionnels.

C'est le cas par exemple du Gemtuzumab ozogamicin précédemment cité, un anticorps monoclonal anti-CD33, qui est lié chimiquement à un agent cytotoxique, la calicheamicine. Cette dernière inhibe la synthèse d'ADN et induit l'apoptose des cellules leucémiques. (70) Ce traitement d'adresse essentiellement aux LAM en rechute chez les patients les plus âgés, inaptes à recevoir les traitements de chimiothérapies conventionnelles. (71, 72)

Les inhibiteurs de tyrosine kinase FLT3 font également partis des nouvelles thérapies ciblées, mis au point ces dernières années. Par exemple, Midostaurine, Quizartinib et Gilteritinib sont des inhibiteurs du récepteur tyrosine kinase FLT3. Des études pilotes ont mis en évidence l'intérêt d'associer en première ligne de traitement un inhibiteur de tyrosine kinase FLT3 à un traitement de chimiothérapie conventionnelle en phase d'induction et en phase de consolidation. (73, 74) Les inhibiteurs de tyrosine kinase FLT3 font l'objet de la rédaction de cette thèse et seront traités plus précisément dans les parties suivantes.

Le suivi de la maladie résiduelle (MRD) constitue un facteur pronostique lié à la LAM elle-même qui permet de déterminer la réponse au traitement d'induction. Cette évaluation permet également d'orienter le traitement post rémission et de détecter les rechutes le plus rapidement possible.

L'obtention d'une rémission complète après le traitement d'induction est un facteur pronostique important pour la survie globale et la survie sans rechute.

Les critères pour définir une rémission complète sont les suivants (Tableau 14) :

- blastose médullaire inférieure à 5 % avec absence de corps d'Auer
- absence de blastes circulants
- absence de localisation extra-médullaire
- taux de polynucléaires neutrophiles supérieur à 1,0 G/L
- taux de plaquettes supérieur à 100 G/L

Category	Definition
Complete remission (CR)*	Bone marrow blasts < 5%; absence of blasts with Auer rods; absence of extramedullary disease; absolute neutrophil count > $1.0 \times 10^9/L$ (1000/ $\mu$ L); platelet count > $100 \times 10^9/L$ (100 000/ $\mu$ L); independence of red cell transfusions
CR with incomplete recovery (CRi)†	All CR criteria except for residual neutropenia (< $1.0 \times 10^9/L$ [1000/ $\mu$ L]) or thrombocytopenia (< $100 \times 10^9/L$ [100 000/ $\mu$ L])
Morphologic leukemia-free state‡	Bone marrow blasts < 5%; absence of blasts with Auer rods; absence of extramedullary disease; no hematologic recovery required
Partial remission (PR)	Relevant in the setting of phase 1 and 2 clinical trials only; all hematologic criteria of CR; decrease of bone marrow blast percentage to 5% to 25%; and decrease of pretreatment bone marrow blast percentage by at least 50%
Cytogenetic CR (CRc)§	Reversion to a normal karyotype at the time of morphologic CR (or CRi) in cases with an abnormal karyotype at the time of diagnosis; based on the evaluation of 20 metaphase cells from bone marrow
Molecular CR (CRm)	No standard definition; depends on molecular target
Treatment failure	
Resistant disease (RD)	Failure to achieve CR or CRi (general practice; phase 2/3 trials), or failure to achieve CR, CRi, or PR (phase 1 trials); only includes patients surviving $\geq 7$ days following completion of initial treatment, with evidence of persistent leukemia by blood and/or bone marrow examination
Death in aplasia	Deaths occurring $\geq 7$ days following completion of initial treatment while cytopenic; with an aplastic or hypoplastic bone marrow obtained within 7 days of death, without evidence of persistent leukemia
Death from indeterminate cause	Deaths occurring before completion of therapy, or < 7 days following its completion; or deaths occurring $\geq 7$ days following completion of initial therapy with no blasts in the blood, but no bone marrow examination available
Relapse¶	Bone marrow blasts $\geq 5\%$ ; or reappearance of blasts in the blood; or development of extramedullary disease

*Tableau 14 : Critères de réponse au traitement de la LAM (26)*

L'évaluation de la maladie résiduelle peut être fait par différentes techniques :

- par RT-PCR en détectant des cibles spécifiques de la leucémie comme la fusion de gènes, la présence de mutations, la surexpression de gènes,
- par cytométrie en flux en identifiant les phénotypes anormaux associés à la leucémie,
- par cytologie.

Il est à noter que la cytologie ne permet pas une quantification suffisamment précise et sensible du taux de blastes persistants.

En 2017, de nouveaux critères ont été ajoutés pour définir une rémission complète : l'absence ou la présence de marqueurs génétiques, moléculaires ou immunophénotypiques qui signent la présence ou non de blastes persistants. Il convient alors de parler de rémission complète MRD négatif et de rémission complète MRD positif.

Une rémission complète avec MRD positive est significativement associée à un risque de rechute. A l'inverse, une rémission complète avec MRD négative diminue le risque de rechute et améliore la survie globale.

Ainsi, grâce à la mise en évidence de la maladie résiduelle, il est possible de réaliser une stratification des patients, rémission complète MRD positive vs rémission complète MRD négative.

Cependant, la sensibilité et la spécificité des différents marqueurs utilisés ne sont pas optimales. C'est à dire qu'une MRD positive ne prédit pas systématiquement une rechute. (47)

Certaines mutations mises en évidence sont associées à un facteur prédictif de la rechute. C'est le cas par exemple de la persistance de la mutation NPM1 après le traitement conventionnel par chimiothérapie et des transcrits issus de la fusion de gènes RUNX1-RUNX1T, CBFβ-MYH11 et PML-RARA. En effet, la persistance de la maladie résiduelle après un traitement conventionnel par chimiothérapie peut orienter sur la suite de la prise en charge et notamment sur la décision d'allogreffe. Des études récentes ont mis en évidence que la persistance de la mutation NPM1 après le traitement d'induction est un facteur prédictif de la rechute des patients. (38, 47)

Ainsi, ces patients devront bénéficier d'une évaluation moléculaire de la maladie résiduelle pour diagnostiquer le plus rapidement possible une rechute.

Les LAM secondaires sont plus résistantes au traitement conventionnel que les leucémies aiguës myéloïdes *de novo*, ce qui conduit à une survie inférieure des patients. En effet, d'après une étude, la survie globale moyenne des patients atteints de LAM *de novo* est de 15 mois contre 10 mois pour les LAM secondaires, avec  $p = 0,0007$ . (48)

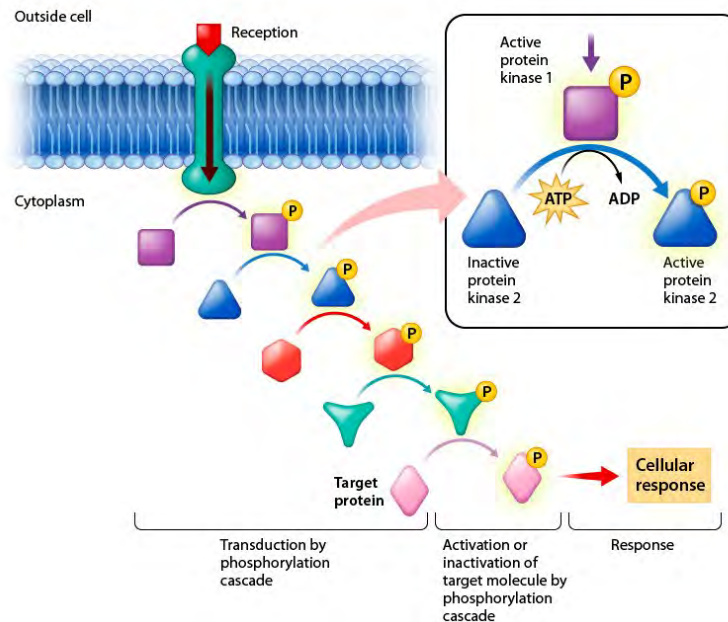
Deux grandes études européennes rétrospectives ont mis en évidence que, quel que soit l'âge, le sexe et les anomalies cytogénétiques, un diagnostic de LAM secondaires et de LAM liées au traitement, prédit une réponse aux traitements conventionnels inférieure aux leucémies aiguës myéloïdes *de novo*. Ce constat est également observé pour la survie globale qui est nettement diminuée pour les LAM secondaires, bien que l'impact semble diminuer avec l'âge. (49)

## Partie 2 : Inhibiteur de tyrosine kinase anti-FLT3

### 2.1) Récepteur à activité tyrosine kinase

Les récepteurs à activité tyrosine kinase sont des protéines appartenant à la famille des protéines à activité tyrosine kinase.

Les protéines kinases sont des enzymes ayant la capacité de phosphoryler une protéine cible. En effet, elles transfèrent un résidu phosphate de l'adénine triphosphate (ATP) sur une protéine et libèrent de l'adénine diphosphate (ADP). (Figure 22) Chaque protéine kinase phosphorylée est donc activée et active à son tour une autre protéine kinase.



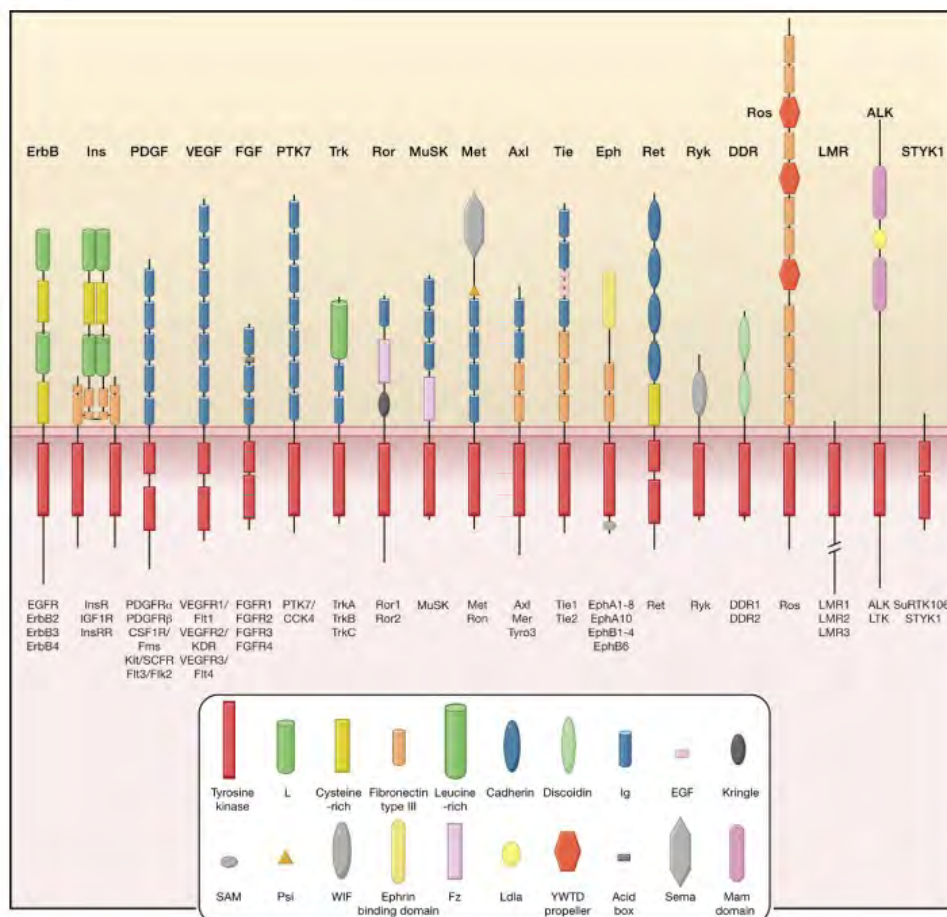
*Figure 22 : Cascade de phosphorylation des protéines kinases*

Ainsi, dès lors qu'un ligand se fixe à la surface d'un récepteur cellulaire, ce dernier s'active et la transduction du signal se fait via la cascade de phosphorylation des protéines kinases. Finalement, cela conduit à l'activation ou à l'inhibition des protéines cibles et par la suite, une réponse cellulaire se met en place.

Selon l'acide aminé de la protéine cible phosphorylée, la protéine kinase prendra un nom différent. Par exemple, il existe les protéines à activité tyrosine kinase et les protéines à activité sérine-thréonine kinase. Dans le premier cas, l'acide aminé de la protéine phosphorylée est une tyrosine, tandis que dans l'autre cas, l'acide aminé est une sérine ou une thréonine.

Parmi les protéines à activité tyrosine kinase, il est possible de distinguer deux sous familles : les récepteurs à activité tyrosine kinase et les protéines à activité tyrosine kinase cytosoliques. Les récepteurs EGFR (ou HER 1), VEGFR, PDGFR, ALK sont des exemples de récepteurs à activité tyrosine kinase, représentés sur la figure suivante. (Figure 23)

Les protéines à activité tyrosine kinase cytosoliques sont par exemple les protéines BCR-ABL, JAK...

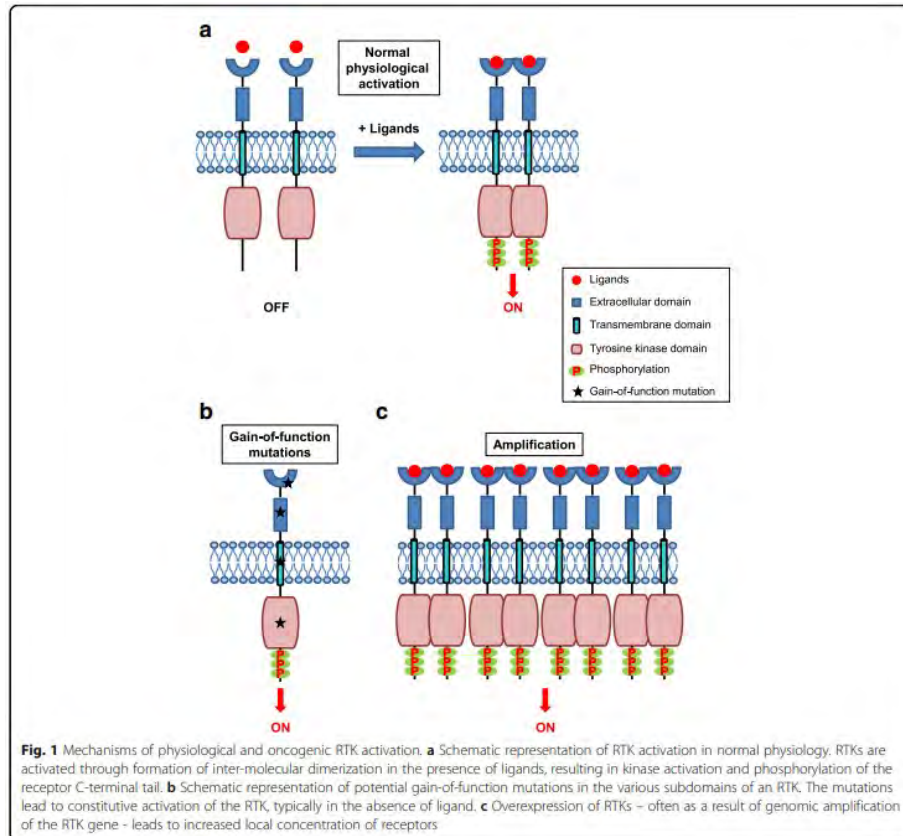


**Figure 23 : Exemples de récepteurs à activité tyrosine kinase (77)**

Les récepteurs à activité tyrosine kinase se trouvent au niveau de la membrane cytoplasmique d'une cellule et sont constitués de trois parties bien distinctes : un domaine



extracellulaire chargé de lier le ligand, un domaine transmembranaire et un domaine intracellulaire. Ce dernier correspond au domaine catalytique du récepteur tyrosine kinase et se compose d'un site de liaison à l'ATP et d'un site de liaison au substrat. (Figure 24a) Les mutations au niveau d'un des sous domaines du récepteur tyrosine kinase conduisent à l'activation constitutive du récepteur, même en l'absence de ligand. (Figure 24b) (78)



**Figure 24 :** Activation des récepteurs à activité tyrosine kinase (78)

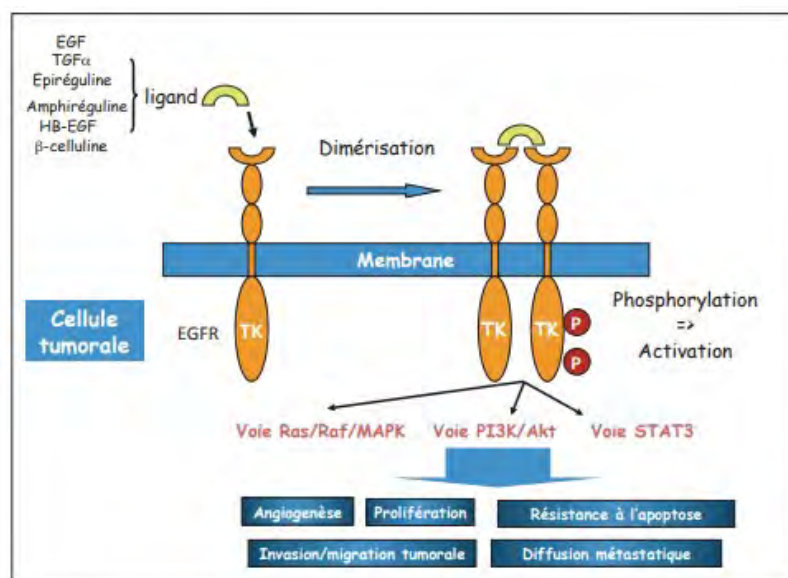
A l'état inactif, une boucle activatrice vient bloquer le site de liaison à l'ATP et rend son accès impossible. Ainsi le récepteur tyrosine kinase est auto-inhibé par des interactions intramoléculaires spécifiques de chaque récepteur. (79)

Par exemple, le récepteur de l'insuline, le récepteur de l'IGF-1 et les récepteurs FGFR sont auto-inhibés par la boucle activatrice ; celle-ci est directement en contact avec le domaine actif tyrosine kinase , ce qui perturbe la liaison de l'ATP et du ligand spécifique du récepteur. (80) Le récepteur KIT est auto-inhibé par le domaine juxtamembranaire qui maintient le domaine tyrosine kinase sous forme inactive. (81)

La fixation d'un ligand au niveau du domaine extracellulaire entraîne un changement de conformation du récepteur. Le plus souvent, les ligands sont des facteurs de croissance ; c'est le cas de l'EGF, de PDGF, de VEGF... En effet, la liaison du ligand provoque la dimérisation du récepteur. Du côté intracellulaire, cela conduit à l'auto-phosphorylation du récepteur, c'est à dire que les tyrosines de la boucle activatrice du récepteur se phosphorylent. La conformation du domaine catalytique du récepteur se modifie et rend l'accès au site de fixation de l'ATP possible ; l'ATP peut alors se fixer sur son site spécifique. Cela permet le recrutement de protéines adaptatrices comme Src homology-2 (SH2) ou IRS-1. Ainsi, chaque protéine adaptatrice phosphorylée permet l'activation d'autres protéines kinases d'une voie de signalisation donnée : RAS/MAPK, PI-3 K/AKT, JAK/STAT. Finalement, l'activation de la cascade de signalisation conduit à la régulation de différents phénomènes intracellulaires via la transcription de gènes : la prolifération et la survie cellulaire, la différenciation et la migration cellulaire et l'angiogénèse...(78)

#### Exemple du récepteur à l'EGF :

L'EGFR, également appelé HER 1, est un des récepteurs tyrosine kinase le mieux connu à l'heure actuelle. Il s'agit d'une protéine transmembranaire appartenant à la famille HER ou ErbB, insérée dans la membrane cytoplasmique d'une cellule. Ce récepteur possède différents ligands : EGF, TGF $\alpha$ , amphiréguline, épිරéguline... (Figure 25)



*Figure 25 : Activation du récepteur EGFR et des voies de signalisation intracellulaires*

Le ligand principal, l'EGF, se fixe sur la partie extracellulaire du récepteur, entraîne une homo ou hétérodimérisation du récepteur avec d'autres récepteurs de la même famille, comme HER 2... Les résidus tyrosines du domaine intracellulaire se phosphorylent, ce qui active le récepteur EGFR. Ces tyrosines phosphorylées permettent le recrutement de protéines intracellulaires comme SH2, qui permettent à leur tour d'interagir avec le complexe Grb-2/hSos. Ce complexe active la protéine RAS de la voie de signalisation RAS/MAPK, et la protéine PI-3 K de la voie PI-3 K/AKT. Ainsi, la fixation d'un ligand du récepteur EGFR active principalement les voies de signalisation RAS/MAPK et PI-3 K/AKT. (Figure 26) (82)

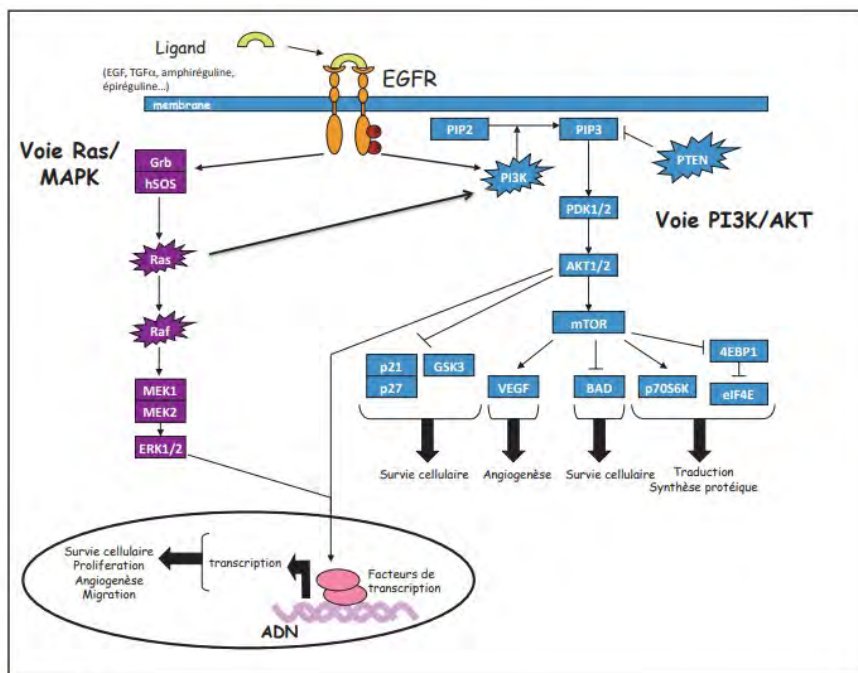
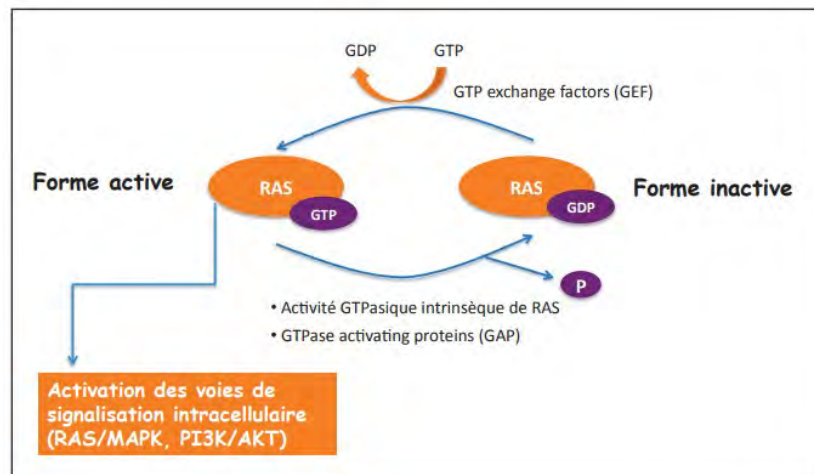


Figure 26 : Voies de signalisation RAS/MAPK et PI-3 K/AKT

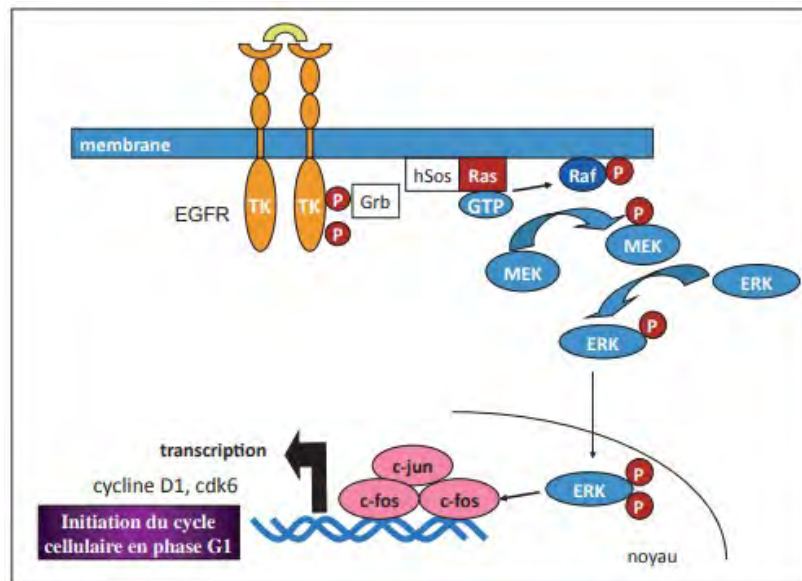
La protéine RAS, recrutée par le complexe Grb2/hSos est localisée à la face interne de la membrane cytoplasmique et ancrée par son extrémité C-terminale à la bicouche phospholipidique. Elle appartient à la famille des GTPases et joue un rôle dans la transmission des signaux extracellulaires vers le noyau de la cellule. La protéine RAS peut être présente sous deux formes : une forme active, liée au GTP et une forme inactive liée au GDP. (Figure 27)



*Figure 27 : Forme active et inactive de la protéine RAS*

Le remplacement du GDP par le GTP permet l'activation de la protéine RAS. Et à l'inverse, l'hydrolyse du GTP en GDP libère un phosphate et inactive la protéine RAS.

Une fois la protéine RAS activée, cette dernière interagit avec les protéines de la famille RAF. (Figure 28)



*Figure 28 : Voie de signalisation RAS/MAPK*

En effet, la protéine de la famille RAF-1 phosphoryle et donc active la protéine MEK. A son tour, la protéine MEK active la protéine ERK par phosphorylation. Une fois phosphorylée, la protéine ERK est transloquée dans le noyau de la cellule et active la transcription de gènes codant des facteurs de transcription, notamment ceux jouant un rôle dans l'initiation du cycle cellulaire.

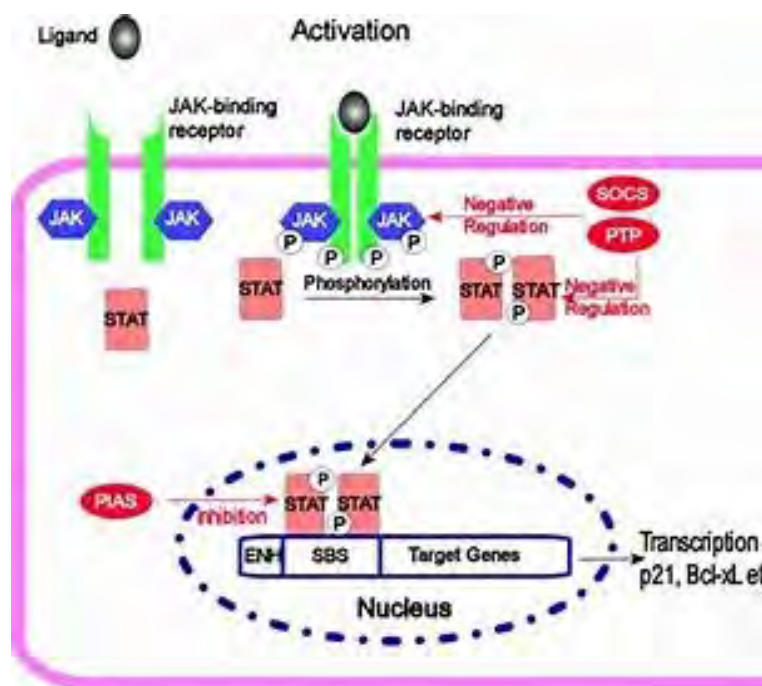
La voie PI-3 K/AKT est une autre voie de signalisation qui peut être activée suite à la fixation d'un ligand sur le récepteur EGFR. L'activation de cette voie peut être initiée soit par le récepteur EGFR lui-même, soit par l'intermédiaire de la protéine RAS. (Figure 26) Les voies RAS/MAPK et PI-3 K/AKT interagissent entre elles et sont donc étroitement liées.

Dans la cascade de signalisation médiée par la PI-3 Kinase, la protéine mTor intervient pour réguler l'ensemble des mécanismes cellulaires. La Pi-3 Kinase est composée de deux sous unités qui interagissent entre elles, la p85 et la p110. La p85 est la partie régulatrice, tandis que la p110 est la partie catalytique. Dès lors que le récepteur à l'EGF est phosphorylé, il se lie à la partie régulatrice p85. Ainsi, la partie catalytique p110 est libre pour transformer PIP2 en PIP3. (Figure 26) Ce dernier est ensuite reconnu par la protéine AKT, qui est à l'origine d'une cascade de phosphorylation sur différentes

protéines. La protéine AKT est capable d'activer la protéine mTor qui stimule à son tour le facteur de croissance VEGF et qui favorise l'angiogénèse. La protéine mTor peut également inactiver des protéines pro-apoptotiques comme Bad, ce qui favorise la survie cellulaire. A l'inverse, la protéine AKT inhibe les protéines p21, p27, GSK3, et stimule la survie cellulaire. (83)

La voie PI-3 K est régulée par la phosphatase PTEN. En effet, cette enzyme est capable de transformer PIP3 en PIP2 et donc d'interrompre cette cascade de signalisation.

La voie JAK/STAT est une voie de signalisation également activée par la fixation de l'EGF sur son récepteur à activité tyrosine kinase, mais dans une moindre mesure par rapport aux deux voies précédentes. Après fixation d'un ligand sur le récepteur EGFR, le récepteur se dimérise comme vu précédemment et les protéines JAK sont phosphorylées. Par la suite, les protéines STAT sont à leur tour phosphorylées, se dimérisent et sont transloquées dans le noyau cellulaire. La résultante de cette cascade de signalisation est la transcription de gènes impliqués dans la survie et la prolifération cellulaire. (Figure 29)



*Figure 29 : Voie de signalisation JAK/STAT*

Des récepteurs tyrosine kinase comme FGFR, IGFR, PDGFR ont également la capacité d'activer les voies de signalisation précédemment citées. (82)

L'ensemble de ces voies de signalisation régulent la survie cellulaire, la prolifération, la migration cellulaire et l'angiogénèse.

Cependant, ces voies de signalisation sont anormalement activées dans de nombreux cancers. Les mécanismes de développement des cancers en lien avec les voies de signalisation sont variés :

- augmentation de l'expression du récepteur tyrosine kinase liée à une augmentation du nombre de récepteurs à la surface de la cellule,
- présence de mutations somatiques au niveau des gènes codant les récepteurs au niveau du domaine extracellulaire, ce qui rend le récepteur constitutivement actif ou au niveau du domaine tyrosine kinase intracellulaire
- augmentation de la quantité de ligands spécifiques du récepteur
- amplification du gène codant le récepteur tyrosine kinase

Par exemple, la voie RAS/MAPK est fréquemment impliquée dans le développement des cancers. Parmi les protéines de la famille RAS, KRAS est un oncogène activé dans près de 20 % des cancers humains. La mutation la plus fréquemment rencontrée est une mutation faux-sens de KRAS qui est responsable d'une accumulation de la protéine RAS sous forme active. Cette mutation touche essentiellement l'acide aminé glycine des codons 12 et 13 du gène KRAS. La conséquence de cette mutation est une activation constitutive de la voie RAS/MAPK et du récepteur EGFR indépendamment de la fixation du ligand spécifique. La fréquence des mutations des gènes NRAS et HRAS est beaucoup moins importante que celle du gène KRAS. (84, 85) Des mutations du gène KRAS sont principalement retrouvées dans les cancers du pancréas, colorectaux, broncho-pulmonaires et dans les adénocarcinomes de l'endomètre et des ovaires.

La protéine BRAF de la famille RAF-1 peut également être mutée. Une substitution d'une valine en acide glutamique en position 600 (V600E) du gène codant la protéine BRAF a été mise en évidence dans des cancers de la thyroïde, colorectaux et les mélanomes. Cette mutation confère une augmentation de l'activité kinase de la protéine BRAF. (86)

L'identification de toutes ces mutations est primordiale, car elles constituent des cibles thérapeutiques intéressantes pour la prise en charge des cancers.

Dans la suite de cette partie, le récepteur tyrosine kinase FLT3 et son ligand seront traités de manière approfondie.

## 2.2) Complexe FLT3 ligand-FLT3 récepteur

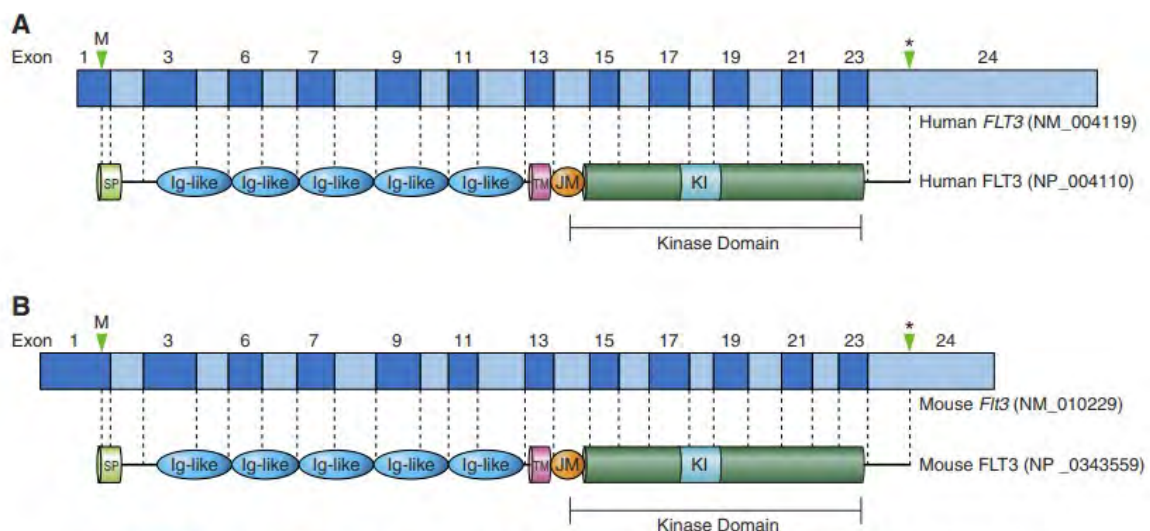
Le récepteur FLT3, également appelé « FIK-2 » ou « STK-1 », est un récepteur tyrosine kinase de classe III. Les récepteurs tyrosine kinase PDGFR, KIT (SCFR) et CSF1R appartiennent également à cette classe. Le récepteur FLT3 est codé par le gène du même nom.

### Gène FLT3

Ce gène FLT3 a tout d'abord été identifié dans le placenta et le foie fœtal de modèles murins en 1991. En 1993, le gène FLT3 humain a été cloné à partir de cellules souches hématopoïétiques et localisé sur le chromosome 13 du génome humain.

Chez l'Homme, ce gène code une protéine constituée de 993 acides aminés et est exprimé dans les cellules hématopoïétiques immatures, le placenta, les gonades et le cerveau. (87)

Le gène FLT3 murin et humain est constitué de 24 exons. (Figure 30)



**Figure 30 :** Structure du gène FLT3 (A : gène humain ; B : gène murin) (87)



Le gène est constitué de différentes parties : un domaine NH2-terminal signal peptide (SP) codé par les deux premiers exons, suivi de cinq domaines extracellulaires « Ig-like » codés par les exons 3 à 12, puis un domaine transmembranaire « TM » codé par l'exon 13 et un domaine juxtamembranaire (JM) codé par l'exon 14. Le domaine kinase occupe la majeure partie de la région intracellulaire et est séparé en deux parties par un court motif appelé « kinase insert » (KI). L'ensemble du domaine kinase est codé par les exons 14 à 23. Le domaine kinase se termine par une extrémité COOH-terminal. (87)

### **Récepteur FLT3**

Le récepteur FLT3 est exprimé à la surface des progéniteurs myéloïdes et lymphoïdes et également à la surface des cellules souches hématopoïétiques. (88) A l'inverse, son expression est diminuée, voire absente, à la surface des cellules différenciées des lignées myéloïdes, érythroïdes, mégacaryocytaires et à la surface des macrophages. (89)

En d'autres termes, ce récepteur est présent dans les cellules immatures impliquées dans le développement hématopoïétique et absent dans les cellules matures. Avec son ligand, ils jouent un rôle important dans la prolifération et la différenciation des cellules progénitrices hématopoïétiques précoces.

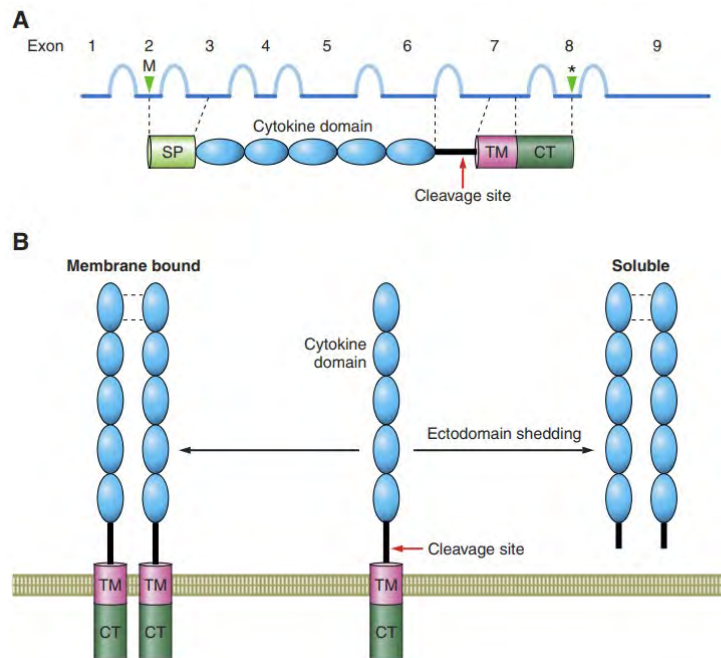
Récemment, l'ARNm du gène FLT3 a été mis en évidence dans différents organes humains : la rate, les ganglions lymphatiques et l'appendice. (90)

Dans une moelle osseuse normale, l'expression du récepteur FLT3 est limitée aux progéniteurs hématopoïétiques, incluant les cellules CD34+ avec un niveau d'expression de CD117 élevé. (91) L'expression de FLT3 augmente au sein des progéniteurs lymphoïdes et myéloïdes communs pour finalement être maximale dans les progéniteurs CFU-GM et les progéniteurs lymphocytaire B. Finalement, après différenciation des cellules précédentes, l'expression de FLT3 devient nulle sauf dans une sous population de monocytes où l'expression est maintenue. (92)

### **Ligand FLT3**

Le ligand du récepteur FLT3 est un facteur de croissance appelé « FLT3 ligand » ou bien « FL », « FLT3LG » ou « FLT3L ». Il s'agit d'une protéine transmembranaire de type I, exprimée initialement comme un précurseur membranaire qui peut subir un clivage protéolytique pour libérer une protéine soluble. (93) (Figure 31) Le ligand peut donc être retrouvé sous deux formes : une forme liée à la membrane (Figure 31B) et une forme

soluble (Figure 31A). Le clivage protéolytique de la forme membranaire du ligand FLT3 est fait par des métallo-protéases de la famille ADAM. Il s'agit principalement de l'enzyme ADAM17 qui est responsable du clivage protéolytique du ligand. (94) Cependant, le site exact de clivage du ligand n'est pas connu à l'heure actuelle.



*Figure 31 : Structures du ligand FLT3 (A : forme soluble ; B : forme liée à la membrane)*  
(87)

Le ligand FLT3 est codé par sept exons et est localisé sur le chromosome 19 du génome humain.

Sa structure se compose d'une extrémité NH<sub>2</sub>-terminal signal peptide, suivi d'un domaine cytokine extracellulaire, d'un domaine transmembranaire et d'une queue cytosolique.

Le ligand FLT3 est exprimé par les cellules du micro-environnement hématopoïétique de la moelle osseuse, y compris les fibroblastes de la moelle osseuse, les cellules hématopoïétiques de la lignée myéloïde et des lignées lymphoïdes B et T.

Les deux formes du ligand sont capables de se lier au récepteur FLT3, de stimuler l'activité tyrosine kinase du récepteur et d'accélérer la croissance des progéniteurs dans la moelle osseuse et le sang. Cependant, le ligand seul n'est pas capable d'induire la prolifération des progéniteurs myéloïdes et lymphoïdes. Des interactions avec d'autres facteurs de croissance et des interleukines sont nécessaires. (95, 96)

Il est à noter également que le ligand FLT3 joue un rôle important dans la réponse immunitaire.

En effet, les modèles murins caractérisés par l'absence du gène codant le ligand FLT3 sont associés à un défaut de réponse immunitaire, une réduction des progéniteurs myéloïdes, des progéniteurs lymphocytaires B, des cellules dendritiques et des cellules natural killer. (97)

Ainsi, il semblerait que le ligand FLT3 stimule la prolifération des cellules dendritiques et des cellules natural killer et agisse comme un agent antitumoral. (98, 99)

Cependant, dans les leucémies aiguës, l'administration du ligand FLT3 peut poser problème. En effet, la stimulation du récepteur FLT3 par son ligand favorise la prolifération et la survie des blastes leucémiques. (100)

Ainsi, l'administration du ligand FLT3 peut renforcer l'immunité antitumorale, mais à l'inverse, il peut également accroître la croissance et la survie des cellules blastiques.

### **Régulation du gène FLT3**

Le gène FLT3 est régulé par des régions promotrices ; ces dernières ont été largement étudiées.

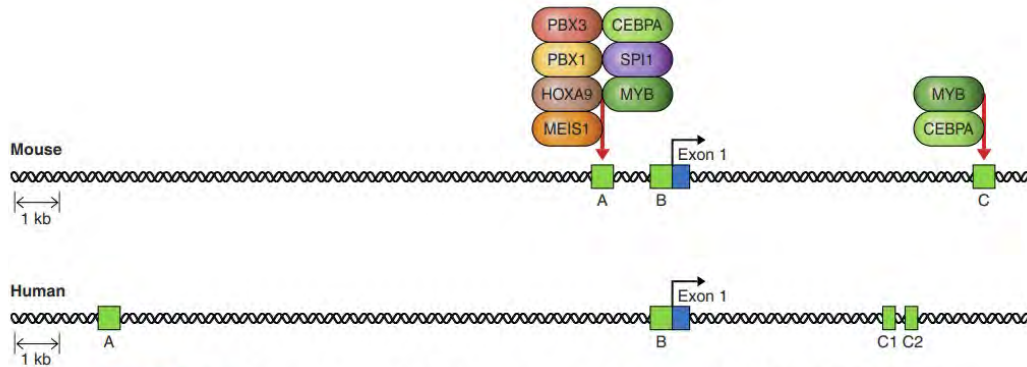
Trois domaines « cis-régulateurs » sont retrouvés proche du site d'initiation de la transcription du gène FLT3 dans les génomes humain et murin. (101)

Le facteur de transcription MEIS1, premier identifié dans les modèles murins de LAM, est co-exprimé avec le facteur de transcription HOXA9 dans les leucémies. Ces deux facteurs de transcription sont probablement nécessaires pour la survie et le maintien des cellules souches leucémiques dans les niches hématopoïétiques. (102)

L'expression de ces deux facteurs de transcription est dépendante de l'interaction avec les facteurs de transcription PBX. En effet, PBX1 est un régulateur de la transcription du gène FLT3 et il a été mis en évidence récemment que l'interaction entre PBX3 et MEIS1 est primordiale pour la transcription de FLT3. (103) Or, le facteur de transcription MEIS1 interagit avec HOXA9. Ainsi, il semblerait que le complexe composé des trois facteurs de transcription MEIS1/PBX/HOXA9 soit nécessaire pour une activation complète de la transcription du gène FLT3. (103) (Figure 32)

La transcription du gène FLT3 est également régulée par l'expression simultanée d'autres gènes. (Figure 33) Les sites de liaison des facteurs de transcription dans le promoteur du

gène FLT3 ont été identifiés. (87) Les génomes humain et murin comportent trois régions entourant le site d'initiation de la transcription. Les deux premiers sites sont dans la région promotrice, tandis que le troisième site est localisé dans le premier exon du gène FLT3. (101, 104)



*Figure 32 : Région promotrice et sites de liaison des facteurs de transcription du gène FLT3 (87)*

Le gène CEPBA impliqué dans le développement des polynucléaires neutrophiles et des granulocytes influe sur le niveau d'expression de FLT3. Une surexpression du gène CEPBA conduit à une inhibition de la transcription du gène FLT3. (104)

Un autre exemple est l'impact du gène MYB sur l'expression de FLT3. MYB est un oncogène impliqué dans le développement des leucémies myéloïdes chroniques et des leucémies aiguës lymphoïdes. L'inhibition du gène MYB conduit à une inhibition de la transcription du gène FLT3 et à l'inverse, une surexpression de MYB favorise la transcription de FLT3. (104) D'après ces observations, il semblerait que l'oncogène MYB soit un régulateur de la transcription de FLT3.

Dans les modèles murins, il a été mis en évidence que les facteurs de transcription MEIS1, HOXA9, PBX1/PBX3 se lient à la région A, tandis que les facteurs CEPBA et MYB ont la capacité de se lier aux régions A et C. Ces observations, initialement identifiées dans le génome murin ont été retrouvées dans le génome humain. (104)

### **Modifications post-traductionnelles du récepteur FLT3**

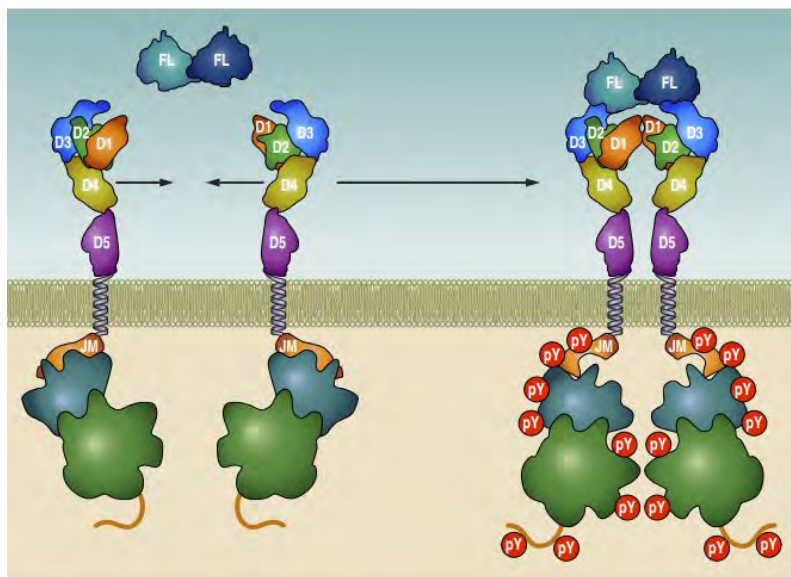
Comme de nombreux récepteurs tyrosine kinase de classe III, le récepteur FLT3 subit de nombreuses modifications post-traductionnelles, comme par exemple les N-glycosylations du domaine extracellulaire. Cela induit une augmentation du poids moléculaire de la protéine codée par ce gène.

Ce phénomène de glycosylation survient en deux temps. Lors de la traduction, le récepteur FLT3 entre dans le réticulum endoplasmique où a lieu une glycosylation partielle de la protéine pour former une forme immature du récepteur. Dans un second temps, la forme immature est transférée dans l'appareil de Golgi où la glycosylation finale produit la forme mature du récepteur. Le récepteur FLT3 mature est ensuite transporté à la surface de la cellule. Les sites de N-glycosylation sont localisés au niveau du domaine extracellulaire et sont au nombre de neuf. (105)

D'autres modifications post-traductionnelles peuvent survenir, par exemple : une phosphorylation des sérines, tyrosines et thréonines ou une ubiquitination. Les sites de phosphorylation sont localisés dans le domaine intracellulaire et représentent les sites de fixation pour les interactions avec les protéines de signalisation.

### Activation du récepteur FLT3

Après avoir subi ces modifications post-traductionnelles, le récepteur FLT3 est transporté à la surface de la cellule, au niveau de la membrane plasmique. Le récepteur présent sous forme monomérique est inactif jusqu'à la fixation d'un ligand sur le domaine extracellulaire. La forme inactive est maintenue par l'interaction entre le domaine juxtamembranaire et le domaine kinase. (Figure 33) C'est la raison pour laquelle les mutations de type délétions au niveau du domaine juxtamembranaire conduisent à une activation constitutive du récepteur. (106)



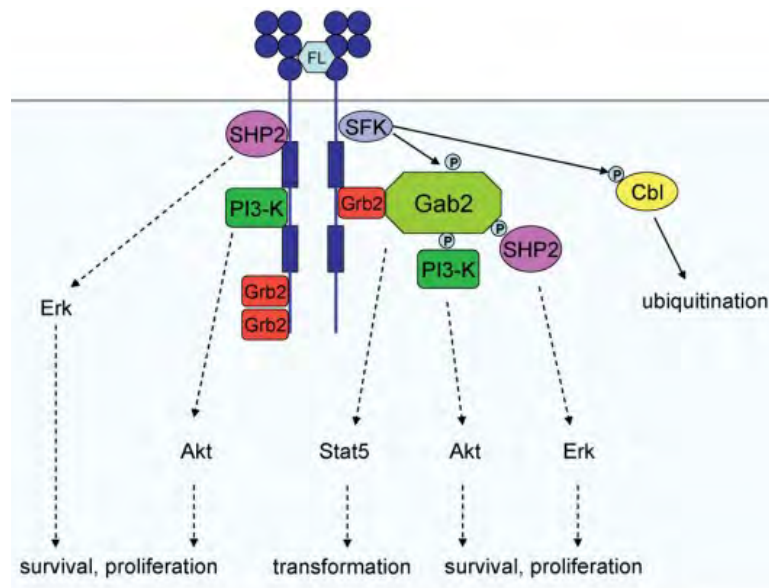
*Figure 33 : Mécanisme d'activation du récepteur FLT3 (87)*

L'interaction entre le domaine juxtamembranaire et le domaine kinase bloque le site de liaison de l'ATP.

Finalement, un ligand sous forme dimérique se lie à deux récepteurs FLT3 via le domaine D3. Cela induit la dimérisation du récepteur. Des changements conformationnels s'opèrent ensuite au niveau du domaine intracellulaire. En effet, le domaine juxtamembranaire auto-inhibiteur est déplacé du domaine kinase, ce dernier devient alors accessible pour l'ATP. L'ensemble de ces modifications favorise l'auto-phosphorylation de plus de dix résidus tyrosines. La phosphorylation des résidus tyrosines est caractéristique de l'activation du récepteur FLT3.

Ces résidus phosphorylés se lient aux domaines SH2 des protéines suivantes et induisent leur activation : p85 et GRB2. (107) Ce sont finalement deux voies de signalisation qui

seront activées par la suite : la voie PI-3 K/AKT et la voie des RAS/MAPK. Ces voies sont impliquées dans la survie et la prolifération cellulaire. (Figure 34)



*Figure 34 : Voies de signalisation activées par la liaison du ligand FLT3 sur son récepteur (108)*

En cas de mutations FLT3-ITD, une troisième voie de signalisation peut être activée : la voie JAK/STAT. Par l'intermédiaire de protéines telles que Stat5, Pim-1, Cdc25A, Bad et Bcl-2, cette voie de signalisation joue un rôle anti-apoptotique et est impliquée dans la progression du cycle cellulaire. En effet, cette voie favorise la transformation des cellules progénitrices en cellules tumorales. (108)

### **Rôle du complexe FLT3 récepteur/FLT3 ligand**

En conditions physiologiques, le ligand FLT3 est présent dans les leucocytes sanguins périphériques, la rate, le thymus et d'autres organes périphériques comme les ovaires, la prostate, les reins, les muscles squelettiques, le foie, les poumons... L'ARNm du ligand est donc largement exprimé. En temps normal, le taux de ligand FLT3 dans le plasma est faible, mais en conditions pathologiques, par exemple une anémie, un stress de la moelle osseuse, ou lors d'un traitement de chimiothérapie ou de radiothérapie, le taux plasmatique du ligand augmente. (109, 110)

Il est donc probable que l'action du ligand soit paracrine en conditions physiologiques et qu'elle devienne endocrine en situation de stress pathologique.

Contrairement à d'autres cytokines impliquées dans le système hématopoïétique, le ligand FLT3 est étroitement régulé. Il est produit de manière constitutive par les lymphocytes T, stocké en intracellulaire et libéré lors de certains stimuli. Les taux sériques de ligand FLT3 sont inversement proportionnels aux nombres et à la capacité de prolifération des progéniteurs hématopoïétiques précoces. (111)

Un défaut de production du ligand FLT3 conduit à un taux de leucocytes réduit dans la moelle osseuse, la rate, les ganglions lymphatiques et le sang périphérique ; à une réduction du nombre de progéniteurs myéloïdes et lymphoïdes de type B dans la moelle osseuse ; à un nombre réduit de cellules dendritiques dans le thymus, les ganglions lymphatiques et la rate ; à un taux diminué de cellules natural killer dans la rate.

Le rôle du ligand FLT3 en temps normal est de favoriser la prolifération et la survie des progéniteurs hématopoïétiques et des progéniteurs lymphocytaires B. Cependant, le ligand a besoin d'autres cytokines pour exercer son action proliférative. En effet, le ligand seul n'est pas capable de stimuler la prolifération des progéniteurs, il agit en coopération avec les interleukines suivantes : IL-6, IL-7, IL-11, CSF-1 et SCF. (112)

La thrombopoïétine et le facteur de croissance granulocytaire (G-CSF) agissent également en synergie avec le ligand FLT3 pour favoriser la prolifération des progéniteurs hématopoïétiques. (112)

Dans des études récentes réalisées sur des modèles animaux, il a été démontré que le ligand FLT3 a un effet inhibiteur sur la croissance des cellules malignes, probablement dû à l'action des cellules dendritiques. En effet, le ligand stimule la prolifération et l'expansion de ces cellules. D'après les études, le ligand inhiberait la croissance des mélanomes et des cellules lymphomateuses chez les souris. (113) Ces effets sont également observés dans les cancers ovariens épithéliaux.

Ces effets bénéfiques seraient probablement en lien avec une réponse immunitaire plus importante en présence de tumeur, ce qui contribuerait à une réduction de la croissance tumorale. Le ligand FLT3 agit finalement comme un régulateur négatif de la croissance des cellules malignes. (114)

Finalement, l'activation du récepteur FLT3 par son ligand joue un rôle important dans la mise en place de l'immunité innée et de l'immunité acquise. En effet, l'expression du récepteur est indispensable pour le développement et la prolifération des cellules souches



hématopoïétiques et des progéniteurs lymphocytaires B. Ce complexe ligand/récepteur régule également le développement et la prolifération des cellules dendritiques et des cellules natural killer, acteurs clés de l'immunité innée.

Cependant, il semblerait que ce récepteur soit fortement impliqué dans les leucémies.

En effet, d'après de nombreuses études, le récepteur FLT3 est fortement exprimé dans 70 à 100 % des cas de LAM et dans une grande majorité des cas de LAL. (115) Les données obtenues mettent en évidence un effet prolifératif du récepteur FLT3 et son ligand sur les blastes leucémiques.

Plus d'un millier de mutations du gène FLT3 ont été identifiées au cours des dernières années. Les mutations du gène FLT3 peuvent être de deux types :

- duplications en tandem interne (ITD) ou « FLT3-ITD ». Ces mutations ont été identifiées pour la première fois en 1996 au niveau du domaine juxtamembranaire du gène FLT3. (Figure 36)

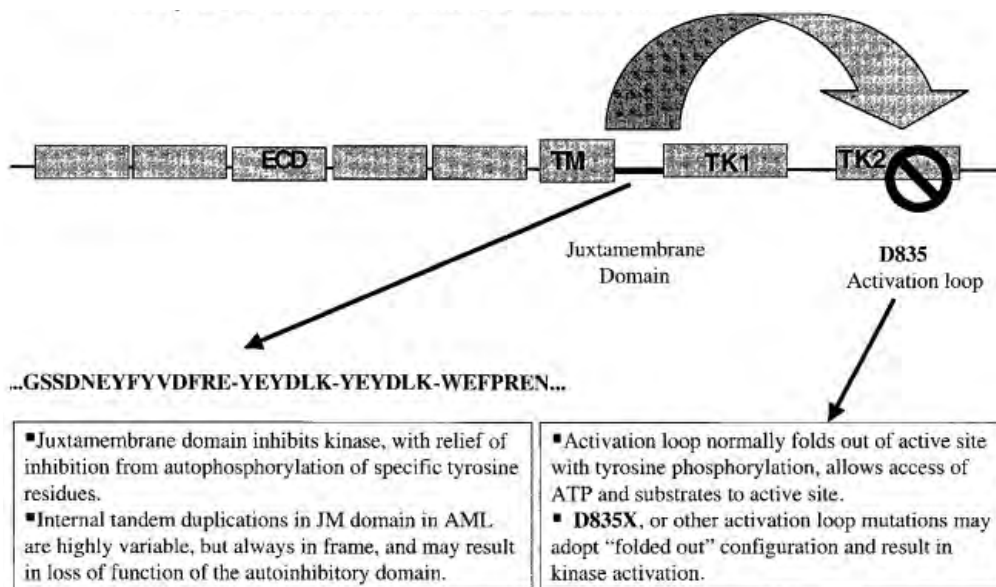
Ce type de mutations est retrouvé dans environ 20 à 25 % des patients atteints de LAM, mais rarement présent chez les patients atteints de LAL. (116) La fréquence des mutations FLT3-ITD dans la population pédiatrique atteint de LAM est plus faible que dans la population adulte, c'est à dire 10 à 15 % vs 20 à 25 % comme mentionné précédemment. (117) En revanche, la fréquence des mutations augmente avec l'âge. (118) Ces mutations sont mises en évidence dans tous les sous-types de LAM de la classification FAB, avec une fréquence particulièrement élevée pour le sous-type M3, et la fréquence la plus faible mise en évidence pour le sous-type M2. (116, 117) Dans les cas de LAM secondaires, les mutations FLT3-ITD sont également présentes avec une fréquence d'environ 15 % et associées à un risque de rechute ou de progression de la maladie.

Pour rappel, le domaine juxtamembranaire maintient le récepteur sous forme inactive. Une fois le ligand fixé à la surface du récepteur, cette inhibition est levée par l'auto-phosphorylation des résidus tyrosines.

Les mutations de type FLT3-ITD correspondent à la duplication d'une séquence d'acides aminés, de longueur variable d'un patient à l'autre, mais le cadre de lecture reste conservé. Initialement identifiées dans le domaine juxtamembranaire, elles peuvent également être présentes au niveau du domaine kinase. (119)

Ces séquences répétées induisent une perte de la fonction auto-inhibitrice du domaine juxtamembranaire et donc une activation constitutive du récepteur.

- mutations dans la boucle activatrice du gène codant le récepteur FLT3 ou « FLT3-TKD ». (Figure 35) Cette boucle activatrice maintient le récepteur tyrosine kinase sous forme inactive en bloquant l'accès de l'ATP et du substrat au domaine kinase. C'est principalement la mutation de type « Asp835 » qui est retrouvée au niveau de la boucle activatrice. En effet, la substitution de l'acide aspartique en position 835, acide aminé hautement conservé dans les récepteurs tyrosine kinase, est retrouvée dans environ 7 % des cas de LAM. (120) La substitution en tyrosine est la plus fréquente, mais l'acide aspartique peut également être substitué par une valine, une histidine... Dans ce cas également, la conséquence est une activation constitutive du récepteur FLT3.



*Figure 35 : Type de mutations du récepteur FLT3 (121)*

Finalement, 30 % des patients atteints de LAM présentent des mutations du gène FLT3, incluant les mutations de type ITD et les mutations de la boucle activatrice.

D'après les études réalisées, FLT3 est le gène le plus muté chez les patients atteints de LAM.

De part sa fréquence importante, le gène FLT3 constitue une cible thérapeutique incontournable. Cependant, avant de débiter un traitement par inhibiteur de tyrosine kinase FLT3, la présence de mutations doit être recherchée. Dans la suite de cette partie, les différents inhibiteurs du récepteur tyrosine kinase FLT3 vont être développés.

Les inhibiteurs de FLT3 inhibent de manière compétitive la liaison de l'ATP au niveau du domaine tyrosine kinase. En effet, ils se fixent à la place de l'ATP et empêchent ainsi l'activation du récepteur tyrosine kinase et la cascade de signalisation.

Il est possible de classer les inhibiteurs de FLT3 en fonction de leur cible : les inhibiteurs de première génération sont des inhibiteurs dits « multi-kinase » tandis que les inhibiteurs de deuxième génération sont plus spécifiques.

Une autre classification est possible en fonction de la position de trois acides aminés à la base de la boucle activatrice. Dans la position dite « DFG-in », la poche de l'ATP est accessible. A l'inverse, la poche de l'ATP est inaccessible dans la position « DFG-out » et les acides aminés D835 et Y842 stabilisent cette conformation. Les inhibiteurs de FLT3 de type I ciblent les deux conformations, « DFG-in » et « DFG-out », autrement dit ils se lient au récepteur dans sa conformation active et inactive. Les inhibiteurs de type I sont généralement efficaces dans le traitement des LAM avec mutations de type FLT3-ITD et FLT3-TKD.

En revanche, les inhibiteurs de FLT3 de type II ciblent exclusivement la conformation « DFG-out ». En effet, ils interagissent avec une région hydrophobe adjacente au site de liaison de l'ATP qui n'est accessible que lorsque le récepteur est dans une conformation inactive. Ainsi, une mutation de type FLT3-TKD sur les acides aminés suivants, D835 ou Y842, empêche la stabilisation de la conformation du récepteur et rend les inhibiteurs de type II inefficaces contre ce type de mutations. Certaines mutations de type FLT3-TKD resteront tout de même sensibles aux inhibiteurs FLT3 de type II, en fonction de type de substitutions. (122)

## **2.3) Inhibiteur tyrosine kinase de 1ère génération**

### **Dovitinib (TKI258, CHIR258)**

Cette molécule est un inhibiteur dit « multi-kinase », elle inhibe le récepteur FLT3, mais également d'autres récepteurs tyrosine kinase de classe III, IV et V.

Le Dovitinib ne possède pas d'indications à l'heure actuelle, y compris dans les leucémies aiguës myéloïdes.

## **Lestaurtinib (CEP701)**

Cette molécule inhibe les récepteurs tyrosine kinase FLT3 et JAK2 mais également les récepteurs kinases à tropomyosine. Il s'agit d'un inhibiteur de type I.

Le Lestaurtinib est un alcaloïde dérivé de la fermentation bactérienne d'un composé, le K-252a. A l'heure actuelle, le Lestaurtinib ne possède pas d'indications.

Cette molécule exercerait une action cytotoxique sur les cellules leucémiques, à la fois sur celles qui portent la mutation FLT3, mais également sur les cellules wild-type FLT3. (123)

Une étude de phase 2 a été réalisée avec le Lestaurtinib, utilisé en monothérapie en première ligne de traitement chez des patients âgés atteints de LAM et considérés comme inaptes à recevoir une chimiothérapie intensive. Cette molécule était donnée par voie orale initialement à la dose de 60 mg deux fois par jour avec une augmentation possible à 80 mg deux fois par jour, sans tenir compte de leur statut FLT3, pendant huit semaines.

Il ressort de cette étude une diminution transitoire du nombre de blastes myéloïdes dans le sang périphérique et dans la moelle osseuse pour 3 des 5 patients porteurs de mutations FLT3 et pour 5 des 22 patients wild-type FLT3. (124)

Le Lestaurtinib a également été évalué en monothérapie chez des patients ayant une LAM mutée FLT3, réfractaire ou en rechute. Quatorze patients ont reçu une dose initiale de Lestaurtinib de 60 mg par voie orale deux fois par jour. Les auteurs de l'étude ont mis en évidence une réponse clinique et biologique chez cinq patients (36 %) avec notamment une réduction significative des cellules blastiques myéloïdes dans le sang périphérique et la moelle osseuse. Toutefois, les réponses ont été généralement brèves et ont duré de deux semaines à trois mois. (125)

De plus, *Knapper et al* ont montré que l'association du Lestaurtinib à la chimiothérapie conventionnelle, en première ligne de traitement, n'améliore pas la survie sans rechute n'améliore pas la survie globale à 5 ans et la survie sans rechute des patients jeunes atteints de LAM, nouvellement diagnostiquée et porteurs de mutations de type FLT3-ITD et FLT3-TKD. (126)

Ainsi, le Lestaurtinib n'est plus en développement clinique à ce jour.

## Midostaurine (PKC412)

La Midostaurine est un inhibiteur des récepteurs suivants : PDGFR, VEGFR, PKC, FLT3 et KIT.

Il s'agit d'un inhibiteur de type I.

Cette molécule, administrée par voie orale, est dérivée de la staurosporine, un alcaloïde pro-apoptotique, isolé à partir d'une bactérie, *Streptomyces staurosporeus*.

A l'heure actuelle, cette molécule possède plusieurs indications :

- traitement des patients adultes présentant une LAM nouvellement diagnostiquée avec mutation du gène FLT3, en association avec une chimiothérapie standard d'induction associant daunorubicine et cytarabine et une chimiothérapie de consolidation avec cytarabine haute dose, suivie pour les patients en rémission complète, d'un traitement d'entretien par Midostaurine en monothérapie
- traitement des patients adultes présentant une mastocytose systémique agressive (MSA), une mastocytose systémique associée à une autre hémopathie maligne ou une leucémie à mastocytes, en monothérapie. (127)

Ce médicament nécessite une surveillance particulière pendant la durée du traitement et est soumis à prescription hospitalière : prescription réservée aux spécialistes en hématologie, en oncologie, aux médecins compétents en maladies du sang ou en cancérologie, aux spécialistes en dermatologie ou en médecine interne. (127)

Concernant les propriétés pharmacocinétiques, cette molécule est rapidement absorbée (1 à 3 heures) après administration par voie orale. L'aire sous la courbe augmente et la concentration maximale diminue lorsqu'elle est administrée avec les repas, surtout si le repas est riche en graisses. Par conséquent, la Midostaurine doit être administrée pendant les repas.

La Midostaurine circule principalement liée aux protéines plasmatiques (98 %), et se diffuse surtout dans le plasma plutôt que dans les globules rouges.

Elle est métabolisée au niveau hépatique par le cytochrome P450 3A4 pour donner deux métabolites actifs : CGP62221 et CGP52421. Cela implique une contre-indication ou une utilisation prudente de Midostaurine avec des inducteurs enzymatiques du CYP3A4.

Selon les données *in vitro*, la Midostaurine et/ou ses métabolites auraient la capacité d'inhiber les cytochromes suivants : CYP1A2, CYP2D6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2E1 et

CYP3A4/5. A l'inverse, ils auraient un rôle d'inducteur sur les cytochromes CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C9 CYP2C19 et CYP3A4/5. La Midostaurine aurait également un impact sur les transporteurs : d'après les études *in vitro*, cette molécule inhibe les transporteurs OAT-P1-B1, BCRP et P-glycoprotéine (P-gp).

La Midostaurine est principalement éliminée dans les fèces et sa demi-vie d'élimination est de 21 heures. (128)

La Midostaurine est disponible sous forme de capsules molles dosées à 25 mg.

Cependant, les posologies de Midostaurine varient en fonction des indications :

- Pour les patients atteints de LAM, la dose recommandée est de 50 mg deux fois par jour lors d'un repas de J8 à J21 de chaque cycle de chimiothérapie d'induction par cytarabine et daunorubicine et de J8 à J21 de chaque cycle de chimiothérapie de consolidation par cytarabine haute dose.
- Pour les patients présentant une mastocytose systémique agressive (MSA), une mastocytose systémique associée à une autre hémopathie maligne ou une leucémie à mastocytes, la dose recommandée est de 100 mg deux fois par jour lors d'un repas. Le traitement sera poursuivi jusqu'à progression de la maladie ou jusqu'à l'apparition d'une toxicité inacceptable. (127, 128)

Les effets indésirables les plus fréquemment retrouvés au cours des essais cliniques sont les suivants : neutropénies fébriles, nausées, vomissements, mucites, céphalées, pétéchies, douleurs musculo-squelettiques, épistaxis, infections sur cathéter, hyperglycémies, infections des voies respiratoires supérieures. (129)

L'intérêt de la Midostaurine a été démontré par de nombreux essais cliniques ; quelques résultats d'études menées sur cette molécule vont être présentés dans la suite de cette partie.

Un essai clinique de phase IIB, randomisé, réalisé chez 95 patients souffrant de LAM ou de syndrome myélodysplasique, FLT3 sauvage (n = 60) ou muté (n = 35), ont reçu 50 ou 100 mg de Midostaurine par voie orale, deux fois par jour. Le médicament a été arrêté en l'absence de réponse à 2 mois de traitement, de progression de la maladie ou de toxicité inacceptable. La réponse a été définie comme une réponse complète, une réponse partielle, une amélioration hématologique ou une réduction supérieure à 50 % des blastes

du sang périphérique ou de la moelle osseuse. Cette réduction du nombre de blastes périphériques ou de la moelle osseuse a été mise en évidence chez 71 % des patients porteurs de mutations FLT3 et chez 42 % des patients FLT3 sauvage, sur une durée moyenne de 60 et 83 jours, respectivement. Sur l'ensemble des patients de l'étude, une réponse partielle s'est produite chez un patient porteur de mutations FLT3 et traité à 100 mg de Midostaurine, deux fois par jour. Le traitement a été bien toléré par les patients participant à l'étude, avec comme effets secondaires principaux, des nausées et vomissements d'intensité légère à modérée. D'après les auteurs, il ne semble pas y avoir d'association entre les effets secondaires et la dose de Midostaurine ou le statut FLT3 du patient. Ces résultats suggèrent que la Midostaurine a une activité hématologique chez les patients atteints de LAM, peu importe le statut du récepteur FLT3. (130)

Quand la Midostaurine est combinée à la chimiothérapie conventionnelle en traitement d'induction chez des patients jeunes atteints de LAM nouvellement diagnostiquée, cette molécule induit des taux de rémission et de survie importants, quel que soit le statut FLT3 des patients. En effet, c'est ce qui a été mis en évidence par une étude de phase IB, dont le but était le suivant : déterminer une dose efficace et sûre de Midostaurine qui pourrait être administrée avec une chimiothérapie d'induction par cytarabine et daunorubicine et avec une chimiothérapie de consolidation par cytarabine haute dose. Le taux de rémission complète obtenue avec une dose de 50 mg deux fois par jour était de 80 % ; 92 % pour les patients porteurs de mutations FLT3 et 74 % pour les patients sans mutations FLT3. Les probabilités de survie globale des patients atteints de LAM mutées FLT3 à 1 et 2 ans (85 % et 62 %, respectivement) étaient semblables à celles des patients sans mutations FLT3 (78 % et 52 %, respectivement). La Midostaurine était généralement bien tolérée à 50 mg deux fois par jour pendant 14 jours après la chimiothérapie d'induction.

Les résultats de cette étude suggèrent que l'ajout de la Midostaurine à la chimiothérapie d'induction peut nettement améliorer les taux de rémission complète et de survie globale des jeunes patients nouvellement diagnostiqués atteints de LAM mutées FLT3. (131)

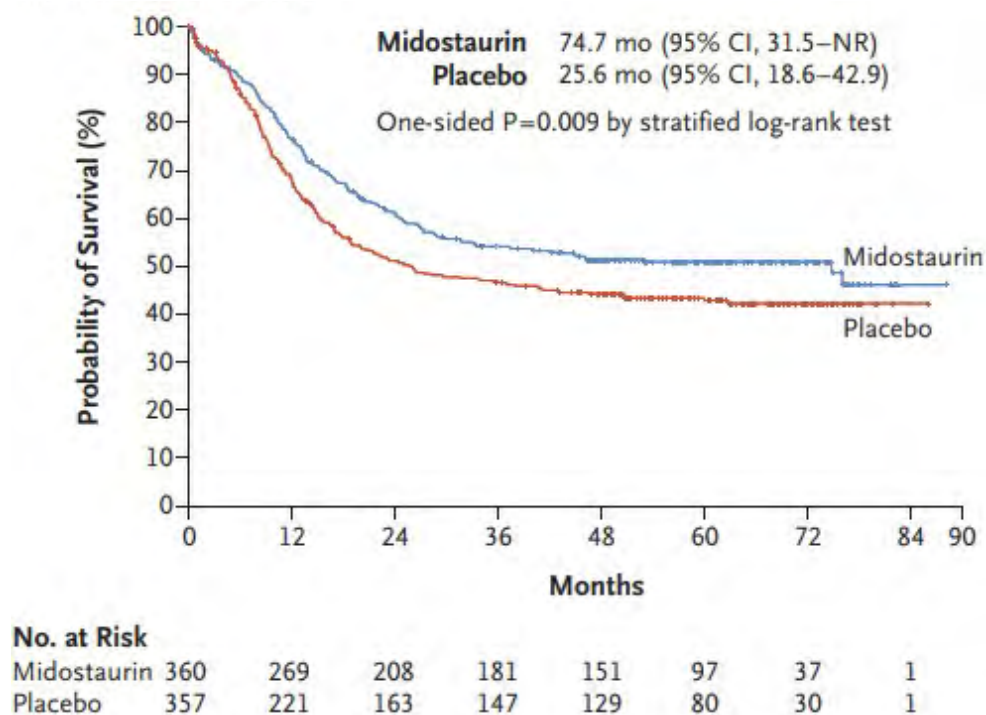
Cependant, cette étude de faible portée doit être confirmée par une étude de phase III réalisée à plus grande échelle.

Par la suite, un essai clinique de phase III, CALGB 10603 (RATIFY), international, randomisé, en double-aveugle a été réalisé dans le but de déterminer si l'ajout de Midostaurine au traitement d'induction et de consolidation suivi d'un traitement d'entretien

pendant un an améliorerait la survie globale, par rapport à la chimiothérapie habituelle chez les jeunes adultes atteints de LAM mutées FLT3, nouvellement diagnostiquées. Les patients âgés de 18 à 60 ans ont été répartis de manière aléatoire, pour recevoir une chimiothérapie standard d'induction par daunorubicine et cytarabine et une chimiothérapie de consolidation par cytarabine à forte dose associée à la Midostaurine ou au placebo. La Midostaurine était donnée à la dose de 50 mg deux fois par jour, de J8 à J21 après la chimiothérapie d'induction et après la chimiothérapie de consolidation. Les patients en rémission après le traitement de consolidation sont entrés dans une phase d'entretien au cours de laquelle ils ont reçu pendant un an de la Midostaurine ou du placebo. Au total, 717 patients ont participé à l'étude : 360 patients dans le groupe Midostaurine et 357 patients dans le groupe placebo.

La randomisation s'est opérée en fonction du rapport allélique des mutations ITD, faible (0,05 à 0,7) ou élevé (> 0,7), ou des mutations TKD. Le sous-type FLT3 était ITD (élevé) chez 214 patients, ITD (faible) chez 341 patients et TKD chez 162 patients.

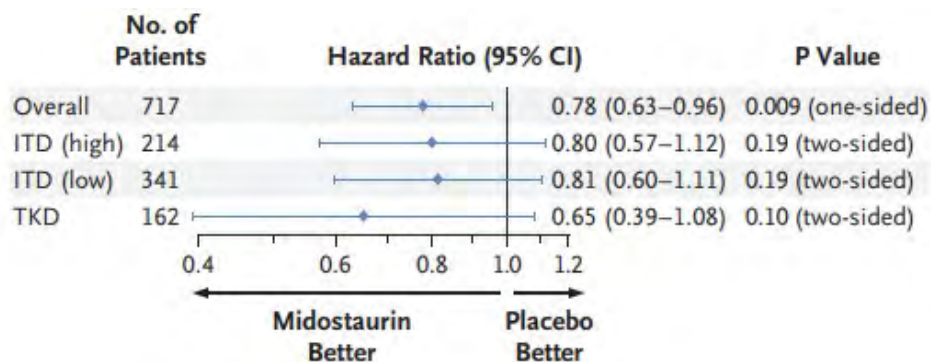
D'après les résultats de l'étude, la durée médiane de survie globale était significativement plus importante dans le groupe Midostaurine que dans le groupe placebo : 74,7 mois contre 25,6 mois, respectivement ( $p = 0,009$ ). (Figure 36)



*Figure 36 : Survie globale moyenne des patients de l'essai clinique CALGB 10603*



Ce constat est également observé pour la survie sans évènement ( $p = 0,004$ ). A noter que le taux de rémission complète n'est pas impacté par la Midostaurine. En effet, le taux de rémission complète est semblable dans le groupe placebo et dans le groupe Midostaurine : 53.5% dans le groupe placebo et 58.9% dans le groupe Midostaurine. Selon l'analyse en sous groupes à posteriori, la survie des patients traités par Midostaurine ne diffère pas de manière significative en fonction du statut FLT3. (Figure 37)



*Figure 37 : Survie globale des patients de l'essai clinique CALGB 10603 en fonction du statut FLT3*

Concernant les effets indésirables sévères, leurs fréquences sont semblables dans les deux groupes.

Grâce à cette étude, les auteurs ont conclu que le fait d'ajouter la Midostaurine à la chimiothérapie standard et de la maintenir pendant un an en traitement d'entretien, prolonge de manière significative la survie globale et la survie sans évènement. L'ajout de Midostaurine à la chimiothérapie réduit le risque de décès des patients de 22 % par rapport au groupe chimiothérapie et placebo. (132, 133)

Une étude multicentrique de phase II, RADIUS, a été réalisée dans le but d'évaluer un traitement standard avec ou sans Midostaurine, pour prévenir les rechutes à la suite d'une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques chez des patients atteints de LAM et porteurs de mutations de type ITD au niveau du récepteur FLT3. Les patients âgés de 18 à 70 ans en rémission complète après l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques ont été répartis de manière aléatoire en deux groupes, pour recevoir un traitement standard avec ou sans Midostaurine à la posologie de 50 mg deux fois par jour, en traitement continu pendant douze cycles de quatre semaines. Au total, 60 patients ont été

inclus dans l'étude : 30 patients recevant un traitement standard post-allogreffe et 30 patients recevant le même traitement standard associé à la Midostaurine. Finalement, 30 patients ont réalisé les douze cycles de traitement post-allogreffe de cellules souches hématopoïétiques, soit 14 dans le groupe de traitement standard et 16 dans le groupe de traitement standard associé à la Midostaurine. La probabilité de survie sans rechute à 18 mois est estimée à 89 % dans le groupe de traitement associé à la Midostaurine, contre 76 % dans le groupe de traitement standard [(Hazard Ratio IC 95% = 0.12-1.86); p = 0.27]. Le taux de rechute est estimé à 11 % pour le groupe de traitement associé à la Midostaurine, contre 24 % pour le groupe de patients recevant le traitement standard. L'amélioration de la survie globale à 2 ans est également observée lors de l'ajout de Midostaurine ; elle est estimée à 85 % pour le groupe de patients traité par la Midostaurine et à 76 % pour les patients recevant le traitement standard [(IC 95 % = 0,19-1,79) ; p = 0,34]. Les effets indésirables principalement retrouvés lors de l'étude sont : diarrhées, nausées et vomissements. Le taux de réactions du greffon contre l'hôte était similaire dans les deux groupes de traitements.

D'après les résultats de cette étude, l'ajout de Midostaurine au traitement d'entretien post-allogreffe de cellules souches hématopoïétiques conduit à des résultats cliniques satisfaisants chez des patients atteints de LAM et porteurs de mutations FLT3-ITD. En effet, la Midostaurine, associée au traitement d'entretien standard, permet d'améliorer la survie sans rechute à 18 mois post-allogreffe de cellules souches hématopoïétiques. Bien que l'étude n'ait pas permis de détecter une différence nette entre les deux traitements, la Midostaurine démontre tout de même un avantage pour tous les paramètres d'efficacité évalués. (134)

Étant donné que la LAM mutée FLT3-ITD présente un risque de rechute plus élevé que la LAM sans mutations FLT3, l'ajout d'un traitement d'entretien par la Midostaurine en post-allogreffe de cellules souches hématopoïétiques peut être une option viable pour réduire le risque de rechute chez certains patients. Cette étude constitue un point de repère pour les études futures car les patients ciblés n'ont pas été exposés aux inhibiteurs de tyrosine kinase anti-FLT3 avant l'allogreffe. Ces résultats complètent ceux de l'essai AMLSG 16-10, qui a démontré une amélioration de la survie sans événement chez les patients atteints de LAM FLT3-ITD positif qui ont reçu de la Midostaurine avant l'allogreffe et qui ont débuté la

Midostaurine dans les 100 jours suivant l'allogreffe, par rapport aux patients qui n'ont reçu de la Midostaurine qu'en pré-greffe. (135)

Les données de l'étude RADIUS et de l'étude AMLSG 16-10 suggèrent que le traitement d'entretien par la Midostaurine pourrait être plus approprié pour les patients âgés de 18 à 70 ans atteints de LAM FLT3-ITD positif qui sont en rémission complète après l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques et qui peuvent commencer rapidement un traitement par la Midostaurine, idéalement dans les 60 jours post-allogreffe.

Pour les patients les plus fragiles, inaptes à recevoir une chimiothérapie d'induction et pour les patients en rechute ou réfractaire au traitement d'induction, une étude de phase I a montré l'intérêt de combiner un traitement par un agent déméthylant, comme la Decitabine et la Midostaurine. Ces deux molécules agiraient de manière synergique contre les cellules leucémiques porteuses de mutations de type FLT3-ITD. Les résultats cliniques sont en faveur d'une utilisation séquentielle plutôt qu'une utilisation simultanée de ces deux molécules. En effet, un traitement par Decitabine suivi par la Midostaurine n'induit pas de toxicité majeure contrairement à une administration simultanée de Decitabine et de Midostaurine qui conduit à une toxicité pulmonaire après seulement quelques doses. (136) Sur la base de ces résultats, d'autres études sont nécessaires pour évaluer l'intérêt d'une utilisation séquentielle d'un agent déméthylant et de la Midostaurine chez des patients âgés et/ou fragiles.

### **Sorafénib (BAY439006)**

Cet inhibiteur de tyrosine kinase agit sur plusieurs cibles : FLT3, VEGFR, KIT, PDGFR, ERK et RAF-1.

Il s'agit d'un inhibiteur de type II.

Actuellement, il possède plusieurs indications en oncologie (137) dans le traitement :

- du carcinome hépatocellulaire ;
- du carcinome rénal avancé après échec d'un traitement préalable à base d'interféron  $\alpha$  ou d'interleukine 2 ;
- du carcinome thyroïdien progressif, localement avancé ou métastatique, différencié, réfractaire à l'iode radioactif.

En plus de son action anti-angiogénique, cette molécule possède une action anti-leucémique sur les cellules mutées FLT3.

De nombreuses études ont été réalisées pour mettre en évidence le bénéfice du Sorafénib en association aux chimiothérapies conventionnelles dans le traitement des LAM.

L'étude de phase 2 SORAML a regroupé 267 patients âgés de moins de 60 ans, atteints de LAM, porteur ou non de la mutation FLT3-ITD. Ces patients ont été traités par de la chimiothérapie conventionnelle type « 3+7 », associée ou non à du Sorafénib. Ils ont reçu deux cycles d'induction associant la cytarabine à 100 mg/m<sup>2</sup> (J1 à J7) et la daunorubicine (J3 à J5) à 60 mg/m<sup>2</sup> selon le schéma « 3+7 ». Suite à l'induction, les patients ont reçu soit le Sorafénib à la dose de 400 mg deux fois par jour de J10 à J19, soit le placebo. Enfin, trois cycles de consolidation ont suivi : cytarabine 3g/m<sup>2</sup> deux fois par jour à J1, J3 et J5 associée au Sorafénib deux fois par jour ou au placebo. A l'issue de cette phase de consolidation, le placebo ou le Sorafénib était donné deux fois par jour en traitement d'entretien pendant 12 mois.

L'association chimiothérapie conventionnelle/Sorafénib a permis une survie sans évènement à 3 ans de 40 % contre seulement 22 % pour les patients traités uniquement par la chimiothérapie. Cependant, cette association s'accompagne d'une augmentation de la toxicité hépatique, cardiaque, cutanée, d'une augmentation des complications infectieuses de type pneumonie et d'une augmentation des évènements hémorragiques.  
(138)

*Ravandi et al* ont évalué la combinaison Sorafénib/Azacitidine chez 43 patients atteints de LAM et en échec de traitement à deux traitements antérieurs ou en rechute avec un autre inhibiteur FLT3 utilisé seul ou en association. Les patients étaient âgés de 24 à 87 ans avec un âge médian de 64 ans. Parmi eux, 40 étaient porteurs de mutations de type FLT3-ITD. Ils ont reçu quotidiennement le Sorafénib à la dose de 400 mg deux fois par jour associé à l'azacitidine 75 mg/m<sup>2</sup> une fois par jour de J1 à J7. Le taux de rémission complète était de 16 % avec une survie moyenne sans évènement de 3,8 mois et une survie globale moyenne de 6,2 mois. Cette amélioration de la survie s'accompagne de nombreuses toxicités liées au Sorafénib, avec notamment des effets secondaires de grade 3 : cardiomyopathie, anémie, neutropénie, thrombopénie... Six décès sont à déplorer suite à des infections. Malgré ces effets secondaires graves, les auteurs de l'étude ont conclu

que l'association Sorafénib/Azacitidine est une combinaison efficace dans le traitement des LAM réfractaires ou en rechute. (139)

Cependant, les résultats sur l'efficacité du Sorafénib en association aux chimiothérapies conventionnelles restent contradictoires. En effet, certaines études ne mettent pas en évidence une augmentation de la survie globale et de la survie sans évènement des patients atteints de LAM et porteurs de mutations FLT3-ITD. Ces résultats ont surtout été observés chez des patients de plus de 60 ans. (140)

Le Sorafénib a aussi montré des résultats encourageants dans la rechute post-allogreffe de cellules souches hématopoïétiques.

Dans une étude menée chez 17 patients atteints de LAM avec mutations de type FLT3-ITD, le Sorafénib a été donné en combinaison avec l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques. Parmi eux, 14 patients ont atteint un niveau de rémission complète. Cependant, des signes de toxicité ont été mis en évidence chez 5 patients mais la rémission moléculaire demeure complète. D'après cette étude, la combinaison du Sorafénib avec l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques induit un taux de rechute plus faible et une survie sans évènement plus longue pour les patients atteints de LAM avec mutations de type FLT3-ITD. (141)

Ces résultats encourageants du Sorafénib ont aussi été retrouvés dans une autre étude réalisée sur 22 patients : à savoir une survie sans maladie de 85 % et une survie globale à 1 an de 95 % dans un contexte de rechute post-allogreffe. (142)

De plus, des études récentes ont montré un bénéfice supplémentaire du Sorafénib dans l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques. En effet, cette molécule stimulerait la production d'IL-15 par les cellules mutées FLT3-ITD, ce qui activerait les lymphocytes T CD8+ et augmenterait l'effet du greffon contre les cellules leucémiques. Il en résulte alors une augmentation de la survie des patients atteints de LAM mutées FLT3-ITD. (143)

L'effet du Sorafénib passerait également par un blocage de la phosphorylation de la kinase STAT3 et la réduction de l'expression de protéines régulatrices de l'apoptose comme Bcl-2. (144)

Il est à noter que le Sorafénib est une molécule active contre les mutations de type FLT3-ITD, mais ce n'est pas le cas pour les mutations de type FLT3-TKD. (145)

## **Sunitinib (SU11248)**

Cette molécule est capable d'inhiber plusieurs récepteurs : FLT3, CSF-1R, KIT, RET, PDGFR et VEGFR.

Il s'agit d'un inhibiteur de type I.

Le Sunitinib possède plusieurs indications à l'heure actuelle :

- dans le traitement du cancer du rein avancé ou métastatique,
- dans le traitement des tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST) malignes non résécables et/ou métastatiques, après échec de traitement par Imatinib,
- dans le traitement des tumeurs neuroendocrines du pancréas non résécables ou métastatiques, bien différenciées avec progression de la maladie. (146)

Le Sunitinib a une action anti-tumorale et anti-angiogénique de par l'inhibition des récepteurs VEGFR et PDGFR qui participent à l'angiogenèse.

Le mécanisme d'action du Sunitinib contre les cellules leucémiques est similaire à celui du Sorafénib. Une étude a montré que le taux de phosphorylation de la kinase STAT5 était diminué chez les patients traités par Sunitinib en présence de mutations FLT3-ITD. (147)

Le Sunitinib aurait également une action sur la phase G1 du cycle cellulaire : il induirait un arrêt des cellules en phase G1, augmenterait l'expression des molécules pro-apoptotiques, et à l'inverse diminuerait l'expression des molécules anti-apoptotiques dans les cellules leucémiques. (148)

Une étude clinique de phase 1 réalisée sur 29 patients atteints de LAM a permis d'en apprendre davantage sur les effets pharmacodynamique et pharmacocinétique du Sunitinib. Les doses de Sunitinib ont progressivement été augmentées par palier de 50 mg, de 50 à 350 mg par jour. Parmi ces 29 patients, seulement cinq étaient porteurs de mutations FLT3 : trois patients avaient une mutation de type FLT3-ITD et deux patients portaient la mutation FLT3-TKD. L'inhibition de la phosphorylation de FLT3 dépendait de la dose et du taux plasmatique de Sunitinib. Il ressort de cette étude qu'une inhibition importante de la phosphorylation de FLT3 apparaît chez plus de 50 % des patients, à des doses au moins égales à 200 mg de Sunitinib par jour. (147) Ainsi, un traitement par Sunitinib en monothérapie pour la prise en charge des LAM n'induit qu'une réponse partielle de courte durée, soit de 4 à 16 semaines. Bien qu'elle soit plus longue pour les

patients porteurs de mutations FLT3, la réponse reste tout de même de courte durée. (149)

Toutefois, de meilleurs résultats ont été rapportés dans une étude clinique de phase 1 et de phase 2. Le but étant d'évaluer la faisabilité d'un traitement d'induction et de consolidation standard en association au Sunitinib chez 22 patients âgés de plus de 60 ans atteints de LAM avec mutations FLT3. Le taux de rémission complète était de 53 % (8/15) chez les patients porteurs de mutations FLT3-ITD et de 71 % (5/7) chez les patients porteurs de mutations FLT3-TKD. Suite au traitement de consolidation, sept patients ont reçu un traitement par Sunitinib seul, en traitement d'entretien. La survie moyenne sans rechute était de 11 mois et la survie globale moyenne était de 18,8 mois, avec une survie à 2 ans de 36 %. Des effets secondaires à l'utilisation du Sunitinib ont été rapportés : colite, syndrome main-pied. Ces effets indésirables sont caractéristiques des molécules anti-angiogéniques. (150)

Finalement, le Sunitinib n'est plus en développement à l'heure actuelle dans le traitement des LAM.

### **Tandutinib (MLN518, CT53518)**

Cette molécule inhibe les récepteurs suivants : FLT3, PDGFR et KIT.

Son efficacité clinique a été démontrée dans une étude de phase 1 réalisée sur des patients atteints de LAM. Le Tandutinib était donné à une dose allant de 50 à 700 mg deux fois par jour. Il a été mis en évidence une activité anti-leucémique en diminuant le nombre de blastes myéloïdes dans le sang périphérique et dans la moelle osseuse de 40 patients atteints de LAM ou d'un syndrome myélodysplasique à haut risque. (151)

De plus, le fait d'associer un traitement par chimiothérapie conventionnelle au Tandutinib dans le traitement des LAM conduit à un bénéfice supplémentaire : le Tandutinib exerce un effet anti-prolifératif et pro-apoptotique sur les blastes porteurs des mutations FLT3-ITD. D'après cette étude, l'ajout de Tandutinib pourrait permettre de réduire la dose de chimiothérapie sans perte de l'activité anti-leucémique, ce qui pourrait diminuer les effets secondaires. Cette approche pourrait constituer une nouvelle stratégie intéressante, en

particulier dans le traitement des patients âgés et des patients atteints de comorbidités.  
(152)

Malgré un profil de sécurité favorable et des résultats prometteurs dans les essais cliniques, le Tandutinib n'est plus en développement à l'heure actuelle.

Le manque de spécificité des inhibiteurs FLT3 de première génération peut expliquer leur activité anti-leucémique transitoire, ainsi que leur mauvaise tolérance. En effet, ces molécules s'accompagnent de nombreux effets indésirables de par leur action sur différents récepteurs. Ce sont essentiellement des toxicités gastro-intestinales, immunologiques (cytopénies) et cutanées avec notamment le syndrome main pied, caractéristique des inhibiteurs de l'angiogenèse comme le Sunitinib et le Sorafénib. Utilisées en monothérapie, ces molécules sont insuffisantes. En revanche, leur intérêt a été mis en évidence en association aux chimiothérapies conventionnelles. C'est le cas notamment de la Midostaurine qui a obtenu l'AMM dans le traitement des LAM nouvellement diagnostiquées avec mutation du gène FLT3, en association à une chimiothérapie standard d'induction.

## **2.4) Inhibiteur tyrosine kinase de 2ème génération**

### **Crenolanib (CP868596)**

Cette molécule est capable d'inhiber plusieurs récepteurs : FLT3, PDGFR, KIT et ULK2.  
Il s'agit d'un inhibiteur de type I.

Cette molécule serait efficace contre les mutations de type FLT3-ITD mais pas uniquement. Il s'agit également d'un inhibiteur de la mutation FLT3-D835, responsable de la résistance aux inhibiteurs de FLT3. Les données préliminaires suggèrent que le Crenolanib est capable de surmonter les mécanismes de résistance rencontrés avec les inhibiteurs de type II, tout en ayant une action inhibitrice sur le récepteur FLT3 plus importante que les autres inhibiteurs de type I. (153)

La tolérance et l'efficacité du Crenolanib ont été étudiées au cours d'une étude de phase 2 en association avec une chimiothérapie d'induction conventionnelle chez 26 patients âgés



de 22 à 74 ans, ayant eu un diagnostic récent de LAM avec mutations FLT3. Parmi eux, 19 patients avaient des mutations de type FLT3-ITD et 3 patients avaient des mutations de type FLT3-D835. 88 % des patients ont atteint une rémission complète après le premier cycle d'induction. Dans les 6 mois de suivi post-traitement, seulement 3 patients ont rechuté. (154)

Cette molécule est généralement bien tolérée, bien que quelques effets indésirables sont fréquemment retrouvés : nausées, vomissements, diarrhées, douleurs abdominales, élévation des enzymes hépatiques et rétention hydrosodée... (129)

Le Crenolanib est actuellement en cours de développement dans des études de phase 2 et de phase 3.

### **Gilteritinib (ASP2215)**

Cet inhibiteur est capable d'agir sur plusieurs récepteurs : FLT3 et AXL.

Il s'agit d'un inhibiteur de type I.

Le Gilteritinib possède actuellement une indication en monothérapie pour la prise en charge des leucémies aiguës myéloïdes en rechute ou réfractaires chez l'adulte porteur d'une mutation du gène FLT3.

Le Gilteritinib diminuerait la phosphorylation du récepteur FLT3 ainsi que ses cibles en aval. Ces résultats ont été observés dans les cultures cellulaires mais également dans les modèles animaux. Aucune toxicité n'a à priori été mise en évidence. (155)

Le Gilteritinib a fait l'objet de nombreuses études dans le traitement des LAM avec mutations FLT3, en rechute ou réfractaires au traitement d'induction. Le but était de comparer l'intérêt d'utiliser le Gilteritinib plutôt qu'une chimiothérapie de rattrapage.

Une étude de phase 3 randomisée et multicentrique, constituée de 371 patients atteints de LAM avec mutations FLT3 en rechute ou réfractaires au traitement d'induction, ont été répartis de manière aléatoire en deux groupes : 247 patients traités par Gilteritinib et 124 patients traités par une chimiothérapie de rattrapage. La dose de Gilteritinib était de 120 mg par jour. Les conclusions de cette étude sont en faveur du Gilteritinib. En effet, la survie globale est statistiquement plus importante dans le groupe des patients traités par

Gilteritinib : 9,3 mois vs 5,6 mois pour le groupe de patients traités par chimiothérapie avec Hazard Ratio = 0,64 ; IC 95 % = [0.49-0.83] et  $p < 0.001$ . Le pourcentage de patients en rémission complète avec une récupération hématologique complète ou partielle est de 34 % dans le groupe Gilteritinib et de 15,3 % dans le groupe chimiothérapie. Les effets indésirables de grade 3 et plus, étaient moins fréquents dans le groupe Gilteritinib, bien que des neutropénies fébriles, des anémies et des thrombopénies ont été rapportés dans ce dernier. Ainsi, il ressort que le Gilteritinib est à l'origine d'une survie plus longue et d'un pourcentage de patients en rémission complète plus important que la chimiothérapie de rattrapage dans le traitement des patients en rechute ou réfractaires au traitement d'induction des LAM mutées FLT3. (156)

L'ensemble des études réalisées sur les LAM mutées FLT3 en rechute ou réfractaires au traitement d'induction vient conforter ce résultat. (157, 158)

Le Gilteritinib a donc toute sa place dans cette indication.

Une autre étude sur le Gilteritinib a inclus 252 patients atteints de LAM en rechute après une première rémission ou réfractaires au traitement d'induction. Parmi eux, 58 patients n'avaient pas de mutations FLT3 et 194 patients étaient porteurs de mutations FLT3 (FLT3-ITD,  $n=162$ ; FLT3-D835,  $n=16$ ; FLT3-ITD et FLT3-D835,  $n=13$ ; autres mutations  $n=3$ ). Ils ont reçu un traitement par Gilteritinib par voie orale, de 20 à 450 mg, une fois par jour. Le traitement a été dans l'ensemble bien toléré, bien que des diarrhées de grade 3 et une élévation des transaminases hépatiques sont apparues chez des patients traités à des doses supérieures ou égales à 300 mg par jour. Plus de 5 % des patients ont rencontré des effets indésirables graves de type : neutropénie fébrile, anémie, thrombopénie, sepsis, pneumonie, insuffisance rénale aiguë...

Le taux de réponse globale était de 40 % quel que soit le statut du patient pour le récepteur FLT3 : muté ou sauvage. Bien qu'une efficacité ait été observée quelle que soit la dose journalière, le taux de réponse est amélioré chez les patients porteurs de mutations FLT3 à des doses supérieures ou égales à 80 mg par jour. En effet, pour les patients porteurs de mutations FLT3, le taux de réponse était de 52 % pour des doses de Gilteritinib supérieures ou égales à 80 mg par jour. A noter que l'efficacité du Gilteritinib était particulièrement augmentée chez les patients en rechute. Le Gilteritinib est donc actif sur les deux types de mutations FLT3 : ITD et TKD. (159)

### **Pexidartinib (PLX3397)**

Cette molécule est capable d'inhiber plusieurs récepteurs : FLT3, CSF-1R et KIT.

Il s'agit d'un inhibiteur de type II.

Le Pexidartinib n'a pas d'indication à l'heure actuelle.

Peu d'études montrant l'intérêt du Pexidartinib dans le traitement des LAM ont été réalisées à ce jour. Cependant, une étude de phase 1 et de phase 2 démontre que cette molécule est bien tolérée et qu'elle possède une activité anti-leucémique dans une population de patients atteints de LAM en rechute ou réfractaires au traitement d'induction présentant des mutations de type FLT3-ITD. (160)

### **Ponatinib (AP24534)**

Cette molécule est un benzamide, capable d'inhiber plusieurs récepteurs : FLT3, RET, KIT, PDGFR, FGFR et BCR-ABL.

Il s'agit d'un inhibiteur de type II.

Aujourd'hui, le Ponatinib est indiqué dans le traitement de :

- la leucémie myéloïde chronique (LMC) en phase chronique, en phase accélérée ou en phase blastique, qui présente une résistance ou une intolérance au Dasatinib ou au Nilotinib et pour qui un traitement ultérieur par Imatinib n'est pas cliniquement approprié ou qui exprime la mutation T315I,
  - la leucémie aiguë lymphoïde à chromosome Philadelphie (LAL Ph+), qui présente une résistance ou une intolérance au Dasatinib et pour qui un traitement ultérieur par Imatinib n'est pas cliniquement approprié ou qui exprime la mutation T315I.
- (161)

Cette molécule est surtout utilisée de nos jours contre les mutations de résistance du domaine kinase du récepteur BCR-ABL et notamment la mutation T315I qui a montré son implication dans la LMC et la LAL Ph+.

Bien que les études cliniques sur le Ponatinib dans le traitement des LAM sont limitées à ce jour, des études précliniques ont démontré la capacité du Ponatinib à inhiber le récepteur FLT3, y compris les souches mutées. L'activité de cette molécule contre les mutations FLT3-ITD et FLT3-TKD a été démontrée dans les modèles murins.

Bien que le Ponatinib soit un inhibiteur de type II, l'hypothèse envisagée est que le Ponatinib conserve son activité contre certaines mutations de type FLT3-TKD ayant une analogie avec la mutation BCR-ABL T315I. (162)

La toxicité du Ponatinib se manifeste essentiellement par des atteintes cardiovasculaires de type thrombose artérielle et veineuse ainsi que des atteintes hépatiques.

Des études cliniques sont actuellement en cours pour évaluer l'intérêt du Ponatinib dans le traitement des LAM.

### **Quizartinib (AC220)**

Cette molécule est capable d'inhiber plusieurs récepteurs : FLT3, KIT et PDGFR.

Il s'agit d'un inhibiteur de type II.

Cette molécule fut la première développée en tant qu'inhibiteur de tyrosine kinase anti-FLT3, mais à l'heure actuelle, elle ne possède pas d'indication.

Les premières étapes des essais cliniques ont montré des résultats encourageants dans l'utilisation de cette molécule en monothérapie chez les patients atteints de LAM mutés FLT3-ITD, réfractaires ou en rechute. Le Quizartinib est une molécule plus sélective du récepteur FLT3, ce qui explique sa classification dans les inhibiteurs de tyrosine kinase anti-FLT3 de deuxième génération. Il est jusqu'à 50 fois plus puissant *in vivo*.

Avec une demi-vie supérieure à 24h et donc prolongée dans le temps, l'action du Quizartinib sur le récepteur FLT3 semble optimale pour exercer une cytotoxicité significative contre les blastes leucémiques. (163)

La réponse au traitement est principalement due à une clairance rapide des blastes périphériques par induction d'apoptose et de différenciation myéloïde terminale dans la moelle osseuse. (164)

L'efficacité et la toxicité du Quizartinib seul et en association à la chimiothérapie ont été largement étudiées au cours d'essais cliniques.

Dans un essai de phase I, *Cortes et al* ont évalué l'intérêt d'utiliser le Quizartinib en monothérapie chez 76 patients atteints de LAM réfractaires ou en rechute. Le Quizartinib a

induit une rémission complète chez 53 % des patients mutés FLT3-ITD et chez 14 % des patients wild-type FLT3. Les durées moyennes de réponse et de survie étaient de 13,3 semaines et 14 semaines, respectivement. Les principaux effets secondaires au traitement étaient essentiellement digestifs avec nausées et vomissements, mais également cardiaques avec notamment un allongement de l'intervalle QT. La dose maximale tolérée en monothérapie est de 200 mg par jour et la toxicité dose-limitante est l'allongement de l'intervalle QT de grade 3. (165)

Dans leurs études de phase 2, *Cortes* et *Levis* ont atteint un taux de rémission complète compris entre 44 et 54 % chez des patients atteints de LAM réfractaires ou en rechute. (163)

A noter que les doses de Quizartinib utilisées dans les études de phase 2 étaient de 30 ou 60 mg par jour. Les taux de rémission complète composite étaient semblables à ceux obtenus avec des doses supérieures de Quizartinib. Le taux de rémission complète composite est défini par la combinaison de trois paramètres : le taux de rémission complète, le taux de rémission complète avec récupération plaquettaire incomplète et le taux de rémission complète avec récupération hématologique incomplète.

Finalement, les études de phase 1 ont permis de déterminer la dose maximale tolérée lorsque cette molécule est utilisée en monothérapie dans le traitement des LAM, tandis que les études de phase 2 ont mis en évidence la nécessité de diminuer la dose utilisée tout en maintenant des taux de réponse globale satisfaisants. Le Quizartinib est une molécule bien tolérée du fait d'une certaine sélectivité pour le récepteur FLT3 ; les effets indésirables les plus fréquemment retrouvés dans les études sont les suivants : nausées, vomissements, anémie, neutropénie fébrile, thrombopénie, allongement de l'intervalle QT.

Après un refus initial de la FDA, le Quizartinib fait actuellement l'objet de nombreux essais cliniques dans le traitement des LAM.

## 2.5) Mécanismes de résistance aux inhibiteurs de tyrosine kinase anti-FLT3

Un traitement par inhibiteur de tyrosine kinase anti-FLT3 conduit à des résultats cliniques satisfaisants d'après l'ensemble des études réalisées. Cependant, la durée de la réponse demeure courte du fait du développement de résistances au traitement. Les résistances aux inhibiteurs de tyrosine kinase anti-FLT3 sont très souvent dues à l'émergence de nouvelles mutations. Les résistances peuvent être primaires, si le patient ne répond pas au traitement dès la première administration ou secondaires, si le patient ne répond plus au traitement après une réponse initiale. De plus, elle peuvent être extrinsèques ou intrinsèques à la cellule. (Figure 38)

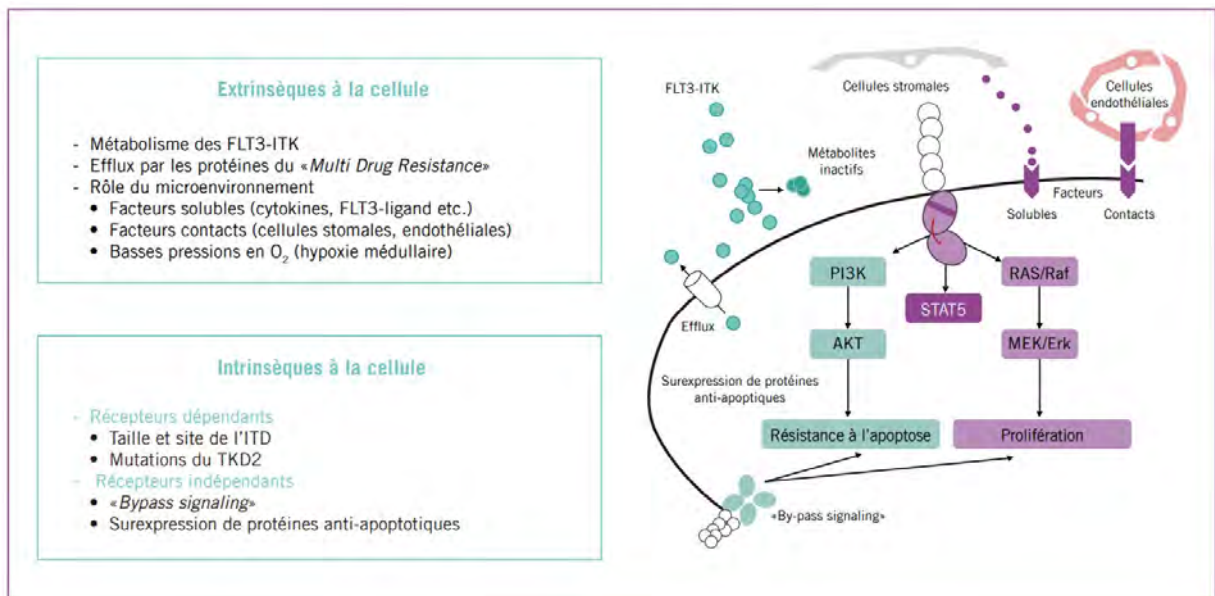


Figure 38 : Mécanismes de résistance aux inhibiteurs de tyrosine kinase anti-FLT3 (122)

Les mécanismes de résistance aux ITK anti-FLT3 intrinsèques à la cellule peuvent être dépendants du récepteur. Les mutations ponctuelles au niveau du domaine tyrosine kinase 2 du récepteur (TKD2) représentent un des principaux mécanismes de résistance secondaire aux inhibiteurs de tyrosine kinase anti-FLT3. Deux types de mutations du TKD2 sont retrouvés :

- mutation de type « gatekeeper » : mutation F691L
- mutation de type « activation-loop » : mutation D835 et Y842. Ces mutations déstabilisent la conformation inactive du récepteur et les ITK de deuxième génération ne sont alors plus efficaces. (122)

Ces mutations stabilisent la conformation du récepteur où la boucle activatrice est en configuration « DFG-in », c'est à dire où la poche de l'ATP est accessible. Cela conduit à une phosphorylation constitutive des résidus tyrosines et à une activation permanente du récepteur FLT3. (166)

*Moore et al* ont incubé des cellules MOLM-13 en présence de doses croissantes de Tandutinib, un inhibiteur de FLT3 de première génération. Après une période d'incubation d'environ 7 semaines, une mutation de type D835Y est apparue au niveau du domaine tyrosine kinase (TKD) de l'allèle muté FLT3-ITD. Cette mutation de type « activation-loop residue » est à l'origine d'une résistance au traitement par Quizartinib et par Sorafénib. De plus, le traitement des cellules MOLM-13 par le Quizartinib entraîne la perte de l'allèle sauvage FLT3 et la duplication de l'allèle muté FLT3-ITD D835Y. A l'inverse, les mêmes cellules MOLM-13 sans ajout de Tandutinib, ne présentent pas cette mutation D835Y après analyse génétique. (167)

*Man et al* ont démontré que dans certains cas, les mutations de type FLT3-ITD et FLT3-TKD sont présentes avant le traitement par inhibiteur FLT3. Dans leur étude portant sur 13 patients atteints de LAM avec mutations FLT3-ITD en rechute ou réfractaires à la chimiothérapie, les auteurs ont mis en évidence des mécanismes pouvant contribuer à la résistance au traitement par Sorafénib après une réponse initiale. En utilisant la technique de PCR suivie d'un clivage par *EcoRV*, *Man et al* ont fait la constatation suivante : la mutation D835Y, indétectable dans les blastes leucémiques naïfs de tout traitement, devient détectable chez trois patients sur six qui ont développé une résistance au

Sorafénib. Cela suggère que la mutation était déjà présente dans la population de cellules à l'origine de la leucémie. (168)

D'autres mécanismes de résistance intrinsèques à la cellule peuvent intervenir : l'expression de protéines anti-apoptotiques, l'augmentation de l'expression du récepteur FLT3 et de son ligand, l'activation de voie de signalisation indépendante du récepteur FLT3... (169, 170)

L'expression de protéines anti-apoptotiques est un mécanisme de résistance primaire et récepteur indépendant aux inhibiteurs de tyrosine kinase anti-FLT3. Elle pourrait être liée au site d'insertion des motifs ITD du récepteur FLT3. En effet, il a été démontré qu'un site d'insertion en dehors du domaine juxtamembranaire du récepteur FLT3 mais localisé de manière atypique dans le domaine tyrosine kinase 1 au niveau de l'acide aminé en position 627 (FLT3-ITD627E), induit une modification de la signalisation et de l'expression de protéine anti-apoptotique MCL-1. Cela entraîne une réduction significative de l'apoptose, ainsi qu'une résistance au traitement par la Midostaurine. En effet, après initiation du traitement par la Midostaurine, l'émergence d'un clone leucémique résistant au traitement est constatée rapidement. Après analyse génétique, ce clone leucémique est porteur de la mutation FLT3-ITD627E. Il ressort que la surexpression de la protéine anti-apoptotique MCL-1 est liée à cette mutation du récepteur FLT3.

Une des hypothèses est la suivante : la présence de la mutation FLT3-ITD627E génère un nouvel épitope au niveau du récepteur FLT3 qui interagit avec la protéine adaptatrice Grb-2. Cette nouvelle interaction conduirait à une surexpression de la protéine anti-apoptotique MCL-1. Finalement, la liaison de Grb-2 au récepteur FLT3-ITD627E et la surexpression de MCL-1 sont maintenues en présence d'inhibiteurs de tyrosine kinase anti-FLT3.

En revanche, la diminution des niveaux d'expression de MCL-1 par un ARN restaure l'activité des inhibiteurs de tyrosine kinase, dont la Midostaurine, ce qui accentue le rôle central de MCL-1 dans le mécanisme de résistance. (171)

La régulation positive de la protéine anti-apoptotique Bcl-2 est également un des mécanismes de résistance récepteur indépendant aux inhibiteurs de tyrosine kinase anti-FLT3.

Le micro-environnement de la moelle osseuse joue un rôle important et constitue un mécanisme de résistance extrinsèque à la cellule. L'augmentation de la sécrétion du



ligand FLT3 par le micro-environnement après la chimiothérapie, stimule les cellules leucémiques mutées FLT3. Malgré l'activation constitutive du récepteur FLT3, les cellules mutées restent sensibles au ligand et cela conduit à une diminution de la sensibilité aux inhibiteurs de tyrosine kinase anti-FLT3. (172)

De manière similaire, l'augmentation de la sécrétion de FGF2 (Fibroblast Growth Factor 2) par le micro-environnement de la moelle osseuse après une chimiothérapie ou après un inhibiteur de tyrosine kinase anti-FLT3, stimule les cellules leucémiques mutées FLT3 par la liaison au FGFR 1 (Fibroblast Growth Factor Receptor). (173)

L'induction de l'activité des enzymes hépatiques est également un mécanisme de résistance extrinsèque et secondaire au traitement par inhibiteur de tyrosine kinase anti-FLT3. Ce mécanisme mis en évidence pour la Midostaurine induit une diminution de la biodisponibilité et donc de l'efficacité. (174)

Finalement, les inhibiteurs de première génération, tels que la Midostaurine, ont une large activité et sont donc moins sensibles aux mécanismes de résistance par rapport aux inhibiteurs de deuxième génération. Cela peut être particulièrement pertinent pour la LAM notamment au moment du diagnostic, qui se caractérise par la coexistence de multiples clones leucémiques et une faible charge allélique de la mutation FLT3. Lors de la rechute, un clone dominant porteur de mutation FLT3 tend à émerger et peut être mieux ciblé par les inhibiteurs de tyrosine kinase anti-FLT3 de deuxième génération, qui sont plus spécifiques et plus puissants. Les inhibiteurs de type I, tels que la Midostaurine, le Gilteritinib et le Crenolanib, sont efficaces dans les cellules avec mutations de type TKD ou ITD et ne devraient donc pas induire de résistance par de nouvelles mutations TKD. A l'inverse, les inhibiteurs de type II tels que le Quizartinib et le Sorafénib sont inactifs contre les mutations de type TKD et sont capables d'induire ce genre de mutations comme mécanisme de résistance acquise.

Compte tenu de l'efficacité limitée et transitoire des inhibiteurs de FLT3, les thérapies combinées sont explorées à l'heure actuelle. Les agents étudiés ont divers mécanismes d'action dans le but d'améliorer l'efficacité des inhibiteurs de FLT3 ou d'agir en synergie avec ces derniers.

Les combinaisons d'inhibiteurs du FLT3 et de thérapies épigénétiques sont prometteuses. L'induction synergique de l'apoptose *in vitro* par les inhibiteurs de l'histone déacétylase

(HDACis) et par les inhibiteurs de FLT3 a été démontré avec une amélioration du clivage protéolytique de FLT3-ITD et de la protéine STAT5 par caspase-3, ainsi qu'une inhibition de l'expression de la protéine anti-apoptotique MCL-1. (175)

La combinaison d'inhibiteurs de FLT3 et d'agents déméthylants a également démontré des effets anti-leucémiques synergiques *in vitro* : augmentation de l'apoptose, inhibition de la croissance et de la différenciation cellulaire, avec une efficacité supérieure lors de l'administration simultanée. (176)

Les inhibiteurs du protéasome, comme le Bortézomib (Velcade®, Takeda), auraient une action cytotoxique contre les cellules mutées FLT3-ITD *in vitro* et *in vivo*, y compris pour les cellules leucémiques résistantes au Quizartinib présentant des mutations de type FLT3 D835. Ils induiraient également une dégradation auto-phagosomique du récepteur FLT3-ITD. (177) L'utilisation de Bortézomib et de Midostaurine en combinaison avec la chimiothérapie, démontre une activité anti-leucémique, mais également de nombreuses toxicités. (178)

Une autre approche pour surmonter la résistance aux inhibiteurs de FLT3 est de cibler les molécules de signalisation en aval de FLT3-ITD. Le Pimozide, inhibiteur de STAT5, réduit la viabilité des cellules mutées FLT3-ITD et une action cytotoxique synergique a été démontrée avec les inhibiteurs de FLT3 tels que Midostaurine et Sunitinib. (179)

Pim-1, une protéine serine/thréonine kinase impliquée dans la survie et la prolifération cellulaire, est régulée de manière positive par l'activation de STAT5 en aval de FLT3-ITD. Pim-1 induit la phosphorylation et la stabilisation du récepteur FLT3, mais cette kinase peut également favoriser la signalisation FLT3 dans une boucle de rétrocontrôle positif dans les cellules mutées FLT3-ITD. (180) Les inhibiteurs de Pim kinase et de FLT3 ont démontré une cytotoxicité synergique dans les cellules leucémiques mutées FLT3-ITD lors d'une utilisation simultanée. (180) Il a été démontré également que les inhibiteurs de Pim kinase restaurent la sensibilité aux inhibiteurs de FLT3 dans les cellules résistantes. (180)

La voie PI3K/Akt/mTOR est également une cible prometteuse dans le traitement des LAM avec mutations FLT3. La protéine kinase mTOR, située en aval du récepteur FLT3, est régulée positivement dans les cellules leucémiques résistantes aux inhibiteurs de FLT3.

Cette même protéine kinase favorise également la survie et la prolifération des cellules leucémiques. Ainsi, l'inhibition synergique de mTOR et de FLT3 permet de lutter contre la prolifération cellulaire. (181)

## **Partie 3 : Interactions médicamenteuses et impact sur la réponse au traitement par la Midostaurine : évaluation en pratique courante**

### **3.1) Introduction**

Jusqu'à récemment, le traitement des patients atteints de LAM se limitait soit à la chimiothérapie conventionnelle composée d'une phase d'induction avec de la Cytarabine associée à une molécule de la famille des Anthracyclines, soit à des agents hypométhylants et, dans certains cas, à la greffe de cellules souches hématopoïétiques allogéniques.

Avec l'approbation récente de nouvelles thérapies, une nouvelle ère a émergé dans le traitement des LAM. Des tests diagnostiques complets, comme les tests cytogénétiques et moléculaires, sont nécessaires pour établir l'éligibilité des patients à ces nouveaux agents.

L'arrivée des ITK dans la stratégie de prise en charge des LAM constitue une réelle avancée. Les ITK appartiennent à la grande famille des thérapies ciblées, molécules dirigées contre les cibles moléculaires spécifiquement exprimées par les cellules tumorales. Les ITK sont administrés aux patients par voie orale de manière continue, contrairement aux chimiothérapies habituellement administrées au cours de plusieurs cycles de durée variable par voie IV.

Cependant, les propriétés pharmacocinétiques des ITK sont à prendre en considération pour prédire leur efficacité. En effet, la majorité de ces molécules dont la Midostaurine sont fortement métabolisées dans le foie, principalement par les enzymes du CYP 3A4. Ces dernières peuvent être soit induites, soit inhibées par un certain nombre de médicaments pris de façon concomitante. Cela peut conduire à une réduction de l'efficacité ou à une augmentation de la toxicité des ITK.

Par exemple, les inducteurs puissants du CYP 3A4 comme les anti-épileptiques (*Carbamazépine*), les anti-infectieux (*Rifampicine*, *Rifabutine*) ou le *Millepertuis* peuvent réduire l'exposition à la Midostaurine.

A l'inverse, les inhibiteurs puissants du CYP 3A4 comme le *Pamplemousse*, les antifongiques azolés (*Voriconazole*, *Miconazole*, *Posaconazole*), les anti-viraux inhibiteurs de protéases (*Ritonavir*, *Lopinavir*), les Macrolides (*Erythromycine*, *Clarithromycine*) peuvent majorer l'exposition à la Midostaurine et ainsi le risque de toxicité.

Au vu de l'âge moyen de diagnostic des LAM chez les patients, l'instauration de Midostaurine se fait alors que les patients sont déjà traités pour d'autres pathologies. Le rôle du pharmacien est alors d'analyser les éventuelles interactions médicamenteuses entre la Midostaurine et les traitements antérieurs du patient. Cependant, il est parfois difficile de prédire l'impact clinique de ces interactions, d'autant plus si elles ont été mises en évidence uniquement *in vitro*. En effet, une interaction mise en évidence *in vitro* n'aura pas forcément d'impact *in vivo*.

Le résumé des caractéristiques du produit (RCP) du RYDAPT® précise que l'utilisation concomitante d'inducteur enzymatique du cytochrome 3A4 est contre-indiquée avec la Midostaurine en raison du risque de perte d'efficacité. En revanche, seule une recommandation de précaution et de surveillance est proposée pour les inhibiteurs puissants du même cytochrome. Aucune conduite à tenir n'est proposée en présence d'interaction avec un inhibiteur enzymatique faible ou modéré. L'ampleur de l'interaction des médicaments inhibiteurs sur l'exposition à la Midostaurine peut être estimée à l'aide de logiciel informatique. (Ce dernier se basant sur la puissance de l'inhibition de la dépendance de la Midostaurine vis à vis de l'isoenzyme inhibée.) Cependant, la pertinence clinique de ces interactions n'est pas connue. En pratique, aucune modification de traitement n'est apportée en cas d'interaction entre un inhibiteur enzymatique du cytochrome 3A4 et la Midostaurine.

L'objectif de cette étude est donc d'évaluer si ces interactions médicamenteuses sont responsables d'une augmentation de la toxicité de la Midostaurine.

### **3.2) Méthodes**

Pour la réalisation de cette analyse rétrospective, les patients ayant débuté un traitement par Midostaurine, à l'IUCT, entre juin 2018 et mai 2020 ont été sélectionnés.

Pour chaque patient, la période de recueil s'étale du diagnostic de la LAM jusqu'au 1<sup>er</sup> octobre 2020.

L'analyse des interactions médicamenteuses était réalisée en pratique courante.

Pour cela, un recueil des co-médications à l'initiation du traitement par la Midostaurine a été réalisé et consigné dans une base de données. Cette base a été utilisée pour cette étude. Les données démographiques, morphologiques, biologiques et cliniques à l'initiation du traitement par la Midostaurine ont été récupérés dans le dossier informatique des patients. De même, les données de toxicité et d'efficacité ont été recueillies à partir des courriers et des comptes rendus médicaux dans les dossiers des patients.

Les toxicités évaluées dans cette étude étaient les suivantes :

- neutropénie
- épisode fébrile
- toxicité digestive
- toxicité cardiaque
- toxicité pulmonaire
- toxicité dermatologique
- toxicité musculaire
- affection psychiatrique
- toxicité oculaire
- anomalies du bilan biologique : diminution de l'hémoglobine, élévation des enzymes hépatiques ALAT et ASAT

Les critères retenus étaient la description d'un épisode toxique recueilli dans le dossier des patients, quel que soit le grade de la toxicité.

Les données d'efficacité évaluées étaient :

- le taux de réponse complète
- la durée de réponse
- la survie globale

Les patients ont été répartis en deux groupes, en fonction de la présence ou non d'un inhibiteur puissant du cytochrome 3A4 parmi leurs co-médications.

Une comparaison de l'incidence des toxicités durant l'induction a été réalisée à l'aide du test exact de Fisher à l'aide du logiciel GraphPad Prism v.5.

Les données de survie ont également été analysées en considérant ces deux populations de patients.

### 3.3) Résultats

#### 3.3.1) Patients et traitements

Les caractéristiques des patients à l'initiation du traitement par la Midostaurine sont résumées dans le tableau suivant.

	Tous patients N = 18	Patients avec interactions médicamenteuses N = 5	Patients sans interaction médicamenteuse N = 13	p
Age médian (min-max)	68 (39-77)	62 (53-70)	68 (39-77)	<0.001
Sexe H/F	9 / 9	3 / 2	6 / 7	1.000
Pathologies (N)				0.615
LAM <i>de novo</i> 1 <sup>ère</sup> ligne	12	4	8	
LAM <i>de novo</i> R/R	1	/	1	
LAM II 1 <sup>ère</sup> ligne	3	1	2	
LAM II R/R	/	/	/	
Mastocytose	1	/	1	
Leucémie à mastocytes	1	/	1	
Traitements associés (N)				0.231
Idarabine-cytarabine	4	3	1	
Ida-cyta-dexa	1	1	0	
Ida-cyta-dexa-lom	5	1	4	
Ida-cyta-lom	3	/	3	

Dauno-cyta	3	/	3	
Monothérapie	2	/	2	
Posologie de midostaurine (N)				1.000
100 mg x 2/J	2	/	2	
50 mg x 2/J	16	5	11	

Tableau 17 : Résumé des caractéristiques des patients de l'étude

Au total, 18 patients ont été inclus dans cette étude : 9 femmes et 9 hommes. Parmi eux, 16 patients étaient atteints de LAM, un patient était porteur de mastocytose systémique agressive (MSA) et un patient souffrait de leucémie à mastocytes.

Les patients atteints de LAM étaient principalement traités pour une LAM *de novo* en première ligne de traitement, soit un total de douze patients. Trois patients étaient traités par la Midostaurine pour une LAM secondaire en première ligne de traitement. Et enfin, un patient était traité pour une LAM *de novo* en rechute.

La Midostaurine était le plus souvent associée à des molécules de chimiothérapie comme l'Idarubicine, la Cytarabine, la Lomustine ou la Daunorubicine. Dans ces cas là, la posologie de Midostaurine était de 50 mg deux fois par jour.

Pour les patients traités pour une leucémie à mastocytes ou une mastocytose systémique agressive, la Midostaurine était utilisée en monothérapie, à la posologie suivante : 100 mg deux fois par jour.

Par l'intermédiaire des internes en médecine et en pharmacie, nous avons pu récupérer l'ensemble des traitements habituels des patients afin d'analyser les interactions médicamenteuses avec la Midostaurine. Les patients sélectionnés avaient entre 39 et 77 ans au diagnostic de la LAM, avec une moyenne d'âge de diagnostic de 68 ans.



La liste des molécules retrouvées dans cette étude et responsables d'interactions médicamenteuses est la suivante :

- Posaconazole : antifongique azolé, inhibiteur puissant du cytochrome 3A4. Cinq patients ont été traités par cette molécule pendant la phase d'induction.
- Fluconazole : antifongique azolé, inhibiteur modéré du cytochrome 3A4. Un patient a été traité de manière concomitante par Midostaurine et Fluconazole pendant la phase d'induction.
- Amlodipine : antihypertenseur de la famille des Dihydropyridines, inhibiteur faible du cytochrome 3A4. Deux patients ont pris de manière concomitante l'Amlodipine et la Midostaurine pendant la phase d'induction.

Ces trois molécules inhibent donc le même cytochrome 3A4, à des intensités différentes.

Dans cette analyse, nous nous concentrerons sur l'impact du Posaconazole, inhibiteur puissant du cytochrome 3A4.

Ainsi, nous avons considéré deux groupes de patients : 5 patients présentant une interaction médicamenteuse avec un inhibiteur puissant, le Posaconazole, et 13 patients sans interaction.

### Descriptif de l'utilisation de la Midostaurine en pratique courante

Afin de décrire l'utilisation de la Midostaurine en phase d'induction et de consolidation, nous allons nous consacrer seulement aux patients atteints de LAM. En effet, les deux patients atteints de mastocytose systémique agressive, et de leucémie à mastocytes ne sont pas inclus dans cette analyse. (Tableau 18)

<b>Phase d'induction</b>	Tous patients N = 16	Patients avec interactions médicamenteuses N = 5	Patients sans interaction médicamenteuse N = 11
Durée médiane de traitement en jour (min- max)	13 (7-14)	13 (11-13)	12 (7-14)
Motif d'arrêt (N)			
Fin de cycle	14	5	9
Toxicité	2	/	2
Concession de dose (N)			
	2	1	1

*Tableau 18 : Descriptif de l'utilisation de la Midostaurine pendant la phase d'induction*

D'après ces résultats, le motif d'arrêt de la Midostaurine en phase d'induction est essentiellement dû au fait que le cycle soit terminé. Seulement deux patients ont arrêté prématurément le cycle d'induction pour cause de toxicité. En effet, un patient a été contraint de stopper la Midostaurine après 7 jours de traitement pour cause de diarrhées de grade 3, de bradycardie, et d'hypokaliémie. Pour l'autre, les effets indésirables étaient principalement hépatiques avec notamment une cytolyse et une cholestase ictérique conduisant à un arrêt prématuré de la Midostaurine, après seulement 8 jours de traitement. A noter que ces deux patients ne présentaient pas d'interaction médicamenteuse entre leurs traitements habituels et la Midostaurine.

De plus, une concession de dose de 50 % a été nécessaire pour deux autres patients dont un qui présentait notamment des interactions médicamenteuses lors de la phase d'induction. Cette diminution de posologie intervient suite à la mise en évidence de toxicité : nausées et vomissements matinaux suite à la prise de Midostaurine, aggravation

des cytopénies, allongement de l'intervalle QT, diarrhées de grade 2, passage en fibrillation auriculaire. Pour ces patients, la posologie initiale de 50 mg deux fois par jour a été diminuée à 25 mg le matin et 25 mg le soir.

A noter qu'il n'y a pas de différence significative pour le motif d'arrêt et pour les concessions de doses entre les patients présentant des interactions médicamenteuses ( $p = 1,000$ ) et les patients sans interaction ( $p = 1,000$ ).

Parmi les 16 patients atteints de LAM, seulement 12 ont poursuivi la Midostaurine en phase de consolidation. Les raisons de cet arrêt sont diverses. En effet, deux patients n'ont pas poursuivi la Midostaurine durant la phase de consolidation pour cause d'échec de la phase d'induction. Un patient ayant présenté des toxicités durant la phase d'induction n'a pas continué en phase de consolidation, induisant un arrêt définitif de la Midostaurine. Un quatrième patient n'a pas poursuivi la Midostaurine en phase de consolidation. A la date du 1<sup>er</sup> octobre 2020, date de fin de recueil, le patient n'avait pas débuté la phase de consolidation. (Tableau 19)

<b>Phase de consolidation</b>	Tous patients N = 12	Patients avec interactions médicamenteuses N = 3	Patients sans interaction médicamenteuse N = 9
Durée médiane de traitement en jour (min-max)	53 (13-188)	85 (13-186)	85 (13-188)
Motif d'arrêt (N)			
Fin de cycle	11	3	8
Toxicité	1	/	1

*Tableau 19 : Descriptif de l'utilisation de la Midostaurine pendant la phase de consolidation*

Pendant la phase de consolidation, le constat est similaire à ce qui est observé lors de la phase d'induction. En effet, l'arrêt de la Midostaurine est majoritairement lié à la fin des cycles de consolidation et pour seulement un patient, l'arrêt de la Midostaurine est dû à la

toxicité. Pour ce patient, la toxicité s'est manifestée par une infection pulmonaire, des troubles digestifs (nausées, vomissements) et une altération de l'état général suite au premier cycle de consolidation, induisant un arrêt définitif de la Midostaurine. Or, ce patient ne présentait pas d'interaction médicamenteuse entre ses traitements habituels et la Midostaurine.

La différence n'est pas statistiquement significative pour le motif d'arrêt entre les patients avec ( $p = 1,000$ ) ou sans interaction médicamenteuse ( $p = 1,000$ ).

### Évaluation de l'impact des co-médications sur la réponse de la Midostaurine pendant la phase d'induction

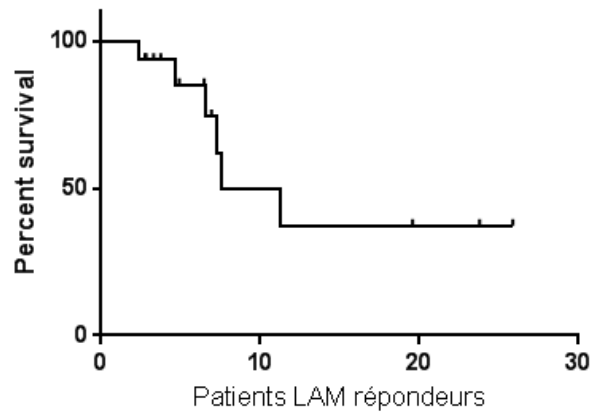
Les données sur l'efficacité de la Midostaurine en présence de co-médications concernent uniquement les patients atteints de LAM. (Tableau 20)

<b>Efficacité</b>	Tous patients N = 16	Patients avec interactions médicamenteuses N = 5	Patients sans interaction médicamenteuse N = 11	p
Rémission complète post induction N (%)	14 (87,50%)	5 (100%)	9 (81,81%)	P = 1,000

*Tableau 20 : Données d'efficacité de la Midostaurine suite à la phase d'induction pour les patients atteints de LAM*

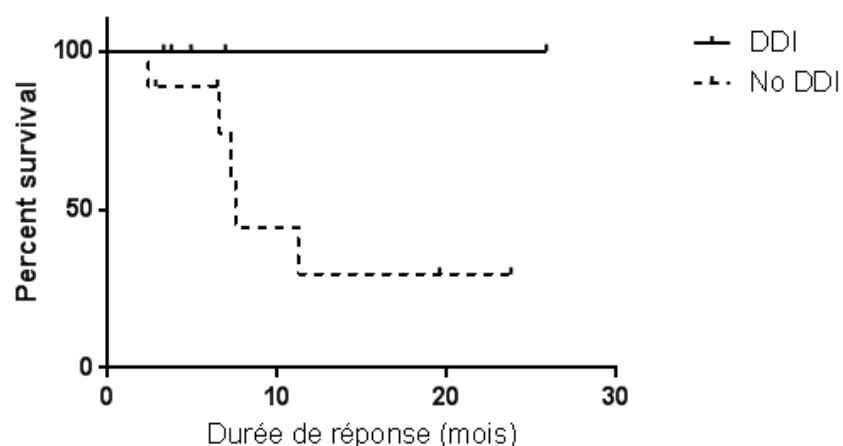
En présence d'interactions médicamenteuses, le pourcentage de rémission complète suite à la phase d'induction est de 100 %. A l'inverse, les patients n'ayant pas d'interaction médicamenteuse entre leur traitement habituel et la Midostaurine ont un pourcentage de rémission complète de 81,81 %. Cependant, ces résultats sont à modérer car la différence n'est pas statistiquement significative ( $p = 1,000$ ).

La durée médiane de réponse était de 11,2 mois, avec IC95% [7,3-NE]. Les courbes de survie sans rechute sont présentées en figure 39, les données étaient censurées à la date de la greffe le cas échéant. (Figure 39)



*Figure 39 : Courbe de durée de réponse pour les patients traités pour une LAM ayant obtenu une réponse complète à l'induction (N = 14)*

En présence d'interactions médicamenteuses, avec un suivi médian de 7,4 mois (min 4,3 mois - max 28,0 mois), la médiane de durée de réponse n'était pas atteinte. En effet, la réponse à la Midostaurine se poursuit pour l'ensemble des patients présentant des interactions médicamenteuses entre leurs traitements habituels et la Midostaurine. En l'absence d'interaction, la médiane de durée de réponse pour les patients était de 7,5 mois, pour un suivi médian de 14,7 mois (min 3,6 mois – max 25,2 mois). (Figure 40)

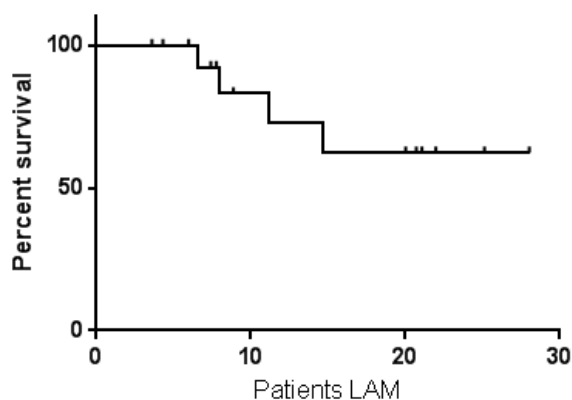


*Figure 40 : Courbe de durée de réponse des patients traités pour une LAM ayant obtenu une réponse complète à l'induction (N = 14) en fonction de l'association (DDI) ou non (No DDI) avec un inhibiteur puissant du cytochrome 3A4*

La médiane de survie globale n'était pas atteinte dans notre étude.

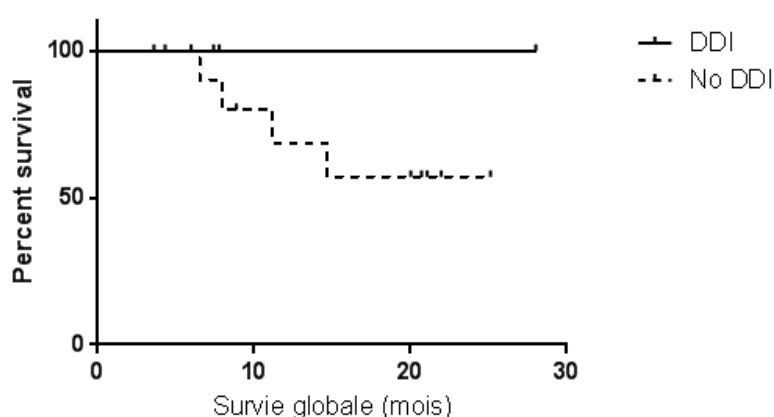
La probabilité de survie à 10 mois était estimée à 83,1%, avec IC95% [64,1-100,0].

Le suivi moyen des patients de l'étude était de 13,4 mois avec un minimum de 3,6 mois et un maximum de 28,0 mois. (Figure 41)



*Figure 41* : Courbe de survie globale des patients traités pour une LAM (N = 16)

En présence d'interactions médicamenteuses, la durée médiane de survie globale n'est pas atteinte non plus. En effet, le constat est similaire à la durée médiane de réponse. L'ensemble des patients présentant des interactions médicamenteuses était toujours vivant au 1<sup>er</sup> octobre 2020, date à laquelle le recueil des données de l'étude s'est arrêté. Le suivi médian des patients présentant des interactions médicamenteuses était de 7,4 mois avec un minimum de 4,3 mois et un maximum de 28,0 mois. En l'absence d'interaction, le suivi médian était de 14,7 mois avec un minimum de 3,6 mois et un maximum de 25,2 mois. (Figure 42)



*Figure 42* : Courbe de survie globale des patients traités pour une LAM (N = 16) en fonction de l'association (DDI) ou non (No DDI) avec un inhibiteur puissant du cytochrome

3A4

Évaluation de l'impact des co-médications sur la toxicité de la Midostaurine pendant la phase d'induction

Lors de la phase d'induction, un grand nombre d'effets indésirables au traitement a été mis en évidence. Ces effets indésirables ont été recueillis auprès de l'ensemble des patients, toute indication de Midostaurine confondue.

Les incidences des toxicités hématologique et non hématologique sont détaillées dans les tableaux suivants. (Tableau 21, Tableau 22)

<b>Toxicité non hématologique</b>	<b>Tous patients N = 18</b>	<b>Patients avec interactions médicamenteuses N = 5</b>	<b>Patients sans interaction médicamenteuse N = 13</b>	<b>p</b>
Affections gastro-intestinales (nausées, vomissements, diarrhées, hémorroïdes)	16 (88,9 %)	4 (80,0%)	12 (92,3 %)	0.490
Affections cardiaques (hypotension artérielle, passage en fibrillation auriculaire, allongement de l'intervalle QT, tachycardie sinusale)	6 (33,3%)	2 (40%)	4 (30,8 %)	0.600
Affections respiratoires (dyspnée, syndrome de détresse respiratoire aiguë)	7 (38,9%)	2 (40%)	5 (38,5%)	1.000
Affections dermatologiques (dermatites exfoliatrices)	7 (38,9%)	1 (20%)	6 (46,2%)	0.596
Affections musculaires	4 (22,2%)	/	4 (30,8 %)	0.278
Affections psychiatriques	4 (22,2%)	1 (20,0%)	3 (23,1%)	1.000
Affections oculaires	1 (5,6%)	/	1 (7,7%)	1.000
Augmentation des enzymes hépatiques ALAT et ASAT	11 (61,1%)	4 (80,0 %)	7 (53,9%)	0.596

***Tableau 21 : Incidence des toxicités non hématologiques pendant la phase d'induction pour tous les patients inclus dans l'étude***

Toxicité hématologique	Tous patients N = 18	Patients avec interactions médicamenteuses N = 5	Patients sans interaction médicamenteuse N = 13	p
Infections (infection liée à un dispositif, infection des voies respiratoires supérieures)	14 (77,8%)	4 (80,0 %)	10 (77,0 %)	1.000
Diminution de l'hémoglobine	18 (100%)	5 (100%)	13 (100%)	1.000

*Tableau 22 : Incidence des toxicités hématologiques pendant la phase d'induction pour tous les patients inclus dans l'étude*

Durant la phase d'induction, aucun des 5 patients concernés par les interactions médicamenteuses n'a arrêté le traitement par Midostaurine pour cause de toxicité. Seul un patient traité par *Posaconazole* et Midostaurine a dû diminuer la posologie de Midostaurine pour cause d'effets secondaires de type nausées, allongement de l'intervalle QT et passage en fibrillation auriculaire. La posologie initiale de 50 mg deux fois par jour a été diminuée à 25 mg le matin et 25 mg le soir.

Nous avons analysé et comparé les effets indésirables des patients pour qui une interaction médicamenteuse a été mise en évidence par rapport aux patients sans interaction médicamenteuse. Les effets indésirables gastro-intestinaux semblent plus fréquents en l'absence d'interaction médicamenteuse : 92,3 % des patients vs 80,0 % des patients en cas d'interactions médicamenteuses. Cette tendance s'observe également pour les effets indésirables : dermatologiques (46,2 % vs 20 % en présence d'interactions médicamenteuses), musculaires (30,8 % en l'absence d'interaction médicamenteuse), psychiatriques (23,1 % vs 20 % en présence d'interactions) et oculaires (7,7 % en l'absence d'interaction médicamenteuse).

A l'inverse, certaines anomalies du bilan biologique paraissent plus fréquentes chez les patients présentant des interactions médicamenteuses : augmentation des enzymes hépatiques ALAT et ASAT (80 % vs 53,9 % en l'absence d'interaction).

Concernant le bilan biologique, la diminution de l'hémoglobine est retrouvée chez 100 % des patients qu'il y ait ou non des interactions médicamenteuses.

Cependant, les résultats de toxicité observés ne sont pas statistiquement significatifs.



### 3.4) Discussion

Le but de cette analyse était d'estimer l'impact des interactions médicamenteuses sur la réponse au traitement et l'éventuelle toxicité induite par la Midostaurine chez des patients atteints de LAM, pris en charge à l'IUCT.

Dans cette étude, nous avons retrouvé que cinq patients qui présentaient des interactions médicamenteuses potentiellement cliniquement significatives.

Bien que certains patients de l'étude soient traités pour une leucémie à mastocytes ou pour une mastocytose systémique, la Midostaurine est principalement utilisée pour traiter des patients atteints de LAM. Au vu des caractéristiques des patients, la grande majorité est traitée par la Midostaurine pour une LAM *de novo* en première ligne de traitement, à la posologie de 50 mg deux fois par jour.

L'incidence des effets indésirables est plus importante que celles reportées dans les essais cliniques. (132,135)

Mais il est à noter que dans notre cohorte de patients, tous les effets indésirables ont été considérés et pas seulement les effets indésirables de grade  $\geq 3$ , dans la mesure où la gradation était compliquée à réaliser rétrospectivement. Une façon de ne considérer que les effets graves aurait consisté à ne prendre en considération que les effets ayant une conséquence sur le traitement par Midostaurine à savoir une concession de posologie ou un arrêt du traitement. Or ces événements étaient relativement rares, c'est pourquoi nous avons considéré l'ensemble des effets indésirables quel que soit le grade.

Chez les patients traités pour une LAM, lors de la phase d'induction, les toxicités hématologiques et non hématologiques observées ont été à l'origine d'un arrêt prématuré de la Midostaurine pour deux patients, et d'une concession de dose de 50 % pour deux patients également. Ces effets indésirables étaient principalement cardiaques (bradycardie, allongement de l'intervalle QT), digestifs (nausées, vomissements) et biologiques (cytolyse et cholestase hépatique). Parmi les quatre patients pour lesquels la posologie initiale de Midostaurine a été modifiée voire arrêtée, seul un patient possédait des interactions médicamenteuses entre son traitement et la Midostaurine.

De nombreux effets indésirables ont été déclarés par les patients durant cette phase d'induction, sans conduire à un arrêt ou une réduction de dose de la Midostaurine. Néanmoins, bien que manquant de puissance statistique pour mettre en évidence des différences significatives, nous n'avons pas observé de signal laissant penser que les patients avec un inhibiteur puissant du cytochrome 3A4 étaient plus à risque de toxicité. En effet, les interactions médicamenteuses ne semblent pas majorer la toxicité de la Midostaurine.

Parmi les 16 patients atteints de LAM et traités par la Midostaurine dans cette étude, une rémission complète a été obtenue pour 14 patients. Étant donné que nous nous concentrons sur les interactions entre la Midostaurine et le Posaconazole, le risque est l'augmentation des concentrations plasmatiques de Midostaurine et par conséquent de sa toxicité. Il pourrait également en découler une amélioration de son efficacité qui se traduirait par un pourcentage de rémission complète supérieur chez les personnes présentant des interactions médicamenteuses. Or, ce n'est pas le cas, la présence d'interactions médicamenteuses ne semble pas améliorer le pourcentage de rémission complète : 100 % en présence d'interactions médicamenteuses vs 81,81 % en l'absence d'interaction ( $p = 1,000$ ). A noter tout de même que l'ensemble des patients présentant des interactions a atteint la rémission complète suite à la phase d'induction et que celle-ci persistait au 1<sup>er</sup> octobre 2020.

Concernant la durée médiane de réponse à la Midostaurine, elle est de 11,2 mois pour tous les patients traités pour une LAM ayant une réponse à la Midostaurine. Cependant, elle est difficilement comparable à celle des patients présentant des interactions médicamenteuses. En effet, la réponse à la Midostaurine se poursuit chez l'ensemble de ces patients, la durée médiane de réponse n'est donc pas atteinte. Le constat est le même pour la durée médiane de survie globale.

La probabilité de survie à 10 mois des patients traités pour une LAM est, quant à elle, estimée à 83,1 % (IC95% [64,1-100,0]).

Pour les patients en rémission complète suite à la phase d'induction, la Midostaurine est poursuivie pendant la phase de consolidation, pour un nombre de cycles qui varie d'un patient à l'autre. Si nous nous attardons sur les motifs d'arrêt de la Midostaurine pendant cette phase, le constat est le même que pendant la phase d'induction. La grande majorité

des arrêts de Midostaurine pendant la phase de consolidation survient dans un contexte de fin de cycle et non de toxicité. Seulement un patient a arrêté prématurément la Midostaurine en phase de consolidation pour toxicité infectieuse (infection pulmonaire) et digestive (nausées, vomissements). D'après les résultats, les interactions médicamenteuses ne majorent pas le risque de toxicité de la Midostaurine et donc le risque d'arrêt de traitement ( $p = 1,000$ )

Cependant, tous ces résultats sont à interpréter avec prudence, car cette étude possède plusieurs limites. Tout d'abord, il s'agit d'une étude observationnelle rétrospective avec pour objectif d'évaluer la relation de cause à effet entre une exposition spécifique et un événement de santé. Une étude rétrospective se base sur l'obtention de données recueillies dans les dossiers médicaux des patients. Il n'y a pas d'interaction directe entre l'investigateur de l'étude et les patients ciblés par l'étude. Les résultats des études rétrospectives ont un niveau de preuve moins important car ils se basent uniquement sur l'examen de dossiers médicaux et ne comprennent pas de recherche prospective d'informations obtenues auprès des personnes concernées par l'étude. Les études rétrospectives font face aux biais d'information. En effet, tous les comptes-rendus inclus dans le dossier des patients n'ont pas été rédigés par le même professionnel de santé. Il existe une différence systématique dans la façon de recueillir l'information. Le biais de mémorisation est également une limite des études rétrospectives. Les patients se souviennent avec une intensité différente de leur exposition au facteur de risque étudié ; dans ce cas il s'agit de l'exposition aux autres médicaments associés à la Midostaurine. Les limites concernent également l'interprétation du bilan biologique. En effet, les paramètres biologiques et notamment l'hémoglobine sont très souvent perturbés avant le début du traitement d'induction. Il est donc difficile d'interpréter le bilan biologique et d'évaluer le rôle des interactions sur la toxicité de la Midostaurine.

De plus, l'échantillon de cette étude est de taille réduite. En effet, l'effectif total est de 18 patients seulement, dont 5 patients présentant des interactions médicamenteuses et 13 patients sans interaction médicamenteuse. Les résultats de cette analyse ont une puissance trop faible pour tirer des conclusions quant à l'impact des traitements habituels sur la réponse et la toxicité à la Midostaurine.

Nous avons observé une différence d'âge entre les patients avec ou sans interaction, avec des patients majoritairement plus âgés dans le groupe sans interaction. Ceci a peut être

majoré le risque de toxicité chez les patients sans interaction. Il aurait été nécessaire de pouvoir faire une analyse multivariée en intégrant l'âge pour évaluer la corrélation entre interaction et toxicité. Cependant, nos effectifs étaient bien trop faibles pour pouvoir faire ce genre d'analyse.

Cette différence d'âge peut paraître paradoxale dans la mesure où les patients âgés ont potentiellement plus de comorbidités et donc plus de co-médications. Or, dans cette étude, le principal médicament responsable d'interactions pharmacocinétiques était le Posaconazole ce qui a potentiellement estompé les éventuels effets des médicaments chroniques des patients.

La Midostaurine est une molécule récente, ce qui suggère une certaine méconnaissance de l'impact des interactions médicamenteuses. En effet, certaines interactions dites « théoriques » n'ont pas forcément d'impact clinique, il est donc difficile de prédire la toxicité et la conduite à tenir : diminution de posologie de la Midostaurine, arrêt des traitements associés... De plus, les interactions peuvent être au niveau des cytochromes comme c'est le cas dans cette étude, mais également au niveau des transporteurs d'influx et d'efflux... Les interactions au niveau de ces transporteurs ne sont pas totalement connues à l'heure actuelle, et pour la grande majorité, elles ont été mises en évidence uniquement *in vitro*.

Les effets attendus de telles interactions étant faibles, il aurait fallu un plus gros effectif de patients pour pouvoir explorer cette question.

L'absorption de la Midostaurine est modifiée en fonction de la composition du repas. Dans l'indication des LAM, la Midostaurine est prise à une posologie de 50 mg deux fois par jour, à au moins 12 heures d'intervalle. La nature du repas influe sur l'absorption de la Midostaurine. En cas d'administration avec un repas standard, l'absorption de la Midostaurine est augmentée de 22 % en moyenne, alors qu'elle est augmentée de 59 % en moyenne lorsque la prise est faite lors d'un repas riche en matières grasses. C'est la raison pour laquelle il est recommandé de prendre la Midostaurine lors d'un repas. (128) Dans notre étude, nous n'avons pas la possibilité de vérifier le moment de prise du médicament pour prendre en compte cette source de variabilité.

Le choix de se focaliser sur l'influence d'un inhibiteur puissant du cytochrome 3A4 était guidé par les études d'interaction entre le Kétoconazole et la Midostaurine réalisées lors

du développement de la Midostaurine. Ces études ont montré que le Kétoconazole chez les sujets sains entraînait une augmentation de l'exposition à la Midostaurine de plus d'un facteur 10, sans toutefois être associé à une augmentation des toxicités. (196)

Dans notre étude, la co-administration du Posaconazole, inhibiteur puissant du cytochrome 3A4, avec la Midostaurine ne conduit pas à une augmentation significative des toxicités, ce qui est cohérent avec les observations réalisées chez des volontaires sains. Ainsi, il semblerait que même en cas d'interactions médicamenteuses, la toxicité ne soit pas majorée.

Récemment, des études d'interaction entre la Midostaurine et les inhibiteurs puissants du cytochrome 3A4 comme le Posaconazole ont été réalisées. En effet, ce dernier fait partie de la stratégie thérapeutique des patients atteints de LAM dans la prévention des infections fongiques invasives. Il ressort de ces études que l'association Midostaurine/Posaconazole n'est pas une contre-indication formelle. Cependant, lors du choix de la prophylaxie antifongique, il faut tenir compte des facteurs de risque ou des comorbidités propres au patient. Le *Posaconazole* est souvent la molécule de choix dans la prophylaxie antifongique mais nécessite une évaluation approfondie. Les données disponibles suggèrent qu'il n'y a pas de contre-indication absolue de co-administrer la Midostaurine et le *Posaconazole*. Des effets indésirables graves ont été mis en évidence en cas de co-administration de ces deux molécules, cependant les études ne peuvent toujours pas dire si ces effets indésirables peuvent être liés aux interactions médicamenteuses ou non. En l'absence d'alternatives thérapeutiques, la Midostaurine peut être co-administrée à des inhibiteurs puissants du cytochrome 3A4, comme le *Posaconazole* sous réserve de mettre en place une surveillance rapprochée du patient. En considérant l'amélioration de la survie induite par la Midostaurine, l'administration concomitante avec des inhibiteurs du cytochrome 3A4 doit toujours être évaluée et appliquée au cas par cas seulement en l'absence d'autres possibilités thérapeutiques. La surveillance de l'ECG en cas d'allongement de l'intervalle QT pourra être effectuée selon les comorbidités des patients. Certains patients qui suivent un traitement par la Midostaurine souffrent d'infections fongiques invasives, et il peut être nécessaire d'instaurer un traitement antifongique prolongé par des inhibiteurs puissants du cytochrome 3A4. Dans ce cas là, le choix de l'antifongique devra être approprié à la durée de traitement afin de ne pas compromettre le pouvoir anti-leucémique de la Midostaurine par des toxicités induites ou par l'apparition d'infections fongiques. (182)

Une autre étude a démontré une multiplication par un facteur 8 des concentrations plasmatiques de Midostaurine par le Posaconazole, accompagnée d'une diminution des concentrations plasmatiques des métabolites hydroxylé (CGP52421) et O-déméthylé (CGP62221). Au vu de ce risque, les hématologues de cette étude ont remplacé le Posaconazole par un autre antifongique comme l'Isavuconazole ou la Micafungine, qui sont respectivement inhibiteur modéré et faible du cytochrome 3A4, et ne modifient pas la pharmacocinétique de la Midostaurine. Cependant, ces deux molécules ne sont pas indiquées en première intention en prophylaxie des infections fongiques invasives chez les patients recevant une chimiothérapie d'induction pour une LAM. (183) Les préoccupations au sujet de l'inhibition du cytochrome 3A4 peuvent l'emporter sur la conformité aux recommandations, et ainsi l'Isavuconazole ou la Micafungine peut être prescrit en remplacement du Posaconazole. D'autres études sont tout de même nécessaires pour étudier le bénéfice de l'Isavuconazole ou de la Micafungine dans la prévention des infections fongiques invasives chez des patients sous chimiothérapie pour le traitement d'une LAM. (184)

Une approche multidisciplinaire est essentielle à la prise en charge actuelle des patients atteints de LAM et à risque d'interactions médicamenteuses. Plusieurs méthodes ont été proposées pour mieux prévenir les effets indésirables en cas d'administration concomitante de Midostaurine et de Posaconazole (185) :

- Administration concomitante de Posaconazole et de Midostaurine à la posologie de 50 mg deux fois par jour avec une surveillance étroite des effets indésirables, notamment cardiaques, pulmonaires et digestifs. En cas d'effets indésirables graves, l'arrêt de la Midostaurine est recommandé. Le risque de cette approche est de détecter trop tardivement des effets indésirables graves et exposent les patients à des risques imprévisibles. Plusieurs publications recommandent cette approche en supposant que le risque d'effets indésirables ne soit pas significativement augmenté. (182, 186) A l'inverse, d'autres auteurs sensibilisent sur le risque d'effets indésirables cliniquement importants. Cette approche reste donc à étudier à travers des essais cliniques.
- Réduction de la dose de Midostaurine de 50 %, soit 25 mg deux fois par jour pendant la phase d'induction en association au Posaconazole. D'un côté, cela semble raisonnable pour réduire le risque d'augmentation de la concentration de

Midostaurine et d'effets indésirables qui en découlent. Toutefois, en l'absence de surveillance des concentrations sanguines de Midostaurine, cette stratégie peut être remise en question compte tenu de la diminution de posologie de la Midostaurine et potentiellement de son activité anti-leucémique. De plus, le Posaconazole est habituellement administré uniquement pendant la phase d'induction, tandis que la Midostaurine se poursuit pendant la phase de consolidation jusqu'à l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques voire même pendant la phase d'entretien qui dure généralement un an. Par conséquent, une fois la prophylaxie par Posaconazole arrêtée, la dose de Midostaurine doit être à nouveau augmentée pour éviter un sous-dosage et priver les patients d'un traitement efficace. (185)

- Remplacer le Posaconazole par une autre molécule dans le cadre de la prophylaxie antifongique. Le Posaconazole peut être remplacé par des molécules de la famille des Echinocandines. Par exemple, la Micafungine est largement utilisée chez les enfants, chez les patients intolérants au Posaconazole, et en prévention des infections à *Candida* chez les patients bénéficiant d'une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques. (187) Des études sur l'efficacité de cette molécule en prophylaxie d'infection fongique ont été réalisées, les résultats sont semblables à ceux obtenus avec le Fluconazole. (188, 189) Son utilisation comme agent prophylactique alternatif dans les LAM a été suggérée. (188, 190) Toutefois, cette recommandation découle d'études dont la puissance statistique est limitée. La Caspofungine, autre molécule de la famille des Echinocandines, a également été utilisée comme agent prophylactique chez les patients atteints de LAM avec des résultats contradictoires. (191, 192) Néanmoins, la Micafungine et la Caspofungine assurent une faible pénétration du SNC. En fin de compte, ces molécules ne sont disponibles que par voie intraveineuse. Un autre choix attrayant pour la prophylaxie antifongique est l'Isavuconazole avec seulement une inhibition modérée du cytochrome 3A4. Il s'est révélé être un antifongique sûr et efficace à une dose quotidienne de 200 mg ou 400 mg chez les patients atteints de LAM. (193) Les caractéristiques pharmacologiques semblent favorables et le fait de ne pas induire un allongement de l'intervalle QT font de cette molécule une alternative médicamenteuse intéressante en association à la Midostaurine. Toutefois, les données sur l'efficacité de la prophylaxie antifongique sont contradictoires. (194, 195) Le Voriconazole semble être une option négligeable dans ce contexte puisqu'il

n'est pas considéré comme supérieur au Posaconazole en tant qu'agent prophylactique et a des effets inhibiteurs du cytochrome 3A4 semblables.

- Administration concomitante de Posaconazole et de Midostaurine à la posologie de 50 mg deux fois par jour et mettre en place un suivi thérapeutique pharmacologique (STP). Cette approche repose sur l'adaptation des doses de Midostaurine et de Posaconazole en fonction des dosages réalisés régulièrement dans le cadre du suivi thérapeutique pharmacologique. L'intérêt de ces dosages est de surveiller l'efficacité prophylactique du Posaconazole et l'activité anti-leucémique de la Midostaurine. L'adaptation de la dose de Midostaurine en fonction des concentrations mesurées permet une prise en charge individualisée.

### **3.5) Conclusion**

Bien que cette étude présente de nombreuses limites, notamment un effectif de patients réduit et un caractère rétrospectif du recueil, elle apporte tout de même une première approche sur le risque de toxicité et sur l'efficacité de la Midostaurine en présence d'interactions médicamenteuses.

D'après les résultats obtenus, les interactions médicamenteuses entre la Midostaurine et les traitements habituels des patients ne semblent pas majorer le risque de toxicité de cette molécule. Pour le moment, il n'y a donc pas lieu de changer les pratiques médicales et de proposer des adaptations de dose à priori. Cependant, ces résultats sont à confirmer par des études avec un nombre de patients plus importants qui apportent un niveau de preuve supérieur. Il convient notamment de continuer à suivre nos patients et ré-évaluer la question avec une cohorte de patients plus importante et avec un recul considérable.



## **CONCLUSION**

Les inhibiteurs de tyrosine kinase sont des molécules prometteuses, apportant un réel bénéfice pour la survie des patients dans le domaine de l'oncologie. Contrairement aux chimiothérapies conventionnelles, ces molécules ciblent spécifiquement les anomalies moléculaires retrouvées au sein des tissus tumoraux, d'où leur appellation de « thérapies ciblées ». Du fait de leur action spécifique sur les cellules tumorales, elles sont généralement mieux tolérées que les chimiothérapies standards. Néanmoins, les inhibiteurs de tyrosine kinase ne sont pas dénués d'effets secondaires et d'inconvénients.

La Midostaurine, inhibiteur de tyrosine kinase FLT3, est indiquée dans le traitement des patients adultes présentant une leucémie aiguë myéloïde nouvellement diagnostiquée avec mutation du gène FLT3, en association avec la chimiothérapie conventionnelle pour un effet synergique du traitement. Cette molécule de thérapie ciblée a apporté un réel bénéfice pour la survie et le pronostic des patients et permet également une amélioration de leur qualité de vie.

Cependant, la Midostaurine comme la grande majorité des inhibiteurs de tyrosine kinase est métabolisée au niveau du foie par le cytochrome 3A4. Cette particularité pharmacocinétique n'est pas sans conséquence puisque cela s'accompagne de nombreuses interactions médicamenteuses lorsque la Midostaurine est associée à d'autres traitements pris simultanément. Les inhibiteurs enzymatiques du cytochrome 3A4 pris de manière concomitante à la Midostaurine peuvent induire une augmentation de sa concentration et donc de sa toxicité. A l'inverse, les inducteurs enzymatiques du cytochrome 3A4 en association à la Midostaurine risquent de diminuer sa concentration et donc son efficacité.

Cette analyse avait pour objectif d'étudier l'impact des interactions médicamenteuses sur la réponse et la toxicité de la Midostaurine. Bien que cette étude présente de nombreuses limites, comme le faible effectif de patients et le caractère rétrospectif, elle permet une première approche. D'après les résultats, il semblerait que les interactions médicamenteuses ne majorent pas la toxicité de la Midostaurine.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

1. Société française d'Hématologie. La leucémie aiguë myéloïde. Information patient. [Internet]. [Consulté le 12/01/2021]. Disponible sur : [leucemieaigue\\_myeloide.pdf](#) (hematologie.net)
2. Qu'est-ce que la leucémie aiguë myéloblastique? - Société canadienne du cancer [Internet]. [cité 1 févr 2021]. Disponible sur: <https://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-type/leukemia-acute-myelogenous-aml/acute-myelogenous-leukemia/?region=on>
3. Estey E, Döhner H. Acute myeloid leukaemia. Lancet. 25 nov 2006;368(9550):1894-907.
4. SPF. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018 - Hémopathies malignes : Étude à partir des registres des cancers du réseau Francim [Internet]. [cité 1 févr 2021]. Disponible sur: </import/estimations-nationales-de-l-incidence-et-de-la-mortalite-par-cancer-en-france-metropolitaine-entre-1990-et-2018-hemopathies-malignes-etude-a-pa>
5. Shallis RM, Wang R, Davidoff A, Ma X, Zeidan AM. Epidemiology of acute myeloid leukemia: Recent progress and enduring challenges. Blood Rev. juill 2019;36:70-87.
6. Laboratoire d'Hématologie Cellulaire du CHU d'Angers [Internet]. [cité 1 févr 2021]. Disponible sur: <http://www.hematocell.fr/index.php/enseignement-de-lhematologie-cellulaire/hematologie-et-pathologie-generale/28-leucemies-aigues-myeloides>
7. Physiologie de l'hématopoïèse - Cours soignants [Internet]. EspaceSoignant.com. [cité 1 févr 2021]. Disponible sur: <https://www.espacesoignant.com/soignant/anatomie-physiologie/physiologie-hematopoiese>
8. Laboratoire d'Hématologie Cellulaire du CHU d'Angers [Internet]. [cité 1 févr 2021]. Disponible sur: <http://www.hematocell.fr/index.php/enseignement-de-lhematologie->

[cellulaire/leucocytes-et-leur-pathologie/23-hematopoiese-cellules-souches-hematopoiétiques-facteurs-de-croissance](#)

9. Erythropoïétine (EPO) [Internet]. CHUV. [cité 1 févr 2021]. Disponible sur: <https://www.chuv.ch/fr/nephrologie/nep-home/professionnels-de-la-sante/laboratoire/erythropoietine-epo>
10. Gilliland DG, Jordan CT, Felix CA. The molecular basis of leukemia. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2004;80-97.
11. Downing JR. The core-binding factor leukemias: lessons learned from murine models. Current Opinion in Genetics & Development. 1 févr 2003;13(1):48-54.
12. Lu Q, Qiu X, Hu N, Wen H, Su Y, Richardson BC. Epigenetics, disease, and therapeutic interventions. Ageing Research Reviews. 1 nov 2006;5(4):449-67.
13. Epigenetique epigenetics modification histone transcription relation structure fonction des proteines Enseignement et recherche Biochimie Emmanuel Jaspard Universite Angers biochimej [Internet]. [cité 9 févr 2021]. Disponible sur: <http://biochimej.univ-angers.fr/Page2/COURS/Zsuite/3BiochMetab/2Epigenetics/1Epigenetics.htm>
14. Bernard O. Dérégulation des mécanismes de contrôle de la méthylation et de la déméthylation des cytosines dans les hémopathies malignes humaines. 2015;4.
15. Rôle de la méthylation [Internet]. [cité 9 févr 2021]. Disponible sur: [https://embryologie.medecine.parisdescartes.fr/empreinte/Chapitre\\_2/Chap02\\_03.htm](https://embryologie.medecine.parisdescartes.fr/empreinte/Chapitre_2/Chap02_03.htm)
16. Les marques épigénétiques : méthylation de l'ADN et modifications des histones [Internet]. StuDocu. [cité 9 févr 2021]. Disponible sur: <https://www.studocu.com/fr/document/universite-de-caen-normandie/biologie-cellulaire-et-physiologie/notes-de-cours/les-marques-epigenetiques-methylation-de-ladn-et-modifications-des-histones/2151940/view>

17. Attwood JT, Yung RL, Richardson BC. DNA methylation and the regulation of gene transcription. *Cell Mol Life Sci.* févr 2002;59(2):241-57.
18. Genomic and Epigenomic Landscapes of Adult De Novo Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med.* 30 mai 2013;368(22):2059-74.
19. Figueroa ME, Wahab OA, Lu C, Ward PS, Patel J, Shih A, et al. Leukemic IDH1 and IDH2 mutations result in a hypermethylation phenotype, disrupt TET2 function, and impair hematopoietic differentiation. *Cancer Cell.* 14 déc 2010;18(6):553-67.
20. Smith MT, Wang Y, Kane E, Rollinson S, Wiemels JL, Roman E, et al. Low NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 activity is associated with increased risk of acute leukemia in adults. *Blood.* 1 mars 2001;97(5):1422-6.
21. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol.* août 1976;33(4):451-8.
22. De Kouchkovsky I, Abdul-Hay M. « Acute myeloid leukemia: a comprehensive review and 2016 update ». *Blood Cancer J.* 1 juill 2016;6(7):e441.
23. Classification de la leucémie aiguë myéloblastique - Société canadienne du cancer [Internet]. [cité 9 févr 2021]. Disponible sur: <https://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-type/leukemia-acute-myelogenous-aml/acute-myelogenous-leukemia/classification-of-acute-myelogenous-leukemia/?region=on>
24. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood.* 19 mai 2016;127(20):2391-405.
25. Leucémie myéloïde aiguë (LMA) - Hématologie et oncologie [Internet]. Édition professionnelle du Manuel MSD. [cité 9 févr 2021]. Disponible sur: <https://www.msdmanuals.com/fr/professional/h%C3%A9matologie-et-oncologie/leuc%C3%A9mies/leuc%C3%A9mie-my%C3%A9lo%C3%AFde-aigu%C3%AB-lma>

26. Döhner H, Estey EH, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, Burnett AK, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood*. 21 janv 2010;115(3):453-74.
27. Myeloperoxidase - IHC Primary Antibodies [Internet]. [cité 28 févr 2021]. Disponible sur : [https://shop.leicabiosystems.com/global\\_fr\\_FR/ihc-ish/ihc-primary-antibodies/pid-myeloperoxidase](https://shop.leicabiosystems.com/global_fr_FR/ihc-ish/ihc-primary-antibodies/pid-myeloperoxidase)
28. Diagnostic de la leucémie - Société canadienne du cancer [Internet]. [www.cancer.ca](http://www.cancer.ca). [cité 28 févr 2021]. Disponible sur: <https://www.cancer.ca:443/fr-ca/cancer-information/cancer-type/leukemia-acute-myelogenous-aml/diagnosis/?region=on>
29. Surveillance, Epidemiology, and End Results Program [Internet]. [cité 28 févr 2021]. Disponible sur : [https://seer.cancer.gov/archive/csr/1975\\_2016/results\\_merged/topic\\_survival.pdf](https://seer.cancer.gov/archive/csr/1975_2016/results_merged/topic_survival.pdf)
30. Appelbaum FR, Gundacker H, Head DR, Slovak ML, Willman CL, Godwin JE, et al. Age and acute myeloid leukemia. *Blood*. 1 mai 2006;107(9):3481-5.
31. Juliusson G, Antunovic P, Derolf A, Lehmann S, Möllgård L, Stockelberg D, et al. Age and acute myeloid leukemia: real world data on decision to treat and outcomes from the Swedish Acute Leukemia Registry. *Blood*. 30 avr 2009;113(18):4179-87.
32. Finn L, Sproat L, Heckman MG, Jiang L, Diehl NN, Ketterling R, et al. Epidemiology of adult acute myeloid leukemia: Impact of exposures on clinical phenotypes and outcomes after therapy. *Cancer Epidemiol*. déc 2015;39(6):1084-92.
33. Varadarajan R, Licht AS, Hyland AJ, Ford LA, Sait SNJ, Block AW, et al. Smoking adversely affects survival in acute myeloid leukemia patients. *Int J Cancer*. 15 mars 2012;130(6):1451-8.

34. Byrne MM, Halman LJ, Koniaris LG, Cassileth PA, Rosenblatt JD, Cheung MC. Effects of poverty and race on outcomes in acute myeloid leukemia. *Am J Clin Oncol*. juin 2011;34(3):297-304.
35. Pulte D, Redaniel MT, Jansen L, Brenner H, Jeffreys M. Recent trends in survival of adult patients with acute leukemia: overall improvements, but persistent and partly increasing disparity in survival of patients from minority groups. *Haematologica*. Févr 2013;98(2):222-9.
36. Grimwade D, Hills RK, Moorman AV, Walker H, Chatters S, Goldstone AH, et al. Refinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukemia: determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal abnormalities among 5876 younger adult patients treated in the United Kingdom Medical Research Council trials. *Blood*. 22 juill 2010;116(3):354-65.
37. Mrózek K, Marcucci G, Nicolet D, Maharry KS, Becker H, Whitman SP, et al. Prognostic significance of the European LeukemiaNet standardized system for reporting cytogenetic and molecular alterations in adults with acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 20 déc 2012;30(36):4515-23.
38. Döhner H. Implication of the molecular characterization of acute myeloid leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2007;412-9.
39. Rucker FG, Bullinger L, Schwaenen C, Lipka DB, Wessendorf S, Fröhling S, et al. Disclosure of candidate genes in acute myeloid leukemia with complex karyotypes using microarray-based molecular characterization. *J Clin Oncol*. 20 août 2006;24(24):3887-94.
40. Döhner K, Schlenk RF, Habdank M, Scholl C, Rucker FG, Corbacioglu A, et al. Mutant nucleophosmin (NPM1) predicts favorable prognosis in younger adults with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: interaction with other gene mutations. *Blood*. 1 déc 2005;106(12):3740-6.
41. Becker H, Marcucci G, Maharry K, Radmacher MD, Mrózek K, Margeson D, et al. Favorable prognostic impact of NPM1 mutations in older patients with cytogenetically

normal de novo acute myeloid leukemia and associated gene- and microRNA-expression signatures: a Cancer and Leukemia Group B study. *J Clin Oncol.* 1 févr 2010;28(4):596-604.

42. Falini B, Mecucci C, Tiacci E, Alcalay M, Rosati R, Pasqualucci L, et al. Cytoplasmic nucleophosmin in acute myelogenous leukemia with a normal karyotype. *N Engl J Med.* 20 janv 2005;352(3):254-66.

43. Lin L-I, Chen C-Y, Lin D-T, Tsay W, Tang J-L, Yeh Y-C, et al. Characterization of CEBPA mutations in acute myeloid leukemia: most patients with CEBPA mutations have biallelic mutations and show a distinct immunophenotype of the leukemic cells. *Clin Cancer Res.* 15 févr 2005;11(4):1372-9.

44. Shivarov V, Gueorguieva R, Stoimenov A, Tiu R. DNMT3A mutation is a poor prognosis biomarker in AML: results of a meta-analysis of 4500 AML patients. *Leuk Res.* nov 2013;37(11):1445-50.

45. DiNardo CD, Ravandi F, Agresta S, Konopleva M, Takahashi K, Kadia T, et al. Characteristics, clinical outcome, and prognostic significance of IDH mutations in AML. *Am J Hematol.* août 2015;90(8):732-6.

46. Patel JP, Gönen M, Figueroa ME, Fernandez H, Sun Z, Racevskis J, et al. Prognostic relevance of integrated genetic profiling in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med.* 22 mars 2012;366(12):1079-89.

47. Yohan D. Mise en place de l'évaluation de la maladie résiduelle dans les leucémies aiguës myéloïdes par technique de cytométrie en flux au laboratoire d'hématologie du CHU de Limoges. *Pharmacie Galénique.* 2019;126.

48. Schoch C, Kern W, Schnittger S, Hiddemann W, Haferlach T. Karyotype is an independent prognostic parameter in therapy-related acute myeloid leukemia (t-AML): an analysis of 93 patients with t-AML in comparison to 1091 patients with de novo AML. *Leukemia.* janv 2004;18(1):120-5.

49. Hulegårdh E, Nilsson C, Lazarevic V, Garelius H, Antunovic P, Rangert Derolf Å, et al. Characterization and prognostic features of secondary acute myeloid leukemia in a population-based setting: a report from the Swedish Acute Leukemia Registry. *Am J Hematol.* mars 2015;90(3):208-14.
50. Tallman MS, Gilliland DG, Rowe JM. Drug therapy for acute myeloid leukemia. *Blood.* 15 août 2005;106(4):1154-63.
51. Berman E, Heller G, Santorsa J, McKenzie S, Gee T, Kempin S, et al. Results of a randomized trial comparing idarubicin and cytosine arabinoside with daunorubicin and cytosine arabinoside in adult patients with newly diagnosed acute myelogenous leukemia. *Blood.* 15 avr 1991;77(8):1666-74.
52. Vogler WR, Velez-Garcia E, Weiner RS, Flaum MA, Bartolucci AA, Omura GA, et al. A phase III trial comparing idarubicin and daunorubicin in combination with cytarabine in acute myelogenous leukemia: a Southeastern Cancer Study Group Study. *J Clin Oncol.* juill 1992;10(7):1103-11.
53. Bishop JF, Matthews JP, Young GA, Szer J, Gillett A, Joshua D, et al. A randomized study of high-dose cytarabine in induction in acute myeloid leukemia. *Blood.* 1 mars 1996;87(5):1710-7.
54. Fernandez HF, Sun Z, Yao X, Litzow MR, Luger SM, Paietta EM, et al. Anthracycline dose intensification in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med.* 24 sept 2009;361(13):1249-59.
55. Bloomfield CD, Lawrence D, Byrd JC, Carroll A, Pettenati MJ, Tantravahi R, et al. Frequency of prolonged remission duration after high-dose cytarabine intensification in acute myeloid leukemia varies by cytogenetic subtype. *Cancer Res.* 15 sept 1998;58(18):4173-9.
56. Byrd JC, Ruppert AS, Mrózek K, Carroll AJ, Edwards CG, Arthur DC, et al. Repetitive cycles of high-dose cytarabine benefit patients with acute myeloid leukemia and



inv(16)(p13q22) or t(16;16)(p13;q22): results from CALGB 8461. *J Clin Oncol*. 15 mars 2004;22(6):1087-94.

57. Schlenk RF, Benner A, Krauter J, Büchner T, Sauerland C, Ehninger G, et al. Individual patient data-based meta-analysis of patients aged 16 to 60 years with core binding factor acute myeloid leukemia: a survey of the German Acute Myeloid Leukemia Intergroup. *J Clin Oncol*. 15 sept 2004;22(18):3741-50.

58. Nguyen S, Leblanc T, Fenaux P, Witz F, Blaise D, Pigneux A, et al. A white blood cell index as the main prognostic factor in t(8;21) acute myeloid leukemia (AML): a survey of 161 cases from the French AML Intergroup. *Blood*. 15 mai 2002;99(10):3517-23.

59. Burnett AK, Goldstone AH, Stevens RM, Hann IM, Rees JK, Gray RG, et al. Randomised comparison of addition of autologous bone-marrow transplantation to intensive chemotherapy for acute myeloid leukaemia in first remission: results of MRC AML 10 trial. UK Medical Research Council Adult and Children's Leukaemia Working Parties. *Lancet*. 7 mars 1998;351(9104):700-8.

60. Yanada M, Matsuo K, Emi N, Naoe T. Efficacy of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation depends on cytogenetic risk for acute myeloid leukemia in first disease remission: a metaanalysis. *Cancer*. 15 avr 2005;103(8):1652-8.

61. Ho AD, Lipp T, Ehninger G, Illiger HJ, Meyer P, Freund M, et al. Combination of mitoxantrone and etoposide in refractory acute myelogenous leukemia--an active and well-tolerated regimen. *Journal of Clinical Oncology* [Internet]. 22 sept 2016 [cité 15 mars 2021]; Disponible sur: <https://ascopubs.org/doi/pdf/10.1200/JCO.1988.6.2.213>

62. Daenen S, Löwenberg B, Sonneveld P, van Putten WL, Verhoef G, Verdonck LF, et al. Efficacy of etoposide and mitoxantrone in patients with acute myelogenous leukemia refractory to standard induction therapy and intermediate-dose cytarabine with amsidine. Dutch Hematology-Oncology Working Group for Adults (HOVON). *Leukemia*. janv 1994;8(1):6-10.

63. Anderson JE, Kopecky KJ, Willman CL, Head D, O'Donnell MR, Luthardt FW, et al. Outcome after induction chemotherapy for older patients with acute myeloid leukemia is not improved with mitoxantrone and etoposide compared to cytarabine and daunorubicin: a Southwest Oncology Group study. *Blood*. 1 déc 2002;100(12):3869-76.
64. Pigneux A, Harousseau J-L, Witz F, Sauvezie M, Bene M-C, Luquet I, et al. Addition of lomustine to idarubicin and cytarabine improves the outcome of elderly patients with de novo acute myeloid leukemia: a report from the GOELAMS. *J Clin Oncol*. 20 juin 2010;28(18):3028-34.
65. Lancet JE, Uy GL, Cortes JE, Newell LF, Lin TL, Ritchie EK, et al. CPX-351 (cytarabine and daunorubicin) Liposome for Injection Versus Conventional Cytarabine Plus Daunorubicin in Older Patients With Newly Diagnosed Secondary Acute Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol*. 10 sept 2018;36(26):2684-92.
66. Castaigne S, Pautas C, Terré C, Raffoux E, Bordessoule D, Bastie J-N, et al. Effect of gemtuzumab ozogamicin on survival of adult patients with de-novo acute myeloid leukaemia (ALFA-0701): a randomised, open-label, phase 3 study. *The Lancet*. 21 avr 2012;379(9825):1508-16.
67. Burnett AK, Russell NH, Hills RK, Kell J, Freeman S, Kjeldsen L, et al. Addition of gemtuzumab ozogamicin to induction chemotherapy improves survival in older patients with acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 10 nov 2012;30(32):3924-31.
68. Burnett AK, Milligan D, Prentice AG, Goldstone AH, McMullin MF, Hills RK, et al. A comparison of low-dose cytarabine and hydroxyurea with or without all-trans retinoic acid for acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndrome in patients not considered fit for intensive treatment. *Cancer*. 15 mars 2007;109(6):1114-24.
69. Fenaux P, Mufti GJ, Hellström-Lindberg E, Santini V, Gattermann N, Germing U, et al. Azacitidine prolongs overall survival compared with conventional care regimens in elderly patients with low bone marrow blast count acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 1 févr 2010;28(4):562-9.

70. Gemtuzumab ozogamicine : substance active à effet thérapeutique [Internet]. VIDAL. [cité 20 mars 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/>
71. van Der Velden VH, te Marvelde JG, Hoogeveen PG, Bernstein ID, Houtsmuller AB, Berger MS, et al. Targeting of the CD33-calicheamicin immunoconjugate Mylotarg (CMA-676) in acute myeloid leukemia: in vivo and in vitro saturation and internalization by leukemic and normal myeloid cells. *Blood*. 15 mai 2001;97(10):3197-204.
72. Sievers EL, Larson RA, Stadtmauer EA, Estey E, Löwenberg B, Dombret H, et al. Efficacy and safety of gemtuzumab ozogamicin in patients with CD33-positive acute myeloid leukemia in first relapse. *J Clin Oncol*. 1 juill 2001;19(13):3244-54.
73. Stone RM, DeAngelo DJ, Klimek V, Galinsky I, Estey E, Nimer SD, et al. Patients with acute myeloid leukemia and an activating mutation in FLT3 respond to a small-molecule FLT3 tyrosine kinase inhibitor, PKC412. *Blood*. 1 janv 2005;105(1):54-60.
74. Weisberg E, Boulton C, Kelly LM, Manley P, Fabbro D, Meyer T, et al. Inhibition of mutant FLT3 receptors in leukemia cells by the small molecule tyrosine kinase inhibitor PKC412. *Cancer Cell*. juin 2002;1(5):433-43.
75. Dufour A, Schneider F, Metzeler KH, Hoster E, Schneider S, Zellmeier E, et al. Acute myeloid leukemia with biallelic CEBPA gene mutations and normal karyotype represents a distinct genetic entity associated with a favorable clinical outcome. *J Clin Oncol*. 1 févr 2010;28(4):570-7.
76. Wouters BJ, Löwenberg B, Erpelinck-Verschueren CAJ, van Putten WLJ, Valk PJM, Delwel R. Double CEBPA mutations, but not single CEBPA mutations, define a subgroup of acute myeloid leukemia with a distinctive gene expression profile that is uniquely associated with a favorable outcome. *Blood*. 26 mars 2009;113(13):3088-91.
77. Lemmon MA, Schlessinger J. Cell signaling by receptor-tyrosine kinases. *Cell*. 25 juin 2010;141(7):1117-34.

78. Du Z, Lovly CM. Mechanisms of receptor tyrosine kinase activation in cancer. *Mol Cancer* [Internet]. 19 févr 2018 [cité 6 avr 2021];17. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5817791/>
79. Shewchuk LM, Hassell AM, Ellis B, Holmes WD, Davis R, Horne EL, et al. Structure of the Tie2 RTK domain: self-inhibition by the nucleotide binding loop, activation loop, and C-terminal tail. *Structure*. 15 nov 2000;8(11):1105-13.
80. Nolen B, Taylor S, Ghosh G. Regulation of protein kinases; controlling activity through activation segment conformation. *Mol Cell*. 10 sept 2004;15(5):661-75.
81. Mol CD, Dougan DR, Schneider TR, Skene RJ, Kraus ML, Scheibe DN, et al. Structural basis for the autoinhibition and STI-571 inhibition of c-Kit tyrosine kinase. *J Biol Chem*. 23 juill 2004;279(30):31655-63.
82. La voie de signalisation RAS/MAPK [Internet]. studylibfr.com. [cité 6 avr 2021]. Disponible sur: <https://studylibfr.com/doc/4540877/la-voie-de-signalisation-ras-mapk>
83. Olivier-Abbal DP. RISQUE DES THERAPIES CIBLEES CHEZ LE SUJET AGE : EXEMPLE DES INHIBITEURS DE PROTEINE KINASE. :157.
84. Bos JL. ras oncogenes in human cancer: a review. *Cancer Res*. 1 sept 1989;49(17):4682-9.
85. Perkins G, Lièvre A, Ramacci C, Méatchi T, de Reynies A, Emile J-F, et al. Additional value of EGFR downstream signaling phosphoprotein expression to KRAS status for response to anti-EGFR antibodies in colorectal cancer. *Int J Cancer*. 1 sept 2010;127(6):1321-31.
86. Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature*. 27 juin 2002;417(6892):949-54.
87. Kazi JU, Rönstrand L. FMS-like Tyrosine Kinase 3/FLT3: From Basic Science to Clinical Implications. *Physiol Rev*. 1 juill 2019;99(3):1433-66.

88. Rosnet O, Bühring HJ, Marchetto S, Rappold I, Lavagna C, Sainty D, et al. Human FLT3/FLK2 receptor tyrosine kinase is expressed at the surface of normal and malignant hematopoietic cells. *Leukemia*. Févr 1996;10(2):238-48.
89. Brasel K, Escobar S, Anderberg R, de Vries P, Gruss HJ, Lyman SD. Expression of the flt3 receptor and its ligand on hematopoietic cells. *Leukemia*. Juill 1995;9(7):1212-8.
90. Fagerberg L, Hallström BM, Oksvold P, Kampf C, Djureinovic D, Odeberg J, et al. Analysis of the human tissue-specific expression by genome-wide integration of transcriptomics and antibody-based proteomics. *Mol Cell Proteomics*. févr 2014;13(2):397-406.
91. McKenna HJ, de Vries P, Brasel K, Lyman SD, Williams DE. Effect of flt3 ligand on the ex vivo expansion of human CD34+ hematopoietic progenitor cells. *Blood*. 1 nov 1995;86(9):3413-20.
92. I, Ziegler BL, Köhler I, Marchetto S, Rosnet O, Birnbaum D, et al. Functional and phenotypic characterization of cord blood and bone marrow subsets expressing FLT3 (CD135) receptor tyrosine kinase. *Blood*. 1 juill 1997;90(1):111-25.
93. McClanahan T, Culpepper J, Campbell D, Wagner J, Franz-Bacon K, Mattson J, et al. Biochemical and genetic characterization of multiple splice variants of the Flt3 ligand. *Blood*. 1 nov 1996;88(9):3371-82.
94. Adrain C, Freeman M. Regulation of receptor tyrosine kinase ligand processing. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 1 janv 2014;6(1).
95. Ray RJ, Paige CJ, Furlonger C, Lyman SD, Rottapel R. Flt3 ligand supports the differentiation of early B cell progenitors in the presence of interleukin-11 and interleukin-7. *Eur J Immunol*. Juill 1996;26(7):1504-10.
96. Lyman SD. Biology of flt3 ligand and receptor. *Int J Hematol*. Août 1995;62(2):63-73.

97. McKenna HJ, Stocking KL, Miller RE, Brasel K, De Smedt T, Maraskovsky E, et al. Mice lacking flt3 ligand have deficient hematopoiesis affecting hematopoietic progenitor cells, dendritic cells, and natural killer cells. *Blood*. 1 juin 2000;95(11):3489-97.
98. Lyman SD. Biologic effects and potential clinical applications of Flt3 ligand. *Curr Opin Hematol*. Mai 1998;5(3):192-6.
99. Shurin MR, Esche C, Lotze MT. FLT3: receptor and ligand. Biology and potential clinical application. *Cytokine Growth Factor Rev*. mars 1998;9(1):37-48.
100. Minden M, Imrie K, Keating A. Acute leukemia in adults. *Curr Opin Hematol*. juill 1996;3(4):259-65.
101. Volpe G, Clarke M, Garcia P, Walton DS, Vegiopoulos A, Del Pozzo W, et al. Regulation of the Flt3 Gene in Haematopoietic Stem and Early Progenitor Cells. *PLoS One*. 2015;10(9):e0138257.
102. Wang GG, Pasillas MP, Kamps MP. Meis1 programs transcription of FLT3 and cancer stem cell character, using a mechanism that requires interaction with Pbx and a novel function of the Meis1 C-terminus. *Blood*. 1 juill 2005;106(1):254-64.
103. Garcia-Cuellar M-P, Steger J, Füller E, Hetzner K, Slany RK. Pbx3 and Meis1 cooperate through multiple mechanisms to support Hox-induced murine leukemia. *Haematologica*. juill 2015;100(7):905-13.
104. Volpe G, Walton DS, Del Pozzo W, Garcia P, Dassé E, O'Neill LP, et al. C/EBP $\alpha$  and MYB regulate FLT3 expression in AML. *Leukemia*. juill 2013;27(7):1487-96.
105. Verstraete K, Vandriessche G, Januar M, Elegheert J, Shkumatov AV, Desfosses A, et al. Structural insights into the extracellular assembly of the hematopoietic Flt3 signaling complex. *Blood*. 7 juill 2011;118(1):60-8.
106. Kiyoi H, Ohno R, Ueda R, Saito H, Naoe T. Mechanism of constitutive activation of

FLT3 with internal tandem duplication in the juxtamembrane domain. *Oncogene*. 11 avr 2002;21(16):2555-63.

107. Rottapel R, Turck CW, Casteran N, Liu X, Birnbaum D, Pawson T, et al. Substrate specificities and identification of a putative binding site for PI3K in the carboxy tail of the murine Flt3 receptor tyrosine kinase. *Oncogene*. juin 1994;9(6):1755-65.

108. Masson K, Rönstrand L. Oncogenic signaling from the hematopoietic growth factor receptors c-Kit and Flt3. *Cell Signal*. déc 2009;21(12):1717-26.

109. Lyman SD, James L, Johnson L, Brasel K, de Vries P, Escobar SS, et al. Cloning of the human homologue of the murine flt3 ligand: a growth factor for early hematopoietic progenitor cells. *Blood*. 15 mai 1994;83(10):2795-801.

110. Wodnar-Filipowicz A, Lyman SD, Gratwohl A, Tichelli A, Speck B, Nissen C. Flt3 ligand level reflects hematopoietic progenitor cell function in aplastic anemia and chemotherapy-induced bone marrow aplasia. *Blood*. 15 déc 1996;88(12):4493-9.

111. Chklovskaja E, Jansen W, Nissen C, Lyman SD, Rahner C, Landmann L, et al. Mechanism of flt3 ligand expression in bone marrow failure: translocation from intracellular stores to the surface of T lymphocytes after chemotherapy-induced suppression of hematopoiesis. *Blood*. 15 avr 1999;93(8):2595-604.

112. Hirayama F, Lyman SD, Clark SC, Ogawa M. The flt3 ligand supports proliferation of lymphohematopoietic progenitors and early B-lymphoid progenitors. *Blood*. 1 avr 1995;85(7):1762-8.

113. Esche C, Subbotin VM, Maliszewski C, Lotze MT, Shurin MR. FLT3 ligand administration inhibits tumor growth in murine melanoma and lymphoma. *Cancer Res*. 1 févr 1998;58(3):380-3.

114. Furuichi Y, Goi K, Inukai T, Sato H, Nemoto A, Takahashi K, et al. Fms-like tyrosine kinase 3 ligand stimulation induces MLL-rearranged leukemia cells into quiescence resistant to antileukemic agents. *Cancer Res*. 15 oct 2007;67(20):9852-61.

115. Birg F, Courcoul M, Rosnet O, Bardin F, Pébusque MJ, Marchetto S, et al. Expression of the FMS/KIT-like gene FLT3 in human acute leukemias of the myeloid and lymphoid lineages. *Blood*. 15 nov 1992;80(10):2584-93.
116. Yokota S, Kiyoi H, Nakao M, Iwai T, Misawa S, Okuda T, et al. Internal tandem duplication of the FLT3 gene is preferentially seen in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome among various hematological malignancies. A study on a large series of patients and cell lines. *Leukemia*. oct 1997;11(10):1605-9.
117. Iwai T, Yokota S, Nakao M, Okamoto T, Taniwaki M, Onodera N, et al. Internal tandem duplication of the FLT3 gene and clinical evaluation in childhood acute myeloid leukemia. The Children's Cancer and Leukemia Study Group, Japan. *Leukemia*. Janv 1999;13(1):38-43.
118. Stirewalt DL, Kopecky KJ, Meshinchi S, Appelbaum FR, Slovak ML, Willman CL, et al. FLT3, RAS, and TP53 mutations in elderly patients with acute myeloid leukemia. *Blood*. 1 juin 2001;97(11):3589-95.
119. Breitenbuecher F, Schnittger S, Grundler R, Markova B, Carius B, Brecht A, et al. Identification of a novel type of ITD mutations located in nonjuxtamembrane domains of the FLT3 tyrosine kinase receptor. *Blood*. 23 avr 2009;113(17):4074-7.
120. Yamamoto Y, Kiyoi H, Nakano Y, Suzuki R, Koder Y, Miyawaki S, et al. Activating mutation of D835 within the activation loop of FLT3 in human hematologic malignancies. *Blood*. 15 avr 2001;97(8):2434-9.
121. Gilliland DG, Griffin JD. The roles of FLT3 in hematopoiesis and leukemia. *Blood*. 1 sept 2002;100(5):1532-42.
122. Inhibiteurs de tyrosine kinase anti-FLT3 [Internet]. horizonshemato.com [cité 22 avr 2021]. Disponible sur: <http://horizonshemato.com/wp-content/uploads/2019/01/Inhibiteurs-de-tyrosine-kinase-anti-FLT3.pdf>



123. Levis M, Allebach J, Tse K-F, Zheng R, Baldwin BR, Smith BD, et al. A FLT3-targeted tyrosine kinase inhibitor is cytotoxic to leukemia cells in vitro and in vivo. *Blood*. 1 juin 2002;99(11):3885-91.
124. Knapper S, Burnett AK, Littlewood T, Kell WJ, Agrawal S, Chopra R, et al. A phase 2 trial of the FLT3 inhibitor lestaurtinib (CEP701) as first-line treatment for older patients with acute myeloid leukemia not considered fit for intensive chemotherapy. *Blood*. 15 nov 2006;108(10):3262-70.
125. Smith BD, Levis M, Beran M, Giles F, Kantarjian H, Berg K, et al. Single-agent CEP-701, a novel FLT3 inhibitor, shows biologic and clinical activity in patients with relapsed or refractory acute myeloid leukemia. *Blood*. 15 mai 2004;103(10):3669-76.
126. Knapper S, Russell N, Gilkes A, Hills RK, Gale RE, Cavenagh JD, et al. A randomized assessment of adding the kinase inhibitor lestaurtinib to first-line chemotherapy for FLT3-mutated AML. *Blood*. 2 mars 2017;129(9):1143-54.
127. RYDAPT 25 mg caps molle [Internet]. VIDAL. [cité 24 mai 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/rydapt-25-mg-caps-molle-184767.html>
128. Research C for DE and. Midostaurin. FDA [Internet]. 2 sept 2019 [cité 8 nov 2021]; Disponible sur: <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/midostaurin>
129. Mosquera Orgueira A, Bao Pérez L, Mosquera Torre A, Peleteiro Raíndo A, Cid López M, Díaz Arias JÁ, et al. FLT3 inhibitors in the treatment of acute myeloid leukemia: current status and future perspectives. *Minerva Med*. oct 2020;111(5):427-42.
130. Fischer T, Stone RM, Deangelo DJ, Galinsky I, Estey E, Lanza C, et al. Phase IIB trial of oral Midostaurin (PKC412), the FMS-like tyrosine kinase 3 receptor (FLT3) and multi-targeted kinase inhibitor, in patients with acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndrome with either wild-type or mutated FLT3. *J Clin Oncol*. 1 oct 2010;28(28):4339-45.

131. Stone RM, Fischer T, Paquette R, Schiller G, Schiffer CA, Ehninger G, et al. Phase IB study of the FLT3 kinase inhibitor midostaurin with chemotherapy in younger newly diagnosed adult patients with acute myeloid leukemia. *Leukemia*. sept 2012;26(9):2061-8.
132. Stone RM, Mandrekar SJ, Sanford BL, Laumann K, Geyer S, Bloomfield CD, et al. Midostaurin plus Chemotherapy for Acute Myeloid Leukemia with a FLT3 Mutation. *N Engl J Med*. 3 août 2017;377(5):454-64.
133. Stone RM, Mandrekar S, Sanford BL, Geyer S, Bloomfield CD, Dohner K, et al. The Multi-Kinase Inhibitor Midostaurin (M) Prolongs Survival Compared with Placebo (P) in Combination with Daunorubicin (D)/Cytarabine (C) Induction (ind), High-Dose C Consolidation (consol), and As Maintenance (maint) Therapy in Newly Diagnosed Acute Myeloid Leukemia (AML) Patients (pts) Age 18-60 with FLT3 Mutations (muts): An International Prospective Randomized (rand) P-Controlled Double-Blind Trial (CALGB 10603/RATIFY [Alliance]). *Blood*. 3 déc 2015;126(23):6-6.
134. Maziarz RT, Levis M, Patnaik MM, Scott BL, Mohan SR, Deol A, et al. Midostaurin after allogeneic stem cell transplant in patients with FLT3-internal tandem duplication-positive acute myeloid leukemia. *Bone Marrow Transplant*. mai 2021;56(5):1180-9.
135. Schlenk RF, Weber D, Fiedler W, Salih HR, Wulf G, Salwender H, et al. Midostaurin added to chemotherapy and continued single-agent maintenance therapy in acute myeloid leukemia with FLT3-ITD. *Blood*. 21 févr 2019;133(8):840-51.
136. Williams CB, Kambhampati S, Fiskus W, Wick J, Dutreix C, Ganguly S, et al. Preclinical and phase I results of decitabine in combination with midostaurin (PKC412) for newly diagnosed elderly or relapsed/refractory adult patients with acute myeloid leukemia. *Pharmacotherapy*. déc 2013;33(12):1341-52.
137. NEXAVAR 200 mg cp pellic [Internet]. VIDAL. [cité 24 mai 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/nexavar-200-mg-cp-pellic-73977.html>
138. Röllig C, Serve H, Hüttmann A, Noppeney R, Müller-Tidow C, Krug U, et al. Addition of sorafenib versus placebo to standard therapy in patients aged 60 years or younger with

newly diagnosed acute myeloid leukaemia (SORAML): a multicentre, phase 2, randomised controlled trial. *The Lancet Oncology*. 1 déc 2015;16(16):1691-9.

139. Ravandi F, Alattar ML, Grunwald MR, Rudek MA, Rajkhowa T, Richie MA, et al. Phase 2 study of azacitidine plus sorafenib in patients with acute myeloid leukemia and FLT-3 internal tandem duplication mutation. *Blood*. 6 juin 2013;121(23):4655-62.

140. Serve H, Krug U, Wagner R, Sauerland MC, Heinecke A, Brunnberg U, et al. Sorafenib in combination with intensive chemotherapy in elderly patients with acute myeloid leukemia: results from a randomized, placebo-controlled trial. *J Clin Oncol*. 1 sept 2013;31(25):3110-8.

141. Tschan-Plessl A, Halter JP, Heim D, Medinger M, Passweg JR, Gerull S. Synergistic effect of sorafenib and cGvHD in patients with high-risk FLT3-ITD+AML allows long-term disease control after allogeneic transplantation. *Ann Hematol*. 1 nov 2015;94(11):1899-905.

142. Chen Y-B, Li S, Lane AA, Connolly C, Del Rio C, Valles B, et al. Phase I trial of maintenance sorafenib after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for fms-like tyrosine kinase 3 internal tandem duplication acute myeloid leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. déc 2014;20(12):2042-8.

143. Mathew NR, Baumgartner F, Braun L, O'Sullivan D, Thomas S, Waterhouse M, et al. Sorafenib promotes graft-versus-leukemia activity in mice and humans through IL-15 production in FLT3-ITD-mutant leukemia cells. *Nat Med*. Mars 2018;24(3):282-91.

144. Zhao W, Zhang T, Qu B, Wu X, Zhu X, Meng F, et al. Sorafenib induces apoptosis in HL60 cells by inhibiting Src kinase-mediated STAT3 phosphorylation. *Anticancer Drugs*. janv 2011;22(1):79-88.

145. Zhang W, Konopleva M, Shi Y, McQueen T, Harris D, Ling X, et al. Mutant FLT3: a direct target of sorafenib in acute myelogenous leukemia. *J Natl Cancer Inst*. 6 févr 2008;100(3):184-98.

146. Sunitinib : substance active à effet thérapeutique [Internet]. VIDAL. [cité 24 mai 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/sunitinib-22814.html>
147. Am O, Jm F, W F, H S, Ri P, Ma C, et al. An innovative phase I clinical study demonstrates inhibition of FLT3 phosphorylation by SU11248 in acute myeloid leukemia patients. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* [Internet]. 15 nov 2003 [cité 24 mai 2021];9(15). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14654525/>
148. Teng C-LJ, Yu C-TR, Hwang W-L, Tsai J-R, Liu H-C, Hwang G-Y, et al. Effector mechanisms of sunitinib-induced G1 cell cycle arrest, differentiation, and apoptosis in human acute myeloid leukaemia HL60 and KG-1 cells. *Ann Hematol.* mars 2013;92(3):301-13.
149. Fiedler W, Serve H, Döhner H, Schwittay M, Ottmann OG, O'Farrell A-M, et al. A phase 1 study of SU11248 in the treatment of patients with refractory or resistant acute myeloid leukemia (AML) or not amenable to conventional therapy for the disease. *Blood.* 1 févr 2005;105(3):986-93.
150. Fiedler W, Kayser S, Kebenko M, Krauter J, Salih HR, Götze K, et al. Sunitinib and Intensive Chemotherapy in Patients with Acute Myeloid Leukemia and Activating FLT3 Mutations: Results of the AMLSG 10-07 Study (ClinicalTrials.gov No. NCT00783653). *Blood.* 16 nov 2012;120(21):1483-1483.
151. DeAngelo DJ, Stone RM, Heaney ML, Nimer SD, Paquette RL, Klisovic RB, et al. Phase 1 clinical results with tandutinib (MLN518), a novel FLT3 antagonist, in patients with acute myelogenous leukemia or high-risk myelodysplastic syndrome: safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics. *Blood.* 1 déc 2006;108(12):3674-81.
152. Schittenhelm MM, Kampa KM, Yee KWH, Heinrich MC. The FLT3 inhibitor tandutinib (formerly MLN518) has sequence-independent synergistic effects with cytarabine and daunorubicin. *Cell Cycle.* 15 août 2009;8(16):2621-30.

153. Zimmerman EI, Turner DC, Buaboonnam J, Hu S, Orwick S, Roberts MS, et al. Crenolanib is active against models of drug-resistant FLT3-ITD-positive acute myeloid leukemia. *Blood*. 21 nov 2013;122(22):3607-15.
154. Wang ES, Stone RM, Tallman MS, Walter RB, Eckardt JR, Collins R. Crenolanib, a Type I FLT3 TKI, Can be Safely Combined with Cytarabine and Anthracycline Induction Chemotherapy and Results in High Response Rates in Patients with Newly Diagnosed FLT3 Mutant Acute Myeloid Leukemia (AML). *Blood*. 2 déc 2016;128(22):1071-1071.
155. Mori M, Kaneko N, Ueno Y, Yamada M, Tanaka R, Saito R, et al. Gilteritinib, a FLT3/AXL inhibitor, shows antileukemic activity in mouse models of FLT3 mutated acute myeloid leukemia. *Invest New Drugs*. oct 2017;35(5):556-65.
156. Perl AE, Martinelli G, Cortes JE, Neubauer A, Berman E, Paolini S, et al. Gilteritinib or Chemotherapy for Relapsed or Refractory FLT3-Mutated AML. *N Engl J Med*. 31 oct 2019;381(18):1728-40.
157. Zhao J, Song Y, Liu D. Gilteritinib: a novel FLT3 inhibitor for acute myeloid leukemia. *Biomark Res*. 2019;7:19.
158. Kang C, Blair HA. Gilteritinib: A Review in Relapsed or Refractory FLT3-Mutated Acute Myeloid Leukaemia. *Target Oncol*. oct 2020;15(5):681-9.
159. Perl AE, Altman JK, Cortes J, Smith C, Litzow M, Baer MR, et al. Selective inhibition of FLT3 by gilteritinib in relapsed or refractory acute myeloid leukaemia: a multicentre, first-in-human, open-label, phase 1-2 study. *Lancet Oncol*. août 2017;18(8):1061-75.
160. Smith CC, Levis MJ, Frankfurt O, Pagel JM, Roboz GJ, Stone RM, et al. A phase 1/2 study of the oral FLT3 inhibitor pexidartinib in relapsed/refractory FLT3-ITD-mutant acute myeloid leukemia. *Blood Adv*. 28 avr 2020;4(8):1711-21.
161. ICLUSIG 30 mg cp pellic [Internet]. VIDAL. [cité 25 mai 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/iclusig-30-mg-cp-pellic-164777.html>

162. Smith CC, Lasater EA, Zhu X, Lin KC, Stewart WK, Damon LE, et al. Activity of ponatinib against clinically-relevant AC220-resistant kinase domain mutants of FLT3-ITD. *Blood*. 18 avr 2013;121(16):3165-71.
163. Levis MJ, Perl AE, Dombret H, Döhner H, Steffen B, Rousselot P, et al. Final Results of a Phase 2 Open-Label, Monotherapy Efficacy and Safety Study of Quizartinib (AC220) in Patients with FLT3-ITD Positive or Negative Relapsed/Refractory Acute Myeloid Leukemia After Second-Line Chemotherapy or Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Blood*. 16 nov 2012;120(21):673-673.
164. Sexauer A, Perl A, Yang X, Borowitz M, Gocke C, Rajkhowa T, et al. Terminal myeloid differentiation in vivo is induced by FLT3 inhibition in FLT3/ITD AML. *Blood*. 15 nov 2012;120(20):4205-14.
165. Cortes JE, Kantarjian H, Foran JM, Ghirdaladze D, Zodelava M, Borthakur G, et al. Phase I study of quizartinib administered daily to patients with relapsed or refractory acute myeloid leukemia irrespective of FMS-like tyrosine kinase 3-internal tandem duplication status. *J Clin Oncol*. 10 oct 2013;31(29):3681-7.
166. Validation of ITD mutations in FLT3 as a therapeutic target in human acute myeloid leukaemia | *Nature* [Internet]. [cité 25 mai 2021]. Disponible sur: <https://www.nature.com/articles/nature11016>
167. Moore AS, Faisal A, Gonzalez de Castro D, Bavetsias V, Sun C, Atrash B, et al. Selective FLT3 inhibition of FLT3-ITD+ acute myeloid leukaemia resulting in secondary D835Y mutation: a model for emerging clinical resistance patterns. *Leukemia*. juill 2012;26(7):1462-70.
168. Man CH, Fung TK, Ho C, Han HHC, Chow HCH, Ma ACH, et al. Sorafenib treatment of FLT3-ITD(+) acute myeloid leukemia: favorable initial outcome and mechanisms of subsequent nonresponsiveness associated with the emergence of a D835 mutation. *Blood*. 31 mai 2012;119(22):5133-43.

169. Piloto O, Wright M, Brown P, Kim K-T, Levis M, Small D. Prolonged exposure to FLT3 inhibitors leads to resistance via activation of parallel signaling pathways. *Blood*. 15 févr 2007;109(4):1643-52.
170. Williams AB, Nguyen B, Li L, Brown P, Levis M, Leahy D, et al. Mutations of FLT3/ITD confer resistance to multiple tyrosine kinase inhibitors. *Leukemia*. janv 2013;27(1):48-55.
171. Breitenbuecher F, Markova B, Kasper S, Carius B, Stauder T, Böhmer FD, et al. A novel molecular mechanism of primary resistance to FLT3-kinase inhibitors in AML. *Blood*. 23 avr 2009;113(17):4063-73.
172. Sato T, Yang X, Knapper S, White P, Smith BD, Galkin S, et al. FLT3 ligand impedes the efficacy of FLT3 inhibitors in vitro and in vivo. *Blood*. 24 mars 2011;117(12):3286-93.
173. Traer E, Martinez J, Javidi-Sharifi N, Agarwal A, Dunlap J, English I, et al. FGF2 from Marrow Microenvironment Promotes Resistance to FLT3 Inhibitors in Acute Myeloid Leukemia. *Cancer Res*. 15 nov 2016;76(22):6471-82.
174. Yin OQP, Wang Y, Schran H. A mechanism-based population pharmacokinetic model for characterizing time-dependent pharmacokinetics of midostaurin and its metabolites in human subjects. *Clin Pharmacokinet*. 2008;47(12):807-16.
175. Breakdown of the FLT3-ITD/STAT5 axis and synergistic apoptosis induction by the histone deacetylase inhibitor panobinostat and FLT3-specific inhibitors - PubMed [Internet]. [cité 1 juin 2021]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22942377/>
176. Chang E, Ganguly S, Rajkhowa T, Gocke CD, Levis M, Konig H. The combination of FLT3 and DNA methyltransferase inhibition is synergistically cytotoxic to FLT3/ITD acute myeloid leukemia cells. *Leukemia*. mai 2016;30(5):1025-32.
177. Larrue C, Saland E, Boutzen H, Vergez F, David M, Joffre C, et al. Proteasome inhibitors induce FLT3-ITD degradation through autophagy in AML cells. *Blood*. 18 févr 2016;127(7):882-92.

178. Walker AR, Wang H, Walsh K, Bhatnagar B, Vasu S, Garzon R, et al. Midostaurin, bortezomib and MEC in relapsed/refractory acute myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma*. sept 2016;57(9):2100-8.
179. Nelson EA, Walker SR, Xiang M, Weisberg E, Bar-Natan M, Barrett R, et al. The STAT5 Inhibitor Pimozide Displays Efficacy in Models of Acute Myelogenous Leukemia Driven by FLT3 Mutations. *Genes Cancer*. juill 2012;3(7-8):503-11.
180. Green AS, Maciel TT, Hospital M-A, Yin C, Mazed F, Townsend EC, et al. Pim kinases modulate resistance to FLT3 tyrosine kinase inhibitors in FLT3-ITD acute myeloid leukemia. *Sci Adv*. sept 2015;1(8):e1500221.
181. Mohi MG, Boulton C, Gu T-L, Sternberg DW, Neuberg D, Griffin JD, et al. Combination of rapamycin and protein tyrosine kinase (PTK) inhibitors for the treatment of leukemias caused by oncogenic PTKs. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2 mars 2004;101(9):3130-5.
182. Management of patients with acute myeloid leukemia undergoing therapy with midostaurin: a focus on antifungal prophylaxis. [cité 13 oct 2021]; Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/hon.2788>
183. NOXAFIL 100 mg cp gastrorésis [Internet]. VIDAL. [cité 16 oct 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/noxafil-100-mg-cp-gastroresis-142219.html>
184. Menna P, Salvatorelli E, Del Principe MI, Perrone S, Pagano L, Marchesi F, et al. Choosing Antifungals for the Midostaurin-Treated Patient: Does CYP3A4 Outweigh Recommendations? A Brief Insight from Real Life. *Chemotherapy*. 2021;66(1-2):47-52.
185. Stemler J, Koehler P, Maurer C, Müller C, Cornely OA. Antifungal prophylaxis and novel drugs in acute myeloid leukemia: the midostaurin and posaconazole dilemma. *Ann Hematol*. juill 2020;99(7):1429-40.



186. Lindsay J, Teh BW, Micklethwaite K, Slavin M. Azole antifungals and new targeted therapies for hematological malignancy. *Current Opinion in Infectious Diseases*. déc 2019;32(6):538-45.
187. MYCAMINE 100 mg pdre p sol p perf [Internet]. VIDAL. [cité 16 oct 2021]. Disponible sur : <https://www.vidal.fr/medicaments/mycamine-100-mg-pdre-p-sol-p-perf-86478.html>
188. Park H, Jeonghwan Y, Park WB, Shin D-Y, Hong J, Kim I, et al. Mycافunjin Prophylaxis for Adult Acute Leukemia Patients Undergoing Induction Chemotherapy. *Blood*. 7 déc 2017;130(Supplement 1):5033.
189. Park S, Kim K, Jang JH, Kim SJ, Kim WS, Chung DR, et al. Randomized trial of micافunjin versus fluconazole as prophylaxis against invasive fungal infections in hematopoietic stem cell transplant recipients. *J Infect*. nov 2016;73(5):496-505.
190. Epstein DJ, Seo SK, Huang Y-T, Park JH, Klimek VM, Berman E, et al. Micافunjin versus posaconazole prophylaxis in acute leukemia or myelodysplastic syndrome: A randomized study. *J Infect*. sept 2018;77(3):227-34.
191. Fisher BT, Zaoutis T, Dvorak CC, Nieder M, Zerr D, Wingard JR, et al. Effect of Caspofunjin vs Fluconazole Prophylaxis on Invasive Fungal Disease Among Children and Young Adults With Acute Myeloid Leukemia: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 5 nov 2019;322(17):1673-81.
192. Mattiuzzi GN, Alvarado G, Giles FJ, Ostrosky-Zeichner L, Cortes J, O'brien S, et al. Open-label, randomized comparison of itraconazole versus caspofunjin for prophylaxis in patients with hematologic malignancies. *Antimicrob Agents Chemother*. janv 2006;50(1):143-7.
193. Bose P, McCue D, Wurster S, Wiederhold NP, Konopleva M, Kadia TM, et al. Isavuconazole as Primary Antifungal Prophylaxis in Patients With Acute Myeloid Leukemia

or Myelodysplastic Syndrome: An Open-label, Prospective, Phase 2 Study. *Clin Infect Dis.* 18 mai 2021;72(10):1755-63.

194. Fontana L, Perlin DS, Zhao Y, Noble BN, Lewis JS, Strasfeld L, et al. Isavuconazole Prophylaxis in Patients With Hematologic Malignancies and Hematopoietic Cell Transplant Recipients. *Clin Infect Dis.* 14 févr 2020;70(5):723-30.

195. Rausch CR, DiPippo AJ, Bose P, Kontoyiannis DP. Breakthrough Fungal Infections in Patients With Leukemia Receiving Isavuconazole. *Clin Infect Dis.* 30 oct 2018;67(10):1610-3.

196. Dutreix C, Munarini F, Lorenzo S, Roesel J, Wang Y. Investigation into CYP3A4-mediated drug-drug interactions on midostaurin in healthy volunteers. *Cancer Chemother Pharmacol.* déc 2013;72(6):1223-34.

## ANNEXE

Annexe 1 : Liste des co-médications de l'ensemble des patients pendant la phase d'induction

Patient	Sexe	Age	Nombre de co-médications
1	H	70	3 : Posaconazole, Amlodipine, Zopiclone
2	F	70	3 : Bisoprolol, Omeprazole, Ondansetron
3	H	58	1 : Posaconazole
4	H	69	2 : Bisoprolol, Tamsulosine
5	F	53	6 : Tamoxifène, Métoclopramide, Paracétamol, Posaconazole, Phloroglucinol, Racecadotril
6	F	39	6 : Amoxicilline, Valaciclovir, Levothyroxine, Omeprazole, Ondansetron, Ofloxacine
7	F	57	6 : Pantoprazole, Domperidone, Valaciclovir, Paracétamol, Cetirizine, Chlorpromazine
8	F	69	6 : Valaciclovir, Lansoprazole, Paroxetine, Trimethoprime/Sulfamethoxazole, Amlodipine
9	F	66	6 : Sertraline, Oxazepam, Rivaroxaban, Losartan, Levothyroxine, Paracétamol
10	H	76	4 : Irbesartan, Doxazosine, Vitamine C, Permixon
11	H	71	9 : Dutasteride, Sulfamethoxazole, Amoxicilline, Silodosine, Valaciclovir, Lercanidipine, Fluconazole, Folate de calcium, Cholecalciferol
12	H	77	4 : Allopurinol, Aspirine, Tamsulosine, Indacaterol
13	F	69	4 : Valaciclovir, Vitamine C, Cholecalciferol, Pegfilgrastim
14	H	68	4 : Mirtazapine, Prednisolone, Nebivolol, Pantoprazole
15	F	74	10 : Ondansetron, Ofloxacine, Cefuroxime, Valaciclovir, Pentamidine, Salbutamol, Desloratadine, Phloroglucinol, Metoclopramide, Levothyroxine
16	H	74	2 : Urapidil, Esomeprazole
17	H	67	4 : Posaconazole, Metronidazole, Bromazepam, Alfuzosine
18	F	63	6 : Levothyroxine, Metoprolol, Ramipril, Esomeprazole, Posaconazole, Furosemide

## **SERMENT DE GALIEN**

En présence des Maîtres de la Faculté, je fais le serment :

- D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances ;
- 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 Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité
- En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.
- De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession
- De faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens
- De coopérer avec les autres professionnels de santé

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

## **TITRE EN ANGLAIS :**

Midostaurine in current practice : Assessment and impact of associated treatments on response and toxicity in the management of acute myeloid leukemia

---

## **RESUME EN ANGLAIS :**

The arrival of tyrosine kinase inhibitors in the field of oncology has significantly improved the survival, prognosis and quality of life of patients. This is the case, for example, of Midostaurine, a targeted therapy molecule belonging to the family of tyrosine kinase inhibitors FLT3. It's indicated in the treatment of adult with newly diagnosed acute myeloid leukemia with FLT3 gene mutation, in combination with conventional chemotherapy, the first-line treatment. Therefore, Midostaurine is indicated in a logic of customization of treatment according to the characteristics of the disease. Due to its hepatic metabolism by cytochrome 3A4, Midostaurine can be the subject of drug interactions with a number of molecules taken simultaneously. The objective of this work is to evaluate the impact of the usual treatments of patients on the response and toxicity of Midostaurine in the care of acute myeloid leukemia. To achieve this, 18 patients who started treatment with Midostaurine between June 2018 and May 2020 at the Oncopole in Toulouse were selected. All their usual treatments could be recovered to make the analysis of the interactions. The adverse effects reported by the patients were collected in the computer files on the Oncopole software. Based on the results obtained, it appears that drug interactions do not increase the toxicity of Midostaurine. However, it is difficult to conclude on the impact of drug interactions because this study has many limitations. In order to confirm or refute the results obtained, this study should be compared with others, having a higher level of proof.

# **Midostaurine en pratique courante : Évaluation et impact des traitements associés sur la réponse et la toxicité dans la prise en charge des leucémies aiguës myéloïdes**

---

## **RÉSUMÉ en français**

L'arrivée des inhibiteurs de tyrosine kinase dans le domaine de l'oncologie a permis d'améliorer considérablement la survie, le pronostic et la qualité de vie des patients. C'est le cas par exemple de la Midostaurine, une molécule de thérapie ciblée appartenant à la famille des inhibiteurs de tyrosine kinase anti-FLT3. Elle est indiquée dans le traitement des patients adultes présentant une leucémie aiguë myéloïde nouvellement diagnostiquée avec mutation du gène FLT3, en association avec une chimiothérapie conventionnelle, le traitement de première intention. La Midostaurine intervient donc dans une logique de personnalisation du traitement en fonction des caractéristiques de la maladie. Du fait de son métabolisme hépatique par le cytochrome 3A4, la Midostaurine peut faire l'objet d'interactions médicamenteuses avec un certain nombre de molécules prises de manière concomitante. L'objectif de ce travail est d'évaluer l'impact des traitements habituels des patients sur la réponse et la toxicité de la Midostaurine dans la prise en charge des leucémies aiguës myéloïdes. Afin d'y parvenir, 18 patients ayant débuté un traitement par la Midostaurine entre juin 2018 et mai 2020 à l'Oncopole de Toulouse ont été sélectionnés. L'ensemble de leurs traitements habituels a pu être récupéré pour réaliser l'analyse des interactions. Les effets indésirables des patients ont été recueillis dans les fichiers informatiques sur le logiciel de l'Oncopole. D'après les résultats obtenus, il semblerait que les interactions médicamenteuses ne majorent pas la toxicité de la Midostaurine. Cependant, il est difficile de conclure sur l'impact des interactions médicamenteuses car cette étude présente de nombreuses limites. Afin de confirmer ou d'infirmer les résultats obtenus, cette étude est à confronter avec d'autres, ayant un niveau de preuve supérieur.

---

**DISCIPLINE ADMINISTRATIVE** : Oncologie - Pharmacie Clinique

---

**MOTS-CLÉS** : Leucémie Aiguë Myéloïde ; Interactions Médicamenteuses ; Midostaurine ; Thérapie ciblée ; Inhibiteur de Tyrosine Kinase ; Effets indésirables

---

**INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE** : Université Paul Sabatier – Toulouse III – Faculté des Sciences Pharmaceutiques 35 chemin des Maraîchers 31062 TOULOUSE CEDEX

**DIRECTEUR DE THÈSE** : Docteur PUISSET Florent

**AUTEUR** : Auriane FAVRIN

**DATE ET LIEU DE SOUTENANCE** : Mercredi 8 décembre 2021 à l'Oncopole de Toulouse

---