

MECANISMES MOLECULAIRES DE LA RESISTANCE AUX ITK DANS LA LMC

Pr Ag Menif Marrakchi Samia
LABORATOIRE HEMATOLOGIE

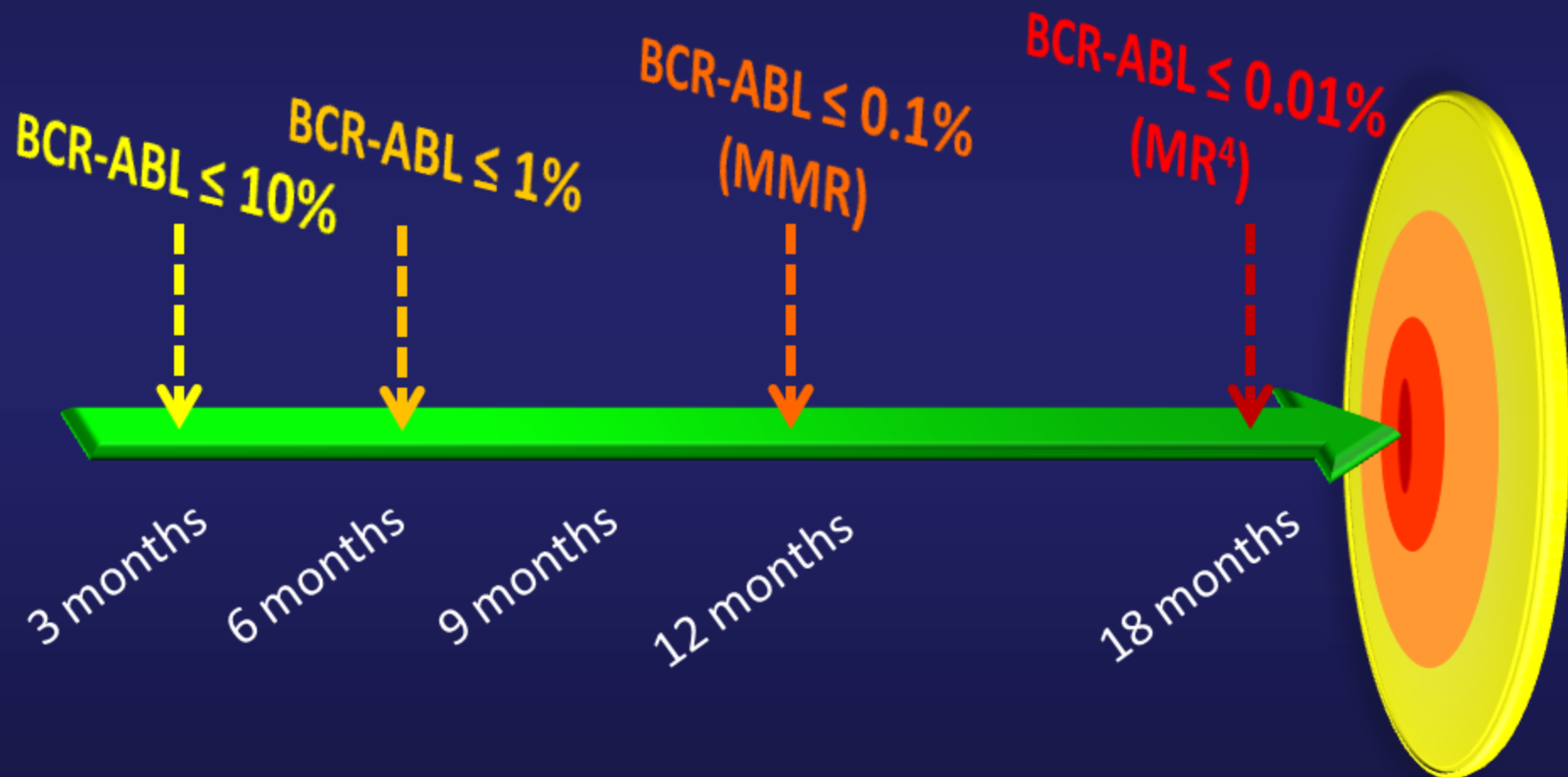


Congrès maghrébin d'hématologie 2016

INTRODUCTION

- L'imatinib a transformé le pronostic et l'évolution de la LMC
- **Entre 2003 et mars 2015 tous les patients** tunisiens étaient suivis au laboratoire d'hématologie de l'Institut Pasteur de Tunis
- Depuis 2010 la quantification du transcrit bcr-abl est effectuée sur l'échelle internationale
- L'évaluation des réponses critères ELN

Optimal response, ELN 2013?



PATIENTS TUNISIENS

- (2003- 2016) **620 patients** tunisiens suivi moléculaire IPT
- **181 patients résistants (30%)** colligés au laboratoire d'hématologie institut pasteur de Tunis
- Age médian 45 ans
- Sex ratio H/F : 1.3
- 54 % b3a2 ,39 % b2a2, 3% (b2a2et b3a2) ,1% variant rare

RESISTANCES

- Une minorité de patients résistent
- 2 types de résistances
 - Resistances primaires
 - Resistances secondaires
- 2 mécanismes de résistance
 - Dépendantes de bcr-abl
 - Indépendantes de bcr-abl

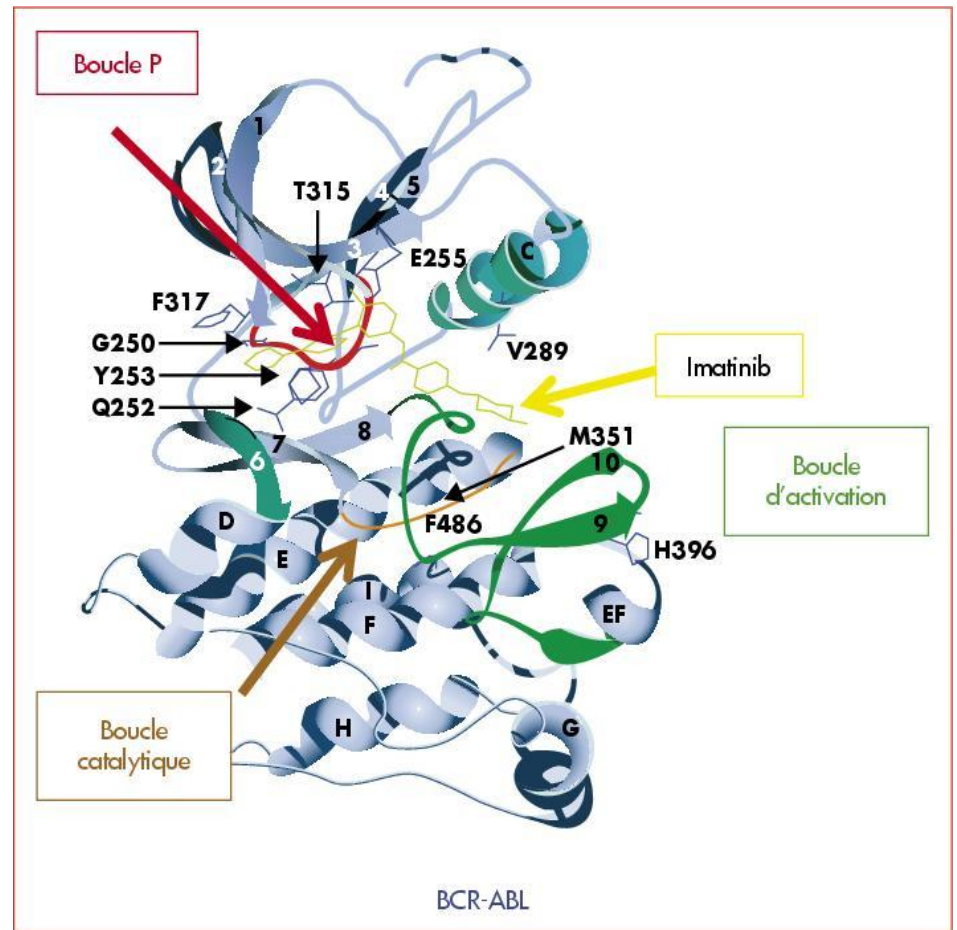
RESISTANCES DEPENDANTES DE BCR-ABL

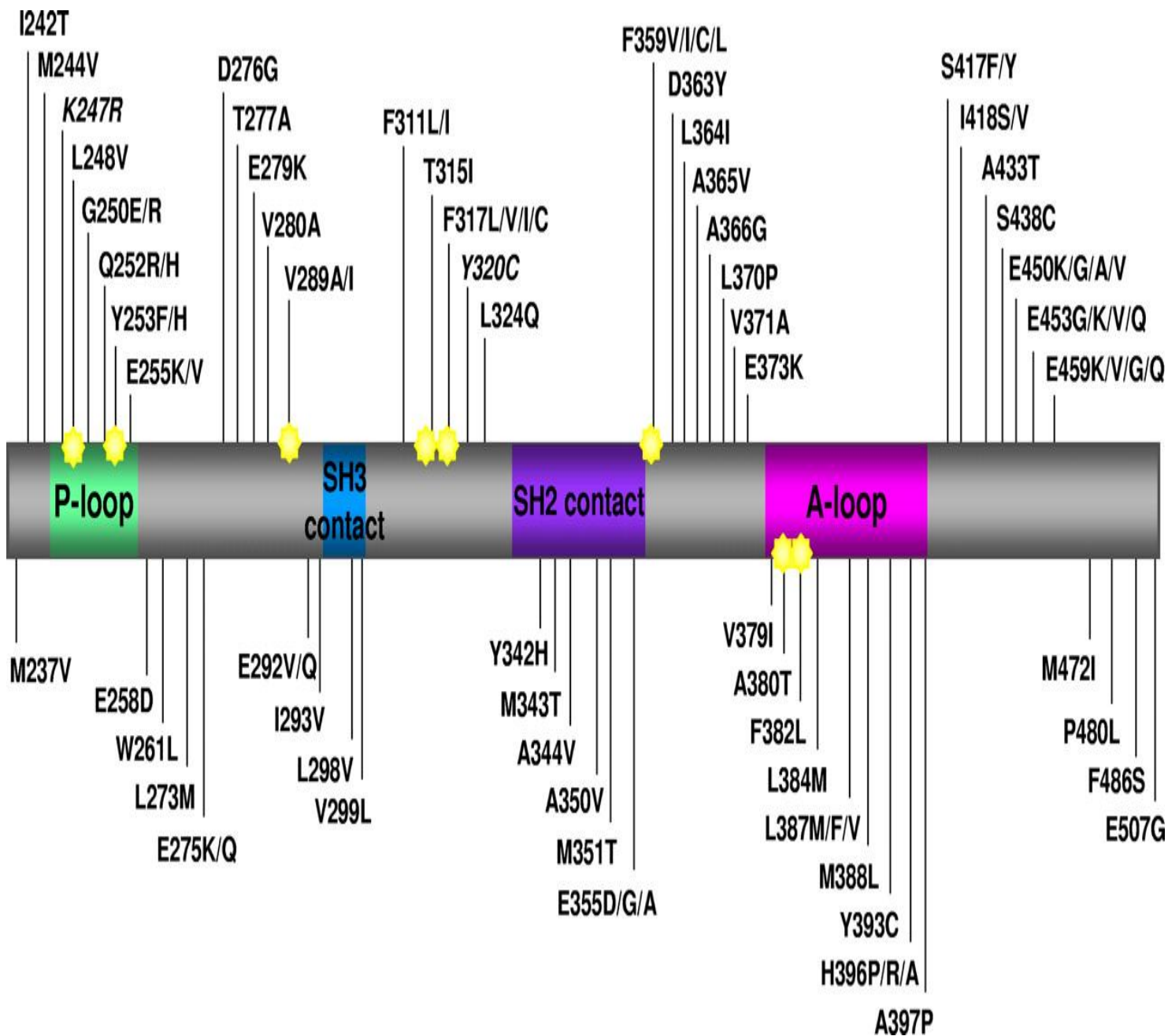
- Augmentation de la concentration intracellulaire de bcr-abl (duplication du Ph ou amplification du gène bcr-abl)
- Acquisition de mutations du domaine tyrosine kinase



MUTATIONS DU DOMAINE TYROSINE KINASE

- Compromet l'interaction de l'imatinib avec sa cible
- Plus de 100 mutations sont décrites à ce jour

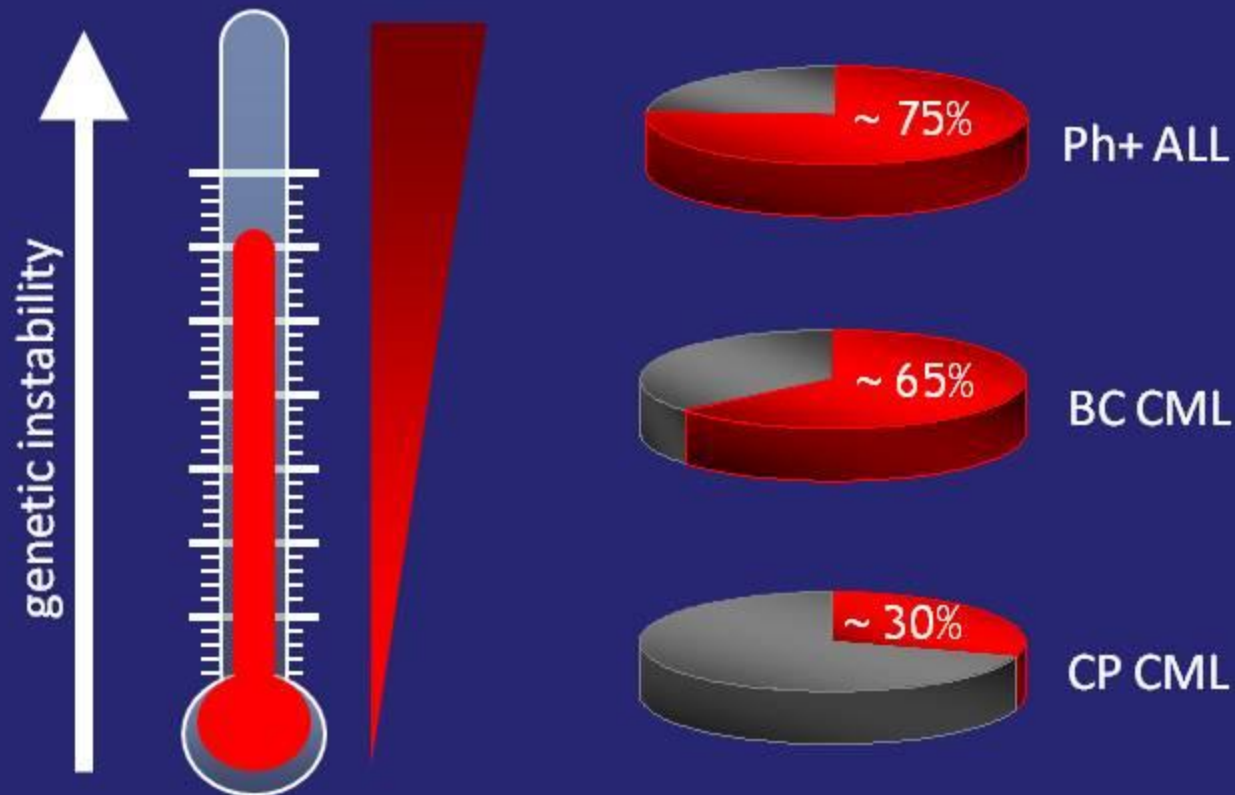




MUTATIONS DU DOMAINE TYROSINE KINASE

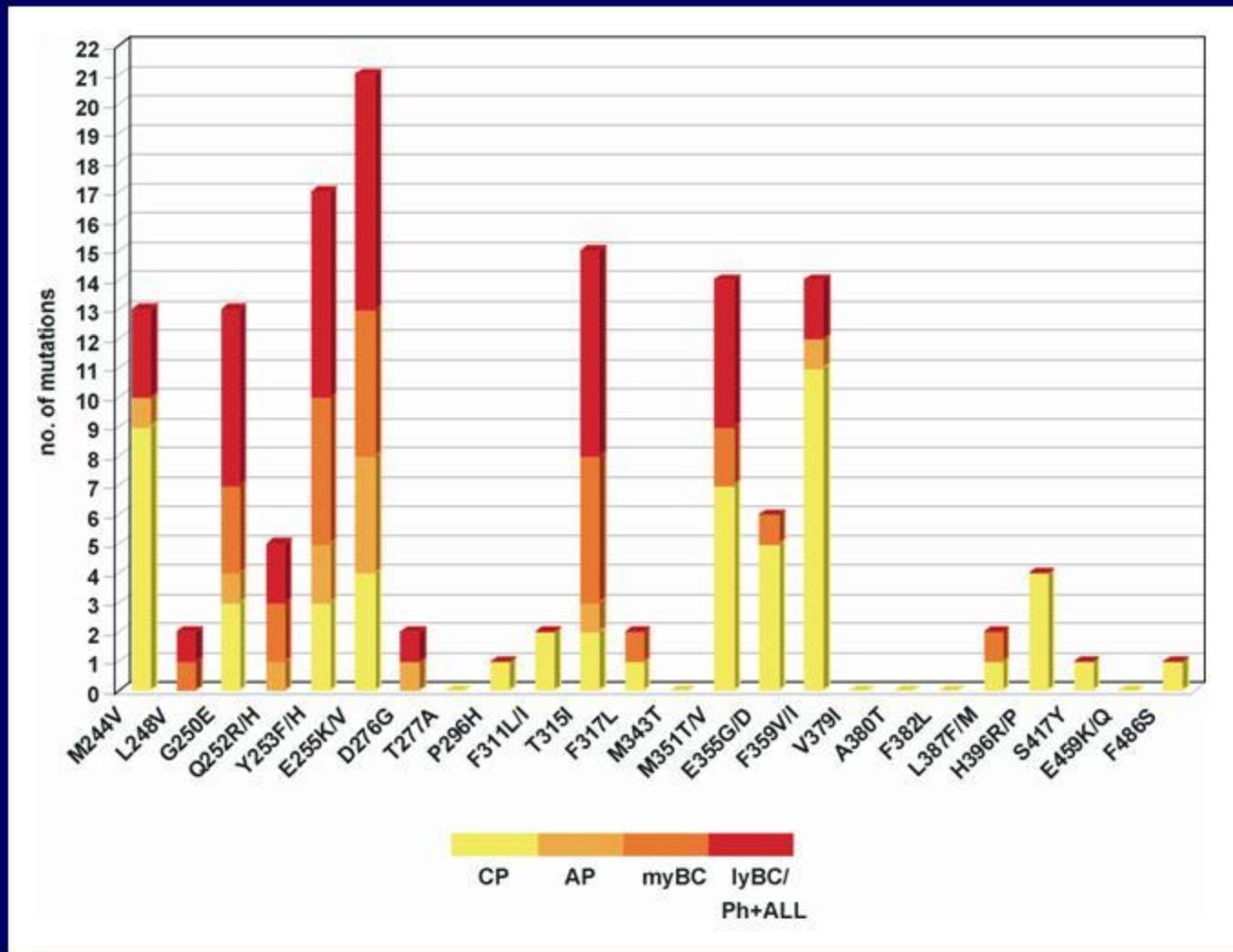
- **Compromet l'interaction de l'imatinib avec sa cible**
- **Plus de 100 mutations sont décrites à ce jour**
- **Plus fréquentes dans les résistances secondaires et les phases avancées de la maladie**

Mutations can also be a measure of the degree of genetic instability of the Ph+ clone



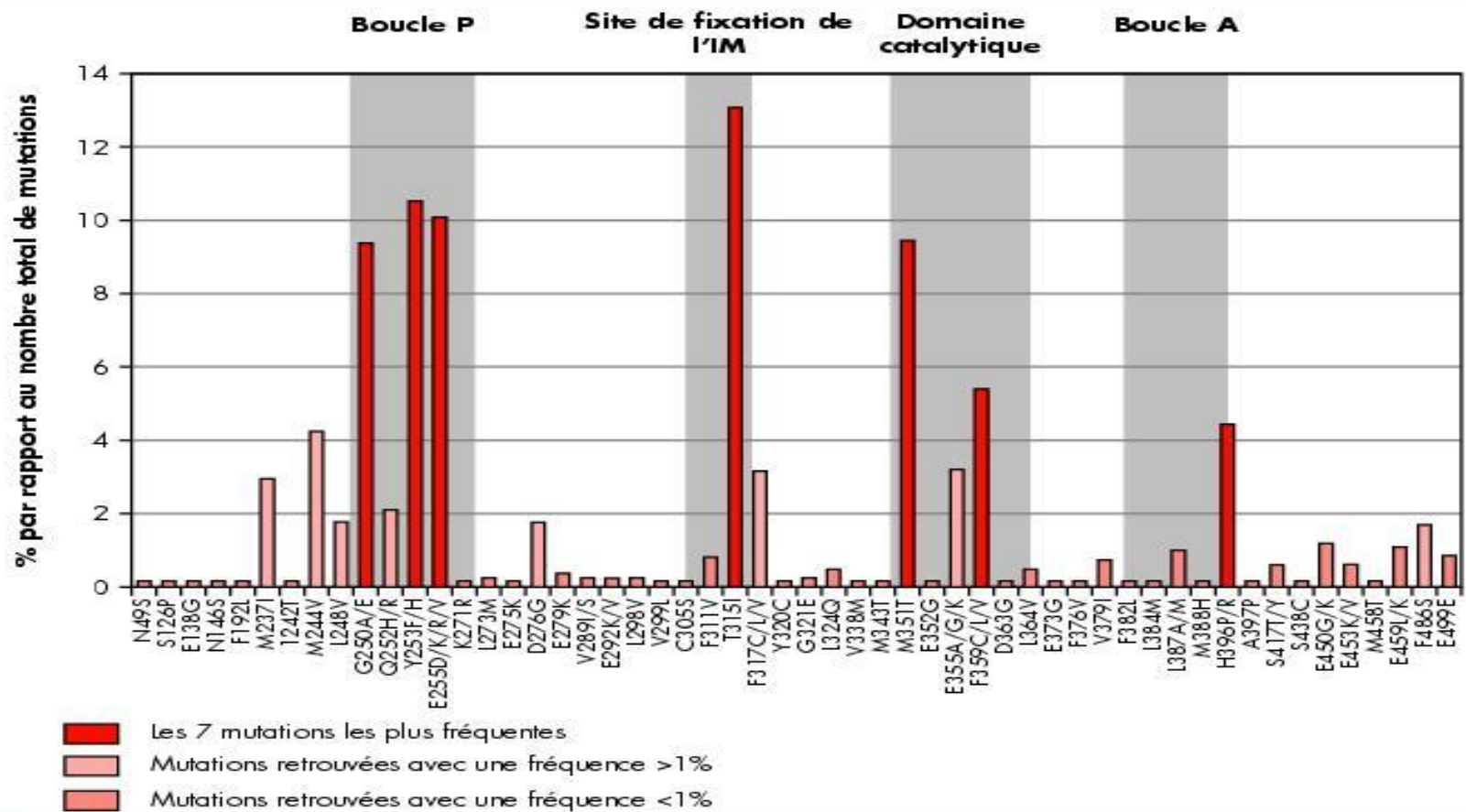
 resistant pts harbouring Abl KD mutations

Frequency of KD mutations according to disease phase



MUTATIONS DU DOMAINE TYROSINE KINASE

- 60 à 70 % mutations concernent 7 résidus
 - T315
 - Y253
 - E255
 - M351
 - G250
 - F359
 - H396



MUTATIONS DU DOMAINE TYROSINE KINASE

- **Compromet l'interaction de l'imatinib avec sa cible**
- **Plus de 100 mutations sont décrites à ce jour**
- **Plus fréquentes dans les résistances secondaires**
- **Les mutations de la boucle P loop et la T315I ont une valeur pronostique péjorative**
- **Certaines mutations conditionnent le choix de l'ITK2**

Mutations in the BCR-ABL Kinase Domain

imatinib

T315I

nilotinib

T315I

dasatinib

T315I

Mutation analysis may
guide the use of second
generation inhibitors

>100 mutations

Y253H
E255K/V
F359V/C

T315A
V299L
F317L/I

PATIENTS TUNISIENS

- 181 patients
 - 162 patients résistance primaire (90 %)
 - 19 patients résistance secondaire (10 %)
- Délai médian après le diagnostic 8 mois (6-72)
- Recherche de mutation du domaine tyrosine kinase
 - Séquençage bidirectionnel
 - Nucléotides codant aa 240-500
 - Hôpital Henri Mondor Paris (Dominique Bories)

RESULTATS

- 36 / 181 patients mutations (19%)
- Quatorze types de mutations ont été décelés, répartis selon leur localisation dans le domaine TK comme suit:
 - 18 mutations situées au niveau de la Boucle P [G250E(4), E255K (5), E279K (1), M244V (1), Y253H (4), Y253F (1), D276G (2)],
 - 13 mutations au niveau du site de liaison aux ITK T315I (10), F317L (3)
 - 4 mutations au niveau du domaine catalytique [F359C (2), F359V (1), V379I (1)] et seulement
 - 2 mutations au niveau de la Boucle A H396R (1), H396P (1)
- 1 patient 2 mutations

RESULTATS

- Tous les patients en dehors de ceux qui avaient la T315I ont été switchés ITK2
- 4 patients mutés étaient réfractaires aux 2 ITK2 (F317L G250E)
- 14 patients **non mutés** étaient réfractaires aux 2 ITK2

RESISTANCES

- Une minorité de patients résistent
- 2 types de résistances
 - Resistance primaire
 - Resistance secondaire
- 2 mécanismes de résistance
 - Dépendantes de bcr-abl
 - Indépendantes de bcr-abl

INDEDEPENDANTES DE BCR-ABL

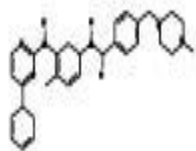
- Diminution de la concentration intracellulaire de l'imatinib
- Activation d'autres voies de leucemogénèse: voie Src kinase ...



BIODISPONIBILITE CELLULAIRE IMATINIB

- Il existe un lien statistique entre Concentration plasmatique imatinib et la réponse au traitement
 - Cytochrome P450 : variabilite inter individuelle
- Pour atteindre sa cible l'imatinib dépend de transporteurs
- Pompes efflux/influx
 - Oct1
 - PgP MDR1

1 - Le médicament



Pharmacocinétique

Concentration
plasmatique



2 - La cible

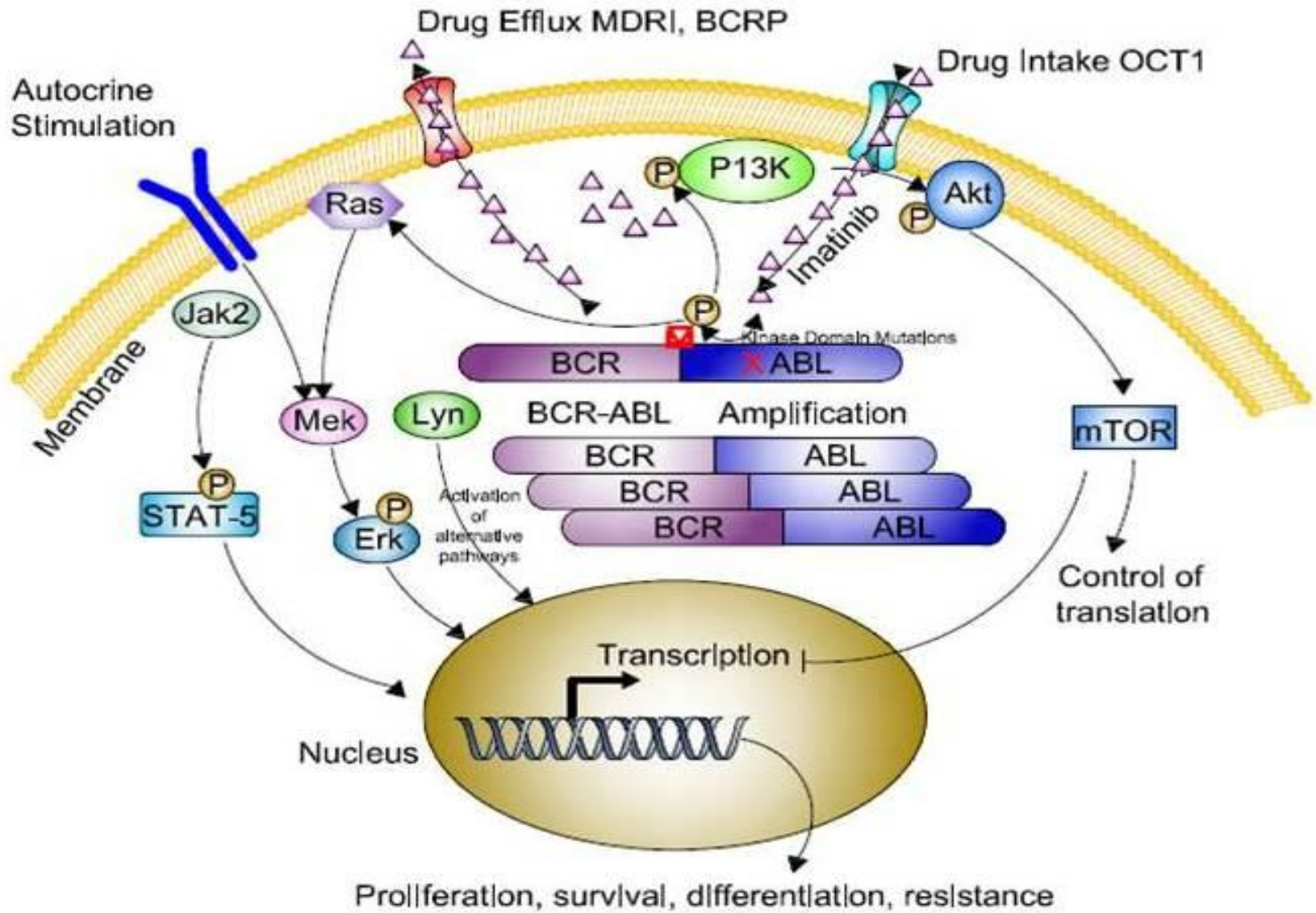
Bcr-Abl

Mutations
Amplification

3 - La cellule

Instabilité génique
Heat shock protéine
Src kinase
Autres protéines
du « signaling »





POMPES D'EFFLUX /POMPES D'INFLUX

- Les données in vitro ont démontré que des modifications de l'expression de ces pompes participent à la Résistance à l'imatinib
- Une association entre l'augmentation du niveau d'expression Oct 1 et la réponse moléculaire majeure **British Journal of Haematology, 2013, 163, 631–639**
- Le polymorphisme C 2677G >T de MDR1 est associé à un taux de résistance plus élevé avec une plus grande fréquence de mutations

PATIENTS TUNISIENS

- Etude comparative (réponse optimale / échec thérapeutique)
- Analyse expression gène transporteur Oct1
- Etude du 3 SNP de MDR1

GENE Oct 1

- Comparer le niveau d'expression du gène OCT1 chez 2 populations de malades en réponse optimale et en échec thérapeutique.
- 63 patients atteints
 - 33 étaient en réponse optimale et
 - 30 patients en situation de résistance au traitement selon les critères d'Européen Leukemia Net (ELN).
- Chez ces patients, l'expression du gène transporteur Oct1 a été évaluée par PCR en temps réel, utilisant la technologie TaqMan et considérant GAPDH comme un gène de contrôle.

RESULTATS

- Oct 1 est sous exprimé chez les résistants comparé aux patients en réponse optimale
- Recherche des facteurs à l'origine de cette sous expression est en cours ...

GENE MDR1

- La pompe P-gp (P-glycoprotéin), codée par le gène ABCB1 (ATP- Binding Casette B1).
- Trois polymorphisme (SNP) de ce gène c.1236C>T, c.2677G>T/A et c.3435C>T semblent avoir un effet sur l'expression et la fonction de cette pompe et par conséquent sur la réponse au traitement.
- Etudier la prévalence de ces polymorphismes chez les patients tunisiens atteints de LMC.

GENE MDR1

- 59 patients
 - 27 réponse optimale (ELN)
 - 32 en echec (ELN)
- A partir de prélèvements de sang recueillis chez ces patients
 - une extraction d'ADN
 - une amplification des exons 21 du gène ABCB1
 - Séquençage
 - lecture par le logiciel (Sequencher 4.10.1).

RESULTATS

- Concernant le polymorphisme 2677 G>T/A, quatre génotypes GG, GT, GA et TT ont été observés avec des fréquences de 40,67%, 44 %, 3,38% et 11,86% respectivement.
- La distribution des fréquences génotypiques entre les deux populations étudiées n'a pas objectivé de différence significative

DISCUSSION

- Patients avec MDR1 3435 TT achèvent la RMM plus tard que CC/CT *Med Oncol 2014 Nov 31(11) 279*
- Une meta-analyse 1826 patients. 2677G allele et 3435T allele predit une mauvaise réponse comparé au genotype 1236CC *Pharmacogenomics 2015Apr 15(2):127-34*
- Ces variations génotypiques suggèrent que ces polymorphismes pourraient être utilisées comme **marqueur prédictif** de la réponse des malades à l'imatinib

CONCLUSION

- La résistance aux ITK concerne une minorité de patients
- La biologie moléculaire a permis de documenter certains mécanismes de résistance
- Plusieurs situations de résistance demeurent inexpliquées et appuient l'hypothèse qu'elle soit multifactorielle

REMERCIEMENTS

- **Pr Koussay Dellagi**
- Mme Islem Ben Hassine
- Mr Teber Mouheb
- Mme Ahlem farrah
- Mme Hind Ben Hadj othmen
- Mme Amouri Hassiba
- Les hématologues tunisiens
- Les malades

