



Revue Algérienne d'Hématologie

Sous l'égide de la Société Algérienne d'Hématologie et de transfusion Sanguine

N° 3
Sept 2010

DÉPOT LÉGAL : 2345 - 2009
N° ISSN : 2170 - 0729

LEUCÉMIE MYÉLOÏDE CHRONIQUE

Aspects épidémiologique,
diagnostique et thérapeutique
en Algérie

**Coordinateur de la revue :**
Pr Ahmed Nacer Redhouane**Comité de rédaction :****Rédacteurs en chef :**
Pr Hamladji Rose Marie
Pr Belhani Meriem**Membres :**
Pr Ardjoun Fatma Zohra
Pr Abad Mohand Tayeb
Pr Touhami Hadj
Pr Ait Ali Hocine
Pr Zouaoui Zahia
Pr Bekadja Mohamed Amine
Pr Ahmed Nacer Redhouane
Pr Boudjerra Nadia
Pr Sidi Mansour Nourredine**Comité scientifique de la SAHTS :****Présidente :**
Pr Hamladji Rose Marie**Membres :**
Pr Belhani Meriem
Pr Ardjoun Fatma Zohra
Pr Abad Mohand Tayeb
Pr Touhami Hadj
Pr Ait Ali Hocine
Pr Zouaoui Zahia
Pr Bekadja Mohamed Amine
Pr Ahmed Nacer Redhouane
Pr Boudjerra Nadia
Pr Sidi Mansour Nourredine
Pr Ainas Lahlou
Pr Mesli Naima
Pr Griffi Fatima
Pr Hamdi Salima
Pr Saidi Mahdia
Pr Benakli Malek
Dr Belakehal Salah Eddine
Dr Saidi Djamel**Composition du bureau de la SAHTS :****Président :**
Bekadja Mohamed Amine**Vice présidents :**
Saidi Mahdia
Belakehal Salah Eddine
Saidi Djamel**Secrétaire général :**
Benakli Malek**Trésorière :**
Boudjerra Nadia**AVANT-PROPOS**

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est le thème retenu pour ce numéro de la revue Algérienne d'Hématologie. L'évolution naturelle, fatale, de la LMC a été modifiée d'abord par l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques et plus récemment par une thérapeutique ciblée anti tyrosine kinase (ITK). En effet, la LMC résulte d'une dysrégulation de la production de la tyrosine kinase induite par la protéine BCR/ABL produite à partir du gène de fusion de la translocation (9, 22) caractéristique de la maladie. L'étude cytogénétique (caryotype, FISH) et la biologie moléculaire (RT-PCR) sont actuellement des examens clés pour le diagnostic et le suivi thérapeutique. Les différents articles de ce numéro, traitant les aspects épidémiologique, diagnostique et thérapeutique de la LMC, portent sur les travaux présentés lors du VIIème Congrès National d'Hématologie (Oran – 08-10 mai 2010).

A vous tous bonne lecture

Pr Ahmed Nacer Redhouane
Coordinateur de la revue**SOMMAIRE**

ÉDITORIAL	04
ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE NATIONALE DE LA LEUCEMIE MYELOÏDE CHRONIQUE EN ALGERIE	06
ESSAI D'ADAPTATION D'UN KIT DE DETECTION DE LA PROTEÏNE BCR/ABL (BD BIOSCIENCES) SUR DES CYTOMETRES EN FLUX A 3 OU 4 COULEURS	13
APPLICATION DU CARYOTYPE ET DE L'HYBRIDATION IN SITU FLUORESCENTE (FISH) DANS LA LEUCEMIE MYELOÏDE CHRONIQUE	19
EVALUATION DE LA RÉPONSE CYTOGÉNÉTIQUE APRÈS TRAITEMENT À L'IMATINIB DANS LA LMC EN PHASE CHRONIQUE.	26
TRAITEMENT PAR IMATINIB DE LA LEUCEMIE MYELOÏDE CHRONIQUE EN PREMIERE PHASE CHRONIQUE	32
ALLOGREFFES DE CELLULES SOUCHES HEMATOPOÏÉTIQUES (CSH) DANS LA LEUCEMIE MYELOÏDE CHRONIQUE	37

Réflexions sur le diagnostic et la prise en charge thérapeutique de la LMC en Algérie

Rose Marie Hamladji

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est une maladie rare, en effet son incidence dans le monde est de 1 à 2 patients/100.000 ha par an, cette incidence est plus faible en Algérie où elle a été évaluée à 0,40/100.000 ha en 2.004 (1). Bien que la LMC soit une maladie rare elle possède une signification historique considérable en hématologie car elle est la première hémopathie maligne où une anomalie cytogénétique acquise spécifique le chromosome Philadelphie (Ph) correspondant à une translocation 9 ; 22 a été mise en évidence (2,3). Cette translocation résulte de la formation d'un gène de fusion BCR – ABL mis en évidence en biologie moléculaire par RT – PCR (4). Ce gène de fusion est responsable d'une dysrégulation de la production de la tyrosine kinase à l'origine de la maladie, connaissance qui a permis la mise au point de la première thérapeutique ciblée anti tyrosine kinase (ITK) hautement efficace l'imatinib.

Le diagnostic de LMC bien qu'il soit toujours évoqué sur les arguments cliniques (âge ; splénomégalie) et hématimétriques (hyperleucocytose supérieure à $50 \times 10^9/l$; myélémie supérieure à 20%), nécessite actuellement d'être confirmé, soit par la recherche du chromosome Ph en cytogénétique, qui permet en outre de détecter les anomalies chromosomiques additionnelles (ACA) ou par méthode FISH qui permet en plus de détecter les cas de Ph masqué et les délétions d'ABL, soit par biologie moléculaire par RT-PCR qualitative méthode actuellement bien standardisée et simple ne nécessitant qu'un équipement modeste (un thermocycleur et une pièce à PCR), elle permet de détecter avec certitude le transcrite de fusion bcr/abl. Quant à la mise en évidence du Ph par cytométrie en flux cette technique ne peut être actuellement validée que si l'on possède un cytomètre en flux à 6 couleurs et une ultracentrifugeuse à 20.000g réfrigérée. Le diagnostic de certitude est souhaitable pour indiquer à bon escient le traitement par ITK, en effet il existe de rares cas de LMC dite atypique ne possédant pas le Ph. Par ailleurs il constitue la donnée biologique indispensable à la surveillance de la réponse au traitement par les ITK, qui se fait sur la réponse cytogénétique pouvant être évaluée sur le caryotype conventionnel ou la FISH et la réponse moléculaire nécessitant la RT-PCR en temps réel, paramètre le plus précis d'appréciation de la maladie résiduelle. Cependant il est indispensable de garder en mémoire et de réunir au moment du diagnostic les éléments

permettant d'établir le score de Sokal (âge du patient, sexe, débord splénique mesuré en centimètres au-dessous du rebord costal, hémocrite, taux plaquettes, pourcentage de blastes périphériques), en effet ce score peut être établi par tous les hématologues cliniciens et représente actuellement l'un des facteurs pronostics majeurs.

Pendant de très nombreuses années le traitement de LMC est resté purement palliatif reposant sur le busulfan à partir de 1953, puis sur l'hydroxyurée dès 1963, ces deux traitements ne permettant d'obtenir une médiane de survie que de 3 à 4 ans. Ce n'est qu'en 1986 que les premiers résultats de l'allogreffe myéloablatrice, considérée depuis lors comme le seul traitement curatif de la maladie, ont été rapportés (5). L'introduction de l'interféron alpha (IFN) destiné aux patients ne pouvant bénéficier d'une allogreffe en raison de leur âge ou de l'absence de donneur HLA compatible (6) a été le premier médicament qui a permis d'obtenir une réponse cytogénétique, le plus souvent partielle parfois complète, mais surtout d'améliorer le taux de survie à 5 ans, qui est passé à 59% pour l'IFN versus respectivement 32% et 44% pour le busulfan et l'hydroxyurée (7). Enfin les résultats remarquables obtenus par l'imatinib d'abord sur les patients en phase accélérée et blastique puis en traitement de 1ère intention de la phase chronique rapportés par l'étude IRIS en 2.003 (8) confirmés en 2.006 (9) ont abouti à une diminution progressive des indications de l'allogreffe. En effet le nombre d'allogreffes pour LMC en Europe qui était de 540 en 1990 pour atteindre 1396 en 1999 (dont 80% en 1ère phase chronique) a chuté à 802 en 2.004 (dont 66% en 1ère phase chronique) (9) pour atteindre seulement 387 en 2.008 (dont 45% en première phase chronique) selon les données de l'EBMT 2.008.

En Algérie les premières allogreffes ont été faites en 1998, elles ont été à conditionnement myéloablatif jusqu'en 2.001, période à laquelle a été introduit le conditionnement atténué qui nous a conduit à développer les méthodes de biologie moléculaire RT-PCR qualitative nécessaire au diagnostic et RT-PCR quantitative en temps réel permettant le suivi moléculaire de la maladie résiduelle (10). En ce qui concerne l'utilisation de l'IFN, elle n'a été que ponctuelle en raison des difficultés d'approvisionnement et de l'adhésion aléatoire des patients au traitement. Ainsi entre 1998 et 2.005 nos

patients ne pouvant être allogreffés n'ont été traités que par l'hydroxyurée. Ce n'est qu'à partir de 2.005 que les premiers patients ne possédant pas de donneur HLA compatible ou trop âgés pour être greffés ont été mis sous imatinib (Imatib*) molécule dix fois moins onéreuse que la molécule princeps et c'est à partir de décembre 2.007, après avoir validé cette molécule tant sur le plan de son efficacité que de sa tolérance que l'indication en 1ère intention de l'allogreffe dans la LMC en première phase chronique a été abandonnée. Actuellement, les modalités de la prise en charge du traitement, de la LMC dans notre pays dépendent essentiellement des moyens diagnostics et de suivi. En cas de diagnostic de LMC en 1ère phase chronique posé sur les arguments cliniques et hématimétriques, en l'absence de possibilité de confirmation de l'existence du Ph, le traitement par imatinib est recommandé à la dose de 400 mg/jour selon la tolérance, l'efficacité du traitement est alors jugée sur la réponse hématologique qui doit être complète (RHC) à 3 mois, posée sur les éléments suivants : rate non palpable ; taux de globules blancs inférieur à $10 \times 10^9/l$, absence de myélémie, taux de plaquettes inférieur à $450 \times 10^9/l$ et basophilie inférieure à 5%. En l'absence de RHC, la dose d'imatinib peut être augmentée à 600 mg/jour jusqu'à 800 mg selon la tolérance et en cas de réponse, la dose optimum sera poursuivie avec surveillance mensuelle. En cas de non RHC au terme de 3 mois supplémentaires ou d'échappement au traitement, un typage HLA du patient et de sa fratrie est souhaitable afin d'envisager une allogreffe. Le deuxième cas de figure est celui où le diagnostic et le suivi peuvent être faits par cytogénétique (caryotype et/ou FISH) l'efficacité du traitement est jugée sur la réponse cytogénétique qui doit être complète (RCgC) à 12 mois, en son absence les doses d'imatinib sont augmentées comme dans le cas précédent et en cas de non RCgC à 18 mois la possibilité d'allogreffe peut être envisagée, qui peut toutefois être précédée selon les possibilités d'un traitement par ITK de seconde génération (ITK2). Le troisième cas de figure est celui où le suivi moléculaire peut être entrepris, dans ce cas une réponse moléculaire majeure (RMM) doit être obtenue au terme de 18 mois de traitement, en son absence une augmentation des doses selon les mêmes modalités est entreprise et en cas d'échec l'allogreffe sera également envisagée, précédée si possible d'un traitement par ITK2. Quant à un traitement par ITK2 au long cours chez les sujets répondeurs il ne peut être raisonnablement envisagé que chez les patients ne pouvant être allogreffés. Enfin en cas de LMC en phase accélérée d'emblée l'allogreffe est toujours indiquée précédée d'un traitement par imatinib. De grands progrès ont été accomplis dans la prise en charge de nos patients dont le premier a été la maîtrise

des techniques d'allogreffe, le second l'accessibilité de l'imatinib à tous les patients sur tout le territoire, ce qui permet d'envisager une attitude thérapeutique adaptée à nos moyens : un traitement par l'imatinib pour tous les patients en 1ère phase chronique et en cas d'échec ou d'échappement au traitement, l'indication d'une allogreffe à conditionnement réduit en seconde intention, dont peuvent bénéficier les patients ayant un donneur HLA compatible jusqu'à l'âge de 65 ans. De ce fait dans notre pratique les indications des ATK de seconde génération ne peuvent être réservées que transitoirement chez les patients en échec avant l'allogreffe ou au long cours seulement pour un petit nombre de patients en RMM après ITK2, ne pouvant bénéficier d'une allogreffe. Par ailleurs des progrès restent à accomplir pour développer sur tout le territoire les techniques biologiques (caryotype, FISH, RT-PCR) qui permettront d'affiner le suivi des patients.

RÉFÉRENCES

- 1 - DJOUADI.K
Approche épidémiologique de la leucémie myéloïde chronique en Algérie
Revue Algérienne d'Hématologie 2.009, n° 00 : 16-19
- 2 - NOWEL PC, Hungerford DA
A minute chromosome in human granulocytic leukemia
Science, 1960 ; 132 : 1497
- 3 - ROWLEY JD
A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous (CML) identified by quinacrine fluorescence and giemsa staining
Nature, 1973 ; 243 : 290-3
- 4 - DELLEIN A, VAN KESSEL AG et Coll
A cellular oncogen is translocated to the Philadelphia chromosome in CML
Nature, 1982 ; 300 : 765-767
- 5 - THOMAS ED et Coll
Marrow transplantation for the treatment of chronic myeloid leukemia
Ann intern Med 1986 ; 104 : 155-163
- 6 - Talpaz M, Kantarjian HM et Coll
Hématologie rémission and cytogenetic improvement induced by recombinant human interferon alpha in CML . N.Engl - J.Med 1986 ; 314 : 1065-1069
- 7 - Hehlman R, Heimpel H, Hasford J
The German CML Study Group randomised comparison of interferon alpha with busulfan and hydroxyurea in CML . Blood 1994 ; 84 : 4064-77
- 8 - O'Brien SG et Coll
Imatinib compared with interferon and low dose cytarabine for newly diagnosed chronic phase CML
N.Engl, J.Med 2.003 ; 348 : 994-1004
- 9 - Drucker BJ et Coll
Five year follow up of patient receiving imatinib for CML. IRIS study
N.Engl.J Med 2.006 ; 355 : 2.048
- 10 - Gratwohl.A et Coll
Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for chronic myeloid leukemia in Europe 2.006 : transplant activity, long term data and current results .An analysis by the Chronic Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT)
Hematologica 2.006, 91 : 513-521
- 11 - Harieche F
La RT - PCR quantitative en temps réel : application au diagnostic et à l'étude de la maladie résiduelle dans les leucémies myéloïdes chroniques
Thèse du DEMS - Alger 2.008

ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE NATIONALE DE LA LEUCEMIE MYELOÏDE CHRONIQUE EN ALGERIE : travail coopératif et multicentrique sur une période de 16 ans. A propos 1927 Cas (1994 – 2009)

K. DJOUADI – LAHLOU

INTRODUCTION

La leucémie myéloïde chronique représente approximativement 7 à 15% des leucémies de l'adulte selon les séries publiées. Son incidence dans le monde varie en fonction des pays, la plus basse incidence est de 0.7 retrouvée en Suède et en Chine et la plus haute est de 1.7 retrouvée en Suisse et aux Etats Unis (1). En Algérie elle est de 0,4 /100 000 habitants en 2004, avec une incidence globale de 0,29 selon l'étude épidémiologique réalisée en 2005 à l'occasion de la deuxième journée d'hématologie de l'HCA et ayant inclus 1100 cas sur une période de 11 ans allant de Janvier 1994 à Décembre 2004. Cette étude a fait l'objet d'une première publication sur le numéro 00 de la revue Algérienne d'Hématologie parue en Mars 2009 (2). En complément de l'étude précédente nous avons élargi notre série en incluant les cas de LMC diagnostiqués dans les cinq années suivantes, janvier 2005 à décembre 2009, qui élargit notre échantillon à 1927 cas que nous rapportons dans cette étude.

MATERIEL ET METHODES

Il s'agit d'une étude rétrospective ayant inclus 1927 patients, la source d'information est représentée essentiellement par les dossiers médicaux et les fiches de consultation des patients. La collecte d'information est réalisée grâce à l'établissement d'une fiche technique diffusée aux différents services d'hématologie. Cette dernière est dupliquée, remplie et retournée au service d'hématologie de l'hôpital central de l'Armée (HCA) pour l'exploitation des données. Quatorze services d'hématologie ont participé : le centre Pierre et Marie curie d'Alger, le centre hospitalo-universitaire (CHU) Beni Messous, Hôpital central de L'Armée, centre anticancéreux de Blida, CHU Tizi Ouzou, CHU de Sétif, CHU Constantine, CHU Annaba, CHU Batna, CHU d'Oran, EHU d'Oran, CHU de Sidi Belabbes et le CHU de Tlemcen, EPH Mascara.

RESULTATS

- Répartition selon les différents services d'Hématologie

1927 fiches sont exploitées et sont réparties comme

suit sur les différents Services d'hématologie : centre Pierre et Marie Curie d'Alger 370, CHU Constantine 238, CHU Blida : 267, CHU Annaba : 200, Sétif : 156, CHU Oran : 118, CHU Beni Messous : 126, CHU Tizi Ouzou : 113, CHU Tlemcen : 83, Sidi Belabbes : 73, HCA: 58, Batna : 77, EHA Oran : 24, EPH Mascara : 24.

- Prévalence

La prévalence absolue de la LMC en Algérie en décembre 2009 est de 806 cas alors qu'elle n'était que de 472 en 2004. La prévalence relative passe de 1,8 cas /100000 habitants par an en 2004 à 2,3 cas /100000 habitants par an en 2009.

- Incidence

La répartition des nouveaux cas par année montre une progression de l'incidence qui passe de 0,19 en 1994 à 0,40 en 2004 et à 0,44 en 2009 et le taux d'incidence globale de 0,33 à 0,46 entre 2005 et 2009 avec un nombre moyen de nouveau cas par année de 155 alors qu'il est de 88 entre 1994 à 2004. Si on considère que la population dont l'âge est supérieur à 14 ans et qui représente 70% de la population selon les données de l'office national des statistiques en Algérie, ceci nous amènera à calculer le taux d'incidence spécifique à cet âge, qui passe de 0,28 en 1994 à 0,58 en 2004 et de 0,53 en 2005 à 0,69 en 2009. Les résultats sont détaillés sur les tableaux I et II et les figures 1 et 2.

Année	Nombre de cas	Population en million	Taux d'incidence	Population (âge>14 ans)	Incidence spécifique
1994	53	27	0,19	18,9	0,28
1995	69	27,5	0,25	19,2	0,35
1996	85	28	0,30	19,6	0,43
1997	68	28,5	0,31	19,95	0,34
1998	89	29	0,30	20,3	0,43
1999	74	29,5	0,25	21	0,35
2000	78	30	0,26	21,2	0,36
2001	99	30,5	0,32	21,35	0,46
2002	118	31	0,38	21,7	0,54
2003	105	31,5	0,33	22,05	0,47
2004	130	32	0,4	22,4	0,58
Total	968	26,2	0,29	20,6	0,42

Tableau I : Incidence annuelle et globale de la leucémie myeloïde chronique en Algérie durant la période : 1994 -2004

Année	Nombre de cas	Population en million	Taux d'incidence	Population (âge>14 ans)	Incidence spécifique
2005	121	32,5	0,37	22,7	0,53
2006	150	33	0,45	23,1	0,64
2007	170	33,5	0,50	23,4	0,72
2008	182	33,7	0,54	23,5	0,77
2009	155	35,1	0,44	24,5	0,63
Total	778	33,5	0,46	23,4	0,69

Tableau II : Incidence annuelle et globale de la leucémie myéloïde chronique en Algérie durant la période : 2005 -2009

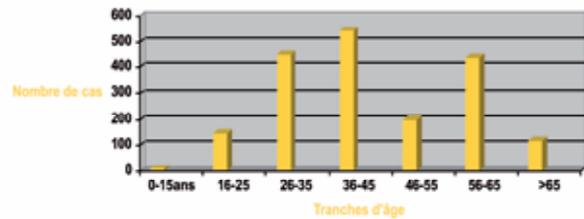


Figure 3 : répartition des patients selon les tranches d'âges

Le sexe : la répartition selon le sexe retrouve une légère prédominance masculine avec 927 femmes et 1000 hommes et un sex. Ratio de 1.01 (figure 4) .

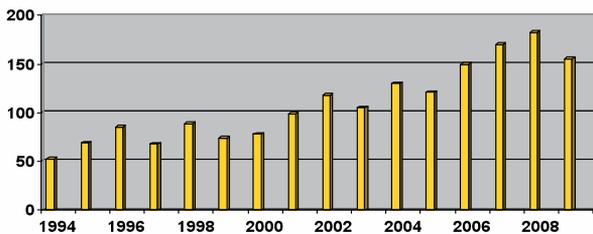


Figure 1 : répartition des nouveaux cas de LMC par année



Figure 4 : répartition des patients selon le sexe



Figure 2 : variation de l'incidence

Répartition selon les tranches d'âge et le sexe : on constate une prédominance masculine dans les différentes tranches d'âge (figure 4bis).

- Répartition selon les caractéristiques cliniques des patients

L'âge : l'âge est indiqué sur les fiches dans 1900 cas ; l'âge moyen est de 43.5 ans ; la répartition selon les tranches d'âge retrouve un pic de fréquence dans la tranche allant de 36 à 45 ans avec un nombre de 544 cas soit 28.63% et deux autres pics l'un entre 26 et 35 ans : 449 soit 23.63% et l'autre entre 56 et 65 ans : 438 (23.05%) (tableau III et figure 3).

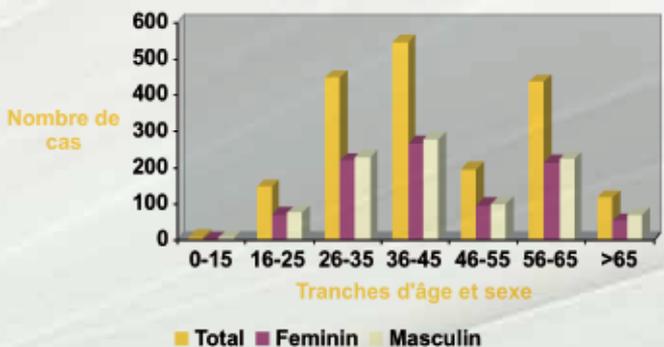


Figure 4bis : répartition selon les tranches d'âge et le sexe

Tranche d'âge	0-15 ans	16-25 ans	26-35 ans	36-45 ans	46-55 ans	56-65 ans	>65 ans	Total
Nombre	9	147	449	544	196	438	117	1900
%	0,47	7,73	23,63	28,63	10,31	23,05	6,15	100

Tableau III : répartition des patients selon les tranches d'âge

Répartition selon l'origine géographique : le lieu de résidence est précisé dans 1457 cas. La majorité des patients sont du Nord Algérien soit 1413 (96.9%) et seulement 44 cas sont du Sud. Les patients résidants au nord sont repartis comme suit : 516 sont de la région Centre (37.4%), 390 sont de la région Ouest (26.76) et 507 sont de la région Est (34.79) (Figure 5).

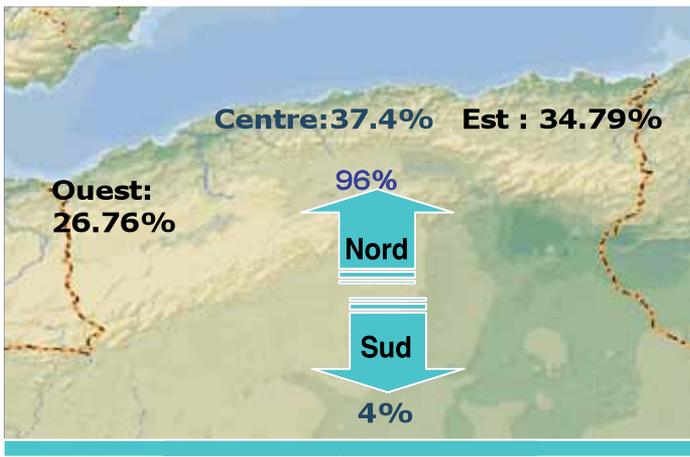


Figure 5 : répartition géographique (1457 cas)

Répartition selon la profession : la profession est précisée dans 1200 cas , 347 sont sans profession ; le reste des patients se répartit comme suit : agriculteur: 67 cas ; ouvrier 164 (maçon: 82, mécanicien : 48, tourneur: 34, peintre: 2) cordonnier : 2, commerçant: 36, enseignant: 40, chauffeur: 18, infirmier: 10, médecin: 2 cas, étudiant: 6, chimiste: 2, agent administratif: 14. Dans neuf cas on retrouve dans le passé professionnel la notion d'exposition aux produits aromatiques et dans quatre cas aux radiations ionisantes (figure 6)

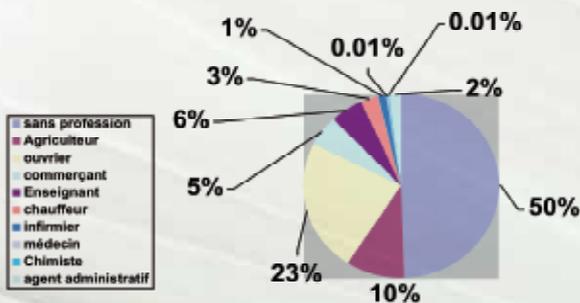


Figure 6 : répartition selon la profession

- Répartition selon les caractéristiques biologiques des patients

Hémogramme : le taux moyen des globules blancs est de 182 737.33 élt/mm³ avec des extrêmes allant

de 41500 à 206000; le taux moyen des plaquettes est de 295 798.67 élt/mm³ avec des extrêmes allant de 132000 à 1 042 000 et le taux moyen d'hémoglobine est de 9 g/dl.

Caryotype : Le caryotype à la recherche du chromosome Philadelphie et / ou d'autres anomalies additionnelles n'est pas encore un examen de pratique courante en Algérie, en effet il n'est pratiqué dans notre série que chez 190 patients soit 10% des cas.

Biologie moléculaire : la recherche du transcrit bcr/abl par RT-PCR n'est pas également un examen de routine en Algérie. Il n'est pratiqué que chez 214 patients, soit 11% des cas.

- Répartition des patients selon la classification pronostique de Sokal

Le score de Sokal est mentionné sur les fiches dans 591 cas. On note la prédominance du risque intermédiaire qui représente 47% (275 cas) suivi du risque élevé dans 207 cas soit 35%. Le faible risque ne représente que 18% soit 109 cas (figure 7).

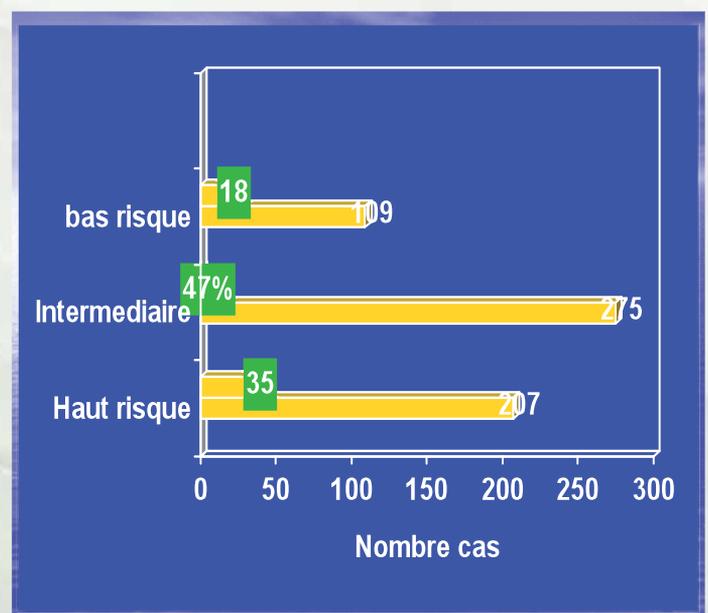


Figure 7 : répartition des patients selon la classification pronostique de Sokal

DISCUSSION

Si on analyse la courbe de variation du taux d'incidence par année de la LMC en Algérie, nous constatons que cette dernière est en progression lente et s'organise presque en plateau entre 1994 à 2002 et à partir de 2003 la progression est plutôt exponentielle allant de 0,3 à 0,55. Cette progression est nette si l'on se réfère également au nombre moyen de nouveaux patients par an qui passe de 88 cas entre 1994 et 2004 à 155 cas entre 2005 et 2009 et à l'incidence globale qui passe de 0,29 à 0,46. Cette augmentation peut s'expliquer par l'augmentation de la population, le caractère jeune de cette dernière, la meilleure couverture sanitaire dans le domaine de l'hématologie et le retour progressif de la sécurité en Algérie à partir de 2003.

L'incidence globale, si on considère la période 1994-2009, est de 0.34/100 000 habitants et le nombre moyen des nouveaux cas par année est de 109. Ce taux d'incidence reste très en deçà des séries rapportées dans la littérature, en effet l'incidence de la LMC dans le monde est comprise entre 0.7, l'incidence la plus basse rapportée en Suède et en Chine, à 1.7 à 2 en Suisse et aux Etats Unis (1, 3). Si on tient compte du taux d'incidence spécifique à l'âge de plus de 14 ans en 2009, qui est de 0,69, ce dernier se rapproche des taux d'incidence en Suède et en Chine qui est de 0,7. Le taux d'incidence en Algérie, serait il faible ou plutôt sous estimé? En effet notre étude n'a pas inclus les cas de LMC, éventuellement suivis dans les services de médecine interne, ni les cas suivis par les hématologistes exerçant une profession libérale particulièrement nombreux dans l'Ouest Algérien. Mais la pyramide des âges en Algérie peut expliquer en partie cette faible incidence, en raison de la prédominance de la population âgée de moins de 30 ans (6). D'où l'intérêt de mener une étude prospective tenant compte de tous ces paramètres.

La prévalence de la LMC en Algérie a pratiquement doublé entre 2004 et 2009, en effet la prévalence ab-

solue passe de 472 cas en 2004 à 806 cas en décembre 2009, avec une prévalence relative qui passe de 1,8 cas /100000 habitants par an en 2004 à 2,3 cas /100000 habitants par an. Cette augmentation franche pourrait s'expliquer d'une part par l'augmentation de l'incidence et d'autre part par l'introduction de l'imatinib utilisé en Algérie depuis 2005 dans le traitement de la LMC.

Une légère prédominance masculine est retrouvée dans notre série avec un sex ratio de 1,01, ce dernier varie entre 1,4 et 2,2 dans les séries de la littérature (1, 3,4). L'âge moyen au diagnostic est de 43.5 ans avec un pic de fréquence entre 36 et 45 ans, ce qui fait de la LMC une affection de l'adulte jeune. L'âge médian au moment du diagnostic se situe entre 30 et 60 ans selon les séries publiées (3,4). Nous constatons une fréquence élevée au Nord qui s'explique par la répartition très inégale de la population entre le Nord et le Sud du pays, il est de même pour la fréquence plus élevée au Centre par rapport à l'Est et à l'Ouest. Les professions les plus fréquemment retrouvées dans notre série sont celles de maçon et mécanicien qui représentent 23%, la profession d'agriculteur est retrouvée dans 10%. Il est à noter que 50% des patients sont sans profession, existe-t-il un passé professionnel non précisé sur les fiches ou existe-t-il des facteurs liés à l'environnement? Dans neuf cas on retrouve dans le passé professionnel la notion d'exposition aux produits aromatiques et dans quatre cas aux radiations ionisantes mais les modalités d'exposition au risque en terme de niveau et de durée restent méconnues, alors que ce sont des critères d'imputabilité très importants (3,5).

Les moyens diagnostiques de la LMC en Algérie restent très insuffisants et se limitent dans 90% des cas à un hémogramme et un frottis sanguin. Le caryotype et la recherche du transcrit BCR/ABL par biologie moléculaire ne sont pratiqués que dans 10% des cas ce qui compromet complètement le suivi thérapeutique des patients. La classification pronostique des patients

selon le score de Sokal est insuffisamment appliquée (30%) et montre une prédominance du risque intermédiaire. Cette classification est nécessaire voire indispensable d'autant plus que son application est aisée puisqu'elle tient compte de paramètres très simples et rapidement disponibles (âge, taille du débord splénique en cm, % de blastes sanguins, taux de plaquettes, taux d'hématocrite et sexe) (1,3,4). Dans cette étude la recherche d'un donneur HLA compatible n'a pas été prise en compte en raison de l'évolution des indications thérapeutiques avec l'abandon de l'indication de l'allogreffe en première intention au profit de l'imatinib à partir de 2005.

CONCLUSION

Cette étude nous donne un profil très représentatif de l'épidémiologie de la leucémie myéloïde chronique en Algérie, les données spécifiques de cette affection restent encore très insuffisantes tant sur le plan clinique que biologique et méritent d'être développées. Ceci représente l'objectif principal du groupe Algérien de travail sur la LMC créé récemment, permettant ainsi la réalisation d'études prospectives sur l'épidémiologie descriptive et analytique de cette affection.

Ont collaboré à la réalisation de ce travail les auteurs et services suivants :

- N.Abdennebi, F.Boukhemia, R.M.Hamladji : Hématologie /GMO, CPMC Alger.
- M.Ramaoun, M.Belhani : Hématologie /CTS, CHU Beni Messous
- K.Djouadi, MC.Rahali, B .Ouadhah, S.Baghdad, F/Z.Ardjoun Hématologie HCA.
- S.Chebrek, M.T.Abad Blida : Hématologie CAC Blida.
- K Taibi, E. Touhami : Hématologie /Oran.
- Yafour, M.A.Bekadja : Hématologie / EHU Oran.
- Amina, Z.Zouaoui. : Hématologie / CHU Sidi- Belabbes
- Z.Ouchnene, I.Berrahma, D.Segouat, N.Sidi Mansour Hématologie /CHU Constantine.
- F/Z.Touil, A. Achiche, S.HAMDI : Hématologie /CHU Sétif.
- S.Gherras-Djabri, H.Ait Ali. : Hématologie /CHU Tizi – Ouzou.
- Guittoun, N.MESLI. : Hématologie /CHU Tlemcen.
- R.Chafai, M. Saidi : Hématologie /CHU BATNA.
- S.Boughrira, F.Griffi : Hématologie /CHU Annaba.
- N. Mehalhal : Hématologie /EPH Mascara.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - Chronic Myelogenous Leukemia and Related Disorders: Overview. Williams Haematology 2007 > Part IX. Malignant Diseases > Chapter 88.
- 2 - K. Djouadi –Lahlou
Approche épidémiologique de la leucémie myéloïde chronique en Algérie
Travail coopératif et multicentrique. A propos de 1100 Cas (1994 – 2004)
Revue Algérienne d'hématologie N° 00 Mars 2009 : 16-19
- 3 - J. Tanzer, F. Guillot. Leucémie myéloïde chronique
L'hématologie de Bernard Dreyfus, Édition 1992 : 619 - 637
- 4 - Cortes_J_E , Talpaz _M , Kantarjian _H. Chronic myelogenous leukemia:
A review
American journal of Medicine.1996; 100: 555-570
- 5 - Moloney WC. Radiogenic leukaemia revisited.
Blood 1987; 70: 905-908
- 6 - Démographie de l'Algérie. Office national des statistiques (Algérie)
Éditeur : Wikipédia:<http://fr.wikipedia.org/w/index.php>



Venofer[®]

Hydroxyde ferrique saccharose

Le fer intraveineux



FORME ET PRESENTATION: Solution injectable en perfusion, par voie IV et en injection dans le dialyseur. Ampoule de 5 ml, boîte de 5. **COMPOSITION:** Fer élémentaire : 20 mg par ml; 100 mg par ampoule; 500 mg par boîte (Sous forme d'hydroxyde ferrique-saccharose). **Excipients:** Hydroxyde de sodium, eau pour préparation injectable. **CLASSE PHARMACO-THERAPEUTIQUE:** Antianémique. **INDICATIONS THERAPEUTIQUES:** Venofer® est indiqué pour le traitement de la carence martiale dans les indications suivantes: • Nécessité clinique d'apport rapide de fer. • Intolérance et non observance du patient à la thérapie martiale par voie orale. • En cas de maladie active inflammatoire de l'intestin, au cours de laquelle les préparations martiales par voie orale sont inefficaces. **CONTRE-INDICATIONS:** Ce complexe hydroxyde ferrique-saccharose pour la voie intraveineuse ne doit pas être utilisé dans les situations suivantes: • surcharge martiale ou troubles de l'utilisation du fer: hémochromatose primitive, hémochromatose secondaire, en particulier hémolyse; • éthyisme chronique; • hypersensibilité connue à Venofer® ou à l'un des constituants du médicament. **MISES EN GARDE ET PRECAUTIONS D'EMPLOI:** • Avant l'administration de ce complexe hydroxyde ferrique-saccharose pour la voie intraveineuse, il est impératif de confirmer biologiquement l'insuffisance de réplétion des stocks endogènes de fer par les mesures de la ferritinémie et de la saturation de la transferrine. • Ce complexe hydroxyde ferrique-saccharose pour voie intraveineuse ne doit pas être utilisé par voie intramusculaire. • Se conformer à une vitesse de perfusion lente pour éviter une hypotension. • Les préparations à base de fer administrées par voie parentérale peuvent causer des réactions allergiques ou anaphylactoïdes. • Venofer® doit être administré avec précaution chez les patients présentant une augmentation marquée de la concentration en fer due à une infection aiguë ou chronique, car le fer parentéral peut avoir des conséquences néfastes sur l'infection bactérienne ou virale. • En cas d'antécédents d'asthme, d'eczéma, d'autres allergies atopiques ou de réactions allergiques à d'autres préparations martiales parentérales, ainsi qu'en cas de faible capacité de liaison du fer et/ou de déficit en acide folique; Venofer® est à administrer avec prudence étant donné que ces patients sont particulièrement exposés au risque d'une réaction allergique. Cependant, il a été montré dans une étude portant sur un nombre limité de patients sensibles au fer Dextran que Venofer® pouvait être administré sans complications. • En cas de syndrome inflammatoire chronique, le fer est détourné de l'érythropoïèse au profit des organes de réserve. L'efficacité de cette solution de fer pour voie IV peut être diminuée dans cette situation. • Chez les sujets préalablement traités par le fer par voie orale, ce traitement devra être interrompu 24 heures avant la première injection de Venofer®. **Précautions d'emploi :** Dans la situation pré-opératoire, où la déplétion martiale attendue est limitée dans le temps, la dose totale de fer administré par voie veineuse ne doit jamais dépasser 15 mg/kg. Chez l'insuffisant rénal en dialyse, chez lequel la perte de fer est permanente, le stock de fer endogène doit être régulièrement évalué pour adapter la dose d'entretien de cette solution de fer pour voie IV. Si, à quelque moment que ce soit, des manifestations d'allergie ou d'intolérance sont observées, le traitement doit être arrêté immédiatement. Les préparations à base de fer administrées par voie parentérale peuvent causer des réactions allergiques ou anaphylactoïdes potentiellement létales. Dans ce cas, l'administration doit être interrompue immédiatement. En présence d'une réaction allergique légère, administrer des antihistaminiques; en présence d'une réaction anaphylactoïde grave, administrer de l'adrénaline immédiatement. Des moyens de réanimation cardio-pulmonaire doivent être à disposition. **L'administration durant la Grossesse et l'Allaitement - Grossesse:** Les données animales sont rassurantes. En clinique, les données sont limitées au 1^{er} trimestre mais aucun effet malformatif n'a été signalé à ce jour. A ce jour, trois études contrôlées menées sur une centaine de femmes enceintes et une étude contrôlée menée sur une cinquantaine de femmes en post-partum ont montré une accélération de l'érythropoïèse supérieure au fer par voie orale. Venofer® ne doit être utilisé chez la femme enceinte qu'en cas de traitement oral inefficace ou mal toléré et lorsque le degré d'anémie ferriprive est tel qu'il représente un risque pour la mère et l'enfant. **Allaitement:** Il est peu probable que le complexe hydroxyde ferrique-saccharose passe dans le lait maternel. Les études chez l'animal n'ont pas montré d'effets délétères directs ou indirects sur le nouveau-né allaité. **Effets sur l'aptitude à conduire un véhicule ou à utiliser des machines:** Il est peu probable que Venofer® affecte l'aptitude à conduire ou à utiliser des machines. **EFFETS SECONDAIRES / EFFETS ADVERSES:** Les effets indésirables les plus fréquemment rapportés avec Venofer® lors des études cliniques ont été les suivants: perturbation transitoire du goût (dysgueusie), hypotension, fièvre, frissons, réactions au site d'injection et nausées. Ces effets sont apparus chez 0,5 à 1,5 % des patients. Très rarement, des réactions graves de type anaphylactique peuvent être observées (collapsus, bronchospasme). Les effets indésirables imputables à Venofer® ayant été rapportés lors des études cliniques sont les suivants: **Troubles du système nerveux:** Fréquent ($\geq 1/100$, $< 1/10$): perturbation transitoire du goût (sensation de goût métallique notamment), Peu fréquent ($\geq 1/1000$, $< 1/100$): céphalées, vertiges; Rare ($\geq 1/10000$, $< 1/1000$): paresthésie, syncope, perte de connaissance, sensation de brûlure. **Troubles cardiovasculaires:** Peu fréquent ($\geq 1/1000$, $< 1/100$): hypotension, collapsus, tachycardie et palpitations. Rarement ($\geq 1/10000$, $< 1/1000$): hypertension. **Troubles respiratoires, thoraciques et médiastinaux:** Peu fréquent ($\geq 1/1000$, $< 1/100$): bronchospasme, dyspnée. **Troubles gastro-intestinaux:** Peu fréquent ($\geq 1/1000$, $< 1/100$): nausées, vomissements, douleur abdominale, diarrhées. **Troubles cutanés et des tissus sous-cutanés:** Peu fréquent ($\geq 1/1000$, $< 1/100$): prurit, urticaire, rash, exanthème et érythème. **Troubles musculaires-squelettiques, du tissu conjonctif et des os:** Peu fréquent ($\geq 1/1000$, $< 1/100$): crampes musculaires, myalgie. **Troubles généraux et accidents liés au site d'injection:** Peu fréquent ($\geq 1/1000$, $< 1/100$): fièvre, tremblements, bouffées de chaleur; douleur et oppression thoracique. Des troubles liés au site d'injection tels qu'une phlébite superficielle, une sensation de brûlure et un oedème sont également rapportés. Rare ($\geq 1/10000$, $< 1/1000$): arthralgie, oedème périphérique, fatigue, asthénie, malaise, sensation de chaleur, oedème. **Affections du système immunitaire:** Rarement ($\geq 1/10000$, $< 1/1000$): réactions anaphylactoïdes. De plus, les effets indésirables suivants ont été rapportés (spontanément) depuis la mise sur le marché de Venofer® Cas isolés : troubles de la conscience, étourdissements, confusion mentale, angio-oedème, gonflement des articulations, hyperhidrose, dorsalgies, bradycardie, chromaturie. **INTERACTIONS MEDICAMENTEUSES: Déconseillée:** + Fer (sels) voie orale: lipothymie, voire choc, attribué à la libération rapide du fer de sa forme complexe et à la saturation de la sidérophiline. **MODE D'EMPLOI ET POSOLOGIE: Administration:** Venofer® doit être administré par voie intraveineuse stricte, en injection lente, en perfusion lente ou directement dans le circuit sanguin extra-corporel en hémodialyse. **En injection:** 10ml de Venofer® (200 mg de fer) injecté sur une période d'au moins 10mn. **En perfusion:** La dilution doit être réalisée immédiatement avant la perfusion, exclusivement dans une solution isotonique stérile de chlorure de sodium, à raison de 1 ampoule (correspondant à 100 mg de fer) diluée dans un maximum de 1 dl de solution pour perfusion de chlorure de sodium à 0,9 %, jusqu'à 3 ampoules (300 mg de fer) diluées dans un maximum de 3 dl de solution pour perfusion de chlorure de sodium à 0,9 %. La solution obtenue sera administrée en perfusion lente avec un débit de 3,5 ml par minute, sans dépasser 3 ampoules (300 mg de fer) par perfusion administrée en au moins 1,5 heures chez l'adulte. Afin d'éviter une administration péri-veineuse, il convient de s'assurer que l'aiguille est bien positionnée dans la veine avant de pratiquer la perfusion. L'extravasation de Venofer® au site d'injection peut en effet provoquer douleurs, inflammation, formation de pigmentation brune définitive de la peau. Etendre le bras du patient après la perfusion. La durée du traitement ne doit pas excéder le temps de restauration des réserves de fer. **Injection dans le circuit sanguin extra corporel pendant une séance d'hémodialyse:** Venofer® peut être administré en milieu de séance d'hémodialyse directement dans le pôle veineux du circuit sanguin extra corporel dans les mêmes conditions que pour une perfusion ou une injection intraveineuse. **Posologie:** La posologie par injection ne doit pas dépasser 300 mg (3 ampoules) par 24h et ne doit pas dépasser 2 x 300 mg par semaine chez l'adulte. La dose totale à administrer et le rythme des injections dépendent du poids, du taux d'hémoglobine, de la ferritinémie basale ou de la perte de fer attendue. **Insuffisant rénal chronique:** • dès lors que sont exprimés des signes biologiques d'insuffisance de réplétion du stock de fer (ferritinémie $< 100 \mu\text{g/l}$, saturation de la transferrine $< 20\%$), et qu'un sel de fer oral s'avère insuffisant ou mal toléré, • en cas de traitement par érythropoïétine, lorsque les réserves en fer sont insuffisantes pour assurer une réponse érythropoïétique optimale (ferritinémie $< 200 \mu\text{g/l}$, saturation de la transferrine $< 25\%$), et qu'un sel de fer oral s'avère insuffisant ou mal toléré, • la posologie d'induction recommandée est de 2 à 4 mg/kg de fer par semaine, c'est-à-dire une à deux ampoules (100 à 200 mg) pendant quatre à douze semaines selon l'importance du déficit à combler. • En traitement d'entretien, pour compenser les pertes de fer estimées à 2 à 5 mg par jour, une ampoule (200 mg/kg) peut être administrée une ou deux fois par mois. L'évolution du stock de fer doit être régulièrement contrôlée par les mesures de la ferritinémie et du taux de saturation de la transferrine. **Calcul de la dose totale nécessaire: La dose de Venofer®, déterminée en fonction du taux d'hémoglobine et du poids corporel, adaptée individuellement en tenant compte du déficit en fer total, peut être calculée selon la formule suivante: - déficit en fer total (mg) = poids corporel (kg) x (Hb cible - Hb actuelle) (g/dl) x 2,4* + réserves de fer (mg); - Au dessous de 35 kg de poids corporel: Hb cible = 13 g/dl et réserves de fer = 15 mg/kg de poids corporel; - Pour 35 kg de poids corporel et plus: Hb cible = 14 g/dl et réserves de fer = 500 mg. *facteur 2,4 = $0,0034 \times 0,07 \times 1000 \times 10$ (contenu de l'Hb en fer $\approx 0,34\%$, volume sanguin $\approx 7\%$ du poids corporel, facteur 1000 = conversion de g en mg, facteur 10 = conversion de l' en dl). **Programme pré-opératoire de don de sang autologue avec érythropoïétine:** • une supplémentation en fer n'est indiquée que si les réserves de fer sont insuffisantes pour compenser la perte de fer attendue: ferritinémie $< 150 \mu\text{g/l}$. • pour tenir compte du temps nécessaire à l'érythropoïèse, il est souhaitable de débuter le traitement martial au moins deux semaines avant la première soustraction sanguine. • la posologie recommandée est 2 à 3 mg/kg (200 mg chez l'adulte) par semaine pendant cinq semaines. La posologie maximale cumulée ne doit pas dépasser 15 mg/kg. **Calcul de la dose totale nécessaire dans le cadre de la transfusion autologue programmée:** • si la quantité de sang perdu est connue: l'administration de 2 ampoules de Venofer® (soit 200 mg de fer) permet une augmentation de la concentration en hémoglobine (à 15 g/dl) équivalente à celle obtenue par l'administration d'une unité de sang (soit 4 dl), on en déduit la méthode de calcul suivante: - quantité totale de fer à remplacer [mg] = nombre d'unités de sang perdu x 200; - nombre total d'ampoules de Venofer® à administrer = nombre d'unités de sang perdu multiplié par deux. • si la concentration en hémoglobine est connue: on utilise la formule générale en considérant que, dans ce cas, les réserves de fer n'ont pas besoin d'être restaurées. D'où: quantité totale de fer à remplacer [mg] = poids corporel [kg] x 2,4 x (Hb cible - Hb actuelle) [g/dl]. **Exemple:** Pour un poids corporel de 60 kg et un déficit en hémoglobine de 1 g/dl, la quantité de fer qui doit être remplacée = 150 mg, c'est à dire 1 ampoule et demi de Venofer® nécessaires dans ce cas. **Anémies aiguës en post-opératoire immédiat chez les patients ne pouvant recevoir d'alimentation orale:** Une supplémentation par fer injectable peut s'envisager lorsque le niveau de l'hémoglobine descend en dessous d'un seuil critique (9 à 10 g/dl chez les sujets à risque, 7 à 8 g/dl chez le sujet normal). La posologie recommandée chez l'adulte est généralement de 100 à 200 mg par injection, 1 à 3 fois par semaine, en respectant un intervalle de 48 heures entre chaque injection. Chez l'enfant, elle est de 3 mg/kg de poids corporel par injection, 1 à 3 fois par semaine, en respectant un intervalle de 48 heures entre chaque injection. La dose injectée ne doit pas dépasser la dose totale calculée selon la formule suivante: Déficit en fer total (mg) = poids corporel (kg) x (Hb cible - Hb actuelle) (g/dl) x 2,4. **Anémies liées aux maladies inflammatoires chroniques de l'intestin:** Une supplémentation par Venofer® peut être envisagée lorsque le niveau de l'hémoglobine descend en dessous de 10,5 g/dl. La posologie recommandée chez l'adulte est généralement de 100 à 200 mg par injection, 1 à 3 fois par semaine, en respectant un intervalle de 48 heures entre chaque injection. **Calcul de la dose totale nécessaire: La dose de Venofer®, déterminée en fonction du taux d'hémoglobine et du poids corporel, adaptée individuellement en tenant compte du déficit en fer total, peut être calculée selon la formule suivante: - Déficit en fer total (mg) = poids corporel (kg) x (Hb cible - Hb actuelle) (g/dl) x 2,4* + réserves de fer (mg); - Au-dessous de 35 kg de poids corporel: Hb cible = 13 g/dl et réserves de fer = 15 mg/kg de poids corporel; - Pour 35 kg de poids corporel et plus: Hb cible = 14 g/dl et réserves de fer = 500 mg. *facteur 2,4 = $0,0034 \times 0,07 \times 1000 \times 10$ (contenu de l'Hb en fer $\approx 0,34\%$, volume sanguin $\approx 7\%$ du poids corporel, facteur 1000 = conversion de g en mg, facteur 10 conversion de l' en dl). **SURDOSAGE:** Des cas de surcharge aiguë en fer ont été rapportés avec la voie injectable intramusculaire. La symptomatologie peut comporter: nausées, vertiges, hypotension, malaise, tachycardie, érythème, voire état de choc. Un surdosage peut causer une surcharge martiale responsable d'hémosidérose. C'est la raison pour laquelle il est recommandé de ne jamais dépasser une dose totale de 15 mg/kg. Une attention toute particulière est requise afin d'éviter une surcharge en fer en cas de non-réponse au traitement d'une anémie incorrectement diagnostiquée comme étant une anémie hyposidéremique. En cas d'ingestion accidentelle ou volontaire de cette solution de fer réservée à la voie intraveineuse, la symptomatologie comporte des signes d'irritation intense ou de nécrose des muqueuses digestives entraînant: douleurs abdominales, vomissements, diarrhée souvent sanglante pouvant s'accompagner d'état de choc avec insuffisance rénale aiguë, atteinte hépatique, coma souvent convulsif. A distance de l'intoxication, des sténoses digestives sont possibles. Le traitement doit intervenir le plus tôt possible en réalisant un lavage gastrique avec une solution de bicarbonate de sodium à 1 %. En cas de surcharge martiale, les patients doivent être traités en administrant un agent chélateur du fer, le plus spécifique étant la déféroxamine, principalement lorsque la concentration en fer sérique est supérieure à 5 $\mu\text{g/ml}$. L'état de choc, la déshydratation et les anomalies acido-basiques seront traités de façon classique en milieu spécialisé. **INSTRUMENTS ET MODALITES DE MANIPULATION:** Venofer® ne doit être dilué que dans une solution stérile de chlorure de sodium à 0,9 % et ne doit être mélangé avec aucun autre solvant ou agent thérapeutique du fait des risques de précipitation ou d'interactions. La compatibilité de la solution diluée est connue seulement avec des récipients en verre ou en PVC. Il convient d'inspecter visuellement les ampoules avant emploi. N'utiliser que des ampoules contenant une solution homogène, sans aucun signe de sédimentation. **CONDITIONS PARTICULIERES DE STOCKAGE ET DE CONSERVATION:** À conserver dans son emballage original à une température inférieure à 25°C et à l'abri de la lumière. Ne pas congeler. Durée de conservation: 3 ans. **CONDITIONS PARTICULIERES DE DISPENSATION:** Médicament sur ordonnance. **TITULAIRE DE L'AUTORISATION DE MISE SUR LE MARCHE:** Vifor (International) SA. St. Gallen / Suisse. **SITES DE FABRICATION:** Altana Pharma AG Constance / Allemagne. Impfstoffwerk Dessau-Tomau GmbH. Rodleben / Allemagne. **IMPORTATEUR:** Abdi Ibrahim Algérie. Dar Diaf - Chéraga, Alger. **DECISION / NUMERO D'ENREGISTREMENT:** 07/12 E 135/393. **DATE DE REVISION DE LA NOTICE:** 24.06.2008****

ESSAI D'ADAPTATION D'UN KIT DE DETECTION DE LA PROTEÏNE BCR/ABL (BD BIOSCIENCES) SUR DES CYTOMETRES EN FLUX A 3 OU 4 COULEURS

M. Brahimi¹, D. Saidi², H. Touhami², MA. Bekadja¹

¹ Service d'Hématologie et de Thérapie Cellulaire EHU d'Oran

² Service d'Hématologie CHU d'Oran

INTRODUCTION :

Le diagnostic de leucémie myéloïde chronique «LMC» doit être confirmé par la mise en évidence du chromosome Ph et/ou de son équivalent moléculaire : le réarrangement BCR-ABL. Malheureusement la cytogénétique et la biologie moléculaire sont encore inexistantes dans de nombreux laboratoires des pays en voie de développement.

Les laboratoires BD Biosciences ont développé un kit de détection de la protéine de fusion BCR-ABL qui repose sur la technique BD™ CBA. Il permet d'effectuer, dans la journée, le diagnostic d'une LMC en détectant la protéine de fusion Bcr/Abl présente dans les cellules transformées.

Le kit permet de détecter les différentes isoformes (p190, p210 et p230) de la protéine de fusion Bcr/Abl à l'origine de la transformation maligne des cellules.

Le kit comprend des billes de capture recouvertes avec un anticorps spécifique du fragment Abl et un anticorps de détection directement conjugué à la phécoérythrine (PE) qui reconnaît le fragment Bcr (figure 1).

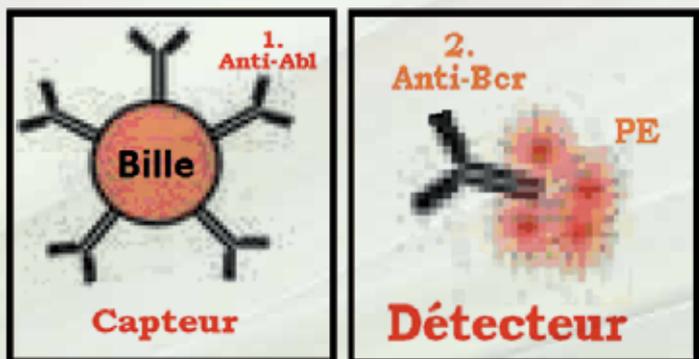


Figure 1 : le kit Bcr-Abl contient des billes de capture et des détecteurs couplés à la phécoérythrine

Les billes de capture contiennent un fluorochrome rouge avec un pic d'émission près de 660 nm détectable dans le canal APC et un fluorochrome infra rouge avec

un pic d'émission près de 800 nm détectable dans le canal APC-Cy7.

Les billes de capture et l'anticorps de détection sont ensuite incubés en présence de l'échantillon à analyser pour former un complexe de type sandwich (figure 2).

Malheureusement la plupart des cytomètres à trois et à quatre couleurs sont dépourvus de canaux APC et APC-Cy7.

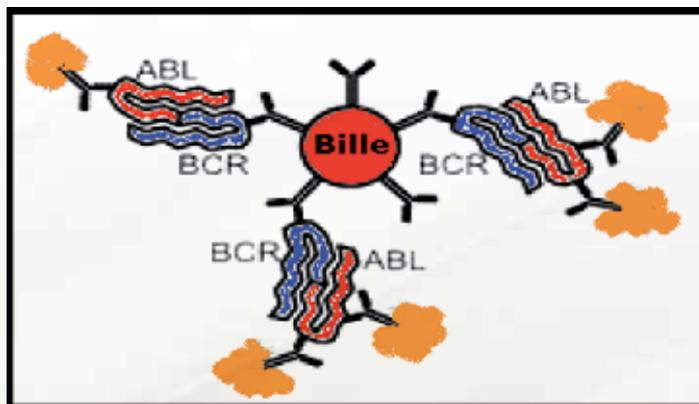


Figure 2 : le principe du complexe de type sandwich selon Morgan et al [1]

Les objectifs de ce travail sont de démontrer la faisabilité et les inconvénients de cette technique sur des cytomètres sans utilisation de l'APC et l'APC Cy7.

MATERIEL ET METHODES

Vingt prélèvements sur tubes EDTA ont été testés: dix témoins sains donateurs de plaquettes et dix LMC Bcr/Abl positifs par RT PCR (LMC de novo avant tout traitement par de l'Imatinib ou LMC sous Hydrea) (tableau I).

	Taux de globules blancs ($\times 10^3$)/ μ l
Malades	103 (86-300)
Témoins	6.5 (4-9,7)

Tableau I : taux de globules blancs dans les échantillons utilisés

La technique de manipulation :

Avant de commencer certains produits qui existent sous forme de poudre doivent être dissous sous forme de solutions avant d'être stockés dans un réfrigérateur à -20°.

Le « 50x stock of pretreatment A » est dilué dans 75 µl de PBS, le « 50x stock of pretreatment B » dans 1,5 ml d'éthanol pur et le « 50x stock BD lysate treatment reagent » dans 1ml d'éthanol pur.

L'isolement des leucocytes est effectué sur sang total prélevé sur un tube EDTA :

- 50ml de BD Pharmalyse, diluée au 1/10ème, est mélangée à 2,5ml de sang total.
- Le mélange est incubé pendant 10mn à température ambiante puis centrifugé à 500g pendant 5mn.
- Le surnageant est éliminé par aspiration
- Un lavage du culot est réalisé grâce à 20 ml de PBS avec 5% de sérum de veau fœtal.
- Le culot est resuspendu dans du PBS avec 5% de sérum de veau fœtal, afin d'obtenir une concentration de 25 000GB/µl.

La solution de prétraitement des leucocytes est préparée en diluant les 50x stock pretreatment A et B, au 1/50e dans du PBS avec 5% de sérum de veau fœtal.

On ajoute 250µl de ce tampon prétraitement AB à la suspension cellulaire

Ce mélange est incubé sur de la glace pendant 10mn puis centrifugé à 500g pendant 5mn à 4° C. Le surnageant est aspiré délicatement puis le culot est resuspendu dans 1ml de PBS avec 5% de sérum de veau fœtal

La lyse des globules blancs est réalisée comme suit :

La solution « 50x stock BD lysate treatment » est diluée au 1/50e dans du tampon BD Pharmingen Cell Lysis.

La suspension cellulaire est centrifugée à 500g pendant 5mn à 4° C puis 100µl de lysing solution est ajouté au culot.

Une incubation de 15 mn est effectuée sur de la glace. Une centrifugation à 20 000g pendant 10 mn à 4° C est obligatoire afin de minimiser au maximum le bruit de fond.

Le lysat (surnageant) est transféré dans un tube eppendorf.

L'immunomarquage aux billes est réalisé de la manière suivante :

On mélange à volume égal (50µl) les billes de capture, l'anticorps de détection et le lysat.

Le mélange est vortexé puis incubé pendant 2 heures, à température ambiante, à l'abri de la lumière et en agitation continue.

On ajoute 1ml de BD CBA WASH BUFFER avant de centrifuger à 500g pendant 5mn à 4° C.

On aspire 100µl du sommet et on ne laisse que 50µl de surnageant sans perturber le culot, 300µl de BD CBA WASH BUFFER est ajouté au culot avant la lecture au cytomètre.

La lecture est immédiatement faite après cette incubation grâce à un cytomètre type Beckmann Coulter XL-MCL piloté avec le EXPO32 sans Baseline offset ou BD FACS Calibur piloté avec le CellQuest Pro.

Le gating sur les billes se fait sur un graphe FSC-H/SSC-H vu que les deux cytomètres utilisés sont dépourvus de canal APC et APC Cy7 (figure 3).

La comparaison entre les deux techniques (cytométrie en flux et PCR) a été réalisée grâce au coefficient d'agrément de Cohen et al [2]. Parmi les nombreux tests statistiques, le coefficient kappa est unique car il mesure le degré de concordance entre deux méthodes de diagnostic utilisées sur un même échantillon. Il ne cherche pas à tester l'existence d'une association mais il permet d'apprécier de façon hiérarchique la similitude entre les résultats apportés.

Selon Cohen 1960, le coefficient d'agrément KAPPA = $\frac{Po - Pe}{1 - Pe}$, dont Po est le nombre de concordance observées et Pe le nombre de concordance dû au hasard.

Kappa peut prendre toutes les valeurs entre -1 et +1. La concordance est meilleure que le kappa est proche de +1.

RESULTATS

Les billes de captures apparaissent sur le graph FS/SS comme une population condensée noyée au milieu d'un bruit de fond vu qu'on n'utilise pas l'APC et l'APC-Cy7 (figure 3).

Le gating sur cette population de billes permet de mettre en évidence la protéine chimère Bcr/Abl (figure 4).

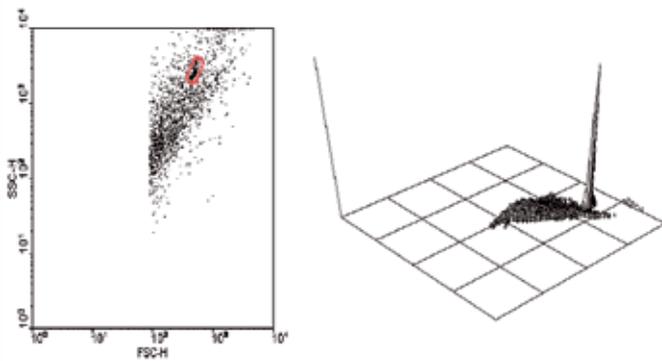


Figure 3 : le graph FS/SS avec un gating sur les billes de capture

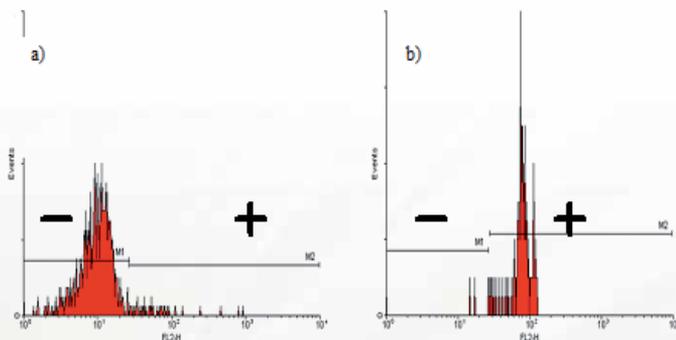


Figure 4 : mise en évidence de la protéine chimérique Bcr/Abl. (a : cas d'un Bcr/Abl négatif ; b : cas d'un Bcr/Abl positif)

Chez les 10 témoins sains la protéine chimérique était indétectable.

Chez les 10 patients atteints de LMC : 07 cas la protéine Bcr/Abl nettement positif et dans 03 cas on a la présence d'un bruit de fond important ce qui a nécessité un contrôle des patients et chez qui la recherche de la protéine chimérique est revenue positive. Le calcul du coefficient d'agrément de Cohen qui évalue la concordance des 2 techniques (cytomètre en flux et RT-PCR) est de 0,7 (tableau III), il n'a pas été établi que sur un nombre restreint d'échantillon (10 témoins et 10 patients BCR/ABL en RT-PCR)

		RT-PCR	
		BCR/ABL (+)	BCR/ABL (-)
CMF	BCR-ABL (+)	7	0
	BCR-ABL (-)	3	10

$$KAPPA = 0,7$$

Tableau II : tableau d'agrément selon Cohen et al

L'étude de la moyenne des intensités de fluorescence (IMF) permet d'établir la valeur seuil à $83,16 \pm 1,12$ (2Ds) et considérer comme positive une intensité de fluorescence supérieure à 84 (tableau III) par rapport aux témoins alors qu'elle est à 135 pour Weerkamp (3) par rapport aux témoins. La comparaison des graphes d'intensité de fluorescence confirme bien cette différence en montrant un chevauchement entre les courbes témoins et les courbes de patients positifs (figure 5).

	Intensité Moyenne de Fluorescence (IMF)
	Moyenne \pm 2 DS
TEMOINS	9.39 ± 1.12
MALADES	83.16 ± 11.56

Tableau III: calcul des intensités de fluorescence ($p < 0.05$)

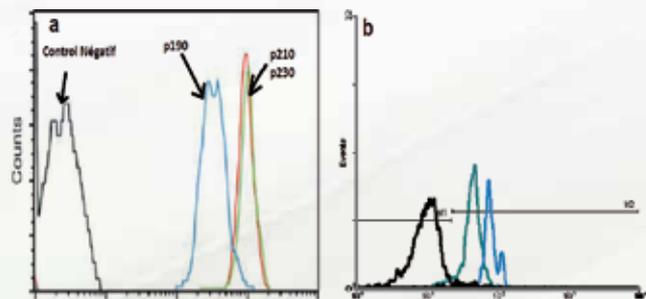


Figure 5 : comparaison des résultats obtenus avec cette méthode (a : Weerkamp et al. [3] ; b : notre série)

DISCUSSION

Les techniques de cytogénétique FISH et de biologie moléculaire RT-PCR sont les techniques de référence pour la recherche du transcrite BCR/ABL. Néanmoins, la cytométrie en flux constitue une alternative de détection de la protéine chimérique. Le kit BD Sciences a été validé pour les cytomètres en flux à 6 couleurs dotés d'un canal APC et APC-Cy 7, afin de fenêtrer les billes de capture et d'exclure électroniquement les débris cellulaires (cause de bruit de fond) avec utilisation pour l'interprétation d'un logiciel FACS Diva adapté au cytomètre (6 couleurs) pour l'interprétation des graphes de fluorescence qui permet une meilleure dénomination entre les deux populations positive et négative.

Dans nos conditions les cytomètres disponibles ne sont pas dotés de ce type de canaux, c'est pour cette raison que nous avons tenté d'adapter cette technique en fenêtrant les billes de capture sur le graphe FSC/SSC et d'effectuer l'interprétation de nos résultats en utilisant le logiciel Expo 32 du coulter XL-MLC 4 couleurs ou le logiciel Cell quest Pro du coulter Facs Calibur 3 couleurs.

En comparant les résultats de notre méthodologie à ceux de Weerkamp (3) nous avons remarqué qu'il existe un bruit de fond important sur le graphe FSC/SSC, ce qui explique notre valeur seuil d'intensité de fluorescence de 84 soit beaucoup plus faible que celle retrouvée par Weerkamp qui est de 135. Par ailleurs, les logiciels d'interprétation que nous avons utilisés sont moins performants pour discriminer les valeurs positives et négatives, ce qui explique aussi que l'indice du coefficient de Cohen ne soit que de 0,7 alors qu'il devrait être plus proche de 1 (voire de 1) pour établir le diagnostic de certitude de LMC.

Ainsi eu égard aux résultats obtenus, la technique de détection de la protéine BCR/ABL ne peut être actuellement validée sur les cytomètres à 3 et 4 couleurs existant en Algérie. L'utilisation de ce kit ne peut être possible que si les conditions suivantes telles qu'elles ont été validées par Weerkamp sont réunies :

- la recherche du BCR/ABL avant tout traitement,
- l'extraction des protéines doit se faire à l'aide d'une ultra centrifugeuse de survol à 20 000 g réfrigérée à +4° C pour réduire au maximum le bruit de fond,
- l'utilisation d'un cytomètre en flux à 6 couleurs comportant les canaux APC et APC-Cy permettant le gating des billes et la lecture avec le logiciel FACS Diva qui permet une meilleure discrimination entre les populations positives et négatives.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - Morgan E et al.
Cytometric bead array: a multiplexed assay platform with applications in various areas of biology. Clin Immunol. 2004; 110 : 252-266
- 2 - Cohen J.
A coefficient of agreement for nominal scales.
Educational and Psychological Measurements, 1960; 20 : 37-46
- 3 - Weerkamp F et al.
Flow cytometric immunobead assay for the detection of BCR-ABL fusion proteins in leukemia patients. - Leukemia 2009 : 23; 1106-1117



**Le premier Facteur VIII
recombinant en Algérie sans adjonction d'albumine
Formulé avec du Saccharose ⁽¹⁾**



Kogenate® FS

Facteur VIII Recombinant Octocog alfa Formulé avec du Saccharose

***Conçu pour durer...
D'âge en âge, en prophylaxie ou à la demande***

1000 UI



500 UI



250 UI



- **Pour le traitement des épisodes hémorragiques**
- **En chirurgie**
- **En prophylaxie chez l'enfant de 0 à 16 ans**



Bayer HealthCare
Bayer Schering Pharma

(1) Résumé des caractéristiques du produit Kogenate® FS.

APPLICATION DU CARYOTYPE ET DE L'HYBRIDATION IN SITU FLUORESCENTE (FISH) DANS LA LEUCEMIE MYELOÏDE CHRONIQUE

S. Taoussi, S. Chebrek, S. Oukid, M.T. Abad
Service hématologie EHS ELCC Blida

RESUME

Dans la leucémie myéloïde chronique (LMC), le chromosome Philadelphie (Ph1) est mis en évidence soit par caryotype conventionnel : t(9;22), soit par Hybridation In Situ Fluorescente (FISH) : signal de fusion bcr-abl ou enfin par biologie moléculaire : transcrite BCR-ABL.

Nous avons réalisé dans le laboratoire d'hématologie EHS LCC Blida un caryotype conventionnel et/ou une hybridation in situ pour les patients atteints de LMC.

Au diagnostic : la translocation t(9;22)(q34;q11.2) a été retrouvée dans 30 cas, une translocation variante t(1;9;22) dans 1 cas, absence du chromosome Ph1 dans 1 cas, échec de culture : 1 cas. La FISH a été positive dans l'ensemble des cas (33) ; elle a été spécialement contributive dans deux cas : t(1;9;22) et le cas Ph1 négatif.

En évaluation des patients sous imatinib : 34 patients ayant reçu entre 3 et 12 mois d'imatinib (400 mg/j). Un caryotype et une FISH interphasique et métaphasique tous les 3 mois pour chaque patient ont été réalisés. L'évaluation est faite selon les critères de L'ELN (European Leukemia Net). L'évaluation à 3 mois relève une RHC = 87%. A 06 mois, RCgC = 22 %, RCgP = 44,4 %, RCgM = 66,4 %.

L'évaluation de la maladie résiduelle (MRD) sous antityrosine kinase est classiquement assurée par le caryotype conventionnel jusqu'à rémission cytogénétique et par la biologie moléculaire par RT-PCR quantitative pour affirmer la rémission moléculaire. La FISH aurait une place dans le suivi sous traitement de la LMC (ELN). Dans le contexte national, le recours à la FISH à l'étape diagnostique et à l'évaluation de la MRD est une alternative incontournable ; le travail préliminaire que nous avons réalisé illustre bien cette réalité.

INTRODUCTION

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est une hémopathie maligne entrant dans le cadre des syndromes myéloprolifératifs, réalisant une prolifération prédominante de la lignée granuleuse. Elle touche la moelle osseuse, la rate ; elle envahit le sang où on observe une hyperleucocytose avec myélemie. Elle évolue spontanément en trois phases : phase chronique, phase accélérée inconstante et transitoire, et phase finale de transformation blastique.

La LMC est une maladie clonale caractérisée par la présence d'un marqueur cytogénétique typique mais non spécifique : le chromosome Philadelphie (Ph1) qui est le résultat de la translocation réciproque entre les bras longs des chromosomes 9 (q34) et 22 (q11.2) mettant en contact un oncogène (ABL1) et le gène BCR créant un gène de fusion BCR-ABL1. Ce gène de fusion est à l'origine de la production de protéines chimères bcr-abl de différents poids moléculaires (p190, p210, p230) à activité tyrosine kinase (TK) élevée (Figure 1) ; dans certains cas, la translocation résulte d'un réarrangement complexe (variant) ou alors elle n'est pas décelable en cytogénétique conventionnelle (Ph1 masqué).

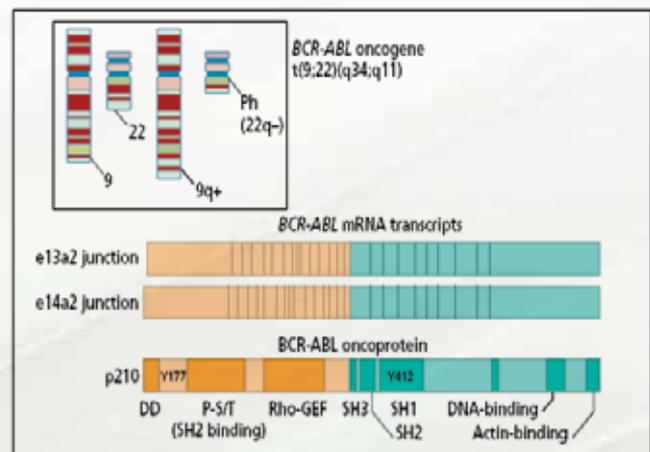


Figure 1 : t(9;22)(q34;q11) et protéine de fusion p210

Le caryotype médullaire confirme le diagnostic en retrouvant la t(9;22)(q34;q11) classique ou ses variants retrouvés dans 4-8 % des cas au diagnostic [1, 2]. Il met aussi en évidence les anomalies additionnelles dans les cellules Ph1 positives (5-10% au diagnostic) [3]. Il permet le suivi de la réponse cytogénétique au traitement (nombre de métaphases Ph1+/30 mitoses analysées, exprimé en %). Rarement le caryotype est normal (< 10% des cas) : LMC Ph1 négatif, mais l'anomalie peut être retrouvée par d'autres techniques (FISH ou biologie moléculaire). Les limites du caryotype sont surtout la qualité de la pousse cellulaire, des mitoses, de la dénaturation et des images pour caryotypage.

La FISH est un examen ciblé qui ne visualise pas tout le génome [4]; elle met en évidence le signal de

fusion bcr-abl sur les noyaux (FISH interphasique) et sur les mitoses (FISH métaphasique) en particulier en cas de Ph1 négatif (Ph1 masqué). Elle révèle les anomalies cryptiques (insertions, micro délétions du bras long du dérivé 9) [5]. Elle aurait une sensibilité supérieure au caryotype conventionnel dans le suivi de la réponse thérapeutique (meilleure définition de la réponse cytogénétique complète) [6] et elle aurait une meilleure corrélation avec la réponse moléculaire [7].

La biologie moléculaire confirme la présence du transcrite de fusion bcr-abl en RT-PCR ; la RT-Q-PCR permet la mesure quantitative de la maladie résiduelle pour évaluer la réponse moléculaire aux traitements et son niveau (complète ou majeure). Elle a ses exigences méthodologiques d'où la nécessité de standardisation par rapport à une échelle internationale

MATERIEL ET METHODES

De Mars 2009 à Février 2010, nous avons réalisé dans le laboratoire d'hématologie EHS ELCC Blida un caryotype conventionnel et/ou une hybridation in situ au diagnostic pour 33 patients atteints de LMC et pour 34 patients au suivi sous Imatinib (9 cas avec diagnostic cytogénétique initial et 25 cas sans diagnostic cytogénétique initial).

Au diagnostic : 33 cas (32 en phase chronique, 01 acutisation) : il s'agit de 19 hommes et 14 femmes (sex ratio = 1,35) ; une splénomégalie a été retrouvée dans 31 cas (94%) avec un débord splénique moyen de 12 cm (3-20) ; le taux moyen de globules blancs = 202,5 giga /l (29,2 – 520,4) ; onze patients ont reçu de l'hydroxyurée avant l'examen.

En évaluation : 34 cas (31 en phase chronique, 03 acutisations) : il s'agit de 17 hommes et 17 femmes (sex ratio = 1) ; une splénomégalie a été retrouvée dans 31 cas (91%) avec un débord splénique moyen de 14 cm (4-28) ; le taux moyen de globules blancs = 163 giga /l (19,3 – 479,2) ; 19 patients ont reçu de l'hydroxyurée avant l'introduction de l'imatinib.

Le Caryotype : se fait sur prélèvement de 1 à 2 cc de moelle sur flacon stérile hépariné et milieu de transport, mise en culture courte (24 h) avec synchronisation, réalisation d'un choc hypotonique, fixation des

culots cellulaires, étalement sur lames superfrost, dénaturation en bandes R, lecture sur microscope couplé à un logiciel d'analyse avec classement de 20 caryotypes au diagnostic et 30 pour le suivi [3].

La FISH : (Hybridation In Situ Fluorescente) : les techniques d'hybridation in situ reposent sur la capacité des fragments d'ADN marqués par un ou plusieurs fluorochromes (sondes) (Figure 2) de s'hybrider spécifiquement avec un ADN complémentaire (préparation chromosomique dénaturée sur lame) grâce à la complémentarité des bases nucléotidiques. Les hybrides non spécifiques et les molécules de sondes non hybridées sont éliminés par lavages. Les hybrides spécifiques sont révélés par immunofluorescence [4]. Les différentes étapes suivantes sont réalisées : après étalement des lames, ces dernières subissent un vieillissement de 3-7 jours à l'étuve sèche, un prétraitement, l'application des sondes, une dénaturation à 75°, une hybridation à 37° pour une nuit, le lendemain lavages des lames, une contre coloration au DAPI. Un microscope à épi fluorescence équipé de filtres appropriés aux nombreux fluorochromes disponibles couplé à un logiciel d'analyse permet la lecture des préparations FISH (comptage de 30 mitoses et au moins 200 noyaux).

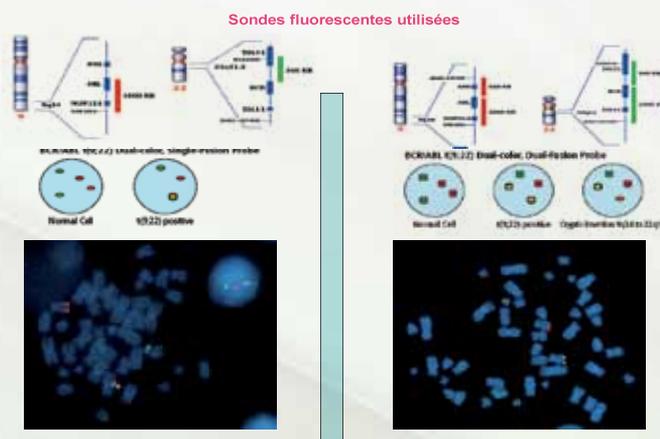


Figure 2 : sondes Kreatech (Guide Kreatech 2009) et images FISH (Laboratoire hématologie ELCC Blida) en simple et double fusion du signal bcr-abl

Critères d'évaluation : selon les critères de L'ELN [8] ; tableaux I et II

Définition des réponses : Hématologique, Cytogénétique, et Moléculaire

Type de Réponse	Définitions
Hématologique : Complète (RHC)	GB < 10x10 ⁹ /L Basophiles < 5% Pas de myélocytes, promyélocytes, myéloblastes sur l'équilibre leucocytaire Taux de plaquettes < 450 x 10 ⁹ /L Rate non palpable
Cytogénétique: Complète (RCgC) Partielle (RCgP) Mineure (RCgm) Minimale (RCgmin) Absence (pas de RCg)	Pas de métaphases Ph+ 1% à 35% métaphases Ph+ 36% à 65% métaphases Ph+ 66% à 95% métaphases Ph+ > 95% métaphases Ph+ RCgM
Moléculaire: Complète (RMolC)	transcripts BCR-ABL mRNA indétectable par RT-PCR quantitative et/ou PCR standard sur deux examens sanguins consécutifs de qualité adéquate
Majeure (RMolM)	Ratio BCR-ABL sur ABL (ou autres gènes maison conforme) ≤ 0.1% sur l'échelle internationale

Tableau I : définitions des réponses hématologiques, cytogénétiques et moléculaires selon ELN

Moments	Réponse optimale	Réponse suboptimale	Echec	Attention
Etat de base	Non applicable	Non applicable	Non applicable	- Haut risque -ACA/Ph+
3 mois	RCH et au moins mCgR ph+ ≤ 65%	Absence de réponse cytogénétique (ph > 95%)	Absence de RCH	Non applicable
6 mois	Au moins une RCgP (ph+ ≤ 35%)	Moins qu'une RCgP (ph+ > 35%)	pas de réponse cytogénétique (ph+ > 95%)	Non applicable
12 mois	RCgC (Ph+=0%)	RCgC (Ph+ 1-35%)	Moins qu'une RCgP (ph+ > 35%)	Moins qu'une MMolR
18 mois	RMolM	Moins qu'une RMolM	Moins qu'une RCgP	Non applicable
A tout moment	RMolM stable ou s'améliorant	perte de RMolM Mutations	perte de RCH perte de RCgC Mutations ACA/Ph+	-Toute augmentation du taux de transcrit - ACA/Ph-

Tableau II : critères ELN (2009) des niveaux de réponses à l'Imatinib [8]

RESULTATS

Au diagnostic : 33 cas

Le caryotype a mis en évidence la translocation t (9 ; 22) (q34 ; q11.2) dans 30 cas, nous avons eu un échec de culture dans 1 cas, un variant : t (1 ; 9 ; 22) a été retrouvée dans 1 cas (Figure 3). L'absence du chromosome Philadelphie a été notée dans 1 cas (Figure 4).

La FISH a été positive dans l'ensemble des cas (33) par la mise en évidence du signal de fusion bcr-abl, elle a été spécialement contributive dans deux cas : le variant t (1 ; 9 ; 22) et le cas Ph1 négatif.

translocation variante t(1 ; 9 ; 22)

Patient H.A., 33 ans

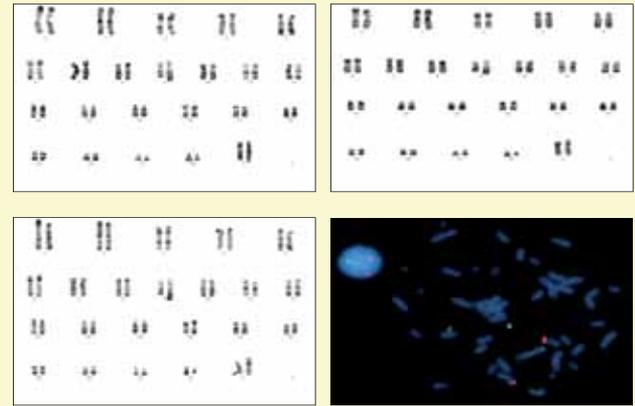


Figure 3 : t (1 ; 9 ; 22) (p32 ; q34; q11.2)

Ph 1 négatif et bcr-abl + ins (9 ; 22) en FISH

Patient G.A., 55 ans

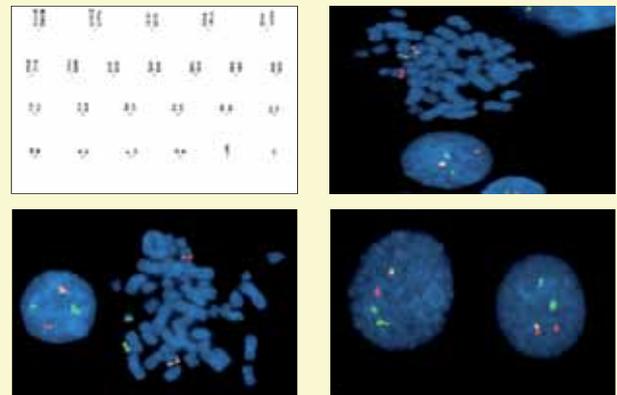


Figure 4 : Ph1 négatif, bcr-abl positif ins(9 ; 22)

En évaluation des patients sous imatinib :

Trente quatre patients ayant reçu entre 3 et 12 mois d'imatinib (400 mg/j). Un caryotype et une FISH interphasique et métaphasique tous les 3 mois pour chaque patient ont été réalisés; l'évaluation porte pour chaque période sur des patients différents.

L'évaluation à 3 mois relève une RHC = 87%.

Sur le plan de la réponse cytogénétique (caryotype + FISH) : 34 patients

Résultats superposables entre FISH et caryotype, sauf pour un cas où la FISH a révélé une anomalie cryptique non vue en caryotype (Figure 5).

A 3 mois : 09 cas : 4 RCg partielles, 2 RCg mineures et 3 RCg minimales.

A 6 mois : 09 cas : 2 RCgC, 4 RCg partielles, 1 RCg mineure, 1RCg minime et un échec.

A 9 mois : 02 cas en RCg minimales.

A 12 mois : 14 cas : 3 RCgC, 4 RCg partielles, 1 RCg mineure, 3 RCg minimales et 3 échecs.

Malades évaluables : 25 (≥ 6 mois de traitement) (Tableau III)

DISCUSSION

Au diagnostic : La FISH a confirmé la présence du signal bcr-abl chez tous les patients porteurs du Ph1+ ; elle a été contributive en révélant un signal bcr-abl dans un cas de Ph1 négatif en raison d'une insertion [Ph1 négatif, bcr-abl positif + ins (9 ; 22)] (Figure 4) ; elle a précisé le mécanisme d'échange de matériel chromosomique entre les trois chromosomes impliqués dans le variant t (1 ; 9 ; 22) (p32 ; q34 ; q11.2) (Figure 3).

Le consensus actuel (ELN) [8] indique que le diagnostic de LMC doit être assuré par un caryotype conventionnel dans la majorité des cas. La FISH métaphasique étant plus sensible qu'un caryotype conventionnel permettant quelquefois même de révéler des anomalies cryptiques en particuliers en cas de Ph1 négatif, néanmoins le caryotypage reste toujours indispensable en particulier pour rechercher les anomalies chromosomiques clonales (additionnelles) ACA dans les cellules Ph1+ et les cellules Ph1-, leurs présence a une implication pronostique que ce soit au diagnostic ou à l'évaluation.

En évaluation des patients sous imatinib : dans ce travail préliminaire: nous n'avons pas noté de différence entre réponse évaluée par le caryotype conventionnel et par la FISH, ceci est lié très certainement à la taille de l'échantillon analysé (34 cas). Cependant la FISH a été plus informative dans un cas en échec thérapeutique et en acutisation chez qui le caryotype a retrouvé un Ph1+ isolé alors que la FISH a confirmé la présence du signal bcr-abl et a révélé la présence d'une anomalie cryptique (non décelée par le caryotype conventionnel) de mauvais pronostic : ins (22 ; 9) (Fig 5).

Une étude tunisienne [9] publiée en 2007 montre : RHC à 3 mois = 90 % et 95 % à 6 mois. La réponse cytogénétique à 6 mois pour cette même série est : RCgM = 56 % ; RCgC = 29 %. A 12 mois, la RCgC = 57 %, la RCgM = 63 %. Dans notre étude, à 3 mois, le taux de RHC est de 87 %, à 6 mois, le taux de RCgC = 22%, celui de RCgM = 66,4%. Ainsi à 6 mois, nos résultats sont comparables. Pour l'évaluation des réponses cytogénétiques complètes à 12 mois, la comparaison ne peut être établie, l'étude que nous menons est toujours en cours.

L'apport de la FISH pour l'évaluation sous traitement (taux de mitoses et/ou de noyaux Ph+) est remarquable du fait qu'en FISH, la lecture est non sélective ni orientée donc plus informative que le caryotype. En effet en caryotypage, l'analyse obéit forcément aux choix des mitoses (qualité, étalement, dénaturation), alors que la FISH présente l'avantage d'étudier non seulement les mitoses (FISH métaphasique) en

Réponse	RCgC	RCgP	RCgM	RCgmin	Absence de RCg
6 mois	02 (22%)	04 (44,4%)	01	01	01
12 mois	03 (21,4%)	04 (28,6%)	01	03	03

Deux RCg minimales évaluées à 9 mois ne sont pas incluses dans le tableau

Tableau III : réponses cytogénétiques selon les critères ELN 2009

Niveau de réponse selon ELN (tableau IV)

	Réponse Optimale	Réponse Suboptimale	Échec
3 mois	06 (66,6%)	00	00
6 mois	06 (66,6%)	02 (22,2%)	01 (11,1%)
12 mois	03 (21,4%)	04 (28,6%)	07 (50%)

Tableau IV : niveau de réponse obtenu chez nos patients au regard des critères ELN

Illustration par deux cas particuliers : LMC acutisées incluses dans l'évaluation ci dessus

Dans un cas (Figure 5), présence du chromosome Ph1 dans 30 mitoses en caryotype confirmé par la FISH qui met en évidence en plus une anomalie cryptique : ins (22 ; 9).

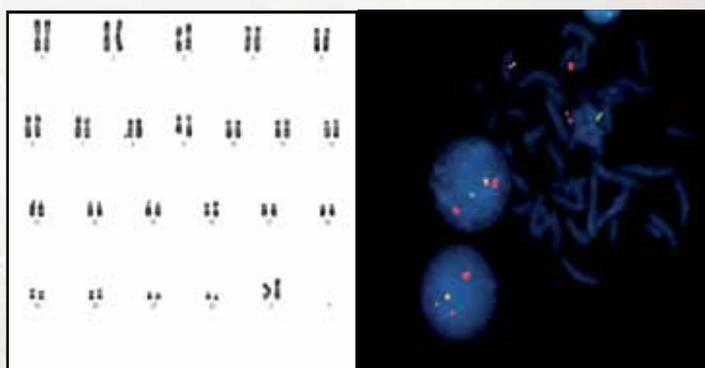


Figure 5 : chromosome Philadelphie et insertion cryptique (9 ; 22) en FISH.

Dans le deuxième cas (Figure 6), présence du Ph1 en deux copies (double Ph1) en caryotype conventionnel confirmé par la FISH.

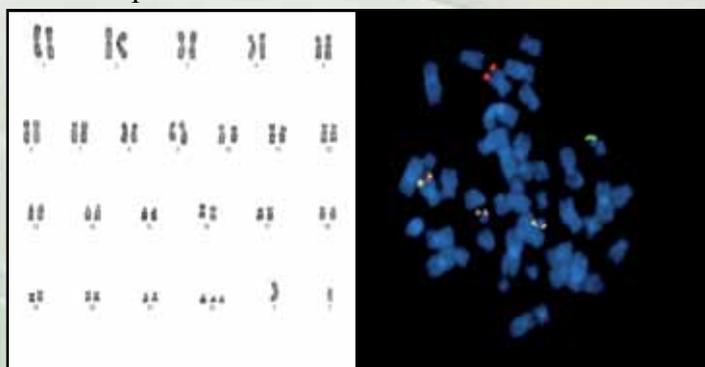


Figure 6 : double Ph1 en caryotype et FISH.

quantité importante quelque soient leur qualité et les noyaux (plusieurs centaines : FISH interphasique) [6]. Cette sensibilité supérieure de la FISH a été récemment clairement montrée par le groupe du GIMEMA CML WP. Le CML GIMEMA WP [7] a réalisé une étude prospective pour comparer le caryotype et la I-FISH pour la définition de la réponse cytogénétique complète (RCgC).

Les échantillons (n=664) ont été évalués simultanément par caryotype et I-FISH.

Dans 537 cas évalués pour la RCgC, le nombre de noyaux positifs par I-FISH a été inférieur à 1% dans 444 cas (82,7%).

Dans 451 cas de moins de 1% des noyaux positifs par I-FISH, 444 (98,4%) ont été classés comme en RCgC par caryotype.

Le taux de réponse moléculaire majeure était significativement plus élevée dans les cas de de I-FISH de moins de 1 % par rapport à ceux qui ont de 1 % à 5 % (66,8 % vs 51,6 %, $p < .001$) et dans les cas avec RCgC et I-FISH de moins de 1% que dans les cas de RCgC et I-FISH de 1% à 5% (66,1% vs 49,4%, $P 0,004$).

Ainsi la I-FISH est plus sensible que le caryotype et peut être utilisée pour surveiller la RCgC. Avec des sondes appropriées, la valeur seuil de l'I-FISH peut être établie à 1%.

Notre travail préliminaire illustre bien cette réalité. Cependant, il est parfaitement clair qu'une fois la rémission cytogénétique affirmée (caryotype et/ou FISH), la biologie moléculaire s'impose pour la suite de l'évaluation de la MRD.

PERSPECTIVES

Depuis l'avènement des ATK les objectifs visés pour chaque patient sont : une réponse hématologique complète, une réponse cytogénétique complète, une réponse moléculaire majeure, une survie globale de 100% avec une qualité de vie normale, une préservation de la procréation.

Pour notre part : pour répondre à ces objectifs : nous poursuivons le recrutement de patients sous ATK et leur évaluation selon nos deux outils (Caryotype et FISH interphasique et métaphasique). Le deuxième objectif est de démarrer la biologie moléculaire dans les meilleurs délais.

BIBLIOGRAPHIE

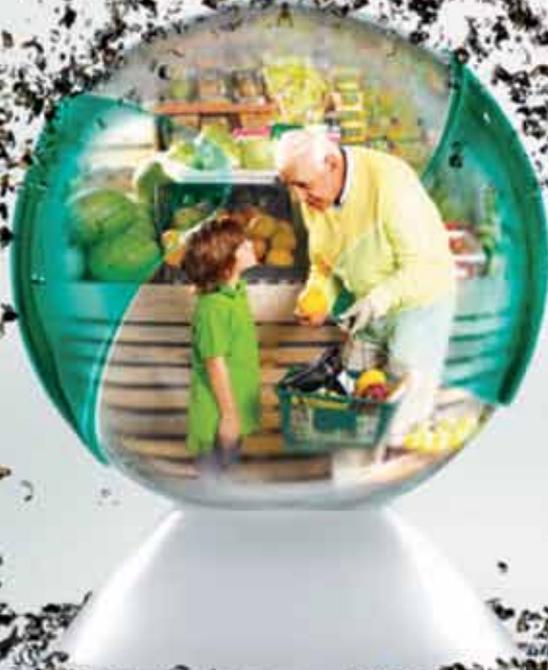
- 1 - Richebourg S, Eclache V, Perot C, et al.
Mechanisms of genesis of variant translocations in chronic myeloid leukemia are not correlated with ABL1 or BCR deletion status or response to imatinib therapy. *Cancer Gen Cytogen*, 2008; 182:95-102
- 2 - Batty N, Kantarjian H, Borthakur G, et al.
Patients with chronic myeloid leukemia with variant Philadelphia chromosome (Ph) translocations have a similar outcome as those with classic Ph when treated with imatinib or 2nd generation TKI. - *Blood*, 2008 ; 112:1108, (abstr 3228)
- 3 - Huret JL. Chromosomes, leucémies, tumeurs, cancers héréditaires.
Atlas Genet Cytogenetic Oncol Haematol. January 2008.
- 4 - WHO classification of the tumours. In: Jaffe ES, Harris NK, Stein H, Vardiman JM, editors. *Tumours of haematopoietic and lymphoid tissues*. Lyon7 IARC Press; 2001.
- 5 - Shaun, G.Cuthbert. Fluorescence in situ hybridization characterization of different cryptic BCR-ABL rearrangements in chronic myeloid leukemia *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 2004; 155 : 132-137.
- 6 - Le Gouill S, Talmant P, Milpied N, Daviet A, Ancelot M, Moreau P, Harousseau JL, Bataille R, Avet-Loiseau H. Fluorescence in situ hybridization on peripheral blood specimens is a reliable method to evaluate cytogenetic response in chronic myeloid leukemia. - *J Clin Oncol* 2000; 18: 1533-8.
- 7 - Chronic myeloid leukemia: a prospective comparison of interphase fluorescence in situ hybridization and chromosome banding analysis for the definition of complete cytogenetic response: a study of the GIMEMACMLWP
Nicoletta Testoni,1 Giulia Marzocchi,1 Simona Luatti,1 Marilina Amabile,1 Carmen Baldazzi,1 Monica Stacchini,1 Mauro Nanni,2 Giovanna Rege-Cambrin,3 Emilia Giugliano,3 Ursula Giussani,4 Elisabetta Abruzzese,5 Simonetta Kerim,6 Maria Grazia Grimoldi,7 Alessandro Gozzetti,8 Barbara Crescenzi,9 Carlo Carcassi,10 Paolo Bernasconi,11 Antonio Cuneo,12 Francesco Albano,13 Giuseppina Fugazza,14 Alfonso Zaccaria,15 Giovanni Martinelli,1 Fabrizio Pane,16 Gianantonio Rosti,1 and Michele Bacarani1 *Blood*, 2009; 114: 4939-4943
- 8 - Chronic Myeloid Leukemia: An Update of Concepts and Management
Recommendations of European Leukaemia Net
Michele Bacarani, Jorge Cortes, Fabrizio Pane, Dietger Niederwieser, Giuseppe Saglio, Jane Apperley, Francisco Cervantes, Michael Deininger, Alois Gratwohl, Francois Guilhot, Andreas Hochhaus, Mary Horowitz, Timothy Hughes, Hagop Kantarjian, Richard Larson, Jerald Radich, Bengt Simonsson, Richard T. Silver, John Goldman, and Rudiger Hehlmann - - *J Clin Oncol* 2009; 27: 6041-6051
- 9 - Expérience tunisienne dans le traitement de la LMC par Imatinib
Ben Lakhal R, Belaaj H, Ben Nedji H, Ben Amor R, Aissaoui L, Mnif S, Jeddi R, Kacem K, Belhadj Z, Ben Abid H, Souissi T, Meddeb B
La Tunisie Médicale-2007; 85.



EXJADE[®]

deferasirox

**CONTINUER A CHANGER
LE COURS DE LA TOXICITÉ
DU FER**



Exjade® 125mg / 250mg / 500mg Deferasirox Comprimés dispersibles **Composition** Principe actif Déferasirox, 125mg / 250mg / 500mg Excipients: Lactose monohydrate, croscopolidone, cellulose microcristalline, povidone, laurylsulfate de sodium, dioxyde de silicium, stéarate de magnésium, q.s.p. 1 comprimés. Excipients à effet notoire : Lactose monohydrate. **Voie d'administration** : Voie orale **Indications/Possibilités d'emploi** - Traitement de la surcharge en fer chronique secondaires à des transfusions sanguines excessives chez les patients atteints de bêta-thalassémie majeure ou de thalassémie intermédiaire. - Surcharge en fer chronique secondaire à des transfusions sanguines excessives chez les patients atteints par la déféroxamine chez les groupes de patients suivants : patients présentant d'autres anémies, patients âgés de 2 à 6 ans, patients présentant une bêta-thalassémie majeure avec un surcharge en fer chronique secondaire des transfusions sanguines peu fréquentes (< 7 ml/kg/mois de concentrés d'érythrocytes). **Posologie/Mode d'emploi** Les objectifs du traitement chélateur du fer sont d'éliminer le fer apporté par les transfusions et si nécessaire de réduire la surcharge en fer existante. La décision d'utiliser un traitement chélateur du fer devrait tenir compte du rapport bénéfice/risque individuel. La dose journalière initiale d'Exjade recommandée est de 20 mg/kg de poids corporel à prendre une fois par jour. La prise d'Exjade doit se faire à jeun au moins 30 minutes avant le repas, idéalement toujours à la même heure. Les comprimés doivent être délayés dans de l'eau, du jus d'orange (100-200 ml) en mélangeant jusqu'à obtenir une suspension fine. Après la prise de la suspension, on rajoutera encore un peu d'eau ou de jus pour délayer et absorber les restes éventuels. Les comprimés ne doivent pas être mâchés, ni avalés sans être mis en suspension. Il est recommandé, chez les patients recevant des transfusions régulières (plus de 8 unités de concentrés d'érythrocytes par an), de débiter le traitement par Exjade après la transfusion d'environ 20 unités de concentrés d'érythrocytes (correspond à environ 100 ml/kg) ainsi que lorsque les contrôles cliniques suggèrent l'existence d'une surcharge chronique en fer (une ferritine sérique > 1000 µg/l resp. une teneur en fer hépatique > 2mg/g de tissu sec). Une dose journalière initiale de 30 mg/kg/jour peut être donnée à des patients qui reçoivent plus de 14 ml/kg/mois de concentrés d'érythrocytes (à savoir > 4 unités/mois chez un adulte) et chez qui une réduction de la surcharge en fer est souhaitée. Une posologie supérieure à 30 mg/kg/jour n'est pas recommandée, car on ne dispose pas d'une expérience suffisante avec des doses de plus de 30 mg/kg/jour. Une dose journalière initiale de 10 mg/kg/jour peut être donnée à des patients qui reçoivent moins de 7 ml/kg/mois de concentrés d'érythrocytes (à savoir < 2 unités/mois chez un adulte) et chez qui les réserves en fer de l'organisme ne doivent ni augmenter ni baisser. Chez les patients qui ont répondu favorablement à un traitement par la déféroxamine, une dose initiale d'Exjade correspondant, en valeur absolue, à la moitié de la dose de déféroxamine devrait être envisagée (p.ex. un traitement avec 40 mg/kg/jour de déféroxamine 5 jours par semaine (ou équivalent) pourrait être substitué par une dose journalière initiale de 20 mg/kg/jour d'Exjade). Il est conseillé de doser la ferritine sérique une fois par mois et d'adapter les doses d'Exjade par paliers de 5-10 mg/kg/jour tous les 3-6 mois. Si la ferritine sérique chute de façon persistante au-dessous de 500 µg/l, on envisagera l'interruption du traitement. L'élimination urinaire du fer ne convient pas au contrôle du traitement (cf. "Pharmacocinétique"). Posologies spéciales Patients âgés, enfants et jeunes adultes Pas de recommandations particulières. L'exposition des enfants âgés de 2 à < 6 ans est inférieure à celle des adultes. Par conséquent, des doses plus élevées chez les adultes pourront éventuellement être nécessaires. La dose initiale doit toutefois être identique à celle des adultes et sera suivie d'une titration individuelle du dosage. On ne dispose pas d'expérience en termes d'efficacité et de sécurité d'emploi chez les enfants de moins de 2 ans. Pour cette raison, un traitement n'est pas recommandé pour ce groupe d'âge (cf. "Pharmacocinétique"). Patients avec insuffisance rénale Exjade n'a pas été étudié chez les patients insuffisants rénaux. Exjade doit être utilisé avec prudence chez les patients ayant des taux sériques de créatinine supérieurs à la norme. Si la clairance de la créatinine est inférieure à 10 ml/min, Exjade est contre-indiqué. Pour la dose initiale, les mêmes recommandations que celles indiquées ci-dessus sont valables chez les patients insuffisants rénaux qui présentent une clairance de la créatinine ≥ 60 ml/min. Pour le contrôle de suivi et l'ajustement de la dose, cf. "Mises en garde et précautions". Patients avec insuffisance hépatique Exjade n'a pas été étudié chez les patients avec insuffisance hépatique et doit être utilisé avec prudence dans ces cas. Les mêmes recommandations que celles indiquées ci-dessus s'appliquent pour la dose initiale chez les patients avec insuffisance hépatique. La fonction hépatique doit être contrôlée mensuellement chez tous les patients (cf. "Mises en garde et précautions"). **Contre-indications** - Hypersensibilité à la substance active ou à l'un des excipients. L'association à d'autres traitements chélateurs du fer car la tolérance de ces associations n'a pas été étudiée (voir rubrique interactions). - Patients présentant une clairance de la créatinine estimée inférieure à 60 ml/min. - Les comprimés contiennent du lactose (1,1 mg de lactose par mg de déféroxirox). Ce médicament est déconseillé chez les patients souffrant d'une intolérance au lactose, affection rare et héréditaire, ou avec une carence importante en lactase ou encore une malabsorption du glucose-galactose. - EX-JADE n'est pas recommandé chez les patients présentant une insuffisance hépatique sévère car cela n'a pas été étudié chez ces patients. **Mises en garde et précautions** Exjade n'a pas été étudié chez les patients avec insuffisance rénale ou hépatique et sera utilisé avec prudence dans ces cas. Le traitement par Exjade n'a été mis en route chez des patients dont la créatinine sérique se situait dans la norme pour l'âge et dont les transaminases hépatiques n'étaient pas supérieures à 5 fois la limite supérieure de la norme avant le début du traitement. Le déféroxirox est éliminé par voie rénale (3% de la dose) et par voie biliaire (2% de la dose). Son élimination survient essentiellement par glucuronidation et la molécule est stabilisée dans une faible mesure (environ 8%) par les enzymes oxydatives du cytochrome P450 (cf. "Pharmacocinétique"). Des précautions doivent être observées lors d'un traitement par Exjade chez des patients avec un déficit en glucuronidase d'origine génétique. **Reins** Au cours d'études cliniques, on a observé une augmentation dose-dépendante de la créatinine sérique chez une partie des patients traités par Exjade. Dans une de ces études cliniques, on a constaté, chez 38% des patients sous déféroxirox (Exjade) et chez 14% des patients sous déféroxamine, une augmentation de la créatinine sérique de >33% lors de deux mesures consécutives. Après la commercialisation d'Exjade, il a été fait état de cas d'insuffisance rénale aiguë, parfois avec issue fatale (cf. "Effets indésirables"). Dans les cas avec issue fatale, si on ne peut pas totalement exclure qu'il y ait un lien entre Exjade et la perturbation de la fonction rénale, il est toutefois probable que le décès de ces patients tristes malades soit une conséquence de leurs maladies de base. Le fait qu'on ait observé une amélioration de la fonction rénale après interruption du traitement dans la plupart des cas n'entraînant pas d'issue fatale, suggère qu'il y a implication d'Exjade dans l'insuffisance rénale aiguë. Il est recommandé de contrôler la créatinine sérique à deux reprises avant le début du traitement. Durant le premier mois de traitement, ou après une modification du traitement, il faut contrôler la créatinine sérique chaque semaine, puis chaque mois. On testera la protéinurie chaque mois. Les patients insuffisants rénaux ou les patients sous médicaments affectant la fonction rénale, peuvent présenter un risque élevé de complications. Chez les patients souffrant de diarrhées ou de vomissements, on veillera à une hydratation suffisante. Chez les patients adultes, la dose journalière d'Exjade peut être réduite de 10 mg/kg si la créatinine sérique augmente de façon non progressive de >33% au-dessus de la limite supérieure de la norme avant deux visites consécutives, et que ce changement ne peut pas être attribué à une autre cause. On sera attentif au fait que dans des études cliniques, 11% des patients ont dû recourir à de tels ajustements posologiques en raison d'une augmentation de la créatinine sérique. Chez la plupart des patients, chez qui il a fallu diminuer la dose, le taux de créatinine sérique n'est pas revenu à sa valeur initiale. Chez 60% des patients ayant diminué la dose, le taux de créatinine sérique est resté de >33% plus élevé, sans augmentation ultérieure. Si la créatinine sérique augmente de façon progressive, le traitement par Exjade sera interrompu. Le traitement sera également interrompu si la créatinine sérique reste à un niveau supérieur à 33% ou si la clairance de la créatinine descend en dessous de la norme pour l'âge du patient. La reprise du traitement par Exjade doit être considérée en fonction de la situation clinique individuelle. Chez les enfants, la dose peut être réduite de 10 mg/kg si la créatinine sérique augmente au-dessus de la limite supérieure de la norme pour l'âge lors de deux visites consécutives. **Foie** Durant les études cliniques, une élévation des transaminases de plus de 10 fois la limite supérieure de la norme, indiquant une hépatite, a été occasionnellement observée (0,3%). Des cas de défaillance hépatique ont été rapportés après la mise sur le marché d'Exjade. La plupart des cas de défaillance hépatique sont apparus chez des patients présentant des comorbidités sévères, y compris une cirrhose du foie ou une défaillance multiorgane et une issue fatale a été décrite dans certains cas (voir "Effets indésirables"). La fonction hépatique doit être contrôlée mensuellement. En cas d'augmentation persistante et progressive des transaminases sériques attribuable à une autre cause, le traitement par Exjade sera arrêté. Une fois la cause de l'élévation pathologique des tests hépatiques établie ou après la normalisation des valeurs, on pourra envisager une reprise du traitement par Exjade à faibles doses et avec une augmentation progressive de celles-ci. **Système gastro-intestinal** Des irritations gastro-intestinales peuvent apparaître pendant un traitement par Exjade. Des ulcères et des hémorragies dans la portion supérieure du tractus gastro-intestinal ont été rapportés chez des patients traités par Exjade, y compris chez l'enfant et l'adolescent. Des ulcères multiples ont été observés chez quelques patients (voir "Effets indésirables"). Pendant un traitement par Exjade, les médecins et les patients doivent surveiller attentivement l'apparition de symptômes indiquant un ulcère gastro-intestinal ou une hémorragie. Effectuer immédiatement des examens complémentaires et commencer un traitement correspondant en cas de suspicion d'un événement gastro-intestinal sévère. La prudence est recommandée chez les patients prenant Exjade en association à d'autres médicaments connus pour posséder un potentiel ulcérogène comme les AINS, les corticostéroïdes ou les bisphosphonates oraux, de même que chez les patients sous anticoagulants (voir "Interaction"). **Peau** Des cas d'éruption cutanée ont été décrits sous Exjade. En cas d'éruption légère ou modérée, on peut poursuivre le traitement par Exjade sans modification des doses, car l'éruption cutanée régresse souvent spontanément. Une éruption cutanée sévère peut nécessiter l'interruption du traitement; après la disparition de l'éruption, le traitement par Exjade peut être repris à faibles doses à augmenter progressivement. Dans les cas graves, on peut associer la reprise du traitement avec de courtes périodes de corticothérapie par voie orale. **Réactions d'hypersensibilité** Sous Exjade ont été signalés de rares cas de réactions graves d'hypersensibilité (telles qu'anaphylaxie et angioedème) qui, dans la majeure partie des cas, sont survenus au cours du premier mois de traitement (cf. "Effets indésirables"). En cas de réaction grave, il faut recourir aux mesures médicales appropriées et arrêter le traitement par Exjade. **Yeux et oreilles** Des troubles de l'audition (diminution de l'audition) et oculaires (opacifications du cristallin) ont été rapportés sous traitement par Exjade (cf. "Effets indésirables"). Un test de l'audition et un examen ophtalmologique avec examen du fond d'oeil sont recommandés avant de commencer un traitement par Exjade, puis à intervalles réguliers (tous les 12 mois). En cas d'apparition de troubles, on envisagera une réduction des doses ou l'arrêt du traitement. **Troubles hématologiques** Des cas de cytopénie ont été rapportés sous traitement par Exjade après sa commercialisation (non seulement par des annonces spontanées, mais aussi par des annonces faites lors d'essais cliniques) (cf. "Effets indésirables"). La plupart de ces patients souffraient déjà de troubles hématologiques pouvant aller de pair avec une insuffisance médullaire. Le lien entre ces événements et le traitement par Exjade est incertain. La prise en charge clinique standard de tels troubles hématologiques exige de contrôler régulièrement la formule du sang périphérique. On considérera l'interruption d'un traitement par Exjade chez des patients qui développent une cytopénie inexpliquée. La reprise du traitement par Exjade pourra être envisagée lorsque la cause de la cytopénie aura été expliquée et qu'on aura pu exclure avec une certitude suffisante tout lien avec Exjade. **Précautions générales** Comme sous tout traitement par des chélateurs du fer, le risque de toxicité d'Exjade peut être augmenté si des doses trop élevées sont administrées à des patients présentant une faible surcharge en fer ou dont le taux de ferritine sérique est légèrement augmenté uniquement. Par mesure de prudence générale, le traitement par Exjade n'est pas recommandé chez les patients atteints d'une mesure de la ferritine sérique inférieure à 1000 µg/l. **Interactions médicamenteuses** Exjade n'a pas été étudié en combinaison avec un traitement non chélateur n'est disponible jusqu'à présent. Exjade n'a pas été étudié chez des patients avec surcharge d'aluminium ne sera pas utilisé pour cette indication. Exjade doit être administré en combinaison avec d'autres substances formant des complexes de fer (chélateurs), car la sécurité de telles associations n'est pas démontrée. Les comprimés contiennent du lactose (1,1 mg de lactose par mg de déféroxirox). Ce médicament n'est pas conseillé chez les patients souffrant d'une intolérance au lactose, affection rare et d'origine héréditaire, ou avec une carence importante en lactase ou encore avec une malabsorption du glucose-galactose. **Interactions médicamenteuses** L'administration combinée d'Exjade et d'antiacides contenant d'aluminium n'a pas été examinée de façon systématique. Bien que le déféroxirox ait une affinité moindre pour l'aluminium que pour le fer, la prise, à moins de 2 heures d'intervalle, de comprimés d'Exjade et d'antiacides contenant de l'aluminium est à éviter. Une étude menée chez des volontaires sains a montré une diminution de 17% de l'exposition au midazolam (un substrat test du CYP3A4) lors de l'administration concomitante d'Exjade et de midazolam. Cet effet peut être plus prononcé en pratique clinique. En conséquence, parce qu'une diminution de l'effet est possible, la prudence est aussi recommandée lorsque le déféroxirox est administré en association à d'autres substances métabolisées par le CYP3A4 (par ex. ciclosporine, simvastatine, contraceptifs hormonaux). On n'a pas constaté d'interaction entre Exjade et la digoxine. L'administration simultanée d'Exjade et de vitamine C n'a pas été testée de façon systématique. Les interactions entre Exjade et les produits de contraste contenant du gallium n'ont pas été étudiées. Il est connu que des examens d'imagerie au gallium 67 peuvent être faussés par le chélateur du fer déféroxirox, qui fixe aussi le gallium 67, il est recommandé de cesser l'administration d'Exjade au moins 5 jours avant une scintigraphie au gallium 67. L'administration concomitante d'Exjade et de médicaments connus pour posséder un potentiel ulcérogène comme les AINS, les corticostéroïdes ou les bisphosphonates oraux peut augmenter le risque d'irritations gastro-intestinales, de même qu'une administration à des patients sous anticoagulants (voir "Mises en garde et précautions"). La biodisponibilité du médicament peut varier en fonction de la prise d'Exjade pendant les repas. **Grossesse/Allaitement Grossesse** On ne dispose pas d'études cliniques contrôlées sur l'administration de déféroxirox durant la grossesse. L'expérimentation animale a mis en évidence une certaine toxicité sur la fonction reproductrice lors de l'administration de doses toxiques à la femelle. On recommande, par mesure de prudence, de n'utiliser Exjade durant la grossesse que dans des situations d'absolue nécessité. **Allaitement** : Dans les études chez l'animal, le déféroxirox passe rapidement et en quantités importantes dans le lait maternel. Aucun effet n'a cependant été mis en évidence chez les descendants. On ignore si le déféroxirox passe dans le lait maternel de la femme. L'allaitement durant la prise d'Exjade est déconseillé. **Effet sur l'aptitude à la conduite et l'utilisation de machines** Aucune étude n'a été faite pour examiner les effets sur l'aptitude à la conduite et l'utilisation de machines. Les patients souffrant d'effets indésirables occasionnels, tels que vertiges, doivent faire preuve de prudence lors de la conduite de véhicules ou de l'utilisation de machines (cf. "Effets indésirables"). **Effets indésirables** Les effets indésirables rapportés le plus fréquemment sous traitement par Exjade au long cours chez les adultes sont les effets indésirables suivants : effets indésirables fréquents (au moins 10% des patients), effets indésirables occasionnels (de 1% à moins de 10%) et effets indésirables rares (moins de 1% des patients). Ces réactions sont dose-dépendantes, en règle générale d'intensité légère à modérée, habituellement passagères et régressant le plus souvent spontanément malgré la poursuite du traitement d'Exjade. Une discrète augmentation non progressive de la créatinine sérique, le plus souvent dans les limites de la norme, survient chez environ 36% des patients. Elle est dose-dépendante, régresse souvent spontanément et peut parfois être atténuée par une réduction de la posologie (cf. "Mises en garde et précautions"). Une augmentation des transaminases hépatiques a été observée chez environ 2% des patients. Cette augmentation n'était pas dose-dépendante et la majorité de ces patients présentaient déjà des transaminases augmentées avant le début du traitement d'Exjade. Une augmentation des transaminases à plus de 10 fois la limite supérieure de la norme, indiquant une hépatite, a été occasionnellement signalée (0,3%). Des cas de défaillance hépatique ont été rapportés après la mise sur le marché d'Exjade. La plupart des cas de défaillance hépatique sont apparus chez des patients présentant des comorbidités sévères, y compris une cirrhose du foie ou une défaillance multiorgane et une issue fatale a été décrite dans certains cas. Comme avec d'autres chélateurs du fer, des cas de perte d'audition dans la plage des hautes fréquences et d'opacifications du cristallin (cataracte précoce) sont occasionnellement survenus sous Exjade (cf. "Mises en garde et précautions"). Les effets indésirables suivants ont été décrits après un traitement par Exjade dans le cadre des essais cliniques. Les effets indésirables figurent dans la liste ci-dessous par ordre de fréquence décroissante: très fréquent (≥1/10); fréquent (≥1/100, <1/10); occasionnel (≥1/1000, <1/100); rare (≥1/10000, <1/1000); très rare (<1/10000). A l'intérieur d'une classe de fréquence, les effets indésirables sont classés par ordre de fréquence décroissante. Effets indésirables au cours des études cliniques. **Troubles hématologiques** Occasionnel: anémie, troubles du sommeil. **Système nerveux** Fréquent: céphalées. Occasionnel: vertiges. **Troubles oculaires** Occasionnel: cataracte précoce, maculopathie. Rare: névrite optique. **Oreilles et conduit auditif** Occasionnel: perte d'audition. **Troubles gastro-intestinaux** Fréquent: diarrhées, constipation, vomissements, nausées, douleurs abdominales, ballonnements, dyspepsie. Occasionnel: hémorragies gastro-intestinales, ulcères gastriques (y compris ulcères multiples), ulcères duodénaux, gastrite, pharyngite. Rare: oesophagite. **Troubles hépato-biliaires** Fréquent: augmentation des transaminases. Occasionnel: hépatite, cholélie. **Troubles cutanés** Fréquent: éruptions cutanées, prurit. Occasionnel: troubles pigmentaires. **Troubles rénaux et urinaires** Fréquent: protéinurie, élévation du taux de créatinine sérique (>LSN, mais <2x LSN). Occasionnel: tubulopathie rénale (syndrome de Fanconi). **Troubles généraux** Occasionnel: état fébrile, oedèmes, fatigue. **Les effets indésirables annoncés spontanément sont rapportés de façon volontaire, ce qui fait qu'il n'est pas toujours possible de déterminer avec précision l'incidence ou le lien causal avec le traitement. Effets indésirables annoncés spontanément** **Système immunitaire** Réactions d'hypersensibilité (y compris anaphylaxie, angioedème, urticaire). **Foie** Défaillance hépatique. **Peau** Vasculite leucocytoclastique, urticaire. **Reins et voies urinaires** Des cas d'insuffisance rénale aiguë, parfois avec issue fatale, ont été décrits (cf. "Mises en garde et précautions"). **Système sanguin et lymphatique** Lors de traitement par Exjade, après sa commercialisation, il a été fait état de cas de cytopénies, y compris neutropénies, thrombopénies et pancytopénies (non seulement par des annonces spontanées, mais aussi par des annonces faites lors d'essais cliniques). La plupart de ces patients souffraient déjà de troubles hématologiques qui sont souvent liés à une insuffisance médullaire (cf. "Mises en garde et précautions"). Le lien entre ces événements et le traitement par Exjade est incertain. **Surdosage** Des cas de surdosage (2-3 fois la dose prescrite pendant plusieurs semaines) ont été rapportés. Dans un cas, le surdosage a eu pour conséquence une hépatite biliaire subclinique qui a guéri sans conséquences à long terme après interruption du traitement. Des doses uniques de 80 mg/kg chez des patients thalassémiques avec surcharge en fer ont été tolérées, avec seulement de légères nausées et diarrhées. Des doses uniques pouvant atteindre 40 mg/kg chez des personnes en bonne santé ont été bien tolérées. Les signes aigus de surdosage comprennent des nausées, des vomissements, des céphalées et des diarrhées. Un surdosage peut être traité en déclenchant des vomissements ou par lavage gastrique et traitement symptomatique. **Pharmacodynamie** Le déféroxirox est un chélateur par voie orale possédant une forte affinité pour le fer trivalent. Il s'agit d'un ligand à trois chaînes, fixant le fer avec une haute affinité, dans une proportion de 2:1. Le déféroxirox favorise l'excrétion du fer par la bile. Le déféroxirox a une affinité plus faible pour l'aluminium et une affinité beaucoup plus faible pour le zinc et le cuivre. Exjade a conduit aux mêmes résultats chez les patients avec une hémiosidrose post-transfusionnelle dans le cadre de différentes maladies telles que bêta-thalassémie, drépanocytose, syndrome myélodysplasique ou anémie de Diamond-Blackfan. Chez les adultes et les patients pédiatriques avec une β -thalassémie et de fréquentes transfusions sanguines, l'administration quotidienne d'Exjade à raison de 20 et 30 mg/kg induit un an entrainé une diminution du fer total contenu dans l'organisme, par rapport à la concentration de fer dans le foie, il a diminué en moyenne de 0,4 resp. de 0,9 mg Fe/g de tissu hépatique (poids sec du matériel de biopsie) et la ferritine sérique de 36 resp. de 926 µg/l en moyenne. Le quotient d'excrétion du fer: apport de fer était le suivant: 1,02 (bilan de fer équilibré) resp. 1,67 (élimination du fer). L'évolution de la ferritine sérique peut être utilisée comme indicateur de la réponse au traitement. **Pharmacocinétique Absorption** : Après prise orale, le déféroxirox est résorbé et atteint un pic plasmatique (max) en l'espace de 1,5-4 heures en moyenne. La biodisponibilité absolue (AUC) du déféroxirox des comprimés d'Exjade correspond à 73,5 ± 12,8%. L'exposition totale (AUC) était environ deux fois plus élevée lorsque Exjade était pris au cours d'un petit-déjeuner riche en lipides (teneur en lipides >50% des calories) et environ 50% plus élevée s'il était pris en même temps qu'un petit-déjeuner standard. Lorsque le déféroxirox était pris 30 minutes avant un repas ayant une teneur normale ou élevée en lipides, sa biodisponibilité (AUC) était modérément augmentée (de 13-25%). L'exposition totale (AUC) au déféroxirox après suspension des comprimés dans du jus d'orange ou du jus de pomme était équivalente à l'exposition après suspension dans de l'eau (rapports relatifs de l'AUC: respectivement 103% et 90%). **Distribution** : Le déféroxirox est fortement (à 99%) lié aux protéines plasmatiques - presque exclusivement à l'albumine sérique - et présente un petit volume de distribution de l'ordre de 141 chez l'adulte. **Métabolisme** : La glucuronidation, suivie d'une excrétion biliaire, constitue la principale voie du métabolisme du déféroxirox. Il survient vraisemblablement une déconjugaison de glucuronides dans l'intestin avec réabsorption consécutive (circulation entero-hépatique). Le déféroxirox est glucuronidé principalement par l'UGT1A1 et dans une moindre mesure par l'UGT1A3. Le métabolite (oxydant) du déféroxirox catalysé par le CYP450 semble n'avoir qu'une importance mineure. **Élimination** : Le déféroxirox et ses métabolites sont principalement éliminés dans les fèces (84% de la dose reçue). L'excrétion rénale du déféroxirox et de ses métabolites est minime (8% de la dose, 6% sous forme de déféroxirox hydroxylé). La demi-vie d'élimination (t_{1/2}) est de 8 à 16 heures. **Linéarité** : Le pharmacocinétique du déféroxirox n'est pas proportionnelle à la dose. La C_{max} et l'AUC_{0-24 h} du déféroxirox évoluent au steady-state de façon pratiquement linéaire avec la dose. Après l'administration de plusieurs doses, l'exposition a augmenté d'un facteur de cumulation de 1,3-2,3. **Cinétique pour certains groupes de patients** L'exposition totale était plus faible chez les adolescents (12 à 18 ans) et les enfants (2 à 11 ans) que chez les adultes après une dose unique ou des doses répétées de déféroxirox. Chez les enfants de moins de 6 ans, l'exposition correspondait à environ 50% de celle de l'adulte. Chez les personnes de sexe féminin, la clairance apparente du déféroxirox n'était pas cliniquement significativement différente par rapport aux sujets de sexe masculin. La pharmacocinétique du déféroxirox n'a pas été étudiée chez les patients âgés (plus de 65 ans). **Insuffisance rénale et hépatique** Le comportement pharmacocinétique du déféroxirox n'a pas été étudié chez les patients avec insuffisance rénale ou hépatique. **Données précliniques** Les résultats les plus importants après traitement à long terme concernaient une néphrotoxicité, des modifications des voies biliaires et une opacification du cristallin (cataracte). Chez les animaux nouveau-nés et jeunes, les résultats observés étaient similaires. Les résultats d'études de genotoxicité in vitro ont été soit négatifs (test de Ames, test d'aberrations chromosomiques dans les lymphocytes humains), soit positifs (V79 Screen). In vivo, les doses létales de déféroxirox étaient associées avec la formation de micronoyaux dans la moelle osseuse des rats sans surcharge ferrugine. Les rats préalablement surchargés en fer n'ont toutefois présenté de tels effets cytotoxiques, ni dans le foie, dans les cellules de la moelle osseuse. Une étude de deux ans chez le rat et une autre de six mois chez la souris hépatocytome transgénique p 53^{+/+} n'ont pas mis en évidence d'effet carcinogène du déféroxirox. La toxicité potentielle sur la fonction de reproduction a été étudiée chez le rat et le lapin. Le déféroxirox n'était pas tératogène, mais il a entraîné à fortes doses, très toxiques pour les femelles non surchargées en fer, une augmentation de l'incidence de troubles squelettiques et de mort-nés chez le rat. Le déféroxirox n'a pas eu d'autres effets sur la fertilité ni sur la fonction de reproduction. **Remarques particulières Incompatibilités** : La dispersion dans des boisons gazeuses ou dans du lait n'est pas conseillée en raison de la formation de mousse et d'un ralentissement de la dispersion. **Stabilité** : Le médicament ne doit pas être utilisé au-delà de la date figurant après la mention "Date Lim. Ut. /EXP" sur l'emballage. **Remarque concernant le stockage** : Exjade doit être conservé dans son emballage original à l'abri de l'humidité et pas au-dessus de 30 °C. Les médicaments doivent être tenus hors de portée des enfants. **Numéro d'enregistrement** : N° d'enregistrement 125mg : 08/24D 017/068 N° d'enregistrement 250mg : 08/24D 018/068 **Liste I** : Uniquement sous prescription médicale **Titulaire**: Novartis Pharma Schweiz AG Monbijoustrasse 118, 3007 Berne Suisse **Fabricant**: Novartis Pharma Stein AG Schaffhauserstrasse 4332 Stein, Suisse

EVALUATION DE LA RÉPONSE CYTOGÉNÉTIQUE APRÈS TRAITEMENT À L'IMATINIB DANS LA LMC EN PHASE CHRONIQUE.

F.Hariche, N.Abdennebi, F.Boukhemia, F.Zerhouni, R.M.Hamladji.
Service d'hématologie -greffe de moelle osseuse, Centre Pierre et Marie Curie. Alger.

INTRODUCTION

La Leucémie myéloïde chronique (LMC) est un syndrome myéloprolifératif affectant les cellules souches hématopoïétiques et prédominant sur la lignée granuleuse. Elle est caractérisée par une anomalie chromosomique acquise, le chromosome Philadelphie (Ph1), retrouvée dans 95% des cas. [1]

Véritable signature cytogénétique de la maladie, le chromosome Philadelphie correspond à une translocation réciproque et équilibrée (sans perte de matériel génétique) entre les bras longs des chromosomes 9 et 22 : la $t(9;22)(q34;q11)$ qui se traduit au caryotype par un chromosome 22 plus court et un chromosome 9 plus long (figure 1). La conséquence est une fusion de deux gènes : le gène ABL (homologue cellulaire de l'oncogène rétroviral v-ABL) localisé en 9q34 et le gène BCR localisé en 22q11, qui génère un gène hybride BCR-ABL codant pour une protéine chimérique de 210KDa (P210 BCR-ABL) douée d'une activité tyrosine kinase dérégulée et jouant un rôle majeur dans le développement de la maladie. [2]

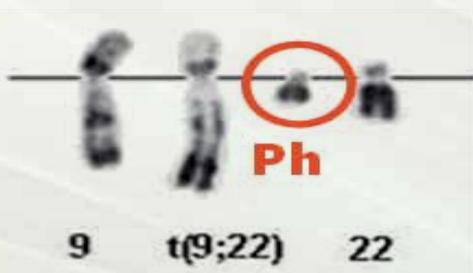


Figure 1 : chromosome Ph

Dans 5% des cas, le gène de fusion BCR-ABL résulte soit :

- d'une translocation variante complexe, impliquant un 3ème voire plusieurs chromosomes,
- d'une insertion cryptique de matériel chromosomique, indétectable par les techniques de cytogénétique conventionnelle.

Dans ce cas, la LMC est dite Ph négative, BCR-ABL positive, et seules les techniques d'Hybridation in Situ en Fluorescence (FISH) et de biologie moléculaire (RT-PCR) permettront la détection du gène hybride et du transcrite (ARN) BCR-ABL respectivement.

Les bases moléculaires de cette translocation sont bien connues, ainsi que ses conséquences cellulaires, ce qui a permis d'une part, une meilleure compréhension de la physiopathologie de la maladie, et d'autre part, la mise en place d'outils performants pour le diagnostic et le suivi thérapeutique. [3] [4]. En effet, l'introduction récente de l'Imatinib, inhibiteur de l'activité tyrosine kinase de BCR-ABL, a récemment modifié la prise en charge thérapeutique de cette maladie, car cette thérapie ciblée sur un effet anti tyrosine kinase permet d'induire des réponses qui s'expriment à 3 niveaux différents :

- hématologique : qui correspond à la disparition de la splénomégalie et à la normalisation des données de l'hémogramme,
- cytogénétique : qui correspond à la diminution des mitoses Ph⁺ ; elle est évaluée en pourcentage de cellules résiduelles Ph⁺
- moléculaire : qui correspond à la diminution du taux de transcrite BCR-ABL.

L'objectif de ce travail est d'évaluer la réponse cytogénétique chez 50 patients atteints de LMC en phase chronique, tous porteurs du transcrite BCR-ABL et traités par Imatinib et d'étudier son impact sur l'évolution des malades.

MATERIEL ET METHODES

1- Matériel

1.1- Les échantillons biologiques

L'analyse cytogénétique nécessite une aspiration médullaire qui est effectuée à l'occasion d'un médullogramme car les chances d'obtenir des cellules myéloïdes en mitose sont plus faibles dans le sang.

Le produit d'aspiration médullaire (environ 1ml) est recueilli stérilement sur héparinate de sodium (tube vacutainer, bouchon vert) ou dans un milieu de transport contenant du RPMI et de l'héparine sodique. Il devra être acheminé rapidement au laboratoire pour être traité dans l'heure.

1.2- Les patients

D'avril 2005 à décembre 2009, 50 patients présentant une LMC en phase chronique (28 hommes et 22 femmes), tous porteurs du transcrit BCR-ABL et traités par Imatinib ont bénéficié d'un suivi cytogénétique par la réalisation d'un caryotype médullaire avant traitement (J0) puis tous les 6 mois.

L'âge moyen au début du traitement est de 42 ans [15 – 61],

L'intervalle diagnostic-traitement est en moyenne de 4 mois [1 – 18],

Le suivi médian depuis la mise en route du traitement jusqu'au dernier caryotype réalisé est de 24 mois [18 – 36].

Les caractéristiques de ces patients sont résumées dans le tableau I.

Caractéristiques	Résultats
Age (années) Médiane [intervalle]	42 (15-16)
Sexe H/F (Sex-ratio)	28/22 (1,27)
Intervalle diagnostic-traitement (mois) Médiane [intervalle]	4 (1-8)
Score de Sokal Médiane [intervalle]	1 (0,61-3,72)
Délai de suivi (mois) Médiane [intervalle]	24 (18-36)

Tableau I : Caractéristiques des patients.

2- Méthodes

Principe du caryotype :

Le caryotype permet l'observation et la classification des chromosomes au stade de la métaphase ou de la prométaphase de la mitose. [5]

- Les divisions cellulaires sont obtenues après mise en culture (spontanée, sans addition d'agents mutagènes) pendant 24 et 48h.

- Les cellules sont ensuite mises en présence d'un agent bloquant les mitoses au stade métaphasique : la colchicine, véritable poison du fuseau mitotique, puis soumises à un choc hypotonique et fixées au mélange méthanol - acide acétique.

- Après marquage des chromosomes en bandes R (Reverse), c'est à dire dénaturation à la chaleur en tampon phosphate, et coloration au Giemsa, les préparations chromosomiques sont observées au microscope optique puis capturées et analysées à l'aide d'un logiciel de caryotypage de type Cytovision (applied imaging).

- Un minimum de 20 mitoses est examiné pour chaque patient : ces chiffres correspondent à des études statistiques, ils permettent de ne pas passer à côté

d'une anomalie.

Le classement des chromosomes tient compte de :

- la longueur relative du chromosome
- la position du centromère: médiane (chromosome métacentrique), submédiane (chromosome submetacentrique) ou terminale (chromosome acrocentrique) (figure 2)

- la succession de bandes claires et sombres caractéristiques d'un chromosome donné.

Ainsi, 2 chromosomes homologues possèdent :

- la même taille,
- La même position du centromère,
- le même nombre et la même disposition des bandes alternativement claires et sombres. [5]



Figure 2 : bases de classement des chromosomes

Interprétation :

Les anomalies chromosomiques sont dites clonales lorsque :

- 2 métaphases au moins ont le même chromosome surnuméraire ou la même anomalie de structure (translocation, délétion...)
- 3 métaphases au moins ont perdu le même chromosome.

Plusieurs niveaux de réponse cytogénétique ont été définis, elle est dite :

- complète (RCgC) quand le clone Phi est éradiqué (0% de cellules Phi+ résiduelles)
- partielle (RCgP) quand le clone Ph+ est compris entre 1 et 35% des métaphases.
- majeure (RCgM) quand le clone Phi+ est présent dans moins de 35% des métaphases (RCgC+RCgP)
- mineure quand le clone Ph+ est compris entre 35 et 65%
- minimale quand le clone est compris entre 66 et 95%
- nulle quand le clone Ph+ est retrouvé dans plus de 96% des métaphases.

Ainsi, 238 caryotypes médullaires ont été réalisés :

- 50 au diagnostic (J0) : avant la mise en route du traitement,
- 188 au cours du suivi biologique, avec en moyenne 3

caryotypes par patient.

Le nombre moyen de mitoses analysées par patient est de 22 [16 – 35].

RESULTATS

1-Au diagnostic

Aucun échec de culture n'a été constaté.

◆ l'analyse cytogénétique a permis de mettre en évidence le chromosome Philadelphie chez 48 des 50 patients étudiés (96%) ; il est absent chez 2 patients (4%). Chez ces deux patients, le diagnostic de LMC a été porté par biologie moléculaire (RT-PCR).

Il s'agit d'un chromosome phi dans sa forme classique chez 47 patients (98%)

(figure3), et d'un chromosome Phi variant complexe impliquant les chromosomes 9,22,1 et 3 chez 1 patient (2%) (figure 4).

(14,5%) ; il s'agit :

d'un chromosome Phi surnuméraire (double Phi) chez 3 patients (figure 5)

d'une trisomie 19 chez 3 patients (figure 7)

d'une trisomie 8 chez 1 patient (figure 6)

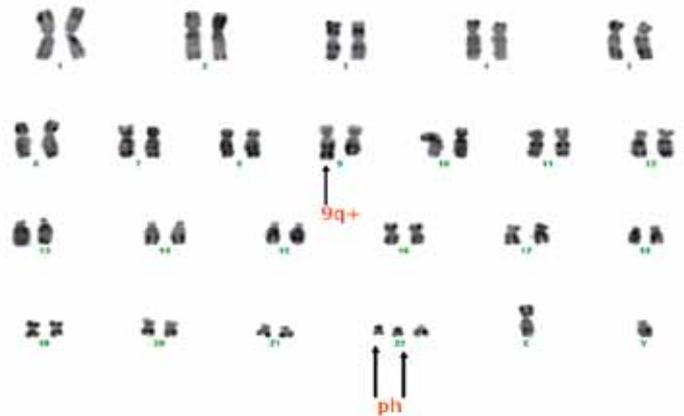


Figure 5 : mitose avec double Phi
Formule chromosomique : 47 XY t(9;22)(q34;q11)

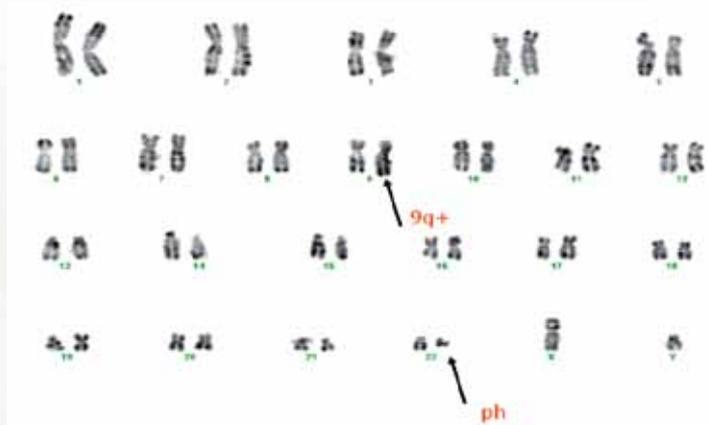


Figure 3 : mitose avec t(9 ;22).(Phi classique)
Formule chromosomique : 46 XY t(9 ;22)(q34 ;q11)

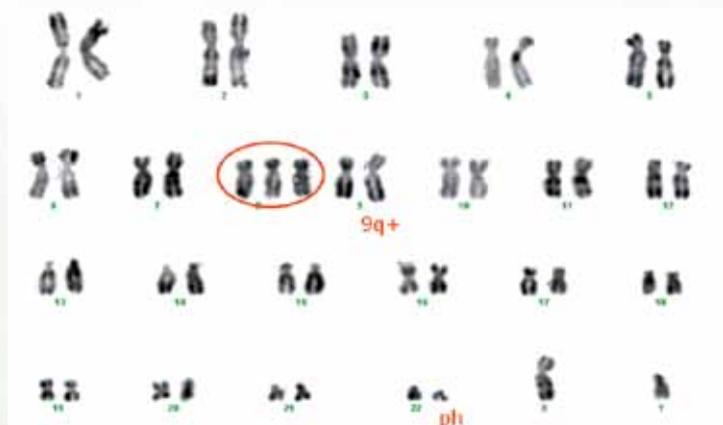


Figure 6 : mitose avec trisomie 8
Formule chromosomique : 47 X, +8, t(9;22) (q34;q11)

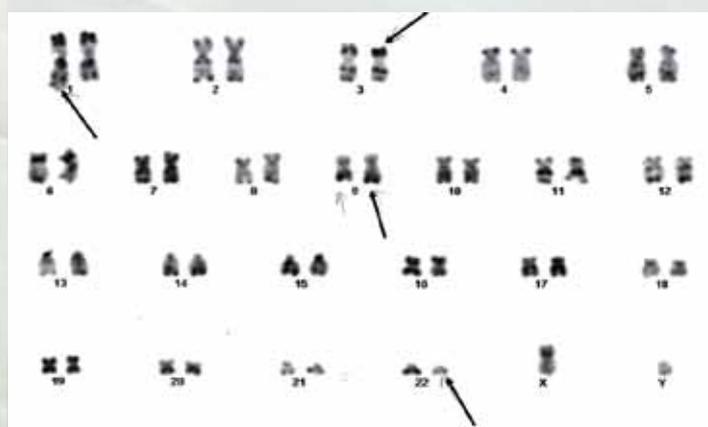


Figure 4 : mitose avec Phi variant complexe
Formule chromosomique: 46 XY t(9 ;22)(q34 ;q11),der3,der1

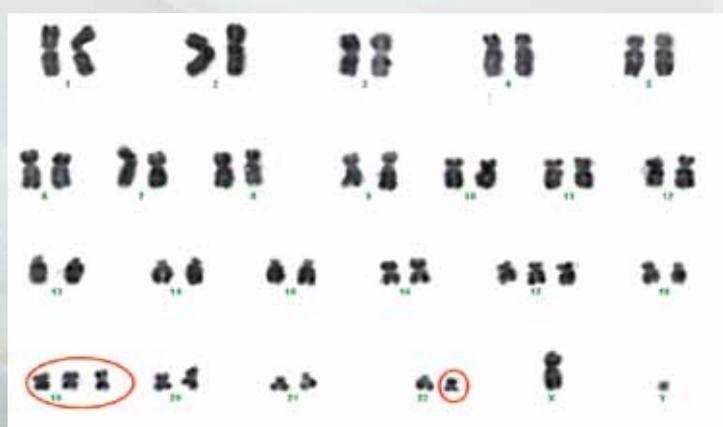


Figure 7 : mitose avec trisomie 19
Formule chromosomique : 47 X, +19, t(9;22)(q34;q11)

◆ des anomalies chromosomiques surajoutées au chromosome Phi (anomalies chromosomiques additionnelles ACA) ont été notées chez 7/48 patients

2- Au cours du suivi biologique :

Un total de 188 caryotypes a été réalisé chez les 48

patients informatifs (porteurs du chromosome Phi au diagnostic) seuls à bénéficier d'un suivi cytogénétique. 9/188 caryotypes (4,7%) n'ont pas pu être analysés ; il s'agit :

- d'échecs de culture dans 3/188 cas (1,6%),
- cultures contaminées dans 5/188 cas (2,6%)
- échec de prélèvement chez un patient ayant développé une fibrose médullaire après une année de traitement (0,5%)

Au terme du suivi, 27/48 patients (56%) sont en rémission cytogénétique complète (RCgC) après un délai médian de 12 mois [6 – 36] mois ;

5 patients (10,5%) sont en RCgP,

5 patients (10,5%) sont en RCg mineure,

4 patients (8,3%) sont en RC minime,

2 patients (4,2%) sont en RC nulle.

5 patients (10,5%) ont évolué vers la phase blastique de la maladie.

Sur les 48 patients, 4 n'ont pu être exploités à 6 mois seulement : (1 patient était indiscipliné, 2 cultures étaient contaminées et 1 échec de culture). Néanmoins, les résultats du caryotype pour ces patients aux autres points du suivi (12 mois, 18 mois, 24 mois, 30 mois, 36 mois) sont exploitables.

La proportion de patients en RCgC augmente au cours du suivi, elle passe de 31% à 12 mois à 65,5% à 24 mois. Inversement, les taux de réponses partielles et mineures diminuent passant de 36% à 6 mois, à 17% à 24 mois pour les RCgP et de 20% à 6 mois à 13% à 24 mois pour les RCg mineures. (Figure 8).

Aucune anomalie chromosomique additionnelle (ACA) n'a été notée chez les 48 patients.

Les réponses cytogénétiques obtenues à chaque point du suivi sont résumées dans le tableau II.

	6 mois	12 mois	18 mois	24 mois	30 mois	36 mois
RCgC Nb (%)	5 (11,4)	13 (31)	19 (52,7)	19 (65,5)	9 (64,3)	7 (70)
RCgP Nb (%)	16 (36,4)	18 (43)	9 (25)	5 (17,24)	3 (21,4)	2 (20)
RCg Mineure Nb (%)	9 (20,4)	5 (12)	4 (11,1)	4 (13,4)	2 (14,3)	1 (10)
RCg minime Nb (%)	9 (20,4)	1 (2,4)	2 (5,5)	1 (3,4)	0	0
Echec Nb (%)	5 (11,3)	5 (12)	2 (5,5)	0	0	0
Total	44	42	36	29	14	10

Tableau II : réponses cytogénétiques obtenues au cours du suivi

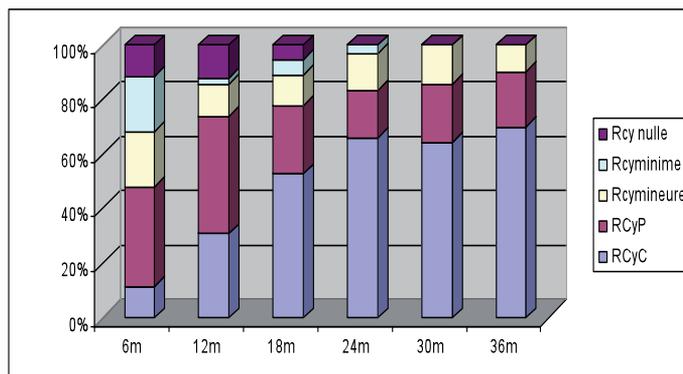


Figure 8 : histogrammes représentant l'évolution des différents types de réponses cytogénétiques

Cinq patients ont évolué vers la phase blastique de la maladie : il s'agit des 3 patients avec double Phi au diagnostic et de 2 patients avec trisomie 19.

2 patients sont en échec thérapeutique : l'un a une trisomie 19, l'autre une trisomie 8.

Le patient avec un chromosome Phi variant complexe est resté en RC minime avec 36% de cellules Ph+ résiduelles.

DISCUSSION

Bien que le tableau clinique et les données biologiques soient la plupart du temps très évocateurs de la LMC, une confirmation diagnostique est nécessaire dans la majorité des cas. Les traitements proposés actuellement sont ciblés sur une activité anti tyrosine kinase de BCR-ABL et ont de telles conséquences en terme d'effets secondaires et de coûts financiers qu'ils impliquent une certitude diagnostique.

De plus, l'OMS définit la LMC comme un syndrome myéloprolifératif Ph1+/- mais toujours BCR-ABL + [6]; ainsi, la mise en évidence du chromosome Ph1 suffit au diagnostic de la LMC, quelque soit la technique utilisée. Actuellement, il existe plusieurs techniques dont l'utilisation varie en fonction de la sensibilité recherchée au laboratoire :

- la cytogénétique conventionnelle : c'est la technique de référence pour la mise en évidence de la t(9 ;22)(q34 ;q11), dans sa forme classique ou variante
- la cytogénétique moléculaire (FISH) : indiquée en cas de discordance entre les données du caryotype (qui n'identifie pas le chromosome Ph) et les données biologiques qui sont compatibles avec le diagnostic de LMC.

- Les techniques de biologie moléculaire : RT-PCR : permet d'identifier les différents transcrits de fusion b2a2, b3a2....

Comme rapporté dans la littérature, l'analyse du

caryotype retrouve un chromosome Philadelphie chez 96% des patients étudiés, permettant ainsi de retenir le diagnostic et c'est la présence du transcrite BCR-ABL, mis en évidence par RT-PCR, qui a permis une confirmation diagnostique chez les 2 patients Ph1 négatif.

D'autre part, les anomalies caryotypiques additionnelles au chromosome Ph retrouvées chez 7 patients, (Ph surnuméraire, tri19, tri8), ont également été décrites dans la littérature qui rapporte en plus des trisomies 21, des isochromosomes 17 ainsi que des anomalies 20q- que nous ne retrouvons pas dans notre série.[7]

L'apparition des ces ACA dès le diagnostic est associée à un taux de réponse cytogénétique faible, une survie plus courte et à un taux de rechute hématologique élevé [8][9][10]. Ceci est d'autant plus vrai que sur les 7 patients avec ACA, 5 ont évolué vers la phase blastique de la maladie (acutisation) et 2 sont en échec thérapeutique. Notons aussi que le patient avec ph variant complexe est resté en réponse cytogénétique minimale après 36 mois de traitement.

Au total, aucun des patients avec ACA au diagnostic n'a achevé une réponse cytogénétique satisfaisante.

Cependant, aucune ACA n'a été observée au cours du suivi de nos patients.

La cytogénétique est un des moyens d'évaluation de réponse au traitement ; elle est indispensable au diagnostic mais doit néanmoins être complétée par des études moléculaires FISH et surtout RT-PCR [11] afin de diagnostiquer les LMC Ph-/BCR-ABL+.

CONCLUSION

La présence du chromosome PH et de ses produits (gène BCR-ABL, transcrite BCR-ABL) est considérée comme un marqueur de la maladie. Sa disparition est aujourd'hui considérée comme un pré requis à la guérison et le but ultime de toute thérapeutique.

Les avantages de la cytogénétique sont :

- son aptitude à mettre en évidence le chromosome Ph dans sa forme classique et variante
- son aptitude à révéler les anomalies caryotypiques additionnelles au chromosome Ph qui peuvent être présentes au diagnostic ou apparaître au cours de la progression de la maladie et qui semblent avoir un impact sur l'évolution des patients et sur la qualité de la réponse au traitement.

Ses principales limites sont :

- sa sensibilité : 1-10% (voisine de la cytologie hématologique) et qui ne permet pas de suivi de la maladie résiduelle.
- la nécessité de réaliser l'analyse sur des

échantillons médullaires pour obtenir des métaphases.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - Cortes JE, Talpaz M, Kantarjian H. chronic myelogenous leukemia : a review. - Am J Med 1996 ; 100 :555-69.
- 2 - Melo JV. Molecular biology of chronic myeloid leukemia. Leukaemia 1996; 10:751-6
- 3 - Rea D. Traitement de la leucémie myéloïde chronique en 2006. Hématologie 2006 ; 12 (spécial 5) : 4-10.
- 4 - Pignon JM. Translocation BCR-ABL : méthodes diagnostiques et intérêt clinique. - An Biol Clin ; 56 (1) : 57-63.
- 5 - A.T.C.Association des techniciens en cytogénétique. Guide des techniques de cytogénétique. - Revue ATC 2000.
- 6 - Flandrin G. la nouvelle classification OMS des hémopathies malignes. Hématologie 2001 ;7 :136-41.
- 7 - Groupe Français de Cytogénétique Hématologique (GFCH). Recommandations pour la prise en charge cytogénétique de la leucémie myéloïde chronique (LMC) établies par le groupe Français de Cytogénétique Hématologique (GFCH). Pathologie Biologie. 2004 ; 52 : 238-240.
- 8 - O'Dwyer ME, Maura MJ, Kurilik G, Mori M, Balleisen S, Olson S, et al. The impact of clonal evolution on response to imatinib mesylate (STI 571) in accelerated phase CML. - Blood 2002;100:1628-33
- 9 - Schoch C, Haferlach T, Kern W, Schnittger S, Berger U, Hehlmann R et al. Occurrence of additional chromosome aberrations in chronic myeloid leukemia patients treated with imatinib mesylate. Leukaemia 2003; 17: 461-3
- 10 - O'Dwyer ME, Maura MJ, Blasdel C, Farnsworth M, Kurilik G, Hsieh YC, et al. Clonal evolution and lack of cytogenetic response are adverse prognostic factors for hemostologic relapse of chronic phase CML npatients treated with imatinib mesylate therapy. - Blood 2004; 103 : 451-5.
- 11 - F.Harieche. la RT-PCR quantitative en temps réel: application au diagnostic et a l'étude de la maladie résiduelle dans la leucémie myéloïde chronique. Thèse de doctorat en sciences médicales. Octobre 2008.

changing possibilities in haemophilia®

Nous avons plus de 4 000 personnes dédiées à la R&D afin d'aider à améliorer la qualité de vie des personnes atteintes de maladies chroniques



TRAITEMENT PAR IMATINIB DE LA LEUCEMIE MYELOÏDE CHRONIQUE EN PREMIERE PHASE CHRONIQUE « ETUDE SUR 103 PATIENTS »

N. Abdennebi ; F. Boukhemia ; F. Harieche ; F. Zerhouni ; R-M Hamladji.

Service Hématologie – Greffe de Moelle Osseuse. Centre Pierre et Marie Curie Alger

INTRODUCTION

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est un syndrome myéloprolifératif prédominant sur la lignée granuleuse en rapport avec un processus monoclonal affectant une cellule souche très primitive. Elle se caractérise sur le plan cytogénétique par la translocation réciproque entre les chromosomes 9 et 22 (t : 9,22) donnant naissance au chromosome Philadelphie (Ph+) qui est le point de départ de la maladie. Il en résulte un gène de fusion bcr/abl qui code grâce à un ARN messenger pour une protéine pathologique (protéine bcr/abl) douée d'une forte activité tyrosine kinase (TK) qui est à l'origine de la maladie. Les progrès thérapeutiques récents ont conduit à l'application de thérapeutique ciblée très efficace ayant une activité anti TK : l'imatinib. Pendant des nombreuses années le traitement de choix car considéré comme curateur de LMC en 1ère phase chronique a été la greffe de cellules souches hématopoïétiques. A partir de l'année 2005 elle a été supplantée par l'utilisation de l'imatinib (premier inhibiteur de tyrosine kinase).

En Algérie la greffe a été utilisée exclusivement de 1998 à 2005. A partir de 2005 l'imatinib n'a été prescrit que chez les patients (pts) n'ayant pu être greffé (32 pts) et à partir de 2007 chez tous les pts présentant une LMC en 1ère phase chronique (71 pts). Nous présentons les résultats du traitement imatinib à la dose de 400 mg chez 103 pts en première phase chronique.

MATERIEL ET METHODES

Sur une période de 05 ans (2005-2009), deux cent neuf cas de LMC ont été diagnostiqués dans le service d'hématologie du CPMC dont 159 (93,3%) en première phase chronique. Parmi ces 159 pts en première phase chronique, 103 ont reçu de l'imatinib de mars 2005 à octobre 2009. Il s'agit de 54 hommes et 49 femmes (sex ratio : 1,1) avec un âge médian de 44 ans (14- 76). Le diagnostic de LMC a été posé après un délai moyen de 2 mois et demi (0- 12 mois) par rapport au premier signe d'appel. La découverte de la maladie n'a été fortuite que chez 16 pts (15,5%). L'examen clinique retrouve une splénomégalie chez 84 pts (81,5%) avec un débord splénique (DS) moyen de 11 cm (0- 27) et un DS \geq 10 cm chez 50 pts (59,5%).

Sur le plan biologique:

- L'hémogramme et l'étude du frottis sanguin (FS) retrouvent une hyperleucocytose avec un taux de GB moyen de 203 103/mm³ (23 – 757) et une myélémie moyenne de 43% (20-95)

- L'étude cytogénétique a été réalisée chez tous les pts au diagnostic et les résultats ne sont disponibles que chez 50 pts avec un suivi cytogénétique chez 48 pts (46,6%) sachant que deux pts avaient un caryotype normal au diagnostic. On note la présence d'anomalies chromosomiques additionnelles (ACA) au diagnostic chez 8/48 pts (16%). Il s'agit d'un double Ph+ : 3 pts ; trisomie 19 : 2 pts ; trisomie 8 : 2 pts et un Ph+ variant complexe.

- L'étude moléculaire par RT-PCR qualitative a permis de préciser le type de transcrite chez 99 pts avec un transcrite b2 a2 chez 51 pts (49,5%) et un transcrite b3 a2 chez 48 pts (46,6%). Pour les quatre pts dont le type n'a pas été précisé, le suivi de la maladie résiduelle a été réalisé.

- L'étude moléculaire par RT-PCR quantitative en temps réel qui permet le suivi de la maladie résiduelle a été réalisée chez tous les patients.

- La classification pronostique selon SOKAL (1) retrouve un groupe intermédiaire chez 53 pts (51,4%), un haut risque chez 32 pts (31,06%) et un faible risque chez 18 pts (17,4%).

L'imatinib indien (imatib) , gellule à 100 mg a été prescrit à la dose de 400 mg par jour en per os en une seule prise après un délai moyen de 4 mois et demi (1-26) : de 2005 à 2007 temps nécessaire pour l'obtention des résultats de typage HLA et à partir de 2007, le temps nécessaire pour l'obtention des résultats de biologie moléculaire pour confirmer le diagnostic de LMC et assurer un suivi moléculaire (maladie résiduelle). En attendant l'imatinib, tous les pts ont été traités par hydrée à la dose de 30 à 50 mg/kg/j.

Les pts ont été suivis de mars 2005 à décembre 2009 avec un suivi médian de 23 mois (02- 56).

La surveillance du traitement comporte 4 volets (clinique, biologique, cytogénétique et moléculaire).

Les surveillances clinique (tolérance de l'imatinib et DS) et biologique (Hémogramme/FS ; bilan hépatique ; bilan rénal) sont réalisées de façon hebdomadaire le 1er mois, bimensuelle le 2ème mois puis mensuelle par la suite.

Le caryotype permettant de définir les réponses cytogénétiques est réalisé tous les 06 mois.

Une RT-PCR quantitative permettant de définir les réponses moléculaires est réalisée tous les 03 mois la 1ère année puis tous les 06 mois.

Les critères de réponses au traitement sont validés par les recommandations de l'ELN 2006 (2)

La réponse hématologique complète : (RHC)

- Rate non palpable.
- Taux GB < 10 000/mm³
- Absence de myélémie
- Taux plaquettes < 450 000/mm³

La réponse cytogénétique : (RC)

Elle est appréciée sur la proportion de cellules Ph+ lors de l'analyse du caryotype médullaire comprenant au moins 25 métaphases (Tableau I).

RC	% de cellules Ph+ médullaires
- RC majeure	0 à 35%
- complète	0%
- partielle	1 à 35%
- RC mineure	36 à 65 %
- RC minime	66 à 95%
- Absente (pas de réponse)	>95%

Tableau I : critères de réponse cytogénétique

La réponse moléculaire : RM

Elle est quantifiée par RT-PCR quantitative en temps réel (3).

- RM majeure (RMM) : diminution d'au moins 3 log du transcrite
- RM complète (RMC): transcrite indétectable (seuil de sensibilité à 10-5)

RESULTATS

- Tous les pts sont entrés en RHC.

- Sous hydréa seule : 63 pts (61%) après un délai moyen 2 mois (0,5- 6).
- Sous imatinib après hydréa : 40 pts (39%) après un délai moyen 21j (15-60).

- La réponse cytogénétique est appréciée chez 48 pts (résultats rétrospectifs) (Tableau II).

Délais (mois)	RCC (%)	RC partielle	RC mineure	RC minime	Absente	Total (pts)
6	5 (11,3)	16 (36,3)	9	9	5	44
12	13 (30,9)	18 (42,8)	5	1	5	42
18	19 (52,7)	9 (25)	4	2	2	36
24	19 (65,5)	5 (17,2)	4	1	0	29

Tableau II : réponses cytogénétiques (48 pts)

On note une RCC à 12 mois à 30,9% avec augmentation du taux pour atteindre 52,7 % à 18 mois et 65,5% à 24 mois.

- La réponse moléculaire est appréciée chez 87 pts ayant atteint au moins 6 mois de traitement (Tableau III).

Délais (mois) / Nombre pts	RMM (%)	RMC (%)
6 (87)	19,5	1
12 (69)	36,2	5,8
18 (50)	36	6
24 (25)	40	8
30 (15)	66,6	13,3
42 (07)	57,1	14,2
48 (06)	66,6	14,2

Tableau III : réponses moléculaires (87 pts)

Le taux de RMM à 18 mois est de 36% avec une augmentation dans le temps pour atteindre un plateau à partir de 30 mois.

Une augmentation des doses d'imatinib à 600 mg a été nécessaire chez 12 pts en raison d'une absence de RMM à 18 mois. Seuls 3 pts ont atteint un an de traitement et l'étude moléculaire note une diminution de 2 log chez un pt ; pas de réponse chez 2 pts dont un sous traitement anti épileptique (dosage plasmatique de l'imatinib non réalisable en Algérie).

- Rechutes hématologiques chez 6 pts (5,8%):délai moyen 19 mois (6- 36) (Tableau IV).

Pts	Délai rechute (mois)	Sokal	Cytogénétique (diagnostic)	Biologie moléculaire:BM (rechute)	Traitement
DM	40	Ht risque	Non faite	Pas de réponse	600 puis 800 mg d'imatinib; Echec (pas de RHC); typage HLA en cours
MM	15	Intermédiaire	Double Ph+ 100%	Pas de réponse	600 puis 800 mg d'imatinib; Echec acutisation 30 mois
ZN	18	Haut risque	Ph+ 100% Trisomie 19	Pas de réponse	600 puis 800 mg d'imatinib; Echec ITK 2ème génération (G) ; échec Hydréa (pas de donneur)
BN	18	Intermédiaire	Ph+ 100%	Diminution 2 log	600 puis 800 mg RMM à 6 mois
KS	24	Intermédiaire	Ph+ 100% Trisomie 8	Perte de la RMM obtenue à 12 mois	600 mg imatinib RMM à 9 mois
AM	36	Haut risque	Ph -	Pas de réponse	ITK 2ème G (discontinu); 2ème rechute; Hydréa (refus de la greffe)

Tableau IV : rechutes hématologiques

Parmi ces pts, 3 étaient au score intermédiaire et 3 au haut risque de Sokal, 3 pts présentaient des ACA au diagnostic et un seul de ces pts avait obtenu une RMM à 12 mois. Une augmentation des doses à 600 puis 800 mg chez 5 pts a permis d'obtenir une RMM chez 2 pts à 6 mois et 9 mois. Parmi les 3 autres pts, un pt a été traité par les ITK 2ème génération, 2ème rechute puis hydréa (pt refuse la greffe de moelle).

- Acutisations : 6 pts (6,8%) (Tableau V).

Pts	Délai rechute (mois)	Sokal	Cytogénétique (diagnostic)	Biologie moléculaire:BM (rechute)	Type	Traitement Devenir
KM	8	Haut	Non faite	Diminution de 2 log	LANL	TRT symptomatique DCD
MC	12	Intermédi	Ph+ 100% Trisomie 19	Perte de RMM (j9 mois)	LANL	TRT symptomatique DCD
OK	12	Intermédi	Ph+ 100% Trisomie 19	Pas de réponse	LAN biphéno	TRT spécifique RC Greffe de moelle ITK 2ème G; VBP
HZ	14	Haut	Double Ph+ 100%	Perte de la RMM (j12 mois)	LANL	TRT symptomatique DCD
LN	16	Intermédi	Double Ph+ 100%	RMM (j12 mois)	LANL	TRT symptomatique DCD
MM	30	Intermédi	Double Ph+ 100%	Pas de réponse Rechute hémato	LANL	TRT 2ème G; retour à la phase chronique; VBP

Tableau V : acutisations

Trois la 1ère année (3,4%), 2 la 2ème année (2,3%) et la 3ème année (1,1%) après un délai moyen 15 mois (8 – 30%). Quatre pts étaient au score intermédiaire et 2 haut risque de Sokal.

Cinq pts présentaient des ACA au diagnostic, la cytogénétique chez le 6ème pt n'est pas disponible. Il s'agit de 5 LANL et une LA biphénotypique.

4 pts sont décédés après traitement symptomatique.

1 pt (LA biphénotypique) a été greffé en RC de sa LMC acutisée et va bien.

1 pt a été traité par ITK de seconde génération et va bien, il s'agit du patient qui a rechuté à 15 mois puis a présenté une acutisation à 30 mois.

- Courbes de survie à 4 ans (Figure 1)

La survie globale (SG): 91%

La survie sans évènement (SSE): 79,5%

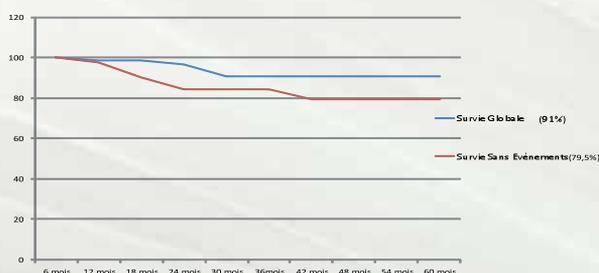


Figure 1 : courbes de survie (SG et SSE)

- Les effets indésirables (EI) ont été appréciés selon la cotation OMS des EI des traitements anticancéreux.

Les EI hématologiques sont fréquents les 6 premiers mois et sont représentés surtout par des neutrothrombopénies (85% pour les neutropénies, avec un grade 3-4 chez 34,6% ; et 62% pour les thrombopénies, de grade 3-4 chez 37,4%). Aucun patient n'a présenté une intolérance hématologique justifiant un arrêt ou un changement thérapeutique.

Les EI extra-hématologiques sont dominés par les œdèmes orbitaires et la prise de poids (prise moyenne

de 6,5 kg la première année). La toxicité hépatique de grade 3 est observée chez 4,3%, un pt (< 1 %) a présenté une intolérance hépatique à la suite de la consommation d'un traitement traditionnel et qui a nécessité un changement thérapeutique.

Les autres EI extra-hématologiques (asthénie, céphalées, crampes musculaires, myalgies, douleurs osseuses, diarrhées, vomissements) ne sont rapportés par les pts que s'ils deviennent gênants.

DISCUSSION

- L'âge de nos pts est de 44 ans en Algérie et 51 ans dans l'étude IRIS (4)

- Le sex ratio est identique à celui de la littérature (1,4) (5)

- Le diagnostic reste tardif en Algérie : la découverte fortuite n'est observée que chez 15,5% chez nous versus 40% dans la littérature et la splénomégalie est observée dans 81,5 % des cas chez nous versus 50 % dans la littérature. (6)

- La répartition selon Sokal des pts est significativement différente ($P < 0,01$) pour les 3 catégories par rapport à l'étude IRIS (4) (tableau VI).

	Faible (%)	Intermédiaire (%)	Haut risque (%)
IRIS n = 553	52	29	18
Notre service n = 103	17,4	51,4	31
p	<0,01	<0,01	<0,01

n : total des pts

Tableau VI : comparaison des pts (score Sokal)

Le score élevé au diagnostic reste un signe d'alarme en ce qui concerne les réponses thérapeutiques (2)

- Sur le plan cytogénétique, les ACA au diagnostic sont retrouvés chez 16% de pts et constituent un signal d'alarme selon les recommandations de l'ELN 2006 (2).

Dans notre série, sur 8 pts présentant des ACA, 3 ont rechuté et 5 ont acutisé.

- Sur le plan moléculaire, la répartition des transcrits b3 a2 et b2 a2 a été comparé à deux groupes britannique (7) et tunisien (8) et il n'y a pas de différence significative ($P = 0,85$ pour le groupe britannique et à 0,27 pour le groupe tunisien). (Tableau VII).

	b2 a2 (%)	b3 a2 (%)	b2 a2 (%) + b3 a2 (%)	p
MELO JV (7)	40	55	5	0,85
Groupe tunisien (8)	41	58	0	0,27
Notre série	51	48	0	

Tableau VII : comparaison des transcrits BCR-ABL.

- Les résultats thérapeutiques ont été comparés sur les plans hématologique, cytogénétique et moléculaire à l'étude IRIS. (4)

La RHC à 4 ans est semblable à l'étude IRIS (94% chez nous versus 98% dans l'IRIS).

Les RCC à 12 mois sont significativement différentes par rapport à l'IRIS (51% chez nous 69% dans l'IRIS avec $p < 0,01$) et cette différence n'existe pas à 24 mois. Ceci peut s'expliquer par le retard diagnostic chez nous d'une part et d'autre part par la répartition significativement différente des pts selon le score Sokal. (Plus de haut risque dans notre série). (9)

Les RMM sont satisfaisantes et non différentes de l'étude IRIS à 12 et 24 mois.

- Il n'y a pas de différence pour l'obtention de la RCC à 12 mois selon le score de Sokal, les taux sont de 38%, 31% et 31% respectivement pour les faibles risques, intermédiaire et haut risque. La différence à 12 mois est significative pour l'obtention de la RCP entre les groupes intermédiaire et à haut risque. Les taux sont à 72% et 22 % respectivement pour les risques intermédiaire et à haut risque. Il n'y a pas de différence pour l'obtention des RMM à 18 mois entre les 3 groupes.

- Le pourcentage des acutisations est semblable à l'IRIS avec une diminution dans le temps (2,9 % chez nous versus 3,5% dans l'IRIS la 1^{ère} année, 1,9% versus 2,8% la 2^{ème} année et 0,9% versus 1,6% la 3^{ème} année. Il n'y a plus d'acutisation au delà de la 3^{ème} année.

- Il n'y a pas de différence significative concernant les courbes de survie. La SG est à 91 % versus 89,4%, la SSE à 79,5% versus 83 % respectivement dans notre série et l'étude IRIS (4).

- L'imatinib indien induit significativement des EI hématologiques de grade 3-4 (neutrothrombopénies) avec une résolution de la toxicité dans notre série au bout de 9 jours d'arrêt de traitement pour la neutropénie versus 2 à 3 semaines dans l'IRIS et de 20 jours versus 3 à 4 semaines pour la thrombopénie. La toxicité hépatique est semblable à celle de l'IRIS. La fréquence des EI extra-hématologiques est inférieure à celle de l'IRIS car nos pts ne rapportent ces EI que s'ils deviennent gênants.

- Les recommandations de l'ELN 2006 ont été actualisées en 2009 avec 3 types de réponse optimale, suboptimale et l'échec thérapeutique. Elles identifient plus précocément les pts en échec d'une première ligne de traitement (10). Elles sont difficiles à être appliquées chez nous en raison des contrôles cytogénétiques fréquents (3, 6 et 12 mois).

CONCLUSION

L'imatinib (Imatinib indien) a été utilisé et validé sur les résultats thérapeutiques satisfaisants et sur la tolérance. Il constitue le meilleur traitement de la LMC en première phase chronique actuellement avec des résultats de biologie moléculaire satisfaisants avec un coût dix fois moindre que la molécule princeps.

Comme le confirme notre étude, l'étude cytogénétique au diagnostic est capitale pour la recherche d'ACA reconnues comme des signes d'alarme par l'ELN 2006.

En pratique une augmentation de doses à 600 ou 800 mg d'imatinib ou le passage aux ITK 2^{ème} génération pourrait être justifiée sur les réponses moléculaires (11).

La greffe de moelle reste indiquée chez les patients résistants à l'imatinib 800 mg et aux ITK 2^{ème} génération (selon la disponibilité), aux patients intolérants et aux patients en phase avancée de la maladie (accélération – deuxième phase chronique).

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - Sokal JE, Cox EB, Baccarani M, et al. Prognostic discrimination in good risk chronic granulocytic leukemia - Blood 1984; 63: 789 – 99.
- 2 - Baccarani M et al. Evolving concepts in the management of LMC. Recommendations from an expert panel on behalf of the European Leukemia Net (ELN). - Blood 2006; 108: 1809- 1820
- 3 - Wang L, Pearson K, Pillitteri L, Ferguson JE and Clark RE. Serial monitoring of BCR- ABL by peripheral blood real - time polymerase chain reactions predict the marrow cytogenetic response to imatinib mesylate in CML. - British Journal of Haematology 2002; 118 : 771- 777
- 4 - Druker BJ et al. Five year follow of patients receiving imatinib for CML : IRIS Study - N. Engl J Med 2006; 355: 2408- 2418
- 5 - Rousselot P. Diagnostic et traitement de la LMC. - Revue du praticien 2005 ; 55 : 1647 – 1657.
- 6 - Breton – Gorin J, Reyes F, Rochant H, Rosa J, Vernant JP. L'hématologie de Bernard Dreyfus. - Edition FLAMMARION Médecine – Science 1992; 50: 619 – 642.
- 7 - Melo JV. The diversity of bcr – abl fusion proteins and their relationship to leukemia phenotype. - Blood 1996 ; 88 : 2375 – 2383 (Editorial).
- 8 - Ben Amor R et al. Traitement de la LMC en phase chronique dans un centre tunisien.(A propos de 70 cas). - Hématologie ; n° spécial 1 ; vol. 14 ; mars 2008.
- 9 - Rea D. Traitement de la LMC en 2006. - Hématologie , vol . 12 , n° spécial 5 , décembre 2006.
- 10 - Baccarani M et al. Chronic myeloid leukemia : An Update of concepts and management recommendations of European Leukemia Net. - J. Clin Oncol 2009 Dec 10 ; 27 (35) : 6041- 51
- 11 - Perot C. L'analyse moléculaire par RQ- PCR dans le sang peut elle remplacer la cytogénétique médullaire dans le suivi de la LMC traitée par imatinib - Hématologie n° 03 ; vol 12, mai – juin 2006

changing possibilities in haemophilia®

Notre objectif est d'améliorer la qualité
de vie des patients hémophiles

Nous œuvrons pour que ces patients aient la liberté de bâtir leur vie selon leurs ambitions
et leurs désirs personnels, sans subir les contraintes imposées par leur maladie

Novo Nordisk privilégie **le patient** dans tout ce qu'il fait et s'engage avec passion
auprès des hémophiles. Nous nous efforçons d'élever le niveau des soins
et de permettre à tous de bénéficier d'une bonne **qualité de vie**

Ulla Hedner

Initiatrice des recherches sur le **rFVIIa**



ALLOGREFFES DE CELLULES SOUCHES HEMATOPOÏÉTIQUES (CSH) DANS LA LEUCEMIE MYELOÏDE CHRONIQUE

M.Benakli, R.Ahmed Nacer, A.Talbi, F.Mehdid, R.Belhadj, M.Baazizi, N.Rahmoune, F.Kaci, K.Slimani, F.Harieche, F.Zerhouni, RM.Hamladji

Service hématologie-Greffe de moelle osseuse, Centre Pierre et Marie Curie, Alger

INTRODUCTION

La Leucémie Myéloïde Chronique (LMC) est un syndrome myéloprolifératif chronique prédominant sur la lignée granuleuse, lié à un processus monoclonal affectant une cellule souche très primitive. Une anomalie cytogénétique est associée à la prolifération : le chromosome Philadelphie (Ph1) qui résulte d'une translocation réciproque entre les chromosomes 9 et 22. Son équivalent moléculaire est l'oncogène BCR-ABL à l'origine d'une protéine BCR-ABL à activité tyrosine kinase responsable de la transformation maligne.

Jusqu'au début des années 1980, le traitement de la LMC reposait essentiellement sur une cytoréduction utilisant des agents alkylants comme le busulfan et l'hydroxyurée. La durée moyenne de la phase chronique était de l'ordre de 3 ans et la LMC était une affection constamment mortelle en raison de la survenue inéluctable d'une transformation blastique.

Après les années 80, il était établi que la greffe de moelle allogénique était un traitement curatif permettant la disparition du clone Ph mais applicable seulement à des patients jeunes avec donneur compatible (1). Elle agit par l'effet lié au conditionnement prégreffe mais aussi et surtout par son effet immunologique lié à un effet greffon contre la maladie (effet GVL) qui est d'une importance majeure dans la LMC. Le succès lié à l'introduction de la perfusion des lymphocytes du donneur (DLI) en cas de rechute (2) et l'avènement des greffes à conditionnement réduit (3), la rendant possible chez les patients âgés ou présentant des comorbidités, ont fait que les indications de greffe dans la LMC ont atteint un pic maximum en 1999 pour ensuite décroître à partir de 2003 avec l'utilisation de l'imatinib (4).

En Algérie, l'allogreffe de CSH a débuté en 1998 avec un conditionnement myéloablatif qui a été remplacé par un conditionnement d'intensité réduite à partir de 2001 surtout chez les patients en première phase chronique en repoussant l'âge limite à 55 ans et ce n'est qu'à partir de janvier 2008 que l'utilisation de l'imatinib a remplacé l'indication de l'allogreffe

dans la LMC en première phase chronique mais a été maintenue pour les patients en phase accélérée.

Cette étude se propose d'exposer les résultats de l'allogreffe avec les deux types de conditionnement myéloablatif et à conditionnement atténué et de les comparer.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

De Juillet 1998 à Juin 2009, 274 patients présentant une LMC ont bénéficié d'une allogreffe avec deux types de conditionnement par chimiothérapie seule sur deux périodes :

Allogreffe myéloablative (AM) :

De juillet 1998 à Juin 2009, 101 patients ont eu un conditionnement standard myéloablatif (MA). Leur âge médian est de 24 ans (4 à 44 ans), le sex-ratio (M/F) de 1,2. Au diagnostic, 56 (55,4%) patients sont en phase chronique, 39 (38,6%) en phase accélérée et 6 (5,9%) en phase blastique. Au moment de la greffe, 65 (64,3%) patients ont un score EBMT (5) \leq 2, et 36 (35%) patients de score $>$ 2. Le délai diagnostic-greffe est de 16 mois (3 à 88) du fait d'un recrutement de patients antérieur à l'ouverture du centre de greffe. L'allogreffe a été effectuée dans tous les cas à partir d'un donneur HLA géno-identique avec un âge médian de 23 ans (0 à 52). La source du greffon est la moelle osseuse chez 9 patients avec une moyenne de cellules nucléées de 3,7 10⁸/kg (1,7 à 5), les cellules souches périphériques chez 90 patients avec un taux de CD34+ moyen de 6,4 10⁶/kg (1,3 à 18,7) et le sang placentaire chez 2 patients avec un taux moyen de cellules nucléées de 6,6.10⁷/kg (3,5-9,6). Le conditionnement à la greffe a été de type Tutshka associant le Busulfan (16 mg/kg) et le cyclophosphamide (120 mg/kg) chez 56 patients. Quarante et un patients ont eu en plus de l'Etoposide (30 mg/kg). La prévention de la maladie du greffon contre l'hôte (GVH) a associé Ciclosporine et méthotrexate en cycle court chez 99 patients.

Allogreffe à conditionnement atténué (ACA) :

D'Avril 2001 à Décembre 2007, 173 patients d'âge médian 35 ans (18 à 54) avec un sex-ratio de 0,9 ont bénéficié d'un conditionnement atténué. Au moment du diagnostic, 149 (86%) sont en phase chronique et 24 (14%) en phase accélérée. A la greffe, 130 patients (75%) ont un score EBMT ≤ 2 et 43 (25%) un score > 2 . Le délai diagnostic-greffe est de 11 mois (4 à 50). Tous les patients ont eu un greffon composé de cellules souches périphériques de taux moyen 6,2 106/kg (1,8 à 44,9) obtenues à partir d'un donneur HLA géno-identique dont l'âge médian est de 30 ans (14 à 54). Le conditionnement à la greffe a associé la Fludarabine (150 mg/m²) au Busulfan (8 mg/kg). L'association ciclosporine et mycophenolate mofetil (2 g/jour jusqu'à J40) a été utilisée pour prévenir la GVH dans tous les cas.

Dans les deux types de procédures, les recommandations de prophylaxie antimicrobienne, antivirale et antifongique ont été suivies. Tous les produits sanguins ont été filtrés et irradiés. La surveillance hebdomadaire de l'antigénémie cytomégalovirus est réalisée chez tous les patients. Sa positivité impose l'usage préemptif immédiat du Ganciclovir.

L'analyse statistique consiste à comparer les caractéristiques des deux groupes et les différentes complications (test de Log-rank) et les survies globales et sans événements (courbes de Kaplan-Meier).

	AM	ACA	p
Nombre	101	173	
Age médian (ans)	24 (4-44)	35 (18-54)	<0,01
sex-ratio	1,2	0,9	
Statut maladie			
Myélocytaire	56 (55,4%)	149 (86%)	
Accélération	39 (38,6%)	24 (14%)	
Acutisation	6 (5,9%)	-	
Gratwohl			
≤ 2	65 (64,3%)	130 (75%)	
> 2	36 (35,7%)	43 (25%)	
Délai dg-greffe (mois)	16,7 (3-82)	11 (4-50)	0,01
Source du greffon			
MO	9	-	
CSP	90	173	
CORDON	2	-	
Conditionnement			
FLU-BU	-	173	
Tutshka	56	-	
Tutshka+VP16	41	-	
Santos	3	-	
BAM12	1	-	
Prévention GVHD			
Ciclo+MTX	99	-	
Ciclo	1	-	
MTX-MMF	1	-	
Ciclo	0	173	

Abréviations : MO : moelle osseuse ; CSP : cellules souches périphériques ; Tutshka : Busulfan-Endoxan ; VP 16 : Etoposide ; Santos : Busulfan-Endoxan ; BAM12 : Busulfan-Aracytine-Melphalan ; FLU-BU : Fludarabine- Busulfan ; Ciclo : ciclosporine ; MMF : mycophenolate mofetil.

Tableau I : caractéristiques des patients et méthodes

La comparaison des deux groupes de patients montre un nombre nettement plus important de greffes à conditionnement atténué. La moyenne d'âge dans ce groupe est plus avancée (avec une différence significative) du fait que ce conditionnement a été appliqué pour des patients adultes (>18 ans) et sans limite d'âge supérieur. La grande majorité des patients sont en phase chronique dans le groupe à conditionnement réduit (86%) contrairement au groupe à conditionnement myéloablatif où seulement 55,4% sont en phase chronique. Les cellules souches périphériques ont constitué, dans les deux groupes, la source majeure du greffon. Le conditionnement myéloablatif repose essentiellement sur l'Endoxan-Busulfan et la Fludarabine constitue la pierre angulaire du conditionnement atténué (Tableau I).

RÉSULTATS

Allogreffe myéloablatif (AM) :

Tous les patients de ce groupe ont présenté une aplasie de durée moyenne 13 jours (6 à 48). La sortie d'aplasie (PN > 500 /mm³) est observée en moyenne au 16ème jour (11 à 75). Des transfusions de culots globulaires et concentrés plaquettaires ont été nécessaires respectivement chez 70 patients (69%) avec une moyenne de 2,9 culots (0 à 12) par patient et chez 95 patients (94%) avec une moyenne de 3,3 (0-18) par patient. Quarante huit patients (47,5%) ont présenté une maladie du greffon contre l'hôte (GVH) aigüe dont 35 (34,6%) de grade II à IV. La GVH chronique est survenue chez 58 patients (63,7%) dont 37 (40%) de forme extensive. Vingt trois patients (22,7%) ont présenté une réactivation CMV. Une rechute est survenue chez 15 patients (14,8%) dont 6 en phase blastique. Parmi les patients en rechute, une rémission moléculaire est obtenue chez 4 patients (2 après arrêt du traitement immunosuppresseur, 1 après DLI et Imatinib, 1 après Imatinib).

Au 31 Décembre 2009, 56 (55,4%) patients sont vivants avec une médiane de suivi de 69 mois (6 à 136) dont 53 en rémission. Quarante cinq (44,6%) patients sont décédés dont 34 (33,6%) de TRM (Transplant Related Mortality) essentiellement due à la GVH (26 patients) et 11 (10,8%) de rechute (Tableau II). Les survies actuarielles globale et sans événements sont respectivement de 52,4 % et 46 % à 9 ans (Figures 1 et 2). La survie globale en fonction du stade de la maladie est de 57,5% pour les patients en phase chronique (56 patients) et de 47,3% pour les patients en phase avancée (45 patients). Elle est de 57,6% (65 patients de score EBMT ≤ 2) et 47,3% (36 patients de score > 2). Il y a une différence significative en terme de survie globale pour les patients en phase chronique comparés à ceux en phase avancée ainsi que dans le score EBMT (0,02 $< p < 0,05$).

	AM	ACA	p
Aplasie	101 (100%)	76 (44%)	< 10 ⁻⁸
Durée d'aplasie (J)	13,6 (6-48)	7 (2-19)	0,001
Délai sortie d'aplasie (J)	16 (11-75)	14 (13-24)	
Besoins transfusionnels			< 10 ⁻⁸
CG: patients	70 (69%)	4 (2,3%)	
moyenne CG/pt	2,9 (0-12)	0,05 (0-5)	
CUP: patients	95 (94%)	15 (8,6%)	< 10 ⁻⁸
moyenne CUP/pt	3,3 (0-18)	0,13 (0-5)	
GVH aiguë	48 (47,5%)	72 (42,8%)	0,35
I	13	16	
II-V	35 (34,6%)	56 (32,3%)	
GVH chronique			0,14
Évaluables	91	160	
Patients	58 (63,7%)	114 (71,2%)	
Limitée	21	38	
Extensive	37 (40%)	76 (47,5%)	
Réactivation CMV	23 (22,7%)	28 (16%)	0,16
Rechute	15 (14,8%)	31 (17,9%)	0,7
Vivants	56 (55,4%)	109 (63%)	0,80
RC post 1ère allogreffe	53	103	
RC après 2ème allogreffe	-	4	
En rechute	3	2	
Décédés	45 (44,6%)	64 (36,9%)	0,67
Causes de décès TRM	34 (33,6%)	45 (26%)	0,67
GVHA	12	25	
GVHC	14	15	
Infection	7	5	
Autres causes	1	2	
Rechute	11 (10,8%)	17 (6,2%)	
Survie globale (%)	52,4	56	0,16
SG phase chronique	57,5	56,9	
SG phase avancée	47,3	49,4	
Score EBMT ≤ 2	57,6	63,5	
Score EBMT > 2	47,3	49,7	
Survie sans événement (%)	46	49,5	0,14

Abréviations : CG : culot globulaire ; CUP : concentré unitaire plaquettaire ; GVH : graft versus host ; CMV : cytomégalovirus ; TRM : Transplant related mortality ; EBMT : European Bone Marrow Transplantation

Tableau II : résultats comparatifs des deux groupes

Il n'y a pas de différence statistiquement significative pour les survies globale (p : 0,16) et sans événements (p : 0,14), à temps de suivi identique, dans les deux groupes (myéloablatif et non myéloablatif).

Allogreffe à conditionnement atténué (ACA) :

Seuls 76 patients (44%) ont présenté une neutropénie. Sa durée moyenne est de 7 jours (2 à 19). La sortie d'aplasie est observée en moyenne à J14 (13-24). Les besoins transfusionnels ont été minimes : seuls 4 patients (2,3%) et 15 patients (8,6%) ont bénéficié respectivement de transfusions de culots globulaires et concentrés plaquettaires. Une GVH aiguë est observée chez 72 patients (42,8%) dont 56 (32,3%) de grade II à IV, et la GVH chronique est retrouvée chez 114 patients (71,2%) dont 76 (47,5%) avec une forme extensive. Vingt huit patients (16%) ont présenté une réactivation CMV. Une rechute est survenue chez 31 patients (17,9%) dont 18 en phase chronique, 9 en phase

blastique et 4 moléculaire. Une rémission moléculaire est obtenue secondairement chez 16 patients par diverses approches (arrêt immunosuppresseurs, DLI, association DLI-Imatinib, deuxième allogreffe myéloablatif).

Au 31 Décembre 2009, avec une médiane de suivi de 64 mois (24 à 104), 109 (63%) patients sont vivants en rémission dont 4 après deuxième allogreffe myéloablatif et 64 (36,9%) patients sont décédés. La TRM est la cause majeure de décès : 45 patients (26%) dont 35 de GVH. Les survies actuarielles globale et sans événements à 9 ans sont respectivement de 56 % et 49,5 % (Figures 1 et 2). La survie globale est de 56,9% pour les patients en phase chronique (149 patients) et de 49,4% pour les patients en phase avancée (24 patients). Elle est de 63,5% (130 patients de score EBMT ≤ 2) et de 49,7% (43 patients de score > 2). Il y a une différence significative en terme de survie globale pour les patients en phase chronique comparés à ceux en phase avancée (0,03 < p < 0,05), ainsi que dans le score EBMT > 2 et ≤ 2 (0,03 < p < 0,05).

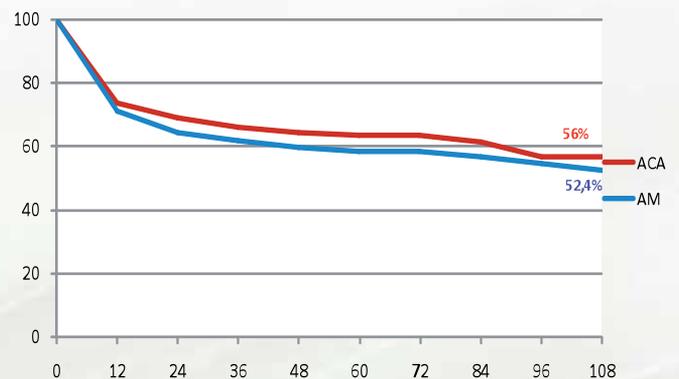


Figure 1 : courbes de survie globale

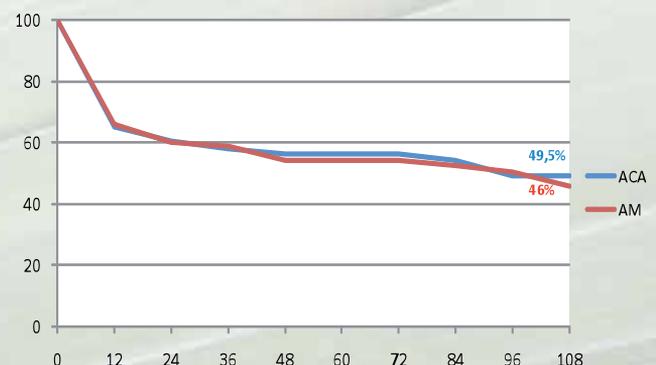


Figure 2 : courbes de survies sans événements

DISCUSSION

En ce qui concerne l'allogreffe myéloablatrice, le groupe d'experts de l'ASH a rapporté qu'environ 50% des patients sont en vie 5 ans après allogreffe pour LMC en première phase chronique (6). Plusieurs études ultérieures ont confirmé ces résultats après un suivi à 10 ans avec une survie globale à 60% et survie sans événements à 50% (7,8). Par comparaison, les survies globale et sans événements sont, dans notre série, de 52,4% et 46% respectivement.

Le groupe EBMT a rapporté une étude sur 187 patients (âge médian : 50 ans) ayant bénéficié d'un conditionnement d'intensité réduite (9). La survie globale à 3 ans est de 58% (56% pour notre série) et la survie sans progression de 37% (49,5% dans notre série).

Pour les patients avec un score EBMT ≤ 2 , la survie globale est de 70%, 50% pour un score entre 2 et 4 et 30% pour un score > 5 . Ces résultats sont comparables à ceux de notre série, 57,6% pour les patients dont le score est ≤ 2 et 47,3% pour ceux dont le score > 2 .

Dans notre étude, les résultats comparatifs des deux types de conditionnement montrent une différence significative en termes de survenue et de durée d'aplasie. Une différence statistiquement significative est également notée sur les besoins transfusionnels aussi bien sur les culots globulaires que plaquettaires du fait de l'absence ou de la brièveté de l'aplasie rencontrée dans l'allogreffe à conditionnement atténué. En dehors de ces situations, aucune différence n'est observée en ce qui concerne les complications (GVH aiguë et chronique, réactivation CMV, rechutes, TRM) et les survies globale et sans événement.

Au même titre que ce qui est décrit dans la littérature, nous retrouvons une différence significative, dans les 2 groupes, en terme de survie globale pour les patients en phase chronique comparés à ceux en phase avancée ainsi que dans le score EBMT > 2 et ≤ 2 .

Cette étude démontre la faisabilité et même la supériorité du conditionnement atténué dans

l'allogreffe de CSH au cours de la leucémie myéloïde chronique du fait d'une part de son utilisation possible chez des sujets plus âgés et d'autre part de l'absence de nécessité d'une asepsie rigoureuse (flux laminaire) et de besoins transfusionnels moindres.

Les dernières recommandations de l'ELN 2009 (10) placent l'indication de l'allogreffe de CSH dans la LMC, en cas de disponibilité d'un donneur HLA compatible : d'emblée au moment du diagnostic si la maladie est en phases accélérée ou blastique (un traitement préalable par Imatinib est recommandé), après échec à l'imatinib avec évolution vers une phase avancée ou apparition d'une mutation T315I (un traitement préalable par ITK2 avant la greffe est également recommandé), et enfin après échec d'ITK de deuxième génération (Dasatinib, Nilotinib). Ces recommandations peuvent être discutées à la lueur de 2 études :

L'équipe londonienne a montré, récemment, l'intérêt d'établir un score, dit de Hammersmith, après le début du traitement par Imatinib (11).

Ce score, basé sur trois critères : score de Sokal, la réponse cytogénétique et la neutropénie sous traitement, prédit la réponse aux ITK de deuxième génération en cas d'échec à l'imatinib. En effet, l'étude a montré l'obtention d'une réponse cytogénétique complète chez tous les patients avec un score $< 1,5$ contre seulement 13% ayant un score $> 2,5$ (Tableau III).

Meilleure Réponse cytogénétique	R.C.Complète	0
	1-94% Ph+	1
	>95% Ph+	2
Score de Sokal	Bas	0
	intermédiaire	0,5
Neutropénie	Absente	0
	Episodes récurrents	1

Tableau III : score de Hammersmith

La démarche thérapeutique préconisée est la suivante: un score bas ($< 1,5$) impose la mise sous ITK2. A l'inverse, un score $> 2,5$ prédit l'échec des ITK2

donc la nécessité d'une allogreffe. En cas de score intermédiaire (1,5 à 2,5), l'allogreffe peut être indiquée en cas de score faible de Gratwohl, les ITK2 seront préférés dans les autres cas.

Le German CML Study Group (12) a publié des résultats de l'allogreffe chez les patients en échec après imatinib avec une réponse moléculaire de 79% à 2 ans, et une réduction importante de la TRM (8%). Ces résultats sont intéressants car ils nous apportent des arguments pour l'indication de l'allogreffe chez nos patients en échec à l'imatinib ayant un donneur HLA compatible.

CONCLUSION

Cette étude comparative des deux types de conditionnement a montré la faisabilité des deux types de conditionnement à la greffe dans la LMC avec un avantage certain pour le conditionnement atténué en termes de survenue d'aplasie et sa durée ainsi que des besoins transfusionnels. Les différentes études publiées récemment suggèrent que l'allogreffe reste une option thérapeutique malgré la chute spectaculaire de son indication ces dernières années. En Algérie, son indication en deuxième ligne se justifie, actuellement, du fait des difficultés d'approvisionnement en ITK2, de la disponibilité des donneurs familiaux et des résultats obtenus après échec d'un traitement initial par Imatinib.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - Thomas ED et al. Marrow transplantation for the treatment of chronic myeloid leukemia. - *Ann Intern Med* 1986, 104: 155-163
- 2 - Kolb H.J et al. Graft-versus-leukemia effect of donor lymphocyte transfusion in marrow grafted patients. - *Blood* 1995, 86 : 2041-2050.
- 3 - Slavin S. et al. Nonmyeloablative stem cell transplantation and cell therapy as an alternative to conventional bone marrow transplantation with lethal cytoreduction for the treatment of malignant and nonmalignant hematologic diseases. *Blood* 1998, 91: 756-763
- 4 - Gratwohl A et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for chronic myeloid leukemia in Europe 2006: transplant activity, long term data and current results. An analysis by the Chronic Leukemia Working Party of the European Group for Blood and marrow Transplantation (EBMT). - *Hematologica* 2006, 91: 513-521
- 5 - Gratwohl A et al. Risk assessment for patients with CML before allogeneic blood or marrow transplantation. - *Lancet* 1998; 352: 1087-1092
- 6 - Silver RT et al. An evidence-based analysis of the effect of busulfan, hydroxyurea, interferon, and allogeneic bone marrow transplantation in treating the chronic phase of chronic myeloid leukemia: developed for the American Society of hematology *Blood*. 1999; 94: 1517-1536
- 7 - Italian Cooperative Study Group on Chronic Myeloid Leukemia and Italian Group for Bone Marrow Transplantation. Monitoring treatment and survival in chronic myeloid leukemia. - *J Clin Oncol*. 1999; 17: 1858-1868
- 8 - Simonsson B et al. Intensive treatment and stem cell transplantation in chronic myelogenous leukemia: long term follow-up. - *Acta Haemat*. 2005; 113: 155-162
- 9 - Crawley,C et al. Outcomes of reduced-intensity transplantation for chronic myeloid leukemia: an analysis of prognostic factors from the Chronic Leukemia Working Party of the EBMT. - *Blood*, 2005. 106: 2969-2976
- 10 - M.Baccarani et al. Chronic Myeloid Leukemia: An update of concepts and management recommendations of European LeukemiaNet *Journal of Clinical Oncology* 2009, 27: 6041-6051
- 11 - Milojkovic D et al. Early prediction of success or failure of treatment with second-generation tyrosine kinase inhibitor in patients with chronic myeloid leukaemia *Haematologica* 2010; 95: 224-231
- 12 - Saussele S et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo SCT) for chronic myeloid leukemia in the imatinib era: evaluation of its impact within a subgroup of the randomized German CML Study IV *Blood* 2010; 115: 1880-1885

Nos Partenaires & Sponsors



IMATIB : 100 mg et 400 mg. **Présentations et dosages** : Gélules 100 mg : boîte de 120 gélules. Gélules de couleur jaune foncée à orange brunâtre, rondes, bi-convexe, biseautées. Comprimés 400 mg : boîte de 30 comprimés. Comprimés enrobés de jaune foncé à orange brunâtre, ovales, biconvexes, biseautés. Composition : Imatib 100 mg Chaque gélule contient : 100 mg d'imatinib mésilate. Excipients : crospovidone, cellulose microcristalline (Avicel PH 102), dioxyde de silicone colloïdal, stéarate de magnésium. Imatib 400mg : Chaque comprimé contient : 400 mg d'imatinib mésilate. Excipients : dioxyde de silicone colloïdal, hypromellose, cellulose microcristalline, crospovidone, sodium croscarmellose, stéarate de magnésium, Opadry jaune 04F52022, eau purifiée. **Forme pharmaceutique** : Comprimés et gélules pour administration orale. **Pharmacologie** : Mode d'action : Le mésilate d'imatinib est un inhibiteur de la protéine-tyrosine kinase qui inhibe la tyrosine kinase bcr-abl anormale, produite par l'anomalie chromosomique de Philadelphie dans la leucémie myéloïde chronique (LMC). L'imatinib inhibe la prolifération et provoque l'apoptose des lignées cellulaires bcr-abl positives ainsi que les cellules nouvelles des leucémies myéloïdes chroniques chromosome de Philadelphie positives. L'imatinib inhibe la formation de colonies dans les essais in vitro utilisant le sang périphérique et la moelle osseuse provenant de patients atteints de LMC. In vivo, l'imatinib inhibe la croissance des cellules bcr-abl myéloïdes du rat ainsi que les lignées bcr-abl positives issues de patients atteints de LMC en crise blastique. L'imatinib est aussi un inhibiteur des récepteurs des tyrosine kinases du récepteur du PDGF et du SCF c-kit et il inhibe les processus cellulaires médiés par le PDGF et le SCF. In vitro, l'imatinib inhibe la prolifération et induit l'apoptose des cellules de GIST (tumeur stromale gastro-intestinale) qui expriment une mutation active du c-kit. **Pharmacocinétique** : Les propriétés pharmacocinétiques de l'imatinib ont été déterminées chez des sujets sains et dans une population de plus de 900 patients. Les propriétés pharmacocinétiques sont similaires chez les patients atteints de LMC et chez les patients sourant de GIST. L'imatinib est bien absorbé après administration par voie orale, la Cmax étant obtenue en 2 à 4 heures après la prise du médicament. La biodisponibilité moyenne est de 98%. Suivant l'administration orale à des volontaires sains, la demi-vie d'élimination de l'imatinib et de son principal métabolite, le dérivé N-déméthyl (CGP74588) sont d'environ 18 et 40 heures respectivement. L'AUC moyenne augmente proportionnellement aux doses lorsque celles-ci varient de 25 mg à 1000 mg. L'administration de doses répétées ne modifie pas, de façon significative, les caractéristiques pharmacocinétiques de l'imatinib et l'accumulation, à l'état d'équilibre est de 1,5 à 2,5 fois plus élevée que lorsque le produit est administré une fois par jour. Aux concentrations cliniques, la liaison de l'imatinib aux protéines plasmatiques est, in vitro, d'environ 95%, principalement avec l'albumine et l'alpha1-acide glycoprotéine. Le CYP3A4 est le principal enzyme responsable du métabolisme de l'imatinib. Les autres enzymes du cytochrome P450, tels que CYP1A2, CYP2D6, CYP2C9 et CYP2C19 jouent un rôle mineur dans son métabolisme. Le principal métabolite actif circulant chez les humains est le dérivé pipérazine N-déméthylé, formé principalement par le CYP3A4. Il montre, in vitro, une puissante activité similaire à celle du princeps L'AUC plasmatique de ce métabolite est d'environ 15% de l'AUC de l'imatinib. La liaison aux protéines plasmatiques du métabolite N-déméthylé CGP74588 est semblable à celle du princeps. Les études sur microsomes hépatiques humains ont montré que l'imatinib est un puissant inhibiteur compétitif de CYP2C9, CYP2D6 et CYP3A4/5 avec des valeurs de Ki de 27, 7,5 et 8 µm respectivement. L'élimination de l'imatinib se fait principalement dans les selles, sous forme de métabolites. Après administration orale, la dose d'imatinib marquée de C14 s'élimine à 81% de la dose administrée en 7 jours, dans les selles (68%), et dans l'urine (13%). 25% de l'imatinib ont été éliminés sous forme inchangée (5% dans l'urine et 20% dans les selles), le reste a été éliminé sous forme de métabolites. La clairance de l'imatinib, chez un patient âgé de 50 ans pesant 50 kg, est de 8 l/heure, tandis que chez un patient âgé de 50 ans pesant 100 kg, la clairance est de 14 l/heure. La variabilité, de 40% entre les patients ne nécessite pas un ajustement de la posologie en fonction du poids corporel et/ou de l'âge mais juste un monitoring attentif de la toxicité due au produit. **Indications** : Imatinib est indiqué en cas de : •Leucémie myéloïde chronique Philadelphie positive nouvellement diagnostiquée (Ph+ LMC). •LMC Ph+ en crise blastique (BC), en phase accélérée (AP) ou en phase chronique (CP) après échec du traitement par interféron (IFN). •Patients pédiatriques sourant de LMC Ph+ en phase chronique. •Leucémie lymphoblastique aiguë (LLA) Ph+. •Syndrome myéloïdysplasique/myéloprolifératif (MDS/MPD). •Mastocytose systémique agressive (ASM). •Syndrome hyperéosinophilique (HES) et/ou de leucémie éosinophilique chronique (LEC). •Dermatofibrosarcome protubérant (DFSP). •Tumeurs gastro-intestinales stromales Kit+ (GIST). **Posologie et mode d'administration** : Le traitement doit être initialement institué par un médecin expérimenté dans le traitement de patients sourant d'actions hématologiques malignes ou de sarcomes malins, selon les cas. La posologie prescrite doit être administrée par voie orale, avec un grand verre d'eau au cours d'un repas. Pour les doses de 400 mg et plus, l'Imatib 400 mg est préconisé, pour les autres doses de moins de 400 mg, l'Imatib 100 mg est préconisé. Les doses de 400 mg ou 600 mg seront administrées une fois par jour, tandis qu'une dose de 800 mg devra être administrée en deux prises quotidiennes de 400 mg. Chez les enfants, le traitement par Imatib doit être administré, soit en une fois, soit divisé en deux, une dose étant administrée le matin et l'autre le soir. Il n'y a pas d'expérience de traitement d'enfants de moins de 2 ans par Imatib. Une posologie quotidienne de 800 mg ou plus doit être administrée sous forme de comprimés dosés à 400 mg pour diminuer l'exposition au fer. Le traitement peut être poursuivi aussi longtemps qu'il n'est pas observé d'aggravation de la maladie ou d'inacceptable toxicité. Les patients sourant d'insuffisance hépatique bénigne à modérée ne justifient pas un ajustement de la posologie et doivent recevoir la posologie recommandée. Chez les patients sourant d'insuffisance hépatique grave il convient de réduire de 25% la posologie recommandée. **Contre-indications** : La prescription d'Imatib est contre-indiquée chez les patients présentant une hypersensibilité à l'Imatinib ou à l'un des composants du médicament. **Mises en gardes et précautions d'emploi** : Rétention hydrique et œdème : L'Imatinib mésilate est fréquemment à l'origine d'œdèmes et parfois responsable d'une grave rétention liquidienne. Les malades doivent être pesés et monitorés régulièrement pour que soient observés les signes et symptômes de rétention liquidienne. Une prise de poids rapide et inattendue doit être traitée par des moyens appropriés. Irritation gastro-intestinale : L'Imatinib mésilate pouvant parfois provoquer une irritation gastro-intestinale, ce médicament doit être administré avec de la nourriture et un grand verre d'eau pour réduire l'importance de ce problème. Hémorragie : Chez les patients sourant de GIST, des saignements gastro-intestinaux et/ou intra-tumoraux peuvent survenir au niveau de la tumeur. Toxicité hématologique : Le traitement par Imatinib mésilate peut provoquer une neutropénie ou une thrombocytopénie. Un hémogramme complet doit être pratiqué chaque semaine pendant le premier mois du traitement, puis deux fois par semaine pendant le deuxième mois, puis périodiquement en fonction des indications de la clinique. Dans la LMC, la survenue de ces cytopénies dépend du stade de la maladie et est plus fréquemment observée chez les malades au stade chronique. Hépatotoxicité : Une hépatotoxicité parfois sévère peut survenir pendant le traitement par Imatinib mésilate. La fonction hépatique (transaminases, bilirubine et phosphatase alcaline) doit être explorée avant le commencement du traitement puis mensuellement ou selon les observations cliniques. Les écarts observés doivent être corrigés par interruption du traitement et/ou réduction de la posologie. Les malades sourant d'insuffisance hépatique doivent être soigneusement monitorés et ce en raison du risque d'augmentation des concentrations sériques de l'imatinib. Il n'existe pas d'études réalisées chez des patients sourant d'insuffisance hépatique, il ne peut donc être fait de recommandation relative à une adaptation de la posologie. Toxicité à long terme : Il n'existe pas de données à long terme car le suivi de la plupart des patients traités par Imatinib mésilate est fréquemment de durée relativement courte. Interactions médicamenteuses : •Médicaments pouvant augmenter la concentration plasmatique de l'Imatinib : La prudence est recommandée lors de l'administration d'Imatinib mésilate en concomitance avec des inhibiteurs du CYP3A4 (par exemple kétoconazole, itraconazole, érythromycine, clarithromycine). Les produits inhibant l'activité de l'isoenzyme cytochrome P450 (CYP3A4) peuvent ralentir le métabolisme et donc augmenter les concentrations de l'Imatinib mésilate. •Médicaments pouvant diminuer la concentration plasmatique de l'Imatinib : Les produits inducteurs de l'activité du CYP3A4 peuvent accélérer le métabolisme et donc réduire la concentration plasmatique de l'Imatinib (par exemple dexaméthasone-e, phénytoïne, carbamazépine, rifampicine, phénobarbital, millepertuis). •Médicaments dont la concentration plasmatique peut être modifiée par l'Imatinib mésilate : L'Imatinib mésilate augmente la Cmax moyenne et l'AUC de la simvastatine (CYP3A4 substrat) respectivement de 2 et 3,5 fois, suggérant une inhibition de l'activité du CYP3A4 par l'Imatinib. Une attention particulière est recommandée en cas d'administration d'Imatinib mésilate avec des substrats de CYP3A4 ayant une marge d'activité thérapeutique étroite (par exemple ciclosporine ou pimozide). L'Imatinib mésilate augmente la concentration plasmatique de nombreux médicaments métabolisés par le CYP3A4 (par exemple triazolo-benzodiazépines, dihydropyridines inhibiteurs des canaux calciques et certains inhibiteurs de l'HMG-CoA réductase, etc). La warfarine étant métabolisée par le CYP2C9 et le CYP3A4, les patients qui doivent recevoir un traitement anticoagulant seront mis sous héparine de bas poids moléculaire ou sous héparine. In vitro l'Imatinib mésilate inhibe l'activité des isoenzymes du cytochrome P450 tels que le CYP2D6 à la même concentration que celle qui active l'activité du CYP3A4. L'exposition systémique aux substrats du CYP2D6 sera augmentée en cas d'administration concomitante avec l'Imatinib mésilate. Il n'a pas été réalisé d'étude sur ce sujet, la prudence est donc recommandée. **Grossesse** : Il doit être recommandé aux femmes en âge de procréer d'éviter d'être enceintes lorsqu'elles sont traitées par imatinib. Si ce traitement est administré durant la grossesse ou si la patiente tombe enceinte pendant le traitement, elle doit être informée du risque encouru par le fœtus. **Allaitement** : Il convient de choisir entre l'arrêt de l'allaitement et l'arrêt du traitement par imatinib en prenant en considération l'intérêt du traitement pour la mère. **Effets indésirables** : 1/- Leucémie-myéloïde chronique : La majorité des malades traités par l'Imatinib mésilate sont victimes d'effets indésirables à un moment ou à un autre du traitement. La plupart de ces effets sont légers ou modérés. Les fréquents effets indésirables les plus signalés sont nausées, vomissements, diarrhée, œdème et crampes musculaires. L'œdème est le plus souvent périorbitaire ou localisé dans les membres inférieurs et est traité par les diurétiques et d'autres mesures de soutien ou par réduction de la dose d'Imatinib mésilate. Les rétentions hydriques localisées ou généralisées incluant épanchement pleural, ascite, œdème pulmonaire et rapide prise de poids avec ou sans œdème superciel. Ces incidents sont dose dépendants et surviennent plus fréquemment lors des crises blastiques et dans les phases d'accélération (lorsque la dose est de 600 mg/jour) et sont fréquents chez les personnes âgées. Ces incidents sont habituellement traités par interruption du traitement par l'Imatinib mésilate et par des diurétiques et autres mesures de soutien. Toxicité hématologique : Les cytopénies et particulièrement la neutropénie et la thrombocytopénie, sont observées dans la leucémie myéloïde chronique. La survenue de cytopénies, chez les patients souffrant de leucémie myéloïde chronique, dépend du stade de la maladie et il a été observé une fréquence des neutropénies et des cytopénies de grade 3 ou 4 entre 2 et 3 fois plus élevée dans les crises blastiques et les phases d'accélération que dans la phase chronique. Hépatotoxicité : L'élévation des taux de transaminase et de bilirubine peut survenir. Elle est habituellement traitée par une diminution de la dose ou l'interruption du traitement. 2/- Tumeurs gastro-intestinales stromales : La majorité des malades traités par l'Imatinib mésilate sont victimes d'effets indésirables à un moment ou à un autre du traitement. Les effets indésirables les plus fréquemment signalés sont œdème, nausées, diarrhée, douleurs abdominales, crampes musculaires, fatigue et rash. La plupart de ces incidents sont de gravité légère ou modérée. **Surdosage** : L'expérience de doses de plus de 800 mg est limitée. Des cas isolés de surdosage ont été rapportés. En cas de surdosage, le patient doit être mis sous surveillance et un traitement de soutien approprié doit être institué. **Conditions de conservation** : Conserver à une température inférieure à 30°C LISTE I. DE : IMATIB 100 mg : 05/05A 105/182. IMATIB 400 mg : 09/05C 113/182.

Imatib

Imatinib

*La première thérapie
ciblée*

