

Apport des nouvelles thérapies ciblées dans la prise en charge de la leucémie myéloïde chronique (LMC) : exemple du Glivec® et de ses dérivés

La LMC : Qu'est-ce que c'est ?

La Leucémie Myéloïde Chronique (LMC) est une maladie de la moelle osseuse qui se traduit par une prolifération anarchique des globules blancs anormaux (cellules blastiques).

Une maladie découverte dès le XIX^{ème} siècle



Rudolf Virchow est un médecin pathologiste allemand, il est considéré comme l'un des fondateurs de l'anatomie pathologique. Il découvre la LMC en observant chez un patient une augmentation anormale de la rate et du foie, il remarque aussi une surproduction de globule blancs dans le sang.

Une maladie relativement rare

En France entre 600 et 700 nouveaux cas par an sont découverts soit **une personne pour 100000 habitants et par an**. Depuis 2005 le nombre de victimes de la LMC avoisine les 1000 décès.

Si on peut souffrir de LMC à tout âge, la maladie **touche principalement des patients âgés** (64 ans en moyenne).

Une maladie souvent fatale

A mesure que le taux de cellules blastiques augmente, la condition du patient va se dégrader. Les symptômes restent discrets durant la phase chronique (fatigue, perte d'appétit...) mais évoluent progressivement : amaigrissement, fièvres, douleurs osseuses voire saignements ou infections.



Avant la mise sur le marché du Glivec, la LMC était une maladie de mauvais pronostic. L'espérance de vie moyenne des malades après le premier diagnostic était de 5 ans et la seule possibilité de guérison était la greffe de moelle osseuse

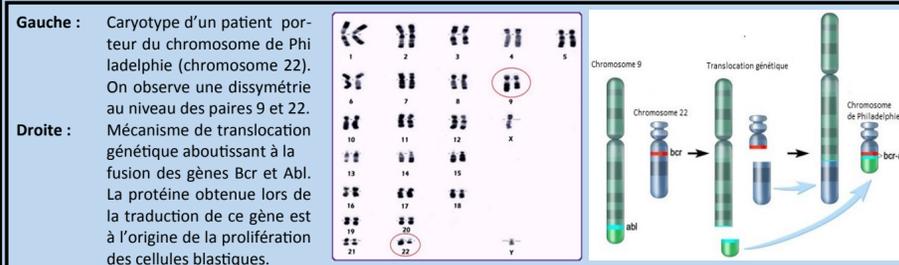
Une origine génétique

Du chromosome de Philadelphie...à l'oncogène

1960 : En étudiant différents caryotypes de patients atteints de LMC, Peter Nowell (à gauche) et David Hungerford (à droite) remarquent une dissymétrie au niveau des paires de chromosomes 9 et 22. Ils baptisent cette anomalie « **chromosome de Philadelphie** », du nom de la ville où se fit la découverte.

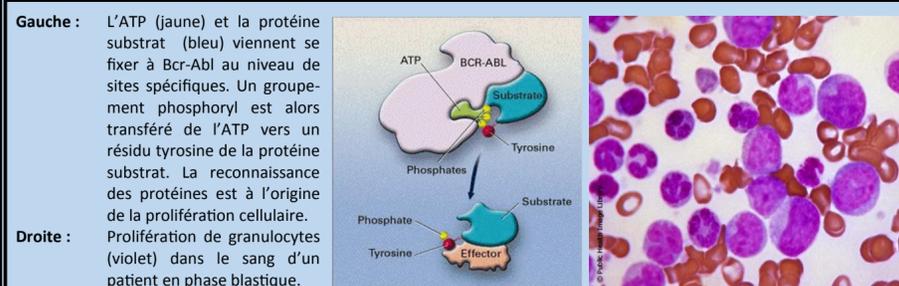


1973 : Janet Rowley identifie des phénomènes de **translocation génétique** (échange de matériel génétique) dans le cas de plusieurs leucémies dont la LMC. Elle est la **première à avancer que les cancers ont une origine génétique**. Si ses conclusions ne furent pas immédiatement acceptées par la communauté scientifique, le caractère précurseur de son travail est aujourd'hui reconnu.



Mode d'action de Bcr-Abl

Les tyrosine kinases sont des enzymes qui catalysent la phosphorylation de certaines protéines. Elles jouent le rôle d'interrupteur on/off pour de nombreuses fonctions cellulaires. Dans le cas de Bcr-Abl, l'activité enzymatique n'est pas régulée ce qui provoque une cascade de processus anormaux conduisant à la prolifération des cellules blastiques.

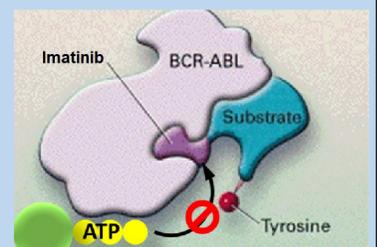


De la cible au médicament

Stratégie de la thérapie ciblée

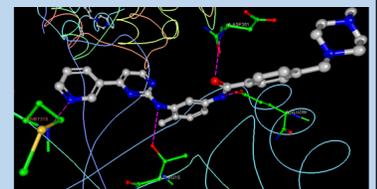
La thérapie ciblée consiste à rechercher une molécule qui bloque l'activité d'une enzyme spécifique à la pathologie. La difficulté réside dans le fait que les enzymes de type tyrosine kinases ont des structures proches et on pensait qu'une molécule inhibitrice de Bcr-Abl le soit également pour d'autres enzymes non-mutées.

Haut : L'imatinib ou Glivec® mis au point par les chercheurs de la société Novartis (violet) est un inhibiteur de tyrosine kinase (ITK) spécifique de Bcr-Abl. Il rentre en compétition avec l'adénosine triphosphate (ATP) sur le récepteur d'une tyrosine kinase, au niveau intracellulaire.



Bas : L'imatinib se fixe à Bcr-Abl par divers interactions avec certains acides aminés situés au niveau du site de fixation de l'ATP.

La modélisation 3D ci-contre permet de visualiser les liaisons hydrogène (pointillés roses) entre la protéine et l'inhibiteur. Dans le bas de l'image, on note une interaction entre la tyrosine n°315 et un atome d'azote de l'imatinib. Interaction que l'on retrouve dans plusieurs ITK agissant sur Bcr-Abl.



Un ITK sera d'autant plus efficace que sa structure lui permet de développer un grand nombre d'interactions avec la protéine.

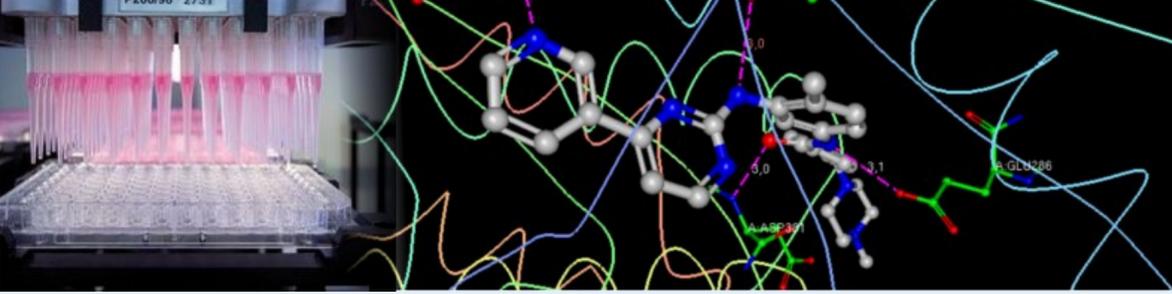
Le Glivec : un succès thérapeutique

La mise sur le marché du Glivec a permis, dans de nombreux cas, d'inverser la progression de la maladie et de prolonger la phase chronique.

Après 2000 (pour la majorité des patients)

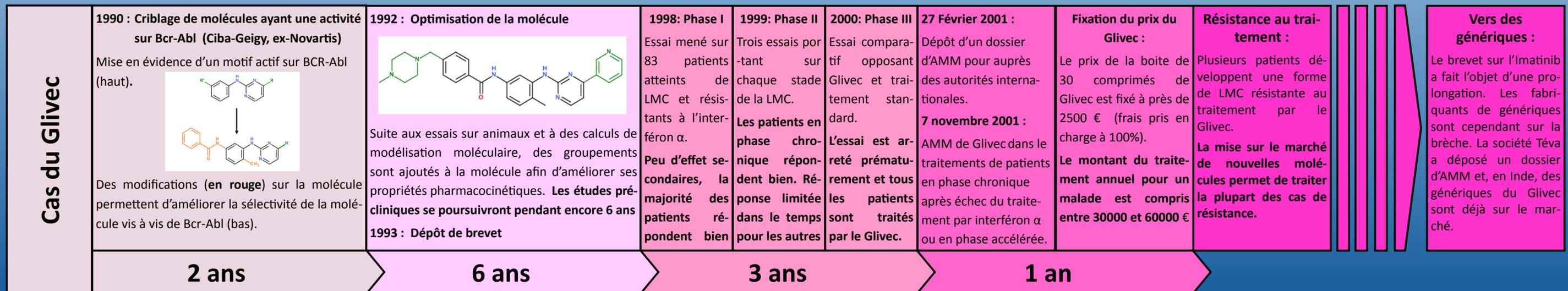
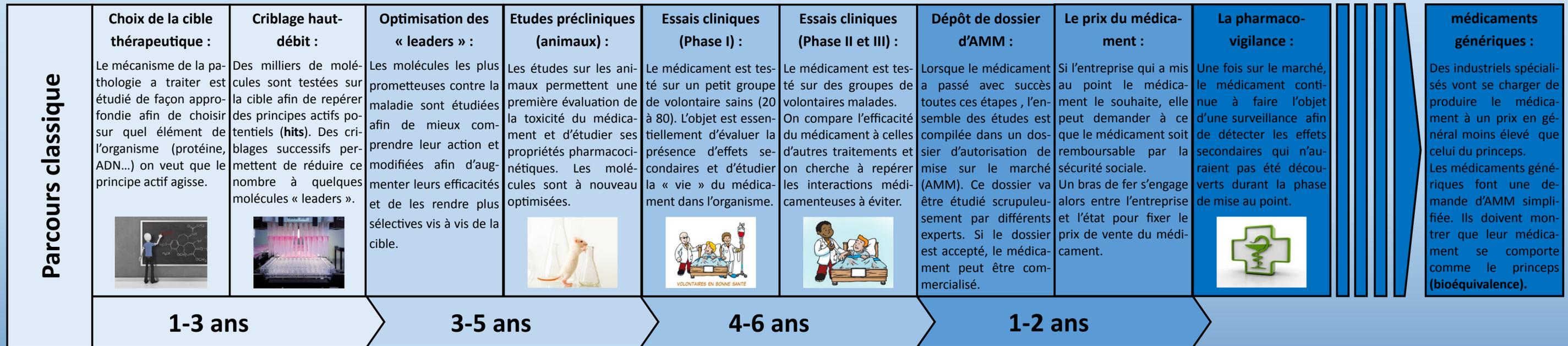


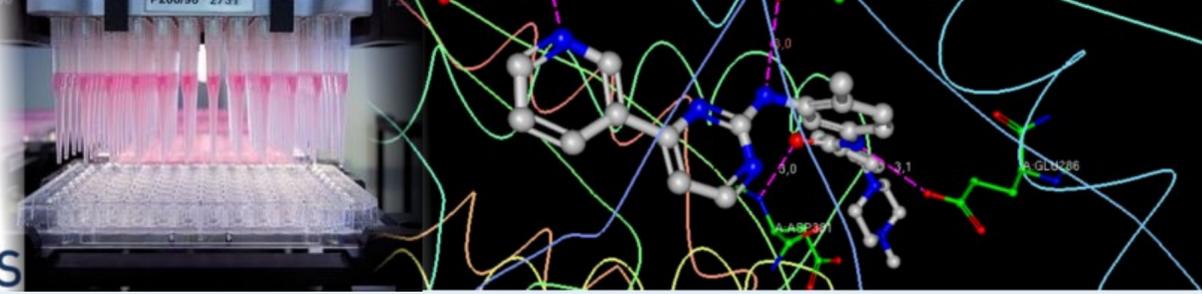
L'imatinib ne permet cependant pas de guérir les personnes atteintes de LMC, il limite la prolifération cellulaire. Dans 30% des cas, des phénomènes de résistance et/ou d'intolérance imposent un changement de traitement. D'autres ITK ont depuis été développés afin d'y remédier.



Un développement clinique sans précédent

Entre le début de la recherche d'une molécule active sur une cible thérapeutique et l'obtention d'une Autorisation de mise sur le marché (AMM), la mise au point d'un médicament aura, pris de 12 à 15 ans et couté près d'un milliard de dollars. Le Glivec s'illustre par le délai extrêmement bref entre le début des études cliniques et sa commercialisation : à peine 4 ans.





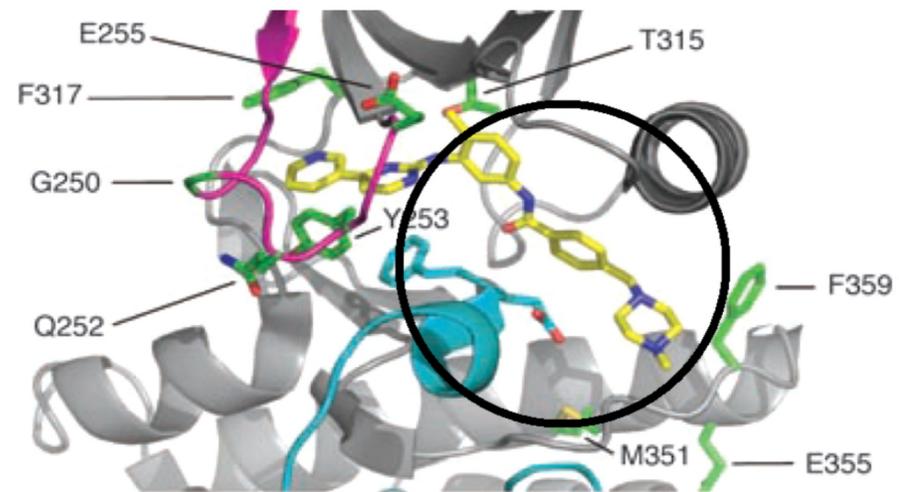
Faire face aux échecs de traitement par l'imatinib

En cas de mutations dans Bcr-Abl, l'imatinib peut ne plus être reconnu par l'enzyme. Une palette d'ITK alternatifs a donc dû être mise au point afin de pouvoir traiter les patients devenus résistants au traitement par le Glivec (30 % des patients).

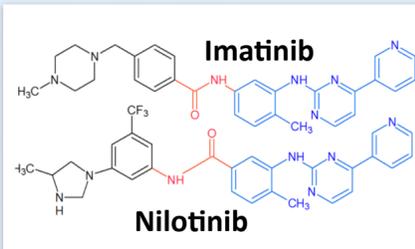
Le nilotinib : semblable et différent (2007)

Le problème

La sélectivité de l'imatinib est liée aux interactions entre cette molécule et une séquence flexible (boucle) d'acides aminés spécifique de Bcr-Abl (en bleu). Des mutations dans cette séquence peuvent empêcher la fixation de l'imatinib.



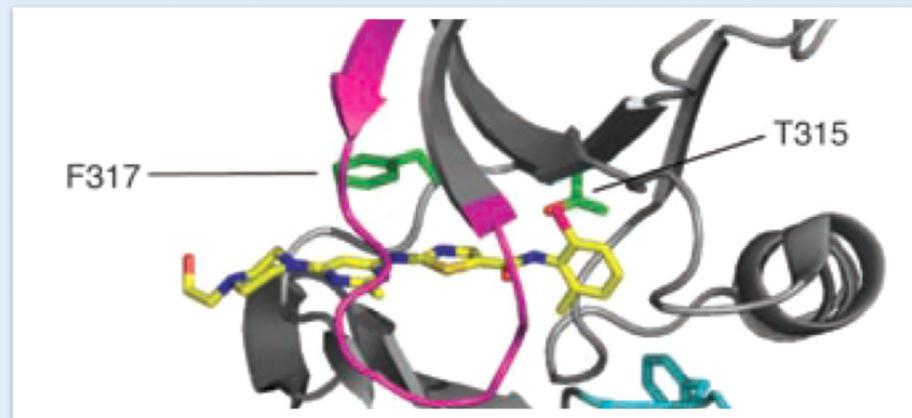
La molécule de **nilotinib** est identique à l'imatinib pour ce qui est de la partie qui se fixe au site ATP (en bleu). Elle diffère par la partie interagissant avec la boucle (en noir). Bien que présentant davantage d'effets secondaires, le nilotinib est 10 à 30 fois plus efficace que l'imatinib.



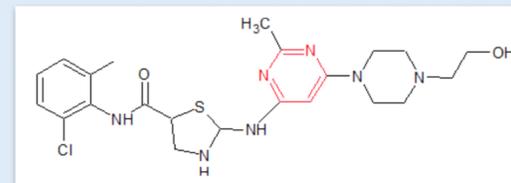
Le dasatinib : L'artillerie lourde (2013)

Le problème

Nilotinib et imatinib partagent une certaine similarité structurale. Certaines mutations pourraient rendre ces deux molécules inefficaces.



La molécule de **dasatinib** présente une structure très différente des molécules précédentes.



Environ 300 fois plus efficace que l'imatinib et moins sensible aux mutations qui affectent Bcr-Abl, le dasatinib est également moins sélectif. Les effets secondaires sont donc plus nombreux.

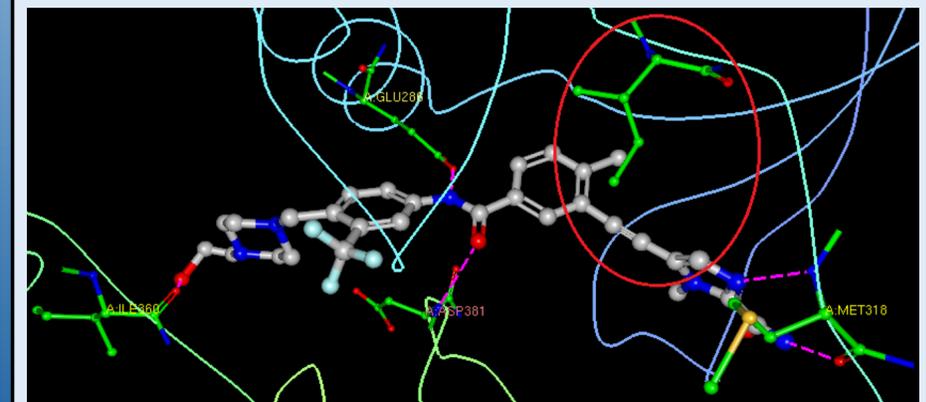
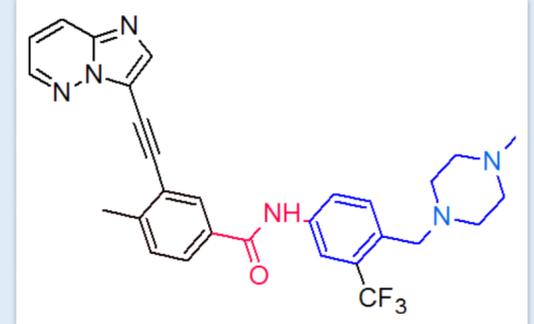
La faible sélectivité peut aussi être un atout. Le dasatinib fait l'objet d'essais cliniques pour le traitement d'autres cancers.

La mutation T315I

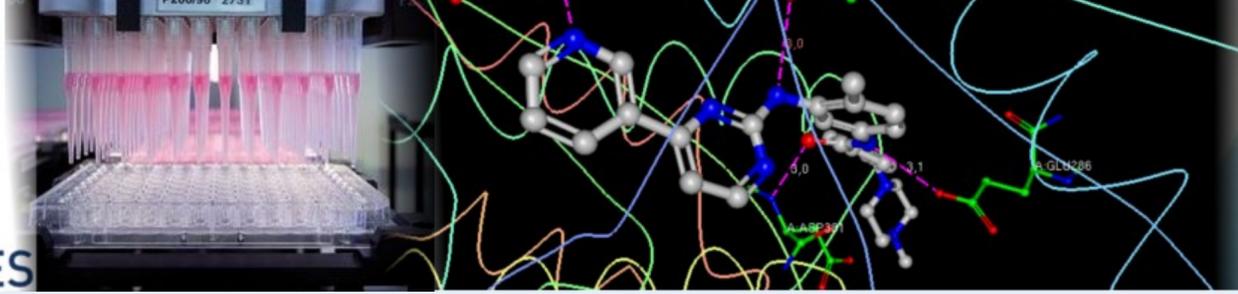
Le problème

La liaison hydrogène avec la tyrosine 315 joue un rôle fondamental pour la fixation du nilotinib, de l'imatinib ou du dasatinib dans le site de l'ATP. Dans le cas de la mutation T315I, la tyrosine 315, hydrophile, est remplacée par une isoleucine hydrophobe et volumineuse. Les patients porteurs de la mutation ne réagissent à aucun de ces traitements.

Pour mettre au point le **ponatinib**, les chercheurs se sont inspirés des structures de l'imatinib et du nilotinib (bleu et rouge). Ils ont remplacé l'azote (hydrophile) par une triple liaison (hydrophobe). Le ponatinib est également actif contre la forme non-mutée de Bcr-Abl. Il est suspecté d'avoir de graves effets secondaires.



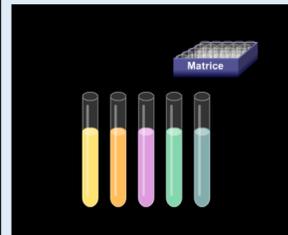
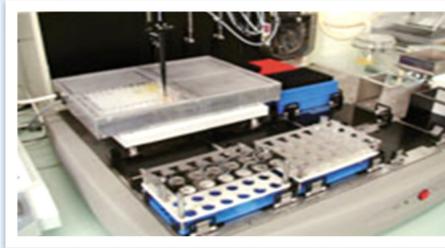
Le ponatinib en interaction avec le mutant T315I de Bcr-Abl. Les positions de la triple liaison et de l'isoleucine 315 sont entourées en rouge.



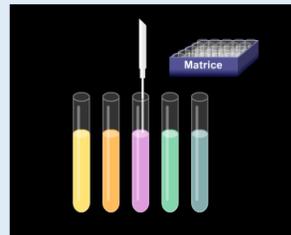
Les outils des chercheurs dans la course à l'armement contre les maladies.

Des robots pour gagner du temps (et de l'argent)

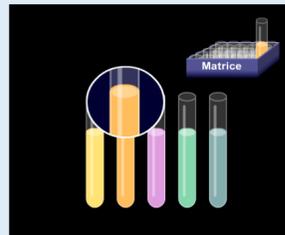
La découverte d'un principe actif et son optimisation implique de tester rapidement des centaines voire des milliers de candidats (criblage). Il serait inenvisageable de tester les molécules une à une. Le criblage à haut débit est une technique visant, grâce à des systèmes automatisés, à réaliser un grand nombre d'expériences à la fois.



Chaque «tube» de la banque contient une molécule différente ainsi que la cible thérapeutique.



Dans chaque tube, on introduit le substrat naturel de la protéine.



Un test d'inhibition est mis au point afin de repérer les résultats positifs.

Le test d'inhibition doit être simple et doit permettre une analyse rapide des résultats (coloration, fluorescence...)

Les molécules pour lesquels il y a eu une réaction positive sont appelés hits (touches). D'autres critères sont alors appliqués au criblage afin de ne retenir que les candidats les plus intéressants. On parle alors de leads.

Travailler sur des mélanges : l'approche combinatoire

Pour gagner toujours plus de temps lors des criblages et réduire le nombre d'expériences, il peut-être intéressant de travailler, non pas sur des composés purs mais sur des mélanges. L'exemple ci-dessous illustre la démarche

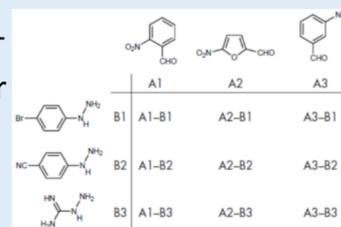
La mise en présence d'un aldéhyde et d'une hydrazine donne instantanément lieu à la formation d'une hydrazone. A partir de **trois aldéhydes** et de **trois hydrazines** on peut donc obtenir **neuf hydrazones différentes (1)**.

On teste l'activité antibiotique potentielle de ces hydrazones en seulement six expériences.

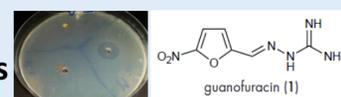
On réalise des mélanges de composés (2) que l'on teste sur des cultures bactériennes. L'existence d'une activité antibiotique, se traduit par l'apparition d'un cercle (3).

Lors de l'expérience réalisée, seuls deux mélanges donnaient un résultat positif. L'hydrazone présentant une activité antibiotique est donc le composé A2-B3 (guanofuracine (4)).

Pour tester 20 aldéhydes et 20 hydrazines (400 candidats) seules une vingtaine d'expériences sont nécessaires.



	Aldéhydes	Hydrazine	Résultat
Mélange 1	A1	B1 + B2 + B3	-
Mélange 2	A2	B1 + B2 + B3	+
Mélange 3	A3	B1 + B2 + B3	-
Mélange 4	A1 + A2 + A3	B1	-
Mélange 5	A1 + A2 + A3	B2	-
Mélange 6	A1 + A2 + A3	B3	+



Rational drug design

La recherche d'un inhibiteur peut être assimilée à la détermination de la meilleure clé (la molécule) pouvant s'insérer dans une serrure donnée (la cible).

A l'aide d'outils informatiques, on modélise le site de fixation afin de visualiser les interactions avec différents inhibiteurs. On peut ainsi gagner un temps d'optimisation considérable en réduisant le nombre de candidats à tester. Cette approche ne saurait cependant se substituer à l'expérience.

2) Modélisation des interactions

On cherche à déterminer quels composés s'inséreront le mieux dans le site de fixation.

3) Evaluation expérimentale

La molécule est synthétisée et on vérifie la validité du modèle théorique.



1) Cristallisation de la protéine

Cette étape permet de disposer d'un modèle précis de la structure du site de fixation.

4) Obtention d'un lead

Etude des propriétés pharmacocinétiques du lead. Reprise du processus en cas d'échec.