

**MÉMOIRE  
DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPECIALISÉES DE PHARMACIE  
OPTION PHARMACIE HOSPITALIÈRE-PRATIQUE ET RECHERCHE**

Soutenu le 7 Octobre 2016

**Par Reine KIMBIDIMA-MAKOUNDOU**

Née le 04 juillet 1987

Conformément aux dispositions de l'Arrêté du 04 octobre 1988 tenant lieu de

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

----oOo----

|                                                                                                                                   |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p><b>INTERET DE L'ACTIVITE DE LA CYTIDINE DEAMINASE<br/>DANS LA PRISE EN CHARGE DES PATIENTS TRAITES PAR<br/>AZACITIDINE</b></p> |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

----oOo----

**JURY**

Président : Monsieur le Professeur Pascal RATHELOT

Membres : Monsieur le Professeur Alexandre EVRARD

Madame le Docteur Raphaëlle FANCIULLINO (directeur de thèse)

Madame le Docteur Françoise DE CROZALS



**MÉMOIRE  
DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPECIALISÉES DE PHARMACIE  
OPTION PHARMACIE HOSPITALIÈRE-PRATIQUE ET RECHERCHE**

Soutenu le 7 Octobre 2016

**Par Reine KIMBIDIMA-MAKOUNDOU**

Née le 04 juillet 1987

Conformément aux dispositions de l'Arrêté du 04 octobre 1988 tenant lieu de

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

----oOo----

|                                                                                                                                                |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p><b>INTERET DE LA MESURE DE L'ACTIVITE<br/>DE LA CYTIDINE DEAMINASE DANS LA PRISE EN<br/>CHARGE DES PATIENTS TRAITES PAR AZACITIDINE</b></p> |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

----oOo----

**JURY**

Président : Monsieur le Professeur Pascal RATHELOT

Membres : Monsieur le Professeur Alexandre EVRARD

Madame le Docteur Raphaëlle FANCIULLINO (directeur de thèse)

Madame le Docteur Françoise DE CROZALS



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

**ADMINISTRATION :**

|                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|-------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Doyen :</i>                            | Mme Françoise DIGNAT-GEORGE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| <i>Vice-Doyens :</i>                      | M. Jean-Paul BORG, M. Philippe CHARPIOT, M. Pascal RATHELOT                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| <i>Chargés de Mission :</i>               | M. David BERGE-LEFRANC, M. François DEVRED, Mme Caroline DUCROS, Mme Pascale BARBIER                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <i>Conseiller du Doyen :</i>              | M. Patrice VANELLE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| <i>Doyens honoraires :</i>                | M. Jacques REYNAUD, M. Pierre TIMON-DAVID, M. Patrice VANELLE                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <i>Professeurs émérites :</i>             | M. José SAMPOL, M. Jean-Pierre REYNIER                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| <i>Professeurs honoraires :</i>           | M. Guy BALANSARD, M. Jacques BARBE, M. Yves BARRA,<br>Mme Claudette BRIAND, M. Jacques CATALIN, Mme Andrée<br>CREMIEUX, M. Aimé CREVAT, M. Bernard CRISTAU,<br>M. Gérard DUMENIL, M. Alain DURAND, Mme Danielle GARÇON,<br>M. Maurice JALFRE, M. Joseph JOACHIM, M. Maurice LANZA,<br>M. José MALDONADO, M. Patrick REGLI, M. Jean-Claude SARI, |
| <i>Chef des Services Administratifs :</i> | Mme Florence GAUREL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| <i>Chef de Cabinet :</i>                  | Mme Sandrine NOURIAN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <i>Responsable de la Scolarité :</i>      | Mme Myriam TORRE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |

**DEPARTEMENT BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE**

Responsable : Professeur Philippe PICCERELLE

**PROFESSEURS**

|                                                                                  |                                       |
|----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| BIOPHYSIQUE                                                                      | M. Vincent PEYROT<br>M. Hervé KOVACIC |
| GENIE GENETIQUE ET BIOINGENIERIE                                                 | M. Christophe DUBOIS                  |
| PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,<br>BIOPHARMACIE ET COSMETIQUE | M. Philippe PICCERELLE                |

## MAITRES DE CONFERENCES

BIOPHYSIQUE

M. Robert GILLI  
Mme Odile RIMET-GASPARINI  
Mme Pascale BARBIER  
M. François DEVRED  
Mme Manon CARRE  
M. Gilles BREUZARD  
Mme Alessandra PAGANO

GENIE GENETIQUE ET BIOTECHNOLOGIE

M. Eric SEREE-PACHA  
Mme Véronique REY-BOURGAREL

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,  
BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE

M. Pascal PRINDERRE  
M. Emmanuel CAUTURE  
Mme Véronique ANDRIEU  
Mme Marie-Pierre SAVELLI

NUTRITION ET DIETETIQUE

M. Léopold TCHIAKPE

## AHU

CULTURE ET THERAPIE CELLULAIRE

M. Jérémy MAGALON

## ENSEIGNANTS CONTRACTUELS

ANGLAIS

Mme Caroline MONTET

## DEPARTEMENT BIOLOGIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Philippe CHARPIOT

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE

M. Philippe CHARPIOT

BIOLOGIE CELLULAIRE

M. Jean-Paul BORG

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Françoise DIGNAT-GEORGE  
Mme Laurence CAMOIN  
Mme Florence SABATIER-MALATERRE

MICROBIOLOGIE

M. Jean-Marc ROLAIN  
M. Philippe COLSON

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE

Mme Nadine AZAS-KREDER

|                               |
|-------------------------------|
| <b>MAITRES DE CONFERENCES</b> |
|-------------------------------|

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE

Mme Dominique JOURDHEUIL-RAHMANI  
M. Thierry AUGIER  
M. Edouard LAMY  
Mme Alexandrine BERTAUD  
Mme Claire CERINI  
Mme Edwige TELLIER  
M. Stéphane POITEVIN

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Nathalie BARDIN  
Mme Dominique ARNOUX  
Mme Aurélie LEROYER  
M. Romaric LACROIX

MICROBIOLOGIE

Mme Michèle LAGET  
M. Michel DE MEO  
Mme Anne DAVIN-REGLI  
Mme Véronique ROUX  
M. Fadi BITTAR  
Mme Isabelle PAGNIER  
Mme Sophie EDOUARD

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE

Mme Carole DI GIORGIO  
M. Aurélien DUMETRE  
Mme Magali CASANOVA  
Mme Anita COHEN

BIOLOGIE CELLULAIRE

Mme Anne-Catherine LOUHMEAU

|               |
|---------------|
| <b>A.H.U.</b> |
|---------------|

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Sylvie COINTE

|                                          |
|------------------------------------------|
| <b>DEPARTEMENT CHIMIE PHARMACEUTIQUE</b> |
|------------------------------------------|

Responsable : Professeur Patrice VANELLE

|                    |
|--------------------|
| <b>PROFESSEURS</b> |
|--------------------|

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION

M. Henri PORTUGAL  
Mme Catherine BADENS

CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET  
NUISANCES TECHNOLOGIQUES

M. Philippe GALLICE

CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE – CHIMIE  
THERAPEUTIQUE

M. Pascal RATHELOT  
M. Maxime CROZET

CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE

M. Patrice VANELLE  
M. Thierry TERME

PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE, HOMEOPATHIE

Mme Evelyne OLLIVIER

**MAITRES DE CONFERENCES**

GESTION PHARMACEUTIQUE, PHARMACOECONOMIE  
ET ETHIQUE PHARMACEUTIQUE OFFICINALE

M. Jean-Pierre CALISSI

**PROFESSEURS ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (P.A.S.T)**

BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE, BIOLOGIE CELLULAIRE

Mme Anne FAVEL  
Mme Joëlle MOULIN-TRAFFORT

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION

Mme Elisabeth SCHREIBER-DETURMENY  
Mme Catherine DEFOORT  
M. Alain NICOLAY  
Mme Estelle WOLFF  
Mme Elise LOMBARD

CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET

M. David BERGE-LEFRANC

NUISANCES TECHNOLOGIQUES

M. Pierre REBOUILLON

CHIMIE THERAPEUTIQUE

Mme Catherine DIANA  
Mme Sandrine FRANCO-ALIBERT  
Mme Caroline DUCROS  
M. Marc MONTANA

CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE

M. Armand GELLIS

HYDROLOGIE

M. Christophe CURTI

Mme Julie BROGGI  
M. Nicolas PRIMAS  
M. Cédric SPITZ  
M. Sébastien REDON

PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE, HOMEOPATHIE

M. Riad ELIAS  
Mme Valérie MAHIOU-LEDDET  
Mme Sok Siya BUN  
Mme Béatrice BAGHDIKIAN

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

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION

Mme Anne-Marie PENET-LOREC

CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET  
NUISANCES TECHNOLOGIQUES

M. Thierry ATHUYT

DROIT ET ECONOMIE DE LA PHARMACIE

M. Marc LAMBERT

DROIT ET COMMUNICATION PHARMACEUTIQUES A L'OFFICINE  
ET GESTION DE LA PHARMAFAC

M. Philippe BESSON

**A.H.U**

CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE

Mme Manon ROCHE

**ATER**

CHIMIE ANALYTIQUE

Mme Camille DESGROUAS

**DEPARTEMENT MEDICAMENT ET SECURITE SANITAIRE**

Responsable : Professeur Benjamin GUILLET

PHARMACIE CLINIQUE

Mme Diane BRAGUER

PHARMACODYNAMIE

M. Benjamin GUILLET

TOXICOCINETIQUE ET PHARMACOCINETIQUE

M. Athanassios ILIADIS

TOXICOLOGIE GENERALE

M. Bruno LACARELLE

TOXICOLOGIE DE L'ENVIRONNEMENT

Mme Frédérique GRIMALDI

**MAITRES DE CONFERENCES**

PHARMACODYNAMIE

Mme Suzanne MOUTERDE-MONJANEL

PHYSIOLOGIE

Mme Sylviane LORTET  
Mme Emmanuelle MANOS-SAMPOL

TOXICOCINETIQUE ET PHARMACOCINETIQUE

M. Hot BUN  
M. Joseph CICCOLINI  
Mme Raphaëlle FANCIULLINO

TOXICOLOGIE GENERALE ET PHARMACIE CLINIQUE

M. Pierre-Henri VILLARD  
M. Stéphane HONORÉ  
Mme Caroline SOLAS-CHESNEAU  
Mme Marie-Anne ESTEVE**A.H.U.**

PHARMACODYNAMIE

M. Philippe GARRIGUE

**ATER**

PHARMACODYNAMIE

M. Guillaume HACHE  
Mme Ahlel BOUHLEL



|                                            |
|--------------------------------------------|
| <b>CHARGES D'ENSEIGNEMENT A LA FACULTE</b> |
|--------------------------------------------|

Mme Nathalie AUSIAS, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Pierre BERTAULT-PERES, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Martine BUES-CHARBIT, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Gérard CARLES, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Nicole FRANCOIS, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Sophie GENSOLLEN, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Christine PENOT-RAGON, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Stéphane PICHON, Pharmacien titulaire

M. Alain RAGON, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Badr Eddine TEHHANI, Pharmacien – Praticien hospitalier

Mise à jour le 1<sup>er</sup> décembre 2015

# REMERCIEMENTS

- ❖ **Au Professeur Pascal RATHELOT** de présider mon jury. Merci pour vos enseignements, vos relations « structure activité », votre accessibilité et vos encouragements au moment de passer l'internat.
- ❖ **Au Professeur Alexandre EVRARD**, d'avoir accepté de juger ce travail et de siéger dans ce jury.
- ❖ **Au Docteur Raphaëlle FANCIULLINO**, d'être mon directeur de thèse et d'avoir permis la rédaction de ce travail. Merci d'avoir été un modèle de pharmacien tout au long de mon internat par ton intelligence, ton investissement et ta rigueur, merci de m'avoir appris à toujours repousser les limites de l'excellence.
- ❖ **Au Docteur Françoise DE CROZALS**, d'être une chef de service en OR. Merci de tout cœur parce que vous avez été un exemple, merci pour TOUT ce que vous avez fait, pour m'avoir fait aimé davantage mon métier, merci parce que vous êtes un pharmacien exceptionnel. Au-delà des compétences pharmaceutiques que j'ai acquises à vos côtés, je voudrais vous remercier pour votre grande gentillesse. Merci d'avoir été un soutien et parce que j'ai vécu pendant ces 6 derniers mois un semestre super, le meilleur.
- ❖ Au docteur **Laure FARNAULT**, pour les corrections apportées à ce mémoire
- ❖ *A tous ces supers pharmaciens* qui m'ont formé, m'ont appris à aimer ce métier, et m'ont fait confiance. Avec un MERCI particulier :
  - A toi **Charles-Eric BORNET**, d'avoir été mon « vieux » préféré, merci pour toutes tes conversations sans fin, merci pour toutes tes histoires « napoléennes ». A tes côtés, j'ai beaucoup appris, merci pour les réponses à mes questions, j'ai découvert que derrière la légende du grand méchant loup se cache en réalité un pharmacien adorable attentif à ses internes.
  - A toi **Albert DARQUE**, pour tes conseils, ton aide, ta disponibilité. Merci pour tous les fous-rires, pour tous les cocktails, merci pour ton aide informatique précieuse qui m'a toujours fait gagner du temps.
  - A toi **Vincent PROVITOLO**, pour m'avoir fait réaliser que je voulais faire de l'onco.
  - A toi **Virginie LAMAND**. Merci Capitaine, tu as été une belle rencontre, merci ta positive attitude.
  - A vous tous pharmaciens de la team Conception, vous avez été super, et vous m'avez appris qu'un bon travail pouvait rimer avec une bonne humeur, merci pour toutes les joies vécues dans cet hôpital.
- ❖ *A toi co-interne toi qui m'a supporté pendant au moins 6 mois, à toi que j'ai soulé avec Joe Dassin, à toi qui a fait que mes journées à l'hôpital riment avec agréables : Julie B (ma djulaïe), Riana (attention ! à lire « rinE », ma riri), vous êtes des filles en or, Jihen (juste Jihen, merci pour ton soutien même par téléphone,*

merci parce que tu m'a bien déstressé, à quand une miniature de toi ?), *Clémentine* (clem chou, tu es tellement adorable), *Romain* (papi Sanchez ou Admiral S, ça dépend ! merci de m'avoir fait tellement rire), *Sylvain* (le chef), *Jean-guillaume* (mon jean-gui qui me manque), *Eléonore* (bichette Eléonore), *Anna* (bichette Anna) *Julie G*, et sans oublier mon ivoirienne préférée, *Manuela* (manu, pour ton grand cœur et ta patience à mon égard), merci pour tes encouragements à rédiger ce travail. Merci à toi *Julie C*, ma bichette, merci pour les rires, les encouragements (tu vois c que je veux dire ?!!), merci d'avoir été cette magnifique rencontre.

❖ *Merci aux autres internes supers que j'ai pu rencontrer pendant ces 4 ans : Hélène, Manon, Nico D et Tiphaine, Nico D le chef, Fanny, Floriane, Marine et tous les autres.*

❖ *A ceux qui sont toujours là, à ceux qui me font me sentir vivante*

- A toi, ma *marjorisme*, à toi *Khaola*, à toi *Fanny*, merci pour votre précieuse amitié. A toi *Rita* et A toi *Emilia* (merci pour piteurrs), A toi *Taline*, mes jolis cadeaux de pharma.
- A toi ma *Binôme*, merci pour toutes ces années, merci parce qu'on a tellement rit (et on va continuer à le faire), merci parce que tu es géniale. Binôme un jour...binôme toujours.
- A toi *Gaëlle G*, d'être mon amie, merci pour toutes ses conversations, pour ton hospitalité parisienne
- A toi *Ornella*, mon plus beau cadeau de Péniel.
- Aux *sébastopoliens*, d'être ma famille.
- A *Victoria (ma Claude)*, *Laure*, *Sandra*, *Cécile* et les filles *Nemeth*, mes sœurs de cœur
- A toi *Jonathan G*, mon petit frère, merci d'être là, merci pour toutes les fois où tu m'as empêché de casser mon ordi, merci d'être toi tout simplement, merci à *Céline* ma petite « belle-sœur ».
- Aux famille *Khoury* et *Guillermín* : MERCI de m'avoir ouvert au-delà de votre maison, votre cœur. Merci d'être là pour moi, de me soutenir, merci pour tous les repas (du rougail saucisse de *Soraya* au poisson de *Marc*), merci parce qu'à vos contacts, je deviens quelqu'un de meilleur.
- Ba tata na ba mama ya Congo, merci na bino niosso (tantine *Christiane* na tonton *Crépin*, tantine *Claudine* na tonton *Jean-marc*, tantine *Mireille* na tonton *Dany*, tantine *Patricia* et tous les autres)
- A toi *Virginie*, merci d'être cette amie exceptionnelle, merci d'être dans ma vie.
- A ma sœur, *Retty* que j'aime tellement, merci pour TOUT, absolument TOUT. Merci d'être là, de me supporter avec patience.
- A mes *parents*. *Papa*, *maman*, merci pour votre amour, votre soutien, vos encouragements sans limite. A toi *maman*, tu es la femme de ma vie, merci d'avoir toujours été là dans les bons comme dans les mauvais moments, merci parce que tu es une *maman GENIALE*.
- A cet *ami* fidèle et tendre.

***" L'UNIVERSITÉ N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION, NI  
IMPROBATION AUX OPINIONS ÉMISES DANS LES THÈSES. CES OPINIONS  
DOIVENT ÊTRE CONSIDÉRÉES COMME PROPRES À LEURS AUTEURS."***

# TABLE DES MATIERES

|                                                                                                           |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>LISTE DES FIGURES .....</b>                                                                            | <b>14</b> |
| <b>LISTE DES TABLEAUX.....</b>                                                                            | <b>15</b> |
| <b>ABBREVIATIONS .....</b>                                                                                | <b>16</b> |
| <b>INTRODUCTION.....</b>                                                                                  | <b>18</b> |
| <b>I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE .....</b>                                                                     | <b>19</b> |
| <b>A. CHIMIOOTHERAPIES HYPOMETHYLANTES DANS LES HEMOPATHIES MALIGNES .....</b>                            | <b>20</b> |
| 1. Epigénétique : méthylation de l'ADN .....                                                              | 20        |
| a) Introduction à l'épigénétique .....                                                                    | 20        |
| b) De la double hélice d'ADN au chromosome métaphasique.....                                              | 20        |
| c) Modifications épigénétiques .....                                                                      | 21        |
| (1) Méthylation de l'ADN .....                                                                            | 22        |
| (2) Les ADN méthyltransférases .....                                                                      | 23        |
| (3) Rôle physiologique de la DNMT1 .....                                                                  | 24        |
| (4) Rôles physiologiques des DNMT 3A et 3B .....                                                          | 25        |
| (5) Rôles physiologiques des DNMT 2 et 3L .....                                                           | 26        |
| 2. Méthylation de l'ADN et répression transcriptionnelle .....                                            | 26        |
| a) Méthylation de l'ADN et modifications post traductionnelles des histones .....                         | 26        |
| (1) Méthylation de l'ADN et désacétylation des histones .....                                             | 26        |
| (2) Méthylation de l'ADN et méthylation des histones .....                                                | 27        |
| b) Dérégulation de la méthylation de l'ADN et Cancer .....                                                | 28        |
| <b>B. UTILISATION DE L'AZACITIDINE DANS LA STRATEGIE THERAPEUTIQUE DES<br/>HEMOPATHIES MALIGNES .....</b> | <b>30</b> |
| 1. Azacitidine : premier agent hypométhylant indiqué dans les hémopathies malignes .....                  | 30        |
| a) Azacitidine : ses indications.....                                                                     | 30        |
| b) Propriétés pharmacodynamiques .....                                                                    | 31        |
| c) Propriétés pharmacocinétiques .....                                                                    | 33        |
| (1) De la voie sous cutanée .....                                                                         | 33        |
| (2) De la voie intraveineuse .....                                                                        | 34        |
| (3) Vers une forme orale .....                                                                            | 35        |
| d) Profil de tolérance de l'azacitidine.....                                                              | 36        |
| (1) Issu de l'essai clinique AZA-001, de phase III .....                                                  | 36        |
| (2) Issu de la « vraie » vie.....                                                                         | 36        |

|            |                                                                                                                                |           |
|------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.         | Intérêt de l'azacitidine dans les hémopathies malignes .....                                                                   | 38        |
| a)         | Les syndromes myélodysplasiques .....                                                                                          | 38        |
| (1)        | Introduction : étiologie et épidémiologie .....                                                                                | 38        |
| (2)        | Physiopathologie .....                                                                                                         | 39        |
| (3)        | Classification et pronostic des SMD .....                                                                                      | 40        |
| b)         | La leucémie aiguë myéloïde .....                                                                                               | 43        |
| (1)        | Introduction : étiologie et épidémiologie .....                                                                                | 43        |
| (2)        | Physiopathologie .....                                                                                                         | 43        |
| c)         | Leucémie myélomonocytaire chronique .....                                                                                      | 46        |
| (1)        | Introduction : étiologie et épidémiologie .....                                                                                | 46        |
| (2)        | Physiopathologie .....                                                                                                         | 46        |
| d)         | Efficacité thérapeutique de l'azacitidine dans les hémopathies malignes .....                                                  | 48        |
| <b>C.</b>  | <b>ETUDE DE LA CYTIDINE DEAMINASE CHEZ LES PATIENTS TRAITES PAR AZACITIDINE ..</b>                                             | <b>52</b> |
| 1.         | Introduction .....                                                                                                             | 52        |
| 2.         | Expression, activité enzymatique et variabilité de la CDA .....                                                                | 52        |
| 3.         | Mesure de l'activité de la cytidine deaminase .....                                                                            | 55        |
| 4.         | Polymorphisme génétique de la cytidine déaminase .....                                                                         | 55        |
| 5.         | Utilisation de la CDA comme biomarqueur prédictif de la réponse/toxicité aux analogues de la cytidine .....                    | 59        |
| <b>II.</b> | <b>ETUDE SUR LA PRISE EN CHARGE DES PATIENTS TRAITES PAR AZACITIDINE AU REGARD DU STATUT CDA AU CHU DE LA CONCEPTION .....</b> | <b>63</b> |
| <b>A.</b>  | <b>MATERIELS ET METHODE .....</b>                                                                                              | <b>65</b> |
| 1.         | Type d'étude .....                                                                                                             | 65        |
| 2.         | Critères d'inclusion .....                                                                                                     | 65        |
| 3.         | Recueil des données .....                                                                                                      | 66        |
| 4.         | Analyse statistique .....                                                                                                      | 67        |
| <b>B.</b>  | <b>RESULTATS .....</b>                                                                                                         | <b>68</b> |
| 1.         | Présentation globale de la cohorte .....                                                                                       | 68        |
| 2.         | Présentation en fonction du statut CDA : déficient et non déficient .....                                                      | 70        |
| a)         | Patients déficients en CDA .....                                                                                               | 70        |
| b)         | Patients non déficients en CDA .....                                                                                           | 71        |
| <b>C.</b>  | <b>DISCUSSION ET PERCEPTIVES .....</b>                                                                                         | <b>73</b> |
| 1.         | Durée des cures .....                                                                                                          | 74        |
| a)         | Déficient versus AZA001 .....                                                                                                  | 74        |
| b)         | Déficient versus ND .....                                                                                                      | 74        |
| 2.         | Durées des cycles J1J1 .....                                                                                                   | 74        |

|                                                                                    |           |
|------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| a) Déficient versus AZA001 .....                                                   | 74        |
| b) Déficient versus ND.....                                                        | 75        |
| 3. Dose cumulée par cure.....                                                      | 76        |
| a) Déficient versus AZA001 .....                                                   | 76        |
| b) Déficient versus ND.....                                                        | 76        |
| 4. Nombre de cure .....                                                            | 76        |
| 5. Analyse du sous-groupe : patients ayant reçu plus de 6 cures d’azacitidine..... | 77        |
| 6. Analyse du sous-groupe : patients avec réductions de doses .....                | 80        |
| 7. Evolution de la CDA .....                                                       | 83        |
| 8. Survie globale .....                                                            | 86        |
| 9. Sous-groupe en fonction des indications .....                                   | 87        |
| <b>D. LIMITES DE L’ETUDE .....</b>                                                 | <b>88</b> |
| <b>E. CONCLUSION DE L’ETUDE.....</b>                                               | <b>88</b> |
| <b>CONCLUSION .....</b>                                                            | <b>90</b> |
| <b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>                                            | <b>91</b> |

## LISTE DES FIGURES

|                                                                                                                                                     |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 1 : Organisation structurale de la molécule d'ADN .....                                                                                      | 21 |
| Figure 2 : Mécanismes épigénétiques.....                                                                                                            | 22 |
| Figure 3 : Structure des DNMTs .....                                                                                                                | 24 |
| Figure 4 : Formule développée de la 5-azacytidine.....                                                                                              | 33 |
| Figure 5 : Hématopoïèse, des précurseurs médullaires aux cellules sanguines.....                                                                    | 38 |
| Figure 6 : Classification des SMD .....                                                                                                             | 42 |
| Figure 7 : Réaction de déamination par la cytidine déaminase des analogues nucléosidiques .....                                                     | 52 |
| Figure 8 : Répartition de l'activité de la CDA dans les tissus .....                                                                                | 54 |
| Figure 9 : Facteurs influençant la variabilité individuelle au médicament.....                                                                      | 58 |
| Figure 10 : Toxicités induite par azacitidine chez un patient caucasien avec activité CDA réduite .....                                             | 62 |
| Figure 11 : Métabolisme de l'azacitidine .....                                                                                                      | 64 |
| Figure 12 : Répartition globale de l'activité CDA <sub>1</sub> .....                                                                                | 68 |
| Figure 13 : Répartition des patients en fonction de l'indication traitée.....                                                                       | 69 |
| Figure 14 : Répartition du nombre de cure en fonction de l'activité CDA <sub>1</sub> .....                                                          | 71 |
| Figure 15 : Répartition de la durée J1J1 en fonction de l'activité de la CDA <sub>1</sub> .....                                                     | 72 |
| Figure 16 : Répartition de la durée moyenne d'une cure en fonction de l'activité de la CDA <sub>1</sub> .....                                       | 73 |
| Figure 17 : Evolution des doses chez une patiente avec activité CDA <sub>1</sub> inférieure à 2 U/mg.....                                           | 75 |
| Figure 18 : Répartition des 15 patients ayant reçu plus de 6 cures de Vidaza® en fonction de l'activité CDA <sub>1</sub> .....                      | 79 |
| Figure 19 : Patients avec plus de 6 cures → répartition de la dose cumulée en fonction d l'activité CDA <sub>1</sub> .....                          | 79 |
| Figure 20 : Evolution de la CDA chez les patients déficients .....                                                                                  | 83 |
| Figure 21 : Evolution de la CDA chez les patients non déficients .....                                                                              | 83 |
| Figure 22 : Schéma posologique chez les patients non déficients pour lesquels une activité CDA<2 U/mg a été dosée au cours du traitement.....       | 85 |
| Figure 23 : Durée des cycles (jours) chez les patients non déficients pour lesquels une activité CDA<2 U/mg a été dosée au cours du traitement..... | 85 |
| Figure 24 : Survie globale en fonction du statut CDA .....                                                                                          | 86 |
| Figure 25 : Analyse de survie chez les patients D et ND atteints de SMD .....                                                                       | 87 |
| Figure 26 : Analyse de survie chez les patients D et ND atteints de LAM .....                                                                       | 87 |



## LISTE DES TABLEAUX

|                                                                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tableau 1 : Paramètres pharmacocinétiques de la voie IV par rapport à la SC.....                                   | 34 |
| Tableau 2 : Pharmacovigilance post commercialisation de Vidaza® .....                                              | 37 |
| Tableau 3 : Gènes mutés de façon récurrente.....                                                                   | 40 |
| Tableau 4 : Principaux gènes mutés identifiés dans les LAM.....                                                    | 45 |
| Tableau 5 : Principales mutations des gènes dans le LMMC.....                                                      | 47 |
| Tableau 6 : Activité de la cytidine deaminase au cours de diverses pathologies .....                               | 54 |
| Tableau 7 : Recueil de données.....                                                                                | 66 |
| Tableau 8 : Activité enzymatique en fonction de l'indication.....                                                  | 69 |
| Tableau 9 : Proportions des patients déficitaires en fonction des indications .....                                | 69 |
| Tableau 10 : Caractéristiques de l'ensemble de la cohorte .....                                                    | 70 |
| Tableau 11 : Récapitulatif des résultats des patient avec activité CDA <sub>1</sub> inférieure à 2 U/mg .....      | 76 |
| Tableau 12 : Récapitulatifs des cures des patients D versus les ND .....                                           | 77 |
| Tableau 13 : Activité de la cytidine déaminase chez les patients ayant reçu plus de 6 cures<br>d'azacitidine ..... | 78 |
| Tableau 14 : Schéma posologique en fonction du statut CDA.....                                                     | 81 |
| Tableau 15 : Pourcentage de réduction de dose en fonction du statut CDA .....                                      | 81 |
| Tableau 16 : Schéma posologique des patients présentant au moins une cure avec réduction de dose<br>cumulée .....  | 82 |

## ABBREVIATIONS

#

μM            Micromoles par litre

### A

ADN            Acide désoxyribonucléique

ARN            Acide ribonucléique

ARNm          Acide RiboNucléique messenger

AUC            Aire sous la courbe

### D

D               Déficient

DNMT          DNA MethylTransferase

AdoHcy        S-Adénosyl-Homocystéine

AdoMet        S-Adénosyl L-Méthionine

### C

CHC           Carcinome Hépatocellulaire

CHU           Centre Hospitalo-Universitaire

Cmax          Concentration maximale

### H

HDAC          Histones DéACétylases

HMT           Histone-MéthylTransférase

HP1           Heterochromatin Protein 1

### G

GDMS          Score global de méthylation de l'ADN

## **I**

|     |                                                               |
|-----|---------------------------------------------------------------|
| ICF | Immunodeficiency Centromeric instability and Facial anomalies |
| IV  | Intraveineuse                                                 |

## **J**

|      |                                                                                  |
|------|----------------------------------------------------------------------------------|
| J1J1 | Durée entre le C1J1 de la cure <sub>n</sub> et le C1J1 de la cure <sub>n+1</sub> |
|------|----------------------------------------------------------------------------------|

## **L**

|        |                                      |
|--------|--------------------------------------|
| LAM    | Leucémie aigue myéloïde              |
| LINE-1 | Longs éléments nucléaires intercalés |
| LMMC   | Leucémie myélomonocytaire chronique  |

## **M**

|     |                           |
|-----|---------------------------|
| MBD | Methyl-CpG-Binding Domain |
|-----|---------------------------|

## **N**

|     |                             |
|-----|-----------------------------|
| ND  | Non déficient               |
| NLS | Nuclear Localization Signal |

## **P**

|      |                                         |
|------|-----------------------------------------|
| PCNA | Proliferation Cellular Nuclear Antigen) |
| PBHD | PolyBromo-1 Homology Domain             |
| PHD  | Plant HomoDomain                        |
| PWWP | Pro-Trp-Trp-Pro                         |

## **S**

|     |                           |
|-----|---------------------------|
| SC  | Sous-Cutanée              |
| SMD | Syndrome myélodysplasique |

## **T**

|      |                                                           |
|------|-----------------------------------------------------------|
| Tmax | Temps nécessaire pour atteindre la concentration maximale |
| TRF  | Targeting Replication Foci)                               |

## INTRODUCTION

L'azacitidine est un agent hypométhylant indiqué dans les hémopathies malignes, à savoir, les syndromes myélodysplasiques, les leucémies aiguës et les leucémies myélomonocytaires chroniques ; pour lesquels à ce jour, seule la greffe de cellules souches hématopoïétiques constitue le traitement à visée curatif. Devant la grande variabilité en termes d'efficacité et de toxicité de ce médicament, se pose la question d'une médecine personnalisée dans le but d'optimiser le traitement par la prévention du profil de réponse (efficacité) et du profil de tolérance (toxicité) chez les patients traités par azacitidine.

Les progrès sur la connaissance du génome humain ont permis de faire émerger deux approches, une moléculaire et une pharmacogénomique afin de pouvoir proposer aux patients une médecine individualisée, garante d'une prise en charge médicale optimale. Cette dernière vise à étudier les facteurs génétiques affectant le métabolisme et le transport des médicaments ainsi que leurs impacts sur la réponse au traitement.

De nombreux travaux suggèrent l'utilisation de la cytidine déaminase, enzyme soumise au polymorphisme génétique, comme marqueur prédictif de la réponse au traitement par azacitidine. Du fait de son rôle clé dans la métabolisation du médicament, la mesure de son activité serait un indicateur pertinent dans la mise en place d'une médecine personnalisée.

Ce travail basé sur une étude rétrospective tend à évaluer la prise en charge des patients atteints d'hémopathies malignes au regard de l'activité de la cytidine déaminase au sein du centre hospitalo-universitaire de la Conception à Marseille.

## **I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

## **A. CHIMIOOTHERAPIES HYPOMETHYLANTES DANS LES HEMOPATHIES MALIGNES**

### **1. EPIGENETIQUE : METHYLATION DE L'ADN**

#### **a) Introduction à l'épigénétique**

Le génome humain, codé par l'ADN (acide désoxyribonucléique), support de l'information génétique, comporte environ 35000 gènes. La chromatine, support de l'information épigénétique, est l'ensemble des caractères héréditaires au cours des divisions cellulaires et régule l'expression des gènes sans impliquer de changement de la séquence de l'ADN. Conrad Waddington définit pour la première fois en 1942 le terme « épigénétique » comme étant l'étude des processus par lesquels le génotype (ensemble des gènes) engendre le phénotype (ensembles des caractéristiques de l'organisme)<sup>1</sup>. C'est à partir des années 70 que l'épigénétique a été utilisée pour décrire les mécanismes moléculaires associés à des modifications de l'activité des gènes. Si les séquences d'ADN sont en majorité inchangées au cours de la vie, on peut observer des variations des profils épigénétiques en fonction des tissus, de l'âge, des influences comportementales et environnementales (pollution, alcool, ...). De ce fait, les modifications éventuelles de l'information épigénétique peuvent altérer le développement des cellules au sein d'un tissu ou d'un organe donné et contribuer à l'initiation de processus pathogènes tels que l'oncogenèse.

#### **b) De la double hélice d'ADN au chromosome métaphasique**

La molécule d'ADN, sous sa forme la moins condensée, est une double hélice composée de 147 paires de bases. Cette hélice est contenue dans le noyau des cellules eucaryotes sous forme de complexe nucléoprotéique appelé chromatine, permettant son compactage dans le noyau d'environ 6 micromètres de diamètre. L'unité fondamentale de la chromatine, le nucléosome, se compose de 146 paires de bases s'enroulant environ 1,7 fois autour d'un octamère de protéines structurales appelées histones. On distingue 5 familles d'histones : 2 copies des histones H2A, H2B, H3 et H4 forment le cœur de la structure octamérique tandis que H1 et H5 sont des histones de liaison. La liaison à l'ADN internucléosomique de l'histone H1 constitue le chromatosome, deuxième niveau organisationnel de l'ADN. A ce stade,

l'information génétique est à nouveau empaquetée pour former le chromosome. C'est le degré de compaction de l'ADN qui module son accessibilité aux facteurs de transcription. On distingue ainsi, l'euchromatine transcriptionnellement active et l'hétérochromatine plus condensée et inaccessible à la transcription<sup>2</sup>. Les différents états structuraux de la molécule d'ADN sont décrits dans la **Figure 1**.

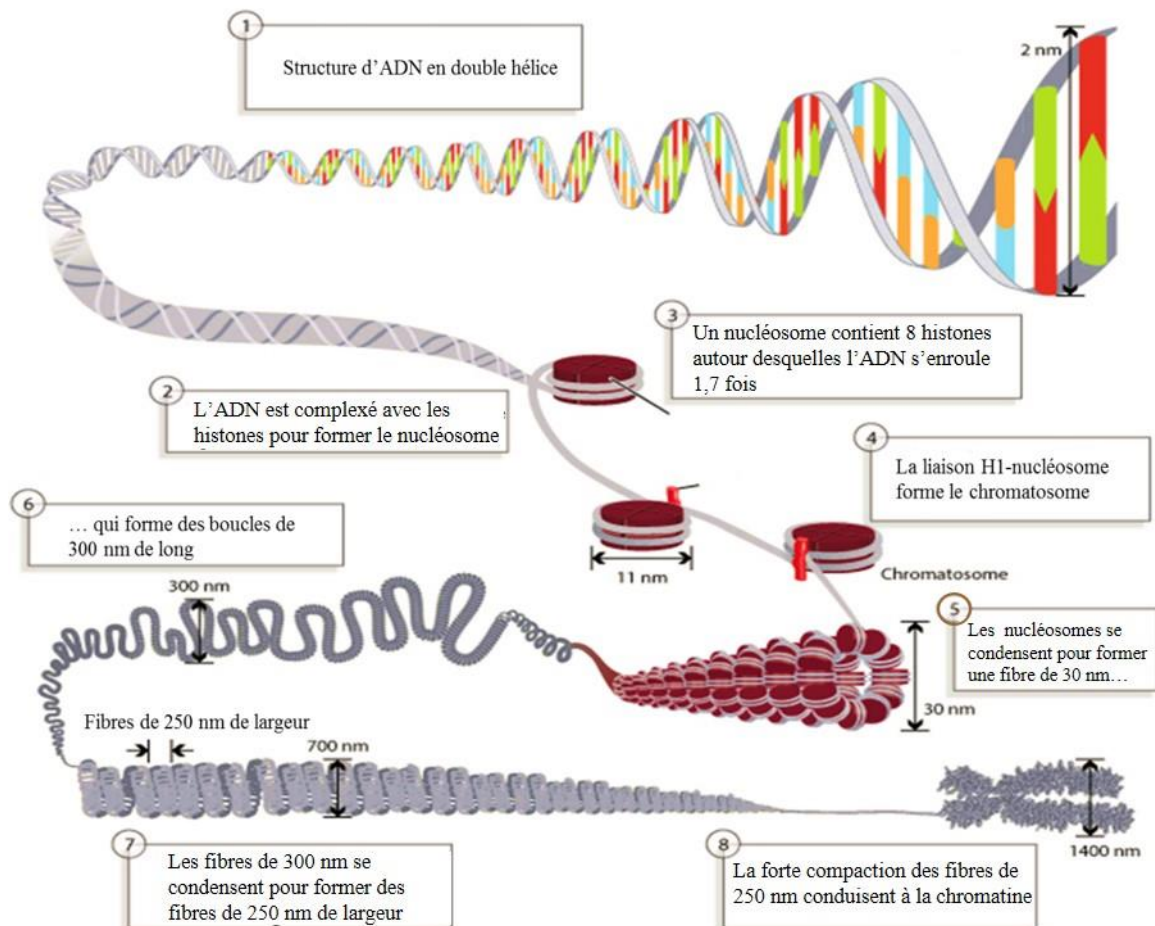


Figure 1 : Organisation structurale de la molécule d'ADN <sup>3</sup>

### c) Modifications épigénétiques

Les modifications épigénétiques, responsables du remodelage de la chromatine, correspondent à des réactions biochimiques ciblant soit la molécule d'ADN par méthylation, soit les protéines histones, et en particulier leurs extrémités amino-terminales qui sortent librement du nucléosome, soit les ARN non codants [ **Figure 2**].

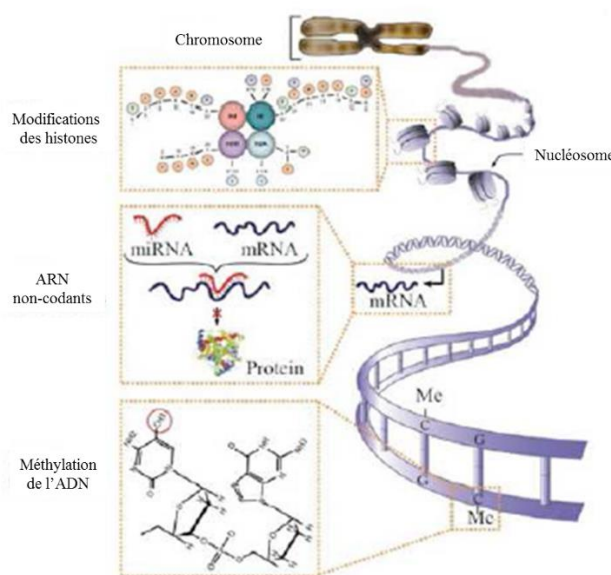


Figure 2 : Mécanismes épigénétiques<sup>4</sup>

### (1) Méthylation de l'ADN

La méthylation de la molécule d'ADN a été la première modification épigénétique identifiée en 1948<sup>5</sup>. Elle est impliquée dans la régulation des gènes, la répression transcriptionnelle, la formation de la chromatine et dans le développement de l'intégrité du génome<sup>6</sup>.

La méthylation de la molécule d'ADN est une modification épigénétique post répllicative réversible et transmissible, résultant d'un transfert de groupements méthyles principalement sur les cytosines présentes dans les séquences 5'CpG 3' (« p » indique que la cytosine et la guanine sont reliées par une liaison phosphodiester). Dans le règne animal, cette méthylation affecte de manière quasi exclusive les cytosines localisées dans les dinucléotides CpG, sur l'azote en position 4 (N4) et le carbone en 5 (C5). Cependant, des méthylations sur les séquences des bases CpA et CpT sont possibles mais de fréquence négligeable<sup>7</sup>. Ces méthylations non CpG ont été décrites en particulier chez la souris<sup>8</sup>.

Chez l'homme, la méthylation de l'ADN se produit spécifiquement sur le C5, on observe ainsi 70 à 80% des sites CpG méthylés au sein du génome des cellules somatiques<sup>9</sup>. Les sites CpG ne sont pas distribués équitablement au sein du génome mais on observe une hétérogénéité dans leur distribution au sein d'un même organisme. Par exemple, les ADN du cerveau et de thymus sont les plus méthylés contrairement à ceux du sperme et du placenta qui apparaissent être les moins méthylés<sup>9</sup>. De plus, dans les cellules somatiques saines de



l'organisme, les dinucléotides CpG dispersés le long du génome sont en grande partie méthylés, tandis que ceux regroupés dans des régions riches en dinucléotides CpG appelées îlots CpG ne le sont pas ; à l'exception des gènes du chromosome X et ceux codant pour l'empreinte génitale. Ces îlots CpG sont majoritairement situés en amont, dans la région promotrice et le premier exon d'un gène (à l'extrémité 5').

La méthylation de l'ADN est une réaction biochimique covalente et catalysée par des ADN méthyltransférases (DNMT). Pour que la réaction puisse avoir lieu, la DNMT doit se fixer à la fois à l'ADN et à son cofacteur S-adenosyl L-Méthionine (AdoMet), principale source de groupement méthyle<sup>10</sup>. Cette fixation à l'ADN se fait par attaque nucléophile du carbone en position 6 (C6) de la cytosine par un groupement thiol (-SH) de l'enzyme. La cytosine cible est basculée en dehors de la double hélice de l'ADN et intégrée dans le domaine catalytique de l'enzyme. Un groupement méthyle (-CH<sub>3</sub>) de l'AdoMet est par la suite transféré sur le C5 de la même cytosine. Il en résulte la formation de la 5-méthylcytosine ainsi que de la libération de la S-adenosyl-Homocystéine (AdoHcy), par perte du groupement méthyle par l'AdoMet).

## (2) Les ADN méthyltransférases

Cinq membres de la famille des DNMT ont été identifiés chez les mammifères : la DNMT1, DNMT2 et DNMT3A, 3B et 3L. A ce jour, seules les DNMT1, 3A et 3B ont démontré leur implication dans la méthylation des cytosines<sup>11</sup>. Ce sont des enzymes composées d'un domaine amino-terminal (N-terminal) régulateur, guidant la localisation de l'enzyme vers le noyau et interagissant avec l'ADN, la chromatine et d'autres protéines ; ainsi qu'un domaine carboxy-terminal (C-terminal) catalytique. Les ADN méthyltransférases comprennent 10 motifs conservés et caractéristiques dont six d'entre eux sont hautement conservés, il s'agit des motifs I, IV, VI, VII, IX et X. Les motifs I à III participent à la formation de la liaison au cofacteur, l'AdoMet. Le motif IV possède le groupement thiol responsable de l'attaque nucléophile de la cytosine, nécessaire au transfert du groupement méthyle. Les motifs VI, VIII et X permettent la liaison au substrat, la cytosine. Et les motifs V et VII jouent un rôle dans la préservation du repliement du domaine de reconnaissance de la cible<sup>12</sup>.

La DNMT1 est la plus abondante des DNMT au sein des cellules somatiques avec une affinité plus importante pour l'ADN hémi-méthylé par rapport à sa forme non méthylée (approximativement 7 à 20 fois plus active in vitro sur l'ADN hémi-méthylé) tandis que les

DNMT 3 ont une affinité équivalente quel que soit le degré de méthylation de l'ADN<sup>13</sup>. En ce qui concerne la DNMT1, le domaine régulateur comprend un domaine de liaison au PCNA (Prolifération Cellular Nuclear Antigen), un signal de localisation nucléaire (NLS, Nuclear Localization Signal), un domaine de ciblage aux foci de réplication (TRF, Targeting Replication Foci), un motif riche en cystéine de liaison aux ions Zn<sup>2+</sup> et un domaine identique à la protéine polybromo-1 (PBHD, PolyBromo-1 Homology Domain)<sup>14</sup>.

Pour les DNMT3, le domaine régulateur contient un domaine riche en cystéine, PHD (Plant HomoDomain), un domaine de liaison aux ions Zn<sup>2+</sup> et un domaine PWWP (Pro-Trp-Trp-Pro), jouant un rôle dans la réparation et la régulation de la transcription de l'ADN. Le domaine PWWP permet la liaison entre plusieurs DNMT<sup>14</sup>.

Une schématisation des structures des DNMT est proposée dans la **Figure 3**.

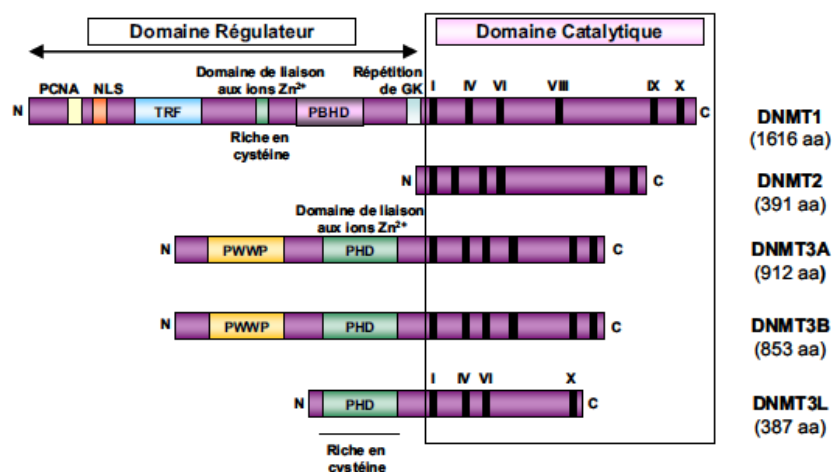


Figure 3 : Structure des DNMT<sup>14</sup>

### (3) Rôle physiologique de la DNMT1

La DNMT1 (première ADN méthyltransférase décrite chez la souris) joue un rôle essentiellement dans la maintenance des profils de méthylation au fil des divisions cellulaires, c'est-à-dire dans la transmission du profil de méthylation de la cellule mère aux cellules filles au cours de la réplication de l'ADN, tandis que les DNMT 3 (3A et 3B) sont impliquées principalement dans la méthylation de novo<sup>15</sup> pendant l'embryogénèse et au cours du développement cellulaire. Comme il a été dit précédemment, la DNMT1 a une affinité plus importante pour l'ADN hémi-méthylé. Une étude chez la souris a montré que la perte des fonctions de la DNMT1 entraîne une hypométhylation génomique sévère (jusqu'à 70% de perte

de la méthylation) associée à une dérégulation des gènes d’empreinte et une activation ectopique du chromosome X, provoquant la mort précoce de l’animal à l’état embryonnaire<sup>16</sup>. Cependant, l’hypométhylation observée, secondaire à l’invalidation du gène DNMT1, n’a pas engendré d’effets détectables sur la viabilité et la prolifération des cellules souches embryonnaires en culture, bien que celles-ci perdent leur capacité à se différencier. Ces études soulignent l’importance de cette enzyme dans le développement embryonnaire et leur rôle dans la différenciation cellulaire.

Il est probable que la DNMT1 intervienne également dans la méthylation de novo comme le suggère l’étude de Makar et al (2003).<sup>17</sup>

#### (4) Rôles physiologiques des DNMT 3A et 3B

Les DNMT 3A et 3B sont responsables de la méthylation dite de novo, c’est-à-dire de l’établissement des profils de méthylation sur des régions de l’ADN vierges de toute marque de méthylation lors du développement embryonnaire. Il a été démontré qu’elles sont capables in vitro de méthyler avec la même affinité la molécule d’ADN méthylée et sa forme non méthylée, contrairement à la DNMT1<sup>18</sup>. De plus, elles sont fortement exprimées dans les cellules souches embryonnaires, quand l’embryon procède à l’établissement de sa propre carte de méthylation, et sont retrouvées à des taux plus faibles dans les cellules somatiques différenciées de l’adulte<sup>13,19</sup>.

Dans l’étude d’Okano et al (1999), l’invalidation des gènes DNMT3A et 3B chez la souris a causé sa mort. En effet, l’absence de DNMT3A, conduit à un décès seulement 4 semaines après la naissance tandis que sans DNMT3B, la mort survient à un stade embryonnaire. Cette étude suggère que la 3B intervient dans la méthylation à un stade plus précoce que la 3A<sup>15</sup>. La DNMT3B semble également être impliquée dans la méthylation des régions péricentromériques satellites mineures<sup>15</sup>.

Bien qu’elles soient principalement impliquées dans la méthylation de novo, les DNMT 3A et 3B interviennent également dans la méthylation de maintenance au niveau de l’hétérochromatine dans les cellules somatiques et les cellules souches embryonnaires.

## (5) Rôles physiologiques des DNMT 2 et 3L

Les DNMT 2 et 3L ne sont pas considérées comme des cytosines méthyltransférases de l'ADN, il semble que la DNMT 2 serait plutôt une ARN méthyltransférase<sup>20</sup> et que la 3L serait un facteur régulateur de la méthylation de l'ADN en stimulant les DNMT 3A et 3B<sup>21</sup>. En effet, la DNMT3L est dépourvue de domaine catalytique, ce qui la rend enzymatiquement inactive et ne présente qu'une faible affinité pour la molécule d'ADN<sup>22</sup>. Elle participerait également à la répression transcriptionnelle par interaction avec d'autres enzymes telles que les histones déacétylases 1.

## 2. METHYLATION DE L'ADN ET REPRESSION TRANSCRIPTIONNELLE

### a) Méthylation de l'ADN et modifications post traductionnelles des histones

Bien que la méthylation de l'ADN par les DNMT soit essentielle au verrouillage de l'expression génique, il n'en demeure pas moins qu'elle n'est pas à elle seule suffisante pour établir la chromatine sous sa forme inactivée pour la transcription.

En effet, son action est combinée à d'autres processus épigénétiques tels que les modifications post-traductionnelles des histones qui régulent directement l'accessibilité de la chromatine ou créent des sites de liaisons spécifiques pour d'autres protéines ou complexes enzymatiques intervenant comme répresseurs. C'est par leurs extrémités amino-terminales qu'émergent des nucléosomes (dont le cœur est formé par les extrémités carboxy-terminales) que les histones subissent des modifications covalentes post-traductionnelles telles que l'acétylation, la méthylation, la phosphorylation, l'ubiquitinylation et la sumoylation.

### (1) Méthylation de l'ADN et désacétylation des histones

Les travaux de Bird et Wolffe ont révélé un lien étroit entre la méthylation de l'ADN et désacétylation des histones<sup>23,24</sup>. Ces études ont montré que les protéines à domaine MBD (methyl-CpG-binding domain), capables de reconnaître et de se fixer sur les CpG méthylés, recrutent après fixation à l'ADN les histones déacétylases (HDAC). Il s'en suit une désacétylation des histones, conduisant à une stabilisation de l'architecture de la chromatine

par augmentation des forces électrostatiques entre ADN et histones, la rendant ainsi plus compacte et par conséquent, transcriptionnellement inactive.

D'autres études comme celle de Fuks et al (2000) ont montré que l'effet répresseur des DNMT est levé par inhibition spécifique des HDAC<sup>25</sup>. Les DNMT sont capables de réprimer l'expression épigénétique uniquement en partenariat étroit avec d'autres enzymes telles que les HDAC, et ce indépendamment de leur activité méthyltransférase. En effet, la DNMT3L, bien qu'elle soit dépourvue de domaine catalytique, est également capable de recruter ces enzymes de désacétylation des histones et ainsi inhiber la transcription<sup>26</sup>. Ces observations suggèrent que les DNMT constitueraient des supports de recrutement des enzymes modifiant la conformation de la chromatine<sup>27</sup>.

## (2) Méthylation de l'ADN et méthylation des histones

Une connexion a également été établie entre la méthylation de l'ADN et la méthylation des histones, notamment celle concernant la lysine en position 9 de l'histone H3 (H3K9) catalysée par les histones-méthyltransférases (HMT)<sup>28</sup>. La méthylation H3K9 n'altère pas directement la charge protéique de l'histone mais crée un site de fixation pour une protéine associé à la formation de l'hétérochromatine appelée HP1 (Heterochromatin Protein 1).

Des études ont montré que des mutations du gène dim-5 (chez le champignon *Neurospora crassa*) et du gène kryptonite (chez la plante *Arabidopsis thaliana*), codant pour des enzymes méthylant H3K9, provoquent une réduction significative de la méthylation de l'ADN chez ces organismes. De plus, ces mutations affectant l'activité de méthylation des histones induisent également des défauts de la méthylation de l'ADN<sup>29,30</sup>. Les DNMT1 et DNMT3A des mammifères interagissent également avec la protéine HP1 et sont associées à une méthylation de H3K9. Ces différents travaux ont montré que la méthylation de l'ADN est dépendante de la méthylation des histones.

En conclusion, la modulation de l'expression épigénétique serait médiée par un étroit partenariat entre la méthylation de l'ADN et le remodelage de la chromatine par des enzymes de modification des histones. D'une manière générale, l'acétylation des histones est favorable à l'euchromatine qui est permissive à la transcription ; alors que la méthylation induit l'activation ou la répression des gènes selon le résidu méthylé et son degré de méthylation.

La méthylation de l'ADN, élément clé de l'épigénétique, participe au développement et à la différenciation cellulaire, à l'inactivation du chromosome X chez les mammifères femelles et à l'adaptation à l'environnement. De ce fait, des altérations de méthylation ont été observées dans des maladies auto-immunes, comme le syndrome ICF (Immunodeficiency Centromeric instability and Facial anomalies) provoqué par des mutations du gène codant pour la DNMT3b14. L'ICF se caractérise par une hypométhylation de séquences satellites et une forte instabilité centromérique. Des altérations des profils de méthylation, essentiels au bon fonctionnement des cellules, sont également observées dans des maladies neurologiques comme la maladie de Parkinson ainsi que dans le processus de cancérogenèse.

#### b) Dérégulation de la méthylation de l'ADN et Cancer

Les progrès sur la connaissance des acteurs moléculaires et des mécanismes modulant l'expression des gènes ont révélé, qu'en plus des mutations génétiques, des altérations épigénétiques contribuent à l'initiation et la progression des cancers.

La majorité des sites CpG au sein des cellules somatiques saines de l'organisme est méthylée contrairement aux îlots CpG, situés en position 5' et au niveau du premier exon des gènes qui ne le sont pas. Des perturbations de cet équilibre ont pu être observées au cours du processus de l'oncogénèse.

Une perte de méthylation au niveau de dinucléotides CpG isolés et une diminution globale du taux de 5-méthylcytosine ont été les premières modifications épigénétiques identifiées dans les cellules cancéreuses<sup>31</sup>, au sein desquelles on observe 20 à 60 % moins de cytosines méthylées qu'une cellule normale<sup>32</sup>. A l'inverse, ces cellules cancéreuses présentent une hyperméthylation locale de certains gènes, notamment des gènes suppresseurs de tumeurs, entraînant ainsi leur répression transcriptionnelle<sup>33</sup>.

D'une part, cette hypométhylation globale contribue à une instabilité génomique. Lorsqu'elle est observée au sein du site d'initiation du promoteur, pauvre en îlots CpG, elle peut occasionner l'activation de protooncogènes ainsi que la perte d'identité cellulaire et/ou la suppression de leur empreinte. Une étude a montré que le nombre de 5-méthylcytosine était significativement plus faible dans les tissus de patients atteints de carcinome hépatocellulaire (CHC) par rapport à des tissus sains<sup>34,35</sup>. Une diminution de la méthylation de LINE-1 (longs éléments nucléaires intercalés), une des séquences répétées du génome riches en CpG, a été

observée au sein des cellules de carcinomes hépatocellulaires<sup>36</sup>. De plus, le degré de méthylation réduit de LINE-1 était corrélé à la taille de la tumeur, suggérant que la méthylation de LINE-1 constituerait un marqueur de bon pronostic<sup>37</sup>.

D'autre part, le phénomène d'hyperméthylation, observé particulièrement sur les îlots CpG des gènes suppresseurs de tumeurs, a été rapporté. Cette hyperméthylation a été associée à une inhibition de la transcription et à l'inactivation des gènes concernés<sup>33</sup>. D'autres gènes sont également touchés par une augmentation du degré de méthylation, à savoir, les gènes impliqués notamment dans la réparation de l'ADN, dans l'adhésion et la migration cellulaire, dans l'inhibition de la prolifération cellulaire et dans l'apoptose. Des études ont également corrélé le pronostic du cancer au degré d'hyperméthylation. Par exemple, des patients porteurs d'une méthylation aberrante au niveau du promoteur BRCA1 ont présenté un plus mauvais pronostic que ceux porteurs de mutations génétiques touchant ce gène<sup>38</sup>. De la même manière, des hyperméthylations de promoteurs ont été associées à un pronostic plus sombre chez des patients atteints d'un cancer du poumon<sup>39,40</sup>.

Parallèlement aux altérations de la méthylation, des études ont révélé des modifications d'expression des DNMT. Le niveau des ARNm et les expressions de DNMT1, 3A et 3B ont été significativement plus importants dans les tissus de patients atteints de CHC par rapport aux tissus sains<sup>41</sup>. De plus, la survie globale ainsi que la survie sans progression étaient significativement plus faibles lorsque l'expression de DNMT1 était plus importante<sup>42</sup>. Cependant, d'autres études révèlent l'absence de lien entre expression de DNMT et méthylation de l'ADN.

Ces différentes observations révèlent que les modifications épigénétiques et les mutations génétiques sont imbriquées dans le processus de tumorigenèse. Contrairement à ces dernières, les altérations épigénétiques sont dynamiques et réversibles, ouvrant ainsi la voie à de nouvelles cibles thérapeutiques. C'est sur la base de ces observations que des chimiothérapies déméthylantes ont été développées par les industries pharmaceutiques. Actuellement, deux médicaments, l'azacitidine (Vidaza®) et la décitabine (Dacogen®) sont commercialisés pour le traitement des pathologies hématologiques. Seul l'azacitidine sera abordé à la suite de ce document.

## **B. UTILISATION DE L'AZACITIDINE DANS LA STRATEGIE THERAPEUTIQUE DES HEMOPATHIES MALIGNES**

### **1. AZACITIDINE : PREMIER AGENT HYPOMETHYLANT INDIQUE DANS LES HEMOPATHIES MALIGNES**

#### **a) Azacitidine : ses indications**

Le Vidaza® est indiqué dans le traitement des patients adultes non éligibles pour une greffe de cellules souches hématopoïétiques et présentant :

- Un syndrome myélodysplasique (SMD) de risque intermédiaire-2 ou élevé selon l'index pronostique international (International Prognostic Scoring System, IPSS).
- Une leucémie aiguë myéloblastique (LAM) avec 20-30% de blastes et dysplasie de lignées multiples, selon la classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS).
- Une leucémie myélomonocytaire chronique (LMMC) avec 10-29% de blastes médullaires sans syndrome myéloprolifératif.
- Une leucémie aiguë myéloïde avec plus de 30% de blastes (avis favorable du comité des médicaments à usage humain de l'agence européenne des médicaments pour cette extension d'indication depuis septembre 2015)<sup>43</sup>.

La posologie recommandée, indépendamment de l'indication, est de 75 mg/m<sup>2</sup> de surface corporelle, par injection sous-cutanée, quotidiennement pendant 7 jours, suivie d'une période de repos de 21 jours. La durée totale d'un cycle est de 28 jours. Il est recommandé d'administrer un minimum de 6 cycles de traitement avant de pouvoir évaluer une éventuelle efficacité<sup>44</sup>. Les médianes de délai de réponses (réponse complète, réponse partielle et amélioration hématologique) ont été de 4 mois, 85% des réponses étaient observées après les 6 premiers cycles dans l'étude d'enregistrement AZA-001, ayant permis la commercialisation du médicament. Le traitement doit être poursuivi tant qu'il apporte des bénéfices au patient ou jusqu'à progression de la maladie.



b) Propriétés pharmacodynamiques

L'azacitidine a été synthétisé pour la première fois en 1964 par Frantisek Sorm et al<sup>45</sup>. C'est un analogue nucléosidique de la cytosine, qui diffère de cette dernière par la présence d'un groupement azote en position 5. Son effet hypométhylant semble étroitement lié à cette modification chimique en C5. Après incorporation dans les chaînes d'acides nucléiques des mammifères, l'azacitidine subit trois phosphorylations conduisant à sa forme active : l'azacitidine triphosphate intracellulaire. C'est sous sa forme triphosphorylée, que la molécule d'azacitidine inhibe la synthèse de l'ADN, de l'ARN ainsi que celle des protéines, et participe également à l'activation de l'apoptose.

L'azacitidine subit, après pénétration dans la cellule, une première phosphorylation par une uridine cytidine kinase, contrairement à la décitabine qui est phosphorylée premièrement par une desoxycytidine kinase. Ce qui expliquerait l'absence de résistance croisée entre les deux molécules.

Des études ont montré que l'azacitidine s'incorpore préférentiellement à l'ARN plutôt qu'à l'ADN mais qu'après incorporation dans ce dernier, l'effet inhibiteur de la synthèse de l'ADN serait plus important que celui exercé sur la synthèse de l'ARN. Les propriétés antinéoplasiques de cette molécule semblent être dues à deux mécanismes différents. Premièrement, on peut observer une activité cytotoxique immédiate à forte dose, et dans un second temps, on observe une activité hypométhylante de l'ADN à des doses plus faibles<sup>45</sup> par liaison covalente à DNMT1. Son action cytotoxique est fortement observée dans les cellules à forte division cellulaire et celles en phase S. Les tissus à faible pouvoir mitotique semblent peu sensibles à l'azacitidine. In vitro, l'agent hypométhylant induit une apoptose concentration-dépendante des cellules cancéreuses. Un taux d'apoptose de 4% a été observé dans des cellules atteintes de leucémie promyélocytaire avec des concentrations d'azacitidine de 2  $\mu\text{mol}$  par litre ( $\mu\text{M}$ ), tandis qu'il était de 69% pour des concentrations de 16  $\mu\text{M}$ <sup>46</sup>.

L'azacitidine inhibe l'activité de l'ADN méthyltransférase et la méthylation de l'ADN nouvellement formé, provoquant l'induction de la différenciation cellulaire et à la réactivation des gènes inactivés par méthylation, notamment des gènes suppresseurs de tumeurs. Si le phénomène d'apoptose provoqué par l'azacitidine semble être dose dépendant, il n'en est pas de même pour l'inhibition de la synthèse de l'ADN.

Cependant, l'effet sur la réactivation de certains gènes ne peut s'expliquer qu'en partie par la capacité de l'azacitidine à hypométyler l'ADN. Différentes études s'intéressant à la relation entre l'activité hypométylante du médicament et la réponse clinique au traitement, ainsi qu'à celle entre méthylation de l'ADN et réponse au traitement, ont montré des résultats discordants et hétérogènes. Par exemple, une étude a révélé qu'un faible niveau de méthylation de CDKN2B était associé à une meilleure réponse au traitement : plus le degré de méthylation de base du promoteur CDKN2B était faible, plus on observait une réponse au traitement chez des malades traités par azacitidine dans le cadre d'un syndrome myélodysplasique à haut risque ou de leucémie aiguë<sup>47</sup>. Le gène suppresseur de tumeur CDKN2B code pour une protéine ayant pour fonction d'induire l'apoptose, la p15(INK4b). Dans cette étude, la réponse au traitement était corrélée au degré de méthylation de base de CDKN2B plutôt qu'à l'activité hypométylante du médicament. En effet, la 5-azacytidine avait permis une réduction de la méthylation de CDKN2B en moyenne de 6,8% chez 8 patients sur 17, mais cette réduction n'était en rien corrélée avec une réponse au traitement. Elle a démontré, en outre, que la réduction de la blastose médullaire chez les répondeurs était significative ( $p = 0,01$ ) allant de 85% avant traitement à 30% après alors qu'elle ne l'était pas chez les non répondeurs ( $p = 0,2$ ) allant de 85% à 65%. L'étude de Raj K<sup>47</sup> et al suggère que la réponse au traitement était corrélée à la cytotoxicité (réduction de la blastose médullaire ;  $p = 0,01$ ) et à l'augmentation de l'apoptose ( $p = 0,02$ ) plutôt qu'à la capacité d'hypométylation de l'azacitidine. Dans une étude sur 15 patients atteints de SMD et traités par azacitidine, une réduction significative du taux basal de loci méthylés chez les patients répondeurs a pu être observée (de 15,1% à 8,9% ;  $p = 0,01$ ), mais pas chez les non répondeurs, bien que le degré de méthylation de départ ne fût pas significativement différent entre les deux groupes<sup>48</sup>. L'analyse de l'essai pivot AZA-001 par Herman et son équipe a montré un bénéfice sur la survie globale des patients atteints de SMD à haut risque et traités par des injections d'azacitidine en sous cutanée (SC), bien que le bénéfice observé ait été indépendant du degré de méthylation de cinq promoteurs dont CDKN2B<sup>49</sup>.

L'étude de Christman et al a également montré l'implication de l'azacitidine in vitro dans la différenciation cellulaire des cellules leucémiques promyélocyaires HL-60<sup>50</sup>.

Bien qu'il soit clairement admis que les effets antinéoplasiques de l'azacitidine sont causés à la fois par l'action hypométylant de l'ADN et par un effet cytotoxique direct sur les cellules hématopoïétiques anormales de la moelle osseuse, il n'en demeure pas moins vrai que les mécanismes responsables d'efficacité du médicament n'ont pas été totalement élucidés.

c) Propriétés pharmacocinétiques

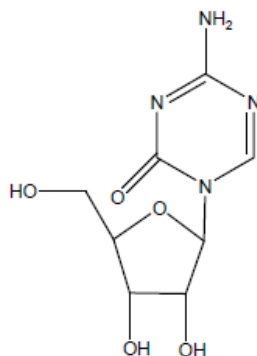


Figure 4 : Formule développée de la 5-azacytidine

(1) De la voie sous cutanée

L'azacitidine, de son nom chimique 4-Amino-1-β-D-ribofuranosyl-s-triazin-2(1H)-one [Figure 4], est une prodrogue qui pénètre à l'intérieur des cellules via un système de transport nucléosidique facilité pour subir trois séries de phosphorylation nécessaires à la formation du métabolite pharmacologiquement actif, le triphosphate d'azacitidine. Le métabolisme de l'azacitidine est comparable à celui de la cytidine, hormis le fait que l'azacitidine soit sensible à l'hydrolyse spontanée dans des solutions neutres et alcalines. La première phosphorylation, par l'uridine-cytidine kinase, constitue un facteur limitant et est sujette à une inhibition compétitive par le triphosphate d'uridine et le triphosphate de cytidine<sup>51</sup>.

In vitro, l'azacitidine n'est pas métabolisé par les cytochromes P450, ni par l'uridine diphosphate (UDP) glucuronosyltransférase mais son métabolisme est médié par une hydrolyse spontanée et par une déamination enzymatique par la cytidine déaminase (CDA). Cette déamination aboutit à la formation de la 5-aza-uridine, pharmacologiquement inactif. L'effet du polymorphisme de l'enzyme sur le métabolisme du médicament n'a pas été étudié dans les études ayant permis sa commercialisation.

La 5-azacytidine n'est pas inducteur de cytochrome P450 et le caractère inhibiteur de ces mêmes cytochromes semble peu probable.

La biodisponibilité de l'azacitidine administré en SC à la dose de 75 mg/m<sup>2</sup> est de 89% chez les patients d'origine caucasienne atteints de SMD. Elle est de 91% chez les personnes d'origine japonaise<sup>46</sup>. Après une dose unique de 75 mg/m<sup>2</sup> en SC, le médicament est rapidement

absorbé avec un temps (Tmax) nécessaire pour atteindre la concentration maximale (Cmax) moyenne de 750 ng/ml à 30 minutes et une aire sous la courbe (AUC) de 960 ng.h/ml. Après des doses répétées, la Cmax moyenne était de 1192,8 ng/ml avec une AUC à 1611,8 ng.h/ml. Le volume de distribution est d'environ 76 litres.

Après une dose unique de 75 mg/m<sup>2</sup> en SC, le médicament présente une demi-vie de 41 minutes et une clairance moyenne de 167,5 l/h. Son élimination est principalement rénale (73 à 98% de la dose est éliminée par les urines), la quantité éliminée dans les fèces reste négligeable. Les données sur l'utilisation de l'azacitidine en cas d'insuffisance rénale ou hépatique restent limitées. Les données de pharmacocinétique, après administration d'azacitidine SC à 75 mg/m<sup>2</sup>/jour pendant 5 jours consécutifs, chez des patients avec une clairance rénale inférieure à 30 ml/min sont les mêmes que celles observées chez le normorénal. Le résumé caractéristique du produit VIDAZA<sup>®</sup> stipule que « *chez les patients présentant une insuffisance rénale, l'azacitidine peut être administrée sans ajustement posologique initial* », des ajustements posologiques sont préconisés au cycle suivant en fonction du taux de bicarbonates sérique, de la créatinine et de l'urée sanguine. Les mêmes recommandations sont émises pour l'insuffisant hépatique sévère.

## (2) De la voie intraveineuse

Par voie intraveineuse, l'azacitidine a une demi-vie moyenne de 22 minutes. Sous sa forme sous-cutanée, le médicament a une demi-vie plus longue, ceci s'explique par le temps additionnel nécessaire au médicament administré par voie SC pour atteindre la circulation sanguine. La voie SC présente une biodisponibilité plus importante par rapport à une administration intraveineuse du médicament, comme le démontre l'étude de G. Marcucci et al<sup>52</sup>. Dans cette étude multicentrique et randomisée, réalisée sur 6 patients atteints de SMD, l'équipe de Marcucci compare les paramètres pharmacocinétiques après administration d'une simple dose d'azacitidine 75 mg/m<sup>2</sup> par voie sous cutanée versus une administration à la même dose par voie intraveineuse [ **Tableau 1**].

| Voie | Cmax (ng/ml)    | AUC0-∞ (ng.h/ml) | t <sub>1/2</sub> (min) | Cl (l/h)       |
|------|-----------------|------------------|------------------------|----------------|
| SC   | 750.0 ± 403.3   | 960.53 ± 458.06  | 41 ± 8                 | 167.48 ± 48.69 |
| IV   | 2750.0 ± 1069.0 | 1044.26 ± 285.67 | 22 ± 1                 | 146.70 ± 46.91 |

Tableau 1 : Paramètres pharmacocinétiques de la voie IV par rapport à la SC  
(Cl = Clairance, t<sub>1/2</sub> = temps de demi-vie)

### (3) Vers une forme orale

Des tentatives de formulation orale de la 5-azacytidine ont jusque-là échouées du fait de son métabolisme. En effet, la molécule est dégradée dans l'intestin par une hydrolyse spontanée en milieu aqueux et par la CDA. Dans leur étude, Garcia-Manero<sup>53</sup> et son équipe, ont étudié les propriétés pharmacocinétiques de l'azacitidine orale chez 4 patients atteints de SMD, LAM ou de tumeur solide et chez lesquels des doses de 60 à 80 mg d'azacitidine oral ont été administrées. Les comprimés d'azacitidine étaient recouverts d'un film protecteur permettant de contourner les difficultés liées à la métabolisation de la molécule, notamment, son absorption gastro-intestinale et ses interactions potentielles avec les autres substances ingérées. Garcia-Manero<sup>53</sup> et son équipe ont observé une biodisponibilité orale de 17,4% et des Cmax moyennes obtenues avec la dose de 80 mg à 8,5% des Cmax observées en SC. Selon cette étude, même à dose de 600 mg d'azacitidine per os, les paramètres pharmacocinétiques resteraient en dessous de ceux observés avec la voie SC à la posologie de 75 mg/m<sup>2</sup>/jour.

Le laboratoire Celgène, commercialisant le Vidaza<sup>®</sup>, a publié en juin 2015 les résultats d'une étude de pharmacocinétique et pharmacodynamique de l'azacitidine oral (CC-486)<sup>54</sup>. L'étude a été menée sur 86 patients, inclus dans 1 des 4 protocoles suivants : 300 mg une fois par jour pendant 14 ou 21 jours, ou 200 mg deux fois par jour pendant 14 ou 21 jours, sur des cycles de 28 jours. Les résultats de l'étude ont montré que la CC-486 était rapidement absorbée et que les Cmax étaient atteintes en moyenne 90 minutes après administration, quelle que soit la dose. Cependant une grande variabilité inter et intra-patient des paramètres pharmacocinétiques, a pu être observée sans en expliquer clairement la cause. Le fort polymorphisme enzymatique de la CDA pourrait être une des raisons. Le t<sub>1/2</sub> retrouvé était de 0,53 à 0,73h. La CC-486 a présenté une bonne<sup>54</sup> distribution et aucune accumulation n'a pu être observée après administrations répétées de CC-486. Parallèlement à ces données, le score global de méthylation de l'ADN (GDMS) a été évalué au cours de cette étude, montrant une diminution significative de ce score à la fin du cycle (soit à J28) avec les doses de 300 mg une fois par jour. Une hypométhylation plus large a été observée avec les posologies de 200 mg de CC-486, deux fois par jour, mais la petite taille de l'échantillon n'a pas permis de démontrer une significativité des résultats. Une relation a également pu être établie entre les propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques de CC-486. En effet les AUC étaient significativement corrélées aux modifications du profil de méthylation, et de même la réponse

clinique sous CC-486 a été en lien avec les modifications du profil de méthylation. Les patients chez lesquels une réponse clinique a pu être observée avaient une réduction significativement plus importante que les patients non répondeurs au traitement.

d) Profil de tolérance de l'azacitidine

(1) Issu de l'essai clinique AZA-001, de phase III

Les effets indésirables les plus couramment observés ( $\geq 5\%$  chez les patients traités par Vidaza® dans l'essai pivot de phase 3, AZA-001), tous grades confondus, sont de l'ordre hématologique, à savoir des cytopénies. La thrombocytopénie (69,7% des patients inclus dans AZA-001) a été décrite comme la toxicité hématologique la plus fréquente, suivie respectivement par la neutropénie (65,7%) et l'anémie (51,4%). La neutropénie fébrile et l'anémie sont les réactions indésirables graves les plus courantes, mais d'autres effets de fréquence moindre, ont été signalés au cours des essais cliniques tels que le sepsis neutropénique, la pneumonie, la thrombocytopénie et les accidents hémorragiques.

Les effets indésirables menant le plus fréquemment à l'arrêt du traitement ou à la diminution de la dose ont été la leucopénie, la thrombocytopénie et la neutropénie. La leucopénie, la neutropénie, la thrombocytopénie, la pyrexie, la pneumonie et la neutropénie fébrile ont conduit le plus souvent à une suspension de la dose.

Les toxicités chimio-induites autres qu'hématologiques ont également été décrites, il s'agit principalement de troubles digestifs (constipation [50,3%], nausées [48,0%], vomissements [26,9%], douleurs abdominales [12,6%]), des réactions au point d'injection type érythème (42,9%), de la pyrexie (30,3%), de la fatigue (24,0%), des troubles respiratoires (dyspnée [4,9%], douleurs pharyngolaryngées [6,3%]), des troubles de la peau (prurit [12,0%], pétéchies [11,4%]) ainsi que de l'hypertension (8,6%).

(2) Issu de la « vraie » vie

D'une manière générale, le profil de tolérance post commercialisation du Vidaza® a été similaire à celui signalé au cours des essais cliniques. Cependant, des effets indésirables non

décrits par ces derniers ont été rapportés au cours de l'utilisation du médicament dans la « vraie » vie [Tableau 2].

|                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|--------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Trouble des systèmes sanguin et lymphatique</b>                 | Diathèse hémorragique                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| <b>Troubles cardiaques</b>                                         | Fibrillation auriculaire, insuffisance cardiaque congestive, insuffisance cardiaque, épanchement péricardique                                                                                                                                                                                       |
| <b>Troubles gastro-intestinaux</b>                                 | Colite, perforation intestinale, pancréatite aiguë, sous-occlusion intestinale                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>Troubles généraux et problèmes au point d'administration</b>    | Décès, œdème périphérique, mort subite, nécrose au point d'injection                                                                                                                                                                                                                                |
| <b>Troubles hépatobiliaires</b>                                    | Insuffisance hépatique, hépatite, ascite, hyperbilirubinémie, jaunisse                                                                                                                                                                                                                              |
| <b>Infections et infestations</b>                                  | Sepsis, choc septique, infection, sepsis bactérien, abcès intestinal, cellulite, sepsis à <i>Pseudomonas</i> , infection des voies respiratoires inférieures, aspergillose broncho-pulmonaire, colite à <i>Clostridium difficile</i> , pneumonie lobaire, infection pulmonaire à <i>Pseudomonas</i> |
| <b>Blessure, empoisonnement et complications de l'intervention</b> | Rupture de la rate                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <b>Analyses et épreuves diagnostiques</b>                          | Augmentation de la créatinine sanguine, augmentation de la bilirubine sanguine, augmentation des transaminases                                                                                                                                                                                      |
| <b>Troubles du métabolisme et de la nutrition</b>                  | Déshydratation, hyperglycémie, hyponatrémie, syndrome de lyse tumorale                                                                                                                                                                                                                              |
| <b>Troubles du système nerveux</b>                                 | Convulsions de type grand mal                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| <b>Troubles rénaux et urinaires</b>                                | Insuffisance rénale aiguë, insuffisance rénale                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>Troubles respiratoires, thoraciques et médiastinaux</b>         | Maladie pulmonaire interstitielle, embolie pulmonaire, syndrome de détresse respiratoire aiguë                                                                                                                                                                                                      |
| <b>Troubles de la peau et des tissus sous-cutanés</b>              | Vascularite leucocytoclastique, syndrome de Sweet (dermatose aiguë fébrile neutrophilique), fasciite nécrosante                                                                                                                                                                                     |

Tableau 2 : Pharmacovigilance post commercialisation de Vidaza®

Les toxicités du Vidaza®, notamment les cytopénies, sont généralement modérées et permettent une prise en charge ambulatoire des patients.

## 2. INTERET DE L'AZACITIDINE DANS LES HEMOPATHIES MALIGNES

### a) Les syndromes myélodysplasiques

#### (1) Introduction : étiologie et épidémiologie

Les syndromes myélodysplasiques (SMD) sont des hémopathies clonales acquises, qui se caractérisent par une insuffisance médullaire qualitative provoquée par une prolifération excessive de progéniteurs myéloïdes anormaux. Suite à des altérations de la maturation des progéniteurs des trois lignées myéloïdes, signe d'une dysmyélopoïèse, ces derniers sont détruits par une apoptose excessive responsable des cytopénies observables au niveau périphérique<sup>55</sup>.

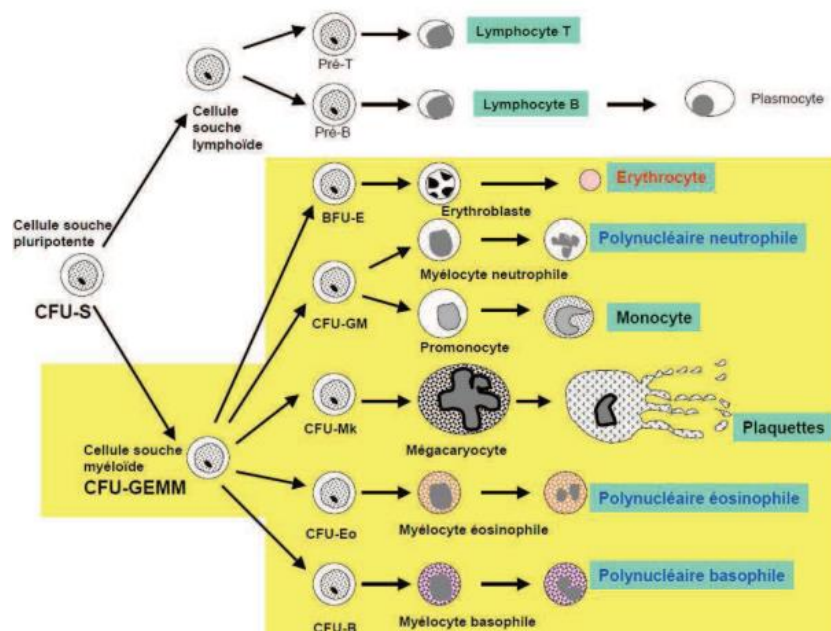


Figure 5 : Hématopoïèse, des précurseurs médullaires aux cellules sanguines<sup>56</sup>

D'abord considérés comme maladies bénignes ou états pré-leucémiques, ils ont été reconnus comme malins par la classification internationale qu'en 2001.

On distingue les formes idiopathiques, dites de « novo » représentant 80 à 90 % des cas et les formes secondaires (10% à 20% des cas), qui surviennent le plus souvent à la suite d'une exposition à un traitement de type chimiothérapie et/ou radiothérapie. Les cytotoxiques impliqués dans la survenue de SMD secondaires sont principalement représentés par la classe des agents alkylants (Melfalan, Cyclophosphamide, Chlorambucil, sels de platine, Dacarbazine, Procarbazine, Carmustine, Mitomycine C, lomustine ...) et des inhibiteurs des topoisomérases II (Etoposide, Doxorubicine, Daunorubicine)<sup>57</sup>.



De nombreux facteurs de risque prédisposant aux SMD ont été identifiés, parmi lesquels le tabagisme, l'exposition aux toxiques chimiques et aux solvants utilisés en agriculture (fertilisants, herbicides, pesticides), l'exposition aux dérivés du benzène (industrie pétrochimique, peintures) et des antécédents familiaux d'hémopathies.

Leur incidence est globalement de 4 à 5 pour 100 000 personnes<sup>58</sup> et par an. D'après l'institut national de veille sanitaire (INVS), pour l'année 2012 en France, le nombre de nouveaux cas de SMD était estimé à environ 4 000 dont 51 % chez l'homme avec un sexe ratio H/F à 1,5. Il s'agit d'une maladie touchant principalement le sujet âgé avec un âge médian au diagnostic de 78 ans chez l'homme et de 81 ans chez la femme<sup>59</sup>.

## (2) Physiopathologie

Les SMD constituent un groupe hétérogène d'hémopathies clonales (tant d'un point de vue histologique que cytogénétique) dues à des altérations génétiques et épigénétiques. Une ou plusieurs anomalies génétiques, portant sur un clone de cellules souches pluripotentes et sur les progéniteurs hématopoïétiques des lignées érythrocytaires, mégacaryocytaires et granulocytaires, affectent le contrôle du cycle cellulaire ou des facteurs de transcription. Ce qui provoque une prolifération excessive des cellules souches anormales. On retrouve ainsi une moelle riche mais qualitativement anormale avec des altérations morphologiques. Ces troubles de la différenciation cellulaire provoquent une apoptose importante des précurseurs médullaires à l'origine de cytopénies sanguines.

Différents mécanismes mutationnels, favorisant la dysmyélopoïèse, sont décrits dans la physiopathologie des SMD tels que la perte d'un allèle fonctionnel, les modifications épigénétiques, les anomalies de l'immunité, les anomalies de la réponse aux cytokines ainsi que des modifications au niveau des interactions avec le stroma<sup>60</sup> [Tableau 3].

Les mutations géniques touchant principalement des facteurs de transcription [le gène suppresseur de tumeur TP53, le régulateur de l'hématopoïèse primitive et de la mégacaryopoïèse RUNX1 (AML1)] et des oncogènes dont les mutations stimulent la signalisation des récepteurs cytokiniques (mutations de N/KRAS, rares mutations JAK2V617F) sont retrouvés dans 1 à 35 % des cas. Ces mutations affectent essentiellement des gènes

impliqués dans la régulation des modifications épigénétiques telles que la méthylation de l'ADN (TET2, DNMT3A) et les modifications covalentes d'histone (ASXL1, EZH2), ou des gènes de régulation de l'épissage alternatif (SF3B1, SRSF2)<sup>60</sup>. L'instabilité génétique qui en découle contribue à l'apparition d'anomalies secondaires favorisant l'évolution clonale et une acutisation du SMD en leucémie aiguë myéloïde, avec blocage de la différenciation cellulaire à un stade précoce de maturation et de surcroît une résistance cellulaire à l'apoptose.

La mutation TET2 est la mutation la plus fréquemment retrouvée dans les SMD, chez près de 20 % des patients<sup>61</sup>. TET2 code une dioxygénase qui permet la conversion des 5-méthylcytosine en 5-hydroxyméthylcytosine, modifiant ainsi l'empreinte épigénétique créée par les ADN méthyltransférases. Les mutations de TET2 sont également retrouvées dans les syndromes myéloprolifératifs (SMP) chez 10% des patients, dans 30 à 50% des cas dans la leucémie myélomonocytaire chronique et dans environ 25% des cas dans les LAM secondaires à un SMP/SMP. A ces modifications épigénétiques s'ajoute une méthylation aberrante du promoteur de CDKN2B, retrouvée chez 20 à 30 % des patients atteints de SMD et aboutissant à une répression de l'expression de ce régulateur négatif du cycle cellulaire.

| Fonction                                                    | Gène     | Fréquence |
|-------------------------------------------------------------|----------|-----------|
| Méthylation ADN                                             | DNMT3A   | 5-10 %    |
| Hydroxyméthylation de l'ADN                                 | TET2     | 15-25 %   |
| Triméthylation de l'histidine en 3 sur la lysine 27 (H3K27) | ASXL1    | 10-20 %   |
|                                                             | EZH2     | 3-7 %     |
| Facteur de transcription                                    | RUNX1    | 5-15 %    |
| Suppresseur de tumeur                                       | TP53     | 5-10 %    |
| Corépresseur de transcription                               | BCOR/L1  | 4-5 %     |
| Signalisation                                               | N-/K-RAS | 5-10 %    |
| Splicéosome                                                 | SRSF2    | 5-10 %    |
|                                                             | U2AF1    | 5-10 %    |
|                                                             | ZRSR2    | 5 %       |
|                                                             | SF3B1    | 15-30 %   |

Tableau 3 : Gènes mutés de façon récurrente  
(Encadrés en rouge les anomalies épigénétique)

### (3) Classification et pronostic des SMD

Actuellement trois classifications des SMD subsistent. La première datant de 1982 et proposée par le French-American-British Group (FAB) se base exclusivement sur les critères

purement morphologiques. Les deux autres proposées par l'OMS en 2001 et 2008 (version réactualisée) reposent sur des critères morphologiques et cytogénétiques comme la présence de sidéroblastes en couronne, la blastose médullaire, et l'existence ou non d'une dysplasie multilignée [ **Figure 6**].

A noter qu'avec la classification de l'OMS, les leucémies myélomonocytaires chroniques ne sont plus classées avec les SMD mais dans une entité mixte SMD/SMP. Les SMD avec excès de blastes supérieur à 20% sont classés dans les LAM et les SMD avec délétion 5q (syndrome 5q-) ressortent comme des entités individualisées.

Le score IPSS est le score pronostic référent pour stratifier les SMD. Il permet de prédire la survie globale et le risque de transformation en LAM en s'appuyant sur trois paramètres : le nombre de cytopénies, le pourcentage de blastes médullaires et le groupe de risque cytogénétique. Ce score subdivise les SMD en quatre groupes pronostics : risque faible, intermédiaire-1, intermédiaire-2, élevé. L'IPSS-R, révision 2012 de l'IPSS propose 5 catégories cytogénétiques à caractère pronostique.

D'autres scores comme le WPSS (WHO classification-based Prognostic Scoring System) ont pris en compte en plus des paramètres de IPSS, la dépendance transfusionnelle en culots globulaires et la dysplasie multilignée, qui représentent à eux seuls des facteurs de pronostic défavorable, permettant de reclasser en plus haut risque certains patients considérés comme bas risque par l'IPSS. Le score WPSS permet aussi de classer les patients en quatre groupes de risque : faible, intermédiaire, élevé, très élevé.

Le groupe francophone des myélodysplasies (GFM) recommande d'utiliser le score IPSS classique, score sur lesquelles se basent les RCP des médicaments, dont celui du Vidaza®.

| FAB                                                                                                                                                                                      | OMS 2001                                                                                                                          | OMS 2008                                                                                                                          |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Anémie réfractaire (AR)<br><div>&lt;1%</div> <div>&lt;5%</div>                                                                                                                           | Anémie réfractaire<br><div>Blases absents ou rares</div> <div>&lt;5%</div>                                                        | Cytopénie Réfractaire avec dysplasie <b>unilignée</b><br><div>Blases absents ou rares</div> <div>&lt;5%</div>                     |
| AR sidéroblastique<br><div>&lt;1%</div> <div>&lt;5%</div>                                                                                                                                | Cytopénie Réfractaire avec dysplasie multilignée<br><div>Absences ou rare blastes</div> <div>Pas de CA</div> <div>&lt;5%</div>    | Cytopénie Réfractaire avec dysplasie multilignée<br><div>Absences ou rare blastes</div> <div>Pas de CA</div> <div>&lt;5%</div>    |
| AR avec excès de blastes<br><div>&lt;5%</div> <div>5-20%</div>                                                                                                                           | Cytopénie Réfractaire avec dysplasie multilignée et sidéroblastes en couronne<br><div>absence de blastes</div> <div>&lt;5%</div>  | AR avec sidéroblastes en couronne<br><div>Absences ou rare blastes</div> <div>Pas de CA</div> <div>&lt;5%</div>                   |
| AR avec excès de blastes en transformation<br><div>&lt;5%</div> <div>&lt;21-30%</div>                                                                                                    | AR avec sidéroblastes en couronne<br><div>absence de blastes</div> <div>&lt;5%</div>                                              | AR avec excès de blastes-1<br><div>&lt;5% de blastes</div> <div>Pas de CA</div> <div>&lt; 1G/I</div> <div>5% - 9%</div>           |
| LMMC<br><div>&lt;5%</div> <div>&lt;21-30%</div> <div>&gt;1G/I</div>                                                                                                                      | AR avec excès de blastes-1<br><div>&lt;5% de blastes</div> <div>Pas de CA</div> <div>&lt; 1G/I</div> <div>5%-9%</div>             | AR avec excès de blastes-2<br><div>5-19% blastes</div> <div>+/- CA</div> <div>&lt; 1G/I</div> <div>10-19%</div> <div>+/- CA</div> |
|                                                                                                                                                                                          | AR avec excès de blastes-2<br><div>5-19% blastes</div> <div>+/- CA</div> <div>&lt; 1G/I</div> <div>10-19%</div> <div>+/- CA</div> | SMD avec délétion 5q isolée<br><div>&lt; 5%</div> <div>5-20%</div>                                                                |
|                                                                                                                                                                                          | SMD avec délétion 5q isolée<br><div>&lt; 5%</div> <div>5-20%</div>                                                                | SMD inclassable<br><div>Absence ou rares blastes</div> <div>Pas de CA&lt;5%</div> <div>&lt;5%</div>                               |
|                                                                                                                                                                                          | SMD inclassable<br><div>Absence ou rares blastes</div> <div>Pas de CA&lt;5%</div> <div>&lt;5%</div>                               |                                                                                                                                   |
| <div> <div></div> Anomalies sanguines <div></div> Anomalies médullaires <div>CA = Corps d'Auer</div> <div>AR = Anémie Réfractaire</div> <div>SMD= Syndrome Myélodysplasique</div> </div> |                                                                                                                                   |                                                                                                                                   |

Figure 6 : Classification des SMD<sup>60</sup>

b) La leucémie aiguë myéloïde

(1) Introduction : étiologie et épidémiologie

Les leucémies aiguës myéloblastiques se caractérisent par un envahissement médullaire de cellules hématopoïétiques immatures (les blastes) bloquées à un stade précoce de leur différenciation et inhibant ainsi l'hématopoïèse physiologique. Il en résulte des cytopénies périphériques, des disséminations blastiques dans le sang et potentiellement des infiltrations dans les organes tels que la rate, le foie ou le système nerveux central. Pour poser le diagnostic de LAM, on doit dénombrer au myélogramme plus de 20% de blastes (classification OMS).

Elles peuvent être de novo ou secondaire à un SMD ou à un traitement chimiothérapique. En plus des facteurs de risques héréditaires, les radiations ionisantes, les expositions à des produits chimiques comme le benzène, et le tabagisme sont des facteurs prédisposant au développement des LAM.

En 2012, environ 2800 cas incidents en France ont été déclarés, avec un sexe ratio H/F à 1,1. La LAM est une maladie touchant essentiellement la personne âgée avec un âge médian de 71 ans. C'est une des hémopathies dont le taux d'incidence (standardisé sur la population mondiale) augmente de 1 à 2 % par an entre 1980 et 2012 autant chez l'homme que chez la femme (+147 % d'augmentation du nombre de nouveaux cas)<sup>59</sup>.

(2) Physiopathologie

Comme dans les SMD, plusieurs mécanismes mutationnels complexes ont été décrits dans le processus de leucémogénèse. On distingue différents types d'anomalies génétiques, certaines conférant des propriétés d'auto-renouvellement et de prolifération des cellules malignes (mutations activatrices de récepteurs à activité tyrosine kinase tels que FLT3, KIT ou RAS) et d'autres ont pour conséquence le blocage de la différenciation myéloïde (anomalies de facteurs de transcription CBFB-MYH11 ou PML-RARA). Les principales mutations retrouvées dans les LAM sont reportées sous forme de tableau à la suite de ce document [**Tableau 4**].

Certains des gènes mutés jouent un rôle dans la régulation épigénétique notamment les gènes TET2 IDH1/2 et DNMT3A impliqués dans la méthylation de l'ADN et les gènes ASXL1 et EZH2 dans les modifications post-traductionnelles des histones. Le gène ASXL1, participant au remodelage de la chromatine est modifié dans 11% des LAM. Cette mutation entraînerait

une surexpression de certains micro-ARN impliqués dans la régulation des précurseurs hématopoïétiques<sup>62</sup>.

La mutation IDH1/2, retrouvée dans 6 à 12% des LAM, permet de réduire l'alpha-cétoglutarate en 2-hydroxyglutarate. Ce dernier inhibe l'activité de TET2 et entraîne ainsi une diminution de la synthèse de 5-hydroxyméthylcytosine, ce qui aurait pour conséquence d'altérer la méthylation de l'ADN et de bloquer in vitro de la différenciation myéloïde<sup>63</sup>.

En plus des altérations d'ordre génétiques et épigénétiques [**Tableau 4**], l'existence d'une niche hématopoïétique hébergeant des cellules souches leucémiques (CSL) dont l'activité serait modulée par un microenvironnement<sup>64,65</sup> a été mise en évidence dès 1994 chez la souris puis chez l'homme<sup>66</sup>. La greffe de blastes leucémiques, proches des cellules souches hématopoïétiques (CS) humaines, chez la souris immunodéficiente, a permis de reconstituer l'ensemble du phénotype tumoral humain. En plus de la capacité à s'auto-renouveler et à se différencier à l'instar des cellules souches humaines, les CSL contrairement aux dernières prolifèrent de manière incontrôlée et ont la capacité de se disséminer dans l'organisme. Ces cellules souches leucémiques seraient issues de CSH humaines ayant subi un stress génotoxique. Des études suggèrent que le microenvironnement leucémique serait à l'origine des rechutes en maintenant en quiescence les CSL et de la chimiorésistance en les protégeant des cytotoxiques.

| Fonction                                                  | Gène concerné par la mutation                                                    | Fréquence de la mutation dans les LAM                    |
|-----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| Tyrosine kinase                                           | FLT3-ITD<br>FLT3-TKD<br>KIT<br>JAK1<br>JAK3                                      | 20–28%<br>5–10%<br>25–30%<br>1–3%<br>1–2%                |
| Voie de signalisation d'EGFR                              | NRAS<br>KRAS<br>NF1                                                              | 9–14%<br>5–17%<br>< 5%                                   |
| Phosphatase                                               | PTPN11                                                                           | 4–5%                                                     |
| Ubiquitination                                            | CBL                                                                              | 2–3%                                                     |
| Navette nucléo-cytoplasmique                              | NPM1                                                                             | 25–35%                                                   |
| Facteurs de transcription                                 | CEBPA<br>RUNX1<br>GATA2<br>RUNX1-RUNX1T1<br>CBFB-MYH11<br>PML-RARA<br>DEK-NUP214 | 10–20%<br>5–13%<br>3–5%<br>10–15%<br>3–8%<br>5–10%<br>1% |
| Hydroxyméthylation de l'ADN                               | TET2<br>IDH1<br>IDH2                                                             | 8–27%<br>6–9%<br>9–12%                                   |
| Méthylation de l'ADN                                      | DNMT3A                                                                           | 18–23%                                                   |
| Méthylation de l'histone H3 sur le résidu lysine 4 (H3K4) | MLL fusion/MLL-PTD                                                               | 10-15%                                                   |
| Triméthylation de H3K27                                   | ASXL1<br>EZH2                                                                    | 3–11%<br>< 5%                                            |
| Corépresseurs de transcription                            | BCOR<br>BCORL1                                                                   | 4–5%<br>6%                                               |
| Cohésines                                                 | STAG2<br>SMC3<br>SMC1A<br>RAD21                                                  | 2%<br>3%<br>3%<br>2%                                     |
| Suppresseurs de tumeurs                                   | TP53<br>WT1                                                                      | 7–12%<br>10–13%                                          |
| Splicéosome (épissage)                                    | SF3B1<br>SRSF2<br>U2AF1                                                          | 10–15%                                                   |

Tableau 4 : Principaux gènes mutés identifiés dans les LAM  
(Encadrés en rouge les gènes impliqués dans l'épigénétique)

c) Leucémie myélomonocytaire chronique

(1) Introduction : étiologie et épidémiologie

La leucémie myélomonocytaire chronique (LMMC) est une hémopathie maligne clonale de la CSH dont les critères diagnostiques principaux sont une monocytose sanguine supérieure à 1G/l (persistante pendant au moins 3 mois) et un nombre de blaste médullaire inférieur à 20%. Longtemps classée avec les SMD de par son caractère à la fois prolifératif et dysplasique (classification FAB), elle a été reconnue depuis la classification OMS de 1999 comme étant une entité à part entière, distincte des SMD.

Les SMD/SMP ont tous en commun :

- Un pourcentage de blastes inférieur à 20% dans le sang et la moelle
- Une absence de chromosome Philadelphie ou de réarrangement BCR-ABL
- Une absence d'hyperéosinophilie > 1,5 G/l

La classe des SMD/SMP est subdivisée en cinq entités. On distingue la LMMC, la LMMC juvénile touchant l'enfant de moins de 15 ans, la leucémie myéloïde chronique BCR-ABL1 négative, les SMD/SMP avec sidéroblastes en couronne et thrombocytose, et les SMD/SMP inclassables.

Bien qu'elle soit parmi les SMD/SMP, l'entité la plus fréquente, la LMMC reste à ce jour une maladie rare, dont l'incidence est de 1 à 5 nouveaux cas pour 100 000 habitants par an, qui atteint principalement le sujet âgé (moyenne d'âge de 70 ans). La LMMC touche préférentiellement l'homme avec un sexe ratio H/F à 2. Vingt-cinq pour cent à 35% des LMMC s'accroissent en LAM.

(2) Physiopathologie

L'origine de l'apparition des LMMC semble s'expliquer par la présence d'anomalies moléculaires au sein des précurseurs immatures, retrouvée chez 90% des patients. Ces derniers vont alors se différencier plutôt vers la voie granulomonocytaire au détriment de la voie menant aux cellules érythro-mégacaryocytaires<sup>67</sup>. Cette différenciation déséquilibrée pourrait s'expliquer par certaines mutations comme celles affectant le gène TET2 et les voies de signalisation (voie RAS), il en résulterait une sensibilité accrue des progéniteurs



granulomonocytaires au GM-CSF. Cette hypersensibilité au GM-CSF est retrouvée dans 40% des cas de LMMC et 90% des cas de LMMC juvéniles<sup>68</sup>.

Le clone leucémique génère une monocytose sanguine qui s'expliquerait à la fois par un défaut d'apoptose dû à une élévation de l'expression de certaines protéines anti-apoptotiques (Mcl-1 et de Bcl-XL) et par la présence de cellules granuleuses immatures et dysplasiques douées de fonctions immunosuppressives. L'ensemble de ces mécanismes jouerait un rôle dans le blocage de la différenciation des monocytes en macrophage. En plus de cette monocytose observable en périphérique, des granuleuses dysplasiques immatures peuvent également être présentes dans le sang périphérique des patients atteints de LMMC.

Alors que les anomalies moléculaires sont présentes dans la grande majorité des cas de LMMC, les anomalies cytogénétiques ne sont retrouvées que dans 30% des cas [Tableau 5].

Le gène TET2, jouant un rôle majeur dans la méthylation de l'ADN comme expliqué dans les sous-chapitres précédents, est le gène le plus fréquemment muté dans la LMMC. Des anomalies touchant ce gène sont retrouvées dans environ 60% des cas.

| Fonction                                 | Gène   | Fréquence |
|------------------------------------------|--------|-----------|
| Hydroxyméthylation de l'ADN              | TET2   | 58%       |
|                                          | IDH1   | <1%       |
|                                          | IDH2   | 6%        |
| Triméthylation de H3K27                  | ASXL1  | 40%       |
|                                          | EZH2   | 5%        |
| Méthylation de l'ADN                     | DNMT3A | 2%        |
| Splicéosome (épissage)                   | SRSF2  | 46%       |
|                                          | ZRSF2  | 8%        |
|                                          | SF3B1  | 6%        |
|                                          | U2AF1  | 5%        |
| Voie de signalisation et tyrosine kinase | NRAS   | 11%       |
|                                          | CBL    | 10%       |
|                                          | KRAS   | 8%        |
|                                          | JAK2   | 8%        |
|                                          | FLT3   | 3%        |
| Facteurs de transcription                | RUNX1  | 15%       |
| Navette nucléo-cytoplasmique             | NPM1   | 1%        |
| Suppresseur de tumeur                    | TP53   | 1%        |

Tableau 5 : Principales mutations des gènes dans le LMMC  
(Encadrés en rouge : les gènes impliqués dans la régulation épigénétique)

d) Efficacité thérapeutique de l'azacitidine dans les hémopathies malignes

- Données issues des études d'enregistrements

Dans une étude américaine de phase III, GALGB 9221, randomisant 191 patients atteints de SMD et ayant reçu 75 mg/m<sup>2</sup>/jour de 5-azacytidine en SC pendant 7 jours tous les 28 jours versus des patients recevant uniquement de soins de support (transfusions globulaires et plaquettaires, antibiotiques...), une réponse au traitement a été observée chez 60% des patients du bras azacitidine (7% de RC, 16% de RP, 37% d'amélioration hématologique) versus 5% pour le bras « traitement de support » ( $p$  value < 0,001). Les réponses à l'azacitidine ont été observées après 3-4 mois de traitement et le délai moyen de transformation leucémique était de 21 mois pour le bras azacitidine versus 13 pour le second bras. Dans cette étude la qualité de vie a également été évaluée, montrant que les patients du bras azacitidine présentaient une meilleure qualité de vie avec notamment une amélioration de la fatigue et de la dyspnée par rapport au bras soin de support. Les résultats de l'étude concluaient que le traitement par azacitidine permet d'obtenir significativement des meilleurs taux de réponse, une amélioration de la qualité de vie et une réduction de risque de transformation leucémique. Cependant l'étude GALGB 9221 ne s'est centrée qu'uniquement sur les patients ayant un SMD à haut risque. Des études précédentes de phase I et II (GALGB 8421 et 8921) ont également montré un taux de réponse proche de 50%, avec une amélioration hématologique observée chez 13% des patients. Une réponse partielle ou complète avait été obtenue chez 27% des patients dans GALGB 8921. Une analyse de ces trois études par Silverman et al<sup>69</sup> en 2006 a montré que pour 90% des patients répondeurs, la réponse au traitement a été obtenue après six cycles.

Dans l'étude pivot internationale de phase III, AZA-001, dont l'objectif principal était d'évaluer l'amélioration de la survie chez les patients atteints de SMD primaire à haut risque (AREB ou LMMC selon la classification FAB), le traitement par Vidaza<sup>®</sup> a été associé à une survie médiane de 24,46 mois contre 15,02 chez les patients sous schémas thérapeutiques standards ( $p = 0,0001$ ). Les taux de survie à 2 ans ont été de 50,8 % chez les patients traités par 5-azacytidine versus 26,2% chez les patients recevant des schémas thérapeutiques standards [soins de support, chimiothérapie par cytarabine ou anthracyclines] ( $p < 0,0001$ )<sup>51</sup>. Les taux de réponse complète et partielle étaient également supérieurs pour les patients sous Vidaza<sup>®</sup>, 17% versus 8% ( $p = 0,015$ ) et 12% versus 4% ( $p = 0,0094$ ) ; respectivement, confirmant ainsi les résultats des études antérieures (GALGB). Dans cette même étude, le traitement par Vidaza<sup>®</sup> a montré un bénéfice sur la dépendance transfusionnelle des patients. En effet, le pourcentage de

patients dépendant des transfusions avant traitement et ayant développé une autonomie transfusionnelle avec le traitement était plus important pour les patients ayant bénéficié du traitement par Vidaza® par rapport aux patientx sous schémas thérapeutiques standards. La durée médiane de l'autonomie transfusionnelle à l'égard des culots globulaires a été de 13,0 mois. A noter que le taux de réponse globale (complète et partielle) était en faveur du groupe de patients traités par Vidaza® à l'exception du sous-groupe de patients traités par chimiothérapie intensive, qui ont obtenu un taux de réponse complète supérieur.

Une analyse des sous-groupes de l'essai de phase III AZA-001 a montré un bénéfice de survie globale chez les patients présentant une LAM avec 20 à 30 % de blastes (classification OMS). En effet, la médiane de survie et le taux de survie à 2 ans étaient significativement meilleurs dans le groupe traité par azacitidine (55 patients) versus celui ayant reçu un traitement conventionnel (58 patients). Cette analyse a montré que les patients ayant atteint une indépendance transfusionnelle de globules rouges étaient significativement plus nombreux dans le groupe azacitidine ( $p < 0,05$ ).

Une étude multicentrique de phase III, AZA-AML-001, incluant 488 patients, a évalué l'efficacité et la tolérance de l'azacitidine (versus un traitement standard) chez les patients de plus de 65 ans présentant une LAM avec plus de 30 % de blastes médullaires, de novo ou secondaire à un SMD, et non éligible à une allogreffe<sup>70</sup>. Après un suivi médian de 24,4 mois, la médiane de survie était de 10,4 mois dans le groupe azacitidine contre 6,5 mois dans le groupe traitement standard. En termes de survie globale, il n'y avait pas de différence significative. Parmi les patients dépendant aux transfusions globulaires avant traitement, 38,5% d'entre eux sont devenus transfusion-indépendants après azacitidine contre 27,6% après traitement standard. De la même manière, un plus grand nombre de patients est devenu indépendant des transfusions plaquettaires dans le groupe azacitidine par rapport au groupe témoin (40,6% versus 29,3%).

- Données issues de la « vraie vie »

Une analyse française de 105 patients ayant bénéficié de l'azacitidine dans le cadre d'une autorisation temporaire d'utilisation (ATU) de 2004 à 2006 dans 34 centres a été menée par Sebert et al<sup>71</sup> (selon la classification de l'OMS, 49 patients étaient atteints d'AREB, 42 de LAM post SMD, 4 de LMMC, 1 d'anémie réfractaire avec sidéroblastes en couronne, 2 atteints de cytopénie réfractaire avec dysplasie multilinéaire, 7 de SMD inclassable). Au cours de cette période d'ATU, les 105 patients ont reçu en moyenne 5 cycles d'azacitidine [1-18+] à la posologie de 75 mg/m<sup>2</sup> pendant 7j sur un cycle de 28j. L'analyse des taux de réponse a été réalisée sur 85 d'entre eux. Le taux de réponse complète, réponse partielle et ceux avec amélioration hématologique étaient respectivement de 12%, 34% et 18% avec 36% en échec de traitement. La médiane de survie après inclusion était de 8 mois [1- 24+]. L'azacitidine a provoqué des hématotoxicités conduisant à une réduction de dose chez 16% des patients et des hospitalisations chez 23%. Les patients avec caryotype défavorable avaient des taux de réponse d'environ 59%. Les auteurs ont conclu que la réponse au traitement était observée en moyenne après 4 cycles et avec des taux de réponses au moins comparables à ceux observés au cours des études GALGB.

Dans une étude multicentrique rétrospective, Van der Helm et al<sup>72</sup>, ont analysé le taux de réponse au Vidaza<sup>®</sup> chez 90 patients atteints de SMD, LAM et LMMC. Les résultats obtenus étaient comparables à ceux de l'étude AZA-001. Les patients avaient reçu en moyenne 5 cycles [1-19] et 48% d'entre eux avaient répondu au traitement (14% en rémission complète, 11% en réponse médullaire et 21% en amélioration hématologique) avec un délai moyen avant obtention d'une réponse de 2 cycles. Après 6 cycles, 74% des patients répondaient encore au traitement. La médiane de survie était de 13 mois et cette dernière était significativement meilleure à celle des patients n'ayant pas répondu au traitement ( $p < 0,001$ ).

Une autre étude belge multicentrique a évalué l'efficacité et la tolérance de l'azacitidine chez 49 patients dont 69% atteints de SMD. Les auteurs ont conclu à une efficacité clinique de l'azacitidine avec un profil de tolérance acceptable<sup>73</sup>.

Une étude autrichienne conclut que les résultats cliniques observés chez des patients atteints de LAM avec plus de 30% de blastes médullaires étaient similaires à ceux observés dans l'essai AZA-AML-001, en termes de survie globale et de dépendance transfusionnelle<sup>74</sup>.

Une étude, qui a porté sur l'évaluation d'un traitement par azacitidine chez 10 patients atteints de LMMC avec pronostic défavorable (moyenne d'âge de 75 ans), a conclu à une réponse globale du traitement chez 70% d'entre eux. Chez 9 patients sur 10, une rémission complète a été observée dans 44% des cas, une réponse partielle dans 3% des cas et 2 patients sur 9 ont progressé vers une LAM respectivement après 6 et 14 cures d'azacitidine<sup>75</sup>. L'étude conclut à une efficacité et un bénéfice significatifs d'une thérapeutique par azacitidine.

- Intérêt dans l'allogreffe de cellules souches

Plusieurs études ont évalué l'intérêt de l'azacitidine avant transplantation de cellules souches, qui à ce jour, reste le seul traitement curatif des SMD. Dans une étude rétrospective sur 34 patients ayant subi une transplantation de CS dont 14 après avoir été traités par 5-azacytidine pour un SMD, Vigil et al<sup>76</sup>, ont montré qu'il n'y avait pas de différence significative en termes de survie globale, de survie sans progression et de complications post transplantation entre les deux groupes. L'étude de Field et al<sup>77</sup> conclut également à un devenir similaire en termes de survie globale à un an, d'incidence de rechute et de survie sans progression. Cette étude portait sur 30 patients prétraités par azacitidine avant transplantation de CS et 24 patients vierges de tout traitement hypométhylant avant la greffe.

En 2010, Lima et al ont évalué un éventuel impact d'un traitement par 5-azacytidine chez 45 patients en rémission complète après transplantation de CS. L'étude conclut à un bénéfice sur la survie globale et sur la survie sans progression d'un protocole azacitidine en maintenance après une greffe<sup>78</sup>. Cependant à ce jour, les données actuelles ne permettent pas de recommander l'utilisation de l'azacitidine en maintenance post greffe.

- Chez le sujet âgé

L'analyse des patients de plus de 75 de l'étude AZA-001 a montré qu'un traitement par 5-azacytidine chez la personne âgée (> 75 ans) apporte de meilleurs taux de réponse par rapport aux thérapeutiques standards et avec un profil de tolérance acceptable. Un allongement de la survie avec une médiane de survie non atteinte dans le groupe 5-azacytidine contre 10,8 mois dans le groupe traitements standards ( $p = 0,0193$ ), et une survie à 2 ans de 55% chez les patients traités par Vidaza<sup>®</sup> versus 15% dans le groupe comparatif ( $p = 0,0003$ ) ont été constatés.

## C. ETUDE DE LA CYTIDINE DEAMINASE CHEZ LES PATIENTS TRAITES PAR AZACITIDINE

### 1. INTRODUCTION

Les cytidine déaminases sont des aminohydrolases. Ce sont des enzymes impliquées dans la voie de sauvetage des pyrimidines en catalysant la déamination hydrolytique et irréversible de la cytidine et déoxycytidine respectivement en uridine et déoxyuridine [Figure 7]. On distingue trois catégories de cytidine déaminases, la protéine cytidine déaminase (CDA), la déoxycytidine déaminase et les cytidine déaminases appartenant à la famille AID/APOBEC (activated induced deaminase/ Apolipoprotein-B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide-like). Les AID/APOBEC hydrolysent le substrat directement sur l'ADN ou l'ARN, tandis que la protéine CDA cytoplasmique catalyse la cytidine et déoxycytidine sous sa forme libre. La suite de ce document ne sera portée que sur la protéine cytidine deaminase humaine.

Récemment, un nouveau membre de la famille des cytidine déaminases a été identifié, il s'agit du NYD-SP15. Il serait impliqué dans la régulation du développement des testicules, dans la spermatogénèse et dans la prolifération cellulaire<sup>79</sup>.

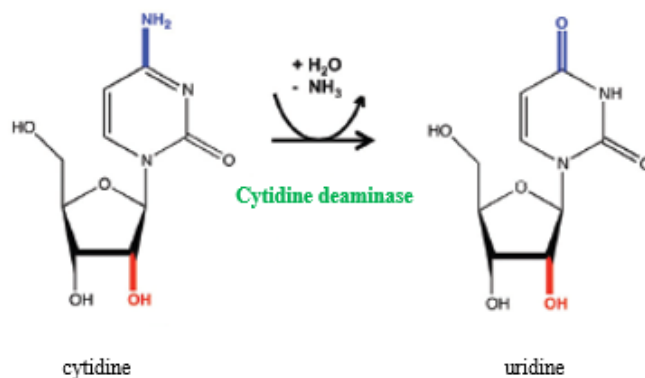


Figure 7 : Réaction de déamination par la cytidine déaminase des analogues nucléosidiques

### 2. EXPRESSION, ACTIVITE ENZYMATIQUE ET VARIABILITE DE LA CDA

Chez l'Homme, le gène codant pour la CDA est localisé sur le chromosome 1 (1p35- p36.2) et s'étend sur approximativement 31 kb. Il comporte 4 exons de 60 à 450 paires de bases, séparés par 3 introns de 4,6 à 16 kb et code pour un polypeptide de 146 acides aminés. La CDA a un poids moléculaire d'environ 16 kDa.

La CDA est une enzyme homotétramérique dont les quatre sous-unités identiques contiennent chacune un atome de zinc, jouant un rôle central dans son mécanisme catalytique. Le domaine catalytique, en doigts de zinc, hautement conservé au cours de l'évolution permet l'activation d'une molécule d'H<sub>2</sub>O en ion hydroxyde, il en résulte la libération du NH<sub>3</sub> par attaque nucléophile du substrat en C4. Le site actif d'un monomère est constitué par les acides aminés provenant des trois autres sous-unités. Cette particularité structurale s'explique par des interactions complexes entre les différentes sous-unités. La structure tétramérique indispensable à l'activité de déamination de l'enzyme est stabilisée par la tyrosine en position 33 de chaque monomère.

Outre ses substrats physiologiques, la CDA catalyse également les cytotoxiques analogues nucléosidiques de la cytidine telles que la gemcitabine et la 5-azacytidine, et joue un rôle important dans la pharmacologie de ces médicaments. Il en résulte des métabolites pharmacologiquement inactifs.

La forte activité CDA au niveau hépatique s'explique par les hauts niveaux d'expression de son ARNm retrouvés au niveau du foie. De la même manière, des taux élevés ont été dosés au niveau du placenta, contrairement aux organes comme les poumons ou le rein, pour lesquels l'expression de l'ARNm est plus faible. Aucune expression de son ARNm n'a été cependant décelée dans les muscles, le cœur et le cerveau **[Figure 8]**. Les polynucléaires neutrophiles matures ont présenté de forte concentration en CDA, supérieures à celles retrouvées dans les autres éléments figurés du sang, comme les lymphocytes. En effet, la protéine CDA est également marqueur de la différenciation des polynucléaires neutrophiles. On observe une augmentation de l'expression de son ARNm au cours de la maturation de la lignée myéloïde.

Dans l'étude de Thompson et al<sup>80</sup>, l'activité CDA dans le liquide synovial des patients atteints d'arthrite rhumatoïde était jusqu'à 20 fois supérieure à celle mesurée dans le sérum. Les auteurs concluent à une libération de la CDA par les neutrophiles de la synovie dans le sang et à une corrélation entre activité de la CDA élevée et degré d'inflammation. Dans leur étude, Kassimos et al<sup>81</sup>, ont détecté une activité sérique de la CDA plus importante chez les patients âgés atteints d'arthrite rhumatoïde active par rapport aux patients atteints de polymyalgies rhumatismales, liant également cette augmentation de la CDA à une inflammation du liquide synovial. L'étude conclut à l'utilisation possible de l'activité de la CDA comme marqueur de différenciation entre les deux pathologies.

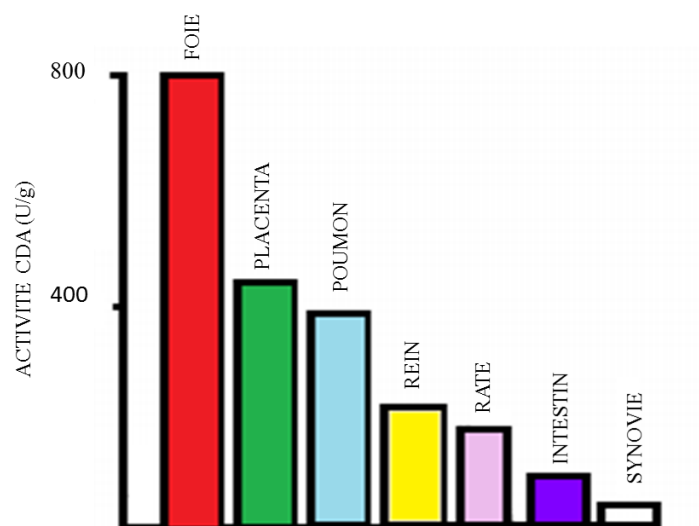


Figure 8 : Répartition de l'activité de la CDA dans les tissus<sup>80</sup>

En plus, de la variabilité inter-tissus et inter-organes, l'expression de l'activité de la CDA diffère en fonction de certaines situations pathologiques [Tableau 6]. Cependant, aucune influence significative de l'âge ou de sexe n'a été retrouvée sur l'expression de la protéine CDA.

| Activité CDA élevée                                                                                           | Activité CDA normale                                        |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| Septicémie<br>Pyélonéphrite<br>Arthrite rhumatoïde<br>Pneumonie<br>Hépatites virales<br>Métastases hépatiques | Pancréatite<br>Cystite<br>Hypertension de la femme enceinte |

Tableau 6 : Activité de la cytidine deaminase au cours de diverses pathologies<sup>80</sup>

A cela, s'ajoute une variabilité interindividuelle qui s'explique par le fait que l'enzyme soit soumise au polymorphisme génétique.



### 3. MESURE DE L'ACTIVITE DE LA CYTIDINE DEAMINASE

L'activité de la CDA est mesurée selon deux techniques différentes<sup>82</sup> :

- La mesure par chromatographie liquide haute performance
- La mesure par spectrophotométrie de la quantité d'ammonium libéré après incubation du sérum en présence de la cytidine.

Cette activité est exprimée en unité par quantité de protéines sériques.

Dans l'étude de Peters et al<sup>83</sup>, la technique par spectrophotométrie a été jugée comme étant la plus simple et la plus coût-efficace. Le sérum a été jugé comme étant le compartiment le plus adapté pour la mesure de l'activité de la CDA.

A ce jour, aucune norme concernant les valeurs d'activités de la CDA n'a été établie. Si les travaux de Peters et al ont retrouvé des activités moyenne et médiane de 9,91 et 7,9 U/mg respectivement chez le volontaire sain ; l'équipe de Ciccolini, quant à elle, a observé des activités de CDA moyenne à 3,6 avec des médianes à 3,2 U/mg chez les patients adultes<sup>84</sup>.

Cette variabilité de l'activité enzymatique de la CDA permet de catégoriser trois types de patients :

- Les patients pour lesquels l'activité enzymatique est infranormale, appelés métaboliseurs lents (PM pour *Poor metabolizers*)
- Les patients dits extensifs (EM pour *Extensive Metabolizers*) pour lesquels l'activité enzymatique CDA est normale
- Les métaboliseurs rapides (UM pour *Ultra-rapid Metabolizers*) caractérisés par une activité enzymatique supranormale.

### 4. POLYMORPHISME GENETIQUE DE LA CYTIDINE DEAMINASE

Comme énoncé précédemment dans ce document, le gène codant pour la CDA est soumis au polymorphisme génétique. De nombreuses études ont porté la preuve que le polymorphisme génétique de la CDA affectait l'expression et l'activité de l'enzyme.

Dans son étude, Teng a étudié ce phénomène à travers l'analyse phénotypique des granulocytes chez l'Homme<sup>85</sup>. Il a ainsi mis en évidence trois profils électrophorétiques

différents correspondant à trois phénotypes CDA provenant de deux allèles, dont un phénotype hétérozygote, les deux autres étant homozygotes. D'autres études ont identifié deux variants de la CDA, K27 et Q27, différant l'un de l'autre par l'acide aminé en position 27, pouvant être la lysine (K) ou la glutamine (Q). Par la suite, un polymorphisme SNP (Single-Nucleotide Polymorphism) 79A>C résultant de la mutation de la lysine en position 27 à la glutamine (K27Q) a été identifié<sup>86</sup>. Le SNP a été décrit comme étant présent chez 20% des japonais, 10% dans la population thaïlandaise, et 33% chez les caucasiens.

Les polymorphismes SNP correspondent à de simples substitutions d'un nucléotide par un autre. Le terme SNP est utilisé pour des événements fréquents (au moins 10 % de fréquence allélique, soit 1 % de sujets homozygotes variants) et non délétères<sup>87</sup> contrairement aux mutations par substitution qui sont biochimiquement identiques aux SNP mais conduisent à des événements rares et délétères. On parle de polymorphismes non synonymes lorsqu'il y a remplacement d'un acide aminé par un autre au sein de la protéine, par opposition aux polymorphismes silencieux.

Des études ont observé une légère diminution de l'activité de la CDA associée à une altération de l'affinité de l'enzyme pour son substrat en présence du polymorphisme SNP 79A>C : En effet, l'enzyme porteuse de glutamine en position 27 avait une activité réduite et présentait une augmentation du Km pour la gemcitabine<sup>88</sup>. Dans l'étude de Giovannetti et al, l'activité enzymatique moyenne de la CDA était significativement plus faible chez les patients homozygotes K27 par rapport aux homozygotes Q27 et aux hétérozygotes K27Q<sup>89</sup>. Dans une autre étude de Giovannetti et al, les auteurs concluent à une corrélation entre polymorphisme CDA Lys27Lys et meilleure réponse au traitement. Une corrélation significative a également été trouvée entre polymorphisme CDA Lys27Lys et surtoxicités hématologiques de type neutropénie de grade > 3 chez les patients traités par cisplatine/gemcitabine<sup>90</sup>.

D'autres auteurs ont montré que dans la population chinoise, les patients porteurs du SNP 79A>C (K27Q) étaient plus enclins à développer des neutropénies sévères après administration de gemcitabine que les autres<sup>86</sup>.

D'autres polymorphismes ont été étudiés, notamment le SNP 208G>A qui a pour conséquence la substitution d'un acide aminé hydrophobe l'alanine par une thréonine hydrophile en position 70. Ce polymorphisme a notamment été décrit pour les populations africaines, japonaise et chinoise avec des fréquences variables de 1,56%, 0,18% et 1,0% de sujets homozygotes variants respectivement<sup>86</sup>.

L'étude portant sur la caractérisation biochimique des variants de la CDA de Micozzi et al<sup>86</sup>, a montré que l'acide aminé en position 70 était relativement proche du site catalytique, alors que celui en position 27 était localisé à distance, sur une hélice  $\alpha$  séparée du site de liaison par un feuillet  $\beta$ . En effet, le résidu aminé en 70 est localisé à l'intérieur d'une autre hélice  $\alpha$ , provenant du site catalytique et hébergeant 3 acides aminés cruciaux à l'activité enzymatique, que sont la cystéine en position 65 coordonnant l'ion  $Zn^{2+}$ , l'alanine en 66 et l'acide glutamique en 67 qui établissent des liaisons hydrogènes avec le substrat.

L'étude de Micozzi et al<sup>86</sup> rapporte une activité catalytique chez les patients porteurs du variant K27/A70 dix fois inférieure à celle obtenue chez les porteurs Q27/A70. Cette diminution s'expliquerait en partie par une altération des propriétés de reconnaissance du substrat. Les auteurs concluent que les patients porteurs du SNP 79A>C (Q27/A70) inactiveraient davantage la cytarabine par rapport à ceux portant le variant K27/A70. L'hypothèse qui en découle est que ces patients Q27/A70 devraient bénéficier de doses plus élevées que les patients K27/A70 si l'on désire atteindre les mêmes effets pharmacologiques que pour ces derniers. Néanmoins d'autres études comme celle de Baker et al n'ont observé aucune différence entre ces deux variants<sup>86</sup>.

Quant au polymorphisme K27/T70, il s'est avéré que l'activité catalytique était approximativement 100 fois plus faible que celle des patients porteurs de K27/A70 et Q27/A70. Les résultats obtenus par l'équipe de Micozzi ont été confirmés par l'étude de Sugiyama et al, dans laquelle une nette diminution de l'activité de déamination a pu être observée chez les patients porteurs de K27/T70 et traités par gemcitabine<sup>86</sup>. Ainsi, les patients porteurs de SNP 208G>A répondraient mieux aux traitements à base d'analogues nucléosidiques de la cytidine avec cependant un risque de toxicités sévères en raison de l'augmentation des concentrations plasmatiques du médicament.

Une association entre le SNP non synonyme 79A>C et une toxicité à la cytarabine a été décrite dans l'étude de Abraham et al<sup>91</sup> ; dans laquelle les auteurs venaient à la conclusion que les différents variants génétiques de la CDA peuvent expliquer les variations d'expression de l'ARNm codant pour la protéine.

Si les polymorphismes 79A>C, 208G>A et 435C>T touchent les exons du gène CDA, différents variants introniques ont également été détectés comme le variant c.154+37G>A avec une fréquence allélique de 0,175 chez des patients japonais cancéreux traités par gemcitabine<sup>92</sup> et à 0,13 dans la population indienne<sup>93</sup>. Ce dernier était associé à une augmentation de la

clairance de la gemcitabine dans l'étude de Sugiyama et al<sup>92</sup>, de même pour les polymorphismes -33delC et 79A>C. Les variants introniques c.266+242A>G, c.324+71T>C et c.324+71T>C ont été détectés dans l'étude de Lyer et al portant sur une cohorte de sujets indiens avec une fréquence de 0,22, 9,03 et 0,06, respectivement. Ces variants étaient localisés à l'intérieur du deuxième intron pour c.266+242A>G, et au niveau du troisième pour les deux autres variants<sup>93</sup>.

Cette variabilité interindividuelle, en partie due au polymorphisme du gène CDA, serait susceptible d'affecter les concentrations plasmatiques des médicaments dont le métabolisme est médié par l'enzyme CDA, et impacterait ainsi le profil de réponse et de tolérance des patients [Figure 9]. Ce polymorphisme serait donc à l'origine de la modulation de l'activité de l'enzyme. Par conséquent, il expliquerait cette variabilité cliniquement observable tant sur le plan de l'efficacité que sur le plan de la toxicité chez ces patients traités par les analogues de la cytidine. Pour ces médicaments à index thérapeutique étroit, la pharmacogénétique apparaît alors comme étant un outil possible de prédiction de la réponse aux traitements.

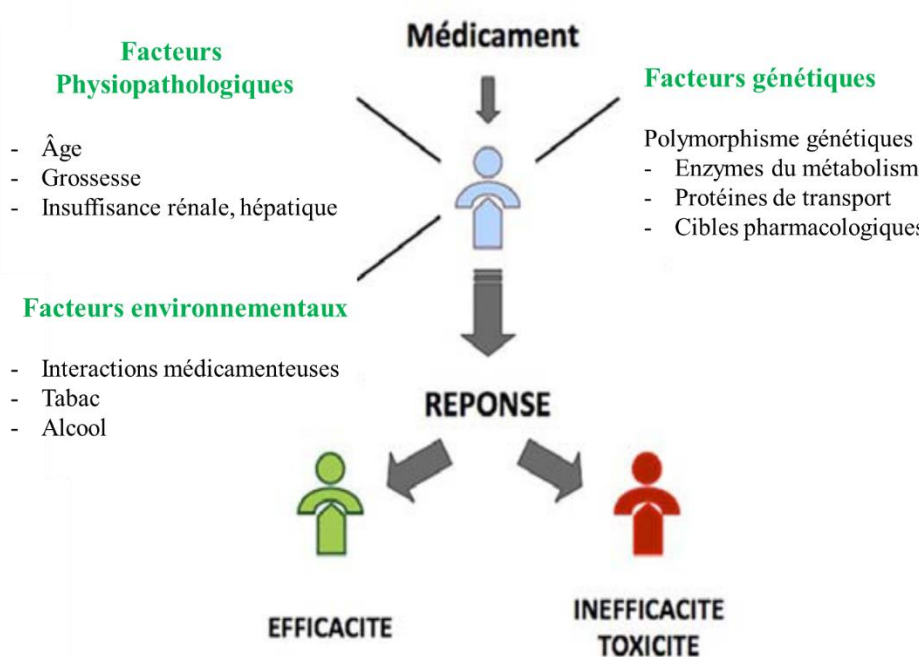


Figure 9 : Facteurs influençant la variabilité individuelle au médicament<sup>94</sup>

## 5. UTILISATION DE LA CDA COMME BIOMARQUEUR PREDICTIF DE LA REPONSE/TOXICITE AUX ANALOGUES DE LA CYTIDINE

La cytidine deaminase est l'enzyme catabolisant les antimétabolites tels que l'azacitidine, la gemcitabine et la cytarabine, les transformant en métabolites inactifs. A ce jour, différentes études, citées précédemment, ont confirmé l'existence d'un polymorphisme du gène CDA responsable de la variabilité de l'enzyme, à savoir en termes d'expression et d'activité. Cependant, même si plusieurs travaux, s'intéressant à l'utilisation de la CDA comme biomarqueur prédictif de la réponse aux analogues nucléosidiques de la cytidine, ont établi un lien entre activité de la CDA et réponse thérapeutique ; il n'en demeure pas moins qu'à ce jour cette relation demeure hypothétique et ne fait pas l'objet de consensus dans la prise en charge thérapeutique.

En 2007, Mercier et al<sup>95</sup>, rapporte pour la première fois l'apparition de toxicités sévères ayant entraîné le décès d'une patiente traitée par gemcitabine chez laquelle une déficience en CDA avait été associée (une activité enzymatique diminuée de 75% par rapport au groupe control). Il s'est avéré que la patiente était hétérozygote pour le SNP 79A>C.

Une étude incluant 65 patients caucasiens atteints de cancer bronchique non à petites cellules (CBNPC) et traités par cisplatine-gemcitabine a été menée par Tibaldi et al, dans laquelle une différence significative ( $p = 0,048$ ) a été trouvée entre l'activité enzymatique de la CDA des patients ayant répondu au traitement versus celle des patients en progression. Les patients ayant eu un bénéfice clinique sous traitement avaient une activité enzymatique moyenne statistiquement plus faible par rapport aux patients en progression ( $13\,527,0 \pm 1\,938,9$  pmol/h/mg versus  $20\,588,1 \pm 3\,166,4$  pmol/h/mg de protéine, respectivement). De plus, cette activité enzymatique était corrélée au génotype CDA. En effet, les patients de phénotype sauvage K27K présentaient une activité enzymatique moyenne inférieure à celle des patients de phénotype K27Q et Q27Q ( $p = 0,018$ ). Les résultats de l'étude permettaient de conclure à une meilleure survie globale, une meilleure survie sans progression, un taux de réponse supérieure et un bénéfice clinique supérieurs pour les patients homozygotes K27K par rapport aux patients 79A>C K27Q et Q27Q<sup>96</sup>. Une autre étude plus large de Tibaldi et al<sup>97</sup>, portant sur 126 patients atteints de CBNPC et traités par gemcitabine-sels de platine viendra confirmer ces résultats. Un taux de réponse plus important, une survie globale et une survie sans progression plus longue ont été observés chez les patients avec une activité CDA faible par rapport au patient à forte activité CDA (37,7% vs 13,8%,  $p = 0,006$  ; 8 vs 3 mois,

$p < 0,001$  ; 19 vs 6 mois ;  $p < 0,001$  respectivement)<sup>97</sup>. Une réponse complète, partielle ou une stabilisation de la maladie a été observée chez 92% des patients ayant une activité CDA faible contre 52% des patients présentant une forte activité ( $p = 0,001$ ). En ce qui concerne l'iatrogénie, aucune corrélation n'a pu être établie dans cette étude entre l'activité de la CDA et la survenue de toxicités, aussi bien sur le nombre de cures administrées que sur la fréquence des réductions de dose. Cependant, les toxicités ont été relevées uniquement à J1 et J8 de chaque cycle, par conséquent les éventuelles toxicités tardives n'ont pas été prises en compte par les auteurs ; ce qui pouvait présenter un biais dans l'étude. La CLHP était la technique utilisée dans l'étude pour le dosage de l'activité de la CDA<sup>97</sup>.

D'autres travaux en revanche ont montré une corrélation entre activité de CDA et survenue de toxicités. On peut citer l'étude de Ciccolini et al<sup>84</sup>, qui s'est portée sur 150 patients dont 20 enfants ayant reçu de la gemcitabine en monothérapie ( $n=64$ ) ou en association avec les sels de platine ou le docétaxel ( $n=66$  adultes et 20 enfants) pour le traitement de différents cancers, parmi lesquels les cancers pancréatiques, gynécologiques, bronchiques et digestifs. Pour les patients ayant reçu de la gemcitabine en monothérapie, l'activité moyenne de la CDA chez les patients sans toxicité était significativement supérieure chez ceux ayant fait des toxicités ( $3.9 \pm 2.4$  vs  $1 \pm 0.2$  U/mg respectivement ;  $p < 0.001$ ). La présence de métastases hépatiques n'était pas associée à une réduction de l'activité de la CDA. Sur les 130 patients adultes ayant reçu de la gemcitabine seul ou en association, l'activité moyenne de la CDA était de  $4 \pm 2.6$  U/mg chez les patients n'ayant pas fait de toxicité et de  $1.2 \pm 0.8$  U/mg chez ceux ayant eu des effets indésirables ( $p < 0,01$ ). La totalité des patients ( $n=9$ ) pour lesquels l'activité sérique de la CDA était très faible ( $< 1$  U/mg) avait présenté des toxicités sévères de grade  $\geq 3$ , dont 4 patients traités par gemcitabine seul. L'étude n'a pas montré de différence significative entre les activités CDA des adultes et celles des sujets pédiatriques confirmant ainsi que l'âge n'influe pas sur ce paramètre. Il est intéressant de noter que la répartition des effets indésirables était indépendante du sexe, de l'âge et du dosage de la gemcitabine. Les auteurs concluent à l'utilisation de la CDA comme marqueur de détection de toxicité de la gemcitabine chez les patients ayant une activité CDA réduite.

A l'inverse, les auteurs Serdjebi et al ont évalué l'impact de l'activité de la CDA sur la survenue de toxicités au cours d'un essai clinique prospective et multicentrique portant sur 120 patients atteints d'adénocarcinome pancréatique et traités par gemcitabine<sup>98</sup>. La déficience en CDA n'a concerné que 4,6% des patients (activité CDA  $< 1,3$  U/mg) et aucune différence

significative en termes d'activité de la CDA n'a été trouvée entre les patients ayant fait des toxicités hématologiques sévères (grade  $\geq 3$ ) et ceux ayant bien toléré le traitement.

Mahfouz et al, ont évalué l'impact de la CDA sur le devenir des sujets traités par azacitidine ou décitabine, l'étude a porté à la fois sur la souris et sur l'Homme<sup>99</sup>. L'activité de la CDA, mesurée par CLHP, était significativement plus réduite chez les porteurs 79A<C, ainsi que chez les femmes. L'activité plus accrue de la CDA chez les hommes s'accompagnait d'une diminution de la demi-vie du médicament ainsi que de moins bons résultats en termes d'efficacité (survie globale de 563 jours pour les hommes versus 1 033 jours pour le sexe féminin,  $p = 0,01$ ). De plus, l'étude a révélé que l'expression de l'ARNm codant pour la protéine CDA était plus élevée dans le foie des souris mâles que dans celui des femelles ( $p = 0,01$ ).

Une autre étude réalisée sur 71 patients a montré que le degré d'expression du gène de la CDA était inversement corrélé à la toxicité hématologique : les patients avec un haut niveau d'expression du gène CDA présentaient des toxicités hématologiques moindres sous gemcitabine<sup>100</sup>.

Un décès toxique à l'azacitidine chez un patient caucasien de 60 ans a été rapporté par Fanciullino et al<sup>101</sup>. Le patient traité par une dose standard (75 mg/m<sup>2</sup>/jour pendant 7 jours tous les 28 j) dans le cadre d'une anémie réfractaire avec excès de blastes (8%) est décédé à la suite de sa troisième cure. Le patient a eu 2 décalages de cure pour cause de toxicités hématologiques sévères (aplasie). Ce profil de toxicité à la suite des deux premières cures reste cohérent avec les effets indésirables énoncés dans la littérature. En revanche, une iatrogénie plus sévère est apparue au cours de la troisième cure après seulement 5 jours de traitement et a conduit à une hospitalisation après passage aux urgences pour sepsis sévère de grade 2, thrombopénie et neutropénie de grade 4. La durée totale de la toxicité hématologique a été anormalement élevée (> à 50 jours). Au cours de son hospitalisation, le patient victime d'un syndrome de détresse respiratoire avec mucite de grade 3, de méléna, d'hypotension et de sepsis sévère décède 6 semaines après son admission. Les investigations post-mortem ont pu mettre en évidence le statut déficient du patient concernant l'activité enzymatique de la CDA. En effet, une activité de 1,29 U/mg a été détectée, soit une activité réduite de 63% par rapport à l'activité moyenne observée chez les patients cancéreux du même centre. La chronologie des événements est reportée dans la **Figure 10**.

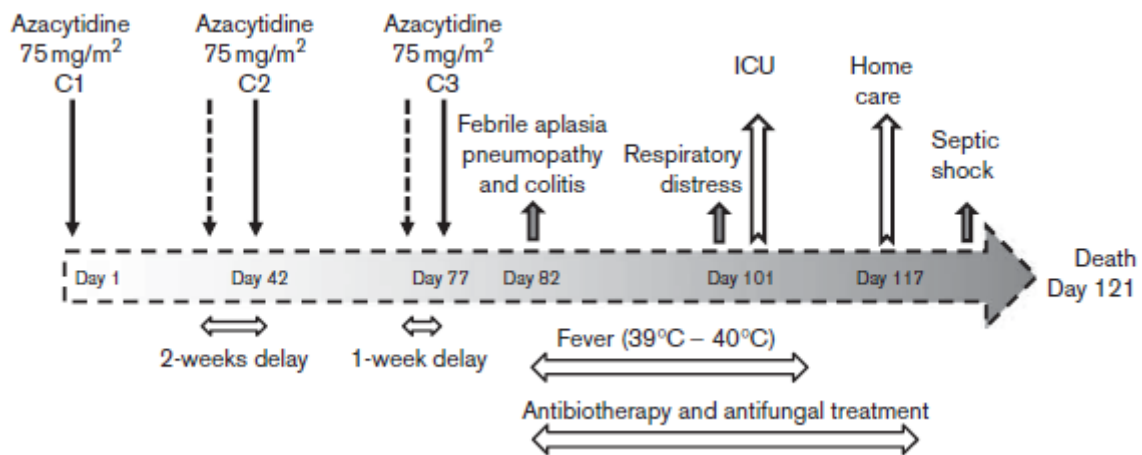


Figure 10 : Toxicités induite par azacitidine chez un patient caucasien avec activité CDA réduite<sup>101</sup>

D'autres cas rapportés viennent collaborer le fait que l'activité de la CDA peut être utile en pratique courante pour prédire la réponse au traitement des patients sous analogues nucléosidiques. Fanciullino et al ont analysé l'activité de la CDA et le génotype qui lui était associé chez deux patients traités par azacitidine pour des hémopathies malignes chez lesquels les issues thérapeutiques étaient diamétralement opposées<sup>82</sup>. D'une part, un premier patient de 84 ans atteint d'une LAM s'est trouvé en rémission complète à la suite d'une seule cure marquée par une série d'effets indésirables sévères (digestifs, respiratoires et hématologiques) dont une aplasie qui a duré 30 jours. L'étude du statut CDA chez ce patient a révélé une activité enzymatique deux fois plus réduite par rapport à la population de référence (1,79 vs 3,4 U/mg) associée à une homozygotie SNP79A>C (Q27Q). D'autre part, un patient de 80 ans atteint de LMMC ayant progressé après deux cures d'azacitidine a présenté une activité enzymatique 3 fois supérieure à la population de référence (10,08 vs 3,4 U/mg). A la suite d'un génotypage, ce patient s'est avéré être homozygote pour la mutation -31delC. Ces différents cas laissent à penser qu'une activité enzymatique infranormale de la CDA serait synonyme d'une meilleure réponse à l'azacitidine mais aussi de survenue de toxicités sévères, et à l'inverse, une activité supranormale conduirait à une inefficacité pharmacologique en raison d'une détoxification accrue du médicament.



## **II. ETUDE SUR LA PRISE EN CHARGE DES PATIENTS TRAITES PAR AZACITIDINE AU REGARD DU STATUT CDA AU CHU DE LA CONCEPTION**

## INTRODUCTION

Les progrès majeurs des dernières années en oncologie, notamment ceux concernant les statuts moléculaires et génétiques des tumeurs, ont permis d'identifier différents marqueurs conditionnant l'évolution de la maladie par rapport à un xénobiotique donné, appelés marqueurs prédictifs. Ces marqueurs permettent une prise en charge personnalisée des patients, jouant ainsi un rôle dans la prévention des réponses non optimales et des surtoxicités potentiellement évitables.

Les recommandations sur les doses d'azacitidine administrées chez des patients atteints d'hémopathies malignes sont basées essentiellement sur leur surface corporelle, à savoir  $75 \text{ mg/m}^2/\text{jour}$ , pendant 7 jours à  $C_n$ , avec des ajustements posologiques préconisés au cycle  $C_{n+1}$  en fonction du taux de bicarbonates sérique, de la créatinine et de l'urée sanguine et des éventuelles toxicités hématologiques. Il est recommandé un minimum de 6 cycles avant de pouvoir évaluer une éventuelle efficacité du traitement<sup>44</sup>, et celui-ci doit ensuite être poursuivi jusqu'à progression de la maladie et tant que la tolérance demeure acceptable.

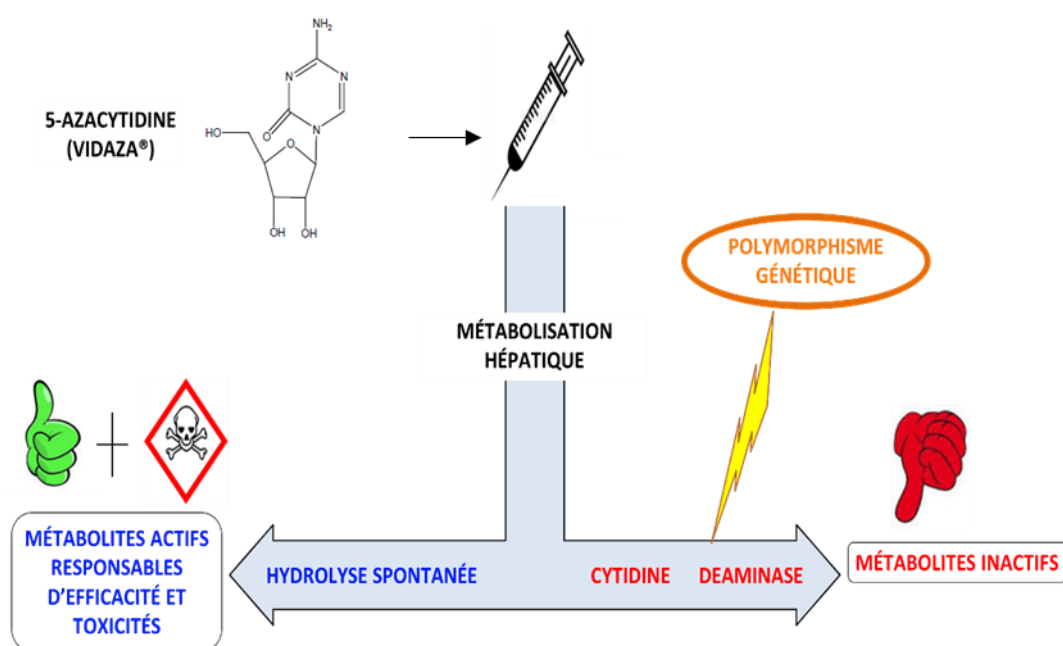


Figure 11 : Métabolisme de l'azacitidine

L'influence du statut de la CDA sur l'issue clinique des patients a été initialement étudiée dans le cas d'un traitement par gemcitabine. Différentes études ont permis de conclure qu'une diminution de l'activité CDA augmente le risque d'apparition de toxicités sévères sous gemcitabine, et qu'à l'inverse, une augmentation de son activité réduit les taux de réponses.

Du fait de son métabolisme également médié par la cytidine déaminase, plusieurs études récentes citées précédemment visent à évaluer la relation entre le degré d'expression de la CDA pour un patient donné et sa réponse au traitement par azacitidine. Un déficit enzymatique en CDA, responsable de la diminution de la métabolisation du médicament en métabolites inactifs, serait prédictif de toxicité et de bonne réponse au traitement, par augmentation de la fraction active. Cette hypothèse suggérerait qu'une expression diminuée de la CDA serait associée à une meilleure réponse mais également à une toxicité accrue du médicament [Figure 11]. Bien que plusieurs cas de patients déficients ayant fait des surtoxicités après un traitement par azacitidine ont été rapportés, il n'en demeure pas moins que l'établissement d'une relation causale entre l'activité CDA et la réponse au traitement n'a pas clairement été démontrée. Au regard de la variabilité interindividuelle en termes de réponse et de survenue des toxicités chez les patients traités par azacitidine, ce travail tente d'apprécier la place du statut CDA sur la prise en charge des patients en vie réelle au sein d'une cohorte du centre hospitalo-universitaire de la Conception.

## **A. MATERIELS ET METHODE**

### **1. TYPE D'ETUDE**

Il s'agit d'une étude observationnelle rétrospective et monocentrique portant sur une période de janvier 2012 à décembre 2015.

### **2. CRITERES D'INCLUSION**

- Patient de plus de 18 ans
- Patient ayant été inclus dans un protocole avec azacitidine en monothérapie entre le 1<sup>er</sup> janvier 2012 et le 01 juin 2015, au sein du service d'onco-hématologie du CHU de la Conception et ayant reçu au moins une administration de 5-azacytidine entre le 01 janvier 2012 et le 31 décembre 2015.
- Patients pour lesquels l'inclusion et le suivi ont été réalisés au sein du même CHU.
- Patient pour lesquels au moins un dosage de l'activité CDA a été réalisé au cours de la durée de traitement (période allant de la date de l'inclusion dans un protocole azacitidine monothérapie à la date de la dernière cure).

### 3. RECUEIL DES DONNEES

Les données recueillies sont rapportées dans le **Tableau 7**.

|                                     |                                                                                                                                                                                                                    |
|-------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Données démographiques              | <ul style="list-style-type: none"><li>- Age, Sexe</li></ul>                                                                                                                                                        |
| Données biologiques et moléculaires | <ul style="list-style-type: none"><li>- Activité CDA</li><li>- Hémoglobine</li><li>- Polynucléaires neutrophiles (PNN)</li><li>- Plaquettes</li></ul>                                                              |
| Données thérapeutiques              | <ul style="list-style-type: none"><li>- Indication de traitement</li><li>- Dose administrée</li><li>- Nombre de cure</li><li>- Durée des cycles</li><li>- Toxicités répertoriées dans le dossier patient</li></ul> |

Tableau 7 : Recueil de données

Ces données sont issues de l'analyse des compte-rendus d'hospitalisation (relevé des toxicités potentielles, de la « réponse patient », des indications sur les adaptations posologiques), des historiques de prescriptions, des historiques de la traçabilité des administrations, des comptes-rendus de consultations, ainsi que des résultats d'analyses médicales. Elles ont pu être extraites par les logiciels suivants :

- Logiciel de dossier patient : Axigate®
- Logiciel de prescription et de traçabilité des administrations : Chimio®
- Logiciel de résultats d'analyses médicales : Visual Patient®

Une première partie de cette étude analysera la prise en charge des patients déficients en CDA par rapport à la prise en charge standard recommandée par le résumé caractéristique du Vidaza® ainsi que par les sociétés savantes. Le respect de la dose, de la durée de la cure et de la durée du cycle seront alors évalués chez les patients déficients par rapport aux recommandations. Une seconde partie comparera les déficients en CDA (D) et les patients dits

non déficients en CDA de la cohorte (ND), pour lesquels l'activité de la CDA est normale et/ou supranormale. Le respect de la dose, de la durée de la cure, la durée du cycle ainsi que le nombre de cures seront analysés au regard de l'activité CDA des patients. L'étude tentera également d'apprécier la survie après la première cure d'azacitidine en fonction du statut CDA. Un regard sera porté sur les variations intra-individuelles de l'activité de la CDA au cours du temps ainsi que ses éventuelles répercussions sur la prise en charge des patients.

C'est le premier dosage de l'activité de la CDA (CDA<sub>1</sub>) par le CHU qui définit le statut enzymatique des patients (déficient ou non déficient) dans cette étude. Les valeurs seuils de l'activité de la cytidine déaminase définissant la déficience en CDA ont été choisies de manière empirique, sur la base des publications et travaux antérieurs de l'équipe de Ciccolini, à savoir les CDA<sub>1</sub> inférieures à 2 U/mg<sup>98,87</sup>. La spectrophotométrie est la méthode utilisée par le CHU pour mesurer l'activité de la CDA.

#### 4. ANALYSE STATISTIQUE

L'analyse statistique des données et la détermination des *p value* sont faites par les tests statistiques de Student bilatéral et du Khi2 via le logiciel Excel<sup>®</sup>. Un résultat a été considéré comme statistiquement significative lorsque la *p value* calculée était inférieure à 0,05. La méthode de Kaplan et Meier a été utilisée pour l'analyse de survie en fonction du statut CDA.

## B. RESULTATS

### 1. PRESENTATION GLOBALE DE LA COHORTE

Au total, 53 patients, 19 femmes et 36 hommes ont été inclus dans cette étude. L'âge moyen des patients au moment de l'instauration du Vidaza® était de 80,6 ans [58-94].

L'activité de la CDA a été dosée en moyenne 2,3 fois [1-6] au cours du traitement. Vingt-quatre patients sur 53 (45,3%) ont présenté une activité CDA<sub>1</sub> (premier dosage de l'activité CDA mesurée par le CHU juste avant ou au cours du traitement par Vidaza®) inférieure à 2 U/mg, dont 7 une activité inférieure à 1,5 U/mg. Chez 42 patients sur 53 (79%), l'activité CDA<sub>1</sub> a été dosée juste avant ou au cours de la première cure d'azacitidine. Chez 21% des patients restants l'activité CDA<sub>1</sub> a été dosée après administration de la première cure : 2 patients avaient une activité CDA<sub>1</sub> mesurée juste avant ou au cours de leur deuxième cure et 4 juste avant ou au cours de la troisième. Pour 2 patients ayant reçu 11 cures, l'activité CDA<sub>1</sub> mesurée correspond à l'activité CDA avant ou au cours de la cure numéro 6 pour l'un et 8 pour l'autre.

L'activité moyenne CDA<sub>1</sub> pour l'ensemble de la population a été de  $3,3 \pm 3,6$  U/mg.

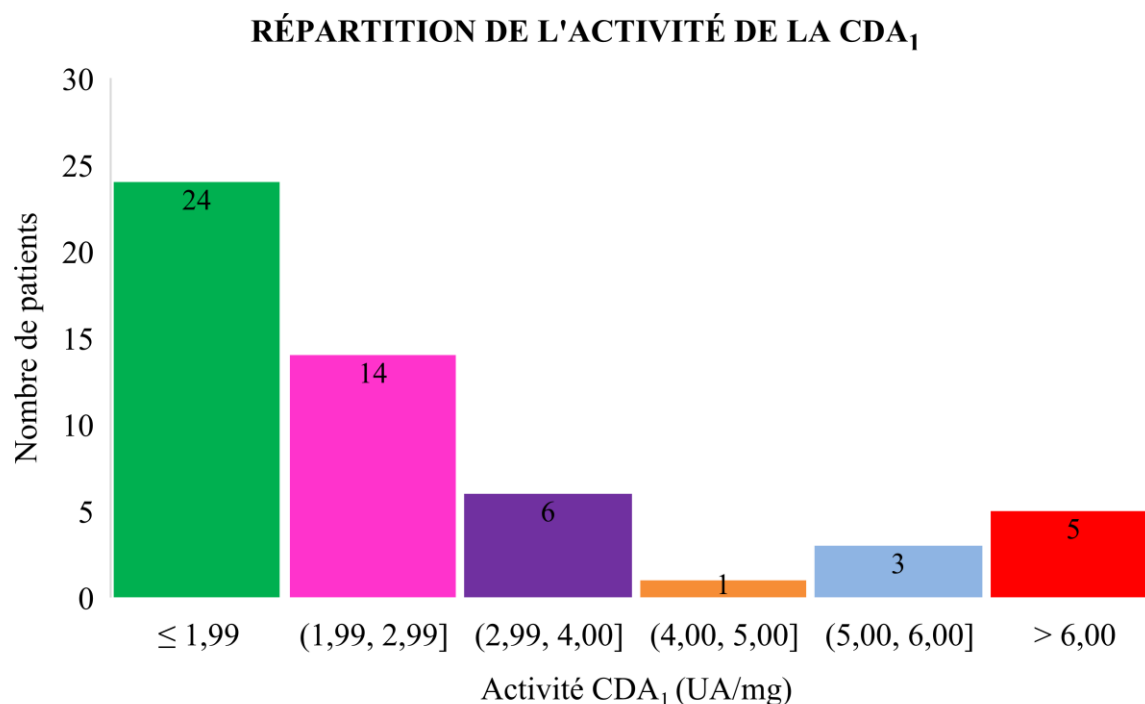


Figure 12 : Répartition globale de l'activité CDA<sub>1</sub>

L'analyse des activités de la CDA en fonction des indications de traitement a montré que l'on pouvait observer une variation d'activité en fonction des différentes pathologies [Tableau 8, Tableau 9]. Les patients ont été traités par azacitidine dans le cadre d'une prise en charge d'un syndrome myélodysplasique (SMD) [n=24, 45% des patients], d'une leucémie aiguë myéloïde (LAM) secondaire ou de novo (n= 20, 38%), ou d'une leucémie myélomonocytaire chronique (LMMC), [n=9, 17%] [Figure 13].

### INDICATION DU TRAITEMENT

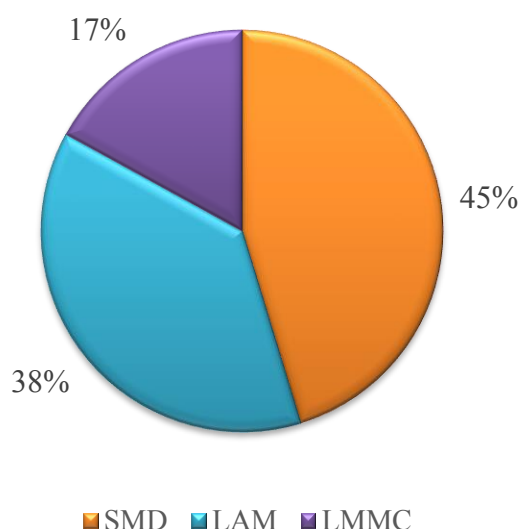


Figure 13 : Répartition des patients en fonction de l'indication traitée

| Indications | Activité enzymatique moyenne CDA <sub>1</sub> (U/mg) ± écart-type |
|-------------|-------------------------------------------------------------------|
| LAM         | 3,51 ± 4,09                                                       |
| LMMC        | 5,75 ± 5,63                                                       |
| SMD         | 2,28 ± 0,96                                                       |

Tableau 8 : Activité enzymatique en fonction de l'indication

|         | SMD      |          | LAM      |        | LMMC    |         |
|---------|----------|----------|----------|--------|---------|---------|
| Patient | D        | ND       | D        | ND     | D       | ND      |
| n (%)   | 13 (54%) | 11 (46%) | 10 (50%) | 10,50% | 1 (11%) | 8 (89%) |

Tableau 9 : Proportions des patients déficitaires en fonction des indications  
D (déficient), ND (non déficient), n (nombre de patients)

L'activité enzymatique moyenne était significativement plus basse pour les patients atteints de SMD versus ceux atteints de LMMC ( $p = 0,005$ ). Aucune différence significative n'a pu être établie entre les activités enzymatiques des patients SMD vs LAM ( $p = 0,16$ ), ni entre ceux atteints de LAM vs LMMC ( $p = 0,23$ ) [Tableau 8, Tableau 9].

Le nombre moyen de cure administrées pour les 53 patients a été de 4,9 cures. La dose cumulée par cure a été d'environ 453 mg/m<sup>2</sup> sur une durée de cure moyenne de 6,4 jours. Les cycles (J1J1) ont duré en moyenne 35,6 jours.

|                                                   |                    |
|---------------------------------------------------|--------------------|
| <b>Age (ans), moyenne</b>                         | 80,6 [58-94]       |
| <b>H/F, n (%)</b>                                 | 36 (68%) /17 (32%) |
| <b>Nombre cure</b>                                | 4,9 [1-17]         |
| <b>Dose cumulée / cure (mg/m<sup>2</sup>)</b>     | 453,2 [150-537]    |
| <b>Durée cure (j)</b>                             | 6,4 [2-7]          |
| <b>Durée du cycle = J1J1 (j)</b>                  | 35,6 [27-57]       |
| <b>Nombre moyen de dosage CDA pour un patient</b> | 2,3 [1-6]          |
| <b>CDA<sub>1</sub> &lt; 2 U/mg, n (%)</b>         | 24 (45%)           |

Tableau 10 : Caractéristiques de l'ensemble de la cohorte  
H/F (Homme/Femme), j (jours), n (nombre de patients)

## 2. PRESENTATION EN FONCTION DU STATUT CDA : DEFICIENT ET NON DEFICIENT

### a) Patients déficients en CDA

La déficience en CDA a concerné 24 patients (45%), de moyenne d'âge 79 ans, dont 9 femmes et 15 hommes. Treize patients ont été traités pour un SMD, 10 pour une LAM et 1 pour une LMMC [Tableau 9].

Les patients déficients ont reçu en moyenne 6,7 cures. La durée de la cure, la durée du cycle ont été respectivement de 6,3j et 35,4j. La dose cumulée par cure a été de 453 mg/m<sup>2</sup> et la moyenne de la dose cumulée totale au cours du traitement a été 3 036 mg.



b) Patients non déficients en CDA

Vingt-neuf patients avaient une activité CDA<sub>1</sub> supérieure ou égale à 2 U/mg. La moyenne d'âge était de 82 ans. Dans cette catégorie de patients, il y avait 8 femmes et 21 hommes. Le traitement par azacitidine était indiqué pour un SMD, une LAM ou une LMMC respectivement chez 11, 10 et 8 patients sur 29.

Les patients dits non-déficients ont reçu en moyenne 3,5 cures. La durée de la cure, la durée du cycle ont été respectivement de 6,5j et 35,6j. La dose cumulée par cure a été de 453 mg/m<sup>2</sup> et la moyenne de la dose cumulée totale au cours du traitement de 1 561 mg.

La comparaison des paramètres énoncés précédemment entre les deux groupes sera illustrée à travers les **Figure 14**, **Figure 15** et **Figure 16**.

**NOMBRE DE CURES ADMINISTRÉES EN FONCTION DU STATUT CDA**

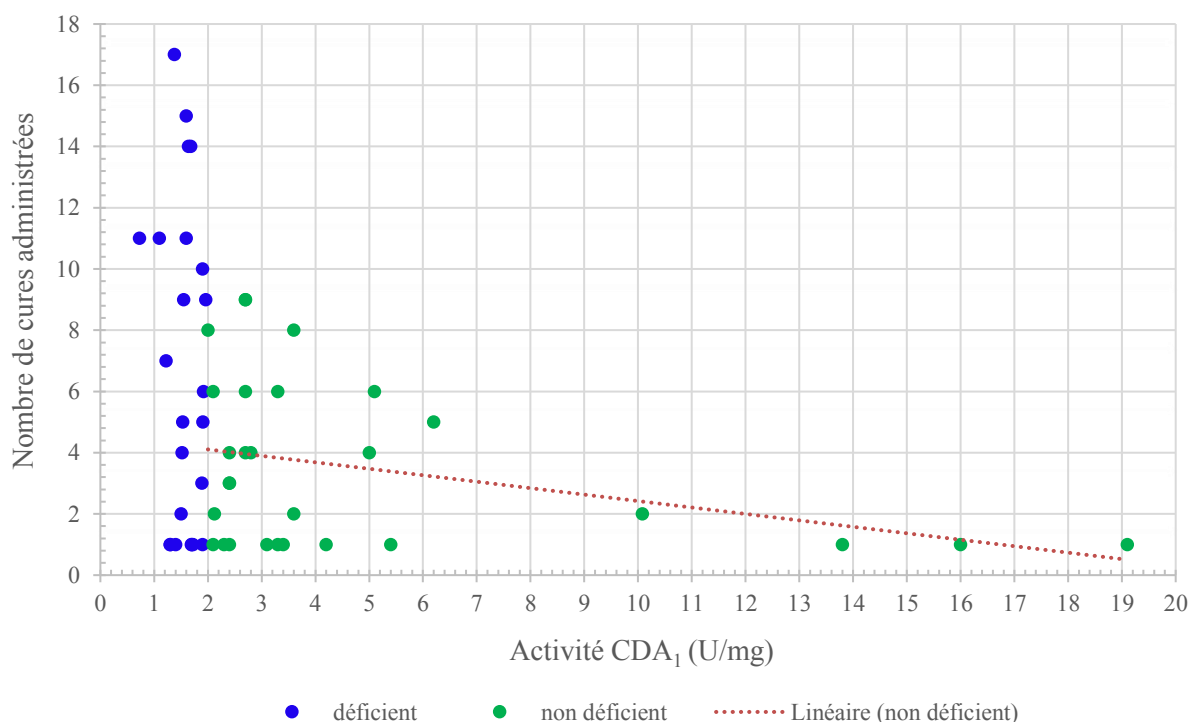


Figure 14 : Répartition du nombre de cure en fonction de l'activité CDA<sub>1</sub>

La répartition du nombre de cure en fonction de la CDA<sub>1</sub> [Figure 14] montre que les patients ayant reçu plus de 10 cycles de traitement sont les patients déficients, parmi lesquels sont retrouvés les patients ayant une activité enzymatique très basse.

Le patient présentant la CDA<sub>1</sub> la plus basse de la cohorte (0,73 U/mg) avait reçu 11 cures au 31 décembre 2015. A l'inverse, le patient pour lequel l'activité CDA<sub>1</sub> enregistrée était la plus élevée (19,1 U/mg) n'avait reçu qu'une seule cure.

La **Figure 14** permet de relever une tendance à la diminution du nombre de cure chez les patients non déficients ayant une activité de la CDA<sub>1</sub> élevée.

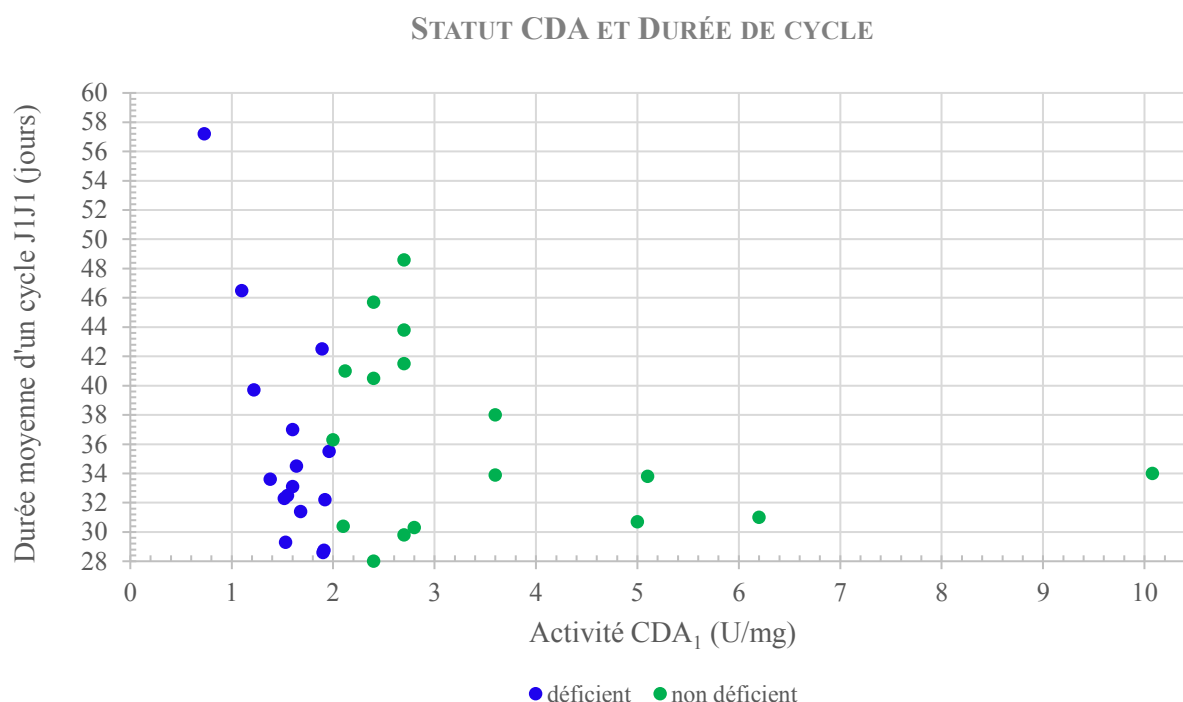


Figure 15 : Répartition de la durée J1J1 en fonction de l'activité de la CDA<sub>1</sub>

La **Figure 15** montre que le patient déficient avec l'activité CDA<sub>1</sub> la plus basse à 0,73 U/mg est le patient pour lequel la durée moyenne J1J1 enregistrée était la plus importante (57 jours). Un focus sur ce patient a montré qu'il avait reçu 6 cures en novembre 2014, à la suite desquelles le taux de blastes médullaires était passé en dessous de 5% et les oncologues concluaient à une relative bonne réponse (durée moyenne J1J1= 43 jours pour les 6 premiers cycles). Le traitement est ensuite arrêté pendant 145 jours. Cependant, il est noté que ce patient restait assez dépendant des transfusions de globules rouges et présentait quelques stigmates de saignement à cause de thrombopénies, notamment lorsque les plaquettes descendaient en dessous de 10 G/l, une reprise de l'azacitidine est alors amorcée à dose de 50 mg/m<sup>2</sup>/administration après une période sans traitement de 145 jours.

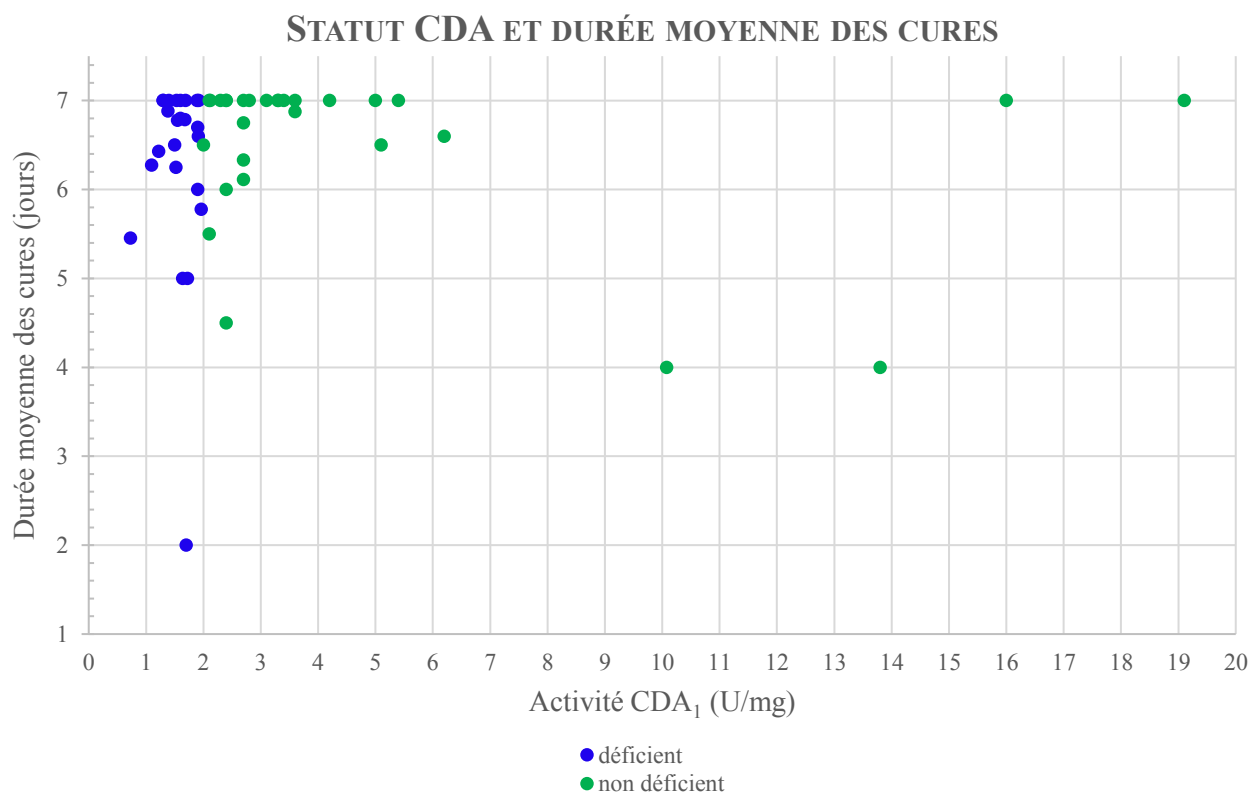


Figure 16 : Répartition de la durée moyenne d'une cure en fonction de l'activité de la CDA<sub>1</sub>

## C. DISCUSSION ET PERCEPTIVES

Les recommandations d'utilisation du Vidaza® stipule que le médicament doit être utilisé à la posologie de 75 mg par m<sup>2</sup> de surface corporelle pendant 21 jours avec une période de repos sans injection d'azacitidine de 7 jours, amenant la durée d'un cycle complet à 28 jours et à une dose cumulée par cure de 525 mg/m<sup>2</sup>.

D'une part, cette étude compare la prise en charge standard recommandée de l'azacitidine par rapport à celle observée au sein du service d'hématologie de la Conception chez les patients ayant une activité CDA<sub>1</sub> inférieure à 2. Pour ce faire, la dose cumulée par m<sup>2</sup> et par cure (DCMC), la durée d'une cure (DC) et la durée de l'intercure (J1J1) chez des patients ayant reçu au moins une cure ont été comparé respectivement aux valeurs théoriques de 525 mg/m<sup>2</sup>, 7 jours et 28 jours.

D'autre part, les résultats obtenus pour les patients déficients sont confrontés à ceux des patients non-déficients de la cohorte.

## 1. DUREE DES CURES

### a) Déficient versus AZA001

Les patients déficients ont eu des cures de plus faible durée par rapport aux 7 jours recommandés, ces patients ont reçu l'azacitidine au cours des cures en moyenne de 6,3 jours ( $p < 0,01$ , test de Student). Ce qui pourrait s'expliquer par des éventuelles surtoxicités amenant à une réduction de la dose cumulée par diminution de la durée des cures.

### b) Déficient versus ND

Cependant, la durée d'une cure était la même chez les patients D et ND (6,3 vs 6,5 ;  $p > 0,05$ ).

## 2. DUREES DES CYCLES J1J1

### a) Déficient versus AZA001

Bien que les recommandations proposent des cycles d'une durée de 28j, il est intéressant de noter que l'étude d'enregistrement AZA-001 montrait une durée médiane des cycles de 34 jours., l'allongement d'environ une semaine de la durée du cycle s'expliquait selon AZA- 001 par le moment du nadir et de la remontée hématologique. L'étude AZA-001 n'avait pas étudié l'impact du polymorphisme de la CDA sur le métabolisme du médicament et sur le profil de réponse des patients traités par azacitidine.

Chez 17 patients sur 25, ayant reçu plus d'une cure de Vidaza<sup>®</sup>, la durée de l'intercure (J1J1) a été comparée à la durée théorique de 28 jours. Les cycles des patients déficients ont duré en moyenne 35,4 jours ( $p < 0,01$ , test de Student) avec une médiane à 33,1 jours. Cette durée s'explique notamment par des décalages de cure pour cause de toxicités, surtout hématologiques (à la lecture des compte-rendus de consultations et des résultats biologiques).

Les durées J1J1 les plus importantes ont été observées chez 2 patients : un de 81 ans (SA-M), traité par Vidaza<sup>®</sup> dans le cadre d'une LAM du 14 janvier 2013 au 25 avril 2014 et un de 86 ans (HO-J) traité pour une AREB2. Ce dernier a présenté une activité CDA<sub>1</sub> avant instauration du traitement la plus basse mesurée parmi les 24 patients de statut CDA déficient à 0,73 U/mg.

Le patient SA-M a été hospitalisé en avril 2014 pour aplasie fébrile avec une activité CDA mesurée le 23 mars à 0,84 U/mg et a bénéficié au cours de toute la durée de son traitement de deux réductions de doses, allant de 75 mg/m<sup>2</sup> pendant 5j à C1 à 37 mg/m<sup>2</sup>/administration à partir de la C4. L'activité CDA la plus haute mesurée pour ce patient a été de 1,6 U/mg. L'analyse des doses cumulées chez ce patient montre une diminution nette des doses au fur à mesure des cures [Figure 17], un premier dosage de l'activité de la CDA à la sixième cure révèle une activité infranormale à 1,1 U/mg chez cette patiente.

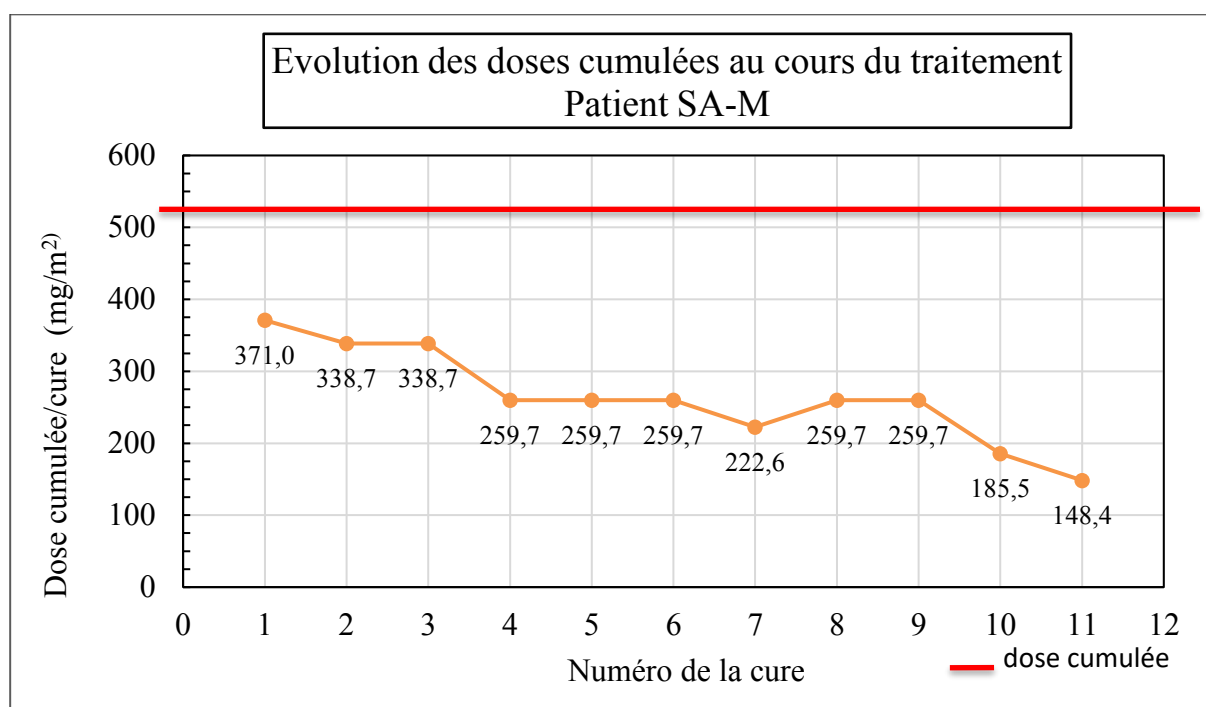


Figure 17 : Evolution des doses chez une patiente avec activité CDA<sub>I</sub> inférieure à 2 U/mg

b) Déficient versus ND

Aucune différence significative n'a été retrouvée entre la durée de l'intercure J1J1 des patients D et celle des ND (35,4 vs 35,6 jours, respectivement).

### 3. DOSE CUMULEE PAR CURE

#### a) Déficient versus AZA001

La DCMC de 453 mg/m<sup>2</sup> observée chez les patients avec activité CDA<sub>1</sub> inférieure à 2 U/mg était significativement plus faible par rapport à la DCMC recommandée de 525 mg/m<sup>2</sup> ( $p < 0,01$ , test de Student).

#### b) Déficient versus ND

La DCMC observée chez les patients déficients et chez les non-déficients a été de 453 mg/m<sup>2</sup>.

### 4. NOMBRE DE CURE

L'analyse du nombre de cures administrées au regard de l'activité de la CDA montre que les patients D ont reçu en moyenne 6,7 cures par rapport aux patients ND qui en ont reçu que 3,5 [Tableau 11, Figure 14]. La p value étant de 0,012, les patients D ont donc reçu significativement plus de cures que les ND. Environ 46% des patients D ont poursuivi le traitement au-delà des 6 cures versus 14% de ND. Les recommandations en vigueur préconisent d'évaluer l'efficacité du traitement après 6 cures et de ne l'arrêter qu'en cas de progression. Sur cette base, on peut émettre l'hypothèse qu'une réponse a été objectivée chez au moins 46% des patients D versus 14% des ND. Les patients D de la cohorte semblent alors mieux répondre au traitement (durée totale de traitement plus longue).

Aucun patient ND n'a eu plus de 10 cures contrairement aux patients D (n = 8).

|                        | <b>Durée des cures<br/>(jours)</b> | <b>Intercure J1J1<br/>(jours)</b> | <b>Dose cumulée/cure<br/>(mg/m<sup>2</sup>/cure)</b> |
|------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------------------------|
| <b>CDA &lt; 2 U/mg</b> | <b>n=24</b>                        | <b>n= 17</b>                      | <b>n=24</b>                                          |
| Moyenne ± écart type   | 6,3 ± 1,1                          | 35,4 ± 7,6                        | 453,5 ± 100,3                                        |
| %cv                    | 17,6                               | 21,446                            | 22,1                                                 |
| Médiane [min-max]      | 6,7 [2,0-7,0]                      | 33,100 [27 - 57,2]                | 508,6[150,0 - 532,1]                                 |

Tableau 11 : Récapitulatif des résultats des patient avec activité CDA<sub>1</sub> inférieure à 2 U/mg

|                                                          | D     | ND    | <i>p value</i> |
|----------------------------------------------------------|-------|-------|----------------|
| Nombre de cure                                           | 6,7   | 3,5   | 0,01           |
| Intercure J1J1 (j)                                       | 35,4  | 35,6  | > 0,05         |
| Durée des cures (j)                                      | 6,3   | 6,5   | > 0,05         |
| Dose cumulée<br>moyenne par cure<br>(mg/m <sup>2</sup> ) | 453,4 | 453,0 | > 0,05         |

Tableau 12 : Récapitulatifs des cures des patients D versus les ND

Seule une différence significative a pu être établie entre le nombre de cure des patients D versus les ND, laissant à penser d'une meilleure réponse à l'azacitidine chez les D. Les autres paramètres, à savoir les doses cumulées, les durées des cures et les durées des intercures ont été trouvés identiques entre les deux groupes D et ND, laissant supposer que le statut CDA n'influencerait pas le profil de toxicités ou que si surtoxicités il y a, celles-ci pourraient être gérées, notamment par des traitements de support.

##### 5. ANALYSE DU SOUS-GROUPE : PATIENTS AYANT REÇU PLUS DE 6 CURES D'AZACITIDINE

Ce travail s'est intéressé au profil des patients ayant reçu plus de 6 cures pour lesquels une réponse a été objectivée au regard des recommandations en vigueur (RCP produit et GFM).

Parmi les quinze patients sur 53 (28%) ayant reçu plus de 6 cures de Vidaza® et pour lesquels l'Azacitidine a montré un bénéfice clinique, onze d'entre eux avaient une CDA<sub>1</sub> strictement inférieure à 2 U/ mg, les quatre autres avaient une CDA compris entre 2 et 3,6 U/mg.

| N° patient | CDA <sub>1</sub> | Nombre de cures<br>tracées dans<br>chimio® |
|------------|------------------|--------------------------------------------|
| HO-J       | 0,73             | 11                                         |
| SA-M       | 1,1              | 11                                         |
| AU-J       | 1,22             | 7                                          |
| LA-M       | 1,38             | 17                                         |
| LE-A       | 1,55             | 9                                          |
| CO-R       | 1,6              | 11                                         |
| UH-R       | 1,6              | 15                                         |
| DA-R       | 1,64             | 14                                         |
| MI-S       | 1,68             | 14                                         |
| BA-R       | 1,90             | 10                                         |
| GA-G       | 1,96             | 9                                          |
| PI-F       | 2                | 8                                          |
| SE-H       | 2,7              | 9                                          |
| ME-A       | 2,7              | 9                                          |
| BO-C       | 3,60             | 8                                          |

Tableau 13 : Activité de la cytidine déaminase chez les patients ayant reçu plus de 6 cures d'azacitidine

Soixante-douze pour cent (n=11) des patients ayant bénéficié de plus de 6 cures de Vidaza® sont donc des patients D pour lesquels l'activité CDA<sub>1</sub> était inférieure à 2 U/mg. Si l'on compare la distribution des patients D ayant eu plus de 6 cures versus les ND par le test qualitatif de Khi-deux, on retrouve une liaison significative entre le nombre de cure et le statut CDA<sub>1</sub> des patients (*p value* = 0,01). La probabilité de recevoir plus de 6 cures diffère de manière significative entre les patients D et ND.

Les patients ayant reçu plus de 6 cures avaient une activité CDA<sub>1</sub> comprise entre 0,73 et 3,6 U/mg (72% des patients présentaient une activité < 2 U/mg), alors que pour l'ensemble de la cohorte, celle-ci était comprise entre 0,73 et 19,1 U/mg.



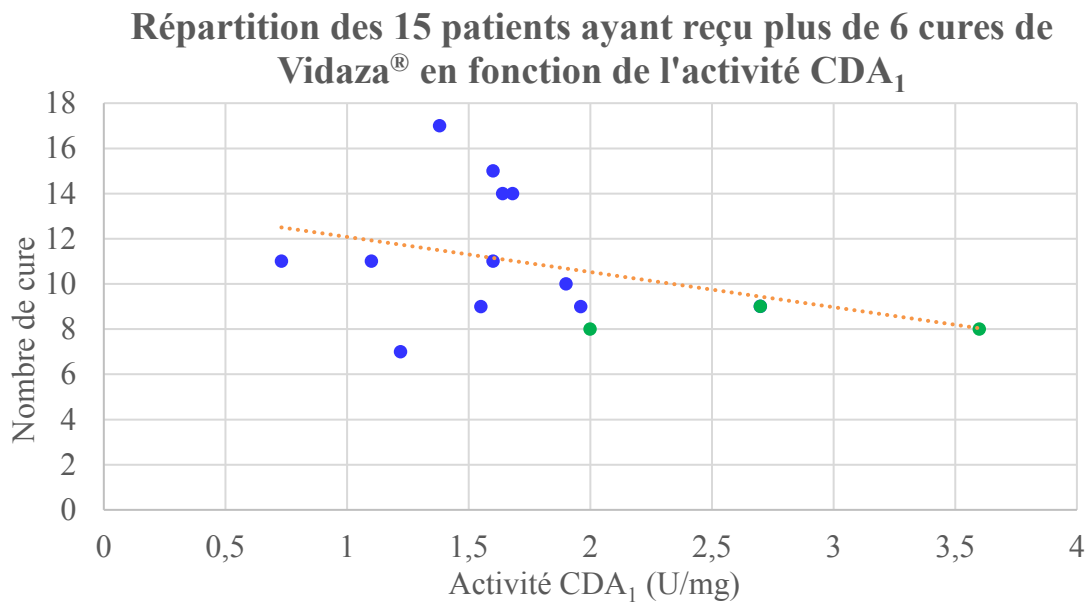


Figure 18 : Répartition des 15 patients ayant reçu plus de 6 cures de Vidaza® en fonction de l'activité CDA<sub>1</sub> (en rose : les patients non déficients en CDA)

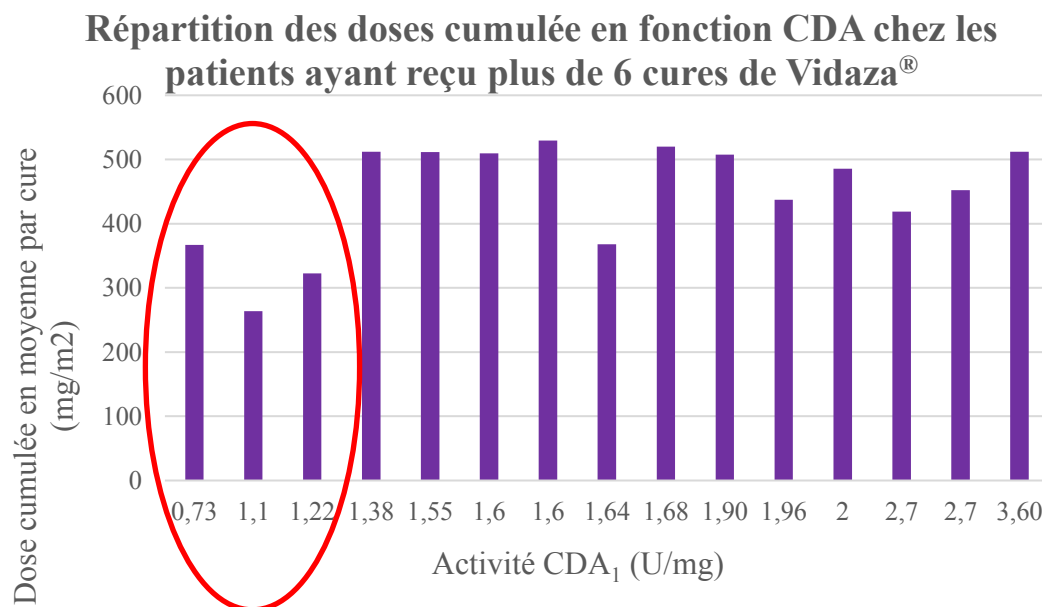


Figure 19 : Patients avec plus de 6 cures → répartition de la dose cumulée en fonction d l'activité CDA<sub>1</sub>

L'analyse des doses cumulées par m<sup>2</sup> et par cure dans ce groupe montre que les patients ayant reçu les doses cumulées les plus faibles sont ceux pour lesquels l'activité CDA<sub>1</sub> mesurée était la plus basse.

Les patients HO-J ( $CDA_1 = 0,73$  U/mg) et AU-J ( $CDA_1 = 1,22$  U/mg) traités par 5-azacytidine dans le cadre d'une anémie réfractaire par excès de blaste ont bénéficié de réductions de dose au cours de leurs traitements pour cause des toxicités plaquettaires post-chimiothérapie pouvant aller respectivement jusqu'à 35% et 40% de la dose théorique de 75 mg/m<sup>2</sup>/administration.

Le patient SA-M ( $CDA_1 = 1,1$ ), atteint de leucémie aigüe myéloïde et traitée par 5-azacytidine, a fait des toxicités sur les lignées sanguines, de type aplasie fébrile nécessitant une hospitalisation. A noter, une aplasie post C10 a été enregistrée alors que le patient avait déjà des concessions de dose allant jusqu'à 50% de la dose théorique.

## 6. ANALYSE DU SOUS-GROUPE : PATIENTS AVEC REDUCTIONS DE DOSES

Les réductions de doses cumulées par m<sup>2</sup> et par cure peuvent s'expliquer soit par une réduction seule de la dose journalière/ administration, soit par une diminution seule de la durée de la cure (< 7 jours), soit par une diminution des deux paramètres [Tableau 16].

Trente et un patients sur 53 (58%) ont bénéficié au moins d'une réduction de dose et/ou de la durée de la cure, parmi lesquels 16 avaient un statut déficitaire en CDA. Sur l'ensemble de la cohorte, la réduction de la dose cumulée d'au moins une cure a concerné 67% (n=16) des patients déficients en CDA contre 52% des ND (n=15). Trente-trois pour cent des patients déficients (n=8) ont donc eu un schéma posologique, en termes de dose (75 mg/m<sup>2</sup>/administration) et de durée de la cure (7j), identique aux recommandations contre 48% (n=14) des patients non déficients. Le test statistique du Khi-deux ne montre pas de différence significative entre les patients D et ND concernant le nombre de patients pour lequel une réduction du schéma posologique a été appliquée (*p value* = 0,2) [Tableau 14].

Parmi les patients D, 50% (n=12) ont bénéficié uniquement d'une réduction de la durée de cure et environ 17% (n=4) ont reçu à la fois des doses par administration plus faibles et des durées de cure plus courtes.

Dix pour cent (n=3) des patients ND ont vu leurs doses cumulées par cure diminuer, en raison d'une baisse de la dose par administration, 24% (n=7) ont reçu uniquement des réductions de la durée des cures et chez 17% (n=5) d'entre eux, la diminution des doses

cumulées moyennes/ cure s'explique à la fois par une réduction de la durée des cures et par une diminution des doses/injection [**Tableau 14**].

|       | Schéma RCP<br>75mg/m <sup>2</sup> /j (7j) | ↘ Dose<br>< 75 mg/m <sup>2</sup> /j (7j) | ↘ Durée<br>75 mg/m <sup>2</sup> /j (<7j) | ↘ Dose et Durée<br><75mg/m <sup>2</sup> /j (<7j) |
|-------|-------------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| D, n  | 8                                         | 0                                        | 12                                       | 4                                                |
| ND, n | 14                                        | 3                                        | 7                                        | 5                                                |

Tableau 14 : Schéma posologique en fonction du statut CDA

Rappelons que dans cette étude, le statut CDA pour un patient donné (déficient ou non déficient) est défini par la valeur de l'activité de la CDA<sub>1</sub>.

La réduction maximale de dose a été pour l'ensemble des patients D au-delà des 30%, tandis que pour les patients ND celle-ci se répartit entre 12% et 65% [**Tableau 15**]. Les patients D ayant eu des réductions de doses par administration présentaient des activité CDA<sub>1</sub> très basses, inférieures à 1,52 U/mg [**Tableau 16**].

| % de réduction de dose | <15 | 15-30 | 30-45 | >45 |
|------------------------|-----|-------|-------|-----|
| D                      | 0   | 0     | 3     | 1   |
| ND                     | 1   | 3     | 3     | 1   |

Tableau 15 : Pourcentage de réduction de dose en fonction du statut CDA

| Patients | CDA <sub>1</sub> | Nombre total de cures | C1                   | C2             | C3                   | C4             | C5                   | C6             | C7                   | C8             | C9                   | C10                  | C11            | C12                  | C13            | C14                  | C15            | C16                  | C17            |
|----------|------------------|-----------------------|----------------------|----------------|----------------------|----------------|----------------------|----------------|----------------------|----------------|----------------------|----------------------|----------------|----------------------|----------------|----------------------|----------------|----------------------|----------------|
|          |                  |                       | % réduction cure (i) | durée cure (i) | % réduction cure (i) | durée cure (i) | % réduction cure (i) | durée cure (i) | % réduction cure (i) | durée cure (i) | % réduction cure (i) | % réduction cure (i) | durée cure (i) | % réduction cure (i) | durée cure (i) | % réduction cure (i) | durée cure (i) | % réduction cure (i) | durée cure (i) |
| HO-J     | 0,73             | 11                    | N                    | N              | N                    | 5              | N                    | 5              | 20                   | 5              | 20                   | 5                    | 20             | 5                    |                |                      |                |                      |                |
| SA-M     | 1,1              | 11                    | N                    | 5              | N                    | 35             | N                    | 50             | N                    | 50             | 5                    | 50                   | 5              | 50                   | 4              |                      |                |                      |                |
| AU-J     | 1,22             | 7                     | N                    | N              | 35                   | N              | 40                   | N              | 40                   | 5              |                      |                      |                |                      |                |                      |                |                      |                |
| LA-M     | 1,38             | 17                    | N                    | N              | N                    | N              | N                    | N              | N                    | N              | N                    | N                    | N              | N                    | N              | N                    | N              | N                    | N              |
| VE-L     | 1,5              | 2                     | N                    | 6              | N                    | N              |                      |                |                      |                |                      |                      |                |                      |                |                      |                |                      |                |
| PO-L     | 1,52             | 4                     | N                    | N              | N                    | 32             | N                    |                |                      |                |                      |                      |                |                      |                |                      |                |                      |                |
| LE-A     | 1,55             | 9                     | N                    | N              | N                    | N              | N                    | N              | N                    | 5              | N                    | N                    |                |                      |                |                      |                |                      |                |
| UH-R     | 1,6              | 15                    | N                    | N              | N                    | 5              | N                    | N              | N                    | N              | N                    | N                    | N              | N                    | N              | N                    | N              | N                    | N              |
| DA-R     | 1,64             | 14                    | N                    | 5              | N                    | 5              | N                    | 5              | N                    | 5              | N                    | 5                    | N              | 5                    | N              | 5                    | N              | 5                    | N              |
| MI-S     | 1,68             | 15                    | N                    | 4              | N                    | N              | N                    | N              | N                    | N              | N                    | N                    | N              | N                    | N              | N                    | N              | N                    | N              |
| FI-F     | 1,70             | 1                     | N                    | 2              |                      |                |                      |                |                      |                |                      |                      |                |                      |                |                      |                |                      |                |
| GU-T     | 1,72             | 1                     | N                    | 5              |                      |                |                      |                |                      |                |                      |                      |                |                      |                |                      |                |                      |                |
| BA-R     | 1,90             | 10                    | N                    | N              | N                    | 6              | N                    | 6              | N                    | N              | N                    | N                    | N              |                      |                |                      |                |                      |                |
| BR-T     | 1,9              | 1                     | N                    | 6              |                      |                |                      |                |                      |                |                      |                      |                |                      |                |                      |                |                      |                |
| KU-Y     | 1,91             | 5                     | N                    | N              | N                    | N              | 5                    | N              | 5                    |                |                      |                      |                |                      |                |                      |                |                      |                |
| GA-G     | 1,96             | 9                     | N                    | N              | N                    | 5              | N                    | 6              | N                    | 6              | N                    | 6                    | N              | 1                    |                |                      |                |                      |                |
| PI-F     | 2                | 8                     | N                    | 5              | N                    | N              | N                    | N              | N                    | N              | N                    | N                    | N              |                      |                |                      |                |                      |                |
| LA-L     | 2,1              | 6                     | N                    | 6              | N                    | 5              | N                    | 5              | 12                   | 5              |                      |                      |                |                      |                |                      |                |                      |                |
| SC-M     | 2,1              | 1                     | 38                   | N              |                      |                |                      |                |                      |                |                      |                      |                |                      |                |                      |                |                      |                |
| RU-P     | 2,4              | 3                     | N                    | 4              | N                    | N              |                      |                |                      |                |                      |                      |                |                      |                |                      |                |                      |                |
| SE-R     | 2,4              | 4                     | N                    | 5              | N                    | 4              | N                    | 4              |                      |                |                      |                      |                |                      |                |                      |                |                      |                |
| BU-H     | 2,7              | 4                     | N                    | 6              | N                    | 27             | N                    |                |                      |                |                      |                      |                |                      |                |                      |                |                      |                |
| MA-R     | 2,7              | 6                     | N                    | N              | N                    | N              | N                    | 25             | N                    | 5              | N                    | 5                    | N              | 5                    | N              | 5                    | N              | 5                    | N              |
| ME-A     | 2,7              | 9                     | N                    | N              | N                    | N              | N                    | N              | 35                   | 1              | 35                   | N                    |                |                      |                |                      |                |                      |                |
| SE-H     | 2,7              | 9                     | N                    | N              | N                    | N              | N                    | N              | N                    | N              | N                    | N                    |                |                      |                |                      |                |                      |                |
| DE-L     | 3,3              | 6                     | N                    | 2              | N                    | N              | N                    | N              | N                    | N              | N                    | N                    |                |                      |                |                      |                |                      |                |
| CL-M     | 5                | 4                     | N                    | N              | N                    | 25             | N                    |                |                      |                |                      |                      |                |                      |                |                      |                |                      |                |
| HO-B     | 5,1              | 6                     | N                    | N              | N                    | 65             | N                    | 65             | N                    | 65             | N                    | 65                   | N              |                      |                |                      |                |                      |                |
| RU-S     | 6,2              | 5                     | 25                   | N              | 25                   | 5              | N                    | 25             | N                    |                |                      |                      |                |                      |                |                      |                |                      |                |
| FO-C     | 10,08            | 2                     | N                    | N              | N                    | 1              |                      |                |                      |                |                      |                      |                |                      |                |                      |                |                      |                |
| RI-P     | 13,8             | 1                     | N                    | 4              |                      |                |                      |                |                      |                |                      |                      |                |                      |                |                      |                |                      |                |

Tableau 16 : Schéma posologique des patients présentant au moins une cure avec réduction de dose cumulée

(N=valeur identique aux recommandations ; en vert : les activités CDA<sub>1</sub><2U/mg ; en bleu turquoise : les cures < 7j, en beige : les réductions journalières de dose)

## 7. EVOLUTION DE LA CDA

Il a été admis pour cette étude que la première mesure de l'activité de la CDA dosée par le CHU (CDA<sub>1</sub>) définissait le statut enzymatique du patient. Cependant, chez 30 patients sur 53, l'activité de la CDA a été dosée plus d'une fois [1-6], au fur à mesure des cures. L'intervalle entre deux mesures de l'activité de la CDA n'a pas été le même pour tous les patients pour lesquels cette activité a été dosée plusieurs fois.

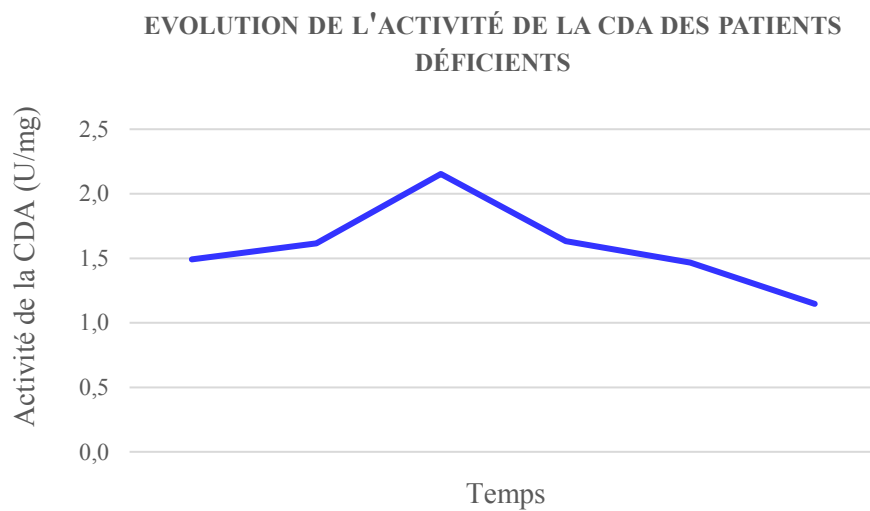


Figure 20 : Evolution de la CDA chez les patients déficients

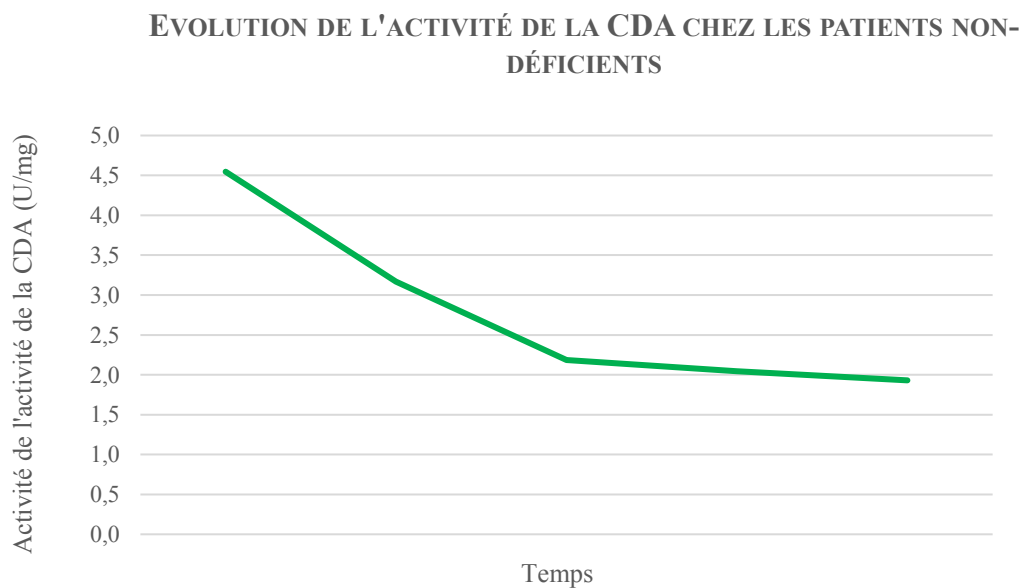


Figure 21 : Evolution de la CDA chez les patients non déficients

L'analyse de l'évolution de l'activité de la CDA révèle une diminution de l'activité de l'enzyme au cours du temps chez les patients traités par azacitidine [**Figure 20, Figure 21**].

Parmi les 30 patients pour lesquels plusieurs dosages de la CDA ont été réalisés au cours du traitement, 5 patients déficients (21%) ont présenté au moins un dosage de l'activité de la CDA supérieure ou égale à 2 U/mg et une activité de la CDA inférieure à 2 U/mg a été retrouvée chez 7 patients classés non-déficients (24%) par le premier dosage de l'activité de la CDA. Au cours de l'étude, l'analyse des cures des 7 patients passant d'une activité CDA<sub>1</sub> supérieure ou égale à 2 à une activité inférieure à 2 a rapporté les résultats suivants [**Figure 23**] :

- Le patient CL-M a une activité CDA à C1 à 5 U/mg, cette activité diminue entre les cures 2 et 3 jusqu'à atteindre à la cure 4 la valeur de 1,2 U/mg (-3,8) → une réduction de 25% de la dose théorique est requise à partir de la cure 4.
- Pour le patient LA-L, après une diminution de l'activité de la CDA entre la C1 et la C3 (-1,18), une réduction de la durée de la C3 à 5 jours, ajoutée à une réduction à 12% de la dose théorique sont requis à partir de la C4.
- La diminution de la CDA de 2,7 U/mg à C4 à 1,5 U/mg (-1,2) à C6 chez le patient MA-R s'accompagne d'une réduction de dose de 25% à partir de la C5.
- Après baisse de l'activité de la CDA entre les cures 3 et 4 (-1,9), on note un décalage de la C5 de 2 mois et d'une reprise de l'azacitidine à partir de la C6 pour des cures de 5 jours.
- Chez le patient SE-H, on observe à la C5 une diminution de la CDA par rapport à la celle dosée à la C1 (1,5 vs 2,7 U/mg soit -1,2). On enregistre un décalage de la cure 6 (avec une durée C5J1-C6J1 à 42 jours) qui s'accompagne d'une réduction de la dose à 35%.

Pour ces 5 patients classés non-déficients, pour lesquelles au moins un dosage de CDA au cours du traitement a été inférieur à 2 U/mg, on peut constater qu'à la suite d'une diminution de CDA inférieure à 2 U/mg, les patients ont bénéficié de réduction de dose à la cure suivante ou des allongements de durée de cycle. Cependant, chez les 2 autres patients non déficients, la diminution de la CDA en dessous de 2 U/mg n'a pas été associée à une nécessité d'adaptation posologique (allongement de l'intercure, réduction de dose ou baisse de la durée de la cure).

Soixante-onze pour cent des patients non déficients qui ont présenté une baisse de l'activité de la CDA en dessous du seuil de 2 U/mg ont bénéficié d'adaptation posologique.

| Patients | CDA <sub>i</sub> | Nombre totale cures | C1          |                | C2  |             | C3             |      | C4          |                | C5          |                | C6          |                | C7          |                | C8          |                | C9          |                |
|----------|------------------|---------------------|-------------|----------------|-----|-------------|----------------|------|-------------|----------------|-------------|----------------|-------------|----------------|-------------|----------------|-------------|----------------|-------------|----------------|
|          |                  |                     | % réduction | durée cure (j) | CDA | % réduction | durée cure (j) | CDA  | % réduction | durée cure (j) | % réduction | durée cure (j) | % réduction | durée cure (j) | % réduction | durée cure (j) | % réduction | durée cure (j) | % réduction | durée cure (j) |
| CL-M     | 5                | 4                   | N           | N              | 1,6 | N           | N              | 1,9  | 12          | N              | 12          | 5              | 12          | 5              |             |                |             |                |             |                |
| LA-L     | 2,1              | 6                   | N           | 6              |     | N           | N              | 0,92 | N           | 5              | 12          | 5              | 12          | 5              |             |                |             |                |             |                |
| MA-R     | 2,7              | 6                   | N           | N              |     | N           | N              |      | N           | N              | 25          | N              | 25          | N              |             |                |             |                |             |                |
| ME-A     | 2,7              | 9                   | N           | N              | 2,7 | N           | N              | 3,29 | N           | N              | N           | N              | N           | N              | N           | 5              | N           | 2              | N           | 5              |
| PE-A     | 24               | 3                   |             |                |     |             |                |      |             |                |             |                |             |                |             |                |             |                |             |                |
| PI-F     | 2                | 8                   | N           | 5              |     | N           | N              |      | N           | N              | 1,73        | N              | N           | N              | N           | N              | N           | N              |             |                |
| SE-H     | 2,7              | 9                   | N           | N              |     | N           | N              |      | N           | N              | 1,5         | N              | 35          | N              | 35          | 1              | 35          | N              | 35          | N              |

Figure 22 : Schéma posologique chez les patients non déficients pour lesquels une activité CDA<2 U/mg a été dosée au cours du traitement

N : durée de la cure et/ou dose recommandée,

En jaune : les valeurs de CDA,

En turquoise les durées de cure < 7jours,

En beige : les réductions de dose

| Patients | CDA <sub>i</sub> | Nombre<br>total de<br>cures | CDA                 |      | C2                  |     | C3                  |     | C4                  |     | C5                  |     | C6                  |     | C7                  |     | C8                  |     | C9 | CDA | CDA |
|----------|------------------|-----------------------------|---------------------|------|---------------------|-----|---------------------|-----|---------------------|-----|---------------------|-----|---------------------|-----|---------------------|-----|---------------------|-----|----|-----|-----|
|          |                  |                             | durée cycle<br>J1J1 | CDA  | durée cycle<br>J1J1 | CDA | durée cycle<br>J1J1 | CDA | durée cycle<br>J1J1 | CDA | durée cycle<br>J1J1 | CDA | durée cycle<br>J1J1 | CDA | durée cycle<br>J1J1 | CDA | durée cycle<br>J1J1 | CDA |    |     |     |
| CL-M     | 5                | 4                           | 1,6                 | 1,9  | 34                  | 29  | 1,2                 | /   |                     |     |                     |     |                     |     |                     |     |                     |     |    |     |     |
| LA-L     | 2,1              | 6                           |                     | 0,92 | 34                  | 28  |                     | 28  |                     | 30  |                     | /   |                     |     |                     |     |                     |     |    |     |     |
| MA-R     | 2,7              | 6                           |                     |      | 28                  | 36  | 2,7                 | 60  | 1,52                | 64  |                     | /   |                     |     |                     |     |                     |     |    |     |     |
| ME-A     | 2,7              | 9                           | 2,7                 | 3,29 | 34                  | 35  | 1,4                 | 86  |                     | 34  |                     | 49  |                     | 39  |                     | 72  | 2                   | /   |    |     |     |
| PE-A     | 24               | 3                           |                     | 1,79 | 28                  | /   |                     |     |                     |     |                     |     |                     |     |                     |     |                     |     |    |     |     |
| PI-F     | 2                | 8                           |                     |      | 28                  | 29  | 2                   | 41  | 1,73                | 38  |                     | 59  |                     | 28  | 2,39                | /   |                     |     |    |     |     |
| SE-H     | 2,7              | 9                           |                     |      | 32                  | 28  |                     | 59  | 1,5                 | 42  |                     | 34  |                     | 21  |                     | 453 |                     | /   |    |     |     |

Figure 23 : Durée des cycles (jours) chez les patients non déficients pour lesquels une activité CDA<2 U/mg a été dosée au cours du traitement

En rose : les valeurs de CDA>2 U/mg, en vert : les valeurs CDA < 2 U/mg

## 8. SURVIE GLOBALE

L'évaluation du nombre de cure a montré que les patients déficients ont eu significativement plus de cures que les non déficients. Cette différence pourrait s'expliquer par une meilleure réponse chez les patients pour lesquels l'activité de la CDA serait infranormale. De ce fait, les données de survie globale ont été recueillies (date de survenue du décès par rapport à la date de la cure n°1). La comparaison des courbes de survie a été faite à partir des données de 48 patients dont 12 ont été perdus de vue. Six patients ont été exclus de cette analyse, 3 patients D et 3 ND (patients décédés pour lesquels aucune date de décès n'a été retrouvée).

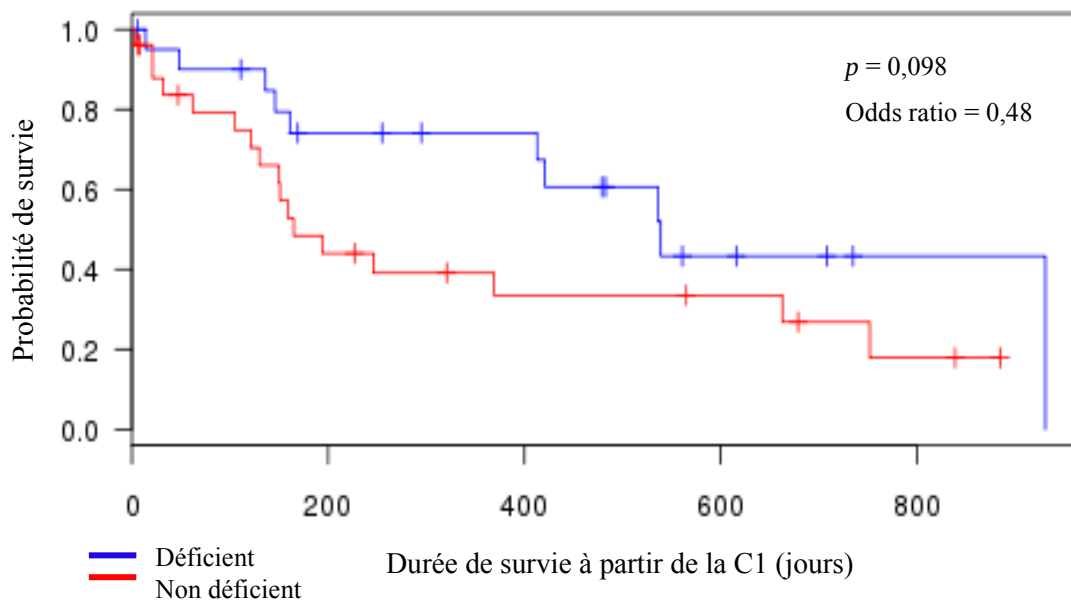


Figure 24 : Survie globale en fonction du statut CDA

Les patients déficients n'ont pas montré une probabilité de survie significativement supérieure aux non déficients. Cependant, la courbe de Kaplan et Meier montre que la probabilité de survie d'un patient déficient représente quasiment le double de celle d'un non déficient, entre approximativement 250 et 450 jours.



## 9. SOUS-GROUPE EN FONCTION DES INDICATIONS

Tous les paramètres évalués précédemment n'ont montré aucune différence significative entre les patients déficients et les non déficients au sein d'une même pathologie.

Les survies après C1 des patients atteints de SMD ne sont pas significativement différentes en fonction du statut CDA des patients **[Figure 25]**. De même pour les patients atteints de LAM **[Figure 26]**. L'analyse n'a pas pu être faite sur les patients atteints de LMMC car dans ce groupe de patients, l'étude n'a compté qu'un seul patient déficient.

Il est difficile d'évaluer les différents paramètres de l'étude en fonction des indications au vu du faible nombre de patient (SMD,  $n = 24$  [13 D et 11 ND] ; LAM,  $n = 20$  [10D et 10ND] ; LMMC,  $n = 9$  [1 D, 8 ND]). De plus rappelons que 6 patients ont été exclus de l'analyse de survie.

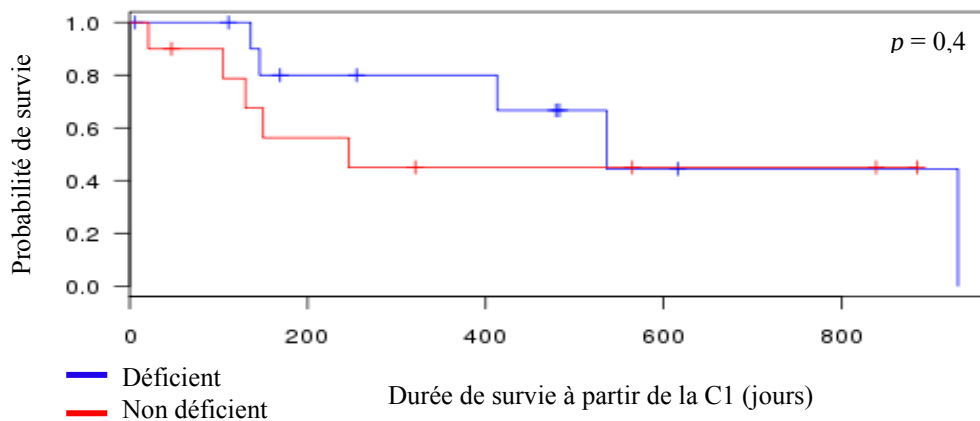


Figure 25 : Analyse de survie chez les patients D et ND atteints de SMD

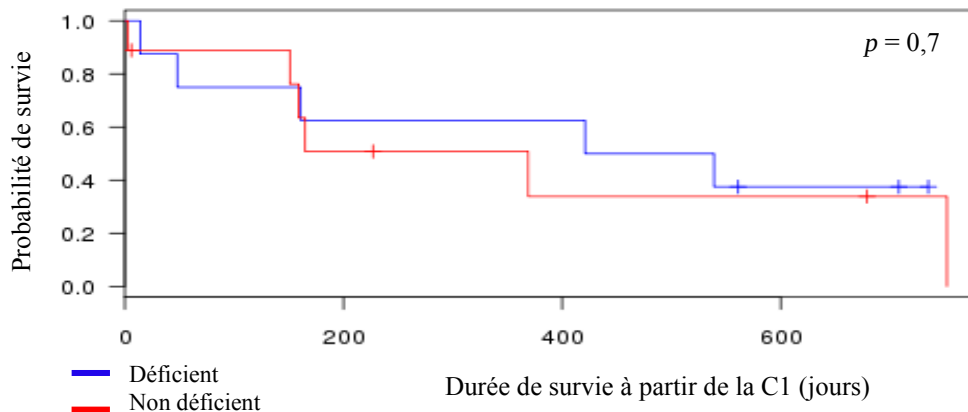


Figure 26 : Analyse de survie chez les patients D et ND atteints de LAM

## **D. LIMITES DE L'ETUDE**

Cette étude présente plusieurs limites, les premières étant le caractère rétrospectif et le nombre limité de patients étudié. D'autres biais significatifs concernent :

- L'historique des cures : il a été récupéré à partir des historiques des administrations des infirmiers constituant ainsi un biais dans l'analyse de ce paramètre.
- Le statut déficitaire de la cytidine deaminase a été choisi dans l'étude comme étant le statut correspondant à la première valeur de l'activité de la CDA dosée par le CHU.
- Le manque de consensus quant aux valeurs normales de cette même activité. Rappelons que dans le cadre de cette étude, la valeur seuil de l'activité de la CDA a été fixée à 2 U/mg.
- L'absence de données purement cliniques à savoir l'ensemble des toxicités.
- L'absence de certaines données telles que l'analyse des caryotypes, de la numération formule sanguine des patients à chaque cure, et de la non intégration des scores IPSS dans l'analyse des résultats.

## **E. CONCLUSION DE L'ETUDE**

Les différentes publications concernant l'influence de l'activité de la cytidine déaminase sur l'issue clinique des patients traités par analogues nucléosidiques, qui suggèrent qu'une faible activité enzymatique de la CDA prédisposerait à des réponses aux traitements associées à des surtoxicités sont à l'origine de ce travail. Les résultats obtenus sur 53 patients traités par azacitidine au CHU de la Conception révèlent que l'ensemble des patients a reçu des cycles de durée similaire et des doses intensité par cycle identiques. Aucune différence en termes de réduction de dose (adaptation posologique) n'a pu être significativement observée, pouvant suggérer l'absence de relation entre surtoxicités et déficience en CDA, ou au contraire des surtoxicités existantes mais pouvant être gérées notamment par des soins de support. Néanmoins, l'étude a montré que les patients déficients (PM) ont reçu plus de cures que les non déficients, ils ont donc été traités plus longtemps. Au regard des recommandations, le traitement par azacitidine doit être prescrit pour un minimum de 6 cycles et doit être maintenu jusqu'à progression de la maladie ou de toxicités inacceptables. Ainsi le nombre des cures supérieur chez les patients déficients serait synonyme d'une meilleure réponse dans ce groupe de patients.

L'analyse de l'évolution de la blastose médullaire et de la formule numération sanguine des patients confrontés à l'activité de la CDA pourrait étayer ces résultats.

L'analyse des patients passant d'une activité de la CDA de plus de 2 U/mg à moins de 2 U/mg, montre qu'une adaptation posologique a été associée dans la majorité des cas à une diminution de l'activité de la cytidine déaminase de plus de 1 U/mg, pouvant ainsi appuyer l'hypothèse d'une influence de cette même activité sur la tolérance des patients.

L'examen des patients ayant reçu plus de 6 cures, pour lesquels une réponse a pu être objectivée par les oncologues montre que les patients ayant eu les doses cumulées par cycle les plus faibles correspondent à ceux ayant la plus faible activité CDA. De plus, il semblerait, qu'au plus l'activité de la CDA augmentent, au moins les patients sont susceptibles de recevoir de cures **[Figure 18, Figure 19]**.

## CONCLUSION

Ces dernières années des progrès considérables sur l'identification des marqueurs génétiques et moléculaires des cancers, ont permis d'améliorer considérablement la prise en charge des patients bénéficiant de médicaments anticancéreux, pour lesquels la marge thérapeutique extrêmement étroite expose à une iatrogénie potentiellement grave. Ces outils d'aide à la décision thérapeutique constituent des marqueurs prédictifs de réponse et/ou de toxicité. Sur ce principe, plusieurs études citées dans ce manuscrit ont analysé l'impact du métabolisme enzymatique d'un médicament sur le devenir clinique d'un patient. Ainsi, l'expression de la cytidine déaminase a été évaluée sur le devenir des patient traités par analogues nucléosidiques tels que la gemcitabine et azacitidine. S'il est vrai, aucun lien causal n'a clairement été établi et qu'à ce jour, aucune recommandation ne prend en compte ce dosage dans la prise en charge des patients. Néanmoins, plusieurs travaux suggèrent que l'activité de la CDA pourrait servir de marqueur prédictif afin d'une part d'anticiper les toxicités et d'autre part prévenir les réponses non-optimales. Au-delà d'une amélioration de la prise en charge des patients, l'intégration des tests pharmacogénomiques dans la décision thérapeutique participerait à l'utilisation efficiente de ces molécules onéreuses dont la gestion des surtoxicités éventuelles occasionnent des coûts supplémentaires.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

<sup>1</sup> Waddington, C. H., “Canalization of Development and the Inheritance of Acquired Characters”, *Nature*, Volume 150, Issue 3811, pp. 563-565 (1942)

<sup>2</sup> Woodcock, Christopher L, and Rajarshi P Ghosh. “Chromatin Higher-Order Structure and Dynamics.” *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 2, no. 5 (May 2010): a000596. doi:10.1101/cshperspect.a000596.

<sup>3</sup> Annunziato, A. (2008) “DNA Packaging: Nucleosomes and Chromatin”. *Nature Education* 1(1):26, <http://www.nature.com/scitable/topicpage/dna-packaging-nucleosomes-and-chromatin-310> , consulté le 10 Mai 2016

<sup>4</sup> Marion Martin. Identification of a DNA methylation signature in CD133+ liver cancer cell lines and its relation with the transforming growth factor beta signaling pathway. Cancer.Ecole normale superieure de lyon - ENS LYON, 2013. English. <NNT : 2013ENSL0862>.<tel-00942762>.page 74

<sup>5</sup> Hotchkiss, Rollin D. “the quantitative separation of purines, pyrimidines, and nucleosides by paper chromatography.” *Journal of Biological Chemistry* 175, no. 1 (August 1, 1948): 315–32.

<sup>6</sup> Hutchins, Anne S, Alan C Mullen, Hubert W Lee, Kara J Sykes, Frances A High, Brian D Hendrich, Adrian P Bird, and Steven L Reiner. “Gene Silencing Quantitatively Controls the Function of a Developmental Trans-Activator.” *Molecular Cell* 10, no. 1 (n.d.): 81–91. doi:10.1016/S1097-2765(02)00564-6.

<sup>7</sup> Lyko, Frank, Bernard H. Ramsahoye, and Rudolf Jaenisch. “Development: DNA Methylation in *Drosophila Melanogaster*.” *Nature* 408, no. 6812 (November 30, 2000): 538–40. doi:10.1038/35046205.

<sup>8</sup> Ramsahoye, Bernard H, Detlev Biniszkiewicz, Frank Lyko, Victoria Clark, Adrian P Bird, and Rudolf Jaenisch. “Non-CpG Methylation Is Prevalent in Embryonic Stem Cells and May Be Mediated by DNA Methyltransferase 3a.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97, no. 10 (May 9, 2000): 5237–42.

---

<sup>9</sup> Ehrlich, M, M A Gama-Sosa, L H Huang, R M Midgett, K C Kuo, R A McCune, and C Gehrke. "Amount and Distribution of 5-Methylcytosine in Human DNA from Different Types of Tissues of Cells." *Nucleic Acids Research* 10, no. 8 (April 24, 1982): 2709–21.

<sup>10</sup> Villar-Garea, Ana, Mario F. Fraga, Jesus Espada, and Manel Esteller. "Procaine Is a DNA-Demethylating Agent with Growth-Inhibitory Effects in Human Cancer Cells." *Cancer Research* 63, no. 16 (August 26, 2003): 4984.

<sup>11</sup> Cheng, Xiaodong, and Robert M. Blumenthal. "Mammalian DNA Methyltransferases: A Structural Perspective." *Structure* 16, no. 3 (March 11, 2008): 341–50. doi:10.1016/j.str.2008.01.004.

<sup>12</sup> Lauster, Roland, Thomas A. Trautner, and Mario Noyer-Weidner. "Cytosine-Specific Type II DNA Methyltransferases." *Journal of Molecular Biology* 206, no. 2 (March 20, 1989): 305–12. doi:10.1016/0022-2836(89)90480-4.

<sup>13</sup> Pradhan, Sriharsa, Albino Bacolla, Robert D. Wells, and Richard J. Roberts. "recombinant human dna (cytosine-5) methyltransferase: i. expression, purification, and comparison of de novo and maintenance methylation." *Journal of Biological Chemistry* 274, no. 46 (November 12, 1999): 33002–10. doi:10.1074/jbc.274.46.33002.

<sup>14</sup> Amandine Chatagnon. Spécificité de liaison et de répression de la " Methyl-CpG-Binding Domain protein 2 " (MBD2) : identification de gènes cibles impliqués dans les cancers. *Sciences du vivant [q-bio]*. Université Claude Bernard - Lyon I, 2009. Français. <NNT : 2009LYO10270>. <tel-00603777>

<sup>15</sup> Okano, Masaki, Daphne W Bell, Daniel A Haber, and En Li. "DNA Methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b Are Essential for De Novo Methylation and Mammalian Development." *Cell* 99, no. 3 (October 29, 1999): 247–57. doi:10.1016/S0092-8674(00)81656-6.

<sup>16</sup> Li, En, Timothy H. Bestor, and Rudolf Jaenisch. "Targeted Mutation of the DNA Methyltransferase Gene Results in Embryonic Lethality." *Cell* 69, no. 6 (June 12, 1992): 915–26. doi:10.1016/0092-8674(92)90611-F.

---

<sup>17</sup> Makar, Karen W, Mercedes Perez-Melgosa, Maria Shnyreva, William M Weaver, David R Fitzpatrick, and Christopher B Wilson. “Active Recruitment of DNA Methyltransferases Regulates Interleukin 4 in Thymocytes and T Cells.” *Nat Immunol* 4, no. 12 (December 2003): 1183–90. doi:10.1038/ni1004.

<sup>18</sup> Okano, Masaki, Shaoping Xie, and En Li. “Cloning and Characterization of a Family of Novel Mammalian DNA (Cytosine-5) Methyltransferases.” *Nat Genet* 19, no. 3 (July 1998): 219–20. doi:10.1038/890.

<sup>19</sup> Pradhan, Sriharsa, and Pierre-Olivier Esteve. “Mammalian DNA (Cytosine-5) Methyltransferases and Their Expression.” *DNA Methylation in the Immune System* 109, no. 1 (October 2003): 6–16. doi:10.1016/S1521-6616(03)00204-3.

<sup>20</sup> Goll, M.G., Kirpekar, F., Maggert, K.A., Yoder, J.A., Hsieh, C.-L., Zhang, X., Golic, K.G., Jacobsen, S.E., and Bestor, T.H. (2006). Methylation of tRNA<sup>Asp</sup> by the DNA methyltransferase homolog Dnmt2. *Science* 311, 395–398

<sup>21</sup> Chédin, Frédéric, Michael R Lieber, and Chih-Lin Hsieh. “The DNA Methyltransferase-like Protein DNMT3L Stimulates de Novo Methylation by Dnmt3a.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99, no. 26 (December 24, 2002): 16916–21. doi:10.1073/pnas.262443999.

<sup>22</sup> Jurkowska, Renata Zofia, Tomasz Piotr Jurkowski, and Albert Jeltsch. “Structure and Function of Mammalian DNA Methyltransferases.” *ChemBioChem* 12, no. 2 (2011): 206–222. doi:10.1002/cbic.201000195.

<sup>23</sup> Nan, Xinsheng, Huck-Hui Ng, Colin A. Johnson, Carol D. Laherty, Bryan M. Turner, Robert N. Eisenman, and Adrian Bird. “Transcriptional Repression by the Methyl-CpG-Binding Protein MeCP2 Involves a Histone Deacetylase Complex.” *Nature* 393, no. 6683 (May 28, 1998): 386–89. doi:10.1038/30764.

<sup>24</sup> Jones, Peter L., Gert C. Jan Veenstra, Paul A. Wade, Danielle Vermaak, Stefan U. Kass, Nicoletta Landsberger, John Strouboulis, and Alan P. Wolffe. “Methylated DNA and MeCP2 Recruit Histone Deacetylase to Repress Transcription.” *Nat Genet* 19, no. 2 (June 1998): 187–91. doi:10.1038/561.

---

<sup>25</sup> Fuks, Francois, Wendy A. Burgers, Alexander Brehm, Luke Hughes-Davies, and Tony Kouzarides. "DNA Methyltransferase Dnmt1 Associates with Histone Deacetylase Activity." *Nat Genet* 24, no. 1 (January 2000): 88–91. doi:10.1038/71750.

<sup>26</sup> Deplus, Rachel, Carmen Brenner, Wendy A Burgers, Pascale Putmans, Tony Kouzarides, Yvan de Launoit, and François Fuks. "Dnmt3L Is a Transcriptional Repressor That Recruits Histone Deacetylase." *Nucleic Acids Research* 30, no. 17 (September 1, 2002): 3831–38.

<sup>27</sup> Fuks, François. "Les Méthyltransférases de l'ADN: Du Remodelage de La Chromatine Au Cancer." *Med Sci (Paris)* 19, no. 4 (April 2003): 477–80. doi:10.1051/medsci/2003194477.

<sup>28</sup> Hashimoto, Hideharu, Paula M Vertino, and Xiaodong Cheng. "Molecular Coupling of DNA Methylation and Histone Methylation." *Epigenomics* 2, no. 5 (October 2010): 657–69.

<sup>29</sup> Tamaru, Hisashi, and Eric U. Selker. "A Histone H3 Methyltransferase Controls DNA Methylation in *Neurospora Crassa*." *Nature* 414, no. 6861 (November 15, 2001): 277–83. doi:10.1038/35104508.

<sup>30</sup> Jackson, James P., Anders M. Lindroth, Xiaofeng Cao, and Steven E. Jacobsen. "Control of CpNpG DNA Methylation by the KRYPTONITE Histone H3 Methyltransferase." *Nature* 416, no. 6880 (April 4, 2002): 556–60. doi:10.1038/nature731.

<sup>31</sup> Sophie Deltour, Valérie Chopin, Dominique Leprince, Modifications épigénétiques et cancer, *medecine/sciences* 2005 ; 21 : 405-11, [www.inserm.fr/content/download/10107/.../modifications\\_epigenetiques\\_cancer.pdf](http://www.inserm.fr/content/download/10107/.../modifications_epigenetiques_cancer.pdf), consulté le 15 Mai 2016

<sup>32</sup> Esteller, Manel. "Cancer Epigenomics: DNA Methylomes and Histone-Modification Maps." *Nat Rev Genet* 8, no. 4 (April 2007): 286–98. doi:10.1038/nrg2005.

<sup>33</sup> Baylin, Stephen B. "DNA Methylation and Gene Silencing in Cancer." *ChemInform* 37, no. 22 (May 30, 2006): no-no. doi:10.1002/chin.200622296.



---

<sup>34</sup> Pogribny, Igor P, S.Jill James, Stefanie Jernigan, and Marta Pogribna. “Genomic Hypomethylation Is Specific for Preneoplastic Liver in Folate/methyl Deficient Rats and Does Not Occur in Non-Target Tissues.” *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 548, no. 1–2 (April 14, 2004): 53–59. doi:10.1016/j.mrfmmm.2003.12.014.

<sup>35</sup> ZHU, Jing De. “The Altered DNA Methylation Pattern and Its Implications in Liver Cancer.” *Cell Res* 15, no. 4 (April 2005): 272–80.

<sup>36</sup> Lee, Hwan Seok, Baek-Hee Kim, Nam-Yun Cho, Eun Joo Yoo, Minhee Choi, So-Hyun Shin, Ja-June Jang, Kyung-Suk Suh, Yong Sung Kim, and Gyeong Hoon Kang. “Prognostic Implications of and Relationship Between CpG Island Hypermethylation and Repetitive DNA Hypomethylation in Hepatocellular Carcinoma.” *Clinical Cancer Research* 15, no. 3 (February 2, 2009): 812. doi:10.1158/1078-0432.CCR-08-0266.

<sup>37</sup> Tangkijvanich, Pisit, Nusara Hourpai, Prakasit Rattanatanyong, Naruemon Wisedopas, Varocha Mahachai, and Apiwat Mutirangura. “Serum LINE-1 Hypomethylation as a Potential Prognostic Marker for Hepatocellular Carcinoma.” *Clinica Chimica Acta* 379, no. 1–2 (April 2007): 127–33. doi:10.1016/j.cca.2006.12.029.

<sup>38</sup> Chiang, Jing Wang, Beth Y. Karlan, Ilana Cass, and Rae Lynn Baldwin. “BRCA1 Promoter Methylation Predicts Adverse Ovarian Cancer Prognosis”. *Gynecologic Oncology* 101, no. 3 (June 2006): 403–10. doi:10.1016/j.ygyno.2005.10.034.

<sup>39</sup> Suzuki M, Iizasa T, Nakajima T, Kubo R, Iyoda A, Hiroshima K, Nakatani Y, and Fujisawa T (2007) “Aberrant methylation of IL-12Rbeta2 gene in lung adenocarcinoma cells is associated with unfavorable prognosis”. *Ann Surg Oncol*,14, 2636-2642

<sup>40</sup> Suzuki, Makoto, Hisayuki Shigematsu, Takahiro Nakajima, Rieko Kubo, Shinichiro Motohashi, Yasuo Sekine, Kiyoshi Shibuya, et al. “Synchronous Alterations of Wnt and Epidermal Growth Factor Receptor Signaling Pathways through Aberrant Methylation and Mutation in Non–Small Cell Lung Cancer.” *Clinical Cancer Research* 13, no. 20 (October 18, 2007): 6087. doi:10.1158/1078-0432.CCR-07-0591.

<sup>41</sup> Park, Hye-Jung, Eunsil Yu, and Yhong-Hee Shim. “DNA Methyltransferase Expression and DNA Hypermethylation in Human Hepatocellular Carcinoma.” *Cancer Letters* 233, no. 2 (February 28, 2006): 271–78. doi:10.1016/j.canlet.2005.03.017.

---

<sup>42</sup> Saito, Yoshimasa, Yae Kanai, Tohru Nakagawa, Michiie Sakamoto, Hidetsugu Saito, Hiromasa Ishii, and Setsuo Hirohashi. “Increased Protein Expression of DNA Methyltransferase (DNMT) 1 Is Significantly Correlated with the Malignant Potential and Poor Prognosis of Human Hepatocellular Carcinomas.” *International Journal of Cancer* 105, no. 4 (July 1, 2003): 527–32. doi:10.1002/ijc.11127.

<sup>43</sup> Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé, “Avis favorables pour 19 nouvelles AMM de médicaments : retour sur la réunion de septembre 2015 du CHMP - Point d'information”, <http://ansm.sante.fr/S-informer/Travaux-de-l-Agence-Europeenne-des-Medicaments-EMA-Comite-des-medicaments-a-usage-humain-CHMP/Avis-favorables-pour-19-nouvelles-AMM-de-medicaments-retour-sur-la-reunion-de-septembre-2015-du-CHMP-Point-d-information>, consulté le 15 Août 2016

<sup>44</sup> Agnès guerci-bresler, lionel ades, emmanuel gyan et al, “recommandations pour l'utilisation de l'azacitidine dans le traitement des syndromes myélodysplasiques”. [http://www.gfmgroup.org/fichiers/recommandation\\_20100215182052.pdf](http://www.gfmgroup.org/fichiers/recommandation_20100215182052.pdf) f consulté le 21 aout 2016

<sup>45</sup> Leone, G, L Teofili, MT Voso, and M Lubbert. “DNA Methylation and Demethylating Drugs in Myelodysplastic Syndromes and Secondary Leukemias.” *Haematologica* 87, no. 12 (December 1, 2002): 1324.

<sup>46</sup> Keating, Gillian M. “Azacitidine: A Review of Its Use in the Management of Myelodysplastic Syndromes/Acute Myeloid Leukaemia.” *Drugs* 72, no. 8 (May 2012): 1111–36.

<sup>47</sup> Raj, K, A John, A Ho, C Chronis, S Khan, J Samuel, S Pomplun, N S B Thomas, and G J Mufti. “CDKN2B Methylation Status and Isolated Chromosome 7 Abnormalities Predict Responses to Treatment with 5-azacytidine.” *Leukemia* 21, no. 9 (July 5, 2007): 1937–44.

<sup>48</sup> Martin, Michael G., Richard Walgren, Elizabeth Procknow, Peter Westervelt, Camille N Abboud, Amanda F Cashen, Keith Stockerl-Goldstein, Feng Gao, John F DiPersio, and Ravi Vij. “Azacitidine-Induced Changes in the MDS Methylome Are Associated with Clinical Responses.” *Blood* 112, no. 11 (September 28, 2015): 2691.

---

<sup>49</sup> Herman, James G., Steven Gore, Ghulam Mufti, Pierre Fenaux, Valeria Santini, Lewis Silverman, John Seymour, et al. "Abstract #4746: Relationship among Gene Methylation, Azacitidine Treatment, and Survival in Patients with Higher-Risk Myelodysplastic Syndromes (MDS): Results from the AZA-001 Trial." *Cancer Research* 69, no. 9 Supplement (October 8, 2014): 4746.

<sup>50</sup> Christman, Judith K., Naomi Mendelsohn, David Herzog, and Natalie Schneiderman. "Effect of 5-azacytidine on Differentiation and DNA Methylation in Human Promyelocyte Leukemia Cells (HL-60)." *Cancer Research* 43, no. 2 (February 1, 1983): 763.

<sup>51</sup> Celgène corporation, Monographie de produit "Vidaza Azacitidine pour injection". 14 octobre 2015, [http://www.celgenecanada.net/pdfs/Vidaza%20Product\\_Monograph\\_-\\_French\\_Version.pdf](http://www.celgenecanada.net/pdfs/Vidaza%20Product_Monograph_-_French_Version.pdf), consulté le 10 Mai.

<sup>52</sup> Marcucci, Guido, Lewis Silverman, Mark Eller, Linda Lintz, and C. L. Beach. "Bioavailability of Azacitidine Subcutaneous Versus Intravenous in Patients With the Myelodysplastic Syndromes." *The Journal of Clinical Pharmacology* 45, no. 5 (May 1, 2005): 597–602. doi:10.1177/0091270004271947.

<sup>53</sup> Garcia-Manero, G, M L Stoltz, M R Ward, H Kantarjian, and S Sharma. "A Pilot Pharmacokinetic Study of Oral Azacitidine." *Leukemia* 22, no. 9 (June 12, 2008): 1680–84. <http://www.nature.com/leu/journal/v22/n9/full/leu2008145a.html> consulté le 07 juillet 2016

<sup>54</sup> Laille, Eric, Tao Shi, Guillermo Garcia-Manero, Christopher R. Cogle, Steven D. Gore, Joel Hetzer, Keshava Kumar, Barry Skikne, and Kyle J. MacBeth. "Pharmacokinetics and Pharmacodynamics with Extended Dosing of CC-486 in Patients with Hematologic Malignancies." *PLoS ONE* 10, no. 8 (August 21, 2015): e0135520. doi:10.1371/journal.pone.0135520.

<sup>55</sup> Université Angers "Les syndromes myélodysplasiques", <http://hematocell.fr/index.php/enseignement-de-lhematologie-cellulaire/hematologie-et-pathologie-generale/117-les-syndromes-myelodysplasiques>, consulté le 21 Aout 2016

<sup>56</sup> Rocquain, Julien. "Recherche de Nouvelles Cibles Moléculaires Dans Les Syndromes Myélodysplasiques et Leucémies Aiguës Myéloïdes," 2010. <http://www.theses.fr/2010AIX20695/document>, consulté le 10 Août 2016.

---

<sup>57</sup> Leone, Giuseppe, Livio Pagano, Dina Ben-Yehuda, and Maria Teresa Voso. “Therapy-Related Leukemia and Myelodysplasia: Susceptibility and Incidence.” *Haematologica* 92, no. 10 (October 1, 2007): 1389. doi:10.3324/haematol.11034.

<sup>58</sup> Haute Autorité de Santé, “Insuffisances médullaires et autres cytopénies chroniques” [http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/guidem\\_syndrome\\_myelo\\_version\\_web\\_2008\\_05\\_20\\_8\\_32\\_46\\_696.pdf](http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/guidem_syndrome_myelo_version_web_2008_05_20_8_32_46_696.pdf), consulté le 21 aout 2016

<sup>59</sup> Alain Monnereau, Laurent Remontet, Marc Maynadié et al, institut nationale de veille sanitaire, “Estimation nationale de l’incidence des cancers en France entre 1980 et 2012 “ [http://opac.invs.sante.fr/doc\\_num.php?explnum\\_id=9613](http://opac.invs.sante.fr/doc_num.php?explnum_id=9613), consulté le 21 aout 2016

<sup>60</sup> Horizons hémato, “Myélodysplasie“, volume 03, Numéro 03, Septembre 2013, [http://cnphg.org/zone\\_doc/pdfs/PRESSE/HH9.pdf](http://cnphg.org/zone_doc/pdfs/PRESSE/HH9.pdf), consulté le 21 aout 2016.

<sup>61</sup> Delhommeau, François, Sabrina Dupont, Véronique Della Valle, Chloé James, Severine Trannoy, Aline Massé, Olivier Kosmider, et al. “Mutation in TET2 in Myeloid Cancers.” *New England Journal of Medicine* 360, no. 22 (May 28, 2009): 2289–2301. doi:10.1056/NEJMoa0810069.

<sup>62</sup> Gelsi-Boyer, Véronique, Mandy Brecqueville, Raynier Devillier, Anne Murati, Marie-Joelle Mozziconacci, and Daniel Birnbaum. “Mutations in ASXL1 Are Associated with Poor Prognosis across the Spectrum of Malignant Myeloid Diseases.” *Journal of Hematology & Oncology* 5 (2012): 12–12. doi:10.1186/1756-8722-5-12.

<sup>63</sup> Figueroa, Maria E., Omar Abdel-Wahab, Chao Lu, Patrick S. Ward, Jay Patel, Alan Shih, Yushan Li, et al. “Leukemic IDH1 and IDH2 Mutations Result in a Hypermethylation Phenotype, Disrupt TET2 Function, and Impair Hematopoietic Differentiation.” *Cancer Cell* 18, no. 6 (December 14, 2010): 553–67. doi:10.1016/j.ccr.2010.11.015.

<sup>64</sup> Konopleva, Marina Y, and Craig T Jordan. “Leukemia Stem Cells and Microenvironment: Biology and Therapeutic Targeting.” *Journal of Clinical Oncology* 29, no. 5 (February 10, 2011): 591–99. doi:10.1200/JCO.2010.31.0904.

<sup>65</sup> Huang, Meng-Meng, and Jiang Zhu. “The Regulation of Normal and Leukemic Hematopoietic Stem Cells by Niches.” *Cancer Microenvironment: Official Journal of the*

---

International Cancer Microenvironment Society 5, no. 3 (December 2012): 295–305.  
doi:10.1007/s12307-012-0114-y.

<sup>66</sup> Lapidot, Tsvee, Christian Sirard, Josef Vormoor, Barbara Murdoch, Trang Hoang, Julio Caceres-Cortes, Mark Minden, Bruce Paterson, Michael A. Caligiuri, and John E. Dick. “A Cell Initiating Human Acute Myeloid Leukaemia after Transplantation into SCID Mice.” *Nature* 367, no. 6464 (February 17, 1994): 645–48. doi:10.1038/367645a0.

<sup>67</sup> Itzykson, Raphaël, Olivier Kosmider, Aline Renneville, Margot Morabito, Claude Preudhomme, Céline Berthon, Lionel Adès, et al. “Clonal Architecture of Chronic Myelomonocytic Leukemias.” *Blood* 121, no. 12 (March 21, 2013): 2186. doi:10.1182/blood-2012-06-440347.

<sup>68</sup> Gualtieri, RJ, PD Emanuel, KS Zuckerman, G Martin, SC Clark, RK Shadduck, RA Dracker, J Akabutu, R Nitschke, and ML Hetherington. “Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor Is an Endogenous Regulator of Cell Proliferation in Juvenile Chronic Myelogenous Leukemia.” *Blood* 74, no. 7 (November 15, 1989): 2360.

<sup>69</sup> Silverman, Lewis R., David R. McKenzie, Bercedis L. Peterson, James F. Holland, Jay T. Backstrom, C.L. Beach, and Richard A. Larson. “Further Analysis of Trials With Azacitidine in Patients With Myelodysplastic Syndrome: Studies 8421, 8921, and 9221 by the Cancer and Leukemia Group B.” *Journal of Clinical Oncology* 24, no. 24 (August 20, 2006): 3895–3903.

<sup>70</sup> Scott, Lesley J. “Azacitidine: A Review in Myelodysplastic Syndromes and Acute Myeloid Leukaemia.” *Drugs* 76, no. 8 (2016): 889–900. doi:10.1007/s40265-016-0585-0.

<sup>71</sup> Sebert M, Hernandez E, Chermat F, et al. Treatment of high risk MDS and AML post-MDS with azacytidine (AZA): current results of the French ATU program [abstract no.0428]. *Haematologica* 2007 Jun 1; 92 Suppl. 1: 158-9, <http://online.haematologica.org/eha12/browserecord.php?-action=browse&-recid=428>, consulté le 15 Aout 2016

<sup>72</sup> van der Helm, Lieke H., Canan Alhan, Pierre W. Wijermans, Marinus van Marwijk Kooy, Ron Schaafsma, Bart J. Biemond, Aart Beeker, et al. “Platelet Doubling after the First Azacitidine Cycle Is a Promising Predictor for Response in Myelodysplastic Syndromes (MDS), Chronic Myelomonocytic Leukaemia (CMML) and Acute Myeloid Leukaemia (AML)

---

Patients in the Dutch Azacitidine Compassionate Named Patient Programme.” *British Journal of Haematology* 155, no. 5 (December 1, 2011): 599–606. doi:10.1111/j.1365-2141.2011.08893.x.

<sup>73</sup> Beguin, Y., D. Selleslag, S. Meers, C. Graux, G. Bries, D. Deeren, I. Vrelust, et al. “Safety and Efficacy of Azacitidine in Belgian Patients with High-Risk Myelodysplastic Syndromes, Acute Myeloid Leukaemia, or Chronic Myelomonocytic Leukaemia: Results of a Real-Life, Non-Interventional Post-Marketing Survey.” *Acta Clinica Belgica* 70, no. 1 (February 1, 2015): 34–43. doi:10.1179/2295333714Y.0000000102. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25444072>, consulté le 25 aout 2016

<sup>74</sup> Pleyer, Lisa, Reinhard Stauder, Sonja Burgstaller, Martin Schreder, Christoph Tinchon, Michael Pfeilstocker, Susanne Steinkirchner, et al. “Azacitidine in Patients with WHO-Defined AML – Results of 155 Patients from the Austrian Azacitidine Registry of the AGMT-Study Group.” *Journal of Hematology & Oncology* 6, no. 1 (2013): 1–13. doi:10.1186/1756-8722-6-32.

<sup>75</sup> Tendas, Andrea, Luca Cupelli, Agostina Siniscalchi, Laura Scaramucci, Marco Giovannini, Teresa Dentamaro, Alessio Perrotti, Tommaso Caravita, Paolo de Fabritiis, and Pasquale Niscola. “Azacitidine in Chronic Myelomonocytic Leukemia: An Effective and Manageable Approach.” *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases* 6, no. 1 (2014): e2014020. doi:10.4084/mjhid.2014.020.

<sup>76</sup> Vigil, Carlos E, Taida Martin-Santos, and Guillermo Garcia-Manero. “Safety and Efficacy of Azacitidine in Myelodysplastic Syndromes.” *Drug Design, Development and Therapy* 4 (2010): 221–29.

<sup>77</sup> Field, T, J Perkins, Y Huang, M A Kharfan-Dabaja, M Alsina, E Ayala, H F Fernandez, et al. “5-Azacitidine for Myelodysplasia before Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation.” *Bone Marrow Transplant* 45, no. 2 (June 22, 2009): 255–60.

<sup>78</sup> Khan, Cyrus, Neeta Pathe, Salman Fazal, John Lister, and James M Rossetti. “Azacitidine in the Management of Patients with Myelodysplastic Syndromes.” *Therapeutic Advances in Hematology* 3, no. 6 (December 2012): 355–73. doi:10.1177/2040620712464882.

---

<sup>79</sup> Xu, Yidan, Lei Li, Jianmin Li, and Qinghuai Liu. “Structural and Biological Function of NYD-SP15 as a New Member of Cytidine Deaminases.” *Gene* 583, no. 1 (May 25, 2016): 36–47. doi:10.1016/j.gene.2016.02.048.

<sup>80</sup> Thompson, P W, D D Jones, and H L Currey. “Cytidine Deaminase Activity as a Measure of Acute Inflammation in Rheumatoid Arthritis.” *Annals of the Rheumatic Diseases* 45, no. 1 (January 1986): 9–14. <http://ard.bmj.com/content/45/1/9.full.pdf+html>, consulté le 30 Aout 2016

<sup>81</sup> Kassimos D, Kirwan JR, Kyle V, Hazleman B, Dieppe P. “Cytidine deaminase may be a useful marker in differentiating elderly onset rheumatoid arthritis from polymyalgia rheumatica/giant cell arteritis.” *Clin Exp Rheumatol.* 1995 Sep;13(5):641–4.consulté : <http://www.pubfacts.com/detail/24940698/Selection-of-the-best-blood-compartment-to-measure-cytidine-deaminase-activity-to-stratify-for-optim>, le 30 Aout 2016

<sup>82</sup> Serdjebi, Cindy. “Pharmacogénétique Des Analogues Nucléosidiques : Cytidine Déaminase et Issue Clinique,” 2015. <http://www.theses.fr/2015AIXM5502/document>, consulté le 20 aout 2016

<sup>83</sup> Peters, Godefridus J., Richard J. Honeywell, Marie Maulandi, Elisa Giovannetti, Nienke Losekoot, Marie-Christine Etienne-Grimaldi, Gerard Milano, Cindy Serdjebi, and Joseph Ciccolini. “Selection of the Best Blood Compartment to Measure Cytidine Deaminase Activity to Stratify for Optimal Gemcitabine or Cytarabine Treatment.” *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids* 33, no. 4–6 (April 4, 2014): 403–12. doi:10.1080/15257770.2014.894196.

<sup>84</sup> Ciccolini, Joseph, Laetitia Dahan, Nicolas André, Alexandre Evrard, Muriel Duluc, Aurore Blesius, Chenguang Yang, et al. “Cytidine Deaminase Residual Activity in Serum Is a Predictive Marker of Early Severe Toxicities in Adults After Gemcitabine-Based Chemotherapies.” *Journal of Clinical Oncology* 28, no. 1 (January 1, 2010): 160–65. doi:10.1200/JCO.2009.24.4491.

<sup>85</sup> Teng, Y S, J E Anderson, and E R Giblett. “Cytidine Deaminase: A New Genetic Polymorphism Demonstrated in Human Granulocytes.” *American Journal of Human Genetics* 27, no. 4 (July 1975): 492–97.

---

<sup>86</sup> Micozzi, Daniela, Francesco Martino Carpi, Stefania Pucciarelli, Valeria Polzonetti, Paolo Polidori, Santiago Vilar, Brian Williams, Stefano Costanzi, and Silvia Vincenzetti. "Human Cytidine Deaminase: A Biochemical Characterization of Its Naturally Occurring Variants." *International Journal of Biological Macromolecules* 63 (February 2014): 64–74. doi:10.1016/j.ijbiomac.2013.10.029.

<sup>87</sup> Robert, J. "Polymorphismes Génétiques." *Bulletin Du Cancer* 97, no. 11 (November 2010): 1253–64. doi:10.1684/bdc.2010.120

<sup>88</sup> Gilbert, Judith A., Oreste E. Salavaggione, Yuan Ji, Linda L. Pelleymounter, Bruce W. Eckloff, Eric D. Wieben, Matthew M. Ames, and Richard M. Weinshilboum. "Gemcitabine Pharmacogenomics: Cytidine Deaminase and Deoxycytidylate Deaminase Gene Resequencing and Functional Genomics." *Clinical Cancer Research* 12, no. 6 (March 21, 2006): 1794. doi:10.1158/1078-0432.CCR-05-1969.

<sup>89</sup> Giovannetti, E., A. C. Laan, E. Vasile, C. Tibaldi, S. Nannizzi, S. Ricciardi, A. Falcone, R. Danesi, and G. J. Peters. "Correlation Between Cytidine Deaminase Genotype and Gemcitabine Deamination in Blood Samples." *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids* 27, no. 6–7 (July 23, 2008): 720–25. doi:10.1080/15257770802145447.

<sup>90</sup> Tibaldi, Carmelo, Elisa Giovannetti, Enrico Vasile, Valentina Mey, Sara Nannizzi, Irene Stasi, Cinzia Orlandini, Mario Del Tacca, Alfredo Falcone, and Romano Danesi. "D3-06: Correlation of Cytidine Deaminase and DNA Repair Genes Polymorphisms with Response and Survival in Gemcitabine/cisplatin Treated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer Patients." *Journal of Thoracic Oncology* 2, no. 8 (n.d.): S398–99. doi:10.1097/01.JTO.0000283269.80671.fc.

<sup>91</sup> Abraham, Ajay, Savitha Varatharajan, Salar Abbas, Wei Zhang, Ramachandran V Shaji, Rayaz Ahmed, Aby Abraham, et al. "Cytidine Deaminase Genetic Variants Influence RNA Expression and Cytarabine Cytotoxicity in Acute Myeloid Leukemia." *Pharmacogenomics* 13, no. 3 (February 1, 2012): 269–82. doi:10.2217/pgs.11.149.

<sup>92</sup> Sugiyama, Emiko, Nahoko Kaniwa, Su-Ryang Kim, Ryuichi Hasegawa, Yoshiro Saito, Hideki Ueno, Takuji Okusaka, et al. "Population Pharmacokinetics of Gemcitabine and Its Metabolite in Japanese Cancer Patients." *Clinical Pharmacokinetics* 49, no. 8 (2010): 549–58. doi:10.2165/11532970-000000000-00000.



---

<sup>93</sup> Iyer, Sandhya N., Arunkanth Ankala, Rekha S. Singhal, and Madhuri R. Hegde. “Determination of Common Genetic Variants in Cytidine Deaminase (CDA) Gene in Indian Ethnic Population.” *Gene* 524, no. 1 (July 15, 2013): 35–39. doi:10.1016/j.gene.2013.04.015.

<sup>94</sup> Narjoz, C., C. Moreau, P. Beaune, and M. -A. Lorient. “Clinical Utility of Pharmacogenetics for Predicting Drug Efficacy and Toxicity.” *Réanimation* 21, no. 2 (2012): 354–362. doi:10.1007/s13546-011-0336-x.

<sup>95</sup> Mercier, Cédric, Caroline Raynal, Laetitia Dahan, Adrien Ortiz, Alexandre Evrard, Charlotte Dupuis, Aurore Blesius, et al. “Toxic Death Case in a Patient Undergoing Gemcitabine-Based Chemotherapy in Relation with Cytidine Deaminase Downregulation.” *Pharmacogenetics and Genomics* 17, no. 10 (2007). [http://journals.lww.com/jpharmacogenetics/Fulltext/2007/10000/Toxic\\_death\\_case\\_in\\_a\\_patient\\_undergoing.5.aspx](http://journals.lww.com/jpharmacogenetics/Fulltext/2007/10000/Toxic_death_case_in_a_patient_undergoing.5.aspx), consulté le 10 septembre 2016

<sup>96</sup> Tibaldi, Carmelo, Elisa Giovannetti, Enrico Vasile, Valentina Mey, Adrie C. Laan, Sara Nannizzi, Roberta Di Marsico, et al. “<div xmlns=‘http://www.w3.org/1999/xhtml’>Correlation of <em>CDA, ERCC1</em>, and <em>XPD</em> Polymorphisms with Response and Survival in Gemcitabine/Cisplatin–Treated Advanced Non–Small Cell Lung Cancer Patients</div>.” *Clinical Cancer Research* 14, no. 6 (March 17, 2008): 1797. doi:10.1158/1078-0432.CCR-07-1364.

<sup>97</sup> Tibaldi, C., E. Giovannetti, M. Tiseo, L.G. Leon, A. D’Incecco, N. Loosekoot, M. Bartolotti, et al. “Correlation of Cytidine Deaminase Polymorphisms and Activity with Clinical Outcome in Gemcitabine-/platinum-Treated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer Patients.” *Annals of Oncology* 23, no. 3 (March 1, 2012): 670–77. doi:10.1093/annonc/mdr280.

<sup>98</sup> Serdjebi, Cindy, Johan Gagnière, Jérôme Desramé, Francine Fein, Rosine Guimbaud, Eric François, Thierry André, et al. “FFCD-1004 Clinical Trial: Impact of Cytidine Deaminase Activity on Clinical Outcome in Gemcitabine-Monotherapy Treated Patients.” *PLoS ONE* 10, no. 8 (August 26, 2015): e0135907. doi:10.1371/journal.pone.0135907.

<sup>99</sup> Mahfouz, Reda Z., Ania Jankowska, Quteba Ebrahim, Xiaorong Gu, Valeria Visconte, Ali Tabarroki, Pramod Terse, et al. “Increased CDA Expression/Activity in Males Contributes to Decreased Cytidine Analog Half-Life and Likely Contributes to Worse Outcomes with 5-azacytidine or Decitabine Therapy.” *Clinical Cancer Research* 19, no. 4 (February 14, 2013): 938. doi:10.1158/1078-0432.CCR-12-1722.

---

<sup>100</sup> Ganti, A. K., A. Parr, D. Nguyen, and J. L. Grem. "Gene Expression Profile of Enzymes Involved in Gemcitabine (Gem) Metabolism in Bone Marrow Mononuclear Cells as Predictors of Myelosuppression." ASCO Meeting Abstracts 24, no. 18\_suppl (June 20, 2006): 2007.

<sup>101</sup> Fanciullino R, Mercier C, Serdjebi C, Berda Y, Fina F, Ouafik L, et al. Lethal toxicity after administration of azacytidine: implication of the cytidine deaminase-deficiency syndrome. *Pharmacogenet Genomics*. 2015 Jun;25(6):317–21. [https://www.researchgate.net/publication/274729322\\_Lethal\\_toxicity\\_after\\_administration\\_of\\_azacytidine](https://www.researchgate.net/publication/274729322_Lethal_toxicity_after_administration_of_azacytidine), consulté le 10 septembre 2016

## *SERMENT DE GALIEN*

*Je jure, en présence de mes maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes condisciples :*

- ❖ D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- ❖ D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- ❖ De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.*
- ❖ En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.*

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

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



## **RESUME**

Ces dernières années des progrès considérables sur l'identification des marqueurs génétiques et moléculaires dans le domaine de l'oncologie, ont permis d'améliorer considérablement la prise en charge thérapeutique des patients sous médicaments anticancéreux, pour lesquels la marge thérapeutique extrêmement étroite expose à une iatrogénie potentiellement grave. Ces outils d'aide à la décision thérapeutique constituent des marqueurs prédictifs de réponse et/ou de toxicité. L'azacitidine est un agent hypométhylant indiqué dans les hémopathies malignes dont le métabolisme est médié par la cytidine déaminase, enzyme soumise au polymorphisme génétique. Ce mémoire est le résultat d'une étude rétrospective sur 53 patients tendant à évaluer la prise en charge des patients traités par azacitidine au regard de l'activité de la cytidine déaminase au sein du centre hospitalo-universitaire de la Conception à Marseille. L'objectif de ce travail est d'apprécier le caractère prédictif de l'enzyme sur la toxicité et le profil de réponse des patients. Au-delà d'une amélioration de la prise en charge des malades, l'intégration des tests pharmacogénomiques dans la décision thérapeutique participerait à l'utilisation efficiente de ces molécules onéreuses dont la gestion des surtoxicités éventuelles occasionne des coûts supplémentaires.