

# Suivi moléculaire des patients tunisiens atteints de leucémie myéloïde chronique

## Molecular monitoring of Tunisian patients with chronic myeloid leukemia

Samia Menif <sup>1</sup>, Yosra Ben Youssef <sup>2</sup>, Hatem Bellaaj <sup>3</sup>, Raihane Ben Lakhal <sup>1</sup>, Adnen Laatiri <sup>4</sup>

*1-Institut Pasteur De Tunis / Université Tunis El Manar Faculté De Médecine De Tunis,*

*2-Institut Pasteur De Tunis / Université De Sousse,*

*3-Institut Pasteur De Tunis / Université De Sfax,*

*4-Institut Pasteur De Tunis / Université De Monastir,*

### R É S U M É

**Introduction :** Le gène de fusion bcr-abl est le marqueur des cellules tumorales dans la leucémie myéloïde chronique (LMC). La quantification du transcrit bcr-abl est le standard international de suivi des patients atteints de Leucémie myéloïde chronique.

**But :** Nous rapportons les résultats du suivi moléculaire de tous les patients tunisiens suivis pour leucémie myéloïde chronique et traités par les inhibiteurs de tyrosine kinase

**Méthodes :** Entre juin 2003 et décembre 2014, 708 patients tunisiens suivis pour LMC ont bénéficié d'une quantification du transcrit bcr-abl par PCR en temps réel utilisant la technologie taqman.

**Résultats :** 567 patients (80%) ont achevé une réponse optimale selon les critères de l'European Leukemia Net 2013. La réponse moléculaire était de type 4Log (RM4) chez 38% des patients et de type 4.5log (RM4.5) chez 13% des patients. 141 patients (20%) étaient en échec thérapeutique.

**Conclusion :** Nos résultats confirment l'efficacité d'un traitement ciblé par inhibiteur de tyrosine kinase pour le traitement des patients. La PCR quantitative est utile pour définir le niveau de réponse selon les recommandations internationales.

### M o t s - c l é s

LMC Bcr-abl imatinib

### S U M M A R Y

**Background:** bcr-abl fusion gene is the hallmark of chronic myeloid leukemia (CML). RQ-PCR provides an accurate measure of the total leukemia cell mass and the degree to which bcr-abl transcripts are reduced by therapy correlates with progression free survival.

**Aim:** here we report molecular assessment of residual disease in CML Tunisian patients

**Methods:** Between June 2003 and December 2014 we measured bcr-abl mRNA levels in peripheral blood from all Tunisian patients by quantitative real time polymerase chain reaction (RQ-PCR)

**Results:** A total of 708 patients with a mean age of 42 years were included in this study. based on European Leukemia Net 2013 80% of the patients achieved an optimal response 20 % were in treatment failure. 38 % of the patients achieved RM4 which corresponds to a bcr-abl/abl ratio <0.01% , 13% of the patients achieved RM4.5 corresponding to bcr-abl/abl ratio of 0.0032% .

**Conclusion:** CML patients had a good response to tyrosine kinase inhibitors treatment. RQ-PCR is helpful in detecting any residual disease and determining the depth of the treatment response.

### Key - words

LMC Bcr-abl imatinib

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est une hémopathie maligne appartenant au groupe des syndromes myéloprolifératifs. Elle est caractérisée par une anomalie génétique acquise : le gène hybride bcr-abl issu de la translocation réciproque entre les chromosomes 9 et 22, t(9 ;22)(q34 ;q11)[1]. La protéine chimérique, codée par bcr-abl a une activité tyrosine kinase constitutivement dérégulée responsable de la transformation leucémique. Cette hémopathie constitue de nos jours un modèle en oncohematologie car elle a bénéficié d'une thérapie ciblée : les inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK) dont le chef de file est l'imatinib, qui a transformé son pronostic (2). En effet avant l'ère des ITK, la LMC avait une évolution triphasique et la maladie se transformait inéluctablement en leucémie aigüe après 3 à 5 années d'évolution. Depuis l'utilisation des ITK, 95% des patients sont en vie au-delà de 15ans de suivi (3). Cette thérapie ciblée a permis une révision globale des critères de réponse au traitement. La quantification du transcrit bcr-abl par PCR quantitative est le standard international de suivi des patients atteints de LMC et permet d'adapter la stratégie thérapeutique (4). Nous rapportons les résultats du suivi moléculaire des patients tunisiens atteints de LMC.

## METHODES

Notre étude est une analyse rétrospective des résultats moléculaires de tous les patients tunisiens atteints de LMC diagnostiqués entre juin 2003 et décembre 2014. Pour chaque patient un prélèvement de sang au diagnostic permet de rechercher le transcrit bcr-abl par RT-PCR multiplexe en vue de confirmer le diagnostic et d'identifier le variant bcr-abl .En effet selon la localisation des points de cassure au sein des gènes BCR et ABL, différents isoformes bcr-abl sont générés. L'identification du variant bcr-abl est une étape capitale du diagnostic de LMC et permet d'assurer un suivi fiable de la maladie résiduelle. Après l'administration des ITK des prélèvements séquentiels sont effectués tous les 3 à 6 mois et permettent d'apprécier la charge tumorale par quantification du transcrit bcr-abl par PCR Quantitative utilisant la technologie taqman et en prenant abl comme gène de référence. Les résultats sont fournis sous forme de ratio bcr-abl /abl .Depuis 2009, cette quantification est effectuée sur l'échelle internationale. En 2013 l'ELN (European leukemia Net), réseau d'experts internationaux a permis de définir la réponse optimale et l'échec thérapeutique aux inhibiteurs de tyrosine Kinase ,ces situations correspondent à des niveaux de réponse achevés dans des délais précis ainsi la réponse optimale se définit par l'achèvement d'une réponse hématologique complète à 3 mois de traitement, une réponse cytogénétique définie par la disparition des mitoses Philadelphie positive au caryotype médullaire à 6 mois de traitement et une réponse moléculaire majeure (RMM)

définie par un ratio bcr-abl/abl  $\leq$  0.1% à 12 mois de traitement. En l'absence de ces critères le patient est considéré en échec thérapeutique.

## RESULTATS

Entre juin 2003 et décembre 2014 ,708 patients tunisiens ont été diagnostiqués LMC ,390 étaient de sexe masculin et 318 de sexe féminin. Ce qui correspond à une incidence annuelle de 0.6 nouveaux cas /100 000 habitants. La maladie était en phase chronique, accélérée et blastique chez 93%, 4% et 2% des patients respectivement.

L'âge médian au diagnostic était de 42 ans ,70 patients (10%) avaient plus de 65 ans et 42 patients (5%) avaient moins de 18 ans. La médiane des leucocytes au diagnostic était de 163 000/mm<sup>3</sup> (40 – 300 000).

La recherche du transcrit bcr-abl est revenue positive chez tous les patients objectivant l'isoforme b3a2 chez 52 %, b2a2 chez 46 % et 2 % avaient des variants rares (e1a2, e13a3, e6a2, e19a2).

La quantification du transcrit bcr-abl sur l'échelle internationale a permis de classer ces patients selon les recommandations de l'ELN 2013, 80% des patients avaient un ratio < 0.1% ce qui définit la réponse moléculaire majeure. 20% des patients étaient en échec thérapeutique. 38% des patients étaient en réponse moléculaire 4Log (RM<sup>4</sup> ) définie par un ratio bcr-abl/abl  $\leq$  0.01%,13% étaient en réponse 4.5Log (RM<sup>4.5</sup> ) définie par un ratio  $\leq$  0.003%.

## DISCUSSION

L'efficacité spectaculaire des inhibiteurs de tyrosine kinase dans le traitement de La LMC a fait que la prévalence de cette hémopathie ne cesse d'augmenter à travers le monde (5).

Nos résultats ont conclu à une incidence annuelle de 0.6 /100 000 habitants qui est en deçà de l'incidence annuelle rapportée dans le monde qui est de 1.5 /100 000 habitants (6) ceci peut être expliqué par un sous diagnostic puisque la LMC est une maladie insidieuse et la découverte de cette hémopathie est souvent fortuite à l'occasion d'un hémogramme systématique.

En Tunisie l'âge médian au diagnostic est de 42 ans ce qui est inférieur à la médiane d'âge rapportée en occident estimée entre 60 et 65 ans selon les ethnies [7,8]. Les données de la littérature montrent un âge plus précoce de diagnostic dans les pays en voie de développement (7). Les différences régionales en terme d'âge au diagnostic suggère la présence de facteurs environnementaux qui impactent le modèle de la LMC. L'exposition aux pesticides a été considéré un facteur étiologique potentiel mais la confirmation n'est pas encore établie (9).

L'analyse du variant bcr-abl chez nos patients trouve l'isoforme P210 chez 98% des patients ce qui est

conforme aux données de la littérature (10) d'autres variants plus rares sont retrouvés à des fréquences faibles (11). Cette étape d'identification du transcrit bcr-abl au diagnostic est capitale pour assurer un suivi fiable de la maladie résiduelle par PCR en temps réel (12).

La majorité de nos patients ont été diagnostiqués en phase chronique ce qui est concordant avec les résultats rapportés dans la littérature (13).

Le suivi moléculaire de nos patients par PCR quantitative a confirmé l'efficacité spectaculaire des ITK puisque 80% de nos patients ont achevé au moins la réponse moléculaire majeure (RMM). Selon les résultats de l'étude IRIS ce niveau de réponse garantit sa stabilité, réduit le risque de progression et assure une survie prolongée (14). Selon les recommandations ELN 2013, en l'absence de RMM à 1 an de traitement, les patients sont considérés en échec thérapeutique et doivent bénéficier du traitement par les ITK de deuxième génération qui

permettent de rattraper une majorité de ces patients (15). Les RM<sup>4</sup> et les RM<sup>4.5</sup> définissent les réponses moléculaires profondes et permettent d'espérer la guérison et l'arrêt de traitement (16).

Les 20 % de nos patients considérés en échec thérapeutique ont bénéficié avant d'envisager les ITK de deuxième ligne, d'une recherche de mutation du domaine tyrosine kinase de bcr-abl qui est à ce jour le mécanisme de résistance le mieux documenté (17). Une mutation était présente chez 28 patients (20%). Seulement 10 patients (1,4%) avaient la T315 I qui est réfractaire aux ITK de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> génération (18).

Nos résultats confirment l'efficacité du traitement ciblé par les ITK de première génération qui ont transformé l'évolution de la LMC dans le monde. L'évolution de nos patients sous traitement est conforme à ce qui est rapporté dans d'autres ethnies (18).

## Références

1. Verschraegen CF, Kantarjian HM, Hirsh-ginsberg C, et al. The breakpoint cluster region site in patients with Philadelphia chromosome positive chronic myeloid leukemia. Clinical laboratory, and prognostic correlations. *Cancer*. 1995;76 (6):992-997
2. Kantarjian H, O'Brien, Jabbour S, et al. Improved survival in chronic myeloid leukemia since the introduction of imatinib therapy: a single institution historical experience. *Blood*. 2012;119:1981-1987
3. Kantarjian HM, Tlupaz M, O'Brien, et al. Survival benefit with imatinib mesylate versus interferon alpha based regimens in newly diagnosed chronic phase chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2006;108:1835-40
4. Baccarani M, Deininger MW, Rosti G & al. European leukemia Net recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: *Blood*. 2013; 122:872-884
5. Hoffman VS, Baccarani M, Hasford J & al. The EUTOS population – based registry: incidence and clinical characteristics of 2904 CML patients in 20 european countries. *Leukemia*. 2015;29:1336-43
6. Hoglund M, Sandin F, Simonsson B. Epidemiology of chronic myeloid leukemia: an update. *Ann. Hematol*. 2015 ;94supl.2:S241-7
7. Mendizabal AM, Younes N, Levine PH: Geographic and income variations in age at diagnosis and incidence of chronic myeloid leukemia. *2015 Int. J Hematol* ;27:33-7
8. Mc Nally RJ, Rowland D, Roman E, et al. Age and sex distributions of hematological malignancies in the UK. *Hematol. Oncol*. 1997; 15 :173-89
9. Bonner Mr, Williams BA, Rusieki ja et al. Occupational exposure to terbufos and the incidence of cancer in the agricultural health study. *Cancer causes and control*. 2010; 21:871-7.
10. Jabbour E, Kantarjian H. et al. Chronic myeloid leukemia: 2014 update on diagnosis, monitoring, and management. *Am J Hematol*. 2014; 89(5):547-556
11. Iqbal Z, Manzoor F, Khan M, et al. Frequency of bcr-abl fusion oncogene splice variants associated with chronic myeloid leukemia. *J cancer therapy*. 2011; 2 :176-180
12. Prejzner W, Relationship of the BCR gene breakpoint and the type of bcr-abl transcript to clinical course, prognostic indexes, and survival in patients with chronic myeloid leukemia. *med monit*. 2002; 8:BR191-BR197
13. Hanfstein B, Shlyakhto V, Lauseker M et al. Velocity of early bcr-abl transcript elimination as an optimal predictor of outcome in chronic myeloid leukemia patients in chronic phase on treatment with imatinib. *Leukemia*. 2014 : 548-552.
14. Deninger M., S.G.O'Brien, Guillot F, et al. International randomized study of interferon vs STI 571 (IRIS) 8 year follow up : sustained survival and low risk for progression or events in patients with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase treated with imatinib. *Blood* . 2009; vol.114,abstract 1126
15. Ribeiro BF, Miranda EC, Albuquerque DM, & al: Treatment with dasatinib or nilotinib in chronic myeloid leukemia patients who failed to respond to two previously administered tyrosine kinase inhibitors--a single center experience. *Clinics*. 2015; (70):8:550
16. Mahon FX, Rea D, Guillot J: discontinuation of imatinib in patients with chronic myeloid leukemia who have maintained complete molecular remission for at least 2 years :the prospective multicenter stop imatinib (STIM) trial . *Lancet oncol*. 2010; 11:1029-1035
17. Soverini S, Hochhaus A, Nicolini & al : bcr abl kinase domain mutations analysis in chronic myeloid patients treated with tyrosine kinase inhibitors. Recommendations from an expert panel on behalf of European leukemia net. *Blood*. 2012; 118:1208-15
18. Frankfurt O, Licht JD. Ponatinib a step forward in overcoming resistance in chronic myeloid leukemia. *Clin Cancer research*. 2013;19(21):5828-34