

CAS CLINIQUE

Mutation multi-résistante aux inhibiteurs de tyrosine kinase dans la leucémie myéloïde chronique : à propos d'un cas

Idiopathic intracranial hypertension syndrome in children revealed by diplopia: A case report

Ibtissem KIHSEL^{1,2}, Mourad NACHI^{1,3}, Badra ENTA-SOLTAN^{1,4}, Mohamed-Amine BEKADJA^{1,4}

¹Université Oran1 Ahmed Benbella/Faculté de Médecine- Oran, Algérie

²Laboratoire de Biochimie-CHU Oran

³Service de biologie moléculaire CHU Oran

⁴Service d'hématologie et de thérapie cellulaire, EHU Oran

Auteur correspondant : kihel.ibtissem@univ-oran1.dz Soumis le 24/03/2020 ; accepté le 15/04/2020 ; publié le 21/06/2020

MOTS CLÉS

LMC, ITK, Résistance, Mutation, T315I, Greffe de cellules souches hématopoïétiques

KEY WORDS

CML, TKI, Resistance, Mutation, T315I, Transplantation of stem cell hematopoetic

Résumé

Introduction - La prise en charge des patients atteints de leucémie myéloïde chronique a été considérablement améliorée avec l'arrivée dans les années 2000 des inhibiteurs de tyrosine kinase qui ont révolutionné le pronostic de la maladie et ont permis l'amélioration de la survie globale des patients. Cependant, des échecs sont observés. L'apparition de mutations dans le domaine tyrosine kinase de la protéine BCR-ABL1, constitue une cause importante de résistance au traitement et représente le mécanisme le plus étudié.

Observation - Patient âgé de 20 ans suivi pour une leucémie myéloïde chronique en phase chronique diagnostiquée en 2015. Le suivi biologique a été marqué par une résistance primaire aux inhibiteurs de tyrosine kinase de 1ère et 2ème génération (Imatinib, Dasatinib et Nilotinib). Une double mutation a été retrouvée, la Q252H après 6 mois de traitement par Imatinib mésylate, et la T315I, 12 mois après son basculement vers Dasatinib puis Nilotinib.

Abstract

Introduction - The management and long-term outcome of patients affected by chronic myeloid leukemia (CML) had improved considerably with the introduction in the 2000's of tyrosine kinase inhibitors, that revolutionized the prognosis of the disease and improved overall the survival of patients. However, failures are observed. The appearance of mutations in the tyrosine kinase domain of BCR-ABL1 protein constitutes an important cause of resistance to therapy and represents the most studied mechanism.

Observation - Here, we report a 20 years old patient diagnosed in 2015 and followed for chronic myeloid leukemia in chronic phase. His biological monitoring was marked by primary resistance to tyrosine kinase inhibitors of 1st and 2nd generation (Imatinib, Dasatinib and Nilotinib).

Introduction

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est une hémopathie maligne rare qui représente approximativement 7 à 15 % des leucémies de l'adulte. Elle est caractérisée par une translocation réciproque entre les bras longs des chromosomes 9 et 22 : t (9-22) (q34;q11), entraînant la fusion de l'oncogène Abelson (ABL) au sein d'une région appelée cluster breakpoint region (BCR) aboutissant à un chromosome 22 plus court, le chromosome de Philadelphie. Le transcrite de fusion BCR-ABL1 qui en résulte code pour une protéine chimérique anormale BCR-ABL1 de 210 kDa (p210) ayant une forte activité tyrosine kinase constitutionnelle. Ce transcrite de fusion représente un marqueur moléculaire spécifique des cellules leucémiques. Sa quantification par une technique standardisée, la RT-PCR quantitative en temps réel ou RT-qPCR, permet de situer la maladie résiduelle, de vérifier l'efficacité du traitement et d'initier un changement d'inhibiteur de tyrosine kinase (ITK) en cas de non réponse [1,2].

Depuis l'avènement des ITK dont le chef de file est l'Imatinib mésylate (IM) (ITK de 1ère génération), la prise en charge thérapeutique et le pronostic de la LMC ont été profondément transformés [3]. Cependant des échecs thérapeutiques sont observés. L'émergence de mutations dans le domaine tyrosine kinase (DTK) de la protéine BCR-ABL1, représente le mécanisme le plus étudié et constitue une cause importante de résistance aux ITK. Leur recherche est recommandée par les sociétés savantes chez tout patient qui présente une résistance ou qui progresse vers les phases avancées de la maladie, elle permet d'apporter au clinicien un critère biologique décisionnel pour mieux adapter la thérapeutique [4,5].

Observation

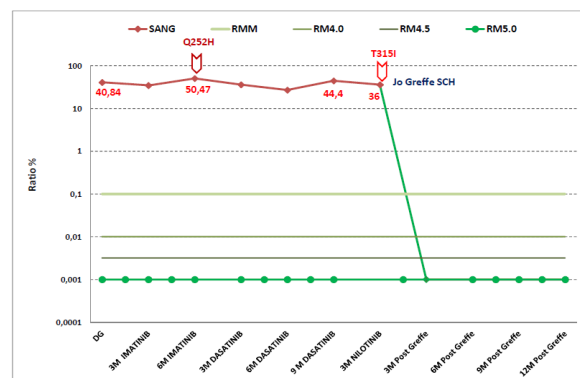
Monsieur H.R âgé de 20 ans, originaire du sud, consulte au niveau du service d'hématologie et de thérapie cellulaire de l'EHU d'Oran après la découverte d'une anémie à 8,9 g/L. L'hémogramme retrouve une hyperleucocytose à 65 G/L associée à une importante myélémie (51 % de la formule leucocytaire) dont 12 % de blastes. Le taux de plaquettes était normal (150 G/L). Le patient a présenté une splénomégalie mesurée à 21 cm et des scores pronostics de Sokal et EUTOS (European Treatment and Outcome Study) élevés, le diagnostic de la LMC en phase chronique a été évoqué cliniquement. Un prélèvement sanguin a été envoyé au service de biochimie de l'EHU d'Oran pour confirmation diagnostique. La recherche qualitative des transcrits réalisée par la technique de RT-PCR multiplex a mis en évidence la présence d'un transcrite de fusion BCR-ABL1 de type Mb3a2, quantifié à 40.84 % IS par la RT-qPCR. Le patient a été mis sous IM (Glivec®) à la dose de 400 mg/j. Son suivi biologique a été marqué par une résistance pri-

maire (figure 1). En effet, la quantification à 3 et 6 mois a montré respectivement des taux de 30,58 et 50,45 % sous IM. Le séquençage du DTK sur le prélèvement de 6 mois a révélé la présence d'une mutation, la Q252H (figure 2), justifiant un changement de traitement. Le patient a été mis sous ITK de 2ème génération, le Dasatinib. Neuf mois après, il était toujours résistant avec un taux estimé à 44,4%. Un autre ITK de 2ème génération, le Nilotinib a été prescrit. Une RT-qPCR réalisée trois mois après le traitement n'a montré aucune diminution significative du niveau de transcrite BCR-ABL1 (figure 1). Notre patient était donc en échec thérapeutique aux ITK de première et deuxième génération. L'analyse mutationnelle a mis en évidence la mutation T315I (figure 3).

Le patient a bénéficié d'une transplantation de cellules souches allo géniques. L'évolution post greffe (12 mois) était favorable avec un taux de transcrite BCR-ABL1 indétectable (figure 1).

Le tableau 1 montre les différents ratios estimés au cours du suivi moléculaire du patient.

Figure 1. Cinétique du transcrite BCR-ABL1 au cours du suivi moléculaire



Discussion

Dans le contexte de la LMC, définir la résistance et comprendre son mécanisme est essentiel pour l'avenir thérapeutique du patient. Les définitions des réponses aux ITK font l'objet de recommandations internationales régulièrement actualisées. Les dernières versions datant de 2013-2020 de l'European Leukemia Net (ELN), de l'European Society for Medical Oncology (ESMO), de la National Comprehensive Cancer Network (NCCN), accordent une attention particulière au suivi moléculaire [1, 2, 6,7]. Les mutations du DTK de BCR-ABL1 constituent les seuls mar-

Figure 2. Séquence du domaine tyrosine kinase d'ABL du Patient H.R montrant la mutation Q252H

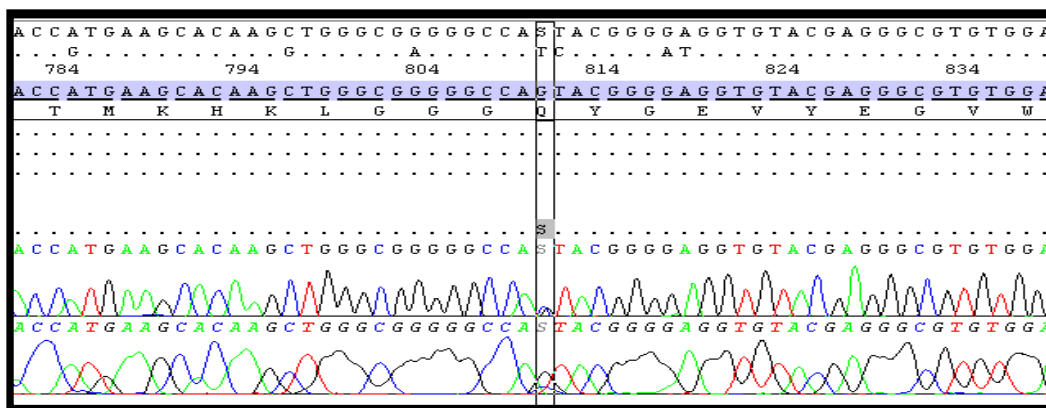


Figure 3. Séquence du domaine tyrosine kinase d'ABL du Patient H R montrant la mutation T315I

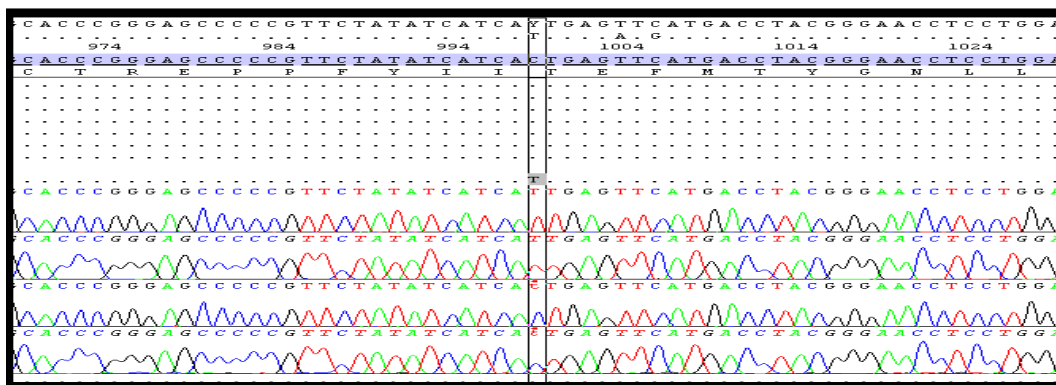


Tableau1. Ratio BCR-ABL1 au cours du suivi moléculaire

Période	Ratio BCR-ABL1	RMM	RM4.0	RM4.5	RM5.0
DG	40,84	0,1	0,01	0,0032	0,001
3M IMATINIB	34,58	0,1	0,01	0,0032	0,001
6M IMATINIB	50,47	0,1	0,01	0,0032	0,001
3M DASATINIB	36,09	0,1	0,01	0,0032	0,001
6M DASATINIB	27	0,1	0,01	0,0032	0,001
9 M DASATINIB	44,4	0,1	0,01	0,0032	0,001
3M NILOTINIB	36	0,1	0,01	0,0032	0,001
3M Post Greffe	0,001	0,1	0,01	0,0032	0,001
6M Post Greffe	0,001	0,1	0,01	0,0032	0,001
9M Post Greffe	0,001	0,1	0,01	0,0032	0,001
12M Post Greffe	0,001	0,1	0,01	0,0032	0,001

DG : Diagnostic
 RMM : Réponse moléculaire majeure (Ratio $\leq 0.1\%$)
 RM4 : Réponse moléculaire ave réduction de 4 log10 (Ratio $\leq 0.01\%$)
 RM4.5 : Réponse moléculaire ave réduction de 4.5 log10 (Ratio $\leq 0.0032\%$)
 RM5 : Réponse moléculaire ave réduction de 5 log10 (Ratio $\leq 0.001\%$)

queurs biologiques qui impactent directement la décision thérapeutique dans le contexte de la LMC résistante aux ITK. Plus d'une centaine de mutations de résistance, impliquant 57 acides aminés du DTK ont été décrites à des fréquences variables [4]. Le choix et l'efficacité du traitement alternatif sont prédits par la sensibilité *in vitro* des mutations aux ITK. C'est la concentration inhibitrice 50 (CI50) qui reflète le degré de sensibilité d'un mutant de BCR-ABL1 à un ITK donné. Elle correspond à la concentration d'ITK nécessaire pour réduire de moitié l'activité enzymatique tyrosine kinase de BCR-ABL1 [4]. Cette concentration peut être utilisée pour guider le choix de l'ITK à utiliser [1].

Notre jeune patient avait une LMC à haut risque comme en témoignent ses scores pronostics (Sokal et EUTOS) au diagnostic qui étaient élevés. Son évolution a été marquée par une résistance primaire aux 03 ITK (Imatinib, Dasatinib et Nilotinib) et la présence d'une double mutation la Q252H et la T315I présente dans 11-20% des cas [8]. En effet, une mutation du DTK est apparue 6 mois après le début de la thérapie par l'IM. Il s'agit de la Q252H. C'est une mutation retrouvée avec une fréquence >1%, présentant un degré élevé de résistance à l'IM et un pronostic particulièrement mauvais [9]. Dans la pratique courante, 15-30% des patients qui changent de traitement initial, suite à une mutation de résistance à l'IM, développent de nouvelles mutations de résistance aux ITK2 [10].

En effet, l'évolution clinique du patient a été marquée par la persistance de la résistance malgré la sensibilité théorique de la mutation Q252H aux ITK de deuxième génération [4,8]. La T315I identifiée après 3 mois de traitement par Nilotinib, était très probablement présente dès le premier switch associée à la Q252H (mutation composite), mais non détectée par la technique de référence utilisée ; le séquençage de Sanger qui a une sensibilité de détection de l'ordre de 10-15 %. L'utilisation du séquençage de nouvelle génération (NGS) pouvait dans certains cas détecter la mutation à temps et proposer précocement une meilleure alternative. En effet, cette méthode qui représente un véritable saut technologique, est actuellement recommandée pour l'examen des mutations DTK en raison de sa plus grande sensibilité qui est de l'ordre de 1 % [4].

Notre patient a bénéficié d'une transplantation de cellules souches allo géniques, qui représentait la seule alternative chez lui, vu son jeune âge et la présence d'une double mutation.

En effet, les mutations composées peuvent conférer une résistance plus forte aux ITK et sont généralement associées à un mauvais pronostic [8]. Les mutants T315I sont également résistants à l'ensemble des ITK excepté le Ponatinib (ITK de 3ème génération), non disponible en Algérie. Cependant, l'allogreffe garde toujours sa place dans la gestion des patients résistants à plusieurs ITK [2].

L'évolution a été jugée très favorable. En effet, 12 mois après l'allogreffe, notre patient est toujours en réponse

moléculaire complète. Cependant un suivi à long terme est souhaitable afin de détecter la récurrence.

Cette observation met en exergue les défis considérables qui subsistent dans la gestion des résistances dans le cadre de la LMC et également dans les méthodes de détection des mutations du DTK.

Conclusion

Le suivi moléculaire de la LMC constitue un outil majeur pour évaluer l'efficacité du traitement et déceler précocement les cas de résistances. Dans ce contexte, l'identification du statut mutationnel est une information cruciale afin d'adapter la meilleure stratégie thérapeutique selon la nature de la mutation, soit en augmentant la dose de l'ITK utilisé ou en proposant d'autres ITK. Le recours vers une transplantation de cellules souches allogéniques est également envisageable. Il serait très intéressant de passer au séquençage de nouvelle génération afin d'augmenter la sensibilité de détection et de pouvoir identifier également les mutations minoritaires.

Conflits d'intérêt

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêt.

Références bibliographiques

- [1] Baccarani M, Deininger MW, Rosti G, Hochhaus A, Soverini S, Apperley JF, et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2013;122(6):872-84.
- [2] Hochhaus A, Baccarani M, Silver R, Schiffer C, Apperley J, Cervantes F, et al. European LeukemiaNet 2020 recommendations for treating chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 2020:1-19.
- [3] Hochhaus A, Larson RA, Guilhot F, Radich JP, Branford S, Hughes TP, et al. Long-term outcomes of imatinib treatment for chronic myeloid leukemia. *New England Journal of Medicine*. 2017;376(10):917-27.
- [4] Cayuela J-M, Chomel J-C, Coiteux V, Dulucq S, Escoffre-Barbe M, Etancelin P, et al. Recommandations du France Intergroupe des leucémies myéloïdes chroniques (Fi-LMC) pour l'examen des mutations du domaine kinase de BCR-ABL1 dans la leucémie myéloïde chronique. *Bulletin du Cancer*. 2019.
- [5] Soverini S, Hochhaus A, Nicolini FE, Gruber F, Lange T, Saglio G, et al. BCR-ABL kinase domain mutation analysis in chronic myeloid leukemia patients treated with tyrosine kinase inhibitors: recommendations from an expert panel on behalf of European Leukemia-

Net. Blood, The Journal of the American Society of Hematology. 2011;118(5):1208-15.

[6] Hochhaus A, Saussele S, Rosti G, Mahon F-X, Janssen JJ, Hjorth-Hansen H, et al. Chronic myeloid leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*. 2017;28(suppl_4):iv41-iv51.

[7] Radich JP, Deininger M, Abboud CN, Altman JK, Berman E, Bhatia R, et al. Chronic myeloid leukemia, version 1.2019, NCCN clinical practice guidelines in oncology. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 2018;16(9):1108-35.

[8] de Lavallade H, Kizilers A. The importance of mutational analysis in chronic myeloid leukaemia for treatment choice. *EMJ*. 2016;4(1):86-95.

[9] Branford S, Rudzki Z, Walsh S, Parkinson I, Grigg A, Szer J, et al. Detection of BCR-ABL mutations in patients with CML treated with imatinib is virtually always accompanied by clinical resistance, and mutations in the ATP phosphate-binding loop (P-loop) are associated with a poor prognosis. *Blood*. 2003;102(1):276-83.

[10] Alikian M, Gale RP, Apperley JF, Foroni L. Molecular techniques for the personalised management of patients with chronic myeloid leukaemia. *Biomolecular detection and quantification*. 2017;11:4-20.

